

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUBOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

O P I S P A T E N T O W Y 101 698

Patent dodatkowy

do patentu _____

Zgłoszono: 12.04.77 (P. 197351)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 13.02.78

Opis patentowy opublikowano: 30.11.1981

CZYTELNIJA

Biuro Patentowe
ul. Krakowska 100
00-260 Warszawa

Int. Cl².

C07D 498/04

Int. Cl³. C07D 498/04

Twórcy wynalazku: Barbara Gogolimska, Halina Dahlig, Wojciech Sławiński,
Eugeniusz Dziliński, Marian Wrociński, Kazimierz Dzięgielewski,
Andrzej Schaeffer, Wiesław Mazur, Tomasz Szczuciński

Uprawniony z patentu: Instytut Przemysłu Farmaceutycznego, Warszawa:
Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa”,
Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania nowych soli cholinowych antybiotyków ryfamycynowych

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych soli cholinowych antybiotyków ryfamycynowych, które to sole są rozpuszczalne w wodzie.

Antybiotyki ryfamycynowe stanowią ważną dla chemioterapii grupę związków. Wśród wielu substancji tej grupy, otrzymywanych na drodze biosyntezy oraz na drodze modyfikacji antybiotyków naturalnych, znaczenie jako leki mają ryfamycyna SV, ryfamid, a zwłaszcza ryfampicyna. Poszczególne związki wykazują różne niekorzystne właściwości, jak np. złą rozpuszczalność w wodzie, brak wchłanianości ryfamycyny SV po podaniu doustnym, wyższą toksyczność ryfamidu w porównaniu z ryfamycyną SV, reakcje uboczne przy stosowaniu ryfampicyny będące wynikiem toksyczności preparatu i objawiające się zaburzeniami w działaniu wątroby i układu żółciowego.

Niektóre z powyższych cech negatywnych udało się usunąć przez otrzymanie nowych związków na drodze modyfikacji chemicznych cząsteczek antybiotyków macierzystych. Najprostszą modyfikacją tego typu jest otrzymanie soli stanowiących połączenie różnych ryfamycyn o podanym wzorze ogólnym z choliną.

W sposobie według wynalazku na pochodną ryfamycyny, ewentualnie jej sól sodową lub potasową, o podanym wzorze ogólnym, w którym R oznacza resztę kwasu glikolowego lub dwuetyloamidu kwasu glikolowego lub grupę hydroksylową, a R₁ oznacza atom wodoru lub grupę 4-metylopiperazynyloiminometylową, działa się w środowisku wodnym lub niższego alkoholu o 1–4 atomów C, w temperaturze pokojowej lub podwyższonej zbliżonej do stechiometrycznej ilością cholicy, węglanu cholicy lub chlorku cholicy, a otrzymany produkt wyodrębnia się z roztworu. Z uzyskanych roztworów wyodrębnia się stałe sole cholinowe na drodze liofilizacji, bądź krystalizacji albo poprzez dodanie innych rozpuszczalników, w których sole te nie rozpuszczają się, np. eteru etylowego lub n-heksanu. Sole cholinowe przekształcają się, korzystnie z octanem etylu, bądź z mieszaniny rozpuszczalników np. eter etylowy-etanol, dioksan-etanol. W przypadku gdy ryfamycyny nie posiadają grupy karboksylowej, tak jak ryfamycyna SV, ryfamid i ryfampicyna otrzymuje się sole z jedną cząsteczką cholicy, podczas gdy w przypadku ryfamycyny B, która zawiera wolną grupę karboksylową, otrzymuje się pochodne zawierające 1 bądź 2 cząsteczki cholicy.

Substancje otrzymane sposobem według wynalazku w wielu przypadkach, zwłaszcza w przypadku ryfam-picyny, posiadają właściwości korzystniejsze od antybiotyku wyjściowego.

Wartość LD_{50} dla soli cholinowej ryfamycyny SV podawanej doustnie myszom mieści się w granicach 2500–3000 mg/kg, która to wartość jest korzystna w porównaniu ze znaną z literatury wartością LD_{50} dla soli sodowej ryfamycyny SV wynoszącą 2120 mg/kg. Również sól cholinowa ryfamycyny wykazuje przy podawaniu doustnym mniejszą toksyczność w porównaniu z ryfam-picyną. Mianowicie dla soli cholinowej ryfam-picyny podawanej doustnie myszom oznaczona wartość LD_{50} wynosi 1150 mg/kg podczas gdy dla ryfam-picyny piśmiennic-two podaje wartość LD_{50} równą ok. 800 mg/kg.

Stwierdzono, że przy doustnym podaniu soli cholinowej ryfam-picyny szczurom w dawce 20 mg/kg (odpo-wiada dawce ryfam-picyny 17,75 mg/kg) uzyskuje się poziomy analogiczne jak w przypadku podania ryfam-picyny w dawce 20 mg/kg.

Wskazuje to na pewne polepszenie wchłanianości sposodowane wprowadzeniem do cząsteczki antybiotyku układu cholinowego.

Stwierdzono również, że przy podaniu doustnym szczurom soli cholinowej ryfamidu w dawce 20 mg/kg uzyskuje się w płucach w trzy godziny po podaniu poziom stanowiący 95% analogicznego poziomu ryfam-picyny.

Zakres działania przeciwbakteryjnego soli cholinowych zbliżony jest do zakresu działania antybiotyków macierzystych. Jednakże działanie przeciwbakteryjne soli cholinowych ryfamycyn jest na ogół większe od działania przeciwbakteryjnego antybiotyków macierzystych wyrażonego jako moc antybiotyku, którą oznacza się metodą cylinderkowo-płytkową wobec *Bacillus subtilis* ATCC 6633 jako szczepu testowego. Wyniki oznaczeń według różnych standardów przedstawiały się przykładowo następująco: sól cholinowa ryfam-picyny SV—865 j/mg (wobec standardu soli sodowej ryfam-picyny SV o mocy 795 j/mg), sól cholinowa ryfam-picyny — 1030 j/mg (wobec standardu ryfam-picyny o mocy 994 j/mg).

Przykład I. Do zawiesiny 2,0 g (0,0025 mola) ryfamidu w 200 ml wody dodawano przy mieszaniu 200 ml roztworu wodnego choliny, który zawierał 0,3 g (0,0025 mola) choliny. Mieszano w temperaturze poko-jowej do rozpuszczenia osadu, przesączono od śladowych ilości stałej pozostałości, a klarowny przesącz podda-wano liofilizacji. Otrzymano 2,2 g soli cholinowej ryfamidu o temperaturze topnienia około 152–158°, % N — obliczono 4,59, otrzymano 4,80; $[\alpha]_D^{20} + 72,9$ ($c = 0,1\%$ w metanolu).

Przykład II. Do 50 ml etanolowego roztworu węglanu choliny, zawierającego 0,67 g (0,0025 mola) węglanu choliny, wsypywano porcjami przy mieszaniu 3,78 g (0,005 mola) ryfam-picyny B. Po około 30 minu-tach mieszania w temperaturze pokojowej odsączono nierozpuszczony osad. Klarowny przesącz zagęszczono do połowy objętości. Następnie dodano 50 ml n-heksanu i pozostawiono w temperaturze –10°C przez około 12 godzin. Osad odsączono i wysuszono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 50°C. Otrzymano 3,9 g soli monocholinowej ryfam-picyny B o temperaturze topnienia około 205–211°C (rozkład); % N — obliczono 3,26, otrzymano 3,2; $[\alpha]_D^{20} = -157,1^\circ$ ($c = 0,1$ w metanolu).

Przykład III. Do 100 ml etanolowego roztworu węglanu choliny, zawierającego 1,34 g (0,005 mola) węglanu choliny, wsypywano porcjami przy mieszaniu 3,78 g (0,005 mola) ryfam-picyny B. Po 30 minutach mieszania w temperaturze pokojowej uzyskany roztwór przesączono, a klarowny przesącz zagęszczono do małej objętości. Dodano 200 ml suchego eteru etylowego, ochłodzono do temperatury 0°C przy mieszaniu, a uzyskany osad odsączono, przemyto suchym eterem etylowym i suszono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 50°C. Otrzymano 4,2 g soli bis cholinowej ryfam-picyny B o temperaturze topnienia około 160–175°C (rozkład); % N — obliczono 4,37, otrzymano 4,47; $[\alpha]_D^{20} = -33,4^\circ$ ($c = 0,1\%$ w wodzie).

Przykład IV. Do 3,6 g (0,005 mola) soli sodowej ryfam-picyny SV dodano 0,69 g (0,005 mola) chlor-ku choliny i 50 ml izopropanolu. Ogrzewano we wrzeniu około 1 godziny. Oziębiono do temperatury 0°C, odsączono chlorek sodowy, a z przesączu oddestylowano izopropanol. Uzyskany osad krystalizowano z octanu etylu, suszono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze około 50°C. Otrzymano 3,3 g soli cholinowej ryfam-picyny SV o temperaturze topnienia około 171–190°C (rozkład); % N — obliczono 3,49, otrzymano 3,38; $[\alpha]_D^{20} = -214,8$ ($c = 0,1\%$ w wodzie).

Przykład V. Do 28 ml etanolowego roztworu węglanu choliny, zawierającego 0,67 g (0,0025 mola) węglanu choliny, wsypywano porcjami przy mieszaniu 4,11 g (0,005 mola) ryfam-picyny. Mieszano w temperatu-rze pokojowej około 30 minut, następnie pozostawiono do krystalizacji na około 48 godzin w temperaturze –10°C. Otrzymany osad odsączono i wysuszono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze około 50°C. Uzyskano 4,2 g soli cholinowej ryfam-picyny o temperaturze topnienia około 193–201°C (rozkład); % N — obli-czono 7,56, otrzymano 7,54.

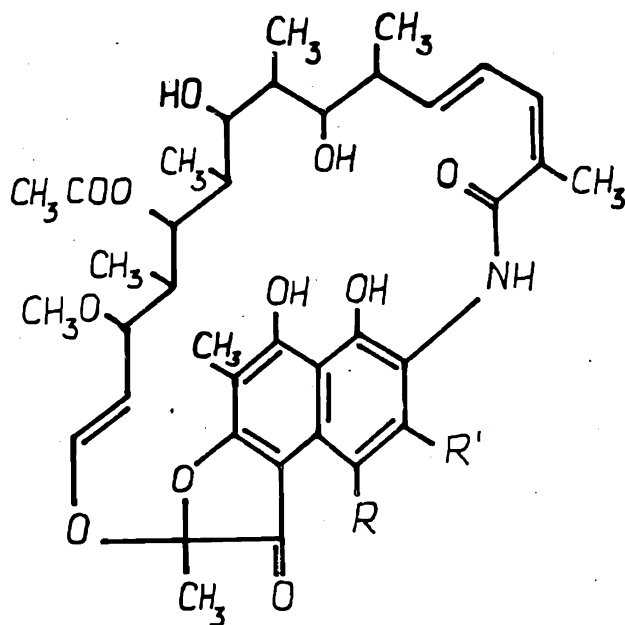
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych soli cholinowych antybiotyków ryfamycynowych, z n a m i e n n y t y m, że na pochodną ryfamycyny, ewentualnie jej sól sodową lub potasową o podanym wzorze ogólnym, w którym R oznacza resztę kwasu glikolowego lub dwuetyloamidu kwasu glikolowego lub grupę hydroksylową, a R₁ oznacza atom wodoru lub grupę 4-metylopiperazynyloiminometylową działa się zbliżoną do stechiometrycznej ilością cholicy lub węglanu cholicy lub chlorku cholicy, a utworzoną sól cholinową wyodrębnia się z mieszaniny reakcyjnej.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y m, że pochodną ryfamycyny o podanym wzorze ogólnym, w którym R i R₁ mają podane wyżej znaczenie, poddaje się reakcji z choliną w wodzie, a otrzymane sole cholinowe wyodrębnia się przez liofilizację.

3. Sposób według zastr. 1, z n a m i e n n y t y m, że reakcję pochodnych ryfamycyn o podanym wzorze ogólnym, w którym R i R₁ mają podane wyżej znaczenie, z węglanem choliny przeprowadza się w środowisku niższego alkoholu alifatycznego, korzystnie etanolu, a produkt wyodrębnia się przez bezpośrednią krystalizację, bądź wytrącenie za pomocą rozpuszczalnika organicznego korzystnie n-heksanu, a zwłaszcza eteru etylowego.

4. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y m, że reakcję soli sodowej lub potasowej pochodnej ryfamycyny o podanym wzorze ogólnym, w którym R i R₁ mają podane wyżej znaczenie, z chlorkiem choliney przeprowadza się w środowisku wrzącego izopropanolu, a otrzymany produkt wyodrębnia się przez krystalizację bądź wytrącenie za pomocą rozpuszczalnika organicznego.



Wzór