

(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

201561 B

(51) Int. Cl.⁵

C 07 H 17/08
A 61 K 31/70

(22) Bejelentés napja: 1987.02.02. (21) 5117/88

(30) Bejelentés elsőbbsége:
(824,911) 1986.02.03. US

(40) Közzététel napja: 1987.09.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1990.11.28.

(72) Feltalálók:

BONJOUKLIAN Rosanne, Zionsville,
DEBONO Manuel,
KIRST Herbert Andrew, Indianapolis,
WIND Julie Ann, Greenwood,
Indiana, (US)

(73) Szabadalmaz:

Eli Lilly and Company,
Indianapolis, Indiana, (US)

(54) ELJÁRÁS [9-(N-ALKIL)-ERITROMICIL-AMIN]- -FORMALDEHID ADDUKTOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás (2) általános képletű /9-(N-alkil)-eritromicil-amin/-formaldehid adduktok, valamint sóik előállítására. A (2) általános képletben

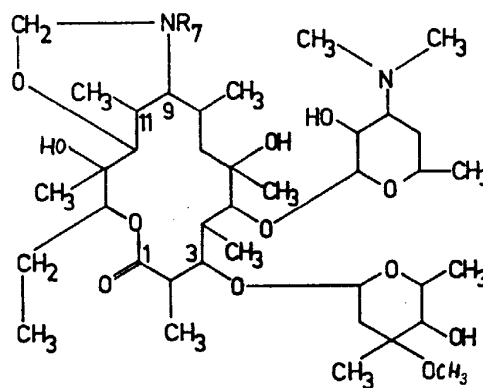
R₃ jelentése hidroxilcsoport vagy hidrogénatom,

R₄ jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport, és

R₇ jelentése fenil-(1-4 szénatomos)-alkil-csoport, 3-7 szénatomos cikloalkilcsoport vagy adott esetben di-(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal szubsztituált 1-7 szénatomos alkilcsoport.

A (2) általános képletű vegyületeknek és sóiknak széles spektrumú antibakteriális hatásuk van elsősorban Gram-pozitív baktériumok ellen. A találmány kiterjed a hatóanyagként (2) általános képletű vegyületeket vagy sóikat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására is.

Az új vegyületek ezenkívül értékes közti-termékek más eritromicil-amin-származék antibiotikumok előállítása során.



HU 201561 B

A leírás terjedelme: 6 oldal, 2 rajz, 3 ábra

A találmány tárgya eljárás az eritromicil-amin olyan új, 9-N-szubsztituált származékainak előállítására, amelyek szájon át adagolva is hatásosak Gram-pozitív mikroorganizmusokkal szemben, és így az ezek által okozott fertőzések kezelésében igen hasznosak. Az új származékok hatásosabbak az eritromicil-aminnál, és továbbalakíthatók egyéb aktív vegyületekké is. A találmány tárgyát képezi az új származékokat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítása is.

A találmány szerinti új vegyületek a (2) általános képlettel jellemezhetők, ahol R₇ fenil-(1-4 szénatomos)-alkil-csoport, 3-7 szénatomos cikloalkilcsoport, vagy adott esetben di-(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal szubsztituált 1-7 szénatomos alkilcsoport.

A találmány szerinti vegyületekből sók is képezhetők.

A (2) általános képletben sztereokémiai megjelölések nem szerepelnek, a vegyületek azonban térszerkezetükben megfelelnek azon antibiotikumok térszerkezetének, amelyekből előállítjuk őket; a 9-amino-csoport térszerkezete megegyezik az eritromicil-aminéval, azaz a 9-amino- és a 11-hidroxil-csoportok a lak-tongyűrű ugyanazon oldalán helyezkednek el.

Ismeretes, hogy az eritromicil-aminok ketonokkal és aromás aldehidekkel a megfelelő Schiff-bázisok képződése közben kondenzálhatók. Ha azonban az eritromicil-aminokat alifás aldehidekkel kondenzálták, a megfelelő Schiff-bázis nem képződött, helyette egy oxazin származékot nyertek (lásd például Kitchell és Gerzon, 3 681 322 számú USA-beli szabadalmi leírás). Kitchell és Gerzon szerint az oxazin a 6-szénatom hidroxilcsoportját tartalmazza, de lehetőség van váltakozva a 11- és 12-szénatomok hidroxilcsoportjainak részvételére is (lásd a 3 681 322 számú USA-beli szabadalmi leírás 2. hasábját). Később nyilvánvalóvá vált, hogy Kitchell és Gerzon vegyületei a 11-szénatom hidroxilcsoportját tartalmazzák a (6) általános képlet szerint.

