



NORGE

(19) [NO]

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) Nr. 166617

STYRET FOR DET  
INDUSTRIELLE RETTSVERN

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> A 61 K 31/65

(21) Patentsøknad nr. 841839  
(22) Inngivelsesdag 08.05.84  
(24) Lopedag 08.05.84  
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(86) Internasjonal søknad nr. -  
(86) Internasjonal inngivelsesdag -  
(85) Videreføringsdag -  
(41) Alment tilgjengelig fra 12.11.84  
(44) Utlegningsdag 13.05.91

(71)(73) Soker/Patenthaver GIST-BROCADES NV,  
Wateringseweg,  
NL-2600 MA Delft, NL

(72) Oppfinner HONG SHENG TAN, Bleiswijk,  
BERNARDUS LEONARDUS JOHANNES DIJKGRAAF, Delft,  
ROBERT BEUKERS, Nootdorp,  
NL

(74) Fullmektig Siv.ing. Jan E. Helgerud,  
Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 09.05.83, NL. nr. 8301633.

(54) Oppfinnelsens benevnelse FREMGANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV INJISERBARE  
OKSYTETRACYKLINOPPLØSNINGER.

(57) Sammendrag

Vanndige injiserbare oppløsninger inneholdende oksy-  
tetracyclin, en magnesiumforbindelse og polyvinylpyrro-  
lidon med en molekylvekt mellom 500 og 10 000 og en  
pH-verdi på 8-9,5.

Fremstilling av disse oppløsninger beskrives.

(56) Anførte publikasjoner Norsk (NO) alment tilgjengelig patentsøknad nr. 812879,  
Europeisk (EP) patent nr. 12495,  
Britisk (GB) patentsøknad, publ.nr. 2047097,  
USA (US) patent nr. 3957972.  
Til underretning: EP 125725.  
2nen avd. avgjørelse i søknad 801112, sak nr. 5339.

166617

1

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte for fremstilling av injiserbare oppløsninger av oksytetracyklin.

Oksytetracyklin, (OTC), er som sådan ikke stabil i vandig oppløsning. Videre er forbindelsen dårlig oppløselig i vann. Akseptable oppløsninger kan oppnås ved tilsetning av visse drøyemidler. Det er for eksempel kjent at det ved tilsetning av magnesiumforbindelser dannes et magnesiumkompleks som bedre oppløses enn oksytetracyklin selv. Det er videre kjent å tilsette polyvinylpyrrolidon, PVP, og/eller organiske oppløsningsmidler for å forbedre oppløseligheten. Preparater med magnesium og PVP som beskrevet i NL-søknad nr. 134511, er funnet å være tilfredsstillende i praksis. Deres eneste mangel er at oksytetracyklininnholdet er begrenset på grunn av den begrensning som oppstår i praksis på grunn av viskositeten. Med et innhold på 10 % eller mer øker viskositeten i en slik grad at anvendelsen hindres.

Det foreligger derfor et behov for preparater med en høyere konsentrasjon av oksytetracyklin for veterinærformål. For det første fordi man foretrekker å holde injeksjonsvolumet så lite som mulig, (spesielt viktig for dyr med en vekt på mer enn 100 kg), og for det andre fordi det er funnet at ved å bruke høyere doser med høyere konsentrerte oppløsninger, oppnås en betydelig lengre terapeutisk virkning.

Opp til nå var det kun mulig å fremstille oppløsninger med høyere oksytetracyklinkonsentrasjon med lav viskositet ved å benytte visse organiske oppløsningsmidler som propylenglykol, dimetylacetamid, 2-pyrrolidon, polyetylen glykol og N-metylpyrrolidon, til hvilke oppløsningsmidler enkelte ganger PVP også ble tilsatt. Slike oppløsninger er beskrevet i GB-PS 1,427,882, NL-søknad 7,804,455, BE-PS 861,885, DE-PS 2,001,604, 2,501,805 og 3,104,233 og US-PS 4,018,889. Alle de oppløsningsmidler som benyttet har den vesentlige mangel at de forårsaker en sterk vevirritasjon på injeksjonsstedet, noe

166617

2

som sågar kan føre til synlige abnormaliteter i kjøttet på dette sted, med et ledsagende verditap.

