



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 02.07.73 (P. 163783)

Pierwszeństwo: 01.07.72 Japonia

Zgłoszenie ogłoszono 01.07.74

Opis patentowy opublikowano: 31.12.1977

MKP C07d 99/20

Int. Cl.² C07D 499/22

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu: Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka (Japonia)

Sposób wytwarzania soli dwuaminowych penicyliny α -sulfofenylowej

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych soli dwuaminowych penicyliny α -sulfofenylowej.

Jest faktem na ogół znanym, że wiele penicylin podawanych domięśniowo lub podskórnym powoduje powstawanie lokalnych reakcji, w czasie dokonywania iniekcji i bezpośrednio później (jak np. silny ból, zaczerwienienie, obrzmienie, stwardnienie itd.) w miejscu dokonania iniekcji.

Chociaż penicylina α -sulfofenylowa jest doskonałą półsyntetyczną penicyliną o szerokim spektrum bakteriobójczym, skuteczną nie tylko w zwalczaniu bakterii gramododatnich, lecz także efektywnie działającą przeciwko bakteriom gram-ujemnym, szczególnie przeciwko pałeczkom ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*), to jednak podobnie jak wiele innych penicylin powoduje ona powstawanie lokalnych reakcji w czasie i bezpośrednio po iniekcji.

Praktykowano stosowanie lokalnego znieczulenia w połączeniu z iniekcją antybiotyku w celu zmniejszenia bólu przy wstrzykiwaniu, lecz taki sposób postępowania nie dawał radykalnego rozwiązania. Metoda ta nie usuwała ubocznych reakcji leku w organizmie po wstrzyknięciu, jak np. zaczerwienienia, stwardnienia i obrzmienia, które utrzymywały się również po ustaniu działania lokalnego znieczulenia.

Dlatego też pożądane było takie ulepszenie leku,

2

aby jego stosowanie nie dawało lokalnych reakcji podczas i po wstrzyknięciu.

Początkowo wytworzono dwumetaliczne sole penicyliny α -sulfofenylowej, mieszane sole aminometaliczne penicyliny α -sulfofenylowej, w których stosowano wiele różnych amin, w tym również lizynę, argininę i N-metyloglukaminę. Stwierdzono jednak, że sole te posiadały omówione wcześniej wady.

Następnie wytworzono dwuaminowe sole α -sulfofenyl-penicyliny, w których aminę stanowiła arginina, lizyna lub N-metyloglukamina i wówczas nieoczekiwanie stwierdzono, że podczas podawania tych soli zasadniczo nie odczuwa się bólu w wyniku iniekcji, jak również prawie nie odczuwa się bólu dłużej trwającego. Nie obserwowano również innych reakcji lokalnych (np. zaczerwienienia, stwardnienia, obrzmienia itp), jak również nie stwierdzono obniżenia specyficznej aktywności bakteriobójczej α -sulfofenylpenicyliny.

Stwierdzono również, że omówione sole aminowe są bardziej stabilne termicznie i mniej higroskopijne niż sama α -sulfofenylpenicylina lub jej sole dwumetaliczne (np. sól dwusodowa penicyliny α -sulfofenylowej).

Przedmiotem niniejszego wynalazku jest sposób wytwarzania nowych soli α -sulfofenylpenicyliny, które przy podawaniu na drodze iniekcji nie powodują lokalnych reakcji (np. silny ból, zaczerwienienie, stwardnienie, obrzmienie itp.)

Dodatkowym aspektem wynalazku jest fakt, że nowe sole α -sulfobenzylpenicyliny posiadają doskonale własności bakteriobójcze oraz są bardziej trwałe i mniej higroskopijne.

Sposób według wynalazku umożliwia łatwe przemysłowe wytwarzanie omawianych dwuaminowych soli penicyliny α -sulfobenzylowej.

Cząsteczka argininy lub lizyny zawiera niesymetryczny atom węgla, zatem te aminokwasy mogą występować w postaci izomeru prawoskrętnego, lewoskrętnego lub mieszaniny tych izomerów. Dla niniejszego wynalazku korzystniejsze są aminokwasy w postaci izomeru lewoskrętnego.

Dwuaminową sól penicyliny α -sulfobenzylowej zgodnie z niniejszym wynalazkiem wytwarza się metodą polegającą na reakcji α -sulfobenzylpenicyliny lub jej soli z arginina, lizyną lub N-metyloglukamina bądź też solami tych związków.

