

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 162840 B

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 5189/84

(51) Int.Cl.5

C 07 D 213/69

(22) Indleveringsdag: 31 okt 1984

A 61 K 31/555

C 07 D 309/40

(41) Alm. tilgængelig: 01 maj 1985

(44) Fremlagt: 16 dec 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 31 okt 1983 GB 8329043

(71) Ansøger: *NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORPORATION; 101 Newington Causeway; London SE1 6BU, GB

(72) Opfinder: Robert Charles *Hider; GB, George *Kontoghiorghes; GB, Jack *Silver; GB, Michael Arthur *Stockham; GB

(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

(54) Zink(II)-komplekser af substituerede 3-hydroxypyroner eller 3-hydroxypyridoner, anvendelse af disse samt farmaceutiske præparater indeholdende disse

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag

5189-84

Zink(II)-komplekser, hvori mindst en ligand tilvejebringes af en forbindelse, som er:

(1) 3-hydroxy-4-pyron eller en 3-hydroxy-4-pyron, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer eller,

(2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, hvori hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk acylgruppe, af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer eller af en alifatisk carbonhydridgruppe substitueret med en eller, undtagen når der er tale om ioniserbare grupper, flere substituerer udvalgt blandt alifatisk acyl, alkoxy, alifatisk amin, alifatisk amid, carboxy, alifatisk ester, halogen, hydroxy og sulfo. og hvori evt. et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en af de nævnte substituerer, af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer eller af en alifatisk carbonhydridgruppe substitueret med alkoxy, alifatisk ester, halogen eller hydroxy, er af værdi indenfor lægevidenskaben, især til systemisk behandling af zinkmangel. Blandinger af disse zinkkomplekser med den eller de metalfrie forbindelser, som tilvejebringer liganderne indeholdt deri, og med jern(III)-komplekser indeholdende ligander af typerne (1) og (2) er også af værdi.

Den foreliggende opfindelse angår zink(II)-komplekser af substituerede 3-hydroxy-pyroner eller 3-hydroxy-pyridoner, anvendelse af disse samt farmaceutiske præparater indeholdende disse.

En tilstrækkelig tilførsel af zink til kroppen er et absolut krav
5 for vævsvækst i både mennesker og dyr. Desuden kan zinkmangel fremkalde forskellige kliniske virkninger, som f.eks. fører til hudlæsioner, alopecia og mentale forstyrrelser. Selvom der normalt er en rigelig mængde zink i kosten, er absorptionsniveauet af zink fra føde almindeligvis lavt, således at tilførselen af zink til kroppen let kan blive
10 kritisk under forskellige betingelser. Zinkmangel optræder almindeligvis ved graviditet med deraf følgende udtømmning af zink fra fostervævet sammen med idiopatisk retardation af den intrauterine vækst. Visse diæter kan hæmme zinkabsorptionen p.g.a deres fytin-syreindhold, og mange jernpræparater til oral administrering kan hæmme zinkabsorptionen
15 alvorligt.

Forskellige præparater til systemisk behandling af zinkmangel markedsføres, men disse indeholder zink i saltform, fortrinsvis som zinksulfat, og zinkoptagelsesniveauet i kroppen fra disse præparater er ofte ganske lavt, hvilket nødvendiggør administrering af relativt
20 høje doser. Administreringen af høje doser af zinksalte, der absorberes dårligt, kan skabe forskellige problemer. Zinkssalte er således almindeligvis adstringerende, hvilket giver irritation og toksisitet overfor membranvæv, og systemisk behandling kan være forbundet med en række bieffekter, herunder kvalme, opkastninger, hovedpine, muskel-
25 smerter, kuldegysninger og feber. Det bør bemærkes, at zinksulfat og zinkacetat er kendte som emetika.

Den foreliggende opfindelse omfatter anvendelse af et zink(II)-kompleks til fremstilling af et farmaceutisk præparat til behandling af zinkmangel ved administrering af zink på kompleks- fremfor på saltform,
30 idet der udnyttes en gruppe zinkkomplekser, som er blevet identificeret som værende af særlig værdi til anvendelse i relativt lave dosis-niveauer, idet værdien af disse komplekser i denne sammenhæng hidtil ikke har været anerkendt.

Anvendelsen af jernkomplekser indeholdende ligander, som er
35 tilstede i visse af zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse, i behandlingen af jernmangelanæmi er blevet beskrevet i GB-patentansøgning nr. 8308053 (publiceret som GB-2.117.766A). Der har imidlertid aldrig været forslag om, at hydroxypyridonerne, som indehol-

des i jernkomplekserne beskrevet i ovennævnte ansøgning, kunne spille nogen rolle i behandlingen af zinkmangel. Det vil især kunne forstås, at vellykket administrering af jern og zink er to helt adskilte problemer, hvilket bekræftes af det faktum, at ganske mange forskellige komplekser af jern markedsføres til behandling af jernangelanæmi, mens markedsførte produkter til behandling af zinkmangel er zinksalte.

Zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse er af særlig interesse, idet nogle af forbindelserne, hvorfra zinkkomplekserne afledes, har tidligere været anvendt enten som de metalfri forbindelser eller som jernkomplekser deraf i næringsmidler, hvilket antyder deres non-toksiske natur og den deraf følgende egnethed til farmaceutisk anvendelse af zinkkomplekserne af disse forbindelser.

Et aspekt af den foreliggende opfindelse angår et zink(II)-kompleks til medicinsk anvendelse, der er ejendommeligt ved, at det er zink(II)-komplekset af

- (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af
- (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet med en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke evt. et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet med en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer.

Et andet aspekt af den foreliggende opfindelse angår et zink(II)-kompleks, der er ejendommeligt ved, at det er zink(II)-komplekset af

- (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af
- (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke evt. et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, men undtaget komplekser, hvori liganden tilvejebringes af en

forbindelse, eller hver ligand tilvejebringes af samme forbindelse, hvilken er 3-hydroxy-2-methyl-4-pyron, 3-hydroxy-6-methyl-4-pyron eller 1-methyl-3-hydroxypyrid-4-on.

Zinkkomplekserne, der anvendes ifølge den foreliggende opfindelse, indeholder zink i divalent tilstand. Komplekserne er fortrinsvis 5 neutrale, d.v.s. at der er en indre ladningsbalance mellem zinkkationen og liganden(erne), som er bundet kovalent dertil, uden at det er nødvendigt med tilstedeværelsen af en ikke-kovalent bundet ion eller ioner for at opnå en sådan balance. En indre ladningsbalance opnås ved 10 kompleksdannelse mellem zinkkationen og to monobasiske bidentatligander, idet sådanne ligander tilvejebringes af hydroxypyroner og hydroxypyridoner, beskrevet ovenfor, ved tabet af en proton fra hydroxygruppen ($\text{OH} \rightarrow \text{O}^-$). Zink(II)-komplekser, som har et 2:1 forhold af monobasisk bidentatligand: zink(II), er derfor foretrukne, da komplekser, som har 15 et 1:1 eller 3:1 forhold af monobasisk bidentatligand:zink(II), kræver en ekstra fysiologisk acceptabel ion, f.eks. henholdsvis en chloridanion eller en natriumkation, for at skabe neutralitet. Det vil imidlertid kunne forstås, at selv om 3:1 og især 1:1 komplekser er af mindre interesse, udelukkes anvendelsen af sådanne komplekser ikke fra opfindelsen, især når de er blandet med 2:1 komplekset.

Det vil kunne forstås, at zinkkomplekserne, der anvendes ifølge den foreliggende opfindelse, kan eksistere enten på tetraedrisk eller octaedrisk form, og selv om komplekser som beskrevet ovenfor, som har et 2:1 forhold af monobasisk bidentatligand:zink(II), almindeligvis vil 25 være på tetraedrisk form, er det muligt for dem at overgå til octaedrisk form ved kombination med to ekstra neutrale ligander, især vandmolekyler. Det foretrukne neutrale 2:1 kompleks kan derfor passende anvendes enten i vandfri eller dihydrat form, idet den vandfrie form eventuelt kan omdannes til dihydratformen in vivo i et vandigt miljø.

30 De foretrukne komplekser ifølge den foreliggende opfindelse med et 2:1 forhold af monobasisk bidentatligand:zink(II), kan indeholde mange forskellige kombinationer af de ovenfor beskrevne ligandtyper (1) og (2). Begge liganderne er således enten af type (1) eller af type (2), men i førstnævnte tilfælde kan de to ligander kun være tilvejebragt af 35 forskellige type (1) forbindelser.

Selv om komplekser indeholdende identiske ligander er af særlig interesse p.g.a. deres lettere fremstilling og anvendelse, har komplekser indeholdende forskellige ligander visse egenskaber, som

kan være af værdi i særlige tilfælde. For det første giver anvendelsen af en blanding af forskellige ligander i et kompleks således en ekstra dimension ved udformningen af komplekser med optimerede egenskaber med hensyn til in vivo optagelse for at tilvejebringe en

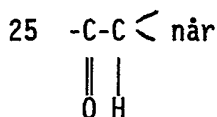
5 kontrolleret tilførsel af zink, som kan anvendes i en særlig human eller veterinær sammenhæng. For det andet kan anvendelsen af blandede ligandkomplekser, bortset fra kompleksets opførsel in vivo, give visse fordele med hensyn til formuleringen.

Hydroxypyronligander af type (1) er som antydnet af særlig interesse

10 og komplekserne ifølge den foreliggende opfindelse kan bekvemt indeholde sådanne ligander. De substituerede 3-hydroxy-4-pyroner kan bære mere end en type alifatisk carbonhydridgruppe, men dette er ikke almindeligt, og derfor foretrækkes substitutionen med en fremfor to eller tre alifatiske carbonhydridgrupper. Den alifatiske carbonhydridgrupper, der anvendes

15 heri, omfatter både cykliske og acykliske grupper, der kan være umættede eller mættede, idet de cykliske grupper er forgrenede eller især uforgrenede. Grupper med 1 til 4 carbonatomer og især med 1 til 3 carbonatomer er af største interesse. Mættede alifatiske carbonhydridgrupper foretrækkes, idet sådanne enten er cykliske grupper, såsom cykloalkyl-

20 grupperne cyklopropyl og især cyklohexyl, eller nærmere betegnet acykliske grupper, såsom alkylgrupperne, n-propyl og isopropyl og især ethyl og methyl. Substitution i 2- eller 6-stillingen er af særlig interesse, selv om det kan være en fordel at undgå substitution på et carbonatom i alphastilling til systemet

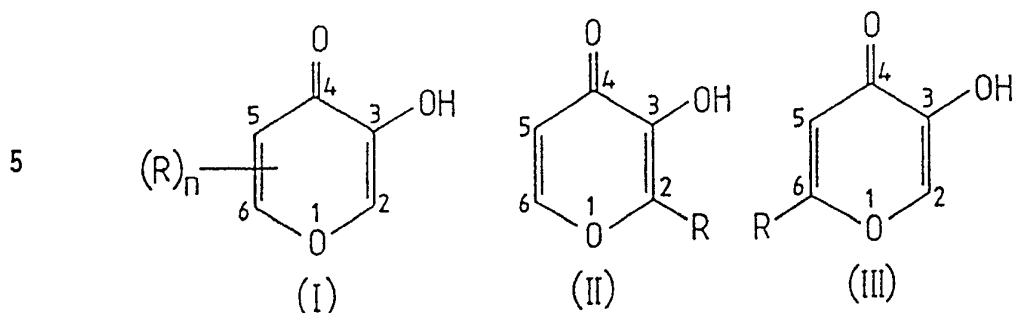


ringen er substitueret med de større alifatiske carbonhydridgrupper. Dette system er involveret i kompleksdannelsen med zink og den tætte

30 nærhed af en af de større alifatiske carbonhydridgrupper kan føre til steriske effekter, der hæmmer kompleksdannelsen.

