



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 10.02.1971 (P. 146142)

Pierwszeństwo: 11.02.1970 Włochy

Zgłoszenie ogłoszono: 30.05.1973

Opis patentowy opublikowano: 15.12.1976

MKP C07d 49/36

Int. Cl.² C07D 233/54

CELESTIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Franco Parisi, Franco Faustini, Lavinio Canavesi

Uprawniony z patentu: Carlo Erba S.p.A. Mediolan (Włochy)

Sposób wytwarzania nowego dwuzasadowego histydynianu glinowego

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowej soli, dwuzasadowego histydynianu glinowego o wzorze przedstawionym na rysunku. W soli tej histydyna może występować w postaci L,D lub ich mieszaniny, zwłaszcza w formie mieszaniny racemicznej (DL).

Zgodnie ze sposobem według wynalazku dwuzasadowe histydyniany glinowe otrzymuje się w wyniku reakcji histydyny z alkoholem glinu w obecności wody lub też w wyniku reakcji soli histydyny z solą glinową w obecności wodnego roztworu alkoholu. Charakter otrzymanej soli zależy głównie od wzajemnego stosunku molowego histydyny i alkoholu glinu lub soli. Użycie 1 mola histydyny na 1 mol alkoholu glinu lub 1/3 mola soli glinowej prowadzi do otrzymania soli dwuzasadowej.

Sól taka jest białym, bezpostaciowym proszkiem, nierozpuszczalnym w wodzie i rozpuszczalnym w kwasach mineralnych, takich jak kwas chlorowodorowy, siarkowy i azotowy. Tę sól, o ciężarze cząsteczkowym 215, stosować można skutecznie w leczeniu nieżytu żołądka oraz wrzodów żołądka i dwunastnicy. Aktywność dwuzasadowego histydynianu glinowego oceniano na żyjących zwierzętach jako zdolność do przeciwdziałania tworzeniu się wrzodów żołądka wywoływanych różnymi sposobami. Stosowano różne sposoby w celu wybrania takich, w których osiągnąć najlepszą powtarzalność, związaną z zależnością pomiędzy dawką a uzyskanym efektem

2

(regresja). Najbardziej zadawalające wyniki uzyskano w przypadku wrzodów wywołanych fenylobutazonem, glikozą i kofeiną.

Ze względu na to, że dwuzasadowy histydynian glinowy jest solą, interesujące było ustalenie, jaką część aktywności należy przypisać glinowi, a jaką histydynie oraz zbadanie, czy aktywność soli różni się od aktywności mieszaniny wodorotlenku glinowego i histydyny.

Wyniki uzyskane ze wszystkich testów wskazują na to, że aktywność dwuzasadowego histydynianu glinowego jest większa od sumy aktywności wodorotlenku glinowego i histydyny podawanych oddzielnie. Tak więc glin i histydyna, znajdujące się w jednej cząsteczce, wykazują synergizm w ochronie śluzówki żołądka przed działaniem środków powodujących owrzodzenie. Słuszność tego wniosku sprawdzono na wrzodach wywołanych fenylobutazonem na drodze bezpośredniego porównania aktywności dwuzasadowego histydynianu glinowego z aktywnością mieszaniny wodorotlenku glinowego i histydyny.

Do porównania aktywności zastosowano sposób w zasadzie zgodny z opisanym przez Bonfilsa i współpracowników w Compt. Rend.Soc.Biol., 148, 881 (1954). Test przeprowadzono na szczurach rasy CFE hodowli SPF. Po 2 sztuki umieszczono w klatkach i głodzono w ciągu 15 godzin podając jedynie wodę. Następnie podano doustnie fenylobutazon w ilości 80 mg/kg, traktując ten moment

jako początek testu, a potem badany preparat. Po 2 godzinach powtórzono dawkowanie obu preparatów. Po 6 godzinach zwierzęta zabijano podcinając im gardła pod znieczuleniem chloroformem. Żołądek wyjęty do autopsji przygotowano zgodnie ze sposobem opisanym przez Hansona i Brodie'go w J.Appl.Physiol., 15, 291 (1960). Uszkodzenie żołądka oceniano natychmiast po wyjęciu żołądka, stosując dość dowolną skalę ocen, której wartości zawierają się od 1 do 7, a opartą na modelach proponowanych przez kilku autorów, na przykład Osterloha i współpracowników (Arzneim. Forsch. 16, 901 (1966). Wielkość uszkodzeń oceniali bada-

cze, którym nie powiedziano, czym traktowano zwierzęta. Zapewniono również losowość traktowania zwierząt preparatami w celu uniknięcia polaryzacji wyników. W tym celu każdemu zwierzęciu nadano numer, który ujawniono dopiero po zakończeniu oceny. Test prowadzono podając dwuzasadowy histydynian glinowy w dawkach 100 i 300 mg/kg, a równomolową mieszaninę wodorotlenku glinowego i histydyny w dawkach 300 i 900 mg/kg. Preparaty przesiewano przez sito (2900 otworów/cm²) i zawieszano w wodzie przed podaniem.

