



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU 68404**
UTLÄGGNINGSSKRIFT

SUOMI—FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

C (45) Patentti myönnetty 10 C9 1985
Patent meddelat

(51) Kv.lk./Int.Cl.⁴ C 07 H 17/08

(21) Patentihakemus — Patentansökning	830513
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	15.02.83
(23) Alkuperäpäivä — Giltighetsdag	03.02.78
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	15.02.83
(44) Nähtäväksiapanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.05.85
(86) Kv. hakemus — Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	04.02.77
01.12.77 USA(US) 765480, 856479	

(71) Pfizer Inc., 235 East 42nd Street, New York, New York 10017, USA(US)

(72) Frank Christian Sciavolino, New London, Connecticut, USA(US)

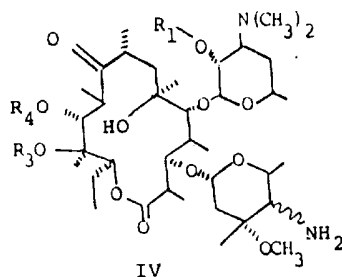
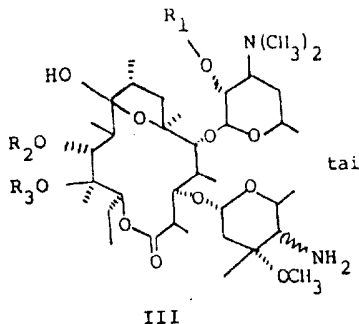
(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisten valmistamiseksi - Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 4"-deoxi-4"-aminoerytromycin-A-derivat

(62) Jakamalla erotettu hakemuksesta 780354 - Avdelad från ansökan 780354

(57) Tiivistelmä

Keksintö koskee uusien 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisten valmistusta, joiden kaava on



jossa R_1 ja R_4 tarkoittavat vetyatomia tai 2 - 3 hiiliatomia sisältävää alkanoyyliryhmää, R_2 on 2 - 3 hiiliatomia sisältävää alkanoyyliryhmää, R_3 on vetyatomi tai R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä

ryhmän $\text{--}\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{--}$ tai R_3 ja R_4 muodostavat yhdessä ryhmän $\text{--}\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{--}$. Keksintö koskee myös kaavojen III ja IV mukaisten yhdisteiden happoadditiosuolojen valmistusta. Kaavojen III ja IV mukaiset yhdisteet ja niiden happoadditiosuolat ovat terapeuttisesti käyttökelpoisia.

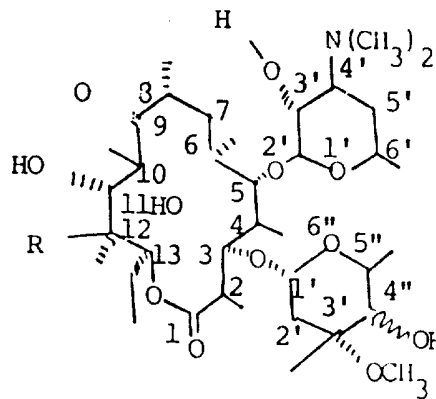
(57) Sammandrag

Uppfinningen avser framställning av nya 4"-deoxi-4"-aminoerytromycin-A-derivat med formeln III eller IV, vari R_1 och R_4 betecknar en väteatom eller en alkanoylgrupp med 2 - 3 kolatomer, R_2 är en alkanoylgrupp med 2 - 3 kolatomer, R_3 är en väteatom eller R_2 och R_3

bildar tillsammans gruppen $\text{--}\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{--}$ eller R_3 och

R_4 bildar tillsammans gruppen $\text{--}\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{--}$. Uppfinningen avser även framställning av syraadditionssalter av föreningarna med formlerna III och IV. Föreningarna med formlerna III och IV och deras syraadditionssalter är terapeutiskt användbara.

68404

Erytromysiini

A

 $\frac{R}{-OH}$

B

-H

Rakenekaavasta ilmenee, että antibiootti muodostuu kolmesta pääosasta, jotka ovat sokeriosa kladinoosi, toinen sokeriosa, joka sisältää emäksisen aminosubstituentin nimeltä desosamiini, ja 14-jäseninen laktonirengas, josta käytetään nimitystä erytronolidi A tai B tai seuraavassa makrolidirengas. Makrolidirenkaan numerointi on ilman pilkkuja, desosamiini-osassa käytetään yhtä pilkkua ja kladinoosi-osassa kahta pilkkua numeroissa.

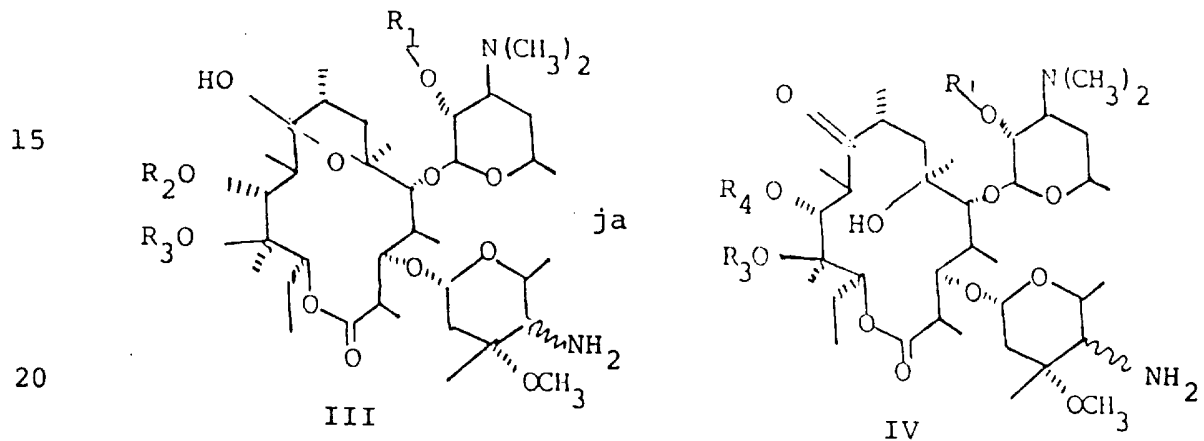
Erytromysiinistä on valmistettu lukuisia johdannaisia pyrittäessä modifioimaan sen biologisia tai farmakodynaamisia ominaisuuksia.

US-patenttijulkaisussa 3 417 077 on kuvattu erytromysiinin ja etyleenikarbonaatin reaktiotuotteen olevan erittäin aktiivinen antibakteerinen aine. US-patenttijulkaisussa 3 884 903 on esitetty käyttökelpoisina antibiootteina 4''-deoksi-4''-oksoerytromysiini A- ja B-johdannaisia.

Erytromysyyliamiini, erytromysiini-A:n 9-aminojohdannainen, on ollut laajan tutkimuksen kohteena [englantilainen patenttijulkaisu 1 100 505, Tetrahedron Letters, 1645 (1967) ja Croatica Chemica Acta, 39, 273 (1967)], ja sen rakenteesta on jonkin verran ristiriitai-

sia tietoja [Tetrahydron Letters, 157 (1970) ja englantilainen patenttijulkaisu 1 341 022]. US-patenttijulkaisussa 3 983 103 on ilmoitettu erytromysyliamiinin sulfonamidijohdannaisien olevan käyttökelpoisia antibakteerisia aineita. Myös muilla johdannaisilla on ilmoitettu olevan antibakteerista vaikutusta in vitro ja in vivo [Ryden, et al., J. Med. Chem., 16 1959 (1973) ja Massey, et al., J. Med. Chem., 17, 105 (1974)].

Nyt on keksitty, että tietyt uudet 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaiset ovat erinomaisia antibakteerisia aineita. Nämä yhdisteet ovat kaavojen



mukaisia ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja, joissa kaavoissa R_1 ja R_4 on kumpikin vety tai 2 - 3 hiiliatomia sisältävä alkanoyyli, R_2 on 2 - 3 hiiliatomia sisältävä alkanovety, tai R_2 ja R_3

ovat yhdessä $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-}$ ja R_3 ja R_4 ovat yhdessä $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-}$.

Näiden kemoterapeuttien edullisen yhdisteryhmän muodostavat kaavan III mukaiset yhdisteet. Erityisen edullisia tämän ryhmän yhdisteitä ovat sellaiset, joissa

R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä ryhmän $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-}$.

$$5 \quad \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$$

10



20

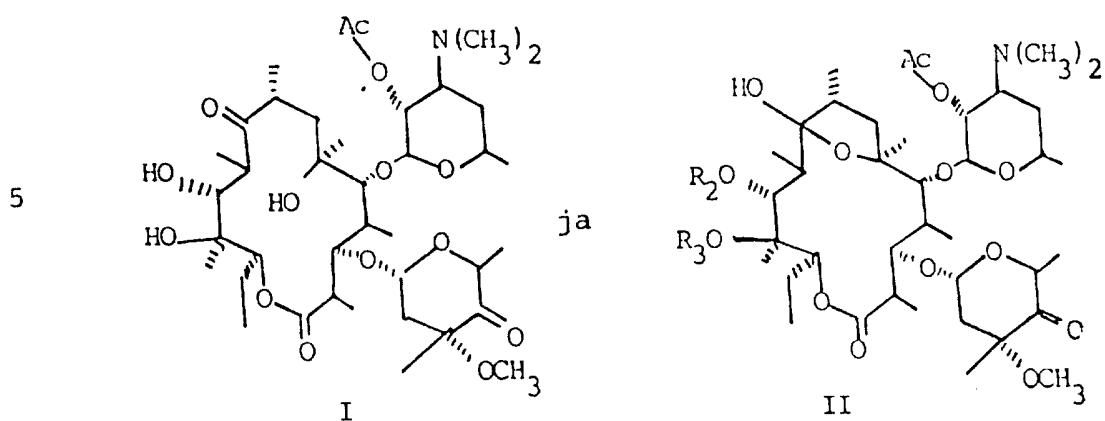
25

30

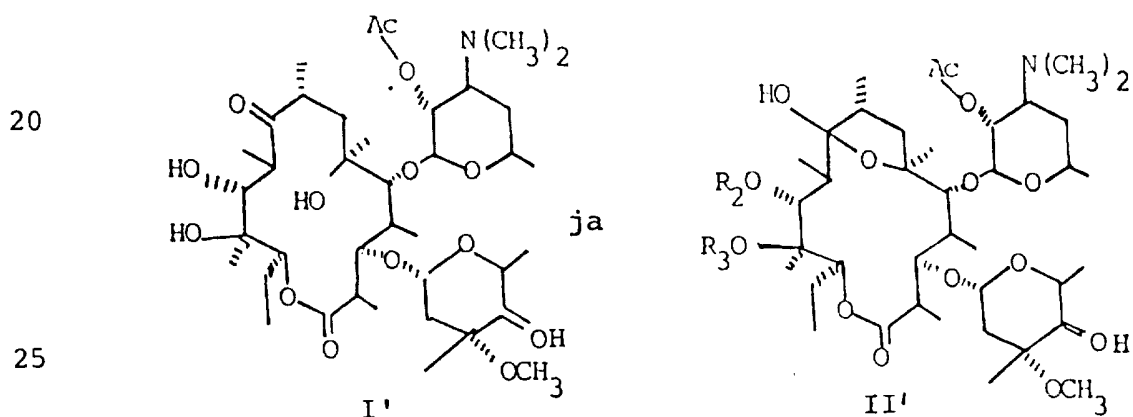
ovat sellaiset, joissa R_1 on asetyyli.

35

68404



joissa kaavoissa Ac ja R_2 ovat kumpikin 2 - 3 hiili-
 atomia sisältävä alkanoyyli, R_3 on vety tai R_2 ja R_3
 15 voivat yhdessä olla $\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--}$, jolle menetelmälle on tunnus-
 omaista, että kaavojen,

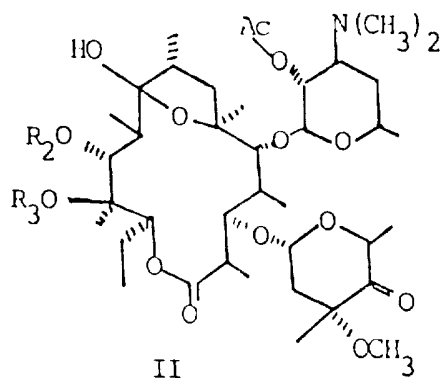
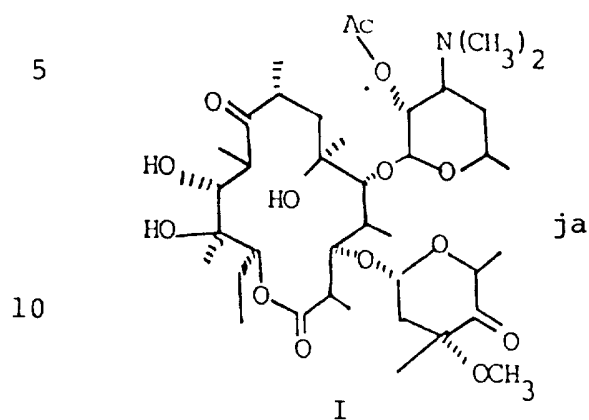


mukaiset yhdisteet saatetaan reagoimaan reaktioinertissä
 liuottimessa noin $-30 - -65^\circ\text{C}$:ssa 1 moolin kanssa dime-
 30 tyylisulfoksidia ja 1 moolin kanssa trifluorietikkahap-
 poanhydridiä, minkä jälkeen reaktioseos saatetaan kos-
 ketuksiin vähintään 1 moolin kanssa trietyyliamiinia.

