

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUBOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

O P I S P A T E N T O W Y 101808

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 11.01.77 (P. 195261)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 27.02.78

Opis patentowy opublikowano: 31.07.1981

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Int. Cl.². C07H 15/08
C07C 103/19

Int. Cl.³, C07H 15/08

Twórcy wynalazku: Halina Bojarska-Dahlig, Zofia Makarowska-Płóciennik,
Zuzanna Kawczyk-Gindifer, Barbara Gogolimska,
Maria Horodecka, Władysława Wagner, Danuta Roślik-Kamińska

Uprawniony z patentu : Instytut Przemysłu Farmaceutycznego,
Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania nowych rozpuszczalnych w wodzie soli cholinowych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych lub ich N-cukrowych pochodnych

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania rozpuszczalnych w wodzie biologicznie czynnych nowych soli cholinowych antybiotyków przeciwgrzybowych z grupy makrolidów polienowych lub ich N-cukrowych pochodnych.

Znane są sposoby otrzymywania różnych rozpuszczalnych w wodzie kompleksów z metalami, soli makrolidów polienowych lub soli ich pochodnych, np. soli sodowych, amonowych, imidazolowych i innych z N-acylowaną grupą aminową mykozaminy, chlorowodorki estrów metylowych z zestryfikowaną grupą karboksylową laktonowej części cząsteczki antybiotyku, sole z zasadami organicznymi i nieorganicznymi pochodnych cukrowych, gdzie cukier reaguje z grupą aminową mykozaminy, a zasada z grupą karboksylową laktonowej części cząsteczki antybiotyku oraz sole zasad organicznych, gdzie zasada organiczna związana jest z grupą karboksylową makrolidowej części cząsteczki.

Otrzymane przez nas, nieopisane dotąd w piśmiennictwie rozpuszczalne w wodzie sole cholinowe antybiotyków z grupy makrolidów polienowych zawierają w cząsteczce grupę hydroksylową związaną z choliną, związkiem o działaniu lipotropowym, należącym do grupy amin endogennych. Zarówno sole cholinowe antybiotyków z grupy makrolidów polienowych z wolną grupą aminową mykozaminy, jak i sole cholinowe N-cukrowych pochodnych tych antybiotyków, wykazały jednakowo cenne właściwości biologiczne. Sole te mogą być wykorzystane w weterynarii, zwłaszcza w leczeniu grzybic pszczoł.

Sposobem według wynalazku antybiotyk o charakterze makrolidu polienowego, posiadający wolną grupę karboksylową, taki jak nystatyna, polifungina, amfoterycyna B, lub jego N-glikozylową pochodną z N-acylowaną grupą aminową mykozaminy przeprowadza się w sól cholinową w środowisku rozpuszczalnika organicznego, np. dwumetyloformamidu, dwumetylosulfotlenku, niższych alkoholi, korzystnie metanolu, lub w środowisku wodnym, w temperaturze 15-65°C, korzystnie w temperaturze 18-23°C, przez działanie na roztwór antybiotyku roztworem choliny lub węglanu choliny.

Mieszanie poreakcyjną zadaje się wyżej wrzącym rozpuszczalnikiem organicznym, korzystnie n-butanolem. Mieszaninę zagęszcza się przez odparowanie i zagęszczony roztwór poddaje się krystalizacji lub zadaje eterem etylowym, eterem naftowym lub cykloheksanem celem wytrącenia produktu albo poddaje liofilizacji. W ten sposób otrzymuje się sól cholinową antybiotyku, która jest dobrze rozpuszczalna w wodzie i daje klarowny 4% roztwór, co umożliwia stosowanie jej do iniekcji.

Sposób wytwarzania tych nowych związków jest prosty, dogodny i ekonomiczny ze względu na stosowanie typowych rozpuszczalników i odczynników.

Przykład I. 2 g polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 676$ przy 304 nm rozpuszczono w 150 ml metanolu, ogrzewając do 65°C, a następnie dodano 8,6 ml metanolowego roztworu węglanu choliny o stężeniu 1,95 mg/100 ml oraz 6 ml wody destylowanej. Całość odsączono przez bibułę filtracyjną, do roztworu dodano 100 ml n-butanolu i zagęszczono w temperaturze 45°C pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 25 ml. Zagęszczony roztwór pozostawiono w chłodni na 18 godzin do krystalizacji. Wytrącony osad odsączono, przemyto eterem naftowym, a następnie wysuszono w temperaturze pokojowej. Uzyskano 0,8 g soli cholinowej polifunginy, rozpuszczalnej w wodzie, o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 591$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2610 j/mg.

Przykład II. 2 g nystatyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 784$ przy 304 nm, rozpuszczono w 150 ml metanolu, a następnie postępowano jak w przykładzie I. Uzyskano 0,9 g soli cholinowej nystatyny, rozpuszczalnej w wodzie, o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 542$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2217 j/mg.