Uzyskane wyniki zestawiono w tablicy 1.

Tablica 1

Porównanie aktywności dwuzasadowego histydynianu glinowego i aktywności równomolowej mieszaniny wodorotlenku glinowego i histydyny w zapobieganiu tworzenia się ciężkich owrzodzeń spowodowanych działaniem fenylobutazonu

Wywoływanie owrzodzenia	Dawka podawana dwukrotnie doustnie (mg/kg)	Działanie ochronne	Dawka podawana dwukrotnie doustnie (mg/kg)	Liczba zwierząt	Wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe liczby uszkodzeń wskazujące na wielkość owrzodzenia
—	—	—	—	25	$2,06 \pm 0,228$
Fenylobutazon	80	—	—	25	$5,70 \pm 0,299$
Fenylobutazon	80	Dwuzasadowy histydynian glinowy	100	25	$4,34 \pm 0,310$
Fenylobutazon	80	Dwuzasadowy histydynian glinowy	300	25	$2,26 \pm 0,260$
Fenylobutazon	80	Mieszanina wodorotlenku glinowego i histydyny	300	25	$5,10 \pm 0,252$
Fenylobutazon	80	Mieszanina wodorotlenku glinowego i histydyny	900	25	$3,56 \pm 0,279$

W tablicy 2 podano wyniki analizy wariancji, wykonywanej według planowania czynnikowego dla prób biologicznych, opartego na 2 liniach równoległych. Ponieważ porównania statystyczne dają zadowalające wyniki, można było obliczyć stosunek

aktywności dwuzasadowego histydynianu glinowego do aktywności mieszaniny wodorotlenku glinowego z histydyną. Stosunek ten wynosi 5,61 w przedziale ufności 3,91—8,03 dla prawdopodobieństwa $(P)=0,05$.

Tablica 2

Analiza wariancji według planowanego czynnikowego (2×2) dla prób biologicznych, których wyniki zamieszczono w tablicy 2

Źródło wariancji	Stopień swobody	Wariancja	F	Wynik	Prawdopodobieństwo
Dni	4	7,7433	4,58	HS	$<0,01$
Zwierzęta kontrolne i traktowane fenylobutazonem względem zwierząt leczonych	1	0,1408	<1	NS	$>0,05$
Leki	1	26,5225	15,68	HS	$<0,01$
Regresja	1	81,9025	48,43	HS	$<0,01$
Równoległość	1	1,8225	1,08	NS	$>0,05$
Grupy x dni	20	0,9533	<1	NS	$>0,05$
Błąd	140	1,6912	—	—	—

HS = znaczne

NS = nieznaczne

Aktywność dwuzasadowego histydynianu glinowego

Aktywność mieszaniny wodorotlenku glinowego i histydyny = 5,61

(Przedział ufności: 3,91—8,03 dla $P = 0,05$)

Z zamieszczonych wyników widać, że dwuzasadowy histydynian glinowy jest około pięciokrotnie aktywniejszy od mieszaniny wodorotlenku glinowego i histydyny.

Przedmiotem wynalazku są również kompozycje farmaceutyczne zawierające związek o wzorze 1 oraz dopuszczalne w lecznictwie nośnik i rozcieńczalnik. Korzystnie jest wytwarzać te kompo-

zycie w postaci nadającej się do podawania doustnego, takiej jak na przykład tabletki, kapsułki, proszek paczkowany, roztwory ciekłe, zawiesiny lub eliksiry.

Poniżej podane przykłady ilustrują sposób według wynalazku.

Przykład I. W okrągłodennej, trójszyjnej kolbie pojemności 500 ml zaopatrzonej w mieszadło mechaniczne, termometr i chłodnicę zwrotną zatkaną rurką z chlorkiem wapnia, 20,42 g świeżo destylowanego izopropanolu glinu i 200 ml suchego izopropanolu ogrzewa się w temperaturze 40–45°C, a następnie dodaje się 15,51 g zasady L-histydyny, mieszając energicznie nadal, w temperaturze 50°C i wreszcie pozostawia się w temperaturze 50°C na 10 minut. Potem wkrapla się 3,6 g wody. Temperatura rośnie gwałtownie do 55–60°C. Utworzony osad o dużej objętości miesza się w ciągu 2 godzin w temperaturze 55–60°, a następnie 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po odsączeniu na lejku Büchnera osad suszy się w temperaturze 50°C i pod ciśnieniem 30 mm Hg w ciągu 4 godzin. Gotowy produkt miele się na drobny proszek otrzymując 23 g dwuzasadowego L-histydynianu glinowego, zawierającego 7,5% wody.