Eksempler på hydroxypyroner, som tilvejebringer ligander, der kan anvendes i komplekser ifølge den foreliggende opfindelse, har formelen (I), idet specifikke hydroxypyroner af særlig interesse har formlerne

35 (II) og (III):



10 hvori

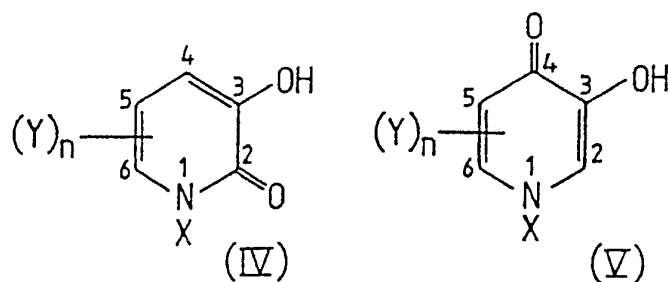
R er en alkylgruppe, f.eks. methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl eller butyl, og n er 1, 2 eller 3.

Blandt disse forbindelser er 3-hydroxy-2-methyl-4-pyron (maltol; II, R = CH₃) af største interesse, mens 3-hydroxy-6-methyl-4-pyron (isomaltol; III, R = CH₃) og især 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyron (ethylpyromeconsyre; II, R = C₂H₅) også er af særlig interesse. Herefter anvendes for enkeltheds skyld navnene maltol og ethylpyromeconsyre i beskrivelsen.

Med hensyn til hydroxypyridonligander af type (2) er sådanne afledt fra hydroxypyridoner af den type, som beskrives i GB-patentansøgning nr. 8308056 (publiceret som GB 2.118.176A).

Hydroxypyridoner, som tilvejebringer ligander, der kan anvendes i komplekser i overensstemmelse med den foreliggende opfindelse, har formlerne (IV) og (V)

25



30

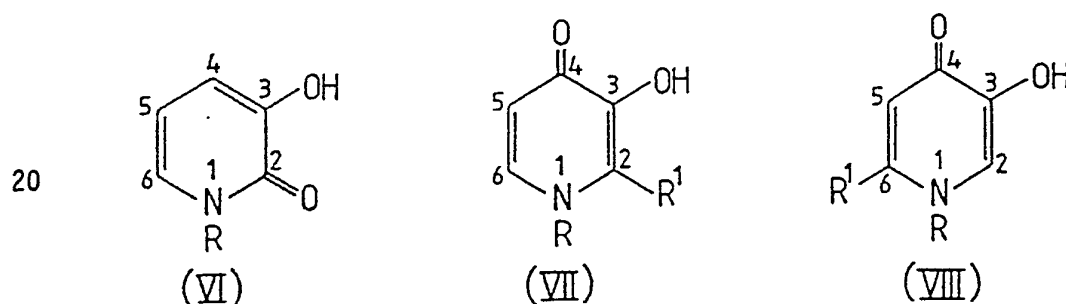
hvor

X og Y er substituentter som defineret ovenfor for hydroxypyridon-substitution og n er 0, 1, 2 eller 3, idet 3-hydroxypyrid-2-onerne almindeligvis er af noget større interesse end 3-hydroxypyrid-4-onerne.

Præferencer med hensyn til naturen og stillingen af substituentgrupperne, som er tilstede i hydroxypyridonerne, er bredt som udtrykt i

den tidligere ansøgning GB 2.118.176A. Præferencerne blandt de alifatiske carbonhydridgrupper, som er tilstede i disse hydroxypyridoner, svarer imidlertid stort set til sådanne udtrykt med hensyn til hydroxypyronerne, idet methylgrupper bekvemt kan anvendes til substitution på ringcarbonatomer, men større alkylgrupper er også af særlig interesse til substitution på ringnitrogenatomer. Substitution på ringcarbonatomer, som igen foretrækkes med 1 fremfor 2 eller 3 alifatiske carbonhydridgrupper, er af særlig interesse i tilfælde af 3-hydroxypyrid-4-oner, f.eks. i 6- eller især i 2-stillingen, mens 3-hydroxypyrid-2-onerne oftere anvendes uden ekstra alifatiske carbonhydridgrupper substitueret på ringcarbonatomer. Specifikke hydroxypyridoner af særlig interesse har formlerne (VI), (VII) og (VIII).

15



25

hvor

30 R er en alkylgruppe f.eks. methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl eller butyl, og R¹ er hydrogen eller især en alkylgruppe f.eks. methyl. Blandt sådanne forbindelser er 3-hydroxy-1-methylpyrid-2-on, 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on, 3-hydroxy-1-propylpyrid-2-on, 3-hydroxy-1-(1'-methyl-ethyl)-pyrid-2-on, 1-butyl-3-hydroxypyrid-2-on, 3-hydroxy-1,2-dimethylpyrid-4-on, 1-ethyl-2-methyl-3-hydroxypyrid-4-on, 2-methyl-1-propyl-3-hydroxypyrid-4-on, 3-hydroxy-2-methyl-1-(1'-methylethyl)-pyrid-4-on og 1-butyl-3-hydroxy-2-methylpyrid-4-on af særlig interesse med 3-hydroxypyrid-2-oner, såsom 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on, som værende særligt

35

foretrukne.

Eksempler på specifikke zink(II)-komplekser ifølge den foreliggende opfindelse er 2:1 zinkkomplekser, som indeholder to identiske ligander udvalgt blandt de ovenfor angivne oversigter over hydroxypyroner og hydroxypyridoner af særlig interesse, især hydroxypyronerne f.eks. (maltol)₂zink(II) og (ethylpyromeconsyre)₂zink(II). Blandt komplekser indeholdende to forskellige ligander er et specifikt eksempel (maltol)(ethylpyromeconsyre)zink(II). Det vil kunne forstås, at maltol anvendes i navnene for sådanne komplekser til at betegne liganden afledt fra maltol og tilsvarende for de andre ligander, idet denne sprogbrug anvendes i hele beskrivelsen.

I tilfælde af maltol er fremstillingen af det faste 2:1 zinkmaltol-kompleks blevet rapporteret i litteraturen både på den vandfriform og på dihydratformen som del af et studium med hensyn til naturen af komplekser dannet af maltol med forskellig divalente kationer. I tilfælde af 3-hydroxy-1-methyl-pyrid-4-on og 3-hydroxy-6-methyl-4-pyron er 2:1 zinkkomplekset indeholdende to identiske ligander også blevet fremstillet, men kun i opløsning i sammenhæng med en undersøgelse af stabilitets-konstanten af flere bivalente metalionkomplekser. I tilfælde af zink-komplekserne indeholdende ens ligander afledt fra alle andre forbindelser end disse tre og af zinkkomplekser, hvori mindst to ligander er forskellige, antages zinkkomplekserne imidlertid at være hidtil ukendte, og de omfattes som sådanne af den foreliggende opfindelse.

Zinkkomplekserne fremstilles bekvemt ved omsætning i et egnet fælles opløsningsmiddel af den eller de ligandtilvejebringende forbindelser og zinkioner, idet sidstnævnte bekvemt afledes fra et zinksalt især et zinkhalogenid og især zinkchlorid. For at opnå bedst mulige resultater foretrækkes det at undgå anvendelsen af vand alene som reaktionsopløsningsmiddel, og anvendelsen af en vandig/organisk opløsningsmiddelblanding eller især et organisk opløsningsmiddel foretrækkes. Opløsningsmidlet kan f.eks. være ethanol, methanol eller chloroform og blandinger af disse opløsningsmidler med hinanden og/eller med vand, hvor det er passende. Specielt methanol eller særlig ethanol eller en blanding deraf med chloroform kan anvendes som opløsningsmiddel, hvor det er ønskværdigt at udføre udskillelsen af mindst hovedparten af et biprodukt, såsom natriumchlorid, ved udfældning, mens zinkkomplekset bibeholdes i opløsning.

Naturen af det opnåede produkt vil delvis afhænge af det molære

forhold af de forskellige reaktanter, men også af pH-værdien i reaktionsmediet. Til fremstilling af f.eks. 2:1 zinkkomplekser blandes således den eller de ligand-tilvejebringende forbindelse(r) og zinksaltet bekvemt i en opløsning i et 2:1 molært forhold, og pH justeres
5 til en værdi i området mellem 6 og 9, f.eks. 7 eller 8. Hvis et lignende overskud af forbindelsen(erne):zink anvendes, men hvis der ikke foretages nogen justering af den sure pH, som er resultatet af blandingen af forbindelsen(erne) og et zinksalt, såsom zinkchlorid, opnås i stedet en blanding af 2:1 komplekset eller komplekserne og 1:1 kompleks
10 et eller komplekserne. Justering af pH kan bekvemt udføres ved tilsætning af enten natriumcarbonat eller af en hydroxidbase, såsom natrium- eller ammoniumhydroxid, idet anvendelsen af en hydroxidbase er af særlig interesse, når man fremstiller zinkkomplekserne i portioner på 20 g eller mere. Når en hydroxidbase anvendes, kan omsætningen
15 bekvemt udføres i et medium indeholdende en del vand som opløsningsmiddel, f.eks. i en ethanol:vand blanding, såsom 4:1 vol/vol ethanol:vand, og pH justeres ved tilsætning af en 2 molær vandig opløsning af basen. Det vil kunne forstås, at tilstedeværelsen af vand i reaktionsblandingen vil føre til bibeholdelsen af et biprodukt i zinkkomplekset ved afdampning af opløsningsmidlet (et chlorid, når zinksaltet er zinkchlorid).
20 Dette kan imidlertid, om ønsket, fjernes ved fremgangsmåder såsom krystallisation fra et egnet opløsningsmiddelsystem eller i det særlige tilfælde med ammoniumchlorid ved sublimation. Almindeligvis foretrækkes anvendelsen af et ikke-vandigt reaktionsmiddel i forbindelse med
25 natriumcarbonat.

