



NORGE

(19) [NO]

[B] (12) **UTLEGNINGSSKRIFT** (11) **NR. 156010**

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

(51) Int. Cl.⁴ C 07 D 311/62

(83)

(21) Patentsøknad nr. **802563**
(22) Inngivelsesdag 29.08.80
(24) Løpedag 29.08.80
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(86) Internasjonal søknad nr. -
(86) Internasjonal inngivelsesdag -
(85) Videreføringsdag -

(41) Alment tilgjengelig fra 02.03.81
(44) Utlegningsdag 30.03.87

(71)(73) Søker/Patenthaver **CONTINENTAL PHARMA INC.**,
Avenue Louise 135,
B-1050 Brussel,
Belgia.

(72) Oppfinner
PAUL J. NIEBES, Grez-Doiceau, ANDRAS B. VINCZE,
Brussel, JOSEPH ROBA, Ciergnon-Houyet,
GEORGES E. LAMBELIN, Brussel,
DANIEL M. MATAGNE, Tavieres, ETIENNE P. HANON,
Brussel, MICHEL R. FRANZ, Brussel,
Belgia.

(74) Fullmektig A/S Oslo Patentkontor
Dr.ing. K. O. Berg, Oslo.

(30) Prioritet begjært 30.08.79, USA, nr. 071076.

(54) Oppfinnelsens benevnelse **ANALOGIFREMANGSMÅTE VED FREMSTILLING AV TERAPEUTISK
AKTIVE, VANNOPPLØSELIGE SALTER AV (+)-KATECHIN.**

(57) Sammendrag

Salt av (+)-katekin dannet av reaksjonsproduktet av (+)-
katekin med minst en basisk aminosyre såsom L-lysin og
L-arginin. Et vannløselig dobbeltsalt dannet av reak-
sjonsproduktet av (+)-katekin med en basisk aminosyre
såsom L-lysin og L-arginin og en annen uorganisk eller
organisk syre. Saltene er anvendelige ved behandling
av bindevevsykdommer.

Fremstillingen av saltene er beskrevet.

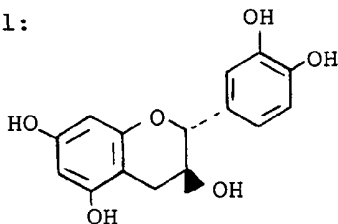
(56) Anførte publikasjoner Europeisk (EP) patentsøknad, publ.nr. 3274.

Foreliggende oppfinnelse vedrører analogifremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive, vannoppløselige salter og/eller dobbeltsalter av (+)-katekin, med L-lysin eller L-arginin som angitt i krav 1's ingress.

5

(+)-katekin er et naturstoff fra klassen flavoner med følgende formel:

10



15

(+)-katekinet [trans-2-(3,4-dihydroksyfenyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3,5,7-triol] erholdes hovedsaklig ved ekstraksjon fra forskjellige planter, særlig fra Uncaria Gambir (Rubiaceae).

20

(+)-katekinet har vært kjent i lang tid, og så tidlig som 1902 utkom de første publikasjoner vedrørende ekstraksjon av dette. Dets kjemiske struktur ble bestemt i 1925 og stereokjemi i 1955. Denne forbindelsen brukes nå som hepatobeskyttende middel på grunn av dets virkning på enzymer i respirasjonskjeden og dets stimulerende effekt på biosyntesen av ATP.

25

(+)-katekin kan anvendes i behandling av degenerative sykdommer i bindevev, slik som artrose, kondromalasia og parodontose.

30

For å behandle sykdommer i leddbrusken, er det viktig å kunne anvende (+)-katekin på det sted hvor det skal virke, nemlig i det syke leddet.

35

Det er derfor av stor interesse å ha en form for (+)-katekin som kan injiseres i leddet. Denne injiserbare form må ha noen viktige egenskaper slik som god stabilitet og en akseptabel lokaltoleranse. Løseligheten av (+)-katekin i vann (1 g/1100-1200 ml vann) begrenser bruken derav i spesifikke galeniske former for parenteral administrering.

156010

2

5 Det er vist at løseligheten i vann for enkel- eller dobbel-
salter av (+)-katekin er betydelig (opptil 400 g/l) og at de
begge er direkte anvendelige for å fremstille farmasøytiske
produkter som trenger høy løselighet. Denne økede løselig-
heten er viktig for parenteral, oral og topisk administrering.
Under visse omstendigheter kan den brukes for å fremstille
farmasøytiske formuleringer basert på dobbeltsalter, spesielt
for injiserbare former.