Dla wzoru $C_6H_{10}N_3O_4Al$:

Obliczono: C-33,49; N-19,54; Al-12,54%; znaleziono (w przeliczeniu na wysuszony produkt): C-33,04%; N-19,30%; Al-12,7%.

Przykład II. W okrągłodennej kolbie z dopasowanym, silnym mieszadłem stapia się 10,2 g izopropanolanu glinu, oziębia się do temperatury 80–88°C i dodaje się 7,76 g zasady L-histodynowej, 10 ml izopropanolu i 1,8 g zdeminalizowanej wody. Całość miesza się w temperaturze 55–60°C w ciągu 5 godzin, a następnie suszy w kryształatorze w temperaturze 70°C pod ciśnieniem 30 mm Hg. Wysuszony produkt miele się na drobny proszek otrzymując 10,7 g dwuzasadowego histydynianu glinu zawierającego 5,11% wody, o takich samych właściwościach fizykochemicznych jak produkt otrzymany sposobem opisanym w przykładzie I.

Dla wzoru: $C_6H_{10}N_3O_4Al$:

obliczono: C-33,49; N-19,54; Al-12,54, histydyna — 71,65%; znaleziono (w przeliczeniu na suchy produkt): C-34,4; N-19,4; Al-12,1; histydyny — 74%.

Przykład III. Do 200 ml metanolu w okrągłodennej kolbie pojemności 500 ml dodaje się oziębiając 6,6 g bezwodnego chlorku glinu a potem wkrapla się, mieszając, 23,2 g L-histydyny, 6 g wodorotlenku sodowego, 12,5 ml wody i 50 ml me-

tanolu. Utworzony biały osad miesza się w temperaturze 60°C w ciągu 1 godziny, następnie traktuje 50 ml wody i miesza dalej w temperaturze 60°C w ciągu 4 godzin. Po oziębieniu zawiesiny sący się. Otrzymany produkt suszy się w temperaturze 50°C i pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 13 g dwuzasadowego L-histydynianu glinu.

Przykład IV. Postępując w sposób opisany w przykładzie I, stosując 20,42 g izopropanolanu glinu, 200 ml izopropanolu, 15,51 g zasady DL-histydyny i 3,6 g wody otrzymuje się 23 g dwuzasadowego DL-histydynianu glinu. D-histydynian można również otrzymać w ten sam sposób stosując jako substrat D-histydynę.

Przykład V. Postępując w sposób opisany w przykładzie II, używając 10,2 g stopionego izopropanolanu glinu, 7,76 g DL-histydyny, 10 ml izopropanolu i 1,8 g wody otrzymuje się 10 g dwuzasadowego DL-histydynianu glinu. W ten sam sposób można otrzymać D-histydynian biorąc za substrat D-histydynę.

Przykład VI. Postępując w sposób opisany w przykładzie III, używając 6,6 g bezwodnego chlorku glinu, 200 ml metanolu, 23,2 g DL-histydyny, 6 g wodorotlenku sodowego i 12,5 g wody otrzymuje się 12 g dwuzasadowego DL-histydynianu glinu. W ten sam sposób otrzymać można D-histydynian stosując jako substrat D-histydynę.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowego dwuzasadowego histydynianu glinowego o wzorze przedstawionym na rysunku, **znamienny tym**, że histydynę poddaje się reakcji z alkoholanem glinowym w obecności wody lub też sól histydyny poddaje się reakcji z solą glinową w wodnym roztworze alkoholu, przy czym histydyna może występować w formie D,L lub DL.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że alkoholan glinowy stosuje się w postaci roztworu w alkoholu lub w postaci stopionej.

3. Sposób według zastrz. 1–2, **znamienny tym**, że jako alkoholan glinowy stosuje się izopropanolan glinowy.

4. Sposób według zastrz. 1–3, **znamienny tym**, że stosuje się mieszaninę, w której stosunek molowy alkoholanu glinowego, histydyny i wody wynosi 1:1:2.

5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako sól glinową stosuje się bezwodny chlorek glinowy.

