



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU**
UTLÄGGNINGSSKRIFT 63036

(45) Patentti myönnetty 11.04.1983
Patent meddelat

(51) Kv.lk.³/Int.Cl.³ C 07 H 17/08

SUOMI—FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansöknung	1247/74
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	24.04.74
(23) Alkuperäisyys — Giltighetsdag	24.04.74
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	25.10.75
(44) Nähtäväksi panon ja kuulutuksen pvm. — Ansökan utlagd och utskriften publicerad	31.12.82
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	

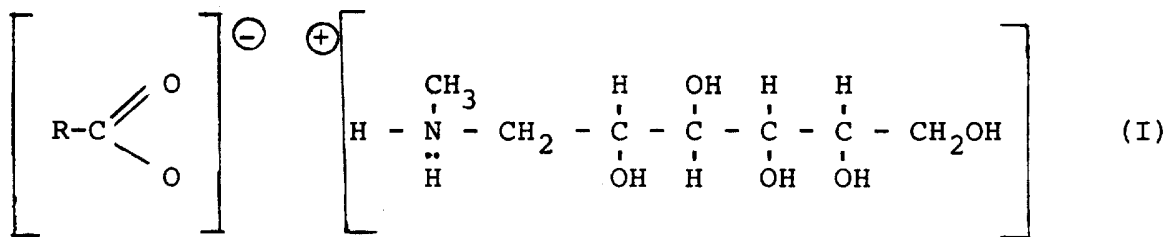
(71) Leningradsky Nauchno-Issledovatel'sky Institut Antibiotikov, prospekt Ogorodnikova 23, Leningrad, USSR(SU)

(72) Valter Osvaldovich Kulbakh, Leningrad, Tatyana Mikhailovna Kokushina, Leningrad, Irina Kondratievna Lagert, Leningrad, Georgy Avxentievich Mikhailets, Leningrad, Galina Vasilievna Kholodova, Leningrad, Oleg Nikolaevich Ekzemplyarov, Leningrad, Ruvim Bentsionovich Zelmanov, Leningrad, Leonid Borisovich Sokolov, Leningrad, Evgeny Davidovich Etingov, Leningrad, Irina Mikhailovna Lushitskaya, Leningrad, USSR(SU)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä polyeenimakrolidiantibioottien fungisidisten meglumiini-kompleksien valmistamiseksi - Förfarande för framställning av fungicida megluminkomplex av polyenmakrolidantibiotika

Keksinnön kohteena on menetelmä polyeenimakrolidiantibioottien fungisidisten meglumiinikompleksien valmistamiseksi, joiden kaava on



jossa R on amfoterisinolidin, mykoheptinolidin, levorinolidin tai nystatinolidin makrolaktonirengas ilman karboksyyli-ryhmää.

Nämä uudet yhdisteet ovat kiinteitä hygroskooppisia aineita keltaisten amorfisten jauheiden muodossa, jotka liukenevat veteen,

dimetyylisulfoksidiin, heikonlaisesti dimetyyliformamidiin ja jotka ovat käytännöllisesti katsoen liukenemattomia dietyylieetteriin, asetoniin ja niiden seoksiin ja vain heikosti liukoisia kloroformiin ja etanoliin.

Näillä aineilla on sieniä ja alkueliöitä hävittävä vaikutus ja ne voivat olla käyttökelpoisia lääketieteessä hoidettaessa kandidiaasia ja aspergilloosia, joitakin niistä voidaan käyttää mitä vaarallisimpien järjestelmämykoosien, leishmanioosin, halkiomatotaudin, lamblioosin, trikomoniaasin ja eturauhasen suurentumisen hoitoon.

Alalla tunnetaan menetelmiä vesiliukoisten fungidisisten polyeenimakrolidiantibioottien valmistamiseksi käsittelemällä niiden liuosta tai suspensiota orgaanisessa tai vesipitoisessa orgaanisessa liuottimessa, kuten metanolissa, vesipitoisessa asetonissa tai dimetyyliformamidissa, natriummetylaatin tai -butylaatin, natriumhydroksidin tai natriumdesoksikoleaatin liuoksilla: SU-patentit 126 230, 187 236, 256 773, 288 231, US-patentit 3 476 856, 3 683 407, GB-patentit 1 061 893, 1 241 740, 795 482.

Epästabiilien polyeenimakrolidiantibioottiliuosten tällaisen käsittelyn pääasiallinen haitta on siinä, että näin saatujen antibioottisten aineiden saanto ja biologinen aktiivisuus pienenevät seurauksena inaktivoivasta sivureaktiosta, so. polymeerimakrolidiantibiootin laktonirenkaan aukenemisesta.

Sentähden on näihin asti ollut mahdotonta valmistaa lääkeaineina käyttökelpoisia yhdisteitä mykoosien, varsinkin kaikkein vaarallisimpien järjestelmämykoosien käsittelyyn, niin että nämä yhdisteet olisivat vaikuttavia suun kautta ja sisäänhengitettävänä suihkeina annettuina.

Nyt on ensimmäistä kertaa valmistettu fungisidisiä, kaavan I mukaisia polyeenimakrolidiantibioottimeglumiinikomplekseja.

Keksinnölle on tunnusomaista, että fungisidinen polyeenimakrolidiantibiootti, jonka kaava on RCOOH, jossa R tarkoittaa samaa kuin edellä, saatetaan reagoimaan dimetyylisulfoksidissa tai dimetyyliformamidissa N-metyyliglukamiinin tai sen pitoisuudeltaan 0,25-1 g/ml olevan vesiliuoksen kanssa, jolloin N-metyyliglukamiinia lisätään enintään 5 moolin ylimäärä yhtä polyeenimakrolidiantibioottimoolia kohden, lämpötilassa 50-65°C, epäpuhtaudet suodatetaan pois, suodokseen lisätään 6-7-kertainen tilavuusmäärä dietyylieetterin ja asetonin seosta suhteessa 1:1-3:7, muodostunut saostuma suodatetaan, pestään asetonilla tai asetonin ja dietyylieetterin seoksella ja kuiva-

taan 20°C:ssa alennetussa paineessa, joka on enintään 10 mm Hg.

