

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

99496

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 19.02.75 (P. 178161)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 23.10.76

Opis patentowy opublikowano: 15.11.1978

Int. Cl.².

C12D 9/22

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Hanna Wojciechowska, Włodzimierz Zgoda, Kazimierz Dziegielewski,
Wiesław Drzewiński, Irena Lutyńska, Andrzej Schoeffer,
Edward Borowski

Uprawniony z patentu: Politechnika Gdańska,
Gdańsk (Polska)

Sposób otrzymywania edeiny B i F lub ich mieszaniny

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania antybiotyków edein B i F lub ich mieszaniny. Edeiny B i F są amidynowymi analogami edein A i D, w których fragment spermidynowy zastąpiony jest fragmentem guanylospermidynowym.

Edeiny B i F powstają w wyniku biosyntezy przy pomocy szczepu *Bacillus brevis* V m 4, obok edein A i D. Dotychczas znany jest również sposób otrzymywania edeiny B na drodze amidynowania edeiny A przy pomocy nadmiaru O-metyloizomocznika w wodnym roztworze wodorotlenku sodowego. Natomiast dotychczas nie jest znany sposób otrzymywania edeiny F na innej drodze niż biosynteza.

Niedogodnością opisanego wyżej sposobu otrzymywania edeiny B jest powstawanie ubocznych produktów reakcji, które utrudniają izolację właściwych substancji i mają wpływ na niską wydajność procesu.

Celem wynalazku jest opracowanie sposobu otrzymywania edein B i F lub ich mieszaniny, który nie będzie posiadał opisanych wyżej niedogodności.

Sposób otrzymywania edeiny B i F lub ich mieszaniny według wynalazku polega na tym, że na edeinę A lub D, ich mieszaninę, względnie surowy preparat antybiotyku, zawierający obie te edeiny działa się czynnikiem amidynującym, zawierającym ewentualnie węgiel C¹⁴, jak O-alkiloizomocznikiem, S-alkiloizotiomocznikiem lub guanylopyrozolem, korzystnie w nadmiarze, w mieszaninie wody, alkoholi alicyklicznych lub alifatycznych oraz amin, której pH doprowadza się przy pomocy silnego kwasu lub zasady do wartości 9,5–12,5, korzystnie 11, zaś uzyskany produkt izoluje się ze środowiska reakcji znanymi sposobami.

Zaletą sposobu według wynalazku jest wyeliminowanie powstawania produktów ubocznych, co pozwala uzyskać prostymi metodami substancje jednorodne chemicznie z ilościowymi wydajnościami, łatwość przeprowadzenia procesu w dowolnej skali oraz możliwość uzyskania edein B i F o wysokiej aktywności biologicznej. Ponadto proponowany sposób umożliwia uzyskanie promieniotwórczych edein B i F, co zwiększa ich przydatność jako bioodczynniki.

Sposób otrzymywania edein B i F lub ich mieszaniny według wynalazku ilustrują podane niżej przykłady.

Przykład I. 132 mg siarczanu edeiny A (0,106 mM) i 220 mg chlorowodoru O-metyloizomocznika (2,0 mM) rozpuszcza się w 5 ml roztworu wody, alkoholu etylowego i trójetyloaminy, po czym 1 n roztworem wodorotlenku sodowego doprowadza się pH do wartości 11,0. Reakcję prowadzi się przez 22 godziny w temperaturze 25°C. Roztwór po reakcji zatęża się do objętości około 0,5 ml i poddaje oczyszczeniu przy pomocy filtracji molekularnej na kolumnie wypełnionej żelą Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymany roztwór odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 0,5 ml i wkrapla do metanolu. Wytrącony osad odwirowuje się, przemywa acetonem i eterem oraz suszy nad wodorotlenkiem sodu. Otrzymuje się 104 mg siarczanu edeiny B.