Tämän menetelmän edullisessa suoritusmuodossa
 kaavan I' ja II' mukainen yhdiste hapetetaan reaktioiner-
 35 tissä liuottimessa, joka on metyleenikloridi.

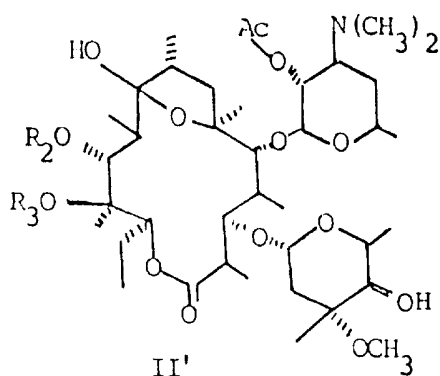
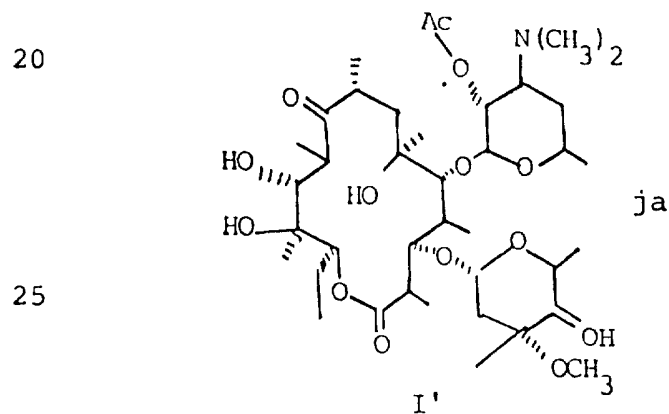
68404

Toisessa keksinnön mukaisessa menetelmässä valmistetaan kaavojen



mukaiset yhdisteet, joissa kaavoissa Ac ja R_2 on kumpikin 2 - 3 hiiliatomia sisältävä alkanoyyli, R_3 on

vety, tai R_2 ja R_3 voivat yhdessä olla $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-$, jolle menetelmälle on tunnusomaista, että kaavojen



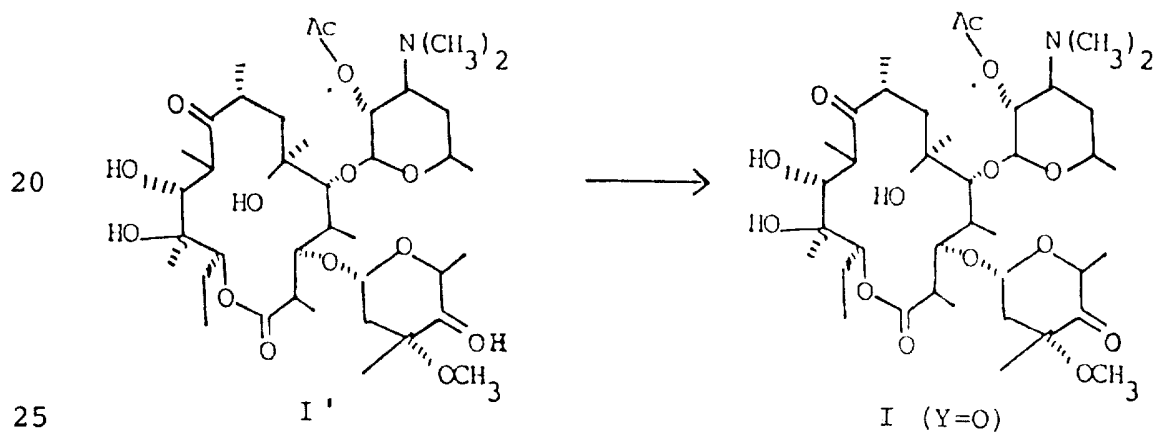
mukaiset yhdisteet saatetaan reagoimaan reaktioinertissä liuottimessa noin 0 - -25°C:ssa 1 moolin kanssa N-kloorisukkinimidiä ja 1 moolin kanssa dimetyylisulfidia, minkä jälkeen reaktioseos saatetaan kosketuksiin vähintään 1 moolin kanssa trietyyliamiinia.

Keksinnön mukaisessa menetelmässä reaktioinerttinä liuottimena käytetään edullisesti tolueenia tai bentseeniä.

Koko keksinnössä sokerin ja makrolidirenkaan substituenttien stereokemiallinen nimitys on sama kuin erytromysiini-A:ssa, poikkeuksena on ainoastaan mahdollinen 4"-aseman epimerisointi, jolloin käytetään luonnossa esiintyvän erytromysiini A:n nimityksiä.

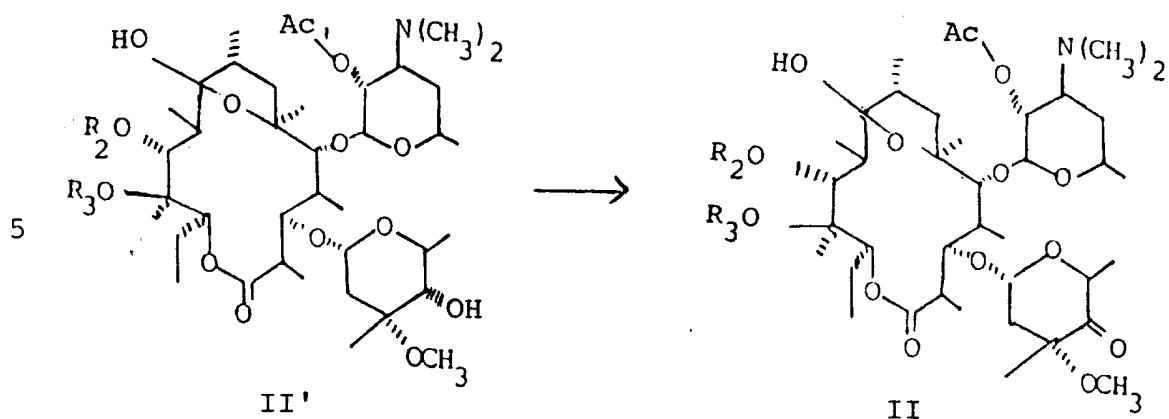
Keksinnön mukaisia menetelmiä 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:sta johdettujen antibakteeristen aineiden valmistamiseksi voidaan kuvata seuraavilla reaktiokaavioilla, joissa lähtöaineena on 2'-alkanoyylierytromysiini-A tai sen johdannainen:

15



ja

68404



10

Menetelmien ensimmäisenä osana yhdisteiden I' ja II' hapetus ($Y = O$) saattamalla yhdiste I' ja II' reagoimaan trifluorietikkahappoanhydridin ja dimetyylisulfoksidin kanssa ja lisäämällä sitten tertiääristä amiinia, kuten trietyyliamiinia.

15

Käytännössä reaktio suoritetaan viemällä trifluorietikkahappoanhydridi ja dimetyylisulfoksidi reaktioinertiin liuottimeen noin -65°C :ssa. Noin 10 - 15 minuutin kuluttua alkoholia I' ja II' lisätään sellaisella nopeudella, että lämpötila pysyy noin -65°C :ssa eikä kohoa yli -30°C . Lämpötiloissa yli -30°C trifluorietikkahappoanhydridi-dimetyylisulfoksidikompleksi ei ole pysyvä. Lämpötila pidetään $-30 - 65^{\circ}\text{C}$:ssa noin 15 minuuttia ja alennetaan sitten -70°C :seen. Tertiäärinen amiini lisätään kerralla, ja reaktioseoksen annetaan lämmetä 10 - 15 minuutin ajan. Sitten reaktioseosta käsitellään vedellä, ja reaktiotuote eristetään.

20

25

30

Reagoivia aineita, trifluorietikkahappoanhydridiä ja dimetyylisulfoksidia tarvitaan kumpaakin 1 mooli yhtä lähtöainealkoholimoolia kohti. Käytännössä on todettu, että reaktion nopeuttamiseksi on edullista käyttää anhydridiä ja dimetyylisulfoksidia 1 - 5 -kertainen ylimäärä.

Tertiäärisen amiinin määrän tulisi vastata käytetyn trifluorietikkahappoanhydridin määrää.

Tässä menetelmässä käytetyn reaktioinertin liuot-
timen tulisi olla sellainen, joka liuottaa riittävän
5 hyvin reagoivat aineet eikä reagoi huomattavammin rea-
goivien aineiden eikä reaktiotuotteiden kanssa. Koska
tämä hapetus suoritetaan $-30 - -65^{\circ}\text{C}$:ssa, on edullista,
että edellä mainittujen ominaisuuksien lisäksi liuotti-
men jähmettymispiste on reaktiolämpötilan alapuolella.
10 Liuottimia tai liuotinseoksia, jotka täyttävät nämä vaa-
timukset, ovat tolueeni, metyleenikloridi, etyyliase-
taatti, kloroformi ja tetrahydrofuraani. Sellaisia liu-
ottimia, jotka muuten ovat edellä mainittujen vaatimus-
ten mukaisia, mutta joiden jähmettymispiste on reaktio-
15 lämpötilan yläpuolella, voidaan käyttää yhdessä edullis-
ten liuottimien kanssa vähäisempinä määrinä. Eriytyisen
edullinen liuotin menetelmässä käytettäväksi on metylee-
nikloridi.

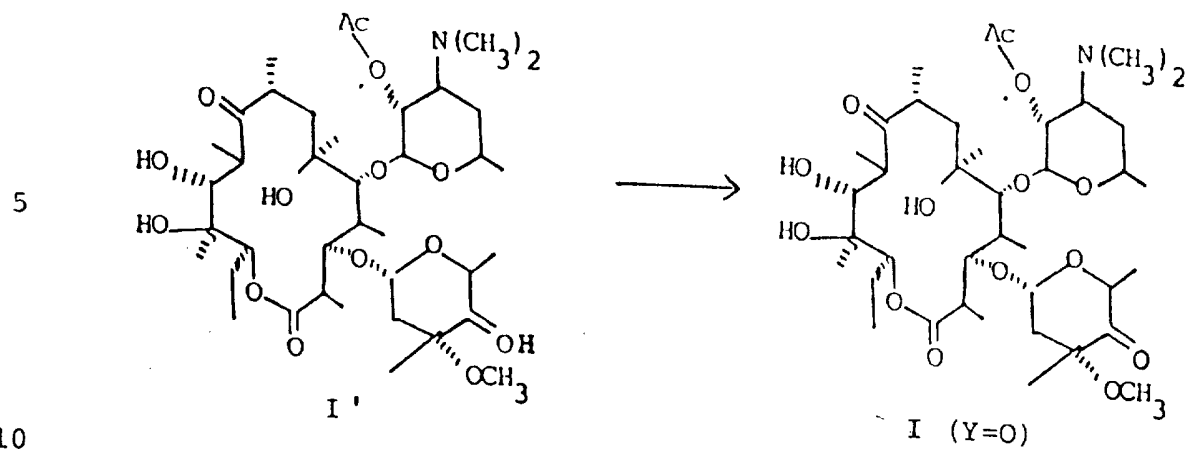
Edullisia tällä menetelmällä valmistettuja yhdis-
20 teitä ovat 2'-asetyyli-4"-oksoerytromysiini-A, 11,2'-
deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali ja 2'-
asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaa-
ni-11,12-karbonaattiesteri.

Reaktioaika ei ole kriittinen ja se on riippuvai-
25 nen reaktiolämpötilasta ja lähtöaineiden reaktiokyvystä.
Lämpötiloissa noin $-30 - -65^{\circ}\text{C}$ reaktio on päättynyt
15 - 30 minuutissa.

Edullisimmassa reagenssien lisäysjärjestyksessä
trifluorietikkahappoanhydridi yhdistetään ensin dimetyy-
30 lisulfoksidin kanssa, ja sen jälkeen lisätään tarvittava
alkoholi-yhdiste. Tässä ehdotettu lämpötilan pitäminen
alle -30°C noudattaa myös Omura'n et al., J. Org. Chem.,
41, 957 (1976) kantaa.