Lähtöaineina käytettyjen polyeenimakrolidiantibioottien valmistus on esitetty seuraavissa julkaisuissa: amfoterisiini B - Fi-patenttijulkaisu 49 110; levoriini - GB-patenttijulkaisu 1 070 799; mykoheptiini - GB-patenttijulkaisu 1 469 378; nystatiini - SU-keksijäntodistukset 325 759 ja 507 056.

1-deoksi-1-(metyyliamino)-d-glusitoli eli N-metyyli-d-glukamiini on biologisesti sopiva ja fysiologisesti hyväksyttävä aine, joka muodostaa, kuten nyt on odottamatta ensimmäisenä keksitty, vesiliukoisia komplekseja fungisidisten polyeenimakrolidiantibioottien kanssa, mikä laajentaa oleellisesti polyeenimakrolidiantibioottien käyttöä lääketieteen alalla.

Meglumiinikomplekseilla, jotka on valmistettu tämän keksinnön mukaisesti on uusia farmakologisia ominaisuuksia verrattuna lähtöaineena käytettyihin liukenemattomiin antibiootteihin, nimittäin liukoisuus veteen, paljon parempi imeytymiskyky ruoansulatuskanavasta suun kautta annettuina ja sen ohella, aivan odottamatta parempi sietokyky ja alempi munuaisia myrkyttävä vaikutus verrattuna esim. amfotersiini-B:hen.

Fungisidisten polyeenimakrolidiantibioottien meglumiinikompleksien saanto on 85-96 %, laskettuna lähtöaineantibiootin perusteella.

Kaavan I mukaiset kompleksit muodostavat tehoaineen lääkeainekoostumuksissa, joita voidaan käyttää sienitautien hoitoon, kuten eri paikoissa esiintyvien kandidiaasien ja aspergilloosien hoitoon ja, mikä tärkeintä, jotkut niistä osoittautuivat olevan erittäin vaikuttavia ja silti myrkyttömiä, kun niitä annettiin suun kautta kaikkein vaarallisimpien järjestelmämykoosien hoitoon, kuten kokkidiodiomykoosin, histoplasmoosin (kudossienitauti), kryptokokkoosin, pohjois-amerikkalaisen plastomykoosin (rakkulasienitaudin), sporotrikoosihomemykoosin, kromomykoosin, jyväiskasvama- ja hajapesäkkeiskandidiaasin kroonisten muotojen, sekä myös alkueläinten aiheuttamien tautien hoitoon.

Näistä yhdisteistä käytetään seuraavia nimityksiä:

1. Amfoterisiini B:n meglumiinikompleksi - amfoglukamiini;
2. Mykoheptiinin meglumiinikompleksi - mykoglukamiini;
3. Levoriinin meglumiinikompleksi - levoriglumiini;
4. Nystatiinin meglumiini-kompleksi - nystaglumiini.

Näitä yhdisteitä voidaan antaa kapseloidun jauheen muodossa tai tablettien muodossa farmaseuttisesti sopivan täyteaineen kanssa

tai vesipitoisten liuosten muodossa, jotka on valmistettu ilman esivalmistetuja steriilistä jauheesta sisäänhengitykseen suihkutettaviksi, kun kysymyksessä on suuontelon, nenänielun, hengitystien ja keuhkojen mykoosit, sekä myös annettaviksi tipparuiskeena, kun kysymyksessä on häpy-emätintulehdus-, emätintulehdus-, rakkotulehdus- ja kohtutulehdus-kandidiaasi.

Amfoglukamiini, joka imeytyy suun kautta annettuna, on odottamatta havaittu myrkyttömäksi eläimillä suoritetuissa kokeissa tällä tavalla annettuna. Sen siedettävä annos suun kautta annettuna valkoisille hiirille on 2000 mg/kg. Amfoglukamiinin spesifinen biologinen aktiivisuus määritettynä agar-diffuusio-menetelmällä testimikrobilla *Candida utilis* LIA-T037 on ainakin 250 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ($\frac{\text{ED}}{\text{mg}}$) verrattuna kansainväliseen standardiin amfoterisiini-B:lle. Suurin siedettävä annos amfoglukamiinia laskimonsisäisesti annettuna on 7,5-15 ED/hiiri.

Kun hiirille, päivää senjälkeen kun ne on laskimonsisäisesti tartutettu kuolettavilla annoksilla *Candida Albicans* 13 ja *Coccidioides Immitis* 158, vastaavasti kandidiaasin ja kokkidiodomykoosin tautia synnyttäviä organismeja, suun kautta kerran päivässä 10 päivän ajan annetaan 2,535 ja 4,750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\frac{\text{ED}}{\text{kg}}$):n annoksina vesipitoista amfoglukamiini-liuosta, olivat kaikki käsitellyt hiiret elossa ilman erityisiä sisusvaurioita, kun taas kaikki tartutetut vertailuhiiret, joille ei annettu lääkitysyhdistettä, olivat kuolleita. Annettuna sisäänhengitettävänä suihkeena väkevyydessä 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\frac{\text{ED}}{\text{kg}}$) 5-7 päivän aikana samoihin tartuntoihin päästiin käsitellyillä eläimillä eloonjäämis-%:iin 100, kun taas kaikki vertailueläimet olivat kuolleita.

Suurimman osan tautia synnyttävistä sienistä kasvu pysähtyy amfoglukamiinin vaikutuksesta in vitro väkevyydessä 0,5-6,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, mistä syystä amfoglukamiinia voidaan käyttää kaikkein vaarallisimpien syvien mykoosien, nimittäin kokkidiodomykoosin, histoplasmoosin, kryptokokkoosin, sporotrikoosin, pohjoisamerikkalaisen plasmomykoosin, kromomykoosin, homemykoosin, sisuskandidiaasin, jyväiskasvama- ja hajapesäkkeiskandidiaasin kroonisten muotojen, sekä myös ruoansulatuskanavan kandidiaasin ja suoli-kandida-kantajatilan suun kautta annettavaan käsittelyyn.