10 Et av de viktige formål ved foreliggende oppfinnelse er å
tilveiebringe et salt og/eller av (+)-katekin som gjør det mulig
eventuelt etter en påfølgende transformasjon, å bruke det
som en injiserbar eller løselig form med ovenfor nevnte
egenskaper.

15 Som følge derav består saltet fremstilt ifølge oppfinnelsen
av reaksjonsproduktet av (+)-katekin med L-lysin eller L-
arginin, eventuelt ytterligere en farmasøytisk fordragelig
syre som angitt i krav 1's karakteriserende del.

20 Aminosyrene som brukes er L-lysin eller L-arginin. Løsningene
av (+)-katekinsalter som derved dannes er basiske. For å øke
pH-verdien til 7,4 (biologisk pH), er det nødvendig å tilsette
en ekvivalent mengde av en annen syre. En slik syre kan være
25 uorganisk som for eksempel saltsyre eller fosforsyre, eller
organisk så som eddiksyre, sitronsyre, askorbinsyre eller glu-
kuronsyre.

30 Således er det nødvendig å tilsette en løsning bestående av
et mol (+)-katekin og et mol L-lysin eller L-arginin, et mol
av enten saltsyre, eddiksyre, askorbinsyre eller glukuronsyre
eller i stedet for sistnevnte en tredjedel av et mol forfor-
syre eller sitronsyre.

35 De foretrukne salter fremstilt ifølge foreliggende oppfinnelse
består av (+)-katekin, L-lysin og saltsyre eller askorbin-
syre. I alminnelighet har løsningene av salter av
(+)-katekin som dannes med en ekvivalent basisk aminosyre og
en ekvivalent syre, en pH rundt 7,4.

Disse salter av (+)-katekin er alle vannløselige, men løseligheten varierer noe som funksjon av den syre som brukes. Således er løseligheten av salter som dannes med L-lysin og med askorbinsyre, saltsyre, eddiksyre og glukuronsyre, i nærvær av 2 % benzylalkohol ca. 15 mg (+)-katekin pr. ml (hvilket omtrent tilsvarer en isotonisk konsentrasjon), mens løseligheten av det samme saltet som dannes med sitronsyre er 9,5 ml (+)-katekin pr. ml.

10 Ifølge den første fremgangsmåte ved fremstilling av saltene, settes (+)-katekin til en vandig løsning som inneholder den basiske aminosyre og syren i passende mengde. Blandingen bringes deretter til en slik temperatur at isomerisering av (+)-katekin forhindres. Denne temperatur er gjerne mellom 30 og 65^o, fortrinnsvis ca. 45^o, inntil en klar løsning oppnås.

20 En annen fremgangsmåte består i å bringe temperaturen opp mellom 30 og 60^oC, gjerne rundt 45^oC i en vandig løsning av det basiske aminosyresaltet og langsomt deri oppløse den riktige mengde (+)-katekin.

25 I begge tilfeller justeres pH til en akseptabel verdi ved å tilsette L-arginin eller L-lysin som fri base, eller en av de nevnte syrer, avhengig av hva som trengs.

30 Etter kjøling utfelles salter, 1 til 3 % benzylalkohol tilsettes, gjerne 2 %. Løsningen gjenoppvarmes til ca. 45^oC og får igjen kjøle, fortrinnsvis til under 10^oC. saltet blir da tilbake i løsningen.

35 For å oppnå et pulver kan løsningsmiddelet fjernes ved moderat oppvarming under vakuum eller ved frysetørking. Et vannløselig pulver oppnås derved som kan brukes for å fremstille faste former (tabletter, suppositorier, pastiller, granulater, dragéer, filmovertrukne tabletter osv.) halvfaste former (salver, kremer, geler, pastaer osv.) og flytende former (suspensjoner, sirup, dråper, løsninger ol.).

156010

4

Det er åpenbart at løsningene av dobbeltsalter av (+)-katekin fremstilt som forklart i det følgende kan brukes umiddelbart som injiserbare produkter uten å frysetørkes først.

