



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 09.10.72 (P. 158169)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 01.06.73

Opis patentowy opublikowano: 31.12.1976

MKP C07c 103/52
C07c 143/84

Int. Cl.²
C07C 103/52
C07C 143/00

CZYTELNIA

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Kazimierz Dziegielewski, Krystyna Sienicka,
Edward Zukowski, Andrzej Schaeffer, Halina Czaj-
kowska, Hanna Królak, Marek Fabijański, Natalia
Porowska, Irena Dziegielewska, Halina Dahlig
Uprawniony z patentu: Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa”,
Warszawa (Polska)

Sposób otrzymywania metanosulfonianu sodowego polimiksyne E

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania metanosulfonianu sodowego polimiksyne E do użytku farmaceutycznego. Metanosulfonian sodowy polimiksyne E jest nietoksyczną pochodną polimiksyne E, stosowaną do zwalczania infekcji wywołanych przez bakterie Gram-ujemne w postaci niebolesnych iniekcji domięśniowych. Znana metoda otrzymywania metanosulfonowych pochodnych polimiksyn polega na reakcji siarczanu lub chlorowodoru polimiksyne z aldehydem mrówkowym z wytworzeniem trudno rozpuszczalnego połączenia N-hydroksymetylowego, które następnie sulfonuje się przy użyciu nadmiaru takiego środka sulfonującego jak kwaśny siarczyn sodowy (pirosiarczyn sodowy). Modyfikacją tej metody jest reakcja zasady polimiksyne z hydroksymetanosulfonianem sodowym (patent japoński, nr ewidencyjny Showa 32 (1957) — 4898).

W wyniku opisanych reakcji uzyskuje się sole metanosulfonowe polimiksyn o małym stopniu czystości ze względu na konieczność używania nadmiaru czynnika sulfonującego (siarczyn sodowy, hydroksymetanosulfonian sodowy) dla uzyskania całkowicie zulfonowanego produktu. Zastosowanie w charakterze środka sulfonującego gazowego dwutlenku siarki daje w efekcie kwas metanosulfonowy polimiksyne. Wskutek wytworzenia kwaśnego środowiska reakcji otrzymuje się mieszaninę produktów o różnym stopniu zulfonowania oraz wolną polimiksyne.

2

Przedmiotem naszego wynalazku jest wydajna metoda otrzymywania metanosulfonianu sodowego polimiksyne E do celów farmaceutycznych. Sposobem według wynalazku otrzymuje się metanosulfonian sodowy polimiksyne E z oczyszczonych 5 roztworów soli polimiksyne E uzyskanych w procesie izolacji siarczanu polimiksyne E (eluat lub roztwór soli polimiksyne E otrzymany przez rozpuszczenie zasady polimiksyne E w kwasie) oraz z czystych soli polimiksyne E, uzyskanych do- 10 wolnym sposobem.

Sposób według wynalazku polega na wytrąceniu z roztworu soli polimiksyne E połączenia N-hydroksymetylowego przy użyciu aldehydu mrówkowego w środowisku słabo kwaśnym lub lekko al- 15 kalicznym i poddaniu wyodrębnionego osadu w zawiesinie wodnej działaniu roztworu kwasu siarkowego lub dwutlenku siarki w obecności kwaśnego węglanu sodowego.

Proces prowadzi się w normalnej lub podwyż- 20 szonej temperaturze. Sposób postępowania wg wynalazku jest następujący. Do roztworu soli polimiksyne E o aktywności $1,5 \cdot 10^5$ j/ml — $1,5 \cdot 10^6$ j/ml, korzystnie $5,0 \cdot 10^5$ j/ml — $1,0 \cdot 10^6$ j/ml, dodaje się aldehyd mrówkowy w postaci 37%-go 25 roztworu (formalina) w ilości 5—25 moli na 1 ml antybiotyku oraz kwaśny węglan sodowy w roztworze w ilości 5—15 moli na 1 mol antybiotyku. Reakcję przeprowadza się w temperaturze 15— 30 —40°C, korzystnie w temperaturze 25—35°C, i przy

