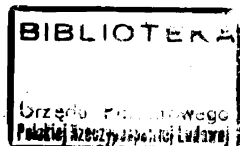


AG/k 2400



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ OPIS PATENTOWY

Nr. 44128

Kl. 30 h, 6

Chemie Grünenthal GmbH

Stolberg/Rhld., Niemiecka Republika Federalna

Sposób wytwarzania zasadowych, mało toksycznych soli kanamycyny

Patent trwa od dnia 28 października 1959 r.

Kanamycyna jest zasadowym antybiotykiem wytwarzanym przez *streptomyces kanamyceticus nov. spec.* Zawiera ona cztery grupy aminowe i dlatego jest zdolna do tworzenia soli zasadowych i obojętnych. Kanamycyna wykazuje wysoką czynność w stosunku do szeregu bakterii, zwłaszcza wywołujących gruźlicę. W terapii stosowano dotychczas kanamycynę tylko w postaci siarczanu.

Stwierdzono, że zasadowe sole z kanamycyny i jednego, dwóch albo trzech moli aminokwasu albo jego pochodnych N-acylowych posiadają znacznie obniżoną toksyczność w porównaniu z siarczanem kanamycyny. Jako aminokwasy albo ich acylowe pochodne nadają się szczególnie leucyna i jej acylowe pochodne, jak też kwas pantotenowy, a więc N-(α,γ -dwuoksy- β,β -dwumetylobutyrylo)- β -alanina. W zasadowych solach kanamycyny, które można wytworzyć sposobem według wynalazku, mogą występować jedna, dwie albo trzy grupy aminowe, w postaci wolnej, a więc w postaci nie wiążącej się z kwasami na sole. Jeżeli w zasadowych solach

kanamycyny zawarte są jedna albo dwie grupy aminowe w postaci wolnej, wówczas kwasy związane z innymi zasadowymi grupami kanamycyny mogą być jednakowe albo różne, jednak co najmniej jedna grupa aminowa kanamycyny musi być związana z aminokwasem albo z kwasem N-acyloaminowym z wytworzeniem soli. Tak na przykład można jedną albo dwie z zasadowych grup kanamycyny poddać reakcji z kwasem pantotenowym i dwie lub jedną grupę aminową poddać reakcji np. N-acetyloleucyną, kwasem siarkowym, kwasem octowym itp. w celu wytworzenia mieszanych zasadowych soli kanamycyny. Także w takich mieszanych solach toksyczność kanamycyny jest silnie zmniejszona w porównaniu z antybiotykiem w postaci siarczanu.

Osiągnięte zmniejszenie toksyczności wynika np. z następujących wyników badań:

Jeżeli kanamycynę w postaci siarczanu podać się dożylnie białym myszom wówczas DL_{50} (to jest taka ilość po podaniu, której 50% zwierząt doświadczalnych pada) wynosi 195 mg /zasady

kanamycyny/kg myszy. W przeciwieństwie do tego DL_{50} przy podaniu kanamycyny w postaci mono-pantotenianu-semi-siarczanu kanamycyny wynosi 270 mg zasady kanamycyny/kg myszy, a w postaci dwu-pantotenianu kanamycyny 275 mg zasady kanamycyny/kg myszy.

Produkty kanamycyny wytwarzane sposobem według wynalazku są znacznie lepiej lokalnie znoszone, aniżeli te w postaci siarczanu. Każdym dziesięciu białym myszom w trzydziestodniowym okresie doświadczalnym wstrzykiwano dwa razy dziennie pod skórę na grzbiecie wodny roztwór siarczanu kanamycyny, mono-pantotenianu-semi-siarczanu kanamycyny i dwupantotenianu kanamycyny w ilości 400 mg zasady kanamycyny/kg myszy. Przy tym u 8 do 10 zwierząt, którym zaaplikowano siarczan kanamycyny stwierdzono w miejscach iniekcji na plecach okrągłą martwicę, podczas gdy u zwierząt, którym zaaplikowano pantoteniany kanamycyny nie zauważono żadnych zmian skórnych, albo nacieczeń (infiltratów).

Wytwarzanie nowych soli kanamycyny można przeprowadzić przez częściowe zobojętnienie wolnej zasady za pomocą aminokwasów albo ich acylowych pochodnych. Przy wytwarzaniu mieszaniny soli kanamycyny można między innymi tak postąpić, że zasadę zobojętnia się stopniowo (np. najpierw jednym molem kwasu pantotenowego, a następnie jednym albo dwoma równoważnikami innego kwasu). Zobojętnianie można przeprowadzić w środowisku wodnym albo np. w alkoholowym.

Wytwarzanie zasadowych soli kanamycyny można przeprowadzić także na drodze reakcji soli kanamycyny ze solą aminokwasu lub jego N-acylowych pochodnych. Jako sole kanamycyny stosuje się przy tej odmianie sposobu korzystnie sole kanamycyny rozpuszczalne w wodzie, jak np. siarczan, jak też związki kanamycyny z wymienniczym kationowym. Te związki kanamycyny przereagowują łatwo np. z solami ziem alkalicznych, solami alkalicznymi, albo aminowymi aminokwasów, albo ich N-acylowych pochodnych. Można również wymienniczą anionową naładowaną aminokwasem lub jego acylową pochodną traktować roztworem soli kanamycyny w celu otrzymania nowej soli kanamycyny.

Sole kanamycyny można otrzymać z roztworu reakcyjnego przez odparowanie rozpuszczalnika, ewentualnie przez liofilizację albo przez zadawanie roztworu substancją mieszającą się z rozpuszczalnikiem stosowanym w czasie reak-

cji, w której sole kanamycyny są nierozpuszczalne albo trudno rozpuszczalne.

