

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET  
KØBENHAVN

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 152119 B



(51) Int.Cl.<sup>4</sup> C 07 C 103/19

(21) Patentansøgning nr.: 3372/74

(22) Indleveringsdag: 24 jun 1974

(41) Alm. tilgængelig: 31 dec 1974

(44) Fremlagt: 01 feb 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 30 jun 1973 PT 54708

(71) Ansøger: IVAN \*VILLAX; 3, Travessa do Ferreiro; Lissabon, PT

(72) Opfinder: SAMME

(74) Fuldmægtig: Kontor for Industriel Eneret

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af ætanol-vand-solvater af alkalimetaldopolymetafosfatkomplekser af alfa-6-desoxy-5-hydroxytetracyclin

(56) Fremdragne publikationer

DK ans. nr. 5166/71

DK 152119 B

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte ætanol-vand-solvater af alkalimetaldopolymetafosfatkomplekser af  $\alpha$ -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclin, en forbindelse der også betegnes doxycyklin, med  
5 den i indledningen til krav 1 angivne almene formel, hvor Me, x, y og z har de sammesteds angivne betydninger, hvilke komplekser har høj stabilitet og en vandopløselighed ved 20°C > 4,5 mg/ml.

I DK-patentansøgning nr. 5166/71 er beskrevet fremstilling af alkalimetaldopolymetafosfatkomplekser af doxycyklin. I henhold til den foreliggende opfindelse fremstiller man forbedrede produkter - de nævnte ætanol-vand-solvater - ved at gå frem som angivet i patentkravets kendetegnende del.  
10

Til fremstilling af polymetafosfatkomplekser af doxycyklin anvendes fortrinsvis doxycyklin-base, der i et inaktivt organisk opløsningsmiddel som fx metanol, ætanol, ætylacetat, dimetylformamid, diklormetan, kloroform eller blandinger deraf, fortrinsvis en blanding af metanol og kloroform, omsættes med metafosforsyre, hvorpå natrium- eller kaliumhydroxydet tilsættes som en metanolisk opløsning. Når  
15 dannelsen af komplekset er tilendebragt udfældes ætanol-vandsolvatet af komplekset med et ikke-opløsningsmiddel i form af 95% ætanol, evt. i blanding med isopropanol eller fortrinsvis ætylæter, isopropylæter og/eller hexan, hvorpå der filtreres.  
20

Det således dannede ætanol-vand-solvat bevarer sin biologiske aktivitet, der er belyst i omstående forsøg nr. 3, i over 3 år uden påviselig nedgang ved opbevaring ved stuetemperatur, mens det kendte doxycyklin-alkalimetafosforsyrekompleks undergår nedbrydning i en grad på 3-3,5% på 3 år ved  
25 stuetemperatur. Det omhandlede solvat har således den fordel at være mere stabilt end det tilsvarende ikke-solvaterede kompleks og er tillige vel krystalliseret.  
30

Den polymere karakter af metafosforsyre  $(\text{HPO}_3)_n$  er kendt, idet metafosforsyrens polymerisationsgrad er variabel. Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse giver den fordel i forhold til den i DK-patentansøgning 5166/71 beskrevne, at poly-  
35

merisationsgraden af det fremstillede kompleks ikke varierer, således at der fremstilles et i alt væsentligt ensartet, homogent kompleks, hvilket muliggør præcis dosering.

5 Til fremstilling af komplekset omsætter man som anført i kravet 6 mol metafosforsyre (svarende til 1 mol  $(\text{HPO}_3)_n$ , hvor  $n=6$ ) pr. 1-5 mol doxycyklin, neutraliserer i ønsket grad med metanolisk NaOH eller KOH og fælder solvatet med 95% ætanol, evt. i blanding med et andet ikke-opløsningsmiddel.

10 Metafosforsyren fremstilles fortrinsvis umiddelbart før den anvendes. Den kan med fordel fremstilles ved dehydratisering af ortofosforsyre, eller ved at omsætte fosforpentoxyd med en ækvimolær mængde vand i et inaktivt organisk medium såsom de ovenfor nævnte.