Arginina i lizyna mogą występować w postaci izomerów prawo-lewoskrętnych, bądź też ich mieszaniny. W sposobie według wynalazku sól penicyliny α -sulfobenzylowej oznacza sól tego związku zasadą różną od argininy-lizyny i N-metyloglukaminy, przy czym korzystnymi przykładami takich zasad są wodorotlenki metali ziem alkalicznych (np. baru, wapnia, magnezu itp). Natomiast sole argininy, lizyny lub N-metyloglukaminy są solami tych związków z kwasami różnymi od penicyliny α -sulfobenzylowej w postaci wolnego kwasu, przy czym korzystnymi przykładami takich kwasów są kwasy nieorganiczne (np. kwas siarkowy, węglowy itp).

Ze względu na swą prostotę najkorzystniejsza jest bezpośrednia reakcja wolnej penicyliny α -sulfobenzylowej w postaci wolnego kwasu z wolną aminą tj. wolną arginina, lizyną lub N-metyloglukamina.

Wspomniana wyżej penicylina α -sulfobenzylowa w postaci wolnego kwasu może być wolnym związkiem wytworzonym jako taki, lub też można ją otrzymać przez przepuszczenie soli dwusodowej lub dwu-trójmetyloaminowej penicyliny α -sulfobenzylowej przez silnie kwasową żywicę jonowymienną. Możliwe jest również wytworzenie wolnego związku przez doprowadzenie pH roztworu soli do wartości 1-1,5 za pomocą np. 1 normalnego roztworu HCL i następną ekstrakcję wolnego związku za pomocą n-butanolu. Sole argininy, lizyny lub N-metyloglukaminy, jak np. ich chlorowodoroki, można przeprowadzić w wolne związki kontaktując je np. z silnie zasadową żywicą jonowymienną.

Reakcję prowadzi się zwykle w temperaturze od około -10°C do około 50°C . Można ją zadawajac prowadzić w temperaturze pokojowej ($10-35^{\circ}\text{C}$), lecz najkorzystniejsze warunki prowadzenia reakcji istnieją w temperaturze poniżej temperatury pokojowej, np. w zakresie około 0 do około 3°C .

Ilość użytej lizyny, argininy lub N-metyloglukaminy bądź też soli względem α -sulfobenzylpenicyliny lub jej soli wynosi zwykle 2 mole, lub niewiele mniej bądź więcej, na 1 mol α -sulfobenzylpenicyliny, czy jej soli. Ilość większa od około 2 moli jest nadmierna do wytworzenia soli dwuaminowej, a ilość mniejsza od około 2 moli nie jest wystarczająca do wytworzenia soli dwuaminowej.

Reakcję prowadzi się zwykle w rozpuszczalniku, korzystnie, np. w wodzie lub mieszaninie wody z mieszającym się z nią rozpuszczalnikiem (np. metanolem, etanolem, acetonem, dwumetyloformamidem, dwumetyloacetamidem itp).

Reakcję zgodnie ze sposobem według wynalazku prowadzi się znanymi samo przez się metodami. Tak więc reakcję można wywołać np. przez bezpośrednie zmieszanie α -sulfobenzylpenicyliny z lizyną, arginina lub N-metyloglukamina w odpowiednich proporcjach lub też metodą miareczkowego dodawania reagentów z jednoczesnym mierzaniem pH, przy czym dodawanie reagentów przerywa się przy uzyskaniu pH odpowiadającemu punktowi równoważnikowemu. Innym sposobem jest adsorbowanie na silnie kwasowym wymienniaczu jonowym lizyny, argininy lub N-metyloglukaminy bądź też ich soli, a następnie przepuszczanie przez żywicę wolnej penicyliny α -sulfobenzylowej lub jej soli.

Pożądaną sól penicyliny wydziela się z mieszaniny reakcyjnej znanymi metodami np. przez zateżnienie mieszaniny reakcyjnej, liofilizowanie mieszaniny reakcyjnej lub dodawanie organicznego rozpuszczalnika mieszającego się z wodą, w którym wytwarzana sól dwuaminowa jest nierozpuszczalna lub rozpuszcza się w niewielkim stopniu. Przykładami takich rozpuszczalników są aceton, wody z dioksanem, bądź z alkoholu.

Doświadczenie I — badanie reakcji lokalnych.