Przykład II. 56 mg siarczanu edeiny D (45,6 μ mol) i 76 mg chlorowodoru O-metyloizomocznika (690 μ mol) rozpuszcza się w 4 ml roztworu wody, alkoholu etylowego i trójetyloaminy, koryguje pH wodorotlenkiem sodowym do pH = 11,0 i pozostawia mieszaninę w temperaturze 25°C przez 24 godziny. Po reakcji obniża się pH do 2,5 roztworem kwasu solnego, zatęża mieszaninę reakcyjną do objętości około 0,5 ml pod zmniejszonym ciśnieniem i izoluje edeinę F na kolumnie z żelą Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymuje się 34 mg siarczanu edeiny F.

Przykład III. 12,3 mg siarczanu edeiny D (10 μ mol) i 27,5 mg chlorowodoru O-metyloizomocznika (250 μ mol) rozpuszcza się w 0,75 ml mieszaniny wody, alkoholu etylowego i trójetyloaminy, 1 n roztworem kwasu solnego doprowadza się pH roztworu do wartości 9,5 i prowadzi reakcję w 25°C przez 24 godziny. Edeinę F izoluje się metodą filtracji molekularnej na kolumnie wypełnionej żelą Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymuje się 6,3 mg siarczanu edeiny F.

Przykład IV. 37,2 mg siarczanu edeiny A (30 μ mol) i 55,2 mg siarczanu S-metyloizotiomocznika (300 μ mol) rozpuszcza się w 1,5 ml roztworu wody, alkoholu metylowego i trójetyloaminy, po czym 1 n wodorotlenkiem sodowym doprowadza się pH do wartości 12,5. Reakcję prowadzi się przez 24 godziny w temperaturze 25°C. Edeinę B izoluje się metodą filtracji molekularnej na żelu Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymuje się 25,3 mg siarczanu edeiny B.

Przykład V. 165 mg kompleksu edein w postaci siarczanu i 275 mg chlorowodoru O-metyloizomocznika rozpuszcza się w 6 ml roztworu wody, alkoholu etylowego i trójetyloaminy, 1 n roztworem wodorotlenku sodowego doprowadza się pH roztworu do wartości 11,0 i pozostawia przez 24 godziny w temperaturze 25°C. Reakcję przerywa się przez dodanie roztworu 1 n kwasu solnego do pH 2,5. Edeiny B i F otrzymane w wyniku reakcji izoluje się przy pomocy filtracji molekularnej na żelu Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymuje się 118 mg siarczanu edeiny B i 6,5 mg siarczanu edeiny F.

Przykład VI. 61,7 mg siarczanu edeiny A (0,05 mM) i 100,5 mg azotanu guanylopyrazolu (0,5 mM) rozpuszcza się w 2 ml roztworu wody, alkoholu metylowego i trójetyloaminy, po czym 1 n roztworem wodorotlenku sodowego doprowadza się pH roztworu do wartości 10,5 i prowadzi reakcję przez 18 godzin w temperaturze 25°C. Reakcję przerywa się przez obniżenie pH roztworu do wartości 2,5. Otrzymaną edeinę B izoluje się przy pomocy filtracji molekularnej na żelu Sephadex LH-20 w wodzie. Otrzymuje się 48,8 mg siarczanu edeiny B.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania edeiny B i F lub ich mieszaniny, z n a m i e n n y t y m, że na edeinę A lub D, ich mieszaninę, względnie surowy antybiotyk, zawierający obie te edeiny działa się czynnikiem amidynującym, zawierającym ewentualnie węgiel C¹⁴, np. O-alkiloizomocznikiem, S-alkiloizotiomocznikiem lub guanylopyrazolem, korzystnie w nadmiarze, w mieszaninie wody, alkoholu alicyklicznych lub alifatycznych oraz amin, której pH doprowadza się przy pomocy silnego kwasu lub zasady do wartości 9,5 – 12,5, korzystnie 11,0, a uzyskany produkt izoluje się ze środowiska reakcji znanymi sposobami.