

~~57.251/DE~~

K I V O N A T

IC: 16033
t
Teikoplanin antibiotikumok 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-
-származékai^a ~~és eljárás~~ előállításukra

GRUPPO LEPETIT S.p.A., MILÁNÓ, OLASZORSÁG

A nemzetközi bejelentés napja: 1991. 11. 06.

Elsőbbsége: 1990. 12. 05. (90123299.1),

NAGY-BRITANNIA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP 91/02097

A nemzetközi közzététel száma: WO 92/10516

A jelen találmány teikoplanin antibiotikumok új 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-származékaira ~~és a vegyületek~~ előállítására alkalmas eljárásra vonatkozik, amelyre az jellemző, hogy a megfelelő kevés szénatomos alkilészter prekursor alkálifém-bórhidrid jelenlétében redukciós reakcióba viszik. A találmány szerinti vegyületek fokozott antibakteriális hatást mutatnak néhány olyan, klinikailag izolált Staphylococcus törzs esetében, amely a teikoplaninnal szemben némiképp rezisztens.

Gwaid

11.11.11

~~57.251/DE~~

S.B.G. & K.
Budapesti Nemzetközi
Szabadalmi Iroda
H-1061 Budapest, Dalszínház u. 10.
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

A

63860

1656 / 93

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

N 1205 C 07 K 9100
A 61 K 37102

^t
Teikoplanin antibiotikumok 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-
-származékai, ~~és eljárás~~ előállításukra

GRUPPO LEPETIT S.p.A., MILÁNÓ, OLASZORSÁG

IT

Feltalálók: MALABARBA Adriano, BINASCO,
CIABATTI Romeo, NOVATE MILANESE,
OLASZORSZÁG

IT

A nemzetközi bejelentés napja: 1991. 11. 06.

Elsőbbsége: 1990. 12. 05. (90123299.1), EP

~~NAGY-BRITANNIA~~

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP 91/02097

A nemzetközi közzététel száma: WO 92/10516

A jelen találmány a teikoplanin-származékok egy új osztályára, a vegyületek előállítására és gyógyszerek hatóanyagaként való alkalmazására vonatkozik. A találmány tárgyát (I) általános képlettel jellemezhető teikoplanin-származékok, a képletben

X hidroximetil-csoport;

R hidrogénatom vagy N-[(9-12 szénatomos) alifás-acil]- β -D-2-deoxi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R₁ hidrogénatom vagy N-acetil- β -D-2-deoxi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R₂ hidrogénatom vagy α -D-mannopiranozil-csoport;

R₃ hidrogénatom vagy amino-védőcsoport;

valamint azok savaddíciós sói képezik, azzal a megkötéssel, hogy R₁ csak akkor hidrogénatom, amikor R és R₂ egyidejűleg hidrogénatomot jelent.

Az új antibiotikus hatású anyagok főként Gram-pozitív baktériumok (például Staphylococcus és Streptococcus törzsek) ellen és különösen néhány olyan klinikailag izolált Staphylococcus ellen hatnak, amely a teikoplaninnal szemben bizonyos mértékig rezisztens. A találmány szerinti új antibiotikus hatású anyagokat valamely teikoplanin vagy teikoplaninszerű vegyület védett, kevés szénatomos alkilészter származékából vagy ezek elegyéből, és pontosabban, valamely alkálifém-bór-hidriddel víz, mint oldószer jelenlétében végzett redukciós reakcióval állítjuk elő.

A teikoplanin a korábban teichomicinnek nevezett antibiotikus anyag nemzetközi nem-védett (INN) neve, az eredeti elnevezés onnan származik, hogy a vegyületet az Antinoplanes

teichomyceticus nov. sp. ATCC 31121 törzs asszimilálható szén- és nitrogénforrásokat, valamint szervesetlen sókat tartalmazó táptalajon való tenyésztésével állították elő (4,239,751 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás).

A fenti szabadalmi leírásban leírt eljárással a fermentáléból egy teichomicinként azonosított antibiotikum-komplexet nyertek ki vízben nem-oldódó szerves oldószerrel végzett extrakcióval, és a szerves oldószerből a szokásos módon végzett kicsapással, amely komplex A_1 , A_2 és A_3 faktorokat tartalmazott.

Az így nyert antibiotikum-komplexből a túlnyomórészben jelenlevő A_2 faktort aztán Sephadex^R adszorbensen való kromatografálással különítették el. Az A_1 és A_3 faktorok csak kis mennyiségben vannak jelen. A 2 121 401 számú nagy-britanniai szabadalmi leírás szerint az A_2 faktor valójában öt egymással szoros kapcsolatban levő, egymás mellett termelődött fő komponensből áll.

Fermentálással és tisztítási, például oszlopkromatográfiás eljárással olyan teikoplanin termék kapható, amely lényegében A_2 faktorból áll, és mellette kis mennyiségű A_3 faktor is jelen van. Ismert, hogy a teikoplanin A_2 faktor és komponensei az (I) általános képlettel jellemezhetők, amelyben X karboxicsoport (azaz a molekula 38-as helyzetében egy karboxicsoport van jelen), R, R_1 és R_2 helyén az említett szénhidrátcsoportok találhatók, és R_3 jelentése hidrogénatom.

Közelebbről, a teikoplanin A_2 faktor 1.komponensében az

R helyettesítő 9-12 szénatomos alifás acilcsoportja Z-4-decenoilcsoport,^a 2.komponensében 8-metil-nonanoil-csoport, a 3.komponensében dekanoil, a 4.komponensében 8-metil-dekanoil- és az 5.komponensében 9-metil-dekanoil-csoport.

A fentebb említett minden szénhidrátcsoporthoz a molekulatörzshöz O-glikozidos kötéssel kapcsolódik. Egy ugyanilyen törzsű anyagot írnak le a 0090578 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben, és A 41030 antibiotikum B faktornak nevezik. Ezt az anyagot mikrobiológiai eljárással kapták, mégpedig oly módon, hogy a Streptomyces virginiae NRRL 12525 vagy Streptomyces virginiae NRRL 15156 törzseket alkalmas közegben fermentálták, elkülönítés és tisztítás után az A 41030 antibiotikum-komplexet legalább hét faktorra választották szét, ezek egyike az A 41030 antibiotikum B faktor.

A 119574 és 119575 számú európai szabadalmi leírásokban a teikoplanin A₂ faktor parciális hidrolízisét ismertetik, amikor is egy vagy két cukorrész lehasad. Ezeket a termékeket L 17054 és L 17046 antibiotikumnak nevezték el. A két terméket a teikoplanin A₂ faktorból ugyanolyan speciális hidrolízis körülmények között kapják. Az L 17054 előállításához a hidrolízist előnyösen 0,5 N sósavval, 70 és 90°C közötti hőmérsékleten 15-90 percre végzik. Ahhoz, hogy L 17046 származékot kapjanak, a hidrolízishez előnyösen 1N-3N koncentrációjú sósavat használnak, és a reagáltatás 70 és 90°C közötti hőmérsékleten, 30-60 percre történik.

Az L 17054 antibiotikum (teikoplanin pszeudoaglikon 1) is jellemezhető az (I) általános képlettel, amikor R helyén

hidrogénatom áll, R_1 N-acetil-D-glükózamin-csoport, R_2 D-mannóz-maradék és X karboxicssoport. Az L-17046 antibiotikum (teikoplanin pszeudoaglikon 2) is megfelelhet az (I) általános képlet szerinti szerkezetnek, amennyiben R és R_2 egyaránt hidrogénatom és R_1 N-acetil-glükózamin-csoport, X pedig karboxicssoport. A 301247 számú európai szabadalmi bejelentésben demannozil-teikoplanin-származékokat írnak le, azaz olyan (I) általános képletű vegyületeket, amelyekben R és R_1 jelentése a fenti, R_2 hidrogénatom és X karboxicssoport.

A 146053 számú európai szabadalmi bejelentésben az L 17392 antibiotikum (deglükoteikoplanin, azaz olyan (I) általános képletű vegyület, amelyben R, R_1 és R_2 egyidejűleg hidrogénatom és X karboxicssoport) előállítására olyan eljárást ismertetnek, amely szerint egy teikoplanin vegyületet vagy egy teikoplaninszerű vegyületet kontrollált erős savas hidrolízisnek vetnek alá, amelyre az jellemző, hogy a hidrolízishez szerves protikus oldószert használnak.