Kitchell és Gerzon munkássága nyomán Maier és mások úgy találták, hogy az alifás aldehidek egy még szélesebb köre nem Schiff-bázist képez, hanem oxamin-származékokat (lásd 4 048 306 számú USA-beli szabadalmi leírás).

Felismertük, hogy az eritromicil-amin monoalkil-származékait formaldehiddel reagáltatva a (2) általános képletű vegyületek metilén-hidas származékait nyerhetjük. Ezek a vegyületek az eritromicil-amin első 9-N-diszubsztituált származékainak tekinthetők. A formaldehiden kívül más aldehidek csak nagyon gyengén, vagy egyáltalán nem reagálnak az eritromicil-aminok monoalkil-származékaival.

A találmány értelmében tehát a (2) általános képletű vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy (2a) általános képletű vegyületet,

amelyben R₇ jelentése a fenti, formaldehiddel reagáltatunk.

Jellegzetes (2) általános képletű vegyületeket mutat az I. táblázat.

I. TÁBLÁZAT

Jellegzetes (2) általános képletű vegyületek

Vegyület sorszáma	R ₇
58.	iPr
59.	Pr
60.	ciklopentil
61.	ciklohexil
62.	benzil
63.	5-dimetil-amino-2-pentil

A találmány tárgyát képező új származékok patogén baktériumok, különösen a Gram-pozitív baktériumok és a Gram-negatív coccus-ok (például a Haemophilus influenzae) széles spektrumának növekedését gátolják. A II. táblázatban azokat a legkisebb gátló koncentrációkat (MIC) foglaltuk össze, amelyeknél ezek a vegyületek a standard agar-hígításos meghatározás alapján bizonyos organizmusokat gátolnak.

II. TÁBLÁZAT

Egyes (2) általános képletű vegyületek antibiotikus aktivitása

Organizmus	Vegyület sorszáma ^b				
	58	59	60	62	63
Staphylococcus aureus X1.1	1	0,25	1	1	8
Staphylococcus aureus V41 ^c	- ^h	8	-	64	-
Staphylococcus aureus X400 ^d	-	8	-	128	-
Staphylococcus aureus S13E	1	0,125	2	1	8
Staphylococcus epidermidis EPI1	128	-	-	64	-
Staphylococcus epidermidis 222	0,5	0,125	1	0,5	8
Streptococcus pyogenes C203	0,125	<0,008	0,125	0,125	0,5
Streptococcus pneumoniae Park I	0,06	<0,008	0,06	0,06	0,5
Streptococcus sp. csoport D X66	0,25	0,125	0,5	0,5	2
Streptococcus sp. csoport D 2041	4	1	8	4	32
Haemophilus influenzae C.L. ^e	4	1	4	4	8
Haemophilus influenzae 76 ^f	4	2	4	4	8
Escherichia coli EC14	32	32	64	-	32
Klebsiella pneumoniae X68	64	128	64	-	128

^a MCG [mcg/ml]^b a II-III. táblázatban levő vegyület sorszáma^c Penicillin-rezisztens törzs^d Meticillin-rezisztens törzs^e Ampicillin-érzékeny törzs^f Ampicillin-rezisztens törzs^h =>128

Az eritromicinre érzékeny baktériumokkal szemben tanúsított kiváló in vitro aktivitásuk mellett ezen új sorozat több tagja in vitro körülmények között az eritromicin-rezisztens törzsekkel szemben is aktivitást mutatott. Ilyenek például az eritromicinre indukáltan rezisztens *S. aureus* V41 and X400 és *S. epidermidis* EPI1 törzsek, sőt még az erendően (konstitutíven) rezisztens törzsek, például *S. epidermidis* 270 is.

A találmány szerinti új származékok in vivo miróbaellenes aktivitást is mutatnak ki-

sérletileg bakteriális fertőzésekkel szemben. Kísérletileg fertőzött egereknek a vizsgált vegyület két adagnyi mennyiségét beadva a megfigyelt aktivitást ED₅₀ értékben kifejezve mértük.

[ED₅₀ érték jelentése: Effektiv Dózis (hatásos adag) mg/kg-ban, mely a tesztállatok 50%-ánál védelmet biztosított, lásd Warren Wick és munkatársai, J. Bacteriol 81, 233-235 (1961)].