Amfoglukamiinin epämuodostamia aiheuttavaa vaikutusta on tutkittu testeissä 136 Vistar-suvun tiineellä rotalla.

Äkillisissä kokeissa 100 ja 1000 mg/kg:n annoksilla amfoglukamiini saa aikaan selvän myrkyllisen vaikutuksen, joka käy ilmi tii-

neyden keskeytymisestä. Annettuna 20 mg/kg:n annoksina amfoglukamiini ei jätä sikiöön minkäänlaisia kehitysvaurioita. Sentähden amfoglukamiinilla ei ole epämuodostumia aiheuttavaa vaikutusta.

Annettuna 50 mg/kg:n annoksina amfoglukamiini takasi 74 %:n eläimistä paranemisen lablian (siimaeläintaudin) suhteen ja 88 %:n -trikomonian (siimaeläintaudin) suhteen. 25 mg/kg:n annoksina labliaasin ollessa kyseessä, paransi mykoglukamiini 40 % eläimistä ja 90 % trikomoniaasin tapauksessa.

Mykoglukamiinia on testattu yleisen kandidiaasin suun kautta tapahtuvassa käsittelyssä antamalla kerran päivässä 10 päivän ajan 50, 100, 250 ja 500 $\mu\text{g/kg}$ ($\frac{\text{ED}}{\text{kg}}$):n annoksia ED_{50} ($\frac{\text{ED}}{\text{kg}} \times 10$) oli 12 päivää koe-eläinten kuolinpäivän jälkeen 70-130 ja 21 päivän jälkeen se oli 240-270; 28 päivän jälkeen se oli 300-530. Mykoglukamiini oli vaikuttava myös yleisen kandidiaasin laskimonsisäisessä käsittelyssä. ED_{50} oli kaikkien vertailueläinten kuolinpäivänä 37 ED/kg , kolme viikkoa senjälkeen se oli 50 ED/kg ja 2 viikkoa tämän jälkeen se oli 62 ED/kg . Mykoglukamiinilla on terapeuttinen vaikutus samanlainen kuin hienojakoisella mykoheptiinijauheella suun kautta annettuna, mutta se laajentaa antibioottikäytön aluetta annettuna sisäänhengitettävänä suihkeena ja tipparuiskeena.

Levoriglumiini näytti olevan tehokas yleisen kandidiaasin tapauksessa, kun se annettiin laskimonsisäisesti.

Nystaglumiini oli tehokas nystatiinin natriumsuolana, kun se annettiin laskimonsisäisesti valkoisille hiirille 7 päivän aikana 2,000 ja 2,800 ED/kg :n annoksina vastaavasti laskimonsisäisen tartunnan jälkeen kuolettavalla annoksella *Candida albicans* 13, kun taas kaikki vertailueläimet olivat kuolleet.

Kokeellisten tietojen ja kliinisten tutkimusten perusteella suositellaan, että amfoglukamiinia käytetään suun kautta annettuna jauheena, kapseleiden tai tablettien muodossa, jotka sisältävät 100 mg (100,000 ED) vaikuttavaa perusainetta kahdesti päivässä aterioiden jälkeen yksinkertaisina 200-500 mg:n (200,000-500,000 ED) annoksina aikuisille, ja lapsille: 2-vuotiaaseen asti - 25 mg (25,000 ED, tabletin neljäs osa); 2-6 vuotiaille - 100 mg (100,000 ED - 1 tabletti); 6-9 vuotiaille - 150 mg (150,000 ED - 1,5 tablettia); 9-14 vuotiaille - 200 mg (200,000 ED - 2 tablettia); 14 vuotiaille ja vanhemmille - kuten aikuisille 10-14 päivän ajan, ja kroonisissa tapauksissa kolmesta neljään viikkoon. Hoitokäsittely voidaan uusia 5-7 päivän kuluttua.

Amfoglukamiinia voidaan käyttää myös suuontelon, nenänielun,

hengitystien ja keuhkojen kandidiaasien ja aspergilloosien hoitoon, kun sitä annetaan suihkeena sisäänhengitettäessä aerosolin muodossa, joka on ilman esivalmistelua valmistettu amfoglukamiinin vesipitoinen liuos, kerran tai kahdesti päivässä 10-56 mg:n (10,000-56,000 ED) yksinkertaisena annoksena aikuisille 5-10 ml:ssa 10-12 päivän ajan, sekä myös tipparuiskeiden ja peräruiskeiden muodossa.

Koska amfoglukamiini on vaikuttava alkueläinten, nimittäin lablian ja trikomonian suhteen, kun taas amfoterisiini B on sopivasti vaikuttava leishmanioosia ja schistosomoosia vastaan, voidaan amfoglukamiinia käyttää lamblioosin, trikomoniasiksen, leishmanioosin ja schistosomioosin hoitoon käyttäen myös samoja lääkkeen antomenetelmiä.

Mykoglukamiinia voidaan käyttää myös yksinkertaisina annoksina 10:sta 56 mg:aan kerran tai kahdesti päivässä aikuisille keuhkojen kandidiaasin tai aspergilloosin hoitamiseen suihkuttamalla sisäänhengitettäessä aerosolia sekä myös kandidiaasi-rakkotulehduksen, -kohtutulehduksen, -häpy-emätintulehduksen, -emätintulehduksen ja siimaeliötaudin hoitamiseen antamalla vesipitoista liuosta tipparuiskeena.