A 146053 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi leírás szerint az is fontos, hogy az alkalmazott erős sav kompatibilis legyen az oldószerral, ilyenek az erős ásványi savak vagy erős szerves savak, és hogy a reakciót 20 és 100°C közötti hőmérsékleten végezzék.

Ebben a leírásban és igénypontjaiban a "teikoplanin vegyület" kifejezés használatával olyan anyagokra utalunk, amelyek az Actinoplanes teichomyceticus ATCC 31121 törzs fermentálásával, majd tisztítási műveletekkel kapott teikoplanin antibiotikum-komplexből kerültek kiválasztásra a

4,239,751 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás szerint, ezek további tisztításával kapott bármely komponensre, teikoplanin A_2 faktorra, teikoplanin A_3 faktorra, a teikoplanin A_2 faktor minden fő komponensére. A "teikoplanin vegyületek" meghatározás magába foglalja az M. Zanol és munkatársai által leírt (17th International Symposium on Chromatography, Vienna September 25-30, 1988) RS-1 és RS-2 teikoplaninokat és a 306645 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben ismertetett RS-3 teikoplanint (A vegyületet) és RS-4 teikoplanint (B-vegyületet) is. Ezek a vegyületek olyan (I) általános képlettel jellemezhető vegyületek, amelyekben R_1 és R_2 jelentése a fenti, az R csoport alifás acilrésze 10-metil-undekanoil-, dodekanoil-, 6-metil-oktanoil- és nonanoilcsoport, és X karboxics csoport. A "teikoplaninszerű vegyületek" fogalom körébe bármely, az (I) általános képletnek megfelelő alapszerkezettel rendelkező vegyület, amelyben X karboxics csoport, R hidrogénatom vagy N-[(9-12 szénatomos)alifás acil]-D-glükózamin-csoport, R_1 hidrogénatom vagy N-acetil-D-glükózamin-csoport, R_2 hidrogénatom vagy D-mannóz-maradék, azzal a megkötéssel, hogy R_1 csak abban az esetben hidrogénatom, amikor R és R_2 egyidejűleg jelent hidrogénatomot, és egy vagy több fenti anyag és/vagy vegyület bármilyen arányú keveréke beletartozik.

A 216775 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben a deglükoteikoplanin észterszármazékait írják le, és egy előállításukra alkalmas kémiai eljárást ismertetnek, amelynek lényege, hogy egy teikoplanin vegyü-

letet vagy teikoplaninszerű vegyületet kontrollált észterezési eljárásnak vetnek alá oly módon, hogy savkatalizátor jelenlétében, előnyösen 50 és 80°C közötti hőmérsékleten alkohol feleslegével reagáltatják, és szükséges esetben a molekulához kapcsolódó cukorrészt szelektíven hidrolizálják.

A 182157 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben az L 17046 számú antibiotikum észter-származékait írják le, és egy, az előállításukra alkalmas eljárást ismertetnek. A 182157 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben leírt eljárás egyik előnyös megvalósítási módja szerint a megfelelően védett L 17046 antibiotikumot helyettesített alkil-halogeniddel reagáltatják közömbös szerves poláros aprotikus oldószerben, előnyösen hidrogén-halogenidet megkötő anyag jelenlétében, kb. -5°C és 50°C közötti hőmérsékleten. A teikoplanin pszeudoaglikon-metil-észter a J. Am. Chem. Soc. 106, 17 (1984) irodalmi helyen is leírják. A teikoplanin N-acetil-glükozaminil-aglikon és a teikoplanin aglükon néhány észterének szintézise és biológiai hatása a J. Antibiotics folyóirat egyik cikkében [40, 1572-1587 (1987)] is szerepel. A fentebb említett, 216775 és 182157 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésekben ismertetett módon a teikoplanin kevés szénatomos alkilészterei könnyen előállíthatók. A fentebb leírt minden kevés szénatomos alkil-észter-származék a találmány szerinti eljárásban kiindulási anyagként használható.

Azok az (I) általános képletű vegyületek az előnyös kevés szénatomos alkil-észter-származékok, amelyekben X

-COOR₄ általános képletű csoport, és R₄ egyenes vagy elágazó szénláncú 1-4 szénatomos alkilcsoport. R₄ még előnyösebben metil- vagy etilcsoport.

Mint azt az előzőekben említettük, a teikoplanin A₂ komplex öt fő komponenst tartalmaz, amelyekre az jellemző, hogy a β-D-2-dezoxi-2-amino-glükopiranozil-csoport alifás acilcsoportja: (Z)-4-decenoil-, 8-metil-nonanoil-, dekanoil-, 8-metil-nonanoil-, dekanoil-, 8-metil-dekanoil- vagy 9-metil-dekanoil-csoport.

Ennek megfelelően, ezek az anyagok a jelen találmány szerinti vegyületek előállítási eljárásában kiindulási anyagként használhatók vagy egyenként vagy két vagy több termék keveréke formájában. Mivel a jelen találmány szerinti vegyületek előállításához a kiindulási anyagok mindkét formában alkalmazhatók, így a reakció végterméke is egyetlen (I) általános képletű vegyület vagy egy vagy több (I) általános képletű vegyület keveréke lesz. Ezek a vegyületkeverékek szintén a találmány körébe tartoznak, és biológiai alkalmazásra ilyen formában felhasználhatók, vagy a szakterületen ismert módszerekkel komponenseikre szétválaszthatók. A 38-dekarboxi-38-(hidroxil-metil)-teikoplanin-származékok keverékeként kapott végtermékekből az egyes komponensek elkülönítése céljából alkalmazott elválasztásra példákat az alábbi szabadalmi iratokban találunk: 218099 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentés és a WO 88/06600 számon nyilvánosságra hozott nemzetközi szabadalmi bejelentés.

A 38-dekarboxi-38-(hidroxil-metil)-származékok egy na-

gyobb szelektivitású redukzív hidrolitikus eljárással állíthatók elő, amely eljárás a jelen találmány további tárgyát képezi.

Az eljárás szerint egy (II) általános képletű vegyület, amelyben R_4 1-4 szénatomos alkilcsoport, R_3 aminovédőcsoport és R , R_1 és R_2 jelentése a fenti, vagy ilyen vegyületek keverékeit valamely alkálifém-bór-hidrid, előnyösen nátrium-bór-hidrid, kálium-bór-hidrid vagy nátrium-ciano-bór-hidrid jelenlétében, 0°C és 40°C közötti hőmérsékleten, oldószerként vizet használva, redukciós reakcióba viszünk.

A fenti redukciós eljárás kritikus jellemzője a víz oldószerként való alkalmazása. Azonban, ha a kiindulási anyag vízben nem oldható fel teljesen (például a teikoplanin-aglükon-metil-észter), vízzel elegyedő társoldószert, előnyösen kevés szénatomos alkanolt kell a vízhez adnunk. Ilyen esetben a hidroalkoholos közeg víz és kevés szénatomos alkanol, előnyösen metanol vagy etanol keveréke, amelyben a víz és alkohol mennyisége 90:10 és 40:60 térfogatarány között, és előnyösen 70:30 és 50:50 térfogatarány között változik. A találmány egyik jellemző kiviteli módja szerint a teikoplanin-aglükon-metilészter kiindulási anyag alkalmazása esetén 50:50 térfogatarányú víz:alkohol elegyet használunk.

Néha, speciális esetekben, egy további poláros társoldószert kis mennyiségét adhatjuk az elegyhez annak érdekében, hogy a kiindulási anyag a reakció folyamán teljesen feloldódjon; ilyen oldószert például az N,N-dimetil-formamid, 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidon (DMPU) és a

dimetil-szulfoxid.