A III. és IV. táblázat néhány származéknál megfigyelt ED₅₀-értékeket tüntet fel.

45

III. TÁBLÁZAT

Gram-pozitív baktériumok által kiváltott kísérleti fertőzésekkel szemben mért ED₅₀-értékek eritromicil-amin-származékok szubkután alkalmazása esetén

A vegyület sorszáma ^a	Fertőző organizmus		
	Staphylococcus aureus	Streptococcus pyogenes	Streptococcus pneumoniae
58.	>104,5 ^b	NT ^c	NT
60.	5,0	NT	NT

^a vegyület sorszáma az I. táblázat alapján^b két teszt eredménye^c nem vizsgált

IV. TABLÁZAT

Gram-pozitív baktériumok által kiváltott kísérleti fertőzésekkel szemben mért ED₅₀-értékek eritromicil-amin-származékok orális alkalmazása esetén

A vegyület sorszáma ^a	Staphylococcus aureus	Streptococcus pyogenes	Streptococcus pneumoniae
58.	9,4, 9,1, 4,0 ^c	6,7	5,7
59.	7,2	4,8	5,0
60.	>50, 15,7, 38,6	10,2	9,0
62.	>50, >50, 46	15,6	15,2

^a vegyület sorszáma az I. táblázat alapján

^c három teszt eredménye

A (2) általános képletű vegyületeket és/vagy sóikat tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására szintén a találmány tárgyát képezi. A vegyületek - lehetőleg gyógyászatilag elfogadható só formájában - orális (szájon át történő) és parenterális (gyomor- és bélrendszeren kívüli) úton beadható készítmények alakjában készíthetők a bakteriális fertőzések terápiás vagy profilaktikus kezelésére. Egy találmány szerint előállítható készítmény tartalmazhat például hatóanyagként egy (2) általános képlettel megadott vegyületet és emellett egy vagy több gyógyászatilag elfogadható vivőanyagot, hordozót vagy hígítószeret, és kiszerezhetjük külsőleg alkalmazható oldatok, tabletták, kapszulák, elixír, szuszpenzió, szirup, ostya és hasonló formájában. A találmány tárgyát képező vegyületeket magukba foglaló készítmények a hatóanyagok körülbelül 0,1-90 tömeg%-ban tartalmazhatják, de ez az arány általában inkább 10-30% között van. A készítményekben lehetnek olyan gyakori vivőanyagok és hordozók, mint a kukoricakeményítő, zselatin, laktóz, szukroz, mikrokristályos cellulóz, kaolin, mannitol, dikalcium-foszfát, nátrium-klorid és algininsav. A találmány szerint előállítható készítményekben gyakorta alkalmazott dezintegrátorok többek között croscarmellose-nátrium, mikrokristályos cellulóz, kukoricakeményítő, nátrium keményítő-glikolat és algininsav. Tabletta kötőanyagként használhatók a gumiarábikum, metilcellulóz, nátrium karboximetilcellulóz, polivinil-pirrolidon (Povidon), hidroxipropil metilcellulóz, szacharóz, keményítő és etilcellulóz. Kenőanyagként alkalmazhatók a magnézium-sztearát vagy más fém-sztearátok, sztearinsav, folyékony szilikon, hintőpor, viasz, olaj és a kolloidális szilika. Ízanyagok, mint a borsmenta, gaulteria-olaj, cseresznyeiz vagy bármi hasonló szintén alkalmazhatók. Kíváncos lehet színezőanyagok hozzáadása is a készítmény esztétikusabbá tétele és jobb megkülönböztethetősége érdekében.

Intravénás (IV) alkalmazás esetén a vegyület vízoldható formáját oldjuk valamelyik

gyakorta alkalmazott intravénás folyadékba és infúzióval juttatjuk a szervezetbe. Ilyen folyadékok, például a fiziológiás konyhasóoldat, a Ringer-oldat vagy 5%-os dextrózoldat.

Intramuszkuláris készítményekhez a vegyület megfelelő oldható steril sóját, például a sósavas sóját, egy megfelelő gyógyászati hígítószerben például desztillált vízben, fiziológiás konyhasóoldatban vagy 5% glükózban oldjuk, majd beadjuk. A vegyület megfelelő oldhatatlan formáját szuszpenzió formájában - vizes bázisban vagy egy gyógyászatilag elfogadható olajos bázisban, például hosszú szénláncú zsírsav észterében (etil-oleát) készíthetjük el és alkalmazhatjuk.