Levoriglumiinia voidaan käyttää 150,000-200,000 ED:n annoksina ja nystaglumiinia 150,000 ED:n annoksina päivässä 5-10 ml:n tilavuudessa suun kautta tai peräsuolen kautta annettuna ruoansulatuskanavan ja sisälmysten kandidiaasien ja suoli-kandida-kantajatilan hoitoon, sekä myös vesipitoisen aerosolin muodossa annettavaksi sisäänhengityksessä suihkeena tai kurlaamalla, kun kysymyksessä on suuontelon ja nenänielun, hengitystien ja keuhkojen kandidiaasin tai aspergilloosin hoito.

Johtuen polyeenimakrolidiantibioottien, erityisesti amfoterisiini-B:n polyeeniantibioottien (fungisoni) tehokkuudesta eturauhas-ten liikakasvun ollessa kysymyksessä (vrt. C. Jamamoto & al., The Nippon University Journal of Medicine, 1971 13, 291-304) 800-1200 mg:n päivittäisenä annoksena 4 kertaa päivässä 200-300 mg:n yksinkertaisena annoksena 2-10 viikon aikana ja johtuen levoriinin vaikutusvoimasta 2 000 000 ED:n päiväannoksena 4 kertaa päivässä 500 000 ED:n yksinkertaisena annoksena (vrt. G.A. Mickhailetz et al. Voprosy onkologii, 1971, 5), voidaan amfoglukamiinia ja leveriglumiinia antaa pienemmissä annoksissa verrattuna liukenemattomaan lähtöaineeseen ja siitä syystä vaikeasti imeytyviin antibiootteihin eturauhaskasvaimen hoitoon.

Sieniä hävittävien polyeenimakrolidiantibioottien meglumiini-

kompleksien säilymisaika varastoituina kuivassa, valotiiviissä paikassa, hermeettisesti suljettuna, +4°C:een lämpötilassa on yksi vuosi (havaintoaika).

Fungisidisten polyeenimakrolidiantibioottien meglumiinikomplekseja valmistetaan jauheiden, kapseleiden ja tablettien muodossa farmaseuttisesti sopivien täyteaineiden, kuten maitosokerin, ja glukosin kanssa, yhtä hyvin kuin steriilien jauheiden muodossa suun kautta annettaviksi.

Kielteisyydestä ovat yksilöllinen sietokyky ja selvät munuais-sairaudet, joihin liittyy munuaisten toimintahäiriöt; kun kysymyksessä ovat aromaattisen alaryhmän, heptaeenien meglumiinikompleksit annettuina suun kautta, on ainoa kielteisyys raskaus.

Positiivinen seuraus sieniä hävittävien polyeenimakrolidiantibioottien käytöstä verrattuna alkuperäisiin liukenemattomiin polyeeniantibiootteihin ja niiden kolloidisiin komplekseihin natriumdesoksikoleaatin kanssa on, kaikkein ensimmäiseksi, että on mahdollista suun kautta hoitaa yleistä sienitartuntaa, mikä johtuu polyeeniantibioottien meglumiinikompleksien paremmasta imeytymisestä ruonsulatuskanavasta, paremmasta sietokyvystä, alentuneesta yleisestä ja munuaismyrkyllisyydestä verrattuna, esimerkiksi amfoterisiini-B:n kompleksiin natriumdesoksikoleaatin kanssa. Tämä tekee mahdolliseksi suorittaa käsittely ei ainoastaan paikoillaan pysyvässä tilassa injektoidulla laskimonsisäisesti samalla jatkuvasti tarkkaillen jäännöstyyppeä veressä; vaan myös liikkuvissa olosuhteissa lasten käsittely mukaan luettuna; sopivissa tapauksissa käsittely voidaan suorittaa antamalla sisäänhengitettävä tai ontelonsisäinen suihke. Edullinen vaikutus, verrattuna alkuperäisiin liukenemattomiin antibiootteihin, on myös sillä, että suun kautta annettava annos on pienentynyt, olen esimerkiksi amfoglukamiinin tapauksessa 400-1000 mg päivässä 800-1200 mg:n asemesta päivässä amfoterisiini B:lle (fungisoni), mikä huomattavasti alentaa antibiootin sivuvaikutusten lukuisuutta ja voimakkuutta alentuneiden hoitokustannusten lisäksi.

Sieniä hävittävien polyeenimakrolidiantibioottien meglumiinikompleksien valmistusmenetelmä toteutetaan edullisesti seuraavalla tavalla.

Sieniä hävittävä polyeenimakrolidiantibiootti liuotetaan sekoittaen vaadittavaan määrään dimetyylisulfoksidia, dimetyyliformamidia tai niiden seosta, lämmitetään 50-65°C:een ja lisätään, edelleen jatkuvasti sekoittaen, laskettu määrä meglumiinia tai sen vesi-

pitoista liuosta, jonka väkevyys on väliltä 0,25-1 g/ml tai ylimäärin 5 mooliin asti 1 moolia kohti sieniä hävittävää polyeenimakrolidi-antibioottia. Liukenemattomat epäpuhtaudet suodatetaan pois. Haluttu tuote, nimittäin sieniä hävittävän polyeenimakrolidiantibiootin meglumiinikompleksi saostetaan kirkkaasta suodoksesta lisäämällä 6-7 kertainen määrä dietyylieetterin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa väliltä 1:1-3:7). Syntynyt sakka suodatetaan erilleen, pestään dietyylieetterin ja asetonin seoksella tai pelkästään asetonilla ja kuivataan 20°C:ssa tyhjässä, yhdisteiden hygroskooppisuudesta johtuen jäännöspaineessa, joka on enintään 10 mm Hg.

Saadaan sieniä hävittävän polyeenimakrolidiantibiootin vesiliukoinen meglumiinikompleksi 85-96 %:n saannoin, laskettuna lähtöaineantibiootin aktiivisuudesta.

Steriilin jauheen valmistamiseksi sieniä hävittävän polyeenimakrolidiantibiootin meglumiinikompleksi liuotetaan veteen; liuos suodatetaan bakteeri-suodatusapuaaineen "Millipore" läpi, pullotetaan aseptisissa olosuhteissa pulloihin, pakastetaan -40°C:een lämpötilaan ja kuivataan sublimoimalla, minkä jälkeen steriiliä jauhetta sisältävät pullot suljetaan hermeettisesti kumitulpilla ja kääritään alumiinikääreisiin.