Når et 2:1 zink(II)-kompleks indeholdende forskellige ligander fremstilles, kan de enkelte ligandtilvejebringende forbindelser bekvemt hver anvendes i et 1 molært forhold sammen med et 1 molært forhold af zinksaltet. Det vil imidlertid kunne forstås, at anvendelsen af et
30 sådant forhold ikke udelukkende fører til det blandede 2:1 ligand:zink(II)-kompleks; selv om denne form for kompleks vil være fremherskende under forudsætning af at de ligandtilvejebringende forbindelser har omtrent samme reaktivitet, vil det opnås i blanding med de to 2:1 komplekser indeholdende identiske ligander.

35 Reaktionen, der danner zinkkomplekset, er almindeligvis hurtige og vil normalt være forløbet i det væsentlige til fuldendelse efter 5 min. ved ca. 20°C, selv om en længere reaktionstid om nødvendigt kan anvendes. Efter fraskillelse af ethvert bundfældet biprodukt, såsom natrium-

chlorid i tilfælde af visse opløsningsmiddelsystemer, kan reaktionsblandingens bekvemt inddampes på en rotationsinddamper eller frysetørres til dannelse af zinkkomplekset, som almindeligvis er på fast form. Et fast kompleks kan om ønsket krystalliseres fra et egnet opløsningsmiddel, f.eks. vand, en alkohol, såsom ethanol eller en opløsningsmiddelblanding herunder blandinger indeholdende en ether. Hvorvidt zinkkomplekset opnås på vandfri eller dihydrat form afhænger både af opløsningsmiddelsystemet, som anvendes til omsætningen, og af den efterfølgende oparbejdningsprocedure.

10 Således kan meget nøje tørring fjerne vandmolekyler fra et hydreret kompleks dannet i en reaktionsblanding indeholdende vand, og omkrystallisation fra et vandig medium kan tilføje sådanne. Hvis netop et dihydrat ønskes, kan frysetørring af blandingen, som resulterer fra omsætningen af de ligandtilvejebringende forbindelser og et zinksalt, 15 såsom chloridet eller acetatet i et vandigt/organisk opløsningsmiddelmedium, anvendes.

Mens det til nogen formål kan være passende at fremstille zinkkomplekset på en i det væsentlige ren form, d.v.s. i det væsentlige fri for fremstillingsbiprodukter, kan det i andre tilfælde, f.eks. i 20 forbindelse med en fast oral formulering, som beskrevet i det følgende, være fuldt ud acceptabelt at biprodukter, såsom natriumchlorid er tilstede. Almindeligvis er de neutrale 2:1 ligand:zink(II)-komplekser, hvori liganderne er identiske, af særlig interesse i en form, som i det væsentlige er fri for biprodukter, der er komplekser indeholdende andre 25 forhold af ligand og zink, især 1:1 komplekset. Når det, som diskuteret i det følgende, er ønskværdigt at anvende 2:1 zinkkomplekset sammen med et overskud af de metalfri ligand-tilvejebringende forbindelser, kan dette opnås ved, at anvende et større molært forhold af forbindelsen(erne):zink end 2:1 i reaktionsblandingen for herved at tilvejebringe 30 et produkt indeholdende et sådant overskud.

Visse af de ligand-tilvejebringende forbindelser, såsom maltol er kommercielt tilgængelige. For andre er veje til fremstilling deraf beskrevet i GB-2.118.176A og GB-2.128.998A, som tidligere er omtalt heri. F.eks. med hydroxypyronerne er en bekvem udgangsforbindelse i 35 mange tilfælde pyromeconsyre, der er let opnåelig ved decarboxylering af meconsyre, og som kan omsættes med et aldehyd for at indføre en 1-hydroxyalkylgruppe i 2-stillingen, hvilken gruppe dernæst kan reduceres til dannelse af en 2-alkyl-3-hydroxy-4-pyron. Fremstillingen af ethyl-

pyromeconsyre, 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyron etc. ad denne vej beskrives i offentliggjort i US-patentansøgning nr. 310.141, (1960), hvilken der henvises til i US-patentskrift nr. 3.376.317.

- Det vil kunne forstås, at disse metoder ikke er de eneste som er
- 5 tilgængelige til fremstilling af disse forbindelser og deres zink-komplekser, og at forskellige alternativer, som det vil være klart for fagfolk, kan anvendes. Desuden vil det kunne forstås, at visse af forbindelserne kan omdannes in vivo til andre forbindelser, som er ansvarlige for den observerede in vivo aktivitet. Det gælder f.eks.
- 10 forbindelser, som indeholder estergrupper, der sandsynligvis vil blive omdannet til carboxygrupper, når forbindelserne administreres oralt.

- Zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse kan formuleres til anvendelse som farmaceutika til både veterinær brug, f.eks. i fjerkræs- eller særlig pattedyrsammenhæng, og især til human brug ved
- 15 forskellige fremgangsmåder. F.eks. kan de tilføres som et vandigt, olieagtigt eller emulgeret præparat, der inkorporerer en flydende diluent, som mest almindeligt kan anvendes til paranteral adminitrering, og som derfor skal være steril og pyrogenfri. Oral administrering foretrækkes ofte i behandlingen af zinkmangel i mennesker, og komplekserne
- 20 ifølge opfindelsen kan indgives ad en sådan vej. Selv om præparater, der inkorporerer en flydende diluent, kan anvendes til oral administrering, er det mere almindeligt, i det mindste til mennesker, at anvende præparater, der inkorporerer en fast bærer, f.eks. et konventionelt fast bærermateriale, såsom stivelse, lactose, dextrin eller magnesiumstearat.
- 25 Det er endda muligt i humane og især veterinære sammenhænge at anvende den tilsvarende metalfrie ligandtilvejebringende forbindelse eller forbindelser som det faste bærermateriale eller i et ekstremt tilfælde at anvende zinkkomplekset eller -komplekserne i fast form som deres egen bærer. Sådanne faste præparater kan bekvemt være af en formet type
- 30 f.eks. som tabletter, kapsler (herunder såkaldte "spansuls"), etc.

Et tredje aspekt af den foreliggende opfindelse angår et farmaceutisk præparat, der er ejendommeligt ved, at det omfatter et zink(II)-kompleks af

- (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af
- 35 hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af
- (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogen-atomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en

- alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke eventuelt et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, sammen med en fysiologisk acceptabel diluent eller
- 5 bærer hvilken er a) et faststof b) en steril og pyrogen-fri væske, eller c) egnet til topisk administrering, idet præparatet har form af en creme eller en shampo, og evt. også sammen med ikke-kompleksbundet forbindelse(r) svarende til en eller flere af liganderne i komplekset, idet det molære forhold af hver ikke-kompleksbundet
- 10 forbindelse:kompleksbundet zink er fra 0,5:1 til 100:1.

Selv om faste præparater kan være foretrukne i vigtige sammenhænge, såsom den orale behandling af zinkmangel hos mennesker, er flydende præparater imidlertid af interesse i andre sammenhænge, f.eks. til veterinær oral administrering. Principielt ville flydende formuleringer

15 af zinkkomplekser være ønskværdige til intramuskulær administrering i både veterinær og human sammenhæng. I sådanne sammenhænge kan kompleksene indeholdende blandede ligander have en særlig fordel p.g.a. større opløselighed, hvilket muliggør fremstillingen af mere koncentrerede flydende præparater.

- 20 Andre administreringsformer end ved injektion eller ad oral vej kan også overvejes i både humane og veterinære sammenhænge f.eks. anvendelsen af suppositorier eller pessarer særligt til human administrering.

Præparater kan formuleres på enhedsdosisform, d.v.s. diskrete

25 dele, der hver indeholder en enhedsdosis, flere doser eller en underenhed. Mens den indgivne dosis af zinkkomplekset vil afhænge af forskellige faktorer, herunder den særlige natur af det i præparatet anvendte kompleks, kan det vejledende anføres, at man for at holde den mængde zink, der er tilstede i den menneskelige krop på et til-

30 fredsstillende niveau, ofte vil benytte en daglig dosis udtrykt som zinkindholdet af forbindelsen, der ligger i et område fra ca. 1 til 100 mg og ofte i et område fra 5 til 30 mg, f.eks. 15 mg. (Veterinære doser kan være af et lignende mg zink pr. kg legemsvægtforhold.)

- Det vil imidlertid kunne forstås, at det under visse omstændigheder
- 35 kan være passende at give daglige doser, der enten ligger over eller under disse niveauer. Målet bør almindeligvis være at tilvejebringe den til patienten krævede mængde zink uden at administrere noget unødvendigt overskud, og egenskaberne af de farmaceutiske præparater ifølge den

foreliggende opfindelse er særligt egnede til opnåelsen af dette mål. Koncentrationen af zinkkompleks i de farmaceutiske præparater kan ligeledes variere meget bredt, f.eks. over et område fra ca. 0,01 til ca. 100 vægt/vægtprocent. Det er imidlertid mere almindeligt for koncentrationen at overstige 0,1 vægt/vægtprocent, og den kan ofte overstige 0,5 eller 1 vægt/vægtprocent, mens en mere almindelig øvre grænse er ca. 50 vægt/vægtprocent.

Hvor det er ønskværdigt kan mere end et zinkkompleks, som ovenfor beskrevet, være tilstede i det farmaceutiske præparat f.eks. kan en blanding af 2:1 malto1:zink(II) og ethylpyromeconsyre:zink(II)-komplekserne anvendes. Andre aktive forbindelser kan også inkluderes i præparatet, f.eks. forbindelser, som besidder den evne at lette behandlingen af zinkmangel. Andre komponenter af interesse er forbindelser, som besidder den evne at lette behandlingen af jernmangelanæmi (i dens bredeste betydning), såsom folinsyre og mere specielt en forbindelse, som tilvejebringer en jernkilde, f.eks. en af de for tiden markedsførte til behandling af jernmangelanæmi, såsom ferrosulfat, ferrofumarat, ferrogluconat, ferrosuccinat, ferri EDTA, ferriascorbat og ferricitrat.

Af særlig interesse i sammenhæng med farmaceutiske præparater indeholdende en jernforbindelse udover zinkkomplekset er sådanne, hvori denne jernforbindelse er et jernkompleks især et neutralt 3:1 jern(III)-kompleks, hvori liganderne er udvalgt blandt samme forbindelser, som er diskuteret ovenfor, til tilvejebringelse af ligander i zinkkomplekser. Jernkomplekser af denne type er genstand for de to britiske patentansøgninger GB - 2.117.766A og GB - 2.128.998A, som tidligere omtalt heri og for GB-patentansøgningerne nr. 2.136.806A og nr. 2.157.686A. Af særlig interesse blandt disse jernkomplekser er sådanne, hvori mindst en og bekvemt alle liganderne er afledt fra en hydroxypyron. Jernkomplekser, hvori hver ligand er afledt fra samme forbindelse er også af særlig interesse, således at jernkomplekser, hvori alle liganderne er afledt fra samme hydroxypyron, er foretrukne. Selv om liganderne, som er til stede i jernkomplekset, ikke nødvendigvis er de samme som sådanne til stede i zinkkomplekset, er der en særlig interesse i farmaceutiske præparater, hvori mindst en og helst alle liganderne i hvert jern- og zinkkompleks er afledt fra hydroxypyroner især den identiske hydroxypyron for alle liganderne i zinkkomplekset og den samme eller en anden hydroxypyron for alle liganderne i jernkomplekset. En særlig fortrukket kombination er den af et zinkkompleks især det neutrale 2:1 kompleks af

maltol eller af ethylpyromeconsyre og et jernkompleks specielt det neutrale 3:1 kompleks af maltol eller af ethylpyromeconsyre.

