



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr _____

Int. Cl.³ A61K 35/78

Zgłoszono: 08.01.81 (P. 229141)

Pierwszeństwo _____

Zgłoszenie ogłoszono: 13.11.81

Opis patentowy opublikowano: 30.05.1984



Twórcy wynalazku: Waleria Olechnowicz-Stępień, Eliza Lamer-Zarawska,
Bogdan Kędzia

Uprawniony z patentu tymczasowego: Akademia Medyczna,
Wrocław (Polska)

Sposób wytwarzania środka przeciwbakteryjnego

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania środka przeciwbakteryjnego przeznaczonego zwłaszcza do zwalczania chorób wywołanych gronkowcami opornymi na antybiotyki.

Do środków przeciwbakteryjnych stosowanych przeciwko gronkowcom należą przede wszystkim antybiotyki, wytwarzane znanymi sposobami, wykazujące działanie bakteriostatyczne, wobec których jednak obserwuje się znaczne narastanie oporności sztucznej. Leczenie zatem antybiotykami jest często zawodne lub mało skuteczne.

Zgodnie z dotychczasowym stanem techniki nie znany jest sposób otrzymywania preparatu przeciwbakteryjnego z kalafonii sosnowej.

Według wynalazku sposób wytwarzania środka przeciwbakteryjnego polega na tym, że kalafonię sosnową rozpuszcza się w acetonie najlepiej w stosunku wagowym 1 : 4, po czym do powyższego roztworu dodaje się ługu co najmniej pięćdziesięcioprocentowego, najkorzystniej nasyczonego i ponownie rozcieńcza acetonem, co najmniej pięciokrotnie, najkorzystniej do zaprzestania wydzielania się osadu, który się usuwa, odparowuje całkowicie przesącz acetonowy, zaś pozostałość rozpuszcza się w nadmiarze wody, co najmniej dziesięciokrotnym w stosunku do ilości kalafonii, po czym zakwasza rozcieńczonym kwasem, najkorzystniej solnym, do pH = 1 i otrzymuje osad, który się odsącza, przemywa wodą i suszy. Z kolei osad rozpuszcza się w najmniejszej ilości acetonu, najlepiej w stosunku wagowym 1 : 3, miesza z żelem krzemionkowym, najlepiej w stosunku wagowym do osadu 1 : 1,5, suszy i poddaje się ekstrakcji wyczerpująco rozpuszczalnikami niepolarnymi, które są następnie oddestylowywane. Pozostałość rozpuszcza się w wodnym roztworze ługu co najmniej pięćdziesięcioprocentowym, najkorzystniej nasyconym, następnie rozcieńcza wodą co najmniej czterdziestokrotnie, zakwasza kwasem, najlepiej solnym, do pH = 1, a otrzymany osad stanowiący produkt finalny przemywa się wodą do zaniku reakcji na obecność jonów chlorkowych i suszy. Korzystne jest, ze względu na wydajność procesu, gdy ekstrakcje prowadzi się kolejno heksanem i benzenem.

Wytworzony sposobem według wynalazku preparat składa się z mieszaniny kwasów żywicznych o wzorze sumarycznym $C_{20}H_{30}O_2$, o spektrum IR typowym dla kwasów żywicznych i

spektrum UV wykazującym absorpcję $\lambda_{\max} = 241,253 \text{ nm}$. Nie zawiera on soli nieorganicznych, jest jasnokremowym bezpostaciowym proszkiem, bardzo słabo rozpuszczalnym w wodzie, dobrze rozpuszczalnym w rozpuszczalnikach organicznych, o temperaturze topnienia $85\text{--}105^\circ\text{C}$, i skręcalności optycznej $[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 50$ do $+60$. W reakcji charakterystycznej typowej dla dwu i trójterpenów Liebermana-Burcharda preparat wykazuje zabarwienie czerwone. W chromatografii cienkowarstwowej na płytkach żelowych rozwijanych układem: benzen : etanol — 9 : 1 daje jedną plamę o zabarwieniu fioletowo-niebieskim, po wywołaniu odczynnikami: wanilina : etanol : kwas fosforowy — 1 : 8 : 2.

Preparat ten w stężeniu $20 \mu\text{g}/\text{ccm}$ wykazuje działanie bakteriostatyczne wobec ziarników Gram dodatnich szczególnie przeciwko *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*, opornych na antybiotyki powszechnie stosowane w terapii. Preparat ten ze względu na coraz częściej spotykane zakażenia gronkowcami opornymi na antybiotyki jest środkiem, który antybiotyki skutecznie zastępuje, zwłaszcza że nie ma ich podstawowej wady, jaką jest narastanie sztucznej oporności gronkowców na podawany lek.

Własności bakteriostatyczne środka zostały stwierdzone podczas następujących badań przeciwbakteryjnych. W teście bakteriologicznym na stałym podłożu agarowym lub płynnym Penassay wobec szczepów bakteryjnych: *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* preparat wykazuje aktywność $30\text{--}20 \mu\text{g}/\text{ccm}$. W teście badania narastania oporności bakterii, po wykonaniu dziesięciu przesiewów, nie stwierdzono narastania oporności wobec stosowanego preparatu. W teście oznaczania toksyczności ostrej na zwierzętach doświadczalnych wykazano, że dawka toksyczna LD_{50} wynosi $1,2 \text{ g}/\text{kg}$ masy ciała zwierzęcia.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w przykładzie wykonania.

Przykład. 100 g kalafonii rozpuszcza się na ciepło w 500 ccm acetonu i przesącza. Do przesączu dodaje się wodny roztwór ługu potasowego, przygotowanego przez rozpuszczenie 65 g ługu w 30 g wody oraz 1500 g acetonu, aż do chwili zaprzestania wydzielania się osadu. Osad odsącza się i przemywa bezwodnym acetonem. Z połączonych przesączu acetonowych usuwa się całkowicie rozpuszczalnik przez destylację pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszcza się w nadmiarze wody w ilości 4000 g . Następnie wodny roztwór zakwasza się 1% kwasem solnym, aż do uzyskania $\text{pH} = 1$. Wytrącony osad odsącza się, przemywa dokładnie wodą destylowaną do zaniku reakcji z azotanem srebra na jon chlorkowy, a następnie suszy w eksykatorze próżniowym. Wydzielony w ilości 40 g osad rozpuszcza się w 120 g acetonu i miesza z 60 g żelu krzemionkowego, suszy, umieszcza w gilzie i ekstrahuje wyczerpująco heksanem w aparacie obiegowym, a następnie benzenem. Do oddestylowanej z rozpuszczalników pozostałości dodaje się w każdym przypadku 10 ccm nasyconego roztworu ługu potasowego i pozostawia na kilka godzin, po czym rozcieńcza się 4000 ccm wody i dodaje 1% kwasu solnego, aż do chwili zakończenia wydzielania się osadu. Wytrącony osad odsącza się, przemywa dokładnie wodą destylowaną do zaniku reakcji z azotanem srebra na jon chlorkowy, a następnie suszy w eksykatorze próżniowym. Otrzymuje się po około 12 g jasnokremowych bezpostaciowych substancji o temperaturach topnienia $100\text{--}105^\circ\text{C}$ i skręcalności optycznej $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = +60$.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania środka przeciwbakteryjnego, **znamienny tym**, że kalafonię sosnową rozpuszcza się w acetonie najlepiej w stosunku wagowym 1 : 4, po czym do powyższego roztworu dodaje się ługu co najmniej pięćdziesięcioprocentowego, najkorzystniej nasyconego i ponownie rozcieńcza acetonem, co najmniej pięciokrotnie, najkorzystniej do zaprzestania wydzielania się osadu, który się usuwa, odparowuje całkowicie przesącz acetonowy, zaś pozostałość rozpuszcza się w nadmiarze wody co najmniej dziesięciokrotnym w stosunku do ilości kalafonii, po czym zakwasza rozcieńczonym kwasem, najkorzystniej solnym, do $\text{pH} = 1$ i otrzymuje osad, który się odsącza, przemywa wodą i suszy a następnie rozpuszcza w najmniejszej ilości acetonu, miesza z żelem krzemionkowym, suszy i poddaje ekstrakcji wyczerpująco rozpuszczalnikami niepolarnymi, które się następnie oddestylowuje, zaś pozostałość rozpuszcza w wodnym roztworze ługu co najmniej pięćdziesięcioprocentowym, najkorzystniej nasyconym, następnie rozcieńcza wodą co

najmniej czterdziestokrotnie, zakwasza kwasem, najlepiej solnym, do $\text{pH} = 1$, a otrzymany osad przemywa wodą do zaniku reakcji na obecność jonów chlorkowych i suszy.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że ekstrakcję prowadzi się kolejno heksanem i benzenem.