Orális (szájon át történő) adagoláshoz a szilárd készítmények, például a tabletták és kapszulák különösen alkalmasak. Retard hatású vagy csak belől felszívódó készítmények szintén tervezhetők. Gyermekgyógyászati és időskori alkalmazás esetén a szuszpenziók, szirupok és az elrágható tabletták a legmegfelelőbbek.

Másrészről, az antibiotikum egységadagja előállítható úgy is, hogy a vegyületet vagy még inkább annak sóját megfelelő oldószerben oldva egy steril, hermetikusan szigetelt ampullába zárjuk. Az egységadagban lévő antibiotikum koncentrációja kb. 1-50%-ig változhat az alkalmazott vegyület minőségétől, oldhatóságától és az orvos által szükségesnek tartott adag mértékétől függően.

A találmány szerinti vegyületek alkalmazhatók a Gram-pozitív mikroorganizmusok okozta különösen fertőző betegségek kezelésére, kézbe tartására és megelőzésére állatok esetében oly módon, hogy a melegvérű állatot a találmány tárgyát képező vegyület hatásos adagjával kezeljük. Hatásos adag általában kb. 0,1 - kb. 100 mg/kg a vegyületre vagy annak gyógyászatilag elfogadható sójára számolva. Előnyös adag kb. 1 - kb. 30 mg/kg vegyületenként. Egy általános napi adag felnőtt ember számára kb. 100 mg - kb. 1,0 g.

A kezelés során, az antibiotikum napi egyetlen adagban, vagy többszöri adagokban egyaránt beadható; esetenként szükség lehet

hosszabb ideig tartó adagolásra, több napig vagy két-négy hétig tartó kezelésre. Az egyszeri adag mennyisége vagy a teljes beadott mennyiség különféle tényezők függvénye, mint például a fertőzés természete és súlyossága, a beteg kora és általános egészségi állapota, az antibiotikummal szembeni tűrőképessége és a fertőzést okozó mikroorganizmusok jellege.

Alkalmas kezelési eljárás az antibiotikum orális adagolása tabletták, kapszulák, szuszpenzió, szirup és hasonló formájában. Az adagolás történhet azonban más módokon is, például kúp formájában vagy bél- és gyomortraktus megkerülésével, infúzióval, IV.

Az új, (2) általános képletű vegyületek továbbá értékes intermedierek más eritromicin-amin-származékok előállításánál; köztük a T/43086 számon közzétett magyar szabadalmi bejelentés ismerteti.

A következő nem korlátozó példák a találmány további illusztrálását szolgálják. Ahol másképpen nem jelöltük, a reakciókat szilikagél lapokon (E. Merck lapok), vékonyréteg-kromatográfiával (VRK-TLC) követtük, diklór-metán/metanol/ammónium-hidroxid rendszer (90:10:2; 90:10:1 vagy 90:10:0,5, arányban) alkalmazásával, jódos vagy áizsaldehides előhívással. Hasonló rendszerek, például ahol a diklór-metánt kloroform, vagy a metanolt etanol helyettesíti szintén alkalmazhatók. Az eritromicilamint Wildsmith [Tetrahedron Letters (1972), 29], az N-alkil-eritromicilaminokat pedig Wildsmith és munkatársai [J. Med. Chem., 16, 1059 (1973)] módszerei alapján állítottuk elő. A példák eritromicin-A származékok előállítására vonatkoznak.

1. példa

Az eritromicin 9-dezoxo-9-[izopropil-amino]-9,11-(N,O)-ciklikus metilén adduktja (58. vegyület)

N-izopropil-eritromicilamint (2,7 g, 3,5 mmól) melegítés közben 25 ml acetonitrilben oldunk, 1,8 ml 37%-os vizes formaldehidet adunk hozzá, és az elegyet további 2 órán keresztül kevertetjük. A TLC (vékonyréteg-kromatográfia, továbbiakban VRK) szerint az átalakulás teljes. Az oldószert vákuumban bepároljuk és a maradékot dietil-éterben oldjuk. Ezt az oldatot telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepárolva a cím szerinti vegyület 2,3 g-ját nyerjük fehér hab formájában. (Kitermelés: 83%).
FDMS (térdeszorpciós tömegspektrometria): $m/z=788$ ($M^+ + H$).
Proton NMR: N-CH₂O kémiai eltolódásának értéke, delta = 4,62 [C-9-helyettesítő -N(CH₂-O-11)(iPr)].

2. példa

Az eritromicin 9-dezoxo-9-[benzil-amino]-9,11-(N,O)-ciklikus metilén adduktja (62. vegyület)

N-benzil-eritromicilamint (1,0 g, 1,2 mmól) keverés közben 10 ml acetonitrilben oldunk, 0,4 ml 37%-os vizes formaldehidet adunk hozzá és az elegyet szobahőmérsékleten további 4,25 óráig kevertetjük. A képződő fehér szilárd terméket összegyűjtjük, acetonitrillel mossuk és egy éjszakán át vákuum alatt szárítva a cím szerinti vegyület 220 mg-ját nyerjük 22%-os kitermeléssel, fehér szilárd anyag formájában.
FDMS: $m/z=836$ ($M^+ + H$).
Proton NMR: N-CH₂-O kémiai eltolódások értéke, delta = 4,36 [C-9-helyettesítő -N(CH₂-O-11) (benzil)].

3. példa

Az eritromicin 9-dezoxo-9-[ciklopentil-amino]-9,11-(N,O)-ciklikus metilén adduktja (60. vegyület)

N-ciklopentil-eritromicilamint (1,3 g, 1,6 mmól) 10 ml etanolban oldunk, 0,5 ml 37%-os vizes formaldehidet adunk hozzá és az elegyet szobahőmérsékleten kevertetjük. Mivel VRK szerint 24 és 48 óra elmúltával sem teljes az átalakulás, további 0,5-0,5 ml formaldehidet adunk az elegyhez. Három nap után a VRK teljes átalakulást mutat. Az oldószert bepároljuk, a maradékot dietil-éterben oldjuk és vízzel mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepárolva a cím szerinti vegyület 1,1 g-ját nyerjük 85%-os kitermeléssel, fehér hab formájában.
FDMS: $m/z=814$ ($M^+ + H$).
Proton NMR: N-CH₂-O kémiai eltolódások értéke, delta=4,64 [C-9-helyettesítő -N(CH₂-O-11) (ciklopentil)].

4. példa

Az eritromicin 9-dezoxo-9-[5-dimetil-amino]-2-pentil/-amino]-9,11-(N,O)-ciklikus metilén adduktja (63. vegyület)

N-5-(dimetil-amino)-2-pentil/-eritromicilamint (1,0g, 1,1 mmól) 5 ml acetonitrilben oldunk, 0,5 ml 37%-os vizes formaldehidet adunk hozzá és az elegyet szobahőmérsékleten 3 napig kevertetjük. Az oldószert vákuumban bepároljuk és a maradékot diklór-metánban felvesszük, telített nátrium-hidrogén-karbonát oldattal mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepárolva egy fehér habot nyerünk. Ezt a habot Chromatatron kromatográfiával tovább tisztítjuk

(etil-acetát bevitel; lépcsős gradiens elúció metanol/etil-acetát keverékkel 1:9, 17:83 és 1:4 arányban) és így 50 mg cim szerinti vegyületet kapunk 5%-os kitermeléssel, fehér hab alakjában.

FDMS: $m/z=887$ ($M^+ + H$).

Proton NMR: $N-CH_2-O$ kémiai eltolódásának értéke, $\delta=4,59$ [C-9-helyettesítő $-N(CH_2-O-11)(5-diMeamino-2-pentil)$].

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (2) általános képletű [9-(N-alkil)-eritromicil-amin]-formaldehid adduktok -
5 a képletben
R₇ jelentése fenil-(1-4 szénatomos)-alkil-csoport, 3-7 szénatomos cikloalkilcsoport vagy adott esetben di-(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal szubsztituált 1-7 szénatomos alkilcsoport -
10 előállítására, azzal jellemezve, hogy egy (2a) általános képletű vegyületet - a képletben R₇ jelentése a tárgyi körben megadott - formaldehiddel reagáltatunk.
- 15 2. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy egy vagy több, az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (2) általános képletű vegyületet vagy annak gyógyászatilag elfogadható sóját - a
20 képletben a helyettesítők jelentése az 1. igénypont tárgyi körében megadott - a gyógyszer technológiában szokásos hordozó- és/vagy segédanyagokkal keverünk össze, és a keveréket gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.
25

Kiadja az Országos Találmányi Hivatal, Budapest
A kiadásért felel: dr. Szvoboda Gabriella osztályvezető
R-4967 - KJK

91.3520.66-13-2 Alföldi Nyomda Debrecen - Felelős vezető: Szabó Viktor vezérigazgató