

252065

MEMORIA DESCRIPTIVA

Correspondiente a una Patente de Invención por 20 años, para todo el territorio español, colonias y protectorados, por: "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE SALES BASICAS DE TOXICIDAD REDUCIDA DE LA KANAMICINA" a favor de CHEMIE GRÜNENTHAL G.m.b.H., Entidad alemana, residente en Stolberg Im Rheinland (Alemania).-

La Kanamicina es un antibiótico básico producido por el streptomyces Kanamyceticus nov. spec. Contiene cuatro grupos amínicos y está por lo tanto en condiciones de formar sales básicas y neutras.

5

La Kanamicina es fuertemente activa sobre una serie de gérmenes, entre los cuales destaca especialmente el bacilo de Koch. En terapéutica se ha empleado hasta la fecha únicamente el sulfato de Kanamicina.

10



252065

15 Se pudo demostrar, que las sales básicas for-
madas por la Kanamicina y una, dos o tres molé-
culas de un aminoácido o de sus derivados N-acílicos,
poseen una toxicidad considerablemente menor que
el sulfato de Kanamicina. Los aminoácidos o sus
derivados acílicos, más adecuados en este sentido
son, en primer lugar, la leucina y sus derivados
acílicos, así como el ácido pantoténico, es decir,
la N-(α , γ -dioxi- β , β -dimetilbutiril)- β -alani-
na.
20

En las sales básicas de Kanamicina, que se
preparen de acuerdo con el procedimiento de la pre-
sente invención, pueden existir uno, dos o tres
grupos amínicos en forma libre, es decir. sin for-
mar sales por combinación con ácidos. Si en las
sales básicas de Kanamicina quedan libres uno o dos
grupos amínicos, pueden ser idénticos o diferentes
los ácidos combinados con los otros grupos básicos
de la Kanamicina, no obstante, debe combinarse por
lo menos, un grupo amínico de la Kanamicina, con un
aminoácido, o un N-acilaminoácido, con formación de
la sal correspondiente.
25
30

Por ejemplo, pueden transformarse uno o dos de
los grupos básicos de la Kanamicina con ácido panto-
ténico y dos o un grupo amínico, por ejemplo, con la
N-acetil-leucina, ácido sulfúrico, ácido acético, etc.,
hasta formar sales dobles de Kanamicina. También en
estas sales dobles se reduce la toxicidad de la Kana-
micina en comparación con el antibiótico en forma de
sulfato.
35
40



252065

La reducción de la toxicidad conseguida se confirma a título de ejemplo con los siguientes resultados experimentales.

45 Si se inyecta el sulfato de Kanamicina a ratones blancos importa la DL-50 (es decir, aquella cantidad con cuya administración sucumbre un 50% de los animales de experimentación) 195 mgrs. de Kanamicina básica/ kgr. ratón. La DL-50 con la
50 administración de Kanamicina en la forma de monopantotenato-semisulfato es de 270 mgrs. de Kanamicina básica/ kgr.-ratón y de 275 mgrs. de Kanamicina básica /kgr.-ratón, si se emplea el dipantotenato de Kanamicina.

55 En los productos obtenidos, de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, se ha podido mejorar, asimismo, considerablemente la tolerancia local de la Kanamicina en comparación con la del sulfato. Se inyectaron a grupos de 10 ratones durante 30 días, tiempo de duración de las experiencias, dos veces diarias, sulfato de Kanamicina y dipantotenato de Kanamicina, con dosis de 400
60 mgrs. de Kanamicina básica/ kgr.-ratón. La Kanamicina en solución acuosa se inyectaba debajo de la piel del dorso de los ratones. 8 de los 10 animales tratados con sulfato de Kanamicina presentaron en el lugar de la inyección zonas necróticas redondas, mientras que en los ratones tratados con pantotenato de
65 Kanamicina no aparecieron alteraciones dérmicas o infiltrados.

70 La obtención de las nuevas sales de Kanamicina



15

252065

75 puede efectuarse por neutralización parcial de la base libre con los aminoácidos o sus derivados acíclicos. Para la preparación de las sales dobles de Kanamicina puede procederse, por ejemplo, de forma que se neutralice la base escalonadamente (por ejemplo, en primer lugar con una molécula de ácido pantoténico y después con uno o dos equivalentes de otro ácido). La neutralización puede realizarse en solución acuosa o, también, por ejemplo, en solución alcohólica.

80

85 La preparación de las sales básicas de Kanamicina también puede efectuarse por transformación de una sal de Kanamicina con una sal de los aminoácidos o de sus derivados N-acíclicos, respectivamente. Las sales de Kanamicina, que se emplean en esta variante del procedimiento, son preferentemente las sales hidrosolubles del antibiótico como, por ejemplo, el sulfato así como los compuestos de la Kanamicina con un intercambiador de cationes. Estos compuestos de la Kanamicina pueden transformarse fácilmente, por ejemplo, con sales alcalio-térreas, sales amínicas o alcalinas de aminoácidos o de sus derivados N-acíclicos. También se puede tratar un intercambiador de aniones cargado con los aminoácidos o sus derivados acíclicos, respectivamente. con la solución de una sal de Kanamicina, para poder obtener las nuevas sales del antibiótico. Las sales de Kanamicina pueden obtenerse de la solución de reacción por evaporación del medio disolvente, eventualmente por

90

95



252065

100 liofilización. o por transformación de la solución con una substancia mezclable con el disolvente utilizado para la transformación y en el cual las sales de Kanamicina no sean solubles o solo difícilmente solubles.

105 Ejemplo nº 1.-

3,155 grms. $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ se disuelven en 50 cc. de agua y en esta solución se disuelven, a su vez, 3,46 grms. de N-acetil-leucina. La solución obtenida de la sal básica de la N-acetil-leucina se agrega a una solución de 6 grms. de monosulfato ácido de Kanamicina en 25 cc. de agua, agitando lentamente. Se deja en reposo y se separa el sulfato bórico por aspiración, sometiendo el filtrado a liofilización. Se obtiene de esta forma el di-N-acetil-leucinato de Kanamicina. La sal comienza a descomponerse a 152° C., a 195° C. funde con descomposición total.

110

115

Ejemplo nº 2.-

Se disuelven 6,5 grms de monosulfato ácido de Kanamicina en 40 cc. de agua y se agrega a esta solución, una solución de 4,76 grms. de pantotenato cálcico en 7 cc. de agua. A la mezcla se añaden 30 cc. de metanol, Después de algún reposo a 0° C. se separa por filtración el sulfato cálcico, sometiendo el filtrado a la liofilización. Se obtiene de esta forma el dipantotenato de Kanamicina. El producto funde de 101-102° C. con descomposición.

120

125

Ejemplo nº 3.-

A una solución de 7,05 grms. de sulfato de Ka-



252065

130 namicina monobásico ($C_{18}H_{36}N_4O_{11} \cdot 1\frac{1}{2} H_2SO_4$), obtenida de una solución de 6,7 hrms. de monosulfato ácido de Kanamicina en 40 cc. de agua, por adición de 11,2 cc. de ácido n-sulfúrico (normal), se agrega una solución de 2,45 grms. de pantotenato cálcico en 5 cc. de agua.

135 Se trata ~~den~~ 20 cc. de metanol y se deja en reposo algún tiempo bajo enfriamiento, La solución obtenida, después de separar por filtración el sulfato cálcico, se somete a la liofilización, con lo que se obtiene el pantotenato-sulfato de Kanamicina. El producto funde a más de 230° C.

140 Ejemplo nº 4.-

Se procede como en el ejemplo nº 3, si bien, en lugar de 2,45 grms. de pantotenato cálcico se utiliza una solución de 5,3 grms. de pantotenato cálcico en 7 cc. de agua. Después de la liofilización se obtiene el dipantotenato-semi-sulfato de Kanamicina (o, respectivamente el sulfato-dipantotenato de di-Kanamicina).