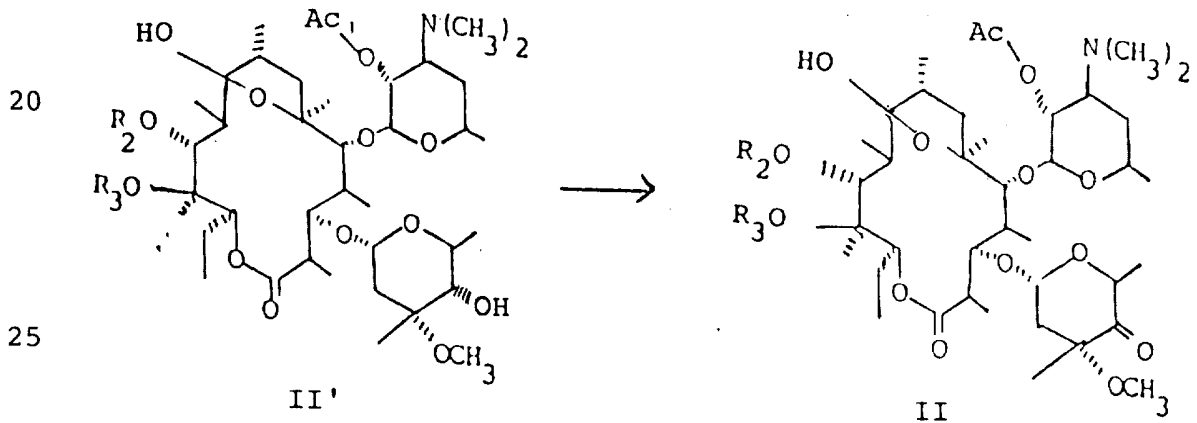
Toista keksinnön mukaista menetelmää välituottei-
35 den valmistamiseksi, joista saadaan hyödyllisiä anti-
bakteerisia aineita, voidaan esittää seuraavilla reaktio-
kaavoilla:

68404



ja

15



Tämä toinen menetelmä käsittää hapetusreaktion, jossa yhdisteen I' tai II', joissa Ac ja R₂ ovat 2 - 3 hiiliatomia sisältäviä alkanoyyliryhmiä, R₃ on vety, tai

R₂ ja R₃ ovat yhdessä ryhmä $\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-$, 4"-hydroksisubstituentti hapetetaan, jolloin saadaan 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-yhdiste.

35

Menetelmässä käytetään hapetusaineena N-kloorisukkinimidiä ja dimetyylisulfidia. Käytännössä nämä kaksi reagenssia ensin yhdistetään reaktioinertissä liuottimessa noin 0°C:ssa. 10 - 20 minuutin kuluttua lämpötila lasketaan 0 - 25°C:seen, sitten lisätään alkoholi-yhdiste I' tai II', ja lämpötila pidetään edelleen samana. 2 - 4 tunnin reaktioajan jälkeen reaktioseokseen lisätään tertiääristä amiinia, kuten trietyyliamiinia, reaktioseos hydrolysoidaan, ja siitä otetaan talteen haluttu tuote.

10 Reagensseja tarvitaan yksi mooli N-kloorisukkinimidiä ja 1 mooli dimetyylisulfidia yhtä alkoholi-yhdisteen moolia kohti. Kokeissa on todettu reaktion nopeuttamisen kannalta edulliseksi käyttää sukkinimidi- ja sulfidi-reagensseja 1 - 20 -kertainen ylimäärä. Käytetyn tertiäärisen
15 amiinin määrän tulisi vastata käytetyn sukkinimidin moolimäärää.

Tässä keksinnön mukaisessa menetelmässä käytetyn reaktioinertin liuottimen tulisi olla sellainen, joka liuottaa riittävän hyvin reagoivat aineet eikä reagoi
20 huomattavammin reagoivien aineiden eikä reaktiotuotteiden kanssa. Koska reaktio suoritetaan noin 0 - -25°C:ssa, on edullista, että edellä mainittujen ominaisuuksien lisäksi liuottimen jähmettymispiste on reaktiolämpötilan alapuolella. Nämä vaatimukset täyttäviä liuottimia tai liuotinseoksia ovat tolueeni, etyyliasetaatti, kloroformi, metyleenikloridi ja tetrahydrofuraani. Sellaisia liuottimia, jotka
25 muuten ovat edellä mainittujen vaatimusten mukaisia, mutta joiden jähmettymispiste on reaktiolämpötilan yläpuolella, voidaan myös vähäisinä määrinä käyttää yhdessä yhden tai
30 useamman edullisen liuottimen kanssa. Erityisen edullinen liuotin tässä menetelmässä käytettäväksi on tolueenibentseeni.

Tällä menetelmällä valmistettuja edullisia yhdisteitä ovat 11,2'-diasetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini
35 -A-6,9-hemiketaali, 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri ja 2'-

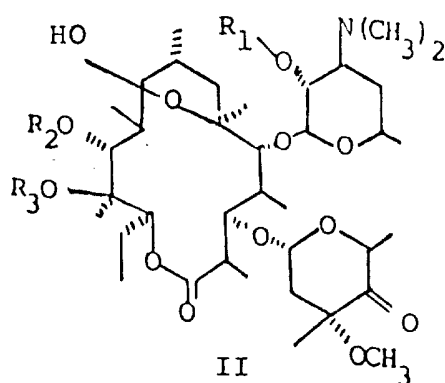
asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini A.

Reaktioaika ei ole kriittinen ja se on riippuvainen reagenssien pitoisuuksista, reaktiolämpötilasta ja reagenssien reaktiokyvyistä. Reaktiolämpötiloissa
 0 - -25°C reaktioaika on noin 2 - 4 tuntia.

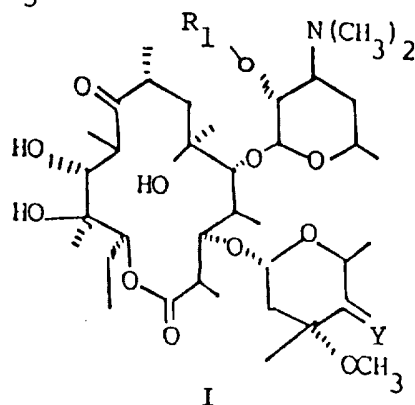
Kuten edellä mainittiin, reagenssien lisäys suoritetaan edullisesti lisäämällä alkoholi-yhdiste I' tai II' etukäteen sekoitettuun sukkinimidi-johdannaisen ja dimetyylisulfidin seokseen.

Molempia tässä kuvattuja menetelmiä voidaan pitää ylläpitävinä, koska niissä hapetus tapahtuu selektiivisesti ainoastaan 4"-hydroksisubstituentin hapettua, muiden molekyyllissä olevien sekundaaristen alkoholien jäädessä muuttumattomiksi.

4"-deoksi-4"-okso-välituotteita, joilla on kaava



jossa R₁ ja R₂ ovat kumpikin 2 - 3 hiiliatomia sisältävä alkanoyyli ja R₃ on vety, valmistetaan käsittelemällä kaavan



mukaista yhdistettä, jossa Y on O, R_1 on 2-3 hiiliatomia sisältävä alkanoyyli, alkaanihappoanhydridillä (R_2O) ja pyridiinillä.

Käytännössä ketoni I saatetaan kosketuksiin ylimäärin käytetyn anhydridin kanssa pyridiini-liuotuksessa. Reaktiossa käytetään edullisesti jopa 4-kertaista ylimäärää anhydridiä.

Reaktio suoritetaan edullisesti huoneen lämpötilassa. Tällöin reaktioaika on noin 12-24 tuntia.

Alkanoyyliryhmän poistaminen välituoteketonin I ($Y = O$) tai II 2'-asemasta suoritetaan solvolyyysreaktiossa, jossa 2'-alkanoyyli-4"-deoksi-4"-oksoertyromysiini-A-johdannaisista sekoitetaan metanoliylimäärän kanssa yön yli huoneen lämpötilassa. Poistamalla metanoli ja tarpeen mukaan puhdistamalla jäännöksenä saatu tuote, saadaan kaavojen I ($Y = O$) ja II mukaiset yhdisteet, joissa R_1 on vety.

Kuten mainittiin, kaavojen I ($Y = O$) ja II mukaiset yhdisteet ovat välituotteita, joista saadaan esillä olevan keksinnön mukaisia kaavojen III ja IV mukaisia 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-antibakteerisia aineita. Tämän yhdisteryhmän edullisia välituotteita ovat 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri ja 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri.

Kaavojen III ja IV mukaisten antibakteeristen aineiden valmistukseen ketoneista I ($Y = O$) ja II voidaan käyttää useita eri synteeseiteitä.

Kaavan III mukaisten 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-yhdisteiden valmistus suoritetaan kondensoimalla kaavan II mukainen ketoni alemman alkaanihapon ammoniumsuolan kanssa ja sen jälkeen pelkistämällä in situ syntynyt imiini. Ilmaistu "alempi alkaanihappo" tarkoittaa tässä 2-4 hiiliatomia sisältävää happoa.

Käytännössä ketonin II liuosta alemmassa alkanolissa, kuten metanolissa tai isopropanolissa, käsitellään

5 alemman alkaanihapon, kuten etikkahapon, ammoniumsuolalla, ja jäädytettyä reaktioliuosta käsitellään pelkistysaineella, kuten natriumsyaaniboorihydridillä. Reaktio suoritetaan huoneen lämpötilassa useamman tunnin aikana, minkä jälkeen reaktioseos hydrolysoidaan ja tuote eristetään.

10 Vaikka yhtä ketonimoolia kohti tarvitaan yksi mooli ammoniumalkanoaattia, on edullista käyttää tätä ylimäärin, jopa 10-kertainen ylimäärä, jotta imiinin muodostuminen tapahtuisi täydellisesti ja nopeasti. Tällaisella ylimäärällä ei näytä olevan paljoakaan haitallista vaikutusta tuotteen laatuun.

15 Ketonimoolia kohti käytettävä pelkistävän aineen määrä on edullisesti noin 2 moolia natriumsyaaniboorihydridiä yhtä ketonimoolia kohti.

20 Reaktioaika vaihtelee riippuen reagenssien pitoisuuksista, reaktiokyvystä ja reaktiolämpötilasta. Edullisessa reaktiolämpötilassa, huoneen lämpötilassa, reaktio on olennaisesti päättynyt 2 - 3 tunnin kuluttua.

25 Kun alempi alkanoli-liuotin on metanoli, tapahtuu, kuten edellä mainittiin, 2'-asemassa olevan alkanoyyli-ryhmän solvolyyysi. Tämän ryhmän poistumisen ehkäisemiseksi käytetään reaktiossa liuottimena edullisesti isopropanolia.

25 Edullinen ammoniumalkanoaatti tässä reaktiossa on ammoniumasettaatti.

30 Halutun lopputuotteen 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisen eristämiseksi ei-emäksisistä sivutuotteista tai lähtöaineista käytetään hyväksi lopputuotteen emäksistä luonnetta. Tällöin tuotteen vesiliuos uutetaan asteittain kohotetussa pH:ssa, jolloin neutraalit tai ei-emäksiset aineet uuttuvat alemmilla pH-alueilla ja reaktiotuote pH:ssa yli 5. Uuttoliuottimet, etyyliasettaatti tai dietyylietteri, uutetaan suolaliuoksella ja vedellä, kuivataan natriumsulfaatilla, ja tuote

35

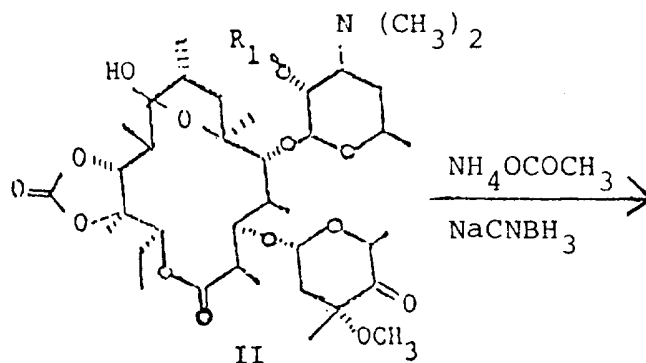
saadaan poistamalla liuotin. Mahdollinen lisäpuhdistus suoritetaan tunnetuilla menetelmillä pylväskromatografisesti piihappogeelillä.

Kuten edellä jo mainittiin, 2'-alkanoyyliryhmän solvolyyysi 2"-alkanoyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisesta voidaan suorittaa antamalla yhdisteen metanoliliuoksen seistä huoneen lämpötilassa yön yli.