Keksinnön paremmin ymmärtämiseksi esitetään seuraavassa muutama spesifinen esimerkki.

Esimerkki 1

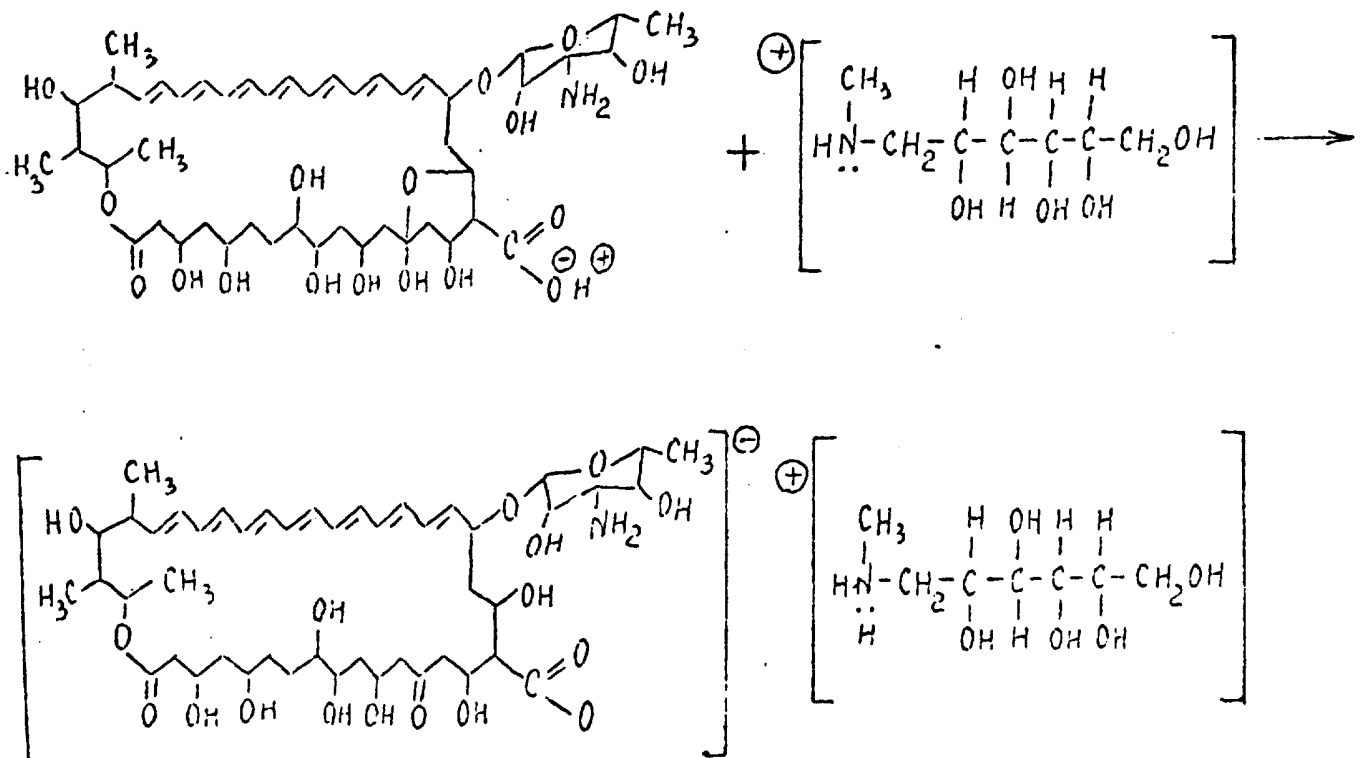
Amfoglukamiinin valmistus

15 g amfoterisiini B:tä, jolla on spesifinen biologinen aktiivisuus, 750 mcg/mg (ED/mg) liuotetaan sekoittaen 150 ml:aan dimetyyli-sulfoksidia kuumentamisen jälkeen lämpötilaan 50-65°C ja liuokseen lisätään 15 ml meglumiinin vesiliuosta, jonka väkevyys on 1 g/ml.

Meglumiinia, α -deoksi-1-(metyyliamino)-glukitolia $C_7H_{17}NO_5$, käytetään farmakopean puhtausasteisena U.S. Farmakopean XVIII painoksen mukaisesti, s. 291, emäksisen aineen sisällön ollessa ainakin 99 % sulamispisteen 128-132°C (2°C:een vaihtelurajoissa) ja spesifisen kiertymisindeksin $[\alpha]_{20}^D$ -15,5-17,50.

Liukenemattomat epäpuhtaudet suodatetaan pois. Saatuun kirkastettuun suodokseen lisätään 7-kertainen tilavuusmäärä dietyylieetterin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 3:7 vastaavasti). Syntynyt sakka suodatetaan erilleen, pestään asetonilla ja kuivataan 20°C:ssa alennetussa, enintään 10 mm Hg:n paineessa antamaan 22,36 g amfoglukamiinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on

440 µg/mg (ED/mg) kansainvälisen standardin mukaan amfoterisiini-B:lle, jolloin tämä vastaa amfoglukamiinin 91,3 %:n saalista, lasketuna lähtö-amfoterisiini-B:n aktiivisuudesta. Amfoterisiini-B:n meglumiini-kompleksi, nimittäin amfoglukamiini, jolla on bruttokaava $C_{54}H_{90}N_2O_{22}$ ja jonka molekyylipaino on 1192,3, muodostetaan seuraavan kaavion mukaisesti:



käyttäen edellä mainittua rakennekaavaa; se sisältää 3 mooliin asti meglumiini-ylimäärää liuotavana aineena. Amfoglukamiinin liukoisuus veteen on 100 mg/ml. Amfoglukamiinin oikeaperäisyys todetaan oikeaksi määrittämällä jakaantumiskertoimen arvo $K_p = 3-3,8$ Borovsky-järjestelmässä: metanoli-kloroformi-boraatti-puskuri, jonka pH on 8,2 (2:2:1), spesifiset absorptio-(ekstinktio $E_{1cm}^{1\%}$) arvot aallonpituuksilla 363 ± 2 , 383 ± 2 , 406 ± 2 nm ainakin 390,660 ja 700:ssa vastavasti laskettuna kuivalle aineelle ja saattamalla hopea-amalgaamareaktio tapahtumaan N-metyyli-D-glukamiinilla. Painohäviö amfoglukamiinin kuivaamisen jälkeen on enintään 5 %.