Alkálifém-bór-hidridként a nátrium-bór-hidrid a legelőnyösebb. Az alkalmazott alkálifém-bór-hidrid megfelelő mennyisége a kiindulási vegyületként használt adott vegyülettől, az alkalmazott oldószertől és a reakcióhőmérséklettől függ, azonban ajánlatos az alkálifém-bór-hidridet a sztöchiometrikusan szükségeshez képest nagy feleslegben alkalmazni oly módon, hogy a reakcióelegy pH-ja lugos, előnyösen 8 és 10 közötti legyen. Általában az alkálifém-bór-hidrid és az antibiotikus kiindulási anyag molaránya 50 és 300 közötti.

A reakcióhőmérséklet a speciális kiindulási anyagtól és reakciókörülményektől függően jelentős mértékben változhat. Általában előnyös, ha a reakciót 0°C és 40°C közötti hőmérsékleten, előnyösebben szobahőmérsékleten játszadjuk le. A reakció ideje a reakció egyéb paramétereinek függvényében igen eltérő lehet. Általában a reakció teljes végbemeneteléhez 10-48 óra szükséges. A reakciót minden esetben vékonyréteg-kromatográfiásan követjük, előnyösen HPLC technika alkalmazásával, a szakterületen jól ismert módszerekkel. Ezen vizsgálatok eredményei alapján a szakember értékelni tudja a reakció előrehaladását, és meg tudja határozni, hogy mikor kell a reakciót leállítani, és a reakcióelegy feldolgozását megkezdeni, amelyhez az önmagában ismert eljárásokat, így oldószeres extrakciót, nem-oldószer hozzáadásával történő kicsapást stb. lehet felhasználni, amely lépéseket aztán szükséges esetben oszlopkromatográfiás módszerrel történő további elválasztások és tisztítások követhetnek.

Miután a reakció végbement, a legtöbb esetben, de szükségszerűen nem mindig, a kiindulási anyagtól függően, tiszta oldat képződik; ezután az alkálifém-bór-hidrid feleslegét megfelelő mennyiségű sav, például híg ásványi sav, így sósav, hidrogén-bromid és hasonló, 1-4 szénatomos alkánkarbonsav, 1-6 szénatomos alkánszulfonsav, aril-szulfonsav és hasonló poláros protikus oldószerrel, például 1-4 szénatomos alkanollal készült oldatának hozzáadásával elbontjuk.

A jelen találmány szerinti eljárás egy további jellemzője, hogy a kiindulási anyag 15-ös helyzetében levő aminocsoportot meg kell védeni a redukciós eljárás elvégzése előtt. A találmány szerinti eljárásban alkalmazható N-védőcsoportok a szakember számára ismertek, ilyenek például a szakkönyvekben leírt csoportok (ld. például T. W. Green, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, 1981, 323-326 oldal, és M. McOmie "Protecting Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, New York, 1973) és amelyek a teikoplaninszerű vegyületek aminocsoportjával a reakció körülményei között stabil kötést képesek kialakítani, amely csoportok előnytelen módon nem befolyásolják a redukciós reakciót, és amelyek a reakciótermékről a reakció végén könnyen lehasíthatók anélkül, hogy az újonnan kialakított 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-maradékon változást idéznének elő.

A találmány szerinti eljárásban előnyösen használt N-védőcsoportokra példaként a karbamátot képező reagenseket említjük, amelyekre az 1,1-dimetil-propil-oxi-karbonil-, terc-butil-oxi-karbonil-, vinil-oxi-karbonil-, allil-oxi-

-karbonil-, cinnamil-oxi-karbonil-, 4,5-difenil-3-oxazolin-2-on-, benzil-oxi-karbonil-, p-nitro-benzil-oxi-karbonil-, 3,4-dimetil-6-nitro-benzil-oxi-karbonil-, 2,4-diklór-benzil-oxi-karbonil-, 5-benzizoxazolil-metil-oxi-karbonil-, 9-antril-metil-oxi-karbonil-, difenil-metil-oxi-karbonil-, izonikotinil-oxi-karbonil-, S-benzil-oxi-karbonil- és hasonló csoportok jellemzőek.

Az egyik különösen előnyös védőcsoport a terc-butoxi-karbonil-csoport. Az N-védett végtermékekről aztán a védőcsoportot a szakterületen ismert módszerekkel, például tri-fluor-ecetsavas kezeléssel távolítjuk el.

Annak érdekében, hogy jobban kiemeljük a találmány szerinti eljárás meglepő voltát, hangsúlyoznunk kell, hogy általában, a teikoplanin szabad láncvégi karboxicsoportjának redukciójára a különböző komplex fémhidridekkel tett korábbi kísérletek nem vezettek eredményre. Még ezen antibiotikumok metil-észtere is ellenállt egy ilyen redukálószernek vízmentes szerves oldószerekben. Néhány esetben, például lítium-bór-hidrid tetrahidrofuránban való alkalmazásakor a redukció a végtermékek egyidejű epimerizációjával ment végbe, így azok teljesen hatástalanokká váltak.

A 90113139 számú európai szabadalmi bejelentésben azt írják, hogy amikor egy teikoplanin vegyület nem védett metil-észterét reagáltatják alkálifém-bór-hidriddel különböző összetételű víz-etanol oldószerkelegyen, a második és harmadik aminosav közötti peptidkötés (az 59-60-as helyzetű amidkötés) reduktív hasítása és a 38-helyzetű hidroximetil-észter egyidejű képződése is megfigyelhető.

Ezért nem volt egyszerű a megfelelő prekursor és az optimális reakciókörülmények megtalálása ahhoz, hogy megkapjuk a találmány szerinti 38-(hidroxi-metil)-teikoplanin-származékokat, anélkül, hogy a molekula kritikus szerkezeti részét módosítanánk. Mint már korábban körvonalaztuk, a találmány szerinti olyan 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-teikoplanin-származékokat, amelyekből egy vagy több cukorrész lehasadt, a megfelelő észter-prekurzorokból állíthatók elő.

Emellett az (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-vegyület, cukorrészének szelektív eltávolításával, egy másik 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-vegyületté alakítható.

Például, egy olyan (I) általános képletű vegyület, amelyben R , R_1 és R_2 a fentebb meghatározott cukorrészt jelenti, kontrollált savas hidrolízissel, erős tömény vizes szerves savban átalakítható egy megfelelő olyan vegyületté, amelyben R_2 jelentése a fenti és R hidrogénatom. A tömény szerves sav ebben az esetben előnyösen 75-95 %-os vizes trifluorecetsav, és a reakcióhőmérséklet előnyösen 10 és 50°C közötti. A hidrolízist előnyösen 90 %-os trifluor-ecetsavval, szobahőmérsékleten végezzük. A reakcióidő a többi speciális reakcióparamétertől is függ, azonban a reakciót minden esetben vékonyréteg-kromatográfián vagy HPLC segítségével követjük. Egy hasonlóan szelektív hidrolízisről számolnak be a 146822 számú európai szabadalmi leírásban.

Hasonlóképpen, az olyan (I) általános képletű vegyüle-

tek, amelyekben R, R₁ és R₂ egy fentebb meghatározott cukorrészt jelent vagy R hidrogénatom és R₁ és R₂ egy fentebb meghatározott cukorrész, erős savakkal, poláros aprotikus, szobahőmérsékleten folyékony oldószerek, így éterek, ketonok és ezek elegyei jelenlétében végzett szelektív hidrolízissel olyan (I) általános képletű vegyületekké alakíthatók át, amelyekben R és R₂ hidrogénatom és R₁ egy fentebb meghatározott cukorrész. Ebben az esetben előnyösen tömény ásványi savakat használunk valamely éter, például dimetoxi-etán jelenlétében, szobahőmérsékleten. A reakció lefutását ilyenkor is vékonyréteg-kromatográfián vagy előnyösen HPLC segítségével követjük. Egy hasonló szelektív hidrolízist ismertetnek a 175100 számú európai szabadalmi leírásban. A jelen találmány egy másik kiviteli módja szerint egy olyan (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-vegyületet, amelyben R, R₁ és R₂ egy fentebb meghatározott cukorrész, egy olyan (I) általános képletű vegyületet, amelyben R hidrogénatom és R₁ és R₂ valamely fentebb meghatározott cukorrész, vagy egy olyan (I) általános képletű vegyületet, amelyben R és R₂ hidrogénatom és R₁ valamely fentebb meghatározott cukorrész, szerves aprotikus oldószerben, például alifás savakban és α-halogénezett alifás savakban, amelyek szobahőmérsékleten folyékonyak, alifás és cikloalifás alkanolokban, amelyek a reakció hőmérsékletén folyékonyak és vízzel kevésbé elegyednek, fenilcsoporttal helyettesített kevés szénatomos alkanolokban, amelyekben a fenilcsoport adott esetben 1-4 szénatomos alkilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxycsoporttal vagy halogénatommal helyet-

tesített, és amelyek a reakció hőmérsékletén vízzel alig elegyedő folyadékok, és β -polihalogénezett kevés szénatomos alkanolokban, amelyek a reakció hőmérsékletén folyadékok, erős, az oldószerrel kompatibilis sav, például ásványi sav, erős szerves sav vagy hidrogén formában lévő erős savas kation-cserélő gyanták jelenlétében, 20 és 100°C közötti hőmérsékleten a megfelelő olyan (I) általános képletű vegyületté alakíthatunk, amelyben R, R₁ és R₂ hidrogénatom. Ebben az esetben a hidrolízishez előnyösen ásványi savat, például sósavat használunk, és halogénezett alkanolban, például trifluor-etanolban, 65 és 85°C közötti hőmérsékleten dolgozunk.