5 Når PVP anvendes velges det fortrinnsvis en type med en midlere molekylvekt mellom 10 000 og 40 000.

10 Det er nå funnet at man kan nå høyere konsentrasjoner av oksytetracykliner med god stabilitet, aksepterbart viskositet og minimal vevirritasjon, ved å benytte PVP med relativt lav molekylvekt.

15 I henhold til dette angår foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av injiserbare oksytetracyklinoppløsninger omfattende oppløsning i vann av oksytetracyklin som et salt eller en base med en egnet mengde av en magnesiumforbindelse og polyvinylpyrrolidon og justering av pH-verdien til området 8,0 til 9,5, og denne fremgangsmåte karakteriseres ved at man oppløser et polyvinylpyrrolidon med 20 en molekylvekt mellom 50 og 10 000 i vann til en sluttkonsentrasjon på minst 18 % vekt/volum og tilsetter oksytetracyklin til en sluttkonsentrasjon på minst 10 % vekt/volum.

25 PVP-konsentrasjonen er fortrinnsvis minst lik 18 % (vekt/volum) fordi det således kan oppnås oppløsninger som inneholder 10 eller mer vekt-% oksytetracyklin. I henhold til oppfinnelsen kan det oppnås oppløsninger med OTC opp til 20 % (vekt/volum). For dette er det maksimalt nødvendig med 40 % (vekt/volum) PVP. Typen og mengden magnesiumforbindelser kan 30 være den samme som beskrevet i NL-søknad 1134,511. Magnesiumoksyd og magnesiumklorid 6aq er for eksempel egnet.

35 For å fremstille stabiliteten, kan luften i flasker eller ampuller som inneholder oksytetracyklinoppløsningene, erstattes av en inertgass, fortrinnsvis nitrogen. Det er også fordelaktig for stabiliteten å tilsette til oppløsningen en liten mengde av et reduserende middel som natriummeta-

bisulfitt, natriumsulfitt eller natriumformaldehydsulfoksyilat.

Det var å forutse at erstatning av den PVP som vanligvis ble benyttet i kjente preparater, med en PVP med lavere molekylvekt, ville føre til vevirritasjon. Overraskende er dette i tilfelle. Virkningen av å redusere molekylvekten av PVP på stabiliteten for injeksjonsoppløsningen og nivået av oksytetracyklin i blodet kunne ikke forutsies. Det er derfor ikke fagmessig at preparatene som fremstilles ifølge oppfinnelsen har en tilfredsstillende stabilitet og ved høyere dosering viser et lengevarende terapeutisk blodnivå av oksytetracyklin

En ledsagende fordel ved bruken av lavmolekylvekt-PVP er at sannsynligheten for at tumorer skal dannes, slik tilfellet er med PVP med høyere molekylvekt, vil være minimal.

Fremstillingen av oksytetracyklinoppløsningene er illustrert ved de følgende eksempler, hvori prosentandelene som nevnes er vekt/volum-%.

#### Eksempel 1

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 18 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

Under en nitrogenatmosfære ble følgende tilsatt suksessivt til 200 ml pyrogenfritt vann:

90,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14, molekylvekt 2 000-3 500),

3,00 g natriumformaldehydsulfoksyilat,

4,34 g magnesiumoksyd,

11,00 g etanolamin, samt en oppløsning av 56,7 g oksytetracyklinhydroklorid i 100 ml pyrogenfritt vann.

Efter omrøring en tid, dannet det seg en klar oppløsning. Oppløsningen ble fylt opp til 500 ml med pyrogenfritt vann,

166617

4

noe som ga en oppløsning med en pH-verdi på 8,7, og en viskositet på 17 cP ved 22°C. Oppløsningen inneholdt 100 mg oksytetracyklin pr. ml. Denne oppløsning ble filtrert gjennom et steriliserende filter, hvorefter stabilitetsstudier ble gjennomført. Ved 50°C var oppløsningen stabil selv etter 6 måneder. Som prøve på oppløsningens stabilitet benyttet man fraværet av et bunnfall.

#### Eksempel 2

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 20 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

Under en nitrogenatmosfære ble følgende tilsatt suksessivt til 200 ml pyrogenfritt vann:

100,00 ml polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14), molekylvekt 2 000-3 500),

3,00 g natriumformaldehydsulfoksydat,

4,34 g magnesiumoksyd,

11,00 g etanolamin samt en oppløsning av 56,7 g oksytetracyklinhydroklorid i 10 ml pyrogenfritt vann.