Esimerkki 2

Amfoglukamiinin valmistus

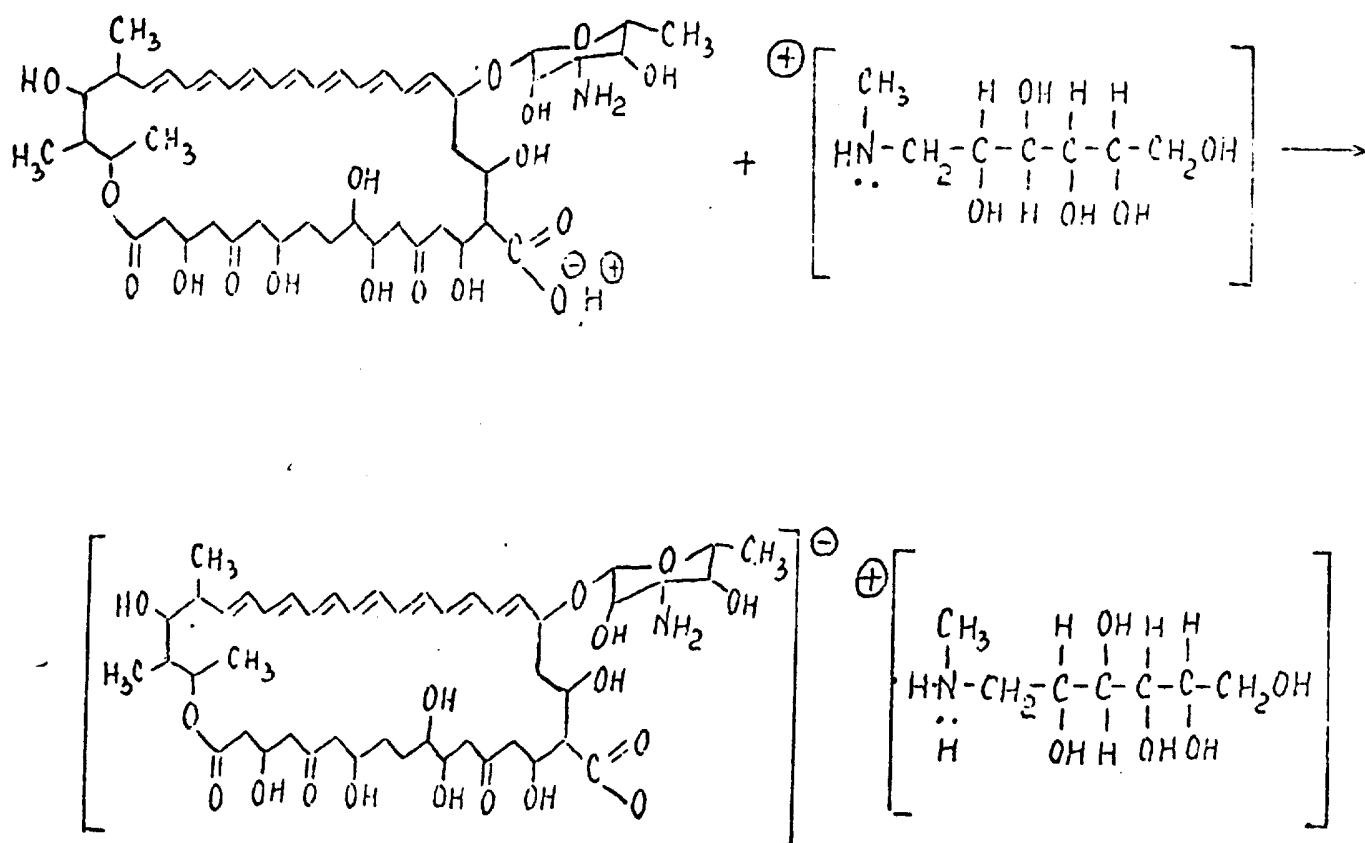
19,7 g amfoterisiini-B:tä, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 750 µg/mg (ED/mg), ja 14,7 meglumiinia, jonka 1-deoksi-1-(metyyliamino)-glukitoli-sisältö on ainakin 99 %, liuotetaan 100 ml:aan dimetyylisulfoksidia lämpötilassa väliltä 50-60°C ja sekoitetaan 10 minuuttia. Saatuun liuokseen lisätään 7-kertainen tilavuusmäärä asetonin ja dietyylieetterin seosta (tilavuussuhteessa 1:1). Sakka suodatetaan erilleen, pestään samalla asetonin ja dietyylieetterin seoksella ja kuivataan 20°C:ssa 100 mm:iin Hg alennetussa paineessa antamaan 32,7 g amfoglukamiinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 440 µg/mg (ED/mg), mikä vastaa amfoglukamiinin 96 %:n saalista, laskettuna lähtöamfoterisiini-B:n aktiivisuudesta.