Hasonló szelektív hidrolízis-körülményeket írnak le a már említett, 146053 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésben.

A jelen találmány szerinti 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-teikoplanin antibiotikumok szabad bázisok vagy savakkal képezett addíciós sók formájában különíthetők el. A savaddíciós sók közül a szervetlen és szerves savakkal, például hidrogén-kloriddal, kénsavval, foszforsavval, bórsavval, tyánkősavval, citromsavval, tejsavval, maleinsavval, fumársavval, kolsavval, d-glutaminsavval, d-kámforsavval, glutársavval, ftálsavval, borkősavval, metánszulfonsavval, benzolszulfonsavval, benzoesavval, szalicilsavval, trifluor-ecetsavval és hasonló savakkal képezett sókat emeljük ki.

Különösen azok a savaddíciós sók előnyösek, amelyek gyógyászati lag elfogadhatók.

A találmány szerinti 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-

-teikoplanin-származékok a Staphylococcus és Streptococcus törzsekkel szemben antibakteriális hatást mutatnak.

A karboxicsoport redukciójának pozitív hatása különösen egyértelmű, ha a 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-teikoplanin A₂ 2.komponensének a hatását (MIC = 0,25 mcg/ml) hasonlítjuk össze a teikoplanin A₂ 2.komponensének hatásával (MIC = 32 mcg/ml), amely hatást a vegyületek az S. epidermidis törzsszel szemben mutatnak. Ez a törzs a kórházban fekvő betegekben kifejlődött fertőzésekben leggyakrabban izolált Staphylococcus törzsek egyike.

Az különösen meglepő, hogy a teikoplanin 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-származékai a kiindulási anyagként használt megfelelő metilésztereknél is hatásosabbak néhány olyan, klinikailag izolált Staphylococcus-szal szemben, amelyek általában teikoplaninra rezisztensek.

A találmány szerinti vegyületek antibiotikus hatását in vitro standard kétszeres hígításos vizsgálattal határoztuk meg, amelyhez Difco Todd-Hewitt táptalajt vagy Oxoid Iso-Sensitest táptalajt használtunk. A tenyészeteket annyira hígítottuk, hogy a végső inokulum kb. 10^5 telepképző egység/ml (CFU/ml) legyen. A minimális gátló koncentrációnak (MIC) azt a legalacsonyabb koncentrációt tekintettük, amelynél 18-24 órás 37°C-on való inkubálás után látható növekedés nem tapasztalható. Néhány jellemző eredményt az I. táblázatban foglaltunk össze, amelyek a találmány szerinti 38-(hidroximetil)-teikoplanin antibiotikumoknak az S. epidermis, S. aureus és S. haemolyticus törzsekkel szemben mutatott biológiai hatását szemléltetik.

I. táblázat

38-Dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-teikoplanin-származékok
 néhány Staphylococcus (S.) törzssel szemben kifejtett in
vitro biológiai hatása (MIC, mcg/ml)

Szervezet		Vegyület				
Belső szám	Törzs	1.	2.	3.	4.	5.
561	<u>S. aureus</u>					
	klin. izolátum	4	4	2	0,5	0,13
147	<u>S. epidermidis</u>					
	ATCC 12228	0,5	0,13	1	0,063	0,063
533	<u>S. epidermidis</u>					
	klin. izolátum	4	0,25	2	0,13	0,13
602	<u>S. haemolyticus</u>					
	klin. izolátum	8	4	8	2	0,25

A vizsgált (I) általános képletű vegyületek:

1. CTA/2 metilészter; X = COOMe;

R = 8-metil-nonanoil- β -D-glükóz-
 aminil-csoport;

	R_1 = N-acetil- β -D-glükózaminil-csoport;
	R_2 = α -D-mannozil-csoport;
	R_3 = hidrogénatom (kiindulási anyag);
2. HM-CTA/2	X = $-\text{CH}_2\text{OH}$;
	R = 8-metil-nonanoil- β -D-glükózaminil-csoport;
	R_1 = N-acetil- β -D-glükózaminil-csoport;
	R_2 = α -D-mannozil-csoport;
	R_3 = hidrogénatom;
3. HM-TB	X = $-\text{CH}_2\text{OH}$;
	$R = R_3$ = hidrogénatom;
	R_1 = N-acetil- β -D-glükózaminil-csoport;
	R_2 = α -D-mannozil-csoport;
4. HM-TC	X = $-\text{CH}_2\text{OH}$;
	$R = R_2$ = hidrogénatom;
	R_1 = N-acetil- β -D-glükózaminil-csoport;
	R_3 = hidrogénatom;
5. HM-TD	X = $-\text{CH}_2\text{OH}$;
	$R = R_1 = R_2 = R_3$ = hidrogénatom.

A II. táblázatban minden vegyület képlete, ekvivalens és móltömege látható. Minden vegyület esetében elvégeztük a C, H, N és Cl meghatározását olyan mintákat használva, amelyeket előzőleg nitrogénatmoszférában 140°C-on szárítottunk. Az analitikai eredmények eltérése az elméleti értékektől

$\pm 0,4$ %-on belül van.

A sav-bázis titrálásokat a következőképpen végeztük: a mintát metil-celloszolv és víz 4:1 arányú elegyében oldottuk, majd 0,01 mólos, ugyanilyen oldószerrel készült hidrogén-kloridot adtunk hozzá feleslegben, és a kapott oldatot 0,01 N nátrium-hidroxiddal titráltuk. A sav-bázis titrálás azt mutatta, hogy a találmány szerinti termékek egy bázikusan ionizálható csoportot tartalmaznak, amelynek pK értéke metil-celloszolvban mérve 6,6-6,9 (ld. a II. táblázatot).

A III. táblázatban ^1H -NMR adatok szerepelnek. Ezeket DMSO- d_6 -ban Bruker AM 500 NMR spektrométerrel vettük fel, amely Aspect 3000 számítógéppel volt összekapcsolva, belső összehasonlító anyagként Me_4Si -t ($\delta = 0,00$ ppm) használtunk. A 2D NMR kísérleteknél módosított standard impulzus szekvenciát alkalmaztunk.

A 38-dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-teikoplanin-származékok megtartották a prekursor antibiotikum ^1H - és ^{13}C -spektrumának jellemzőit, kivéve a C-38-as protonét, amely jelentősen, kb. 0,4 ppm értékekkel eltolódott a nagyobb térerő irányába, és a COSY spektrumban az újonnan bevezetett alkoholos csoporttal a várt csatolást mutatja (38- CH_2 , δ kb. 3,72 ppm). Az inverz ^1H - ^{13}C korrelációs kísérletek igazolták ezeket az eredményeket. A termékeket fordított fázisú oszlop-kromatográfiás eljárással szilanizált szilikagélen (0,063 - 0,2 mm; Merck) tisztítottuk. A reakciók és az oszlop eluálásának előrehaladását és a kapott végtermékeket HPLC analízissel ellenőriztük, amelyet Hibar RT 250-4 (Merck) oszlopon végeztünk, az oszlop LiChrosorb RP-8 (10 mikrométer) adszor-

benssel előre meg volt töltve, a kiértékeléshez Varian Model 5500 LC szivattyút használtunk, amely 20 mikroliteres Rheodyne Model 7125 gyártmányú kacs-injektorral és Varian Model 2050 UV variálható detektorral volt ellátva. A kromatogramokat 254 nm-en vettük fel. Az eluálást 2 ml/perc sebességgel végeztük, eluálószerként a) 0,2 %-os vizes ammónium-formiát-oldat és b) acetonitril lineáris gradiens-elegyét használtuk, amelyben a b) komponens a)-ban levő mennyisége 30 perc alatt 20 %-tól 60 %-ig változott.