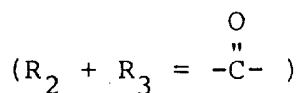
Sellaisen kaavan II mukaisen ketonin pelkistävissä aminoinnissa, jossa R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä ryhmän $\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{-}$, ja R_1 on 2 - 3 hiiliatomia sisältävä alkanoyyli tai vety, muodostuu sekä kaavan III että IV mukaisia amiineja. Tätä voidaan esittää seuraavalla reaktio-kaaviolla:

15

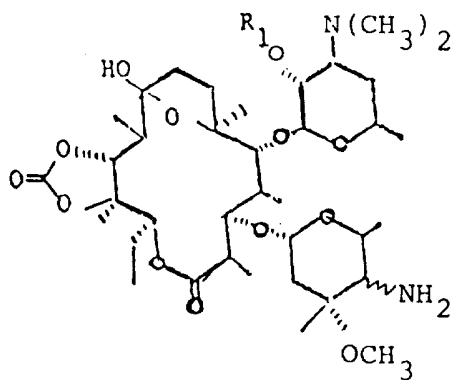
20



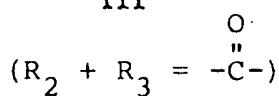
25



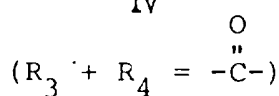
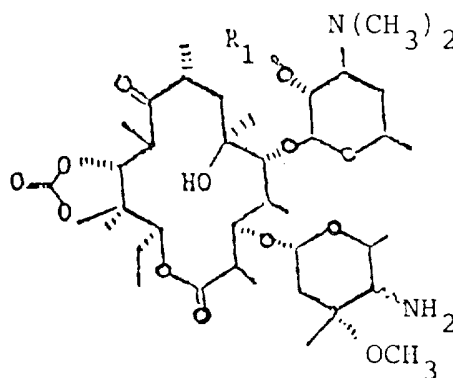
30



35



+



Saadut amiinit III ja IV voidaan sopivasti erottaa selektiivisellä kiteytyksellä dietyylieetteristä. Kiteytettäessä III:n ja IV: seos asetoni-vesiseoksesta, muodostaa kaavan IV mukainen amiini hemiketaalin, jol-

5 join yhdiste III voidaan eristää ainoana tuotteena.

Kaavan IV mukaisen amiiniyhdisteen suora syntetisoiminen suoritetaan jo edellä käsitellyllä tavalla kondensoimalla ketoni I ammoniumalkanoaatin kanssa ja pelkistämällä in situ saatu imiini natriumsyaaniboori-

10 hydridillä.

Kaavan IV mukaisia yhdisteitä, joissa R_1 , R_3 ja R_4 merkitsevät edellä määriteltä, valmistetaan myös pelkistämällä edellä mainittu imiini vedyn ja sopivan hydrauskatalysaattorin avulla. Menetelmä suoritetaan

15 käsittelemällä sopivaa ketonia I alemmassa alkanolissa, kuten metanolissa, alemman alkaanihapon ammoniumsuolalla, kuten ammoniumasetaatilla, lisäämällä hydrauskatalysaattoria ja ravistelemalla reaktioseosta vetykehässä, kunnes reaktio on olennaisesti päättynyt.

Yhtä ketonimoolia kohti tarvitaan 1 moolia ammoniumalkanoaattia, kuitenkin edullisesti käytetään ylimäärää, aina 10-kertaiseen ylimäärään asti, jotta imiinin muodostus tapahtuisi täydellisesti ja nopeasti. Tällaisella ylimäärällä ei näytä olevan suurtakaan haitallista vaikutusta tuotteen laatuun.

20

25

Hydrauskatalysaattorina voidaan käyttää monia eri katalysaattoreita, edullisia ovat kuitenkin Raney-nikkeli ja 5 - 10-%:inen palladiumhiili. Niitä voidaan käyttää vaihtelevina määrinä riippuen siitä, miten nopeasti reaktion halutaan tapahtuvan. Edullisesti käytetään 10 - 200 paino-% yhdisteen I määrästä.

30

Vetykaasun paine hydrausastiassa vaikuttaa myös reaktionopeuteen. Reaktioajan lyhentämiseksi on edullista käyttää alkupainetta 0,34 MPa. Sopivin lämpötila pelkistuksen suorittamisessa on huoneen lämpötila.

35

Reaktioaika riippuu useista eri tekijöistä, kuten lämpötilasta, paineesta, reagenssien pitoisuuksista ja reaktiokyvystä. Edellä mainituissa edullisissa reaktioolosuhteissa reaktioaika on 12 - 24 tuntia.

5 Tuote eristetään suodattamalla katalysaattori ja haihduttamalla liuotin tyhjöissä. Haihdutusjäännöstä käsitellään sitten vedellä, ja tuote eristetään ei-emäksisistä aineista uuttamalla emäksinen tuote vedestä vaihtelemilla pH-alueilla, kuten edellä kuvattiin.

10 Kuten edellä mainittiin, käytettäessä metanolia alempana alkanoliliuottimena, tapahtuu 2'-asemassa olevan alkanoyyliryhmän solvolyyysi. Tämän ryhmän poistumisen ehkäisemiseksi on edullista käyttää liuottimena reaktiossa isopropanolia.

15 Toisessa synteessitiessä kaavan IV mukaisten 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-antibakteeristen aineiden valmistamiseksi suoritetaan ensin ketonin I ($Y = O$) reaktio oksiimiksi tai oksiimijohdannaiseksi, so.

20
$$Y = N-OH, \text{ tai } N-\overset{\overset{O}{\parallel}}{O}-CCH_3,$$
 ja sen jälkeen oksiimi tai oksiimijohdannainen pelkistetään.

Ketonin I ($Y = O$) oksiimi valmistetaan saattamalla ketoni reagoimaan huoneen lämpötilassa hydroksyyliamiinihydrokloridin ja bariumsulfaatin kanssa metanolissa tai isopropanolissa. Käytännössä hydroksyyliamiinia käytetään ylimäärin, jopa 3-kertainen ylimäärä, jolloin haluttua välituotetta saadaan hyvällä saannolla. Suorittamalla reaktio huoneen lämpötilassa ja käyttäen hydroksyyliamiinia ylimäärin, saadaan haluttua oksiimijohdannaista 1 - 3 tunnin reaktioajassa. Bariumkarbonaattia käytetään käytetyn hydroksyyliamiinihydrokloridimoolimäärän kaksinkertainen moolimäärä. Tuote eristetään lisäämällä reaktioseokseen vettä, säätämällä pH 9,5:een ja uuttamalla veden kanssa sekoittumattomalla liuottimella, kuten etyyliasetaatilla.

35

Toisena vaihtoehtona on, että reaktioseos suodatetaan, ja suodos haihdutetaan kuiviin tyhjöissä. Jäännös jaetaan sitten veden, jonka pH on 9,0 - 9,5, ja veden kanssa sekoittumattoman liuottimen kesken.

5 Kaavan I mukaisen O-asetyylioksiimi-yhdisteen

($Y = N-O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}CH_3$) valmistamiseksi vastaava oksiimi asety-
loidaan. Käytännössä tämä suoritetaan saattamalla yksi
oksiimi-mooli reagoimaan yhden moolin kanssa etikkahap-
10 poanhydridiä yhden pyridiini- tai trietyyli-amiini-moo-
lin läsnäollessa. Käyttämällä anhydridiä ja pyridiiniä
ylimäärin, edullisesti 30 - 40 %:n ylimäärä, reaktio
tapahtuu täydellisemmin. Sopivimmin reaktio suoritetaan
aproottisessa liuottimessa, kuten bentseenissä tai etyy-
15 liasetaatissa, huoneen lämpötilassa yön yli. Reaktion
päätyttyä seokseen lisätään vettä, pH säädetään 9,0:aan
ja tuote eristetään liuotinkerroksesta.

Edullisia oksiimeja ja oksiimijohdannaisia, jot-
ka ovat sopivia välituotteita 4"-deoksi-4"-aminoerytro-
20 mysiini-A-antibakteeristen aineiden valmistuksessa, ovat
2'-asetyyli-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimi, 2'-asetyyli-
4"-deoksi -4"-oksoerytromysiini-A-O-asetyylioksiimi,
4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimi ja 4"-deoksi-4"
oksoerytromysiini-A-O-asetyylioksiimi.

25 Ketonijohdannaisten ($Y = N-OH$ tai $N-O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}CH_3$)
pelkistys suoritetaan katalyyttisesti hydraamalla ravis-
telemalla oksiimin tai sen johdannaisen liuosta alemmas-
sa alkanolissa, kuten isopropanolissa, Raney-nikkelika-
talyssaattorin läsnäollessa vetykehässä alkupaineessa
30 6,9 MPa huoneen lämpötilassa yön yli. Sen jälkeen kata-
lysaattori suodatetaan, liuotin poistetaan suodoksesta,
jolloin saadaan haluttu kaavan IV mukainen 4"-deoksi-
4"-amino-antibakteerinen yhdiste. Jos tässä pelkistyses-
sä käytetään liuottimena metanolia, voi siinä tapahtua
35 2'-alkanoyyliryhmän solvolyyysi. Tämän sivureaktion vält-
tämiseksi liuottimena käytetään isopropanolia.

Edullisia kaavojen III ja IV mukaisia 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisia ovat 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesterin, 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:n ja 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesterin molemmat epimeerit.

Käytettäessä hyväksi sellaisten esillä olevan keksinnön mukaisten kaavojen III ja IV mukaisten yhdisteiden kemoterapeuttista aktiivisuutta, jotka muodostavat suoloja, on tietenkin edullista käyttää farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja. Vaikka jotkut tietyt suolat veteen liukenemattomuuden, korkean myrkyllisyyden tai kiteisen muodon puuttumisen vuoksi saattavat olla sopimattomia tai vähemmän sopivia tällaiseen farmaseuttiseen käyttöön, niin veteen liukenemattomat tai myrkylliset suolat voidaan muuttaa vastaaviksi farmaseuttisesti hyväksyttäviksi emäksiksi hajottamalla ne, tai vaihtoehtoisesti ne voidaan muuttaa halutuiksi, farmaseuttisesti hyväksyttäviksi suoloiksi.

Happoja, joiden anionit ovat farmaseuttisesti hyväksyttäviä, ovat esimerkiksi kloorivety-, bromivety-, jodivety-, typpi-, rikkihappo, rikkihapoke, fosfori-, etikka-, maito-, sitruuna-, viini-, meripihka-, maleiini-, glykoni- ja asparitiinihappo.

Kuten edellä mainittiin, esillä olevan keksinnön mukaisten antibakteeristen aineiden lähtöaineiden stereokemia on luonnon materiaaleissa esiintyvä. Hapetettaessa 4"-hydroksyyli-ryhmä ketoniksi ja muuttamalla sen jälkeen tämä ketoni 4"-amiiniksi, on mahdollista muuttaa 4"-substituentin stereokemia luonnon tuotteesta poikkeavaksi. Muutettaessa yhdiste I ($Y = O$) tai II amiiniksi jollakin edellä kuvatulla tavalla on siten mahdollista, että syntyy kaksi amiini-epimeeriä. Kokeissa on havaittu, että lopputuotteessa on läsnä valitusta synteessimenetelmästä riippuen eri suhteissa molempia amiini-epimeerejä. Jos eristetty tuote sisältää pääasiassa yhtä epimeeriä, voi-

daan tämä epimeeri puhdistaa vakiosulamispisteeseen toistuvilla kiteytyksillä sopivasti liuottimesta. Toinen, alkuperäisessä eristetyssä tuotteessa pienempänä määränä esiintyvä epimeeri on pääasiallinen emäliuoksessa oleva epimeeri. Se voidaan saada talteen alalla tunnetuin menetelmin, esimerkiksi haihduttamalla emäliuos ja suorittamalla jäännöksen toistuvia uudelleenkiteytyksiä, kunnes sulamispiste on vakio.

Vaikka näiden epimeeriseosten erottaminen alalla tunnetuin menetelmin voidaankin suorittaa, niin käytännön syistä näitä seoksia käytetään edullisesti sellaisina kuin ne on eristetty. Usein on kuitenkin edullista puhdistaa epimeeriseos ainakin kerran kiteyttämällä sopivasta liuottimesta, suorittamalla puhdistus pylväs- tai suurpainenestekromatografialla, liuotinjaolla tai trituroimalla sopivassa liuottimessa. Tällaisella puhdistuksella, vaikkakaan sillä ei välttämättä saada epimeerejä erotettua, saadaan poistettua ylimääräiset aineet, kuten lähtöaineet ja ei-toivotut sivutuotteet.

Epimeerien absoluuttista stereokemiallista määrittelyä ei suoritettu. Tietyn yhdisteen molemmilla epimeereillä on kuitenkin samantyyppinen aktiivisuus, esim. antibakteerinen aktiivisuus.