Kombinationerne kan bestå af to maltolkomplekser, to ethylpyromeconsyrekomplekser eller et maltol- og et ethylpyromeconsyrekompleks. Kombinationer indeholdende begge zinkkomplekser og/eller begge jernkomplekser kan også anvendes ligesom kombinationer, som omfatter komplekser indeholdende blandet maltol- og ethylpyromeconsyreligander.

Et voksent menneskes daglige behov for jern antages almindeligvis at være 2 til 4 mg, mens det daglige behov for zink er 10 til 15 mg. En egnet daglig dosis til et menneske af de foretrukne former for jernkomplekser, som omtales ovenfor, er således noget mindre end den tidligere omtalte dosis af zinkkomplekserne, idet den udtrykt som jernindholdet i komplekset er i området fra ca. 0,1 til 10 mg og ofte i området fra 0,5 til 10 mg, f.eks. 1 eller 2 mg; veterinære doser har et g/kg legemsvægtforhold af lignende størrelse. Det relative behov for zink og jern kan imidlertid variere meget fra en patient til en anden afhængigt af den faktiske grad af zinkmangel og jernmangelanæmi, som patienten udviser. Som med eksisterende kombinerede blandede jern- og zinkpræparater kan et område for zink/ jern forhold, som er tilstede, derfor f.eks. strække sig over enhver kombination indenfor området mellem 1 vægtdel zink til 0,25 eller 0,4 vægtdele jern og 1 vægtdel zink til 30 eller 50 vægtdele jern. Et foretrukket område er 1 vægtdel zink til fra 1 til 20 vægtdele jern, f.eks. et 1:7,5 forhold. Almindeligvis er blandinger, som indeholder større forhold af zink af værdi, når patienten allerede udviser både zinkmangel og jernmangelanæmi, men lavere forhold af zink er af værdi, når patienten kun udviser jernmangelanæmi, men det ønskes at undgå eventuel zinkmangel.

Der er mange rapporter i litteraturen af non-specifik binding af zink til celleoverflader og også af en gensidig hæmning af biotilgængeligheden mellem jern og zink. Ved eksperimenter med radioaktivt mærket zink i den udkrængede rottejejunumsæk har det vist sig, at i fravær af binding til hydroxypyridon- og især hydroxypyronligander, såsom maltol og ethylpyromeconsyre, fjernes zink hurtigt fra inkubationsmediet ved binding til den mukøse overflade, men at ringe gennemtrængning finder sted på trods af denne ekstensive binding. I modsætning hertil, undgås sådan non-specifik binding, når zink er bundet til sådanne ligander. Som diskuteret mere detaljeret i det følgende er det ønskværdigt for at sikre at zink bindes, at et overskud af de ligand-tilvejebringende

forbindelser et til stede f.eks. at tilvejebringe et 1:5 eller større molært forhold af zink:ligand-tilvejebringende forbindelse eller forbindelser (både bundet og ubundet), da mangelen på et overskud af forbindelsen(erne) over det 1:2 molære forhold, som er nødvendigt for at danne det neutrale 2:1 kompleks, vil føre til at meget af zinken faktisk ikke bliver bundet. Sådan non-specifik binding kan godt være knyttet til de kraftige emetiske egenskaber af zinkforbindelser, således at anvendelsen af zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse meget vel kan ophæve denne uønskede bivirkning. Studier med radioaktivt mærket jern og zink i den udkrængede rottejejunum har desuden vist, at der ikke er nogen hæmning af optagelsen af zink fra 2:1 maltol:zink(II)-komplekset, når det anvendes i blanding med enten 3:1 maltol:jern(III)-komplekset eller med ferrosulfat, og at der heller ikke er nogen hæmning af optagelsen af jern fra 3:1 maltol:jern(III)-komplekset, når det er i blanding med 2:1 maltol:zink(II). I begge tilfælde undgås hæmningen v.h.a. nærværelsen af maltol i overskud.

P.g.a. det komplicerede forhold mellem jern og zink er anvendelsen af zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse i konjunktion med jernkomplekser indeholdende ligander udvalgt fra en lignende gruppe af forbindelser af særlig interesse i behandlingen af jernmangelanæmi især de mere komplicerede former for anæmi, hvori både zink- og jernniveauerne er vigende.

Et fjerde aspekt af den foreliggende opfindelse angår anvendelse af zink(II)-komplekset af:

- (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke eventuelt et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, til fremstilling af et farmaceutisk præparat til forøgelse af zinkniveauet i blodet eller til behandling af topisk bakterie- eller fungiinfektion.

Når zink administreres oralt, absorberes det af tarmen og overføres via den portale blodstrøm, hvor det hovedsageligt bindes til apotransferrin. Selv om apotransferrins affinitet for zink er væsent-

ligt mindre end for jern, er apotransferrin sjældent mættet med jern og bærer normalt kun ca. 35% af det mulige mætningsniveau. Apotransferrin i kroppen har således almindeligvis potentiale for yderligere metalkompleksbinding og apotransferrins affinitet for zink er, på trods af den er mindre end affiniteten for jern, ikke desto mindre ganske betydelig, idet værdien af β_2 er 14,6. For at zinkkomplekser skal kunne donere zink effektivt med apotransferrin bør β_2 -værdien for forbindelsen(erne), hvorfra komplekset er afledt være mindre end eller lig med apotransferrins. Maltols affinitet for zink ($\beta_2 = 9,8$) er derfor sådan, at et kompleks dannet med denne forbindelse er meget egnet til oral administrering af zink, da affiniteten er relativt høj, men på samme tid er mindre end apotransferrins, hvilket tillader effektiv udveksling af zink bundet til maltol til apotransferrin. Det bør bemærkes at maltol også er egnet til oral administrering af zink, p.g.a. at det har en lavere affinitet for calcium ($\beta_2 = 7,2$) end for zink. Inteferens med phytinsyre, phosphat og tetracyklin forudses at være minimal. Selv om det neutrale 2:1 maltol:zink-kompleks desuden er thermodynamisk stabilt, er det også yderst labilt og kan derfor donere zink til højaffinitets steder, som sådanne der findes i apotransferrin.

Det vil imidlertid kunne forstås, at udover at besidde egenskaber, som de ovenfor beskrevne for zinkmaltol, er det nødvendigt for en forbindelse, der skal tjene som zinkkilde ved oral administrering, at udvise et højt membran-gennemtrængelighedsniveau. En god indikation for en ligand-tilvejebringende forbindelses fysiske egenskaber og for et zinkkompleks i så henseende giver fordelingskoefficientværdien (K_{part}), som opnås ved fordeling mellem n-octanol og Tris hydrochlorid (20 mM, pH 7,4; Tris betegner 2-amino-2-hydroxymethylpropan-1,3-diol) ved 20°C, og som er udtrykt som forholdet (koncentration af forbindelse i organisk fase)/(koncentration af forbindelse i vandig fase). Foretrukne komplekser udviser en K_{part} -værdi for hver ligandtilvejebringende forbindelse på over 0,02 eller 0,05 men mindre end 3,0 især over 0,2 men mindre end 1,0 sammen med en K_{part} -værdi for det neutrale 2:1 ligand:zink(II)-kompleks på over 0,02 men mindre end 6,0 især på 0,05 eller 0,1 til 1,0. K_{part} -værdien for maltol er 0,66 og er for det neutrale 2:1 maltol:zink(II)-kompleks er 0,11, hvilke værdier ligger i de særligt fortrukne områder. Det vil imidlertid kunne forstås, at de mange forskellige ligander, som kan være tilstede i zinkkomplekser i

- overensstemmelse med den foreliggende opfindelse, tillader fremstillingen af komplekser med fordelingskoefficienter, som ligger overalt i de angivne områder. F.eks. kan et 2:1 kompleks med en højere fordelingskoefficient end 0,1 kan så-
- 5 ledes opnås ved anvendelse af maltol som den ene ligand og en anden forbindelse som den anden ligand. Højere fordelingskoefficienter kan alternativet opnås, om ønsket, ved anvendelsen af hydroxypyronforbindelser, som indeholder ekstra og/eller større alifatiske carbonhydridgruppe-substituenten på ringen. F.eks. er K_{part} -værdierne for
- 10 ethylpyromeconsyre og dets 2:1 zinkkompleks således højere end sådanne for maltol og den højere fordelingskoefficient for ethylforbindelsen reflekteres i en større optagelse af 2:1 komplekset i tests med hensyn til gennemtrængning af erythrocyter (yderligere specifikke data for fordelingskoefficienter angives i eksemplerne og med hensyn til
- 15 frie forbindelser i de ansøgninger, der tidligere er henvist til). Det bør imidlertid fremhæves, at på trods af det faktum at K_{part} -værdien for de 2:1 komplekser indeholdende to ligander afledt fra maltol ikke er særligt høj, har de vist sig at være meget egnede som en in vivo zinkkilde i de forsøg, der er blevet udført.
- 20 Visse aspekter ved formuleringen af zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse kan forøge deres aktivitet i særlige sammenhænge. Fremstillingen af af neutrale 2:1 zink(II)-komplekser kan således udføres ved neutral pH i i det væsentlige kvantitativt udbytte under anvendelse af et 2:1 molært forhold af liganden og et zinksalt,
- 25 idet sådanne fremstillinger omfatter anvendelsen af relativt koncentrerede opløsninger, som fortrinsvis indeholder et organisk opløsningsmiddel. Når et 2:1 forhold af den ligandtilvejebringende forbindelse:zink imidlertid er til stede i lave koncentrationer f.eks. 10^{-4} M i vand ved pH 7,4, har det vist sig, at kun en lille del af
- 30 zinken vil være til stede som 2:1 zink(II) kompleks, idet en væsentlig del er til stede som det fri metal og 1:1 kompleks. I tilfælde af et 2:1 forhold af maltol: zinkioner er den del zink, som er til stede som 2:1 zink(II)kompleks under sådanne betingelser kun ca. 15%, ca. 30% er til stede som 1:1 komplekset og ca. 50% som det fri metal,
- 35 mens der er meget lidt af 3:1 komplekset til stede. I nærværelse af et højere forhold af fri ligand-tilvejebringende forbindelse:zinkioner er den del af zink, som er til stede som 2:1 maltol:zink(II)-kompleks imidlertid meget forøget, idet den er ca. 68% for et 10:1 forhold af

maltol:zink og ca. 82% for et 20:1 forhold. Stillingen er den samme med hydroxypyridonligander, men med en lidt højere del af 2:1 zink(II)-komplekset ved ethvert særligt forhold.

- Optagelsen af zink fra komplekser ifølge den foreliggende op-
5 findelse vil fortrinsvis finde sted i tarmene, og det er ønskværdigt for optimal optagelse at zink er tilstede i tarmene i form af det neutrale 2:1 zink(II)-kompleks. Dette kan bedst opnås ved administrering af et sådant neutralt 2:1 kompleks, men det er også nødvendigt for optimal optagelse at sikre, at dette kompleks ikke dissocierer i nogen væsentlig
10 grad i tarmene. Ved pH på 7 til 9, som er fremherskende i tyndtarmen, og ved lave koncentrationer, vil det neutrale 2:1 kompleks imidlertid dissociere til dannelse af en lignende blanding, som beskrevet ovenfor, for et 2:1 forhold af maltol:zink ved en pH på 7,4 (omend med en lille forøgelse i det angivne forhold af 2:1 komplekset i forhold til det frie
15 metal, hvis pH er nærmere 7 end 9). Problemerne, som denne dissociation giver, der er særligt relevante i tilfælde af de foretrukne hydroxypyronligander, kan imidlertid overvindes ved at formulere 2:1 komplekset i nærværelse af de(n) frie forbindelse(r), som tilvejebringer liganden(erne), som er tilstede i komplekset, idet dissociationen derved
20 modvirkes af en massevirkningseffekt. Størrelsen af denne virkning illustreres af værdierne, som omtales ovenfor, på 15, 68 og 82% for forholdene af zink tilstede som 2:1 zink(II)-kompleks med maltol:zink forhold på henholdsvis 2:1, 10:1 og 20:1.

- Når der anvendes en blanding af et neutralt 2:1 zinkkompleks
25 indeholdende to ens ligander afledt fra en forbindelse og et andet neutralt 2:1 zinkkompleks indeholdende to ens ligander afledt fra en anden forbindelse, er det almindeligt at kombinere denne blanding med begge ligand-tilvejebringende forbindelser i fri form. Det vil også være almindeligt at anvende blandingen af begge ligand-tilvejebringende
30 forbindelser i fri form, når det neutrale 2:1 zinkkompleks indeholder to ligander afledt fra forskellige forbindelser. Et specifikt eksempel på en sådan blanding af komplekser og frie forbindelser er blandingen bestående af zinkmaltol, zinkethylpyromeconsyre, maltol og ethylpyromeconsyre. En blanding af disse forbindelser på fast form kan enten
35 fremstilles ved blanding af de fire enkelte komponenter eller direkte ved omsætning af en blanding af et overskud af maltol og ethylpyromeconsyre med et zinksalt i opløsning, efterfulgt af isoleringen af et fast produkt, som også vil indeholde en del af det blandede neutrale

(maltol)(ethylpyromeconsyre) 2:1 zinkkompleks. Blandinger, som indeholder mere end en metalfri forbindelse, kan også anvendes med fordel, når et neutralt 2:1 zinkkompleks indeholdende to ligander afledt fra én forbindelse anvendes sammen med et neutralt 3:1 jernkompleks indeholdende tre ligander afledt fra en anden forbindelse.

Det kan derfor være fordelagtigt at inkludere ethvert forhold af den metalfri forbindelse eller forbindelser i blanding med zinkkomplekserne ifølge den foreliggende opfindelse, især de neutrale 2:1 komplekser, men lille yderligere fordel opstår ved at forøge forholdet over et vist niveau, og administreringen af større mængder af den frie forbindelse eller forbindelser kan være fysiologisk uønskelig i visse tilfælde. Et foretrukket område for det molære forhold af den frie forbindelse til stede i præparaterne ifølge den foreliggende opfindelse, som indeholder et zinkkompleks, hvori liganderne er ens, er således fra 0 til 100 mol fri forbindelse:1 mol zinkkompleks, især af det neutrale 2:1 zinkkompleks. Bekvemst anvendes et forhold på op til ikke mere end 50, 30 eller især 20 mol:1 mol med et nedre niveau på 0,5, 1 eller 2 mol:1 mol. Et særligt foretrukket område er fra 2 eller 3 op til 18 eller 20 mol fri forbindelse: 1 mol zinkkompleks, især 2 eller 3 op til 8 eller 10 mol: 1 mol. Når der er mere end en zinkbundet ligand til stede i præparatet enten i form af et blandet ligand-zinkkompleks og/eller af en blanding af zinkkomplekser, er forholdet af hver ligand-tilvejebringende forbindelse i forhold til zinkkomplekset indeholdende denne ligand bekvemt indenfor de ovenfor angivne områder. Det vil imidlertid kunne forstås, at når mere end en ligand-tilvejebringende forbindelse er til stede, er det mindre sandsynligt at forholdet af hver vil være i den øvre ende af det bredeste område 0 til 100 mol fri forbindelse: 1 mol zinkkompleks; forholdet ligger mere sandsynligt i området 0,5 til 50 mol: 1 mol eller sådanne lavere områder som ovenfor angivet. Når et jernkompleks, som indeholder en ligand forskellig fra enhver af liganderne til stede i et zinkkompleks, er tilstede, kan det være fordelagtigt i præparatet at inkludere et lignende forhold af den fri forbindelse i forhold til jernkomplekset, som diskuteret ovenfor for zinkkomplekserne.

Som yderligere eksemplificering kan det anføres, at typiske præparater i enhedsdosisform ofte kan indeholde en mængde zinkkompleks eller -komplekser indeholdende fra ca 1 til 15 mg zink sammen med en samlet mængde på 20 til 25 mg ligand-tilvejebringende forbindelse eller

forbindelser i både fri og kompleks form, f.eks. 5 mg zink med 100 mg af en hydroxypyron eller hydroxypyronblanding. I tilfælde af blandet zinkkompleks/jernkompleks-præparater kan disse typisk indeholde fra 1 til 10 mg zink sammen med 10 til 20 mg jern og en samlet mængde på 90
5 til 360 mg ligand-tilvejebringende forbindelse eller forbindelser i både og fri og kompleks form, f.eks. 2 mg zink sammen med 15 mg jern og 135 mg af en hydroxypyron eller hydroxypyronblanding.

Det vil kunne forstås, at sådanne metalfri forbindelse/zinkkompleksblandinger i de ovenfor beskrevne forhold er hidtil ukendte og
10 at sådanne hidtil ukendte blandinger omfattes af den foreliggende opfindelse.

Zinkkomplekser ifølge den foreliggende opfindelse, såsom det neutrale 2:1 maltol:zink(II)-kompleks er, når de anvendes alene, overlegne både med hensyn til absorption og emetisk virkning i forhold til
15 zinksulfat, som for tiden anvendes til behandling af zinkmangel. Det bør imidlertid fremhæves, at anvendelsen af disse komplekser i blanding med en fri ligand-tilvejebringende forbindelse eller forbindelser fører til en endnu større forbedring med signifikant højere optagelse af zink, og at sådanne blandinger derfor er et meget vigtigt træk af den fore-
20 liggende opfindelse.

Før et zinkkompleks, som er administreret oralt, når tarmene, må det selvfølgelig passere gennem maven, og med mindre der tages forholdsregler for at forhindre det, vil dissociation af komplekset finde sted. Ved den sure pH på 1 til 3, som er fremherskende i maven, vil et 2:1
25 kompleks blive næsten fuldstændigt dissocieret til det frie metal sammen med den frie ligand-tilvejebringende forbindelse. Anvendelsen af komplekset i blanding med den metalfri forbindelse(r) på samme måde som beskrevet ovenfor vil have nogen virkning på dissociationen af zinkkomplekset i maven. I modsætning til de tilsvarende jernkomplekser, hvor
30 en relativt lille mængde af de(n) fri forbindelse(r) kan hæmme dissociationen under sure betingelser betydeligt (tilstedeværelsen af den frie forbindelse i forhold som ovenfor angivet tjener derfor yderligere en funktion i blandede zinkkompleks/jernkompleksformuleringer) er tilbøjeligheden til dannelse af det frie metal ved en lav
35 pH så markant for zinkkomplekserne, at en signifikant grad af dissociation vil finde sted med mindre et meget stort forhold af den frie forbindelse anvendes, og dette kan være uønskeligt i visse tilfælde ud fra et fysiologisk synspunkt.

Når det dissocierede kompleks først har passeret maven, bør det gendannes i tyndtarmen, hvis det fri metal og den metalfri forbindelse i et egnet forhold forlader maven samtidigt, især hvis nogen mængde af den fri forbindelse er tilstede i startformuleringen. Det foretrakkes
5 imidlertid at formulere zinkkomplekset på en sådan måde, at en sådan dissociation forebygges eller reduceres (sådanne formuleringsmetoder har også en lignende fordelagtig effekt med hensyn til forebyggelse af dissociation af jernkomplekserne i blandede zink/jernformuleringer). Især kan en af flere variationer anvendes hvorved ekspositionen af
10 zinkkomplekset for de sure betingelser i maven undgås eller reduceres. Sådanne fremgangsmåder kan omfatte forskellige typer af kontrollerede frigørelsessystemer, der strækker sig fra et system, der f.eks. kan være baseret på en polymer, som simpelthen tilvejebringer en tidsforsinket frigørelse af komplekset via et system, der er modstandsdygtigt overfor
15 dissociation under sure betingelser f.eks. ved anvendelse af puffere, til et system der har tendens til frigørelse under de betingelser, der er fremherskende i tyndtarmen f.eks. et pH-følsomt system, der er stabiliseret mod pH på 1 til 3, som er fremherskende i maven, men ikke mod en pH på 7 til 9, som er fremherskende i tyndtarmen. Da mavens pH er
20 højere efter et måltid, kan det være fordelagtigt, uanset hvilken fremgangsmåde der anvendes, at administrere zinkkomplekserne på et sådant tidspunkt.

En særlig bekvem fremgangsmåde til fremstilling af et præparat med kontrolleret frigørelse omfatter indkapsling af zinkkomplekset
25 med et materiale, som er modstandsdygtig overfor dissociation i maven, men som er tilpasset dissociering i tyndtarmen (eller muligvis hvis dissociationen er langsom, i tyndtarmen). Sådant indkapsling kan opnås med liposomer, idet phospholipider almindeligvis er resistente overfor dissociation under sure betingelser. De liposomalt omgivne 2:1 zink(II)-
30 komplekser kan derfor overleve det sure miljø i maven uden at dissociere. Ved indgang til tyndtarmen ødelægges bugspytkirtelenzymerne hurtigt liposomernes phospholipid-afhængige struktur, hvorved 2:1 komplekset frigøres. Liposomsprængningen lettes yderligere ved tilstedeværelsen af galdesyresalte. Imidlertid er det almindeligvis mere
35 bekvemt at udføre indkapslingen, inklusive mikroindkapsling, under anvendelse af en fast sammensætning af en pH-følsom natur.