Efter omrøring i en tid ble det oppnådd en klar oppløsning som ble fylt opp til 500 ml pyrogenfritt vann. Oppløsningen som ble oppnådd inneholdt 100 mg oksytetracyklin pr. ml og hadde en pH-verdi på 8,8 og en viskositet på 21 cP ved 22°C. Efter steril filtrering forble oppløsningen stabil i ca. 8 uker ved 50°C og ved 37°C var stabiliteten mer enn 6 måneder. Efter 6 måneder ved 37°C hadde oppløsningen beholdt sin lyse farge.

#### Eksempel 3

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 20 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14) fra oksytetracyklinbase.

a) Fremstilling av oksytetracyklinbase

60 g oksytetracyklinhydroklorid ble oppløst i 800 ml kokende pyrogenfritt vann. Ved hjelp av 4 N natriumhydroksyd, som

også var preparert med kokende pyrogenfritt vann, ble pH-verdien bragt til 5,35 under omrøring, noe som gjorde at oksytetracyklinbasen ble felt ut. Utfellingen ble filtrert av og vasket grundig med pyrogenfritt vann.

5 b) Fremstilling av oksytetracyklin/polyvinylpyrrolidon-oppløsning.

Under en nitrogenatmosfære ble følgende tilsatt suksessivt til 200 ml pyrogenfritt vann.

10 100,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14), molekylvekt 2 000-3 500),

2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,

4,34 g magnesiumoksyd, og oksytetracyklinbase oppnådd ved fremgangsmåte a).

15 Ved hjelp av etanolamin ble pH-verdien bragt til 8,5 til 9,0. Det ble dannet en klart oppløsning. Pyrogenfritt vann ble tilsatt til 500 ml og derefter ble oppløsningen filtrert gjennom et steriliseringsfilter. Den oppnådde oppløsning  
20 inneholdt 100 mg oksytetracyklin pr. ml, hadde en pH-verdi på 8,9 og en viskositet på 22 cP ved 22°C. Oppløsningen forble stabil ved 50°C i mer enn 8 uker og ved 37°C i mer enn 6 måneder.

#### 25 Eksempel 4

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 25 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

30 På samme måte som i eksempel 2 a) ble det fremstilt en oppløsning som inneholdt 250 mg polyvinylpyrrolidon pr. ml. I stedet for 100 g polyvinylpyrrolidon med en K-verdi på 11-14 ble det tilsatt 125 g. Den sterile filtrerte oppløsning som ble oppnådd hadde en pH-verdi på 8,7 og en viskositet på 31 cP ved 22°C. Stabiliteten ved 50°C var mer enn 8 uker, men  
35 oppløsningen antok en mørk farge. Ved 37°C hadde oppløsningen fremdeles en lys farge etter 6 måneder og det var ikke dannet noe bunnfall.

166617

6

Eksempel 5

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 30 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

5 Fremstillingen ble gjennomført på samme måte som i eksempel 2. Imidlertid ble det i stedet for 150 g polyvinylpyrrolidin med en K-verdi på 11-14, benyttet 100 g. Etter filtrering gjennom et steriliseringsfilter hadde oppløsningen en verdi på 8,7 og en viskositet på 48 cP ved 22°C. Stabiliteten ved 10 50°C var mer enn 8 uker og ved 37°C mer enn 6 måneder.

Eksempel 6

15 Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 30 % polyvinylpyrrolidon med K-verdi 11-14 fra oksytetracyklinbase. Basen ble fremstilt på samme måte som beskrevet i eksempel 3 under punkt a). Prosedyren ble så fortsatt som beskrevet i eksempel 3 under b), bortsett fra at man i stedet for 100 g polyvinylpyrrolidon med K-verdi 11-14, benyttet 150 g. Etter filtrering gjennom et steriliserende filter ble det 20 oppnådd en oppløsning som inneholdt 100 mg oksytetracyklin pr. ml. PH-verdien var 8,8 og viskositeten 43 cP ved 22°C. Ved 50°C forble oppløsning klar i mer enn 8 uker og ved 37°C i mer enn 6 måneder.