Uusilla 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisilla on in vitro aktiivisuutta monia eri fraktoivisia mikro-organismeja vastaan, joista esimerkkeinä mainittakoon Staphylococcus aureus ja Streptococcus pyogenes, ja tiettyjä gram-megatiivisia mikro-organismeja vastaan, kuten pallon- tai ellipsinmuotoisia (kokit) mikro-organismeja vastaan. Niiden aktiivisuus on osoitettu in vitro -kokeissa aivo-sydän-infuusioväliaineessa eri mikro-organismeja vastaan käyttäen tavallista kaksinkertaisen sarjalaimennuksen tekniikkaa. In vitro -aktiivisuuden vuoksi ne ovat käyttökelpoisia paikalliseen käyttöön salvoina, voiteina ym., sterilointitarkoituksiin, esim. potilashuoneen välineiden sterilointiin, sekä teol-

lisiksi antimikrobeiksi, esim. veden käsittelyyn, liman-
estoon, maalin ja puun säilöntään.

In vitro -käytössä, esim. paikallisesti käytetty-
nä, on usein sopivinta sisällyttää valittu yhdiste far-
5 maseuttisesti hyväksyttävään kantajaan, kuten kasvi-
tai mineraaliöljyyn tai voidepohjaan. Ne voidaan myös
liuottaa tai dispergoida nestemäisiin kantajiin tai liu-
ottimiin, kuten veteen, alkoholiin, glykoleihin tai näi-
den seoksiin tai muihin farmaseuttisesti inertteihin vä-
10 liaineisiin, so. väliaineisiin, joilla ei ole haitallis-
ta vaikutusta aktiiviaiaineeseen. Tällaisissa valmisteissa
käytetään aktiivista aineosaa yleensä noin 0,01 - noin
10 paino-% koko koostumuksen painosta.

Useat tämän keksinnön yhdisteistä ja niiden hap-
15 poadditiosuoloista ovat lisäksi aktiivisia fram-positiiv-
isia ja tiettyjä gram-negatiivisia mikro-organismeja,
esim. Pasteurella multocida'a ja Neisseria sicca'a vas-
taan in vivo oraalisti ja/tai parenteraalisti annettuina
eläimille ja ihmisille. Niiden in vivo -aktiivisuus hai-
20 tallisia mikro-organismeja vastaan on rajoitettu, ja
se voidaan määrittää tavallisella menetelmällä tartutta-
malla olennaisesti samanpainoisia hiiriä koeorganismilla
ja käsittelemällä niitä sen jälkeen oraalisti tai subtu-
taanista koeyhdisteellä. Koe suoritetaan siten, että
25 esim. 10 hiirtä tartutetaan intraperitoneaalisti sopi-
vasti laimennetulla viljelmällä, joka sisältää noin
1 - 10- kertaisen LD_{100} -annoksen (LD_{100} on alhaisin mik-
ro-organismikonsentraatio, joka aiheuttaa 100-%:isen
kuoleman). Samalla suoritetaan kontrollikokeita, joissa
30 hiirille annetaan alhaisempia väkevyyksiä tartunta-ainet-
ta koeorganismien elinvoiman mahdollisten vaihtelujen
toteamiseksi. Koeyhdistettä annetaan 0,5 tuntia tartut-
tamisen jälkeen, ja anto toistetaan 24 ja 48 tunnin ku-
luttua. Eloon jääneitä hiiriä tarkkaillaan neljä vrk
35 viimeisen käsittelyn jälkeen, ja eloonjääneiden lukumää-
rää merkitään muistiin.

68404

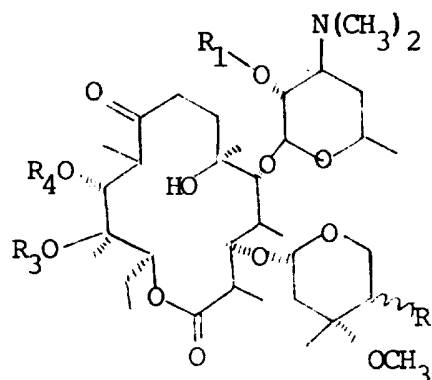
In vivo käytettyinä näitä uusia yhdisteitä voidaan annostella oraalisti tai parenteraalisti, esim. ihonalaisena tai lihaksensisäisenä injektiona, annoksina noin 1 - noin 200 mg/kg kehon painoa vrk:ssa. Edullinen annostus on noin 5 - noin 100 mg/kg kehon painoa vrk:ssa ja edullisimmin noin 5 - noin 50 mg/kg.

Parenteraalissa lääkeannossa ruiskeena voidaan väliaineena käyttää joko vesipitoista väliainetta, kuten vettä, isotonista suolaliuosta, isotonista dekstroosiliuosta, Ringer'in liuosta, tai vedetöntä väliainetta, kuten kasviöljyä (puuvillasiemenöljy, maapähkinäöljy, maissiöljy, seesamöljy), dimetyylisulfoksidia tai muita vedettömiä väliaineita, jotka eivät vaikuta valmisteen terapeuttiseen tehoon eivätkä ole myrkyllisiä niinä määrinä kuin niitä käytetään (glyseroli, propyleeniglykoli, sorbitoli). Lisäksi voidaan edullisesti valmistaa koostumuksia, joista välittömästi ennen käyttöä valmistetaan liuos. Tällaiset koostumukset voivat sisältää haluttujen farmakologisten ominaisuuksien saamiseksi nestemäisiä laimennusaineita, esim. propyleeniglykolia, dietyyli-karbonaattia, glyserolia, sorbitolia, jne., puskurointiaineita, hyaluronidaasia, paikallispuudutusaineita ja epäorgaanisia suoloja. Nämä yhdisteet voidaan myös yhdistää erilaisten farmaseuttisesti hyväksyttävien inerttien kantajien kanssa, kuten kiinteiden laimennusaineiden, vesipitoisten väliaineiden, myrkyttömien orgaanisten liuottimien kanssa, ja muodostaa kapseleiksi, tableteiksi, lotsengeiksi, trokeiksi, kuivaseoksiksi, suspensioiksi, liuoksiksi, eliksiireiksi ja parenteraaliliuoksiksi ja -suspensioiksi. Yhdisteitä käytetään yleensä eri annosmuotoina pitoisuuksina noin 0,5 - noin 90 paino-% koko koostumuksen painosta.

68404

Vertailukokeet

5



10

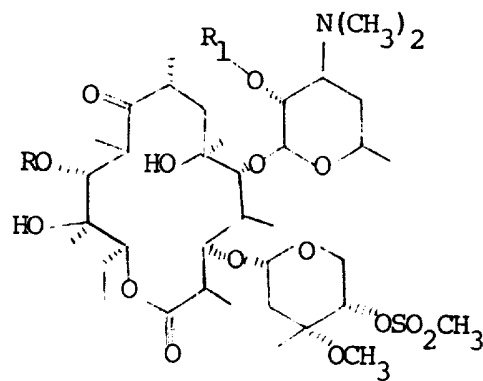
Keksinnön
mukaisesti
valmistettu
yhdiste

MIC, µg/ml

15

Mikro-organismi			R = $\triangleleft$ NH ₂ R ₁ = H R ₃ = H R ₄ = H	R = --- NH ₂ R ₁ = H R ₃ = H R ₄ = H	R = --- NH ₂ R ₁ = CH ₃ CO R ₃ + R ₄ = -CO-	R = --- NH ₂ R ₁ = H R ₃ + R ₄ = -CO-
20	1) Staph. aur.	01A005	0.39	0.39	0.78	<0.10
	2) " "	01A052	0.78	0.78	0.78	<0.10
	3) " "	01A109 R	>200	>200	>200	200
	4) " "	01A110 R	>200	>200	>200	200
	5) " "	01A111 R	-	-	0.39	<0.10
	6) " "	01A087 RR	>200	>200	>200	>200
	7) " "	01A400 R	3.12	6.25	25	6.25
	8) Strp. fae.	02A006	0.39	1.56	0.78	<0.10
	9) Strp. pyog.	02C203	<0.10	<0.10	0.20	<0.10
	10) " "	02C020 R	-	-	200	-
25	11) Myco. smeg.	05A001	100	200	>200	50
	12) B. sub.	06A001	1.56	0.39	0.78	<0.10
	13) E. coli	51A229	50	25	25	1.56
	14) " "	51A266	50	50	25	1.56
	15) " "	51A125 R	50	50	25	3.12
	16) Ps. aerug.	52A104	200	>200	>200	100
	17) Klebs. pn.	53A009	200	100	>200	6.25
	18) " "	53A031 R	>200	200	>200	6.25
	19) Prot. mira.	57C064	>200	>200	>200	100
	20) Prot. morg.	57G001	>200	>200	>200	50
30	21) Salm. chol-su.	58B242	50	200	50	3.12
	22) Sal. typhm.	58D009	50	100	100	3.12
	23) " "	58D013-C	50	200	50	6.25
	24) Past. multo.	59A001	1.56	1.56	0.39	<0.10
	25) Serr. mar.	63A017	200	>200	>200	25
35	26) Ent. aero.	67A040	100	>200	100	6.25
	27) Ent. cloa.	67B003	200	>200	100	12.5
	28) Neiss. sic.	66C000	0.39	6.25	<0.10	<0.10

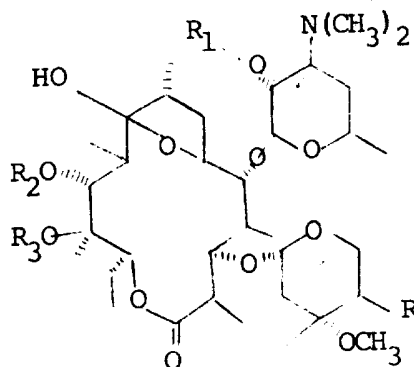
68404



Vertailuyhdiste

Mikro-organismit			R ₁ = H
			R ₂ = H
1)	Staph. aur.	01A005	1.56
2)	" "	01A052	1.56
3)	" "	01A109 R	>50
4)	" "	01A110 R	>50
5)	" "	01A111 R	0.39
6)	" "	01A087 RR	>50
7)	" "	01A400 R	50
8)	Strp. fae.	02A006	0.39
9)	Strp. pyog.	02C203	0.20
10)	" "	02C020 R	>50
11)	Myco. smeg.	05A001	>50
12)	B. sub.	06A001	0.20
13)	E. coli	51A229	>50
14)	" "	51A266	>50
15)	" "	51A125 R	>50
16)	Ps. aerug.	52A104	>50
17)	Klebs. pn.	53A009	>50
18)	" "	53A031 R	>50
19)	Prot. mira.	57C064	-
20)	Prot. morg.	57G001	>50
21)	Salm. chol-su.	58B242	-
22)	Sal. typhm.	58D009	>50
23)	" "	58D013-C	-
24)	Past. multo.	59A001	12.5
25)	Serr. mar.	63A017	>50
26)	Ent. aero.	67A040	>50
27)	Ent. cloa.	67B003	>50
28)	Neiss. sic.	66C000	12.5

68404



Keksinnön
mukaisesti
valmistettu
yhdiste

MIC, $\mu\text{g/ml}$

			$R = \triangleleft NH_2$ $R_1 = H$ $R_2 + R_3 = -CO-$	$R = \sim NH_2$ $R_1 = H$ $R_2 + R_3 = -CO-$	$R = \sim NH_2$ $R_1 = CH_3CO$ $R_2 + R_3 = -CO-$	$R = \sim NH_2$ $R_1 = H$ $R_2 = CH_3CO$ $R_3 = H$	
Mikro-organismi							
10	1) Staph. aur.	01A005	<0.10	<0.10	0.39	3.12	
	2) " "	01A052	<0.10	<0.10	0.39	12.5	
	3) " "	01A110 R	200	200	>200	>200	
	4) " "	01A110 R	200	200	>200	>200	
	15	5) " "	01A111 R	<0.10	<0.10	<0.1	>200
		6) " "	01A087 RR	200	200	>200	>200
		7) " "	01A400 R	3.12	3.12	3.12	25
		8) Strp. fae.	02A006	<0.10	<0.10	0.39	50
9) Strp. pyog.	02C203	<0.10	<0.10	<0.10	1.56		
10) " "	02C020 R	-	-	-	-		
20	11) Myco. smeg.	05A001	50	50	100	0.39	
	12) B. sub.	06A001	<0.10	<0.10	<0.10	1.56	
	13) E. coli	51A229	3.12	1.56	3.12	100	
	14) " "	51A266	3.12	1.56	3.12	200	
	15) " "	51A125 R	3.12	3.12	6.25	200	
	16) Ps. aerug.	52A104	50	100	200	>200	
	17) Klebs. pn.	53A009	12.5	6.25	12.5	200	
	18) " "	53A031 R	6.25	6.25	50	>200	
25	19) Prot. mira.	57C064	200	100	200	>200	
	20) Prot. morg.	57G001	50	50	200	>200	
	21) Salm. chol-su.	58B242	6.25	6.25	6.25	>200	
	22) Sal. typhm.	58D009	6.25	6.25	6.25	>200	
	23) " "	58D013-C	6.25	6.25	12.5	100	
	24) Past. multo.	59A001	<0.10	<0.10	<0.1	25	
	25) Serr. mar.	63A017	25	25	50	>200	
	26) Ent. aero.	67A040	6.25	6.25	50	>200	
30	27) Ent. cloa.	67B003	25	25	25	>200	
	28) Neiss. sic.	66C000	<0.10	<0.10	<0.1	0.20	

Tuloksista ilmenee, että keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat lukuisia mikro-organismeja vastaan aktiivisempia kuin vertailuyhdiste.