5 I det følgende er det angitt eksempler for fremstilling av de aktive forbindelser.

10

15

20

25

30

35

Eksempel 1

22,6 g (0,155 mol) L-lysin oppløses i 400 ml destillert og
 oksygenfritt vann oppvarmet til 40°C og 45 g (0,155 mol) (+)-
 katekin tilsettes. Blandingen røres inntil fullstendig opp-
 5 løsning.

Den svakt fargede løsningen fortynnes til 1000 ml og filt-
 rerer på millipor 0,22 µm under sterile betingelser.

10 Løsningen frysetørkes inntil den gjenværende fuktighet er
 mindre enn 1 %. Dette pulveret kan brukes for fremstilling
 av faste, halvfaste og flytende galeniske former.

For parenteral anvendelse tilføres steriliserte glass, med
 15 brukskapasitet på 3 ml, 1 ml av løsningen av katekinlysinat
 fremstilt som forut beskrevet.

Glassene forsegles under nitrogen. Det frysetørkede produkt
 er sterilt. Fremstillingen av en inj. serbar form av
 20 salt utføres ved å oppløse glassets innhold
 i 3 ml av den følgende sterile sure løsning:

	Asorbinsyre	25,7 mg
	Vannfri glukose	18,0 mg
25	Benzylalkohol	45,0 mg
	Destillert vann til injesering ad	3 ml

Eksempel 2

7,55 g (0,053 mol) L-lysin oppløses i 800 ml destillert og
 30 oksygenfritt vann oppvarmet til 40°C og 15 g (0,052 mol)
 (+)-katekin tilsettes. Blandingen røres inntil alt er full-
 stendig oppløst.

Etter avkjøling til romtemperatur tilsettes ca. 50 ml 1N salt-
 35 syreløsning for å få en pH på 7,4.

Denne løsning holdes under nitrogen i 24 timer ved en tempe-
 ratur under 10°C.

156010

6

Utfellingene som oppstår må fjernes ved å oppvarme til 40°C.

Deretter tilsettes 20 g benzylalkohol og etter avkjøling til romtemperatur bringes volumet til en liter med dobbeltdestillert og oksygenfritt vann.

Etter filtrering under passende betingelser deles løsningen og helles i brune glass med 1 ml innhold.

10 Eksempel 3

7,55 g (0,053 mol) L-lysin oppløses i 800 ml destillert og oksygenfritt vann oppvarmet til 40°C, og 15 g (0,052 mol) (+)-katekin tilsettes. Man rører inntil fullstendig oppløsning.

15

Etter avkjøling til romtemperatur tilsettes en løsning som inneholder 9,1 g askorbinsyre. pH justeres til 7,4 med den nødvendige mengde aminosyre eller askorbinsyre.

20 Denne løsningen holdes under nitrogen i 24 timer ved en temperatur under 10°C.

Fellingen som dannes må fjernes ved gjenoppvarming til 40°C.

25 Deretter tilsettes 20 g benzylalkohol, og etter avkjøling til romtemperatur bringes volumet til 1 liter med dobbeltdestillert og oksygenfritt vann.

30 Etter filtrering under riktige betingelser oppdeles løsningen og helles i brune glass med 1 ml innhold.

Eksempel 4

35 9,25 g (0,05 mol) L-lysin monohydroklorid oppløses i 700 ml destillert og oksygenfritt vann oppvarmet til 40°C. 15 g (0,052 mol) (+)-katekin tilsettes og røres til fullstendig oppløsning.

Etter avkjøling justeres pH til 7,2 med lysin (fri base). Løsningen holdes så under nitrogen i 24 timer ved en tempe-

156010

7

ratur under 10°C .

Fellingen som dannes må fjernes ved oppvarming til 40°C .

- 5 Deretter tilsettes 20 g benzylalkohol og etter avkjøling til romtemperatur bringes løsningen til et volum på en liter med dobbelt destillert og oksygenfritt vann.

Etter filtrering under riktige betingelser oppdeles løsningen
10 og helles i brune glass med 1 ml innhold.

Eksempel 5

- 9,0 g (0,052 mol) L-arginin monohydroklorid oppløses i 700 ml destillert og oksygenfritt vann oppvarmet til 40°C .
15 (0,052 mol) (+)-katekin tilsettes og blandingen røres inntil fullstendig oppløsning.

Etter avkjøling justeres pH til 7,2 med arginin (fri base).