25 Eksempel 7

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 40 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

30 Fremstillingen var identisk med det som er beskrevet i eksempel 2, bortsett fra at det i stedet for 100 g polyvinylpyrrolidin med en K-verdi på 11-14, ble benyttet 200 g. Etter filtrering gjennom et steriliserende filter hadde oppløsningen en pH-verdi på 8,9 og en viskositet på 66 cP ved 22°C. Oppløsningen forble stabil ved 50°C i mer enn 8 uker og 35 ved 37°C i mer enn 6 måneder.

Eksempel 8

Fremstilling av en 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 40 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14) fra oksytetracyklinbase.

5 Fremstillingen var identisk med det som er beskrevet i eksempel 3, bortsett fra at man i stedet for 100 g polyvinylpyrrolidon med en K-verdi på 11-14, benyttet 200 g. Etter filtrering gjennom et steriliserende filter, hadde oppløsningen en pH-verdi på 8,9 og en viskositet på 100 cP ved 10 20°C. Ved 50°C forble oppløsningen stabil i mer enn 8 uker og ved 37°C i mer enn 6 måneder.

Eksempel 9

15 Fremstilling av en 15 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 40 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

Det følgende ble tilsatt suksessivt under en nitrogenatmosfære til 200 ml kokt pyrogenfritt vann:

20 100,00 g polyvinylpyrrolidon,  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
6,5 g magnesiumoksyd,  
85,1 g oksytetracyklinhydroklorid, og  
17,9 g etanolamin.

25 Oppløsningen ble fylt opp til 500 ml og ble deretter filtrert gjennom et steriliserende filter. PH-verdien i oppløsningen var 9,0 og viskositeten 80 cP ved 22°C.

Eksempel 10

30 Fremstilling av en 15 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 20 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14) ut fra oksytetracyklinbase.

35 Ut fra 90 g oksytetracyklinhydroklorid, ble basen først fremstilt.



166617

8

Fremstillingen var identisk med den prosedyre som er beskrevet i eksempel 3 under a. Derefter ble det følgende tilsatt suksessivt under en nitrogenatmosfære til 200 ml pyrogenfritt vann:

- 5 100,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14),  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
6,5 g magnesiumoksyd og oksytetracyklinbase.

10 Ved hjelp av en etanolamin ble pH-verdien bragt til 8,9 til 9,0, hvorefter volumet ble gjort opp til 500 ml. Den klare oppløsning ble filtrert gjennom et steriliserende filter. Det ble oppnådd en oppløsning med en pH-verdi på 8,8 og en viskositet på 71 cP ved 22°C.

15 Eksempel 11

Fremstilling av en 15 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 30 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

20 Under en nitrogenatmosfære ble det følgende tilsatt suksessivt til 200 ml kokt pyrogenfritt vann:

- 150,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14),  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
6,5 g magnesiumoksyd,  
85,1 g oksytetracyklinhydroklorid, og  
25 17,9 g etanolamin.

30 Oppløsningen ble fylt opp til 500 ml med pyrogenfritt vann, og filtrert gjennom et steriliserende filter. Det ble oppnådd en oppløsning som inneholdt 150 mg oksytetracyklin pr. ml. Oppløsningen hadde en pH-verdi på 9,0 og en viskositet på 180 cP ved 22°C.

Eksempel 12

35 Fremstilling av en 15 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 30 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14) fra oksytetracyklinbase.

Ut fra 19 g oksytetracyklinhydroklorid ble basen fremstilt på den måten som er beskrevet i eksempel 3 under punkt a. Det følgende ble tilsatt suksessivt til 200 mg pyrogenfritt vann under en nitrogenatmosfære:

- 5 150,00 g polyvinylpyrrolidon, (K-verdi 11-14),  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
6,5 g magnesiumoksyd, og oksytetracyklinbasen som  
beskrevet ovenfor.

10 Det hele ble fylt opp til 500 ml og oppløsningen filtrert gjennom et steriliserende filter. Oppløsningen som ble oppnådd inneholdt 150 mg oksytetracyklin pr. ml. PH-verdien i oppløsningen var 8,9 og viskositeten ved 22°C var 120 cP.

15 Eksempel 13

Fremstilling av en 20 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 20 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

20 Det følgende ble tilsatt suksessivt under en nitrogenatmosfære til 200 ml pyrogenfritt vann:

- 100,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14),  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
8,7 g magnesiumoksyd,  
113,4 g oksytetracyklinhydroklorid, og  
25 23,8 g etanolamin. -

30 Volumet ble fylt opp til 500 ml med pyrogenfritt vann. Den oppnådde oppløsning inneholdt 200 mg oksytetracyklin pr. ml og hadde en pH-verdi på 9,0. Viskositeten ved 22°C var 425 cP.