Seuraavien esimerkkien tarkoituksena on valaista keksintöä.

68404

Esimerkki 1

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A
 -65°C:seen jäähdytettyyn seokseen, jossa on 3 ml
 metyleenikloridia ja 0,328 ml dimetyylisulfoksidia, li-
 5 sätään tyypikehässä 0,652 ml trifluorietikkahappoanhyd-
 ridiä. Noin minuutin kuluttua muodostuu valkea velli,
 mikä osoittaa, että on muodostunut trifluorietikkahap-
 poanhydridi-dimetyylisulfoksidi-kompleksi. Seokseen li-
 sätään tipoittain liuos, jossa on 1,0 g 2'-asetyylieryt-
 10 romysiini-A - etyyliasetaattia, joka on saatu kiteyttä-
 mällä 2'-asetyylierytromysiini-A etyyliasetaatista,
 7 ml:ssa metyleenikloridia pitäen lämpötilan noin -65°C:
 C:ssa. Seosta sekoitetaan noin -60°C:ssa 15 minuuttia,
 sitten se jäähdytetään -70°C:seen. Reaktioseokseen li-
 15 sätään nopeasti trietyyliamiinia (1,61 ml) ja jäähdytys-
 haude poistetaan. Liuosta sekoitetaan 15 minuuttia, sit-
 ten se lisätään 10 ml:aan vettä, ja vesifaasin pH sääde-
 tään 10:een. Orgaaninen faasi erotetaan, pestään peräk-
 käin vedellä (3 x 10 ml) ja suolaliuoksella (1 x 10 ml)
 20 ja kuivataan natriumsulfaattilla. Liuotin haihdutetaan
 alennetussa paineessa, jolloin saadaan 929 mg raakatuot-
 tetta. Uudelleenkiteyttämällä metyleenikloridi-heksaanis-
 ta saadaan 329 mg puhdasta tuotetta, sp. 105 - 108°C.
 NMR (δ , CDCl_3): 3,28 (3H)s, 2,21 (6H)s ja 2,3 (3H)s.
 25 Vastaavasti käyttäen lähtöaineena 2'-propionyyli-
 erytromysiini-A-etyyliasetaattia ja noudattaen edellä
 olevaa menetelmää, saadaan 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-
 oksoerytromysiini-A.

Esimerkki 2

30 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A
 Liuosta, jossa on 4,0 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-
 4"-oksoerytromysiini-A:ta 75 ml:ssa metanolia, sekoite-
 taan huoneen lämpötilassa 20 tuntia. Liuotin poistetaan
 tyhjössä, ja jäännöksenä saatu valkea vaahto kiteytetään
 35 metyleenikloridi-heksaanista, jolloin saadaan 3,44 g,
 sp. 170,5 - 172,5°C.

NMR (δ , CDCl_3): 3,36 (3H)s ja 2,33 (6H)s.

Identtinen tuote saadaan, kun 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta käsitellään metanolilla huoneen lämpötilassa.

5 Esimerkki 3

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A

Liuokseen, jossa on 13,7 g 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta 100 ml:ssa etyyliasetaattia, lisätään sekoittaen 2,3 ml etikkahappoanhydridiä ja saatua reaktio-
seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa kaksi tuntia.
Liuos lisätään 100 ml:aan vettä, ja vesifaasin pH säädetään 6-n natriumhydroksidiliuoksella 9,5:ksi. Orgaaninen kerros erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään, jolloin saadaan 14,5 g valkeaa vaahtoa, joka
kiteytetään uudelleen metyleenikloridi-heksaanista. Saat
tu yhdiste on identtinen esimerkissä 1 saadun kanssa.

Esimerkki 4

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimi

20 500 ml:aan metanolia lisätään 10,8 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta, 1,94 g hydroksyyliamiinihydrokloridia ja 11,0 g bariumkarbonaattia, ja saatua suspensiota sekoitetaan huoneen lämpötilassa 3,5 tuntia. Seos suodatetaan, ja suodos haihdutetaan
25 alennetussa paineessa. Saatua vaahto liuotetaan etyyliasetaatettiin, ja liuos uutetaan vedellä, jonka pH on saadätetty 9,5:ksi. Orgaaninen faasi erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan 10,6 g haluttua tuotetta. NMR (δ , CDCl_3):
30 3,33 (3H)s, 2,30 (6H)s ja 2,06 (3H)s.

Esimerkki 5

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-O-asetyylioksiimi

35 Liuokseen, jossa on 330 mg 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimia 30 ml:ssa

68404

etyyliasettaattia, lisätään sekoittaen 64,2 g etikka-
 happoanhydridiä, ja reaktioseosta sekoitetaan yön yli.
 Lisätään vielä 15,8 g etikkahappoanhydridiä ja 23,4
 g trietyyliamiinia, ja sekoitusta jatketaan neljä
 5 tuntia. Reaktioseos lisätään sitten veteen, ja seoksen
 pH säädetään noin 9,0:ksi. Etyyliasettaattikerros ero-
 tetaan, kuivataan natriumsulfaattilla ja haihdutetaan
 kuiviin tyhjöissä, jolloin saadaan 300 mg haluttua tuo-
 tetta. NMR (δ , CDCL₃): 3,38 (3H)s, 2,25 (6H)s, 2,20
 10 (3H)s, 2,05 (3H)s ja 1,56 (3H)s.

Vastaavasti käyttämällä edellä olevassa mene-
 telmässä 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-
 A:ta ja 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimia 2'-
 asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-oksiimin si-
 15 jasta saadaan vastaavat O-asetyyli-johdannaiset.

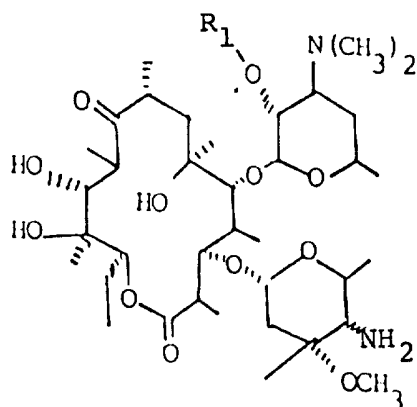
Esimerkki 6

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A
 Seosta, jossa on 14,0 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-
 4"-oksoerytromysiini-A-O-asetyylioksiimia ja 60 g iso-
 20 propanolilla pestyä Raney-nikkeliä 400 ml:ssa isopro-
 panolia, sekoitetaan vetykehässä alkupaineessa 6,9 MPa
 yön yli huoneen lämpötilassa. Katalysaattori suodate-
 taan, ja suodos haihdutetaan. Jäännöksenä saatu valkea
 vaahto liuotetaan 400 ml:aan isopropanolia, ja liuokseen
 25 lisätään uusi 50 g:n erä isopropanolilla vastapestyä
 Raney-nikkeliä. Hydrausta jatketaan yön yli huoneen läm-
 pötilassa vedyn alkupaineella 6,9 MPa. Katalysaattori
 suodatetaan ja suodos haihdutetaan kuiviin tyhjöissä,
 jolloin saadaan haluttua tuotetta.

Esimerkki 7

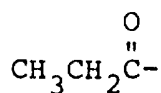
30 Lähtien sopivasta O-asetyylioksiimista ja nou-
 dattamalla esimerkin 6 menetelmää, valmistetaan seuraav-
 vat 4"-aminoerytromysiini-A-analogit:

68404



$$\underline{R_1}$$

H-

Esimerkki 8

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A

Liuosta, jossa 2,17 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:ta 50 ml:ssa metanolia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Liuotin poistetaan alennetussa paineessa, ja jäännöksenä saatua vaahtoa käsitellään kloroformin (50 ml) ja veden (50 ml) seoksella. Vesikerroksen pH säädetään 9,5:een, ja orgaaninen kerros erotetaan. Kloroformikerrosta käsitellään uudella vesierällä, ja pH säädetään 4,0:ksi. Happamen tuotteen sisältävän vesikerroksen pH säädetään emästä lisäämällä asteittain arvoihin 5, 6, 7, 8 ja 9, ja jokaisessa pH:ssa seos uutetaan uudella kloroformierällä. pH 6:ssa ja 7:ssä saadut uutteet sisältävät pääosan tuotteesta, ja nämä uutteet yhdistetään, niihin lisätään vettä ja pH säädetään 4:ksi. Vesikerroksen pH säädetään jälleen arvoihin 5, 6 ja 7, ja joka pH:ssa uutetaan kloroformilla. pH 6:ssa saatu kloroformiuute kui-

vataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään, jolloin saadaan 249 g tuotetta epimeeriseoksena.

NMR (δ , CDCl_3): 3,30 (1H)s, 3,26 (2H)s, 2,30 (6H)s ja 1,46 (3H)s.

- 5 Samankaltaisella menetelmällä valmistetaan 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A solvolyysoimalla 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A.

Esimerkki 9

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A

- 10 Sekoitettuun liuokseen, jossa on 3,0 g 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini A:ta 30 ml:ssa metanolia, lisätään tyypikehässä 3,16 g kuivaa ammoniumasettaattia. Viiden minuutin kuluttua reaktioseokseen huuhdotaan 5 ml:lla metanolia 188 mg natriumsyaaniboorihydridiä, ja reaktio-
- 15 seosta sekoitetaan yön yli huoneen lämpötilassa. Vaalean-keltainen liuos kaadetaan 300 ml:aan vettä, ja pH säädetään 6,0:aan. Vesifaasi uutetaan pH-arvoissa 6, 7, 7,5, 8, 9 ja 10 käyttäen uuttamiseen aina 125 ml dietyyli-
- 20 eetteriä. pH-arvoissa 8, 9 ja 10 saadut uutteen yhdistetään ja pestään 125 ml:lla vettä. Erotettu vesikerros uutetaan eetterillä (1 x 100 ml) pH 7:ssä, etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH 7:ssä, eetterillä (1 x 100 ml) pH 7,5:ssä, etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH 7,5:ssä ja etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH 8:ssä, 9:ssä ja 10:ssä.
- 25 pH-arvoissa 9 ja 10 saadut etyyliasetaattiuutteen yhdistetään, pestään kyllästetyllä suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla. Haihduttamalla liuotin tyhjöissä, saadaan 30 mg halutun tuotteen epimeeriseosta norsunluun-
- värisenä vaahtona.

30

Esimerkki 10

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A (toinen epimeeri)

- Liuosta, jossa on 10,0 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:n epimeeriseosta 150 ml:ssa metanolia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa tyypikehässä
- 35 72 tuntia. Liuotin poistetaan tyhjöissä, ja jäännös liuotetaan sekoittaen veden (150 ml) ja kloroformin (200 ml)

seokseen. Vesikerros hylätään, ja lisätään uusi 150 ml:n annos vettä. Vesikerroksen pH säädetään 5:een, ja kloroformikerros erotetaan. Vesifaasin pH säädetään sitten arvoihin 5,5, 6, 7, 8 ja 9 ja uutetaan kun säädön jälkeen 100 ml:lla kloroformia. pH-arvoissa 6, 7 ja 8 saatut uutteen yhdistetään, pestään peräkkäin vedellä ja kyllästetyllä suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaattilla. Haihduttamalla liuotin alennetussa paineessa, saadaan 2,9 g 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:n epimeeriseosta. 1,9 g:n näytettä seoksesta trituroidaan dietyylieetterissä, jolloin osa liukenemattomasta vaahdosta kiteytyy. Kiinteä aine suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 67 mg 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A:n toista epimeeriä, sp. 140 - 147°C.

15 Esimerkki 11

11,2'-diasetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali

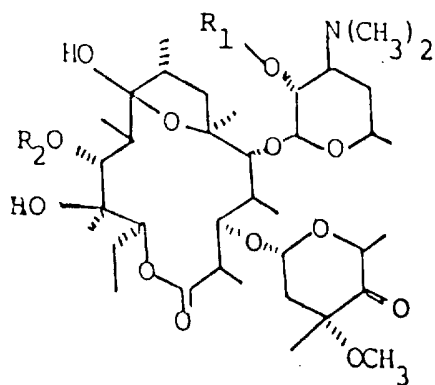
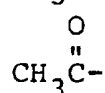
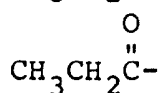
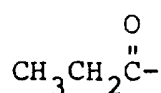
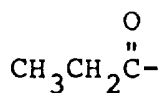
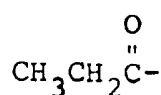
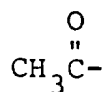
Liuosta, jossa on 10 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta 250 ml:ssa pyridiiniä, käsitellään 40 ml:lla etikkahappoanhydridiä, ja reaktioseoksen annetaan seistä huoneen lämpötilassa 10 vrk. Suurin osa liuottimesta poistetaan tyhjöissä, ja jäljelle jäänyt väkevöite veden (150 ml) ja kloroformin (100 ml) seokseen. Vesifaasin pH korotetaan 9,0:aan, ja kloroformi erotetaan, kuivataan natriumsulfaattilla ja haihdutetaan kuiviin.