A HPLC analízis eredménye (IV. táblázat) azt mutatja, hogy ezek a vegyületek kevésbé lipofilek, mint a megfelelő teikoplanin-metil-észterek, de a módosítatlan prekursor antibiotikumoknál lipofilebbek.

II. táblázat

A vegyület (A példa száma)	Képlet	E.W.	M.W.	p ^k _{HCS}
1.	C ₈₈ H ₉₉ N ₉ O ₃₂ Cl ₂	1990	1865,7	6,9
2.	C ₇₂ H ₇₀ N ₈ O ₂₇ Cl ₂	1710	1550,3	6,9
3.	C ₆₆ H ₆₀ N ₈ O ₂₂ Cl ₂	1515	1388,3	6,8
4.	C ₅₈ H ₄₇ N ₇ O ₁₇ Cl ₂	1240	1185,0	6,6

E.W. titrálással meghatározott ekvivalens tömeg

M.W. a képlet alapján számított molekulatömeg

III. táblázat

^1H -NMR adatok (DMSO-D_6 ; TMS belső standard, delta 0,00 ppm)

Vegyület (A példa száma)	^1H , delta ppm
1.	0,82; 1,11; 1,45; 2,00 (N-acil-lánc); 1,87 (acetil-glükózamin); 3,42 (mannóz); 3,72 (38- CH_2 -OH); 4,12-5,54 (peptid CH-k); 6,28-8,53 (aromás protonok és peptid-NH-k).
2.	1,85 (acetil-glükózamin); 3,43 (mannóz); 3,72 (38- CH_2OH); 4,06-5,82 (peptid CH-k); 6,08-8,52 (aromás protonok és peptid NH-k).
3.	3,41 (mannóz); 3,72 (38- CH_2OH); 4,12-5,65 (peptid CH-k); 6,78-8,58 (aromás protonok és peptid NH-k).
4.	3,72 (38- CH_2OH); 4,14-5,76 (peptid CH-k); 6,23-8,48 (aromás protonok és peptid NH-k).

IV. táblázat

HPLC

Vegyület (A példa száma)	t _R (perc)
1.	10,1
2.	4,5
3.	6,3
4.	8,2

A fentebb bemutatott mikrobaellenes hatásuk miatt a találmány szerinti vegyületek hatékonyan használhatók humán- és állatgyógyászatban, az ilyen hatóanyagokra érzékeny patogén baktériumok által okozott fertőzések megelőzésére vagy kezelésére alkalmas gyógyászati készítmények hatóanyagaként.

Az ilyen kezelésekre a vegyületeket önmagukban vagy bármilyen keverék formájában használhatjuk. A jelen találmány szerinti vegyületeket orálisan, topikálisan és paren-
terálisan adagolhatjuk, azonban a parenterális beadási mód az előnyös. Az adagolás módjától függően a vegyületeket

különféle dózisformákba foglalhatjuk. Az orálisan adagolható készítmények kapszulák, tabletták, folyékony oldatok vagy szuszpenziók lehetnek.

Amint az a szakterületen ismert, a kapszulák és tabletták a hatóanyagon kívül szokásos segédanyagokat, így hígítóanyagokat, például laktózt, kalcium-foszfátot, szorbitot és hasonlókat, kenőanyagokat, például magnézium-sztearátot, talkumot, polietilénglikolt, kötőanyagokat, például polivinil-pirrolidont, zselatint, szorbitot, tragantmézgát, akác-mézgát, ízesítőanyagokat és elfogadható szétesét elősegítő és nedvesítő szereket tartalmazhatnak. A folyékony készítmények általában vizes vagy olajos oldatok vagy szuszpenziók, és szokásos adalékokat, például szuszpendáló szereket tartalmazhatnak. Topikális alkalmazásra a találmány szerinti vegyületeket az orr és a torok nyálkahártyáján, valamint a légzőszerv szövetein át abszorbeálódó formákká is alakíthatjuk, ezek általában folyadék sprayk vagy inhalátumok, pasztillák vagy torokecsetelők.

A szemek vagy fülek gyógykezelésére folyékony vagy fél-folyékony formákat állítunk elő. A helyi alkalmazáshoz hidrofób vagy hidrofil bázisú kenőcsöket, krémeket, tejet, ecsetelő oldatokat vagy porokat készítünk.

Rektális adagolás céljára a találmány szerinti vegyületeket szokásos hordozóanyagokkal, így például kakaóvajjal, viasszal, spermacetivel vagy polietilénglikolokkal és ezek származékaival kúpokká alakítjuk.

Az injekciós készítmények olajos vagy vizes hordozókkal készült szuszpenziók, oldatok vagy emulziók lehetnek, és a

formáláshoz megfelelő anyagokat, így szuszpendáló, stabilizáló és/vagy diszpergáló szereket tartalmazhatnak. Más esetben a hatóanyag por formájú is lehet, amelyet a felhasználás előtt alkalmas hordozóval, például steril vízzel injektálható készítménnyé alakítunk.

A beadandó hatóanyag mennyisége különféle tényezőktől, így a kezelendő egyed méretétől és állapotától, az adagolás módjától és gyakoriságától, valamint a kiváltó szertől függ.

A találmány szerinti vegyületek kb. 0,5 és 30 mg hatóanyag/kg testtömeg közötti mennyiségben hatásosak, amely dózist előnyösen napi két vagy négy alkalommal adunk be. Különösen azok a készítmények kívánatosak, amelyek dózisegységenként kb. 20 és kb. 300 mg hatóanyagot tartalmaznak.

A gyógyászati készítmények előállításának jellemző példájaként egy parenterális oldatot említünk, amelyet úgy állítunk elő, hogy 100 mg 1. számú vegyületet 1 ml steril, injektálásra alkalmas vízben oldunk.

A jelen találmány szerinti vegyületeket a gyógyhatású alkalmazásuk mellett állatok növekedésének serkentésére is használhatjuk.

Erre a célra egy vagy több találmány szerinti vegyületet megfelelő takarmányban orálisan beadunk. Az alkalmazott pontos koncentráció az lesz, amely normális mennyiségű takarmány elfogyasztása esetén a hatóanyagból a növekedés elősegítése szempontjából hatásos mennyiséget biztosítja.

A találmány szerinti hatásos vegyületet előnyösen úgy adjuk az állati takarmányhoz, hogy megfelelő premixet készítünk, amely a vegyületek hatásos mennyiségét tartalmazza,

és ezt a premixet adjuk a teljes keverékhez.

Úgy is eljárhatunk, hogy egy, a hatóanyagot tartalmazó közbenső koncentrátumot vagy takarmánykiegészítőt készítünk, és ezt keverjük a takarmányba.

Az ilyen takarmánypremixek és teljes keverékek előállítását és adagolását a megfelelő szakkönyvek (például az "Applied Animal Nutrition", W. H. Freedman and Co., S. Francisco, USA, 1969 vagy "Livestock Feeds and Feedings", O and B Books, Corvallis, Oregon, USA, 1977) ismertetik, amelyekre ezúton utalunk.

A következő példák a találmány további bemutatására szolgálnak, és semmiképpen sem tekintendők korlátozó jellegűeknek.