15 Den i patentkravet viste empiriske formel for komplekset frit for solvateringsmiddel, der er bekræftet ved analyse, er, når Me er Na, y og z = 5 og x = 1, identisk med formlen for det hexametafosfatnatriumkompleks af doxycyklin der fremstilles ved metoden ifølge US-patentskrift nr. 2.791.609. Imidlertid er de to komplekser forskellige forbindelser, idet det  
20 her omhandlede polyfosfatkompleks er mange gange mere opløseligt i vand end det kendte hexametafosfatnatriumkompleks. Desuden viser de infrarøde absorptionskurver for de to kompleksgrupper forskelle i områderne 7,9-8,1  $\mu$  og 9,2-9,6  $\mu$ , hvilket viser at kompleksdannelsen foregår ad forskellige veje.

25 Forskellene mellem de to grupper af komplekser med hensyn til opløseligheden og de infrarøde kurver viser at den intramolekylære struktur er væsentlig forskellig og det fremgår heraf at kompleksdannelse mekanismen såvel som de grupper hos doxycyklinet der er involveret ved denne kompleks-  
30 dannelse ikke er identiske for de to slags komplekser.

Til sammenligning og differentiering fremstilledes såvel metafosforsyrekomplekserne som syreadditionssaltene af doxycyklin i forskellige molforhold i overensstemmelse med US-patentskrift nr. 3.053.892 og nr. 3.200.149. Til differentiering frem-  
35 stilledes desuden på den i omstående forsøg 1 beskrevne måde dobbeltsaltene med metafosforsyre som kation med såvel doxycyklin som natrium som anioner. Alle disse komplekser og syre-

additionssalte har betydeligt lavere opløselighed i vand end de omhandlede solvater af alkalimetalpolymetafosfatkomplekserne, og de blodkoncentrationer der opnåedes efter indgift var kvantitativt og med hensyn til varigheden ringere end dem der  
5 opnåedes med de omhandlede solvater. Alle de forsøg der blev gjort på at omdanne metafosforsyreadditionssaltene af doxycyklin til alkalimetalpolymetafosfatkomplekserne ved behandling med vandigt natriumhydroxyd eller kaliumhydroxyd gav negativt resultat.

10 De blodkoncentrationer der vandtes efter oral indgift af simple blandinger af doxycyklinhyklat og natriumhexametafosfat samt af doxycyklinbase-monohydrat og natriumhexametafosfat var signifikant lavere end dem der vandtes efter indgift af de her omhandlede doxycyklinhyklater. Således forbedrer hexametafosfat-natriumsaltet ikke absorptionen af doxycyklin når de indgives samtidigt.

15 Ætanol-vand-solvaterne af natrium- eller kaliumpolymetafosfatkomplekserne af doxycyklin som beskrevet i nærværende beskrivelse har en gunstig akut og en kronisk toxicitet, der  
20 tåler sammenligning med doxycyklins, og de er farmaceutisk acceptable. Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse repræsenterer et betydeligt trin til forbedring af aktiviteten og den kliniske nytte af doxycyklin ved forøgelse af blodkoncentrationen når doxycyklinet indgives i form af de om-  
25 handlede ætanol-vand-solvater af alkalimetalpolymetafosfatkomplekser. Den vigtigste terapeutiske fordel ved de omhandlede solvater af alkalimetalpolymetafosfatkomplekserne af doxycyklin er at de funktionelle grupper i doxycyklin, der tager del i chelateringen af  $\text{Ca}^{++}$  og  $\text{Mg}^{++}$  ioner, er blokerede i solvaterne, hvilket fremgår af omstående forsøg nr. 2. De velkendte farmakologiske ulemper, der knytter sig til chelatering af tetracykliner, er derfor betydeligt nedsat når doxycyklin indgives i form af de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede ætanol-vand-solvater af doxycyklin-alkalimetal-  
30 polymetafosfatkomplekser.