Esimerkki 3

Mykoglukamiinin valmistus

7 g mykoheptiinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 450 mcg/mg mykoheptiinin standardin mukaisesti, ja 7 g meglumiinia liuotetaan 40 ml:aan dimetyyliformamidia lämpötilassa väliltä 50-60°C sekoittaen 10 minuuttia. Saatuun läpinäkyvään liuokseen lisätään 7-kertainen tilavuusmäärä asetonia. Näin muodostunut sakka suodatetaan erilleen, pestään asetonilla ja kuivataan 20°C:ssa alennetussa 10 mm:n Hg paineessa antamaan 13,2 g mykoglukamiinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 212 µg/mg mykoheptiinin standardin mukaisesti, mikä vastaa mykoglukamiinin 89 %:n saalista, laskettuna lähtömykoheptiinin aktiivisuudesta. Mykoheptiini-mykoglukamiinin meglumiini-kompleksi, jolla on bruttokaava $C_{54}H_{88}N_2O_{22}$, muodostetaan seuraavan yhtälön mukaisesti:

63036



II. Sieniä hävittävien polyeenimakrolidiantibioottien meglumiinikompleksien valmistus aromaattisen alaryhmän heptaeeneista.

Esimerkki 4

Levoriglumiinin valmistus

3 g levoriinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 39,200 ED/mg, liuotetaan sekoittaen 50 ml:aan dimetyyliformamidia, lämmitetään lämpötilaan väliltä 50-55°C ja lisätään, edelleen sekoittaen, 3,5 g N-metyyli-d-glukamiinia. Liukenemattomat epäpuhtaudet suodatetaan pois ja kirkkaaseen suodokseen lisätään 7-kertainen tilavuusmäärä dietyylieetterin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 3:7). Syntynyt sakka suodatetaan erilleen, pestään samalla asetonin ja dietyylieetterin seoksella ja kuivataan 20°C:ssa alennetussa enintään 10 mm Hg:n paineessa antamaan 4,2 g levoriglumiini, joka on liukoinen veteen väkevyydessä 50 mg/ml ja jonka ekstinktioarvo $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ on 520-560 (80 % etanoli), spesifinen biologinen aktiivisuus on 24,000 ED/mg levoriinin standardin mukaisesti, mikä vastaa 85,7 %:n saalista, laskettuna lähtö-antibiootin aktiivisuudesta.

Kuolettavan annoksen puoli-arvo valkoisille hiirille laskimon-
sisäisesti annettuna on $LD_{50} = 3,2 \text{ mg/kg}$, kun taas levoriinin nat-
riumsuolan $LD_{50} = 1,6 \pm 0,09 \text{ mg/kg}$ samalla tavalla annettuna.

Levoriinin rakennekaavaa ja, tämän vuoksi, ei myöskään levori-
glukamiinin rakennekaavaa ole vielä täydellisesti vahvistettu.

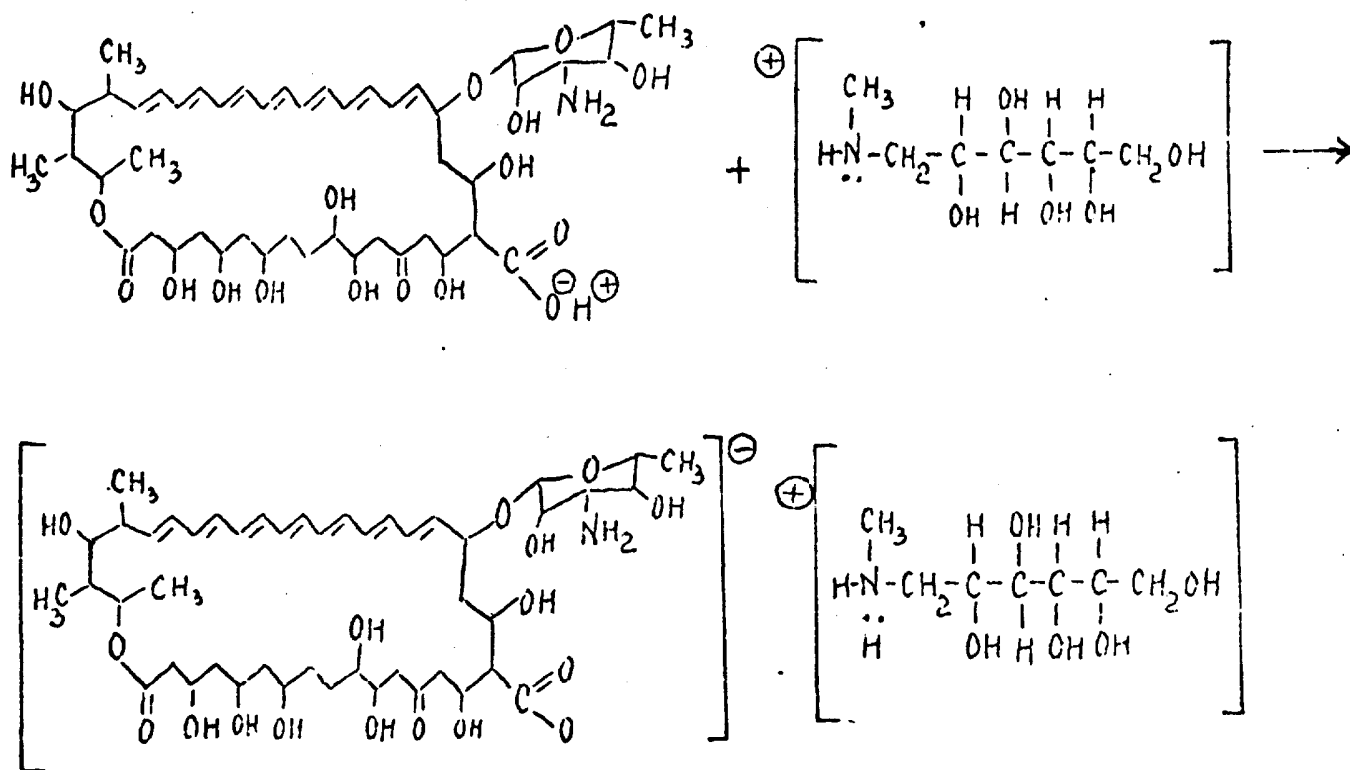
III. Sieniä hävittävän polyeenimakrolidiantibiootin meglumiini-
kompleksin valmistus tetraeenien ryhmästä.