A kiindulási anyagok előállítása

A) N^{15} -(terc-Butil-oxi-karbonil)-teikoplanin A_2 2.komponens [N^{15} -terc-BOC CTA/2] [(I) általános képletű vegyületet, amelyben $X = -COOH$; $R = 8$ -metil-nonanoil- β -D-glükózaminil-csoport; $R_1 = N$ -acetil- β -D-glükózaminil-csoport; $R_2 = \alpha$ -D-mannozil-csoport]

95 g (kb. 50 mmol) teikoplanin A_2 2.komponens (CTA/2) 350 ml dimetil-szulfoxiddal készült oldatához keverés közben 12 ml (kb. 87 mmol) trietil-amint és 24 g (kb. 80 mmol) terc-butil-2,4,5-triklór-fenil-karbonátot adunk szobahőmérsékleten. 5 óra eltelte után a reakcióelegyet 2 liter vízbe öntjük. A kapott oldatot 1 N sósavval pH 3-ra savanyítjuk, majd 2 liter butanol:etil-acetát = 1:2 térfogatarányú eleggyel extraháljuk. A szerves réteget elválasztjuk, 1 liter

vízzel mossuk, majd csökkentett nyomáson és 35°C hőmérsékleten kb. 200 ml térfogatra bepároljuk. 800 ml etil-acetát hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet összegyűjtünk (100 g), és további tisztítás nélkül használunk fel. HPLC: $t_R = 12,1$ perc.

B) N^{15} -(terc-Butil-oxi-karbonil-teikoplanin A_2 2.komponens metil-észter [N^{15} -terc-BOC CTA/2 metil-észter] [(I) általános képletű vegyület, amelyben $X = -COOMe$; $R = 8$ -metil-nonanoil- β -D-glükózaminil-csoport; $R_1 = N$ -acetyl- β -D-glükózaminil-csoport; $R_2 = \alpha$ -D-mannozil-csoport]

50 g, az A) lépésben leírt módon előállított N^{15} -terc-BOC CTA/2 300 ml dimetil-formamiddal készült oldatához keverés közben 6 g kálium-hidrogén-karbonátot és 3,5 ml metil-jodidot adunk szobahőmérsékleten. 5 óra eltelte után a reakcióelegyet 2 liter vízbe öntjük. A kapott szuszpenziót 1 N sósavval pH 3,5-re savanyítjuk, majd 1 liter butanollal extraháljuk. A szerves réteget elválasztjuk, 3 x 300 ml vízzel mossuk, és csökkentett nyomáson, 40°C-on kb. 150 ml térfogatra bepároljuk. 350 ml dietil-éter hozzáadására szilárd csapadék válik ki, amelyet összegyűjtünk, 500 ml dietil-éterrel mosunk, és egy éjszakán át szobahőmérsékleten vákuumban szárítunk. Így 50 g cím szerinti vegyületet kapunk, amely elég tiszta ahhoz, hogy a következő lépésben felhasználjuk. HPLC: $t_R = 15,0$ perc.

C) N^{15} -(terc-Butil-oxi-karbonil)-deglükoteikoplanin [N^{15} -terc-BOC-TD] [(I) általános képletű vegyület, amelyben $X = -COOH$; $R = R_1 = R_2 =$ hidrogénatom]

1,25 g (1 mmol) deglükoteikoplanin-hidroklorid 20 ml dimetil-formamiddal készült oldatához keverés közben 340 mg (1,1 mmol) terc-butil-2,4,5-triklór-fenil-karbontátot és 0,7 ml trietil-amint adunk. Az elegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten tartjuk, majd 200 ml vizet adunk hozzá, és a pH-ját 1 N sósavval 2-re állítjuk. A terméket 150 ml etil-acetát:butanol = 3:1 térfogatarányú eleggyel extraháljuk. A szerves rétegeket összegyűjtjük, és kb. 40 ml-re bepároljuk, majd 250 ml dietil-étert adunk hozzá. A szuszpenziót egy éjszakán át 0°C-on hagyjuk állni, majd szűrjük, a kinyert terméket dietil-éterrel mossuk, és vákuumban, 50°C-on szárítjuk. Így 1,1 g tiszta, cím szerinti vegyületet kapunk.

D) N^{15} -(terc-Butil-oxi-karbonil)-deglükoteikoplanin-metil-észter [N^{15} -terc-BOC-TD metil-észter] [(I) általános képletű vegyület, amelyben $X = -COOMe$; $R = R_1 = R_2 =$ hidrogénatom]

500 mg (0,385 mmol), az előző C) lépésben leírt eljárással előállított N^{15} -terc-BOC-TD deglükoteikoplanin 10 ml dimetil-formamiddal készült oldatához keverés közben 40 mg finoman elporított kálium-hidrogén-karbonátot és 30 mikroliter metil-jodidot adunk. Az elegyet szobahőmérsékleten a reakció teljessé válásáig (3 órán át) keverjük, majd 100 ml vizet adunk hozzá, és az elegyet három alkalommal 100 ml butanollal extraháljuk. A szerves extraktumokat vízzel mossuk, és vákuumban, 50°C-on 20 ml-re bepároljuk. A reakcióterméket 200 ml dietil-éter hozzáadásával kicsapjuk. Az elegyet egy éjszakán át 0°C-on hagyjuk állni, majd a terméket szűrővel összegyűjtjük, dietil-éterrel mossuk, és

vákuumban 50°C-on szárítjuk. Így 320 mg cím szerinti vegyületet kapunk.

1. példa

38-Dekarboxi-38-(hidroximetil)-teikoplanin A₂ 2.komponens
[HM-CTA/2] [(I) általános képletű vegyület, amelyben X =
-CH₂OH; R = 8-metil-nonanoil-β-D-glükózaminil-csoport;
R₁ = N-acetil-β-D-glükózaminil-csoport; R₂ = α-D-mannozil-
-csoport; R₃ = hidrogénatom]

18 g (kb. 9 mmol), az előző B) eljárással előállított
N¹⁵-terc-BOC-CTA/2 metil-észter 1 liter vízzel készült
szuszpenziójához keverés közben 800 ml butanol:dietil-éter =
1:1 térfogatarányú elegyet (a habzás meggátlására), majd 60
perc alatt 54 g (kb. 1,45 mol) nátrium-bór-hidrid pasztillát
adunk. A keverést még 5 órán át szobahőmérsékleten folytat-
juk, majd 100 ml ecetsav 100 ml butanollal készült oldatát
adjuk lassan az elegyhez hűtés közben, 20°C-on. A dietil-
-éter nagy részét lepároljuk, és a kapott elegyet 1 liter
butanollal extraháljuk. A szerves réteget 2 x 500 ml vízzel
mossuk, majd csökkentett nyomáson, 50°C-on kb. 150 ml-re
bepároljuk. A maradékhoz 850 ml dietil-étert adunk és a
kivált szilárd anyagot (kb. 15 g) összegyűjtjük, majd 100 ml
vízmentes trifluor-ecetsavban újra oldjuk. Az oldathoz
2 perc eltelte után 100 ml metanolt, majd 800 ml dietil-
-étert adunk, a kivált szilárd anyagot összegyűjtjük, és
gyorsan 500 ml víz:acetonitril = 9:1 térfogatarányú elegyben
oldjuk. A kapott oldatot 1 N nátrium-hidroxiddal pH 7-re
semlegesítjük, majd 750 g szilanizált szilikagél vizes

szuszpenziójával töltött oszlopra visszük. Az oszlopot acetonitril és 0,1 N ecetsav 10 %-tól 80 %-ig változó mennyiségű acetonitrilt tartalmazó lineáris gradiens elegyével eluáljuk 18 órán át, az átfolyási sebesség kb. 200 ml/óra, és 20 ml-es frakciókat szedünk. A tiszta, cím szerinti vegyületet tartalmazó frakciókat bepároljuk, és annyi butanolt adunk hozzá, hogy a kapott elegyet 40°C-on, vákuumban bepárolva 100 ml száraz butanolos szuszpenziót kapjunk. A szuszpenziót 400 ml dietil-éterrel elegyítjük, a kivált szilárd anyagot összegyűjtjük, 500 ml dietil-éterrel mossuk, és aztán vákuumban, szobahőmérsékleten egy éjszakán át szárítjuk. Így 10,2 g cím szerinti vegyületet kapunk szabad bázis formájában.