NMR (δ , CDCl_3): 3,33 (3H)s, 2,26 (6H)s, 2,10 (3H)s, 2,03 (3H)s ja 1,55 (3H)s.

Esimerkki 12

30 Käyttäen lähtöaineina sopivaa 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta ja tarvittavaa alkaanihappoanhydridiä ja noudattamalla esimerkin 11 menetelmää, valmistetaan seuraavat yhdisteet:

68404

R₁R₂Esimerkki 13

11-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali

Liuosta, jossa on 3,0 g 11,2'-diasetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-9,6-hemiketaalia 50 ml:ssa metanolia, sekoitetaan yön yli tyypikehässä. Liuotin poistetaan tyhjöissä, jolloin haluttua saadaan keltaisena vaahtona (3,0 g).

NMR (δ , CDCl₃): 3,35 (3H)s, 2,31 (6H)s, 2,13 (3H) ja 1,55 (3H)s.

Samalla tavalla muutetaan esimerkin 13 menetelmällä esimerkin 12 yhdisteet 11-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaaliksi ja 11-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaaliksi.

Esimerkki 14

11-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali

Sekoitettuun liuokseen, jossa on 4,4 g asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaalia ja 4,38 g ammoniumasetaattia 75 ml:ssa metanolia, lisätään 305 mg 85-%:ista natriumsyaaniboorihydridiä. Sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli, sitten reaktioseos kaadetaan 300 ml:aan vettä ja siihen lisätään 250 ml kloroformia. Vesikerroksen pH säädetään 9,8:ksi, ja kloroformikerros erotetaan. Vesikerros uutetaan uudelleen kloroformilla, ja kloroformiuutteet yhdistetään, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan valkea vaahto. Jäännöksenä saatu vaahto liuotetaan sekoittaen veden (125 ml) ja kloroformin (125 ml) seokseen ja pH säädetään arvoihin 5, 6, 7 ja 8 ja uutetaan jokaisen säädön jälkeen kloroformilla. pH-arvoissa 6 ja 7 saadut utteet yhdistetään, pestään kyllästetyllä suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla. Haihduttamalla liuotin, saadaan 1,72 g haluttua tuotetta valkeana vaahtona. Tuote liuotetaan mahdollisimman pieneen dietyylieetterimäärään, ja liuokseen lisätään sitten heksaania, kunnes se alkaa samentua. Muodostunut kiteinen tuote suodatetaan ja kuivataan, saadaan 1,33 g tuotetta, sp. 204,5 - 206,5°C.

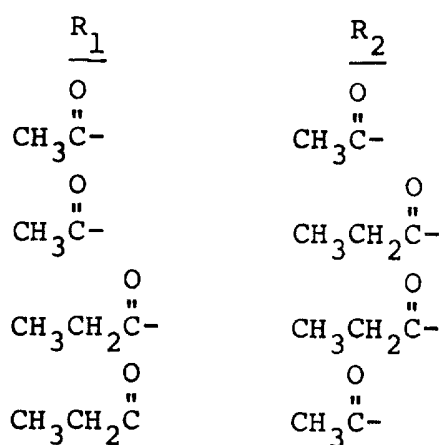
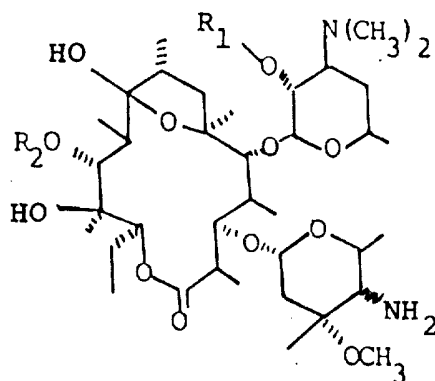
NMR (δ , CDCl_3): 3,31 (2H)s, 3,28 (1H)s, 2,31 (6H)s, 2,11 (3H)s ja 1,5 (3H)s.

25

Esimerkki 15

Toistamalla esimerkin 14 menetelmä käyttäen sopivaa 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta ja liuottimena isopropanolia metanolin sijasta, saadaan seuraavat yhdisteet:

68404

Esimerkki 16

2'-asetyylierytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri

Liuokseen, jossa on 13,2 g erytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä (US-patentti 3 417 077) 150 ml:ssa bentseeniä, lisättään 1,8 ml etikkahappoanhydridiä, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 1,5 tuntia. Liuos kaadetaan 200 ml:aan vettä, ja vesifaasi tehdään emäksiseksi pH 9,0:aan. Bentseenikerros erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan 15,3 g valkeaa vaahtoa. Tätä vaahtoa trituroidaan 50 ml:ssa dietyylieetteriä, jolloin se kiteytyy. Suodattamalla ja kuivaamalla saadaan 12,6 g puhdasta tuotetta, sp. 224,5 - 228,5°C.

NMR (δ , $CDCl_3$): 3,36 (3H)s, 2,30 (6H)s, 2,06 (3H)s ja 1,61 (3H)s.

Vastaavalla tavalla noudattamalla esimerkin 16 menetelmää ja käyttämällä etikkahappoanhydridin sijasta ekvivalenttista määrää propionihappoanhydridiä saadaan 2'-propionyylierytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri.

Esimerkki 17

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri

-5°C:seen jäähdytettyyn suspensioon, jossa on 6,19 g N-kloorisukkinimidiä 150 ml:ssa tolueenia ja 50 ml:ssa bentseeniä, lisätään 4,46 ml dimetyylisulfidia. Sekoitetaan 20 minuuttia, sitten suspensio jäähdytetään -25°C:seen, ja siihen lisätään tipoittain 12,4 g 2'-asetyylierytromysiini-A-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä osittain liuotettuna 80 ml:aan tolueenia. Lisäyksen aikana lämpötila pidetään -19- -25°C:ssa ja sitten vielä kaksi tuntia -25°C:ssa. Tämän jälkeen lisätään yhtenä annoksena 6,79 ml trietyyliamiinia. Jäähdytyschaude poistetaan, ja lämpötilan annetaan kohota -10°C:seen. Sitten reaktioseos kaadetaan veteen, ja vesifaasin pH säädetään arvoon 8,4 - 9,0. Orgaaninen kerros erostetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haidutetaan tyhjössä, jolloin saadaan valkea vahto (14,0 g). Trituroimalla tätä vaahtoa dietyylieetterissä, se saadaan kiteytymään. Tuote suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 11,3 g kiteistä ainetta, sp. 212 - 213,5°C.

NMR (δ , CDCl₃): 5,26 (1H)t, 3,36 (3H)s, 2,30 (6H)s, 2,13 (3H)s, 1,63 (3H)s ja 1,50 (3H)s.

Vastaavalla tavalla noudattamalla esimerkin 17 menetelmää ja käyttämällä 2'-asetyyliesterin sijasta ekvivalenttista määrää 2'-propionyylierytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä, saadaan 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri.

Esimerkki 18

4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-
11,12-karbonaattiesteri

42,9 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä lisätään
5 800 ml:aan metanolia, ja liuosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 72 tuntia. Liuotin poistetaan tyhjössä, jolloin saadaan jäännöksenä 41 g tuotetta valkeana vaahtona. Se liuotetaan noin 100 ml:aan asetonia, ja liuokseen lisätään varovasti vettä, kunnes saostuminen alkaa. Saatua kiteistä sakkaa sekoitetaan 40 minuuttia, sitten se suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 34,2 g haluttua tuotetta, sp. 186,5 - 183°C.
10 NMR (δ , CDCl_3): 5,66 (1H), 3,35 (3H)s, 2,35 (6H)s, 1,65 (3H)s ja 1,51 (3H)s.

Samalla tavalla saadaan sama tuote, kun edellä olevassa menetelmässä käytetään ekvivalenttista määrää 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä 2'-asetyyliesterin
20 sijasta.

Esimerkki 19

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri

189 g:aan 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä l 200 ml:ssa metanolia lisätään huoneen lämpötilassa sekoittaen 193 g ammoniumasetattia. Viiden minuutin kuluttua saatu liuos jäähdytetään noin -5°C:seen, ja sitä käsitellään sen jälkeen 45 minuuttia 13,4 g:lla 85-%:ista natriumsyaani-
30 boorihydridiä 200 ml:ssa metanolia. Jäähdytyschaude poistetaan, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Reaktioseos haihdutetaan tyhjössä 800 ml:ksi ja lisätään sekoittaen veden (l 800 ml) ja kloroformin (900 ml) seokseen. pH säädetään 6-n kloorivetyhapolla
35 arvoon 6,2 - 4,3, ja kloroformikerros erotetaan. Kloroformikerros kaadetaan l litraan vettä, ja pH säädetään

95,:een. Orgaaninen faasi erotetaan, kuivataan natrium-
sulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa, jol-
loin saadaan 174 g valkeaa vaahtoa. Tämä liuotetaan ve-
den (1 l) ja etyyliasetaatin (500 ml) seokseen, ja pH
5 säädetään 5,5:een. Etyyliasetattikerros erotetaan, ja
vesikerroksen pH säädetään peräkkäin arvoihin 5,7 ja 9,5
ja uutetaan kunkin pH-säädön jälkeen 500 ml:lla etyyli-
asetattia. 9,5:ssä saatu etyyliasetaattiuute kuivataan
natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin tyhjössä,
10 jolloin saadaan 130 g vaahtoa. 120 g tätä vaahtoa liu-
otetaan veden (1 l) ja metyleenikloridin (1 l) seokseen.
Vesikerroksen pH säädetään peräkkäin arvoihin 4,4, 4,9
ja 9,4 ja uutetaan kun säädön jälkeen 1 litralla mety-
leenikloridia. pH 9,4:ssä saatu metyleenikloridiuute
15 kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin
alennetussa paineessa, jolloin saadaan 32 g tuotetta
valkeana vaahtona. Kiteytettynä 250 ml:sta asetoni-vesi-
seosta (1:1, v/v), saadaan 28,5 g kiteisiä epimeerejä.
NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 5,20 (1H)m, 3,37 (1,5)s, 3,34
20 (1,5H)s, 2,36 (6H)s, 1,55 (3H)s ja 1,41 (3H)s.

Esimerkki 20

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaa-
li-11,12-karbonaattiesteri-epimeerien erottaminen

Korkeapainenestekromatografiapylvääseen (1,3 x
25 9 cm), joka on täytetty formamidilla imeytetyllä GF 254
silikageelillä ja eluoidaan kloroformilla, viedään 200 mg
epimeeriseosta. Paineessa 1,65 MPa kerätään 10 ml:n ja-
keita nopeudella 4,76 ml/min. Jakeet 14 - 21 ja 24 - 36
otetaan talteen.

30 Jakeet 14 - 21 yhdistetään ja väkevöidään noin
50 ml:ksi. Lisätään 50 ml vettä, ja pH säädetään 9,0:ksi.
Kloroformikerros erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla
ja haihdutetaan, jolloin saadaan 106 mg valkeaa vaahtoa.
Trituroimalla dietyylieetterillä, saadaan vaahto kitey-
35 tymää. Kiteistä tuotetta sekoitetaan huoneen lämpötilas-
sa tunnin ajan, sitten se suodatetaan ja kuivataan, saa-

68404

daan 31,7 mg, sp. 194 - 196°C.

NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 5,24 (1H)d, 5,00 (1H)t, 3,40 (3H)s, 2,40 (6H)s, 1,66 (3H)s ja 1,40 (3H)s.

5 Jakeet 24 - 36 yhdistetään, ja yhdistettyjä ja keita käsitellään samoin kuin edellä, jolloin saadaan 47,1 mg tuotetta valkeana vaahtona, joka on identtistä esimerkissä 25 saadun kanssa.