35 De ved fremgangsmåden fremstillede solvater kan kombineres med andre lægemidler som de ikke er uforligelige med.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen skal i det følgende belyses ved nogle eksempler. Efter disse er der nogle forsøg der dels som nævnt foran belyser fremstilling af visse dobbeltsalte og det forhold at solvaterne ikke chelaterer med  
5 kalcium- og magnesiumioner, og dels belyser serumkoncentrationerne af doxycyklin efter indgift af solvaterne, i sammenligning med de serumkoncentrationer der opnås ved indgift af doxycyklinhyklat.

10 Eksempel 1  
-----

65 ml metanol sættes til 26 ml kloroform indeholdende 2,07 g friskt fremstillet metafosforsyre og der omrørtes i 30 minutter. Derefter sættes portionsvis 10 g doxycyklinbase-monohydrat til den homogene opløsning af metafosforsyren.  
15 Omrøringen fortsattes indtil der var vundet en klar opløsning hvorefter der tilsattes 172 mg natriumhydroxyd opløst i 4,7 ml metanol hvilket startede udfældningen af komplekset. Efter omrøring i 15 minutter tilsattes 175 ml 95% ætanol. Den ringe mængde bundfald der var dannet genopløstes og blandingen  
20 afkøledes langsomt i et is-vandbad. Efter 3 timer var der dannet en krystallinsk suspension som derpå filtreredes og tørredes ved 40°C, hvorved der vandtes 8,3 g af polyfosfat-mononatriumkomplekset af doxycyklin med formlen  $(C_{22}H_{24}N_2O_8)_5 \cdot NaPO_3 \cdot (HPO_3)_5$  som et solvat med ætanol-vand. Smp. 185-195°C. 1 g opløses i 3 ml vand.  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 302$  ved 268 m $\mu$ . Optisk drejning:  $[\alpha]_D = -85^\circ$  (c = 1 i metanol indeholdende 1% koncentreret saltsyre). Vandindhold (Karl Fisher) 4%.

30 Eksempel 2  
-----

250 ml metanol sættes til 250 ml kloroform indeholdende 20 g metafosforsyre under omrøring ved stuetemperatur, efterfulgt af tilsætning af 74,14 g vandfri doxycyklinbase (998,8 mcg/mg), 375 ml metanol og 3,32 g natriumhydroxyd  
35 opløst i 45 ml metanol. Efter omrøring i 15 minutter tilsættes 1600 ml 95% ætanol til fuldendelse af udfældningen. Derpå filtreredes bundfaldet, vaskedes med ætanol og tørredes

ved 40°C, hvorved der vandtes 68,7 g af polyfosfatdinatrium-komplekset af doxycyklin med formlen  $(C_{22}H_{24}N_2O_8)_4 \cdot (NaPO_3)_2 \cdot (HPO_3)_4$  som ætanol-vand-solvat.  $E_{1cm}^{1\%} = 302$  ved 268 m $\mu$  og 242 ved 349 m $\mu$ .

5

### Eksempel 3

-----

Til 4,74 g frisk fremstillet metafosforsyre i 100 ml kloroform sattes der under omrøring 100 ml metanol og omrøringen fortsattes i yderligere 15 minutter. Derefter tilsattes der 50 ml metanol efterfulgt af portionsvis tilsætning af 22,2 g doxycyklinbase (992 mcg/g). Den dannede klare opløsning holdtes på en temperatur på ikke over 35°C. Efter omrøring i en time tilsattes der 0,56 g kaliumhydroxyd opløst i 6 ml metanol og derefter omrørtes i yderligere 15 minutter. Produktet blev derefter udkrystalliseret ved tilsætning af 400 ml 95% ætanol, og efter 10 minutter tilsattes der 100 ml ætylæter. Efter en time filtreredes og tørredes produktet, og udbyttet androg 19,1 g polymetafosfat-monokaliumkompleks af doxycyklin med formlen  $(C_{22}H_{24}N_2O_8)_5 \cdot KPO_3 \cdot (HPO_3)_5$  i form af dets ætanol-vand-solvat. Smp. 191-194°C under sønderdeling. 1 g deraf opløses i 2,8 ml vand eller i 1,9 ml 0,6% saltsyre.  $E_{1cm}^{1\%} = 294$  ved 268 m $\mu$  og 231 ved 349 m $\mu$  (i metanol indeholdende 1% koncentreret saltsyre).

25

### Forsøg 1

-----

Til differentieringsformål fremstilledes dobbelt-saltet af metafosforsyre som kation med såvel doxycyklin som natrium som anioner. Der udførtes følgende forsøg:

1,84 g fosforpentoxyd blev afvejet i 25,9 ml kloroform for at undgå forlænget kontakt med luften i et tørt rum, og der tilsattes 0,25 ml vand og blandingen omrørtes natten over. Kloroformen fjernedes ved destillation under vakuum og den således fremstillede metafosforsyre opløstes i 30 ml vand hvortil der under omrøring sattes 10 g doxycyklinbase-mono-hydrat suspenderet i 40 ml vand. Efter et minut opløstes produktet til en klar opløsning og der tilsattes under omrøring

30

35

172 mg natriumhydroxyd opløst i 5 ml vand. Den vundne klare opløsning blev straks frosset i en blanding af acetone og tøris og frysetørredes. Smeltepunkt  $199-202^{\circ}\text{C}$ ;  $\alpha_D = -95^{\circ}$  (c = 1 i metanol indeholdende 1% koncentreret saltsyre);  
 5  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 312$  ved 268 m $\mu$  og 240 ved 349 m $\mu$  i metanol indeholdende 1% koncentreret saltsyre.

100 mg af det ovenfor vundne produkt opløstes i 3 ml vand hvorfra der langsomt begyndte at udfælde sig en forbindelse der ikke var identisk med hverken hexametafosfatet af doxycyklin eller polyfosfatmononatriumkomplekset af doxycyklin.  
 10 lin.

#### Forsøg 2

-----

15 For at demonstrere at ætanol-vand-solvatet af polyfosfatmononatriumkomplekset af doxycyklin bindes til calciumfosfat i mindre grad end doxycyklin udførtes følgende forsøg:

Til 20 ml af en 1/100 molær vandig opløsning af doxycyklinhyklat sættes 6 ml N/5 natriumbikarbonat og 6 ml vand idet pH var 7,1. Efter fire timer var opløsningen stadig klar, hvorpå der til 29 ml af den beskrevne opløsning sættes 0,5 g calciumfosfat og opløsningen omrørtes i en time. pH-værdien var ved slutningen af denne periode 8,1. Derefter filtreredes blandingen og doxycyklinindholdet af filtratet bestemtes ved ultraviolet absorption ved 350 m $\mu$ .  
 20  
 25

På tilsvarende måde gennemførtes det samme forsøg med 20 ml vandig opløsning af ætanol-vand-solvatet af polyfosfatmononatriumkomplekset af doxycyklin vundet ifølge eksempel 1 og med en koncentration på 6,3 g/l. Begyndelses-pH-værdien var 7,2 og slut-pH-værdien var 7,95. Resultaterne var følgende:  
 30

	Doxycyklinindhold af filtratet mcg/ml -----
35 Doxycyklinhyklat	271,2
Doxycyklin-polyfosfatmononatriumkompleks, ætanol-vand-solvat	1184

Det fremgår heraf at bindingen af ætanol-vand-solvatet af polyfosfatmonoatriumkomplekset af doxycyklin med calciumfosfat er mindre end 1/4 i forhold til doxycyklin omkring neutral pH.

5

Forsøg 3  
-----

Der fremstilledes gelatinekapsler indeholdende ætanol-vand-solvatet af polyfosfatmononatriumkomplekset af doxycyklin (DMSC-ÆVS) fremstillet i overensstemmelse med eksempel 1, ækvivalent med 100 mg doxycyklin, og der fremstilledes kapsler indeholdende doxycyklin-hykrat (DCH) svarende til 100 mg doxycyklin.