pH = 6,5–7,5 korzystnie 6,8–7,2. Zamiast kwaśnego węglanu sodowego mogą być używane obojętne i kwaśne węglany innych metali alkalicznych, wodorotlenek amonowy, aminy alifatyczne. Wytrącony osad połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E wyodrębnia się z ługów pokrystalicznych i umieszcza się w roztworze kwaśnego węglanu sodowego w wodzie destylowanej. Można również umieścić połączenie N-hydroksymetylowe polimiksy E w wodzie destylowanej, a następnie dodać kwaśny węglan sodowy w postaci stałej lub w roztworze. Na 1 mol połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E używa się 5,0–5,1 moli kwaśnego węglanu sodowego. Zawieszinę połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E w roztworze kwaśnego węglanu sodowego ogrzewa się do temperatury 20–80°C, korzystnie do temperatury 45–70°C, i przy mieszaniu wprowadza się do niej oziębiony roztwór kwasu siarkawego, z taką szybkością, aby pH roztworu wahało się w granicach 6,2–8,0, korzystnie w granicach 6,5–7,4.

Bezbarwny i całkowicie klarowny roztwór metanosulfonianu sodowego polimiksy E o pH = 6,5–7,4 zagęszcza się w próżni w temperaturze 20–60°C, korzystnie w temperaturze 30–50°C do uzyskania stężenia substancji antybiotycznej w roztworze w granicach 15–45% wagowych, korzystnie w granicach 20–35% wagowych, i wytrąca się czysty antybiotyk przez wkraplanie zagęszczonego roztworu do rozpuszczalnika organicznego mieszającego się z wodą. Do wytrącania metanosulfonianu sodowego polimiksy E używać można alkohole i ketony alifatyczne, np. etanol, propanol, aceton. Metanosulfonian sodowy polimiksy E wyodrębnić można z niezagęszczonego lub zagęszczonego roztworu również innymi znanymi sposobami np. przez liofilizację. Sposobem według wynalazku metanosulfonian sodowy polimiksy E otrzymuje się z połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E bez jego wyodrębniania oraz bez dodatku kwaśnego węglanu sodowego jeśli użytym roztworem soli polimiksy E jest roztwór siarczynu lub pirosiarczynu polimiksy E.

Preparaty metanosulfonianu sodowego polimiksy E, otrzymane sposobem według wynalazku, są nietoksyczne, nie zawierają wolnej kolistyny i są pełnowartościowymi preparatami do użytku w lecznictwie. Niżej przytoczone przykłady ilustrują sposób według wynalazku.

Przykład I. Do 2800 ml odbarwionego eluatu polimiksy E o aktywności 277.300 j/ml dodaje się przy mieszaniu 25%-ową wodę amoniakalną do osiągnięcia pH roztworu 10,45. Wytrącony biały osad zasady polimiksy E odsąca się, przemywa wodą destylowaną, a następnie rozpuszcza się w 1,0 N N_2SO_4 . Uzyskany roztwór siarczynu polimiksy E rozcieńcza się wodą destylowaną do objętości 500 ml, dodaje się do niego 45 ml 37%-go wodnego roztworu aldehydu mrówkowego oraz wsypuje się porcjami 19 g kwaśnego węglanu sodowego. Temperaturę mieszaniny reakcyjnej utrzymuje się w granicach 25–30°C. Po zakończeniu reakcji pH roztworu wynosi 6,95. Bezpostaciowy osad połączenia N-hydroksymetylowego poli-

miksy E odsąca się i przemywa 250 ml wody destylowanej. Wilgotne połączenie N-hydroksymetylowe umieszcza się w 400 ml 3,32%-go roztworu kwaśnego węglanu sodowego, dokładnie rozбивa się mieszałem grudki osadu i ogrzewa zawieszinę do temperatury 40°C, a następnie wkrapla się do niej roztwór kwasu siarkawego, oziębiony do temperatury 8°C. Tempo wkraplania kwasu siarkawego reguluje się tak, aby pH mieszaniny reakcyjnej nie spadło poniżej wartości 7,0 do momentu rozpuszczenia się osadu. Następnie utrzymuje pH roztworu w granicach 6,5–7,2. Po 6 godzinach bezbarwny i przezroczysty roztwór metanosulfonianu sodowego polimiksy E zagęszcza się w próżni w temperaturze 40°C do objętości 125 ml. Zagęszczony roztwór antybiotyku wkrapla się do 15 objętości n-propanolu, wytrącony osad odsąca się, przemywa n-propanolem, następnie acetonem i suszy w suszarni próżniowej w temperaturze nie przekraczającej 45°C. Otrzymuje się 44,8 g metanosulfonianu sodowego polimiksy E. Preparat jest nietoksyczny, nie zawiera wolnej polimiksy E i ma aktywność biologiczną 14502 j/mg.