Badano następujące związki:

- A) Sól dwusodową penicyliny α -sulfobenzylowej;
- B) Mieszaninę soli dwusodowej penicyliny α -sulfobenzylowej z 1-metylo-2', 6'-pipekoloksyliidyną (doskonały środek do znieczulań miejscowych — dodany w ilości 0,5% wagowego w stosunku do całej mieszaniny),
- C) monosodowo-mono-L-argininową sól penicyliny α -sulfobenzylowej,
- D) dwu-L-argininową sól α -sulfobenzylpenicyliny,
- E) dwu-L-lizynową sól α -sulfobenzylpenicyliny,
- F) dwu-N-metyloglukaminową sól α -sulfobenzylpenicyliny,
- G) dwu-L-ornitynową sól α -sulfobenzylpenicyliny.

Pierwsza metoda badawcza polegała na podskórnym wstrzykiwaniu każdego z badanych związków pięciu królikom w ilości 30 mg (w przeliczeniu na wolną penicylinę α -sulfobenzylową), i obserwowaniu zachowania się królików celem określenia bólu przy wstrzykiwaniu. Intensywność bólu wyrażono w umownej skali od $-$ do $+++$.

Drugą metodą oceny pozostałych reakcji lokalnych (zaczerwienienie, stwardnienie i obrzmienie) było wstrzykiwanie każdego z badanych związków domięśniowo do rozległego mięśnia bocznego (poprzecznego) pięciu królikom. Dawka wynosiła 300 mg (w przeliczeniu na wolną α -sulfobenzylpenicylinę). Iniekcję powtarzano trzykrotnie w odstępach dobowych, a następnie po upływie 96 godz. od pierwszej iniekcji określano reakcję lokalną na podstawie autopsji.

Wyniki przedstawiono w tablicy 1.

Doświadczenie 2 — badanie reakcji lokalnych. 1 g (w przeliczeniu na wolną penicylinę α -sulfobenzylową) badanego związku rozpuszczono w 3 ml

wody destylowanej i ten wodny roztwór wstrzykiwano domięśniowo w mięsień naramienny doświadczalnych pacjentów, a następnie badano reakcje lokalne. Wyniki doświadczenia zestawiono w tablicy 2.

Poniżej podano przykłady ilustrujące sposób według wynalazku.

Przykład I. 45,8 g dwusodowej soli penicyliny α -sulfobenzylowej rozpuszczono w wodzie i przeprowadzono w wolny kwas za pomocą silnie kwasowej żywicy jonowymiennej (Amberlite IR-200 z firmy Rohm i Haas Co., USA), w temperaturze od 0 do 3°C. W międzyczasie rozpuszczono 42,1 g chlorowodoru L-argininy i przeprowadzono w zasadę przy użyciu zasadowej żywicy jonowymiennej (Amberlit IR-411 z firmy Rohm i Haas Co., USA).

Tablica 1

Badany związek	Reakcja na ból	Inne reakcje lokalne
A	+++	dodatnia
B	+	dodatnia
C	+++	dodatnia
D	-	ujemna
E	-	ujemna
F	-	ujemna
G	±	nieznacznie dodatnia
Sól fizjologiczna woda destylowana	- +++	ujemna ujemna

Skala oceny bólu:

- bezbolesne
- ± wątpliwy ból
- + bardzo słaby ból
- ++ wyraźny ból
- +++ silny ból

Tablica 2

Badany związek	Ocena	Liczba przypadków
A	Gwałtowny ból odczuwany w czasie iniekcji	2
B	Ból odczuwany w czasie iniekcji, trwający około 10 godzin po iniekcji. Ból samoistny trwający przez dodatkowe 4-5 godz. oraz utrzymujący się ból przy naciskaniu, odczuwany przez około 12 godzin.	5
D	Zasadniczo brak bóli bezpośrednio po iniekcji. Prawie brak bólu trwałego	5
E	Zasadniczo brak bólu bezpośrednio po iniekcji. Prawie brak bólu trwałego	5
F	Zasadniczo brak bólu bezpośrednio po iniekcji. Prawie brak bólu trwałego.	5

Otrzymany wodny roztwór L-argininy dodano bezpośrednio do opisanego wyżej wodnego roztworu penicyliny α -sulfobenzylowej. Mieszaninę reakcyjną liofilizowano i wysuszono otrzymując w postaci proszku dwu-L-argininową sól penicyliny α -sulfobenzylowej. Wydajność produktu, wyrażona w mocy antybiotyku wynosiła 229°C.

Analiza elementarna produktu dała następujące wyniki:

10 C — 43,94%; H — 6,13%; N — 18,86%. Wartości obliczone dla wzoru $C_{28}H_{46}N_{10}O_{11}S_2$ wynoszą: C — 44,08%; N — 18,36%.

15 Widmo absorpcyjne w podczerwieni — $\gamma_{\max}^{KBr}(\text{cm}^{-1})$: 3350 (-OH, -NH), 3150 do 2300 (NH_3^+ , C_6H_5 -CH), 1770 (β -laktamowe -C=O), 1660 do 1580 (-CONH-, NH_3^+ , -COO-), 1500, 1390, 1320, 1200, 1050 (-SO₃-), 700.

20 Przykład II. 4,58 g dwusodowej soli penicyliny α -sulfobenzylowej rozpuszczono w wodzie i przeprowadzono w wolny kwas sposobem opisanym w przykładzie I.

25 Do tego roztworu dodano roztwór 2,92 g L-lizyny w 10 ml wody. Mieszaninę reakcyjną zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 10 ml, a następnie wkroplono stopniowo do 500 ml acetonu, stale mieszając, po czym dwu-L-lizynowa sól α -sulfobenzylopenicyliny wydzieliła się w postaci krystalicznego osadu. Kryształy oddzielono na drodze filtracji, przemyto acetonem i wysuszono. Wydajność, wyrażona w mocy antybiotyku wynosiła 78%. Temperatura rozkładu związku wynosiła 227°C.

Analiza elementarna produktu dała następujące wyniki:

35 C — 47,46%; H — 6,63%; N — 11,97%; wartości obliczone dla wzoru $C_{28}H_{46}N_6O_{11}S_2$ wynoszą: C — 47,58%; H — 6,56%; N — 11,89%. Widmo absorpcyjne w podczerwieni — $\gamma_{\max}^{KBr}(\text{cm}^{-1})$: 3400 (-OH, -NH), 3000 do 2300 (C_6H_5 -CH, NH_3^+), 2050, 1760 (β -laktamowe -C=O), 1660 do 1570 (-CONH-, NH_3^+ , -COO-), 1500, 1400, 1320, 1200, 1040 (-SO₃-), 700.

40 Przykład III. 4,58 g soli dwusodowej penicyliny α -sulfobenzylowej przeprowadzono w wolny kwas sposobem podobnym do opisanego w przykładzie I.

45 Do otrzymanego roztworu dodano wodny roztwór 3,90 g N-metyloglukaminy i produkt reakcji liofilizowano. Wydajność wyrażona w mocy antybiotyku wynosiła 93%. Temperatura rozkładu związku wynosiła 202°C.

Analiza elementarna produktu dała następujące wyniki:

55 C — 44,73%; H — 6,85%; N — 6,91%. Wartości obliczone dla wzoru $C_{30}H_{52}N_4O_{17}S_2$ wynoszą: C — 44,77%; H — 6,51%; N — 6,96%. Widmo absorpcyjne w podczerwieni — $\gamma_{\max}^{KBr}(\text{cm}^{-1})$: 3370 (-OH, NH), 3000 do 2300 (C_6H_5 -CH, - NH_3^+) 2050, 1760 (β -laktamowe, C=O), 1660 (-CONH-), 1600 (-COO-), 1520, 1460, 1395, 1320, 1200, 1080 (alkohol -C-O-), 1040 (-SO₃-), 700.

60 Przykład IV. Wodny roztwór chlorowodoru L-argininy przepuszczano nad silnie kwasową żywicą jonowymienną (Amberlit IR-120 z firmy Rohm i Haas Co., USA), w sposób umożliwiający reakcje

zasady L-argininowej z jonitem. Następnie w temperaturze od 0 do 3°C wolną penicylinę α -sulfobenzylową otrzymaną sposobem opisanym w przykładzie I przepuszczono nad żywicą. Frakcje odpowiadające wartości pH od 6 do 6,5 zebrano i liofilizowano, otrzymując sól dwu-L-argininową penicyliny α -sulfobenzylowej.

Widmo absorpcyjne w podczerwieni otrzymanego produktu odpowiadało danym widmowym dla produktu otrzymanego w przykładzie I.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania soli dwuaminowych penicyliny α -sulfobenzylowej, **znamienny tym**, że α -sulfobenzylpenicylinę, lub jej sól poddaje się reakcji z aminą taką jak arginina, lizyna lub N-metyloglukamina, bądź solami tych amin.
2. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że jako aminę stosuje się L-argininę.
3. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że jako aminę stosuje się L-lizynę.