10

En dosis på 2 kapsler blev indgivet til 11 sunde forsøgspersoner i et kontrolleret forsøg til bestemmelse af serumkoncentrationerne af ætanol-vand-solvatet af komplekset sammenlignet med doxycyklinhykrat. Det blev udtaget blodprøver på 0, 2, 5 og 24 timer efter indgiften af 2 x 100 mg-kapsler. Serumkoncentrationerne bestemtes tredobbelt ad mikrobiologisk vej.

15

20

De vundne resultater fremgår af tabel 1. Indgiften af ætanol-vand-solvatet af polyfosfatmononatriumkomplekset af doxycyklin gav en gennem snitlig samlet forøgelse på næsten 50% af serumkoncentrationerne sammenlignet med dem der vandtes efter indgift af docycyklinhykrat.

25

30

35

TABELL 1

Patient	Køn	Dosis	Serumkoncentration antal timer efter indgift af DMSC-ÆVS µg/ml			Serumkoncentration antal timer efter indgift af DCH µg/ml				
			0	2	5	24	0	2	5	24
HeUl a)	♂	200	0	2,4	1,5	0,4	-	-	-	-
Lesj	♂	"	0	1,8	1,3	0,4	0	1,5	1,1	0,4
BjLi b)	♂	"	0	2,7	2,4	1,3	0	1,7	1,2	0,35
JoAg	♂	"	0	6,2	3,0	1,6	0	2,2	1,5	0,85
JaLh	♂	"	0	3,5	2,5	0,55	0	1,7	1,0	0,45
LøRe	♂	"	0	2,1	1,5	0,40	0	2,1	1,4	0,45
MOV1 c)	♀	"	0	5,3	4,2	1,3	0	2,8	1,5	0,40
MaVa	♀	"	0	0,6	0,4	0,1	0	1,0	0,5	0
MaLa	♀	"	0	3,3	1,9	0,5	0	1,5	1,1	0,35
ElR1 d)	♀	"	0	4,4	4,0	1,6	0	1,8	1,3	0,6
AnRh	♀	"	0	3,6	2,7	0,9	0	1,6	0,8	0,25

8

- a) kastede op efter 1 time og fik ikke DCH  
b) kastede op 1 time efter indtagelse af begge stoffer  
c) med ferrosulfat, 100 mg x 2 i begge tilfælde  
d) kastede op efter DCH

P a t e n t k r a v

Fremgangsmåde til fremstilling af alkalimetalpoly-  
metafosfatkomplekser af  $\alpha$ -6-desoxy-5-hydroxytetracyklin med  
den almene formel  $(C_{22}H_{24}N_2O_8)_z, (MePO_3)_x, (HPO_3)_y$ , hvor Me er natrium  
5 eller kalium, x, y og z er hele tal 1 til 5,  $x + y \leq 6$  og  $z$   
 $\leq y$ , i form af ætanol-vand-solvater med høj stabilitet og en  
opløselighed i vand ved 20°C på over 4,5 mg/ml, k e n d e -  
t e g n e t ved at man omsætter 6 molækvivalenter metafos-  
forsyre i et reaktionsinaktivt organisk opløsningsmiddel med  
10 1-5 molækvivalenter  $\alpha$ -6-desoxy-5-hydroxytetracyklin og der-  
på neutraliserer tilbageværende uomsatte, frie syregrupper af  
metafosforsyre helt eller delvis med en metanolisk opløsning  
af natrium- eller kaliumhydroxyd i en til den ønskede neutra-  
lisationsgrad støkiometrisk svarende mængde, hvorpå man ud-  
15 fælder ætanol-vand-komplekset af det således dannede kom-  
pleks ved tilsætning af 95% ætanol eller et reaktionsinak-  
tivt ikke-opløsningsmiddel indeholdende 95% ætanol.

20

25

30

35