Przykład I. 3,155 g $Ba(OH)_2 \cdot 8 H_2O$ rozpuszcza się w 50 cm³ wody i w roztworze tym rozpuszcza się 3,46 g N-acetyloleucyny. Tak otrzymany roztwór soli barowej N-acetyloleucyny dodaje się powoli, mieszając do roztworu 6 g wodzianu monosiarczanu kanamycyny w 25 cm³ wody. Po pewnym czasie odsącza się powstały siarczan baru, a przesącz liofilizuje się. Otrzymuje się N-acetyloleucynian kanamycyny. Sól zaczyna się rozkładać przy 152°C; przy 195°C topi się z całkowitym rozkładem.

Przykład II. 6,5 g wodzianu monosiarczanu kanamycyny rozpuszcza się w 40 cm³ wody i do roztworu tego dodaje roztwór 4,76 g pantotenianu wapnia w 6 cm³ wody. Mieszaninę zadaje się 30 cm³ metanolu. Po pewnym czasie stania przy 0°C odsącza się siarczan wapniowy, a przesącz liofilizuje się. Otrzymuje się dwupantotenian kanamycyny. Produkt topi się przy 101–102°C z rozkładem.

Przykład III. do roztworu 7,05 g jednozasadowego siarczanu kanamycyny ($C_{18}H_{36}N_4O_{11} \cdot 1\frac{1}{2} H_2SO_4$), który otrzymano z roztworu 6,7 g wodzianu monosiarczanu kanamycyny w 40 cm³ wody przez dodanie 11,2 cm³ n-kwasu siarkowego dodaje się roztwór 2,45 g pantotenianu wapnia w 5 cm³ wody. Zadaje się 20 ml metanolu i pozostawia przez pewien czas, chłodząc do odstania. Po odsączeniu siarczanu wapniowego otrzymany roztwór liofilizuje się, przy czym otrzymuje się siarczan-pantotenian kanamycyny. Produkt topi się powyżej 230°C.

Przykład IV. Postępuje się, jak w przykładzie III zadaje jednak zamiast 2,45 g pantotenianu wapnia roztworem 5,3 g pantotenianu wapnia w 7 cm³ wody. Po liofilizacji otrzymuje się dwupantotenian-semi-siarczan kanamycyny (lub siarczan (dwupantotenianu kanamycyny)₂) o temperaturze topnienia 114–118°C z rozkładem.

Przykład V. Postępuje się, jak w przykładzie III, zadaje się jednak zamiast roztworem 2,45 g takim samym zawierającym 8 g pantotenianu wapnia. Po liofilizacji otrzymuje się trójpantotenian kanamycyny, który topi się przy 110–112°C z rozkładem.

Przykład VI. 6,5 g wodzianu monosiarczanu kanamycyny rozpuszcza się w 40 cm³ wody i zadaje roztworem 2,38 g pantotenianu wapnia

w 5 cm³ wody. Po dodaniu 20 cm³ metanolu pozostawia się przez noc w temperaturze 0°C, odsącza siarczan wapniowy, a przesącz liofilizuje. Otrzymuje się monopantotenian-semi-siarczan kanamycyny (lub siarczan) monopantotenu kanamycyny), który topi się przy 111–113°C z rozkładem.

Przykład VII. Rozpuszcza się 10 g zasady kanamycyny w 50 cm³ wody i dodaje roztwór 13,6 g kwasu pantotenowego w 25 cm³ wody. Po krótkim staniu otrzymany roztwór odparowuje się, przy czym otrzymuje się pantotenian kanamycyny, który topi się z rozkładem przy 110–112°C, z wydajnością prawie teoretyczną.

Przykład VIII. 10 g zasady kanamycyny rozpuszcza się w 25 cm³ wody, następnie dodaje się roztwór 9 g kwasu pantotenowego w 15 cm³ wody, a następnie 10,1 cm³ 10%-wego kwasu siarkowego. Roztwór liofilizuje się, przy czym otrzymuje się dwupantotenian-semi-siarczan kanamycyny, który topi się z rozkładem przy 114–118°C.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania zasadowych mało toksycznych soli kanamycyny, w których jedna, dwie lub trzy grupy aminowe związane są z kwasami, jednak co najmniej jedna z grup aminowych kanamycyny związana jest z aminokwasem albo z N-acyloaminokwasem i ewentualnie jedna albo dwie z dal-

szych grup aminowych kanamycyny związana jest z innymi kwasami z wytworzeniem soli, znamienny tym, że kanamycynę albo sól kanamycyny poddaje się reakcji z jednym, dwoma albo trzema molami aminokwasu, N-acyloaminokwasu, albo soli aminokwasu lub N-acyloaminokwasu i otrzymaną sól kanamycyny ewentualnie poddaje dalej reakcji z innymi kwasami, albo z ich solami.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że jako N-acyloaminokwasy, albo ich sole stosuje się N-acetyloleucynę, albo kwas pantotenowy, albo ich sole.
3. Sposób według zastrz. 1 i 2, znamienny tym, że jako sole aminokwasów albo N-acyloaminokwasów stosuje się sole ziem alkalicznych tych kwasów.
4. Sposób według zastrz. 1–3, znamienny tym, że jako związki kanamycyny stosuje się wymienniczkę kationową naładowaną antybiotykiem.
5. Sposób według zastrz. 1–4, znamienny tym, że jako związki aminokwasów albo N-acyloaminokwasów stosuje się wymienniczkę anionową naładowaną takim kwasem.

Chemie Grünenthal GmbH

Zastępca: inż. Józef Felkner
rzecznik patentowy