2. példa

38-Dekarboxi-38-(hidroxi-metil)-teikoplanin pszeudoaglikon 1 [HM-TB] [(I) általános képletű vegyület, amelyben X = -CH₂OH; R = H; R₁ = N-acetil-β-D-glükózaminil-csoport; R₂ = α-D-mannozil-csoport; R₃ = hidrogénatom]

500 mg (kb. 0,26 mmol), az 1. példában leírt módon előállított HM-CTA/2 5 ml trifluor-ecetsavval készült oldatát szobahőmérsékleten 90 percre keverjük, majd az oldószert csökkentett nyomáson, szobahőmérsékleten lepároljuk. Az olajos maradékot 20 ml vízben oldjuk. A kapott oldat pH-ját 1 N nátrium-hidroxiddal 8,0-ra állítjuk, és a kivált szilárd anyagot összegyűjtjük. A terméket egy éjszakán át 35°C-on vákuumban szárítjuk, így 360 mg cím szerinti vegyületet kapunk szabad bázis formájában.

3. példa

38-Dekarboxi-38-(hidroximetil)-teikoplanin pszeudoaglikon 2 [HM-TC] [(I) általános képletű vegyület, amelyben X = -CH₂OH; R₁ = R₂ = hidrogénatom; R₃ = N-acetil-β-D-glükózaminil-csoport; R₄ = hidrogénatom]

1 g (kb. 0,52 mmol), az 1. példában leírt módon előállított HM-CTA/2 50 ml 1,2-dimetoxi-etánnal készült oldatába 24 órán át száraz hidrogén-klorid-gázt buborékoltatunk. Az oldatlan terméket szűréssel összegyűjtjük, és fordított fázisú oszlopkromatográfiás eljárással tisztítjuk, ahogy azt korábban a HM-CTA/2 előállításánál leírtuk. Így 180 mg cím szerinti vegyületet kapunk szabad bázis formájában.

4. példa

38-Dekarboxi-38-(hidroximetil)-deglükoteikoplanin [HM-TD] [(I) általános képletű vegyület, amelyben X = -CH₂OH; R = R₁ = R₂ = R₃ = hidrogénatom]

2 g (kb. 1,5 mmol), az előző D) eljárásban leírt módon előállított N¹⁵-terc-BOC-TD-metil-észter 100 ml etanol:víz = 1:1 térfogatarányú eleggyel készült oldatához keverés közben, szobahőmérsékleten 8 g (kb. 0,21 mol) nátrium-bór-hidrid pasztillát adunk részletekben, 4 óra alatt. 100 ml metanol hozzáadása után az elegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd hűtés közben 25 ml ecetsavat csepegtetünk hozzá 20°C-on. A kapott oldatot 250 ml vízzel hígítjuk, és 30 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves oldatot 30°C-on, csökkentett nyomáson bepároljuk kb. 50 ml-re. 450 ml dietil-éter hozzáadásakor szilárd csapadék válik ki, amelyet ösz-

szegyűjtünk, és fordított fázisú oszlopkromatográfiás eljárással tisztítunk. Eluálószerként acetonitril és 0,001N sósav 10 %-tól 50 %-ig változó mennyiségű acetonitrilt tartalmazó lineáris gradienselegyét használjuk. Kb. 1,4 g cím szerinti vegyületet kapunk hidroklorid alakjában, amelyet aztán 40 ml vízben oldunk. A kapott oldat pH-ját 1 N nátrium-hidroxiddal 8,5-re állítjuk, és a kivált szilárd anyagot összegyűjtjük, és vákuumban, 40°C-on egy éjszakán át szárítjuk. Így 1,15 g HM-TD-t kapunk szabad bázis formájában.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-teikoplanin-származékok, a képletben

X hidroximetil-csoport;

R hidrogénatom vagy N-[(9-12 szénatomos)alifás-acil]- β -D-2-deoksi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R₁ hidrogénatom vagy N-acetil- β -D-2-deoksi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R₂ hidrogénatom vagy α -D-mannopiranozil-csoport;

R₃ hidrogénatom vagy amino-védőcsoport;

és a vegyületek savaddíciós sói; azzal a megkötéssel, hogy R₁ csak akkor hidrogénatom, amikor R és R₂ egyidejűleg hidrogénatomot jelent.

2. Az 1. igénypont szerinti olyan vegyületek, amelyekben az R helyettesítőben a 9-12 szénatomos alifás acilcsoport a következők egyike:

(Z)-4-decenoil-, 8-metil-nonanoil-, dekanoil-, 8-metil-dekanoil-, 9-metil-dekanoil-, 6-metil-oktanoil-, nonanoil-, 10-metil-undekanoil- és dodekanoilcsoport.

3. Az 1. igénypont szerinti olyan vegyület, amelyben X hidroximetil-csoport, R 8-metil-nonanoil- β -D-glükozaminil-csoport, R₁ N-acetil- β -D-glükozaminil-csoport, R₁ α -D-mannozil-csoport és R₃ hidrogénatom.

4. Az 1. igénypont szerinti olyan vegyület, amelyben X hidroximetil-csoport, R hidrogénatom, R₁ N-acetil- β -D-

glükózaminil-csoport, R_2 α -D-mannozil-csoport és R_3 hidrogénatom.

5. Az 1. igénypont szerinti olyan vegyület, amelyben X hidroximetil-csoport, R, R_2 és R_3 jelentése hidrogénatom és R_1 N-acetil- β -D-glükózaminil-csoport.

6. Az 1. igénypont szerinti olyan vegyület, amelyben X hidroximetil-csoport és R, R_1 , R_2 és R_3 hidrogénatom.

7. Eljárás az 1. igénypont szerinti 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-származékok előállítására, azzal jellemezve, hogy egy (II) általános képletű vegyületet, amelyben

R_4 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R hidrogénatom vagy N-[(9-12 szénatomos)alifás acil]- β -D-2-deoksi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R_1 hidrogénatom vagy N-acetil- β -D-2-deoksi-2-amino-glükopiranozil-csoport;

R_2 hidrogénatom vagy α -D-mannopiranozil-csoport;

R_3 amino-védőcsoport,

vagy savaddíciós sóját, azzal a megkötéssel, hogy R_1 csak akkor hidrogénatom, amikor R és R_2 egyidejűleg hidrogénatomot jelent, valamely alkálifém-bór-hidriddel, előnyösen nátrium-bór-hidriddel, kálium-bór-hidriddel vagy nátrium-ciano-bór-hidriddel 0 és 40°C közötti hőmérsékleten, víz vagy víz és egy vízzel elegyedő szerves társoldószer elegyében redukatív hidrolitikus reakcióba viszünk;

b) kívánt esetben egy (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-vegyületet, amelyben R, R_1 és R_2 egy fentebb meghatározott cukorrészt jelent, erős, tömény vizes

szerves savval végzett kontrollált savas hidrolízis útján egy megfelelő olyan vegyületté alakítunk, amelyben R_1 és R_2 jelentése a fenti, és R hidrogénatom; vagy

c) kívánt esetben egy olyan (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-vegyületet, amelyben R, R_1 és R_2 egy fentebb meghatározott cukorrészt jelent, vagy R hidrogénatom és R_1 és R_2 egy fentebb meghatározott cukorrészt jelent, erős savval, szobahőmérsékleten folyadék halmazállapotú poláros aprotikus oldószer, így éterek, ketonok és ezek elegyei jelenlétében végzett szelektív hidrolízissel a megfelelő, olyan (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-vegyületté alakítunk, amelyben R és R_2 hidrogénatom és R_1 a fentebb megadott cukorrészt jelenti; vagy

d) kívánt esetben egy olyan (I) általános képletű 38-dekarboxi-38-(hidroximetil)-vegyületet, amelyben R, R_1 és R_2 egy fentebb meghatározott cukorrész, vagy egy olyan (I) általános képletű 38-(hidroximetil)-vegyületet, amelyben R és R_2 hidrogénatom és R_1 egy fentebb meghatározott cukorrész, szerves protikus oldószerként alifás savakban és α -halogénezett alifás savakban, amelyek a reakció hőmérsékletén folyadékok, alifás és cikloalifás alkanolokban, amelyek a reakció hőmérsékletén vízzel kevésbé elegyedő folyadékok, fenilcsoporttal helyettesített kevés szénatomos alkanolokban, amelyekben a fenilcsoport adott esetben 1-4 szénatomos alkilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicsoporttal vagy halogénatommal helyettesített és a vegyületek a reakció hőmérsékletén vízzel alig elegyednek, vagy β -polihalogénezett kevés

szénatomos alkanolokban, amelyek a reakció hőmérsékletén folyadékok, erős, az oldószerrel kompatibilis savként erős ásványi savakkal, erős szerves savakkal és erősen savas, hidrogénformában levő ioncserélő gyantákkal 20 és 100°C közötti hőmérsékleten végzett szelektív hidrolízissel olyan megfelelő (I) általános képletű vegyületté alakítunk, amelyben R és R₂ hidrogénatom és R₁ a fentebb meghatározott cukor-rész.