- 20 Denne løsningen holdes under nitrogen i 24 timer ved en temperatur under 10°C .

Fellingen som dannes må fjernes ved oppvarming til 40°C .

- 25 Deretter tilsettes 20 g benzylalkohol og etter avkjøling til romtemperatur bringes volumet til 1 liter med dobbelt destillert og oksygenfritt vann.

Etter filtrering under passende betingelser oppdeles løsningen
30 og helles i brune glass med 3 ml innhold.

Eksempel 6

- 17,6 g (0,1 mol) askorbinsyre oppløses i 200 ml destillert og oksygenfritt vann. En ekvimolær mengde L-lysin tilsettes og
35 blandingen røres inntil fullstendig oppløsning.

29 g (0,1 mol) (+)-katekin tilsettes deretter og blandingen oppvarmes til en temperatur på 60°C .

156010

8

Etter fullstendig oppløsning inndampes produktet til tørrhet under vakuum i en eksikator som inneholder fosforhemipentoksyd.

- 5 Det tørre produktet finfordeløs gjennom en sikt og tørkes om nødvendig igjen for å gi en restfuktighet mindre enn 1 %.

Disse operasjoner utføres i fravær av oksygen og lys.

- 10 Et krystallinsk pulver med brunaktig farge og smeltepunkt mellom 125 og 127°C oppnås. Vannløseligheten er 40 g pr. liter, og pH av en vandig konsentrert løsning er 6,5.

Den lokale toleranse overfor intra-artikulær injeksjon av

- 15 forbindelser ifølge oppfinnelsen er prøvet på hunder med daglig dose på 0,5 ml av en 15 mg/ml løsning 5 dager i uken over 3 uker. Ingen intoleranse kunne påvises verken lokalt eller generelt.

- 20 Dobbeltsaltene basert på (+)-katekin har en fundamentalt beskyttende virkning på bindevevet mot degenerering spontant eller som følge av kroniske betennelsesforløp.

- 25 Det følgende indikerende eksempel illustrerer fremgangsmåten for å ekstrahere (+)-katekin som kan brukes som utgangsmateriale ved fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse.

- 30 I en reaktor oppvarmes 23,9 kg Block Gambir og 190 l etylacetat (AcOEt) ved 65-70°C i en time.

- Deretter tilsettes 1,5 kg animalsk benkull og man rører 1 time ved 65-70°C. Den derved erholdte løsning filtreres gjennom "Nutsche" med et "celittsjikt" (2 kg "celitt") og kaken vaskes med 2 X 20 l AcOEt. Filtratet konsentreres ved oppvarming under vakuum (59-73°C/70 mmHg). 148 l permutert vann tilsettes og AcOEt fjernes ved azeotropisk destillasjon med tilbakeføring av vannet i reaktoren. 1,26 kg animalsk benkull

settes til den vandige løsningen som deretter oppvarmes, røres og varmfiltreres på en Büchner trakt. Filtratet avkjøles til 5°C under nitrogen.

(+)-katekinet felles som et gulaktig pulver, filtreres gjennom "Nutsche" og vaskes med iskaldt permutert vann. Kaken sentrifugeres og produktet tørkes under vakuum ved 35°C.

Vekten av (+)-katekinet som derved oppnås er 8,5 kg med en fuktighet på 15 % (utbytte i forhold til Block Gambir: 35,55 %). (+)-katekinet identifiseres ved infrarød spektroskopi og vanninnholdet bestemmes ved Karl-Fischer metoden.

P a t e n t k r a v

1. Analogifremgangsmåte ved fremstilling av et terapeutisk aktivt vannopløselig salt og/eller dobbeltsalt av (+)-katechin med L-lysin eller L-arginin og eventuelt ytterligere syre i form av saltsyre, askorbinsyre, eddiksyre, sitronsyre, glukoronsyre eller fosforsyre, k a r a k t e r i s e r t v e d å behandle (+)-katechin med i hovedsak ekvivalente mengder L-lysin eller L-arginin eller et syreaddisjonssalt derav, eventuelt i nærvær av en i hovedsak ekvivalent av en av de ovenfor nevnte andre syrer.
2. Analogifremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den basiske aminosyre er L-arginin og den andre syren er askorbinsyre.
3. Analogifremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den basiske aminosyre er L-lysin og den andre syren er askorbinsyre.