145 Punto de fusión: 114-118° C. con descomposición.

Ejemplo nº 5.-

Se procede al igual que en el ejemplo nº 3 empleando, sin embargo, en lugar de una solución de 2,45, 8 grms. de pantotenato cálcico.

155 Después de liofilización se obtiene el tri-pantotenato de Kanamicina, que funde entre 110-112° C. con descomposición.

Ejemplo nº 6.-

6,5 grms. de monosulfato ácido de Kanamicina

15



252065

160 se disuelven en 40 cc. de agua y se tratan con una
solución de 2,38 grms. de pantotenato cálcico en
5 cc. de agua. Después de la adición de 20 cc. de
metanol se deja en reposo durante la noche a 0° C.
y se aspira el sulfato cálcico, sometiendo el fil-
165 trado a liofilización. Se obtiene de esta forma el
mono-pantotenato-semi-sulfato de Kanamicina (o res-
pectivamente, el mono-pantotenato-sulfato de di-
Kanamicina), que funde entre 111 - 113° C. con des-
composición.

170 Ejemplo nº 7.-

Se disuelven 10 grms. de Kanamicina básica en
50 cc. de agua y se agrega una solución de 13,6 grms.
de ácido pantoténico en 25 cc. de agua. Después de
un breve reposo se evapora la solución obtenida, con
175 lo cual se obtiene el tri-pantotenato de Kanamicina,
que funde entre 110-112° C. con descomposición. Ren-
dimiento: cercano al valor teórico.

Ejemplo nº 8.-

180 10 grms, de Kanamicina básica se disuelven en
25 cc. de agua. Se agrega una solución de 9 grms. de
ácido pantoténico en 15 cc. de agua y a continuación
10,1 cc. de ácido sulfúrico al 10%. La solución se
somete a la liofilización, con lo cual se obtiene
el di-pantotenato-semi-sulfato de Kanamicina, que
185 funde entre 114 y 118° C. con descomposición.

N O T A

Se declaran de novedad y propia invención, rei-
vindcando prioridad de 16 de Septiembre de 1.958,
correspondiente a la patente alemana nº C 17506 IVb/12 o
las siguientes

252065



REIVINDICACIONES

190

195

200

1ª.- Procedimiento para la obtención de sales básicas de toxicidad reducida de la Kanamicina, en que uno, dos o tres grupos amínicos se combinen con ácidos, pero en que, por lo menos, uno de los grupos amínicos de la Kanamicina se combina con un aminoácido o un N-acilaminoácido y eventualmente uno o dos de los grupos amínicos de la Kanamicina con otros ácidos con formación de sales, caracterizado por la transformación de la Kanamicina o de una sal de Kanamicina con una, dos o tres moléculas de un aminoácido o de una sal de aminoácido o de un acilaminoácido transformando eventualmente a la sal obtenida de la Kanamicina con otro ácido o sus sales.

205

2ª.- Procedimiento según reivindicación nº 1, caracterizado por emplear como ácido N-acilaminoácido o sus sales la N-acetilleucina o ácido pantoténico o sus sales.

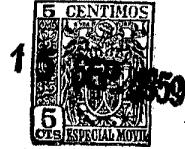
210

3ª.- Procedimiento según reivindicaciones 1 y 2 caracterizado por emplear como sales de los aminoácidos o de los N-acilaminoácidos las sales alcalino-térricas de estos ácidos.

215

4ª.- Procedimiento según reivindicaciones 1-3 caracterizado por emplear como compuestos de Kanamicina un intercambiador de cationes cargado con el antibiótico.

5ª.- Procedimiento según reivindicaciones 1-4 caracterizado por emplear como compuestos de aminoácidos o de los N-acilaminoácidos un intercambiador



252065

de aniones cargado con un ácido de este tipo.

220

6ª.- PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE SALES
BASICAS DE TOXICIDAD REDUCIDA DE LA KANAMICINA.

Todo ello según queda descrito y reivindicado en la presente memoria, que consta de nueve hojas escritas a máquina por una sola de sus caras, debidamente numeradas.

22 5

Madrid, 15 de Septiembre de 1.959.-