8. A 7. igénypont a) lépése szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyekben R, R₁ és R₂ hidrogénatom, azzal jellemezve, hogy oldószerként víz és egy vízzel elegyedő társoldószer elegyét, előnyösen vizes alkoholos közeget használunk, amelyben az alkohol kevés szénatomos alkanol, és a víz és alkanol aránya 90:10 és 40:60 között változik.

9. A 8. igénypont szerinti [a) lépés] eljárás, amelyben a víz és alkanol aránya 70:30 és 50:50 térfogatarány között változik.

10. A 7-9. igénypontok [a) lépés] szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy kis mennyiségben egy további szerves poláris társoldószert is adunk a reakcióelegyhez.

11. A 7-10. igénypontok [a) lépés] szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakciót szobahőmérsékleten és 10 és 48 óra közötti ideig végezzük.

12. A 7-11. igénypontok [a) lépés] szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakcióelegy pH-ja lúgos, előnyösen 8 és 10 közötti, és az alkálifém-bór-hidrid és a kiindulási

antibiotikum mólaránya 50 és 300 közötti.

13. A 7-12. igénypontok [a) lépés] szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy N-védőcsoportként 1,1-dimetilpropinil-oxi-karbonil-, terc-butil-oxi-karbonil-, vinil-oxi-karbonil-, allil-oxi-karbonil-, cinnamil-oxi-karbonil-, 4,5-difenil-3-oxazolin-2-on-, benzil-oxi-karbonil-, p-nitro-benzil-oxi-karbonil-, 3,4-dimetoxi-6-nitro-benzil-oxi-karbonil-, 2,4-diklór-benzil-oxi-karbonil-, 5-benzizoxazolil-metil-oxi-karbonil-, 9-antril-metil-oxi-karbonil-, difenil-metil-oxi-karbonil-, izonikotinil-oxi-karbonil-, S-benzil-oxi-karbonil- és hasonló oxi-karbonil-csoportokat tartalmazó karbamátképző reagenssel kialakított csoportokat alkalmazunk.

14. A 7. igénypont b) lépése szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a tömény sav 75 és 95 % közötti töménységű vizes trifluor-ecetsav, és a reakcióhőmérséklet 10 és 50°C közötti.

15. A 7. igénypont c) lépése szerinti kívánt esetben végzendő eljárás, azzal jellemezve, hogy az erős sav tömény ásványi sav.

16. A 15. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az oldószer dimetoxi-etán, és a reakcióhőmérséklet szobahőmérséklet körüli.

17. A 7. igénypont d) lépése szerinti kívánt esetben végzendő eljárás, azzal jellemezve, hogy az erős sav ásványi sav, az oldószer β -polihalogénezett kevés szénatomos alkanol és a hidrolízist 65 és 85°C közötti hőmérsékleten végezzük.

18. Az 1. igénypont szerinti vegyültek gyógyszerként való alkalmazása.

19. Az 1. igénypont szerinti vegyületek antibakteriális, előnyösen Staphylococcus klinikai izolátumai ellen ható gyógyászati készítmények előállítására való alkalmazása.

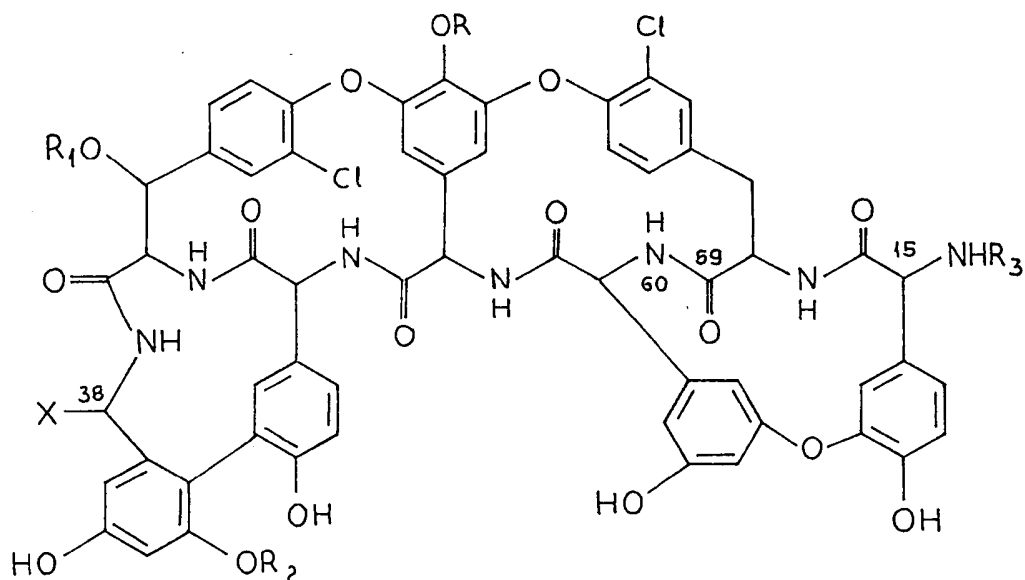
20. Gyógyászati készítmény, amely 1. igénypont szerinti vegyületet gyógyászatilag elfogadható hordozóval együtt tartalmaz.

A meghatalmazott:

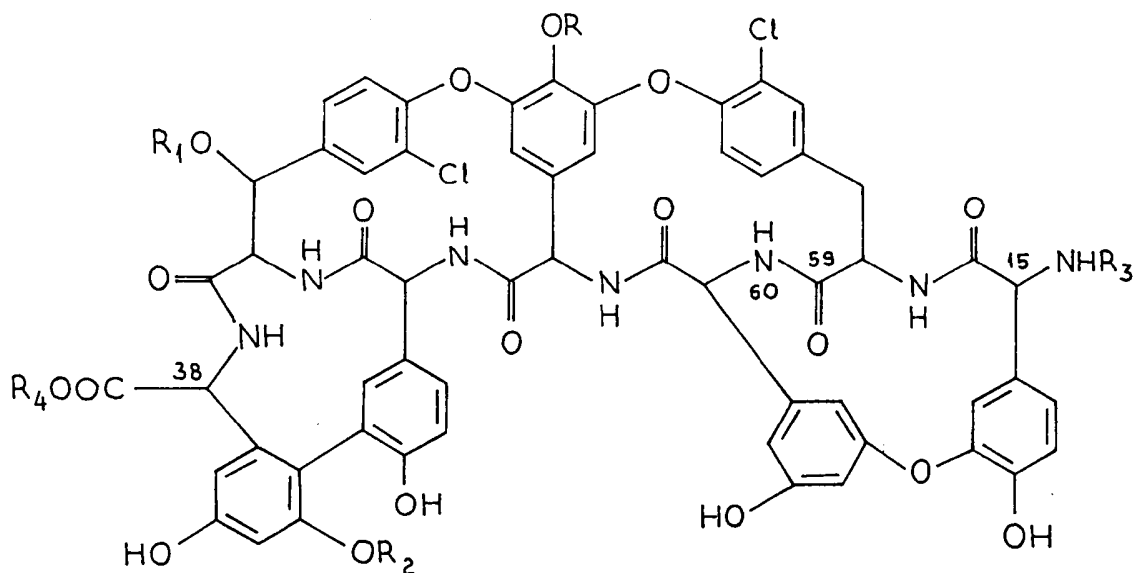
Dérysi Katalin
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G./S.K. Budapesti Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1061 Budapest, Dalszínház u. 10.
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

1. melléklet

1/1



(I)



(II)