Przykład II. 6 g siarczynu polimiksy E o aktywności 22980 j/mg rozpuszcza się w 150 ml wody demineralizowanej i w temperaturze 32°C dodaje się do tego roztworu 8 ml formaliny, a następnie wkrapla się powoli przy mieszaniu 40 ml 10%-go wodnego roztworu $NaHCO_3$. Wytrącony osad połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E odsąca się, przemywa wodą destylowaną, a następnie wilgotny osad umieszcza się w 95 ml wody destylowanej, zawierającej 2,31 g kwaśnego węglanu sodowego. Do otrzymanej zawiesziny połączenia N-hydroksymetylowego polimiksy E ogrzanej do temperatury 55°C wprowadza się dwutlenek siarki bełkotką przez 4 godziny w takim tempie, aby pH mieszaniny reakcyjnej nie obniżyło się poniżej wartości 6,75. Po zakończeniu reakcji bezbarwny i przezroczysty roztwór metanosulfonianu sodowego polimiksy E chłodzi się do temperatury 10°C, filtruje przez membranę celulozową o gęstości 0,2 μ i liofilizuje. Otrzymuje się 7,2 g preparatu o aktywności 16,525 j/mg, skręcalności α^{25}_D –47° i wilgotności 0,5% w/w.

Przykład III. Do 10 l eluatu polimiksy E o aktywności 342500 j/ml dodaje się 25%-ową wodę amoniakalną w temperaturze 15°C. Osad zasady polimiksy E sączy się, przemywa wodą destylowaną, a następnie rozpuszcza się w roztworze kwasu siarkawego w temperaturze 10°C do uzyskania 2,5 l roztworu siarczynu polimiksy E o pH = 6,95. Do roztworu tego dodaje się 61,8 ml formaliny i po ogrzaniu do temperatury 33°C wkrapla się 59 g kwaśnego węglanu sodowego rozpuszczonego w 800 ml wody destylowanej. Mieszaninę reakcyjną miesza się jeszcze 30 minut, a następnie podnosi się temperaturę tej mieszaniny do 55°C i wkrapla się powoli roztwór kwasu siarkawego do uzyskania całkowicie klarownego roztworu. Bezbarwny i klarowny roztwór metanosulfonianu sodowego polimiksy E zagęszcza się pięciokrotnie i wytrąca się antybiotyk przez wkraplanie zagęszczonego roztworu do 18 objętości n-

-propanolu. Po wysuszeniu otrzymuje się 182,5 g preparatu metanosulfonianu sodowego polimiksy-
ny E o aktywności 15121 j/mg. Zawartość siarczy-
nów metodą jodometryczną wynosi 6,5 ml 0,1 N
jodu na 100 mg preparatu rozpuszczonego w 50
ml wody (oznaczenie według „British Pharmacopoeia”, 1968 r., strona 244).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania metanosulfonianu sodo-
wego polimiksy E, **znamienny tym**, że do roz-
tworu soli polimiksy E o aktywności $1,5 \cdot 10^5$
j/ml — $1,5 \cdot 10^6$ j/ml, korzystnie o aktywności
 $5,0 \cdot 10^5$ j/ml — $1,0 \cdot 10^6$ j/ml, dodaje się aldehyd
mrówkowy w ilości 5—25 moli na 1 mol antybio-
tyku oraz kwaśny węglan sodowy w ilości 5—15
moli na 1 ml antybiotyku w temperaturze 25—
—35°C, prowadzi się reakcję przy pH = 6,5—7,5,

korzystnie przy pH = 6,8—7,2, uzyskane połączenie
N-hydroksymetylowe polimiksy E poddaje się
reakcji z kwasem siarkawym lub dwutlenkiem
siarki w obecności 5,0—5,1 moli kwaśnego węgla-
nu sodowego na 1 mol antybiotyku lub bez dodat-
ku kwaśnego węglanu sodowego w temperaturze
30—80°C, korzystnie w temperaturze 45—70°C,
a następnie zagęszcza się roztwór otrzymanego
metanosulfonianu sodowego polimiksy E i wy-
trąca się nadmiarem rozpuszczalnika organicznego
mieszanego się z wodą lub wyodrębnia się me-
tanosulfonian sodowy polimiksy E z roztworu
znanym sposobem.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
jako roztwór soli polimiksy E stosuje się roz-
twór siarczynu lub pirosiarczynu polimiksy E.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
do wytrącania metanosulfonianu sodowego poli-
miksy E z roztworu stosuje się n-propanol.