Fremstillingen af faste præparater, der er indrettet til at modstå dissociation under sure betingelser, men indrettet til at disso-

ciere under ikke-sure betingelser er velkendte og omfatter oftest
brugen af et enterisk overtræk, hvorved tabletter, kapsler herunder
"spausules" etc. eller enkelte partikler eller granula, der er
indeholdt heri, overtrækkes med et egnet materiale. Sådanne frem-
5 gangsmåder er f.eks. beskrevet i artiklen med titlen "Production of
enteric coated capsules" af Jones i Manufacturing Chemist and Aero-
sol News, maj 1970, og i standard referencebøger, som f.eks. "Phar-
maceutical Dosage Forms", vol III af Liebermann og Lackmann (udgivet af
Marcel Decker). En særlig fremgangsmåde til indkapsling omfatter
10 anvendelsen af gelatinekapsler, der er overtrukket med et
celluloseacetatphthalat/diethylphthalat-lag. Dette overtræk beskytter
gelatinekapselen mod virkning af vand under sure betingelser i ma-
ven, hvor overtrukket protoneres og derfor er stabilt. Overtrukket
destabiliseres imidlertid under neutrale/basiske betingelser i tarmene,
15 hvor det ikke protoneres, og herved tillades vand at virke på gela-
tinen. Når først det vandopløselige 2:1 zink(II)-kompleks er frigivet
i tarmen, er dets gennemtrængningshastighed af tarmvæggen relativ
konstant uanset hvor det befinder sig i tarmen, d.v.s hvad enten det er
i jejunum, ileum eller colon. Andre eksempler på anvendelige fremgangs-
20 måder til formulering omfatter brugen af polymere hydrogelformuleringer,
som ikke ligefrem indkapsler zinkkomplekset, men som er modstandsdygtigt
overfor dissociation under sure betingelser.

Udover at de ovenfor beskrevne zinkkomplekser kan anvendes i
behandlingen af zinkmangel er de også af potentiel interesse til
25 anvendelse i andre farmaceutiske sammenhænge. Forskellige zinkfor-
bindelser har vist sig at besidde baktericide og fungicide egenska-
ber og anvendes især i dermatologiske præparater og i præparater
til behandlingen af infektioner i øjet. Der er også tegn på at zink-
mangel er forbundet med svækket sårheling, og zinkforbindelser er
30 derfor også nyttige i denne sammenhæng. Mange af de eksisterende
zinkforbindelser, som anvendes farmaceutisk har imidlertid en irrite-
rende/adstringerende virkning, hvilket er uønsket, og zinkkomplek-
serne ifølge opfindelsen er af potentiel værdi for anvendelse i så-
danne andre farmaceutiske sammenhænge p.g.a. at de ikke er irriterende,
35 asstringerende og toksiske sammenlignet med de tidligere anvendte
forbindelser. Zinkkomplekserne ifølge opfindelsen herunder 3:1 og især
1:1 komplekserne såvel som 2:1 komplekserne er således af betydelig
interesse i behandlingen af topiske reaktioner, som involverer enten

bakterier eller svampe, hvor der er en overliggende inflammatorisk komponent og/ eller forsinket sårheling.

- Til sådanne forskellige farmaceutiske anvendelser kan forskellige former for præparater, som beskrevet ovenfor, anvendes, selv om
- 5 præparater egentil lokalbehandling, såsom cremer, lotioner eller dråber og herunder shampoos er af særlig interesse. Det bør forstås, at tilstedeværelsen af de(n) metalfri ligand-tilvejebringende forbindelse(r) i sådanne præparater i forhold som diskuteret ovenfor igen kan være af værdi af samme eller andre årsager, som ovenfor diskuteret.
- 10 Opfindelsen belyses nærmere af de følgende eksempler:

Eksempel 1

(A) Fremstilling af zinkmaltol

- En chloroform opløsning af maltol⁽¹⁾ blandes med en 1M opløsning af
- 15 zinkchlorid i ethanol til tilvejebringelse af et 2:1 molært forhold af maltol:zink i blandingen. Efter 5 minutter ved 20°C tilsættes et 10 molært overskud af fast natriumcarbonat, og blandingen omrøres i 10 minutter. Blandingens filtreres dernæst, og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver det neutrale kompleks indeholdende maltol og Zn^{++} i
- 20 forholdet 2:1. Omkrystallisering af 2:1. komplekset fra ethanol giver et hvidt krystallinsk fast stof i et i det væsentlige kvantitativt udbytte, smeltepunkt 203-204°C (med dekomponering);
- ν_{max} (nujol) 1632, 1603 cm^{-1} ; $\delta(d_6DMSO)$ 7,96 (d, 1H), 6,40 (d, 1H), 2,20 (s, 3H).

25

(B) Fremstilling af zinkethylpyromeconsyre

- Samme fremgangsmåde som beskrevet under (A) anvendes med ethylpyromeconsyre i stedet for maltol, hvilket giver det neutrale 2:1 kompleks fra ethanol som et hvidt krystallinsk fast stof i et i det
- 30 væsentlige kvantitativt udbytte, smeltepunkt 271-272°C (med dekomponering), ν_{max} (nujol) 1620, 1560, 1530 cm^{-1} ; $\delta(d_6DMSO)$ 8,0 (d, 2H), 6,4 (d, 2H), 2,6 (q, 4H), 1,0 (t, 6H).

- 35 ⁽¹⁾ Koncentrationen af maltol er 0,02M, selv om dette tal kan variere for denne og andre hydroxypyroner, eksempelvis inden for intervallet 0,01 til 0,5M, idet det i den øverste del af intervallet er begrænset af forbindelsens opløselighed i reaktionsopløsningsmidlet.

Eksempel 2Fremstilling af (maltol)ethylpyromeconsyre)-zinkkompleks

- En chloroform opløsning indeholdende 1 mol ækvivalent af våde maltol og ethylpyromeconsyre⁽²⁾ blandes med en 1 M opløsning af zinkchlorid i ethanol til tilvejebringelse af et 2:1 molært forhold af ligand-tilvejebringende forbindelse:zink i blandingen. Efter 5 minutter ved 20°C tilsættes et 10 molært overskud af fast natriumcarbonat, og blandingen omrøres i 10 minutter. Blandingens filtreres, og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver et hvidt krystallinsk fast stof indeholdende det neutrale 2:1 (maltol)(ethylpyromeconsyre)zink(II)-kompleks som det fremherskende produkt, smeltepunkt 136-138°C; $\nu_{\max}$ (nujol) 1610, 1570 cm^{-1} ; $\delta(\text{d}_6\text{DMSO})$ 8,0 (d, 2H), 6,4 (d, 2H), 2,6 (q, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,0 (t, 3H). (Det faste stof omkrystalliseres ikke, idet dette kunne føre til omdistribueret af liganderne.)

(2) Koncentrationen af både maltol og ethylpyromeconsyre er 0,02M i hvert tilfælde selv om dette tal kan variere som diskuteret i fodnoten til eksempel 1.

Eksempel 3(A) Fremstilling af zink-1-ethyl-3-hydroxypyridin-2-on

- En chloroform opløsning af 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on⁽³⁾ blandes med en 1M opløsning af zinkchlorid i ethanol til tilvejebringelse af et 2:1 molært forhold af hydroxypyridon:zink i blandingen. Efter 5 minutter ved 20°C tilsættes et 10 molært overskud fast natriumcarbonat, og blandingen omrøres i 10 minutter. Blandingens filtreres dernæst, og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver det neutrale kompleks indeholdende hydroxypyridon og Zn^{++} i et 2:1 forhold. Omkrystallisering af 2:1 komplekset fra ethanol giver et hvidt krystallinsk fast stof i et i det væsentlige kvantitativt udbytte, smeltepunkt 200°C (med dekomponering); $\nu_{\max}$ (l) 1620 cm^{-1} ; $\delta(\text{d}_6\text{DMSO})$, 6,80 (q, 1H), 6,30 (m, 2H), 4,01 (q, 2H), 3,3 (s, 3H), 1,23 (t, 3H).

- (3) Koncentrationen af 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on er 0,02M, selv om dette tal kan varieres, eksempelvis inden for intervallet 0,01 til 0,5M, idet den i den øverste del af intervallet er begrænset af forbindelsens opløselighed i reaktionsopløsningsmidlet.

(B) Fremstilling af zink-3-hydroxy-1,2-dimethylpyrid-4-on

Samme fremgangsmåde som beskrevet under (A) anvendes, idet 3-hydroxy-1,2-dimethylpyrid-4-on anvendes i stedet for 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on, hvilket giver det neutrale 2:1 kompleks fra ethanol som et hvidt krystallinsk fast stof i et i det væsentlige kvantitativt udbytte, smeltepunkt 190°C (med dekomponering); $\nu_{\max}$ 1655, 1612 cm^{-1} ; $\delta(\text{d}_6\text{DMSO})$; 7,53 (d, 1H), 6,20 (d, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

Eksempel 4Fordelingsdata for zinkkomplekser og ligand-tilvejebringende forbindelser

Fordelingskoefficienten, K_{part} , som er forholdet (koncentration af forbindelse i n-octanol)/(koncentration af forbindelse i vandig fase) ved fordeling mellem n-octanol og vandig Tris hydrochlorid (20 mM, pH 7,4; Tris betegner 2-amino-2-hydroxymethylpropan-1,3-diol), måles ved 20°C for zinkkomplekser indeholdende forskellige ligander og de dertil svarende ligand-tilvejebringende forbindelser, som opgives i tabel 1. I tilfælde af visse af kompleksene måles fordelingskoefficienten for 2:1 ligand:zink(II)-komplekset også i nærværelse af forskellige mængder af den metalfri ligand-tilvejebringende forbindelse i et overskud på 1:2 zink(II):forbindelse.

I hvert tilfælde opløses materialet først i vandig Tris hydrochlorid ved en koncentration på 10^{-4}M i forhold til zink. Komplekserne af radioaktivt ^{65}Zn fremstilles in situ i pufferen ved tilsætning af ^{65}Zn mærket ZnCl_2 til en passende mængde af den metalfri ligand-tilvejebringende forbindelse og efterfølgende justering af pH til 7,4 ved tilsætning af Tris-fri base. Der anvendes kun syrevaskede glasvarer, og efter blanding af 5 ml af den 10^{-4}M vandige opløsning med 5 ml n-octanol i 1 minut centrifugeres den vandige n-octanol-blanding ved 1000 g i 30 sekunder. De to resulterende faser adskilles for at der kan foretages en koncentrationsbestemmelse på begge. I tilfælde af de ligand-tilvejebringende forbindelser udføres bestemmelsen ved spektrofotometri i området 220 til 340 nm, mens bestemmelsen i tilfælde af komplekser udføres ved tælling af ^{65}Zn .