Przykład III. 2 g amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1250$ przy 382 nm, rozpuszczono w 1500 ml metanolu, ogrzewając do 60°C, następnie dodano 8,6 ml metanolowego roztworu węglanu choliny o stężeniu 1,95 mg/100 ml oraz 6 ml wody. Całość odsączono przez bibułę filtracyjną. Do przesączu dodano 1000 ml n-butanolu i całość zagęszczono w temperaturze 45°C pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 50 ml. Zagęszczony roztwór pozostawiono w chłodni na 18 godzin do krystalizacji, po czym wytrącony osad odsączono i przemyto eterem naftowym, a następnie wysuszono w temperaturze pokojowej. Uzyskano 1,3 g soli cholinowej amfoterycyny B, rozpuszczalnej w wodzie, o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1235$ przy 382 nm i mocy biologicznej 565 j/mg.

Przykład IV. 2 g polifunginy rozpuszczono w 250 ml metanolu o temperaturze pokojowej 15–25°C i dodano 8,2 ml metanolowego roztworu węglanu choliny o stężeniu 1,95 mg/100 ml oraz 10 ml wody. Uzyskany roztwór odsączono, a następnie dodano do przesączu 165 ml n-butanolu. Roztwór zagęszczono w temperaturze 45°C pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 50 ml. Osad wytrącono 50 ml eteru etylowego i pozostawiono w chłodni przez 18 godzin. Wytrącony osad odsączono, przemyto eterem etylowym i wysuszono w temperaturze pokojowej. Uzyskano 0,75 g soli cholinowej polifunginy, rozpuszczalnej w wodzie, o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 601$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2580 j/mg.

Przykład V. 2 g nystatyny rozpuszczono w 250 ml metanolu o temperaturze pokojowej 15–25°C i dalej postępowano jak w przykładzie IV, z tym, że osad wytrącono eterem naftowym. Uzyskano 0,9 g soli cholinowej nystatyny, rozpuszczalnej w wodzie, o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 539$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2470 j/mg.

Przykład VI. 2 g amfoterycyny B rozpuszczono w 1500 ml metanolu ogrzewając do temperatury 60°C, a następnie dodano 8,6 ml wodnego roztworu węglanu choliny o stężeniu 1,95 mg/100 ml. Całość odsączono przez bibułę filtracyjną. Do przesączu dodano 1000 ml n-butanolu i całość zagęszczono pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 100 ml. Osad wytrącono 100 ml cykloheksanu jak w przykładzie IV i dalej postępowano jak w przykładzie III, z tą różnicą, że osad przemyto eterem etylowym, a nie eterem naftowym. Uzyskano 1,1 g rozpuszczalnej w wodzie soli cholinowej amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1270$ przy 382 nm i mocy biologicznej 580 j/mg.

Przykład VII. 2 g N-glikozyłowej pochodnej polifunginy rozpuszczono w 200 ml metanolu w temperaturze pokojowej, następnie dodano 9 ml metanolowego roztworu węglanu choliny o stężeniu 1,93 mg/100 ml oraz 6 ml wody destylowanej. Dalej postępowano jak w przykładzie I. Uzyskano 1,8 g soli cholinowej N-glikozyłowej pochodnej polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 540$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2380 j/mg.

Przykład VIII. 2 g N-glikozyłowej pochodnej nystatyny rozpuszczono w 200 ml metanolu w temperaturze pokojowej i postępowano jak w przykładzie V. Uzyskano 1,4 g soli cholinowej N-glikozyłowej pochodnej nystatyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 510$ przy 304 nm i mocy biologicznej 1780 j/mg.

Przykład IX. 2 g N-glikozyłowej pochodnej amfoterycyny B rozpuszczono w 1000 ml metanolu w temperaturze 60°C i postępowano jak w przykładzie III. Uzyskano 1,2 g soli cholinowej N-glikozyłowej pochodnej amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1215$ przy 382 nm i mocy biologicznej 560 j/mg.

Przykład X. Do 100 ml wodnego roztworu 1,4 g choliny dodano w czasie mieszania i 1 polifunginy. Po rozpuszczeniu jej, nie przerywając mieszania, dodano małymi porcjami 1,2 g jonitu w formie wodorowej i kontrolowano pH roztworu. Gdy pH wyniosło około 8,0, odsączono jonit, a roztwór liofilizowano. Uzyskano sól cholinową polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 608$ przy 304 nm i mocy biologicznej 2300 j/mg.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych rozpuszczalnych w wodzie soli chinolinowych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych, z n a m i e n n y t y m, że antybiotyk z grupy makrolidów polienowych, taki jak nystatyna, polifungina lub amfoterycyna B, poddaje się reakcji z choliną lub jej węglanem, po czym produkt wyodrębnia się i oczyszcza.

2. Sposób wytwarzania nowych rozpuszczalnych w wodzie soli cholinowych N-cukrowych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych, z n a m i e n n y t y m, że N-cukrową pochodną antybiotyku z grupy makrolidów polienowych, takiego jak nystatyna, polifungina lub amfoterycyna B, poddaje się reakcji z choliną lub jej węglanem, po czym produkt wyodrębnia się i oczyszcza.