Esimerkki 5

Nystaglumiinin valmistus

1 g nystatiinia, jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on
3,500 ED/mg, liuotetaan sekoittaen 8 ml:aan dimetyyliformamidia läm-
mittämisen jälkeen lämpötilaan väliltä $50-55^{\circ}\text{C}$ ja lisätään, edelleen
sekoittaen, 1 ml N-metyyli-d-glukamiinin vesipitoista liuosta, jonka
väkevyys on 0,255 g/ml.

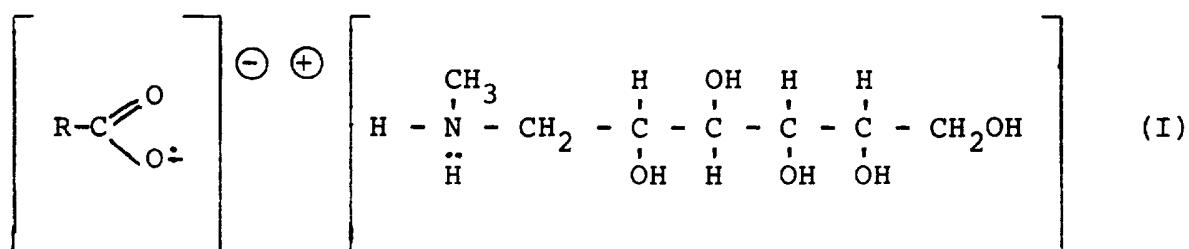
Tuloksena nystatiinin reaktiosta meglumiinin kanssa muodostuu
nystaglumiinia, jolla on bruttokaava $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{N}_2\text{O}_{22}$, seuraavan kaavion
mukaisesti:



Mahdolliset epäpuhtaudet suodatetaan pois. Kirkastettuun suodokseen lisätään sekoittaen 6-kertainen tilavuusmäärä dietyyli-eetterin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 3:7) nystaglumiinin saostamiseksi. Syntynyt sakka suodatetaan erilleen, pestään asetonin ja dietyylieetterin seoksella (tilavuussuhteessa 1:1) ja kuivataan 20°C:ssa ja alennetussa paineessa, joka on enintään 10 mm Hg, antamaan 1,05 g nystaglumiinia, joka on vesiliukoinen ja jonka spesifinen biologinen aktiivisuus on 3,000 ED/mg, mikä vastaa 90 %:n saalista, laskettuna lähtö-antibiootin aktiivisuudesta.

Patenttivaatimus:

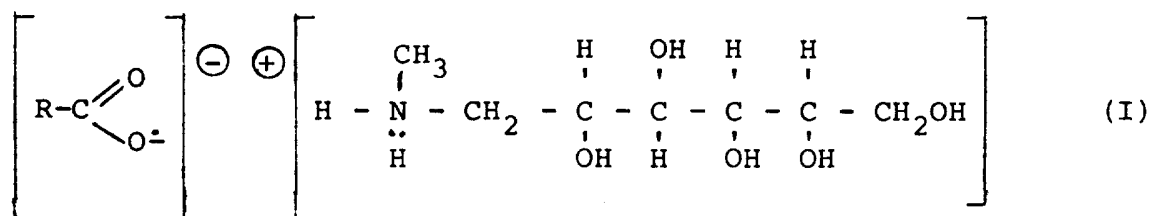
Menetelmä polyeenimakrolidiantibioottien fungisidisten meglumiinikompleksien valmistamiseksi, joiden kaava on



jossa R on amfoterisinolidin, mykoheptinolidin, levorinolidin tai nystatinolidin makrolaktonirengas ilman karboksyyli-ryhmää, t u n n e t t u siitä, että fungisidinen polyeenimakrolidiantibiootti, jonka kaava on R'COOH, jossa R' on amfoterisiini B:n, mykoheptiinin, levoriinin tai nystatiinin tähde, saatetaan reagoimaan dimetyylisulfoksidi- tai dimetyyliformamidiväliaineessa N-metyyli-glukamiinin tai sen pitoisuudeltaan 0,25-1 g/ml olevan vesiliuoksen kanssa, jolloin N-metyyli-glukamiinia lisätään enintään 5 moolin ylimäärä yhtä polyeenimakrolidiantibioottimoolia kohden, lämpötilassa 50-65°C, epäpuhtaudet suodatetaan pois, suodokseen lisätään 6-7-kertainen tilavuusmäärä dietyylieetterin ja asetonin seosta suhteessa 1:1-3:7, muodostunut saostuma suodatetaan, pestään asetonilla tai asetonin ja dietyylieetterin seoksella ja kuivataan 20°C:ssa alennetussa paineessa, joka on enintään 10 mm Hg.

Patentkrav:

Förfarande för framställning av fungicida megluminkomplex av polyenmakrolidantibiotika med formeln



vari R är en makrolaktonring utan karboxylgrupp av amfotäricinolid, mykoheptinolid, levorinolid eller nystatinolid, k ä n n e t e c k-
n a t därav, att ett fungicid polyenmakrolidantibiotikum med formeln R'COOH, vari R' är en rest av amfotäricin B, mykoheptin, levorin eller nystatin, omsättes i ett dimetylsulfoxid- eller dimetylformamidmedium med N-metylglukamin eller dess vattenlösning med en halt av 0,25-1 g/ml, varvid N-metylglukamin tillsättes i ett överskott av högst 5 mol per mol polyenmakrolidantibiotikum, vid en temperatur av 50-65°C, föroreningarna bortfiltreras, till filtratet sättes en 6-7-faldig volymmängd av en blandning av dietyleter och aceton i ett förhållande av 1:1-3:7, den bildade fällningen filtreras, tvättas med aceton eller en blandning av aceton och dietyleter och torkas vid 20°C under ett minskat tryck av högst 10 mm Hg.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: Iso-Britannia-Storbritannien(GB) 1 132 287 (A 61 k 3/56).