Eksempel 14

Fremstilling av en 20 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 30 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14).

35 Det følgende ble suksessivt tilsatt under en nitrogenatmosfære til 200 ml pyrogenfritt vann:

166617

10

150,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 11-14),  
2,5 g natriumformaldehydsulfoksydat,  
8,7 g magnesiumoksyd,  
113,4 g oksytetracyklinhydroklorid, og  
5 23,8 g etanolamin.

Volumet ble fylt opp til 500 ml med pyrogenfritt vann. Den oppnådde oppløsning inneholdt 200 mg oksytetracyklin pr. ml. PH-verdien i oppløsningen var 9,0 og viskositeten ved 22°C var 650 cP.

I det neste eksempel fremstilles fremstillingen som sammenligning av en oppløsning med polyvinylpyrrolidon med en høyere molekylvekt (K<sub>17</sub>).

15 Eksempel 15

Fremstilling av 10 %-ig oksytetracyklinoppløsning med 25 % polyvinylpyrrolidon (K-verdi 15-17).

20 Under en nitrogenatmosfære ble følgende tilsatt suksessivt til 200 ml pyrogenfritt vann:

125,00 g polyvinylpyrrolidon (K-verdi 15-17, midlere molekylvekt 10 000),

3,0 g natriumformaldehydsulfoksydat,

25 4,34 g magnesiumoksyd,

11,0 g etanolamin, samt en oppløsning av 56,7 g oksytetracyklinhydroklorid i 100 ml pyrogenfritt vann.

Efter omrøring i en tid, ble det dannet en klar oppløsning som ble oppfylt opp til 500 ml med pyrogenfritt vann. Den oppnådde oppløsning inneholdt 100 mg oksytetracyklin pr. ml og hadde en pH-verdi på 8,7 og en viskositet på 156 cP ved 22°C. Denne oppløsning var først meget vanskelig å filtrere gjennom et steriliserende filter. Stabiliteten ved 50°C var ca. 6 uker og ved 37°C mer enn et halvt år.

166617

11

Preparatet ifølge eksempel 4 ble inngitt intramuskulært til smågriser og kalver (grupper på 6 dyr). I de følgende tabeller er vist de midlere oppnådde serumkonsentrasjoner.

5 Tabell ISmågriser, kroppsvekt ca. 24 kg, dose 8 mg/kg

Timer etter behandling	Oksytetracyklinskonsentrasjon ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	3,0
3	2,9
5	3,1
7	2,4
14	0,97
24	0,39
28	0,31
31	0,19
48	0,008

20

Tabell IIKalver, Kroppsvekt ca. 190 kg, dose 8 mg/kg

Timer etter behandling	Oksytetracyklinskonsentrasjon ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	1,7
3	2,4
5	2,1
7	2,5
12	1,9
24	0,85
28	0,55
31	0,41
48	0,13
55	0,10

35

166617

12

Tabell III

Smågriser, kroppsvekt ca. 24 kg, dose 20 mg/kg

Timer efter behandling | Oksytetracyklinkonsentrasjon ( $\mu\text{g/ml}$ )

	1	4,8
5	4	5,6
	5	4,9
	7	5,1
10	12	4,7
	24	1,6
	28	1,2
	31	0,90
15	48	0,26
	55	0,19
	78	0,06

20

25

30

35

P a t e n t k r a v .

1.

5 Fremgangsmåte for fremstilling av injiserbare oksytetracyk-  
linoppløsninger omfattende oppløsning i vann av oksytetracyk-  
lin som et salt eller en base med en egnet mengde av en  
magnesiumforbindelse og polyvinylpyrrolidon og justering av  
pH-verdien til området 8,0 til 9,5, k a r a k t e r i -  
s e r t v e d at man oppløser et polyvinylpyrrolidon med  
10 en molekylvekt mellom 500 og 10.000 i vann til en slutt-  
konsentrasjon på minst 18% vekt/volum og tilsetter oksy-  
tetracyklin til en sluttkonsentrasjon på minst 10% vekt/-  
volum.

2.

15 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t  
v e d at man anvender et polyvinylpyrrolidon med en  
molekylvekt mellom 1.000 og 5.000.

20

25

30

35