Typiske opnåede værdier vises i tabel 1, idet fordelingskoefficienterne angives for de første to zinkkomplekser med forskellige samlede forhold af zink:forbindelse, idet de første to moldele af for-

bindelse:zink er tilgængelige for binding til zink i et 2:1 ligand:zink-(II)-kompleks, og de andre repræsenterer fri forbindelse (d.v.s. et 1:4 zink(II):forbindelse forhold indikerer 1 mol del af 2:1 komplekset og 2 mol dele af den frie forbindelse, hvis en fuldstændig omdannelse af zink til 2:1 komplekset finder sted, selv om det vil kunne forstås, at ikke alt zink faktisk vil være tilstede som 2:1 kompleks, idet forholdet af denne form forøges ved massevirkningseffekten, når forholdet af ligand-friforbindelse øges.

Ved anvendelsen af sammenhørende lininger og de kendte populationer for komplekser indeholdende forskellige forhold af zink:ligand tilstede under de betingelser, som anvendes i dette eksperiment, er det muligt at beregne teoretiske K_{part} -værdier for neutrale 2:1 ligand:zink(II)-komplekser af maltol og ethylpyromeconsyre, idet sådanne er henholdsvis 0,11 og 1,33 som tidligere anført. Det ses at de i tabel 2 angivne værdier for et 1:2 zink(II):forbindelse forhold i alle tilfælde er betydeligt mindre, men det vil kunne forstås, at disse er målte værdier, som reflekterer det faktum, at kun en del af maltol eller ethylpyromeconsyre er bundet til zink som et 2:1 ligand:zink(II)-kompleks ved disse betingelser. Når forholdet forøges med en deraf følgende forøgelse i mængden af tilstedeværende 2:1 kompleks, vil det ses, at de målte værdier nærmer sig de beregnede værdier.

Tabel 1Fordelingskoefficienter

5	Ligandtilvejebringende forbindelse	Fri forbindelse K_{part}	Zinkforbindelser	
			Zink:forbindelse molært forhold	K_{part}
10	maltol	0,66	1:2	0,038
			1:6	0,078
			1:20	0,109
15	ethylpyromeconsyre	0,75	1:2	0,172
			1:6	0,653
			1:20	1,241
20	3-hydroxy-1-methylpyrid- 2-on	0,44	1:2	0,13
			1:2	0,76
			1:2	2,74
25	3-hydroxy-1-propylpyrid- 2-on	0,78	1:2	2,74

Eksempel 5Zinkkomplekseres evne til at donere zink til apotransferrin

- Apotransferrin ($10^{-4}M$) og det ^{65}Zn radioaktivt mærkede zink-
- 30 kompleks af maltol (komplekset fremstilles in situ i pufferen under anvendelse af ^{65}Zn radioaktivt mærket $ZnSO_4$ i en koncentration på $10^{-4}M$ og et 10 molært forhold af maltol) inkuberedes sammen i Tris hydrochlorid (50 mM, puffet til en pH på 7,4) ved $37^\circ C$ i 10 minutter, hvorefter der udtoges en 1 ml prøve fra mediet, som sættes til en
- 35 "PD10"-kolonne. 0,5 ml fraktioner opsamledes direkte i scintillationsglas til tælling. ^{65}Zn bundet til både apotransferrin og maltol beregnedes, og det viste sig, at over 95% af zinket var blevet fjernet fra zinkkomplekset.

Eksempel 6In vitro tests vedrørende zinkkompleksernes gennemtrængning af humane erythrocyter

- Akkumuleringen af zink i humane erythrocyter, som kommer i forbindelse med de neutrale 2:1 ligand:zink(II)-komplekser af maltol og ethylpyromeconsyre iagttoges ved, at man i en time ved 37°C inkuberede en 5% suspension af erythrocyter i et medium bestående af det ^{65}Zn mærkede zinkkompleks i vandig natriumchlorid (130 mM) justeret til pH 7,4 v.h.a. 20 mM Tris hydrochlorid (2 ml). Zinkkomplekset dannedes in situ i den
- 10 forpuffede opløsning under anvendelse af ^{65}Zn mærket ZnSO_4 i en koncentration på 0,25 mM sammen med maltol eller ethylpyromeconsyre i et molært forhold af zink:forbindelse på 1:0, 1:2, 1:5, 1:10 eller 1:20, d.v.s. at koncentrationen af den ligand-tilvejebringende forbindelse var henholdsvis 0, 0,5, 1,25, 2,5 eller 5 mM. Forholdene 1:2, 1:5, 1:10 og
- 15 1:20 tilvejebringer en forøget mængde af det neutrale 2:1 zink(II)-kompleks sammen med forskellige mængder af den frie forbindelse, som forklaret i eksempel 4, idet en lille mængde Tris fri base (ca. 2 mM) sættes til for at undgå en sur pH ved reaktionen, som danner komplekset.

- Efter denne inkubationsperiode placeredes en portion af erythrocyt/medium-blanding over et lag af siliconeolie, og erythrocyterne udskiltes ved centrifugering gennem olien. Dernæst taltes de ^{65}Zn -niveauer, der var forbundet med erythrocyterne og inkubationsmediet. De opnåede resultater vistes i tabel 2, hvori der er angivet den mængde af ^{65}Zn , der trænger ind i erythrocyterne (nmol pr 20 μl pakkede
- 25 erythrocyter), idet de angivne værdier i hvert tilfælde betegner middelværdien af mindst tre bestemmelser. Det ses, at optagelsen forøges med en forøgelse i mængden af tilstedeværende fri forbindelse, ligesom forholdet af zink tilstede som 2:1 komplekset forøges ved massevirknings-effekten.

Tabel 2

Erythrocyters optagelse af zinkkomplekser

	Ligand-tilvejebringende 5 forbindelse	Zink:forbindelse molært forhold	Optagelse af zink (n.mol)

	ingen	1:0	2,0
	maltol	1:2	6,7
		1:5	7,9
10		1:10	8,5
		1:20	14,4
	ethylpyromeconsyre	1:2	8,5
		1:5	20,0
15		1:10	28,0
		1:20	35,0

Eksempel 7(A) In vitro tests vedrørende zinkkompleksers gennemtrængning af20 rotters jejunumsæk

Zinkoptagelsen i den inverterede rotte-jejunumsæks serøse rum sammenlignedes med hensyn til de neutrale 2:1 ligand:zink(II)-komplekser af maltol, ethylpyromeconsyre, 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on og 3-hydroxy-1-propylpyrid-2-on. Rotter (Sprague Dawley af hankøn, 60 g) dræbtes og

25 jejunum fjernedes, udkrængedes og blev skåret i tre segmenter (længde 4 cm). Segmenterne bandtes i begge ender og fyldtes med Krebs Ringer puffer (0,2 ml) og inkuberedes i Krebs Ringer puffer indeholdende ^{65}Zn komplekser ved 37°C i tidsrum på op til en time (zinkkomplekserne fremstilledes in situ ifølge en fremgangsmåde analog med den i eksempel 6

30 beskrevne, men uden anvendelse af Tris-fri base). Sækkens indhold taltes med hensyn til indhold af ^{65}Zn , idet de opnåede resultater vises i tabel 3, hvor mængden af ^{65}Zn , som er kommet ind i den serøse del af sækken, opgives i n.mol, og de angivne værdier i hvert tilfælde er midelværdien for tre bestemmelser.

35 I tilfælde af hydroxypyronligander kan det igen ses, at optagelsen forøges med en forøgelse i mængden af fri forbindelse, som er tilstede, hvilket er et resultat af en forøgelse af den tilstedeværende mængde 2:1 kompleks.

Tabel 3
Zinkkompleksers gennemtrængning af rotters jejunumsæk

5	Ligand-tilvejebringende forbindelse	Zink:forbindelse molært forhold	Optagelse af zink (n.mol)

	ingen	1:0	10,0
	maltol	1:2	12,2
10		1:5	32,4
		1:10	41,8
		1:20	76,5
	ethylpyromeconsyre	1:10	33,4
15		1:20	41,9
	1-ethyl-3-hydroxypyrid- 2-on	1:2	36,4
		1:10	24,2
20	3-hydroxy-1-propylpyrid- 2-on	1:2	22,0

(B) In vitro tests vedrørende blandinger af zink og jerns gennem-
trængning af rottejejunumsæk

25 Den under (A) beskrevne fremgangsmåde anvendes til at studere optagelsen af zink fra puffer indeholdende en 10^{-3} M koncentration af zink i form af ^{65}Zn mærket zinksulfat i blanding med et 1:10 molært forhold af maltol, idet optagelsen måles uden tilstedeværelse af nogen jernforbindelse og i tilstedeværelse af en 10^{-3} M koncentration af jern enten som ferrosulfat eller som det 3:1 maltol:jern(III) kompleks i nærværelse af fri maltol (1:10 samlet molært forhold af ferrichlorid:maltol).

35 På præcis samme måde studeredes optagelsen af jern fra puffer indeholdende en 10^{-3} M koncentration af jern i form af det ^{59}Fe mærkede ferrichlorid i blanding med et 1:10 molært forhold af maltol. Optagelse måles uden tilstedeværelse af noget zinkkompleks, og i nærværelse af 10^{-3} M zink enten som zinksulfat eller som 2:1 maltol:

zink(II)-komplekset i nærværelse af fri maltol (1:10 samlet molært forhold af zinksulfat:maltol).

Sækkens indhold taltes med hensyn til indhold af ^{65}Zn eller ^{59}Fe , og de opnåede resultater vises i tabellerne 4 og 5, hvor mængden af zink eller jern, som er trængt ind i den serøse del af sækken opgives i n.mol, og de angivne værdier i hvert tilfælde er middelværdien af tre bestemmelser. Det kan ses at et overskud af en hydroxypyronligand-tilvejebringende forbindelse ikke giver en signifikant gensidig inhibering af optagelsen af enten jern eller zink fra et neutralt kompleks dannet med denne hydroxypyronligand. Selv om en let hæmning af jernoptagelsen fra jernmaltol i blanding med fri maltol iagttoges i nærværelse af zinksulfat, iagttoges denne hæmning ikke i nærværelse af zinkmaltol. (I disse forskellige eksperimenter er 1:10 forhold af zink:maltol nødvendigt for at sikre at en væsentlig del af metallet bindes til liganden i form af det neutrale 2:1 maltol:zink(II)-kompleks, og et lignende forhold af jern:maltol anvendes af hensyn til ensartethed).

Tabel 4

20 Jerns indflydelse på zinkoptagelse

Komponent indeholdende zink	Komponent indeholdende jern	Optagelse af zink (n.mol)

25 1:10 zink(II):maltol	ingen	42
1:10 zink(II):maltol	jern(II)sulfat	39
1:10 zink(II):maltol	1:10 jern(III):maltol	46

30

35

Tabel 5
Zinks indflydelse på jernoptagelse

	Komponent indeholdende	Komponent indeholdende	Optagelse af zink (n.mol)
5	jern	zink	
	-----	-----	-----
	1:10 jern(III):maltol	ingen	44
	1:10 jern(III):maltol	zinksulfat	33
10	1:10 jern(III):maltol	1:10 zink(II):maltol	45
	-----	-----	-----

15 Eksempel 8

In vivo tests med hensyn til zinkkompleksers virkning i rotter

To rotter (300-350 g) anæstetiseredes med nembutal (0,25 ml) og dernæst med ether. Der foretoges et midtlinie-indsnit, og en ^{65}Zn mærket prøve (20 μg Zn, 1 μCi) indeholdende et 1:10 samlet molært forhold af zinksulfat:maltol (fremstilles som beskrevet i eksempel 5) førtes ind i duodenum via et lille indsnit. Bugvæggen lukkedes med en sutur. Dyrerne slagtedes henholdsvis 2 og 4 timer efter administreringen af prøven, og forskellige organer undersøgte for ^{65}Zn indhold. Tabel 6 viser i hvilke niveauer ^{65}Zn var til stede efter 2 og 4 timer i de forskellige organer, som en procentdel af den administrerede zinkmængde. Det kan ses at totalen ikke er 100%, da ikke alle organer er blevet undersøgt, men det kan antages, at al den zink, som ikke forefindes i tarmudskylningen, er blevet absorberet, selv om det hele ikke er blevet lokaliseret.

I eksperimentet vistes blodniveauerne af ^{65}Zn at være højest mellem 60 og 90 minutter efter den intra-duodenale administrering af zinkkomplekset. I de fraskilte blodprøver vistes det meste af radioaktiviteten at være lokaliseret i fraktionerne af plasmaet med højere molekylvægt, hvorimod der intet fandtes i fraktionerne med lavere molekylvægt, hvilket indikerer, at zink bandtes til plasmaproteiner (adskillelsen i fraktioner udførtes på en "PD10"-kolonne).

Tabel 6
Fordeling af zink i forskelligt rottevæv

5	Væv	Mængden af zink som en procentdel af den originale dosis	
		Rotte slagtet efter 2 timer	Rotte slagtet efter 4 timer
10	-----	-----	-----
	Tarmindhold	57,8	44,8
	Tarmvæg	15,1	12,1
	Knoglemarv	1,3	2,0
	Lever	6,4	10,4
15	Nyrer og urin	1,0	2,0
	Blod	2,3	2,5
	Milt	0,2	0,4
	Hjerte	0,1	0,2
	Skeletmuskler	N.D. (1)	2,7
20	Lunger	N.D.	0,3
	Testikler	N.D.	0,1
	Hjerne	N.D.	<0,01

25 (1) N.D. indikerer at disse værdier ikke bestemtes i rotten, som slagtedes efter 2 timer.

Eksempel 9

Kapselformulering med zinkmalto1

30

(A) Et præparat af 2:1 maltol:zink(II)-kompleks i blanding med maltol (indeholdende en vægt del zink til 20 vægtdele maltol) opnås ved blanding af komplekset fremstillet som beskrevet i eksempel 1 med maltol i et 1:3,2 vægtforhold. Det resulterende præparat deles i portioner på 50 mg

35 og sættes til standard-gelatinekapsler (16 x 5 mm), idet hver kapsel indeholder ca. 2,5 mg zink. Kapslerne overtrækkes dernæst med et celluloseacetatphthalat/diethylphthalat-lag (6 mg overtræk pr. cm² kapseloverflade) ved en fremgangsmåde i lille målestok analog med den af

Jones (i Manufacturing Chemist and Aerosol News, omtalt ovenfor) beskrevne fremgangsmåde. Sådanne kapsler er modstandsdygtige over for dissociation i maven, men vil undergå dissociering i tarmen.

- 5 (B) I et alternativt præparat erstattes den i (A) anvendte blanding af 2:1 maltol:zink(II)-kompleks og maltol med en blanding af 2:1 maltol:zink(II)-kompleks, 3:1 maltol:jern(III)-kompleks og maltol i et 2:23:5 vægtforhold for at tilvejebringe et 2:15:135 vægtforhold af zink:jern:maltol (bundet og ubundet). Hver kapsel indeholder ca. 0,65 mg
- 10 zink og 5 mg jern.

PATENTKRAV

1. Zink(II)-kompleks til medicinsk anvendelse, KENDETEGNET ved, AT det er zink(II)-komplekset af
- 5 (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af
- 10 (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller en 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke evt. et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer.
- 15 2. Zink(II)-kompleks, KENDETEGNET ved, AT det er zink(II)-komplekset af
- (1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyroner, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer,
- 20 eller af
- (2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke evt. et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer,
- 25 er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, men undtaget komplekser, hvori liganden tilvejebringes af en forbindelse, eller hver ligand tilvejebringes af den samme forbindelse, hvilken er 3-hydroxy-2-methyl-4-pyron, 3-hydroxy-6-methyl-4-pyron eller 1-methyl-3-hydroxypyrid-4-on.
- 30 3. Kompleks ifølge krav 1 eller 2, KENDETEGNET ved, AT det er af type (1).
4. Kompleks ifølge krav 3, KENDETEGNET ved, AT alle liganderne tilvejebringes af samme forbindelse af type (1).
5. Kompleks ifølge krav 3 eller 4, KENDETEGNET ved, AT
- 35 forbindelsen af type (1) er en 3-hydroxy-4-pyron, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alkylgruppe med 1 til 4 carbonatomer.
6. Kompleks ifølge krav 5, KENDETEGNET ved, AT forbindelsen er en

3-hydroxy-4-pyron, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en methyl-, ethyl-, n-propyl- eller isopropylgruppe.

7. Kompleks ifølge krav 6, KENDETEGNET ved, AT den substituerede
5 3-hydroxy-4-pyron har en enkelt substituent i 2- eller 6-stillingen.

8. Kompleks ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT liganden er 3-hydroxy-2-methyl-4-pyron eller 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyron.

9. Kompleks ifølge krav 1 eller 2, KENDETEGNET ved, AT det er af type (2).

10 10. Kompleks ifølge krav 9 KENDETEGNET ved, AT forbindelsen af type (2) er en 3-hydroxypyrid-2-on, i hvilken hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilken evt. ét eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er
15 erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer.

11. Kompleks ifølge krav 9 eller 10, KENDETEGNET ved, AT de(n) alifatiske carbonhydridgruppe(r) i forbindelsen af type (2) er alkylgruppe(r) med 1 til 4 carbonatomer.

12. Kompleks ifølge krav 9, KENDETEGNET ved, AT forbindelsen af
20 type (2) er en 3-hydroxypyrid-2-on, der er substitueret på nitrogenatomet med en substituent valgt blandt methyl, ethyl, n-propyl og isopropyl, eller en 3-hydroxypyrid-4-on, der er substitueret på nitrogenatomet og yderligere på carbonatomet i enten 2- eller 6-stillingen med ens eller forskellige substituenten valgt blandt methyl,
25 ethyl, n-propyl og isopropyl.

13. Kompleks ifølge krav 12, KENDETEGNET ved, AT forbindelsen af type (2) er 3-hydroxy-1-methylpyrid-2-on, 1-ethyl-3-hydroxypyrid-2-on, 3-hydroxy-1-propylpyrid-2-on eller 3-hydroxy-1,2-dimethylpyrid-4-on.

14. Kompleks ifølge ethvert af de foregående krav, KENDETEGNET
30 ved, AT det har et 2:1 molært forhold af ligand-tilvejebringende forbindelse eller forbindelser:zink(II).

15. Kompleks ifølge krav 1 eller 2, KENDETEGNET ved, AT det har et 2:1 molært forhold af hydroxypyron:zink(II), idet hydroxypyronen tilvejebringer begge ligander.

35 16. Kompleks ifølge krav 15, KENDETEGNET ved, AT hydroxypyronen er som defineret i ethvert af kravene 5 til 7.

17. Kompleks ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT det har et 2:1 molært forhold af hydroxypyron:zink(II), hvori hver ligand separat

tilvejebringes af 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone eller 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone.

18. Komplex ifølge krav 2, KENDETEGNET ved, AT det har et 2:1 molært forhold af hydroxypyron:zink(II), hvori én ligand tilvejebringes af 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone eller 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone og den anden ligand tilvejebringes af 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone.

19. Komplex ifølge krav 1 eller 2 KENDETEGNET ved, AT det har et 2:1 molært forhold af 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone:zink(II).

20. Farmaceutisk præparat, KENDETEGNET ved, AT det omfatter et zink(II)kompleks af

(1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyrone, hvori et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af

(2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogen-atomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke eventuelt et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, sammen med en fysiologisk acceptabel diluent eller bærer hvilken er

a) et faststof, b) en steril og pyrogen-fri væske, eller c) egnet til topisk administrering, idet præparatet har form af en creme eller en shampo, og evt. også sammen med ikke-kompleksbundet forbindelse(r) svarende til en eller flere af liganderne i komplekset, idet det molære forhold af hver ikke-kompleksbundet forbindelse:kompleksbundet zink er fra 0,5:1 til 100:1.

21. Farmaceutisk præparat ifølge krav 20, KENDETEGNET ved, AT komplekset er som defineret i ethvert af kravene 2 til 19.

22. Farmaceutisk præparat ifølge krav 20, KENDETEGNET ved, AT det omfatter en blanding af et kompleks med et 2:1 molært forhold af 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone:zink(II), et kompleks med et 2:1 molært forhold af 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone:zink(II), 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone og 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone.

23. Farmaceutisk præparat ifølge krav 22, KENDETEGNET ved, AT det yderligere omfatter et jern(III)kompleks af 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone og/eller 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone hvor molforholdet hydroxypyron:jern(III) er 3:1.

24. Anvendelse af zink(II)komplekset af:

(1) en eller flere 3-hydroxy-4-pyrone, hvori et eller flere af

hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, eller af
(2) en 3-hydroxypyrid-2-on eller 3-hydroxypyrid-4-on, i hvilke hydrogenatomet, som er bundet til nitrogenatomet, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, og i hvilke eventuelt
5 et eller flere af hydrogenatomerne, som er bundet til ringcarbonatomer, er erstattet af en alifatisk carbonhydridgruppe med 1 til 6 carbonatomer, til fremstilling af et farmaceutisk præparat til forøgelse af zinkniveauet i blodet eller til behandling af topisk bakterie- eller fungi-
10 infektion.

25. Anvendelse ifølge krav 24, KENDETEGNET ved, AT komplekset er som defineret i ethvert af kravene 2 til 19.

15

20