Esimerkki 21

10 Suspensioon, jossa on 11,1 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä 300 ml:ssa isopropanolia, lisätään huoneen lämpötilassa sekoittaen 10,7 g ammoniumasetaat-
tia. Viiden minuutin kuluttua reaktioseokseen lisätään
30 minuutin kuluessa 747 mg natriumsyaaniboorihydridiä
15 130 ml:ssa isopropanolia, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Vaaleankeltainen liuos kaadetaan 1 l 100 ml:aan vettä, johon lisätään 400 ml dietyylieetteriä. pH säädetään 4,5:ksi, ja eetterikerros erotetaan. Vesikerroksen pH säädetään 9,5:ksi, ja se
20 uutetaan (2 x 500 ml) kloroformilla. Kloroformiuutteet yhdistetään, kuivataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään, jolloin saadaan 7,5 g keltaista vaahtoa. Uudelleenkiteyttämällä tämä dietyylieetteristä, saadaan 1,69 g, joka samoin kuin emäliuokset otetaan talteen
25 jatkokäsittelyä varten.

Edellä saatuihin emäliuoksiin lisätään 75 ml vettä, ja pH säädetään 5,0:ksi. Eetterikerros korvataan uudella 75 ml:n erällä eetteriä, ja pH säädetään 5,4:ksi. Eetteri korvataan etyyliasetaatilla, ja pH korotetaan
30 10:ksi. Emäksinen vesikerros uutetaan (2 x 75 ml) etyyliasetaatilla, ja ensimmäinen etyyliasetaattiute kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin. Jään-
nöksenä saatu vaahto (1,95 g) lisätään veden (75 ml) ja dietyylieetterin (50 ml) seokseen, ja pH säädetään
35 5,05:ksi. Eetteri erotetaan, ja vesikerroksen pH sääde-

tään peräkkäin arvoihin 5,4, 6,0, 7,05 ja 8,0, ja se uutetaan kunkin pH-säädön jälkeen 50 ml:lla dietyyli-eetteriä. Lopuksi pH säädetään 9,7:ksi, ja vesikerros uutetaan 50 ml:lla etyyliasetaattia. pH 6,0:ssa sa-
5 tuun eetteriuutteeseen lisätään 75 ml vettä, ja pH säädetään 9,7:ksi. Eetterikerros erotetaan, kuivataan ja haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan 460 mg valkeaa vaahtoa.

10 NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 5,20 (1H)t, 3,43 (2H)s, 3,40 (1H)s, 2,38 (6H)s, 2,16 (3H)s, 1,70 (3H)s ja 1,54 (3H).

NMR-arvot osoittavat, että saatu tuote koostuu 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri-epimeereistä.

15 Edellä saatu 1,69 g tuotetta liuotetaan veden (75 ml) ja dietyylieetterin (75 ml) seokseen, ja pH säädetään 4,7:ksi. Eetteri erotetaan, ja vesikerros uute-
taan uudella eetterierällä (75 ml) pH-arvoissa 5,05 ja 5,4 ja etyyliasetaatilla (2 x 75 ml) pH 9,7:ssä. Yhdis-
20 tetyt etyyliasetaattiuutteet kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa, jolloin saadaan jäännöksenä 1,26 g valkeaa vaahtoa. Kiteyttämällä se,
saadaan 411 mg tuotetta, sp. 193 - 196°C (hajoaa). Emä-
liuos haihdutetaan kuiviin, ja jäännös liuotetaan kuu-
maan etyyliasetaattiin. Jäännös saa seistä huoneen läm-
25 pötilassa yön yli. Saostunut kiteinen aine suodatetaan ja kuivataan, saadaan 182 mg lisää tuotetta, sp. 198 -
202°C (hajoaa).

NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 5,10 (1H)t, 3,34 (2H)s, 3,30 (1H)s, 2,30 (6H)s, 2,08 (3H)s, 1,62 (3H)s ja 1,48 (3H)s.

30 NMR-arvot osoittavat, että saatu tuote koostuu 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesteri-epimeereistä.

35 Samalla tavalla toistamalla esimerkin 21 menetelmä käyttäen lähtöaineena 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä, saadaan 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-aminoeryt-

romysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä ja 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesteriä.

Esimerkki 22

- 5 Liuosta, jossa on 400 mg 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä 20 ml:ssa metanolia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Reaktioliuos kaadetaan 100 ml:aan vettä, minkä jälkeen lisätään 50 ml etyyliasetaattia.
- 10 pH säädetään 9,5:ksi, ja orgaaninen faasi erotetaan. Uutto toistetaan vielä 50 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt etyyliasetaattiuutteet kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan 392 mg valkeaa vaahtoa. Trituroimalla sitä dietyylieetterissä ja raa-
- 15 puttamalla lasisauvalla, se saadaan kiteytymään. 30 minuutin seisotuksen jälkeen huoneen lämpötilassa kiteet suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 123 mg tuotetta, joka NMR-arvojen perusteella on identtistä esimerkissä 24 saadun tuotteen kanssa.
- 20 NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 3,26 (3H)s, 2,32 (6H)s, 1,61 (3H)s ja 1,44 (3H)s.

NMR-arvot osoittavat, että tämä kiteinen tuote on 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesterin toinen epimeeri.

- 25 Edellä olevasta kiteytyksestä saatu emäliuos haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan 244 mg valkeaa vaahtoa. Se on identtinen esimerkissä 19 saadun tuotteen kanssa.

- NMR-arvot osoittavat, että tämä tuote koostuu
- 30 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteri-epimeereistä ja on identtinen esimerkin 19 tuotteen kanssa.

Esimerkki 23

- Samankaltaisella menetelmällä kuin esimerkissä
- 35 22, saadaan metanolysoimalla 2'-propionyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaat-

tiesteri 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesteriä ja 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä.

Esimerkki 24

5 8 g esimerkissä 19 saatua ei-kiteistä 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesteri-epimeeri-seosta liuotetaan 50 ml:aan dietyylieetteriä. Tuote saadaan kiteytymään raaputtamalla lasisauvalla. Kiteistä tuotetta sekoitetaan 20 minuuttia, sitten se suodatetaan ja kuivataan, saadaan 1,91 g, sp. 198,5 - 200°C.
10 NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 3,26 (3H)s, 2,30 (6H)s, 1,61 (3H)s ja 1,45 (3H)s.

NMR-arvot osoittavat, että kiteinen tuote on 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-11,12-karbonaattiesterin toinen epimeeri, joka on identtinen esimerkin 22 ketoniyhdisteen kanssa.
15

Esimerkki 25

1 g esimerkissä 24 saatua epimeeriä liuotetaan 20 ml:aan asetonia, ja liuosta kuumennetaan höyryhauteella, kunnes se alkaa kiehua. Sitten lisätään 25 ml vettä, ja liuosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa. Tunnin sekoittamisen jälkeen muodostunut sakka suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan 581 mg tuotetta, sp. 147 - 149°C.
20 NMR 100 MHz (δ , CDCl_3): 5,12 (1H)d, 3,30 (3H)s, 2,30 (6H)s, 1,62 (3H)s ja 1,36 (3H)s.

NMR-arvot osoittavat, että kyseessä on 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesterin toinen epimeeri, joka on identtinen esimerkin 20 jakeista 24 - 36 saadun epimeerin kanssa.
25

Esimerkki 26

30 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A
20 g 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta, 31,6 g ammoniumasetaattia ja 10 g 10-%:ista palladiumhiiltä 200 ml:ssa metanolia ravistellaan vetykehässä alkupaineella 0,34 MPa yön yli. Katalysaattori suodatetaan, ja suodos haidutetaan kuiviin tyhjöissä. Jäännös jaetaan
35

veden ja kloroformin kesken pH 5,5:ssä. Vesikerros erotetaan, pH säädetään 9,6:ksi, sitten lisätään kloroformia. Orgaaninen kerros erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa. Jäännöksenä saatua valkeaa vaahtoa (19 g) trituroidaan 150 ml:ssa dietyylieetteriä huoneen lämpötilassa 30 minuuttia. Saatua kiinteä aine suodatetaan ja kuivatetaan, jolloin saadaan 9,45 g toista epimeeriä, joka on identtinen esimerkissä 10 saadun kanssa.

Dietyylieetterisuodos haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan 6,89 g tuotetta, joka sisältää toista epimeeriä sekä jonkin verran epäpuhtauksia.

Esimerkki 27

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A

2 g 4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-A:ta, 3,1 g ammoniumasettaattia ja 2,0 g Raney-nikkeliä 50 ml:ssa metanolia ravistellaan vetykehässä alkupaineella 0,34 MPa huoneen lämpötilassa yön yli. Lisätään vielä 3,16 g ammoniumasettaattia ja 2,0 g Raney-nikkeliä ja hydrausta jatketaan vielä viisi tuntia. Kiinteät aineet suodatetaan, ja suodos haihdutetaan kuiviin tyhjöissä. Jäännös lisätään sekoittaen vesi-kloroformiseokseen, ja pH säädetään arvoon 6,4 - 5,5. Vesifaasi erotetaan, pH säädetään 9,6:ksi, sitten lisätään kloroformia. Kloroformiuute erotetaan, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa, jolloin saadaan 1,02 g tuotetta keltaisena vaahtona. Sen vallitsevalla isomeerillä on 4"-asemassa päinvastainen konfiguraatio kuin esimerkin 10 tuotteella.

Esimerkki 28

2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-B

Liuokseen, jossa on 4,5 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-oksoerytromysiini-B:tä (US-patentti 3 884 903) 45 ml:ssa isopropanolia, lisätään typpikehässä sekoittaen 4,66 g kuivaa ammoniumasettaattia. 10 minuutin kuluessa lisätään 376 mg natriumsyaaniboorihydridiä huuh-

68404

tomalla se 10 ml:ssa isopropanolia, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa yön yli. Saatu vaalean-keltainen liuos kaadetaan 400 ml:aan vettä, ja pH säädetään 6,0:aan. Vesikerros uutetaan pH-arvoissa 6, 7, 7,5, 8, 9 ja 10 käyttäen jokaiseen uuttoon 250 ml dietyylieetteriä. pH-arvoissa 8, 9 ja 10 saadut uutteen yhdistetään ja pestään 250 ml:lla vettä. Erotettu vesikerros uutetaan eetterillä (1 x 100 ml) pH 7:ssä, etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH 7:ssä, eetterillä (1 x 100 ml) pH 7,5:ssä eetterillä (1 x 100 ml) pH 7,5:ssä, etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH 7,5:ssä ja etyyliasetaatilla (1 x 100 ml) pH-arvoissa 8, 9 ja 10. PH-arvoissa 9 ja 10 saadut etyyliasetaattiuutteet yhdistetään, pestään, kyllästetyllä suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla. Liuos poistetaan tyhjössä, jolloin halutun tuotteen epimeeriseos saadaan kermanvärisenä vaahtona.

Vastaavalla tavalla valmistetaan 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-B 4" -deoksi-4"-oksoerytromysiini-B:stä.

20 Esimerkki 29

4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-B

Liuosta, jossa on 4,34 g 2'-asetyyli-4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-B:tä 100 ml:ssa metanolia, sekoitetaan yön yli huoneen lämpötilassa. Liuotin poistetaan alennetussa paineessa, ja jäännöksenä saatua vaahtoa käsitellään kloroformin (100 ml) ja veden (100 ml) seoksella. Vesikerroksen pH säädetään 9,5:ksi, ja orgaaninen kerros erotetaan. Kloroformikerrokseen lisätään uusi erä vettä, ja pH säädetään 4,0:ksi. Happamen vesikerroksen, joka sisältää tuotteen, pH säädetään asteittain emästä lisäämällä arvoihin 5, 6, 7, 8 ja 9 ja uutetaan kussakin pH:ssa kloroformilla. pH-arvoissa 6 ja 7 saadut uutteen sisältävät pääosan tuotteesta, ja ne yhdistetään ja niitä käsitellään vedellä pH 4:ssä. Vesikerroksen pH säädetään jälleen arvoihin 5, 6 ja 7 ja uutetaan kussakin pH:ssa kloroformilla. pH 6:ssa saatu kloroformiuute

kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan haluttu tuote epimeeriseoksena.

Esimerkki 30

5 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-
11,12-karbonaattiesteri-aspartaatti

40°C:seen lämmitettyyn liuokseen, jossa on 1,0 g
4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-11,12-
karbonaattiesteriä 6 ml:ssa asetonia, lisätään 20 ml
vettä ja sen jälkeen 175 mg L-aspartiinihappoa. Seosta
10 kuumennetaan palautusjäähdyttäen 1,5 tuntia, sitten se
suodatetaan kuumana. Suodoksesta haihdutetaan asetoni,
ja väkevöity suodos kuivajäähdytetään, jolloin saadaan
1,1 g haluttua tuotetta valkoisena kiinteänä aineena.

Esimerkki 31

15 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-
11,12-karbonaattiesteri-dihydrokloridi

7,58 g:aan 4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-
6,9-hemiketaali-11,12-karbonaattiesteriä 50 ml:ssa kui-
vaa etyyliasetaatia, lisätään 20 ml 1-n HCl-etyyliase-
20 taattiliuosta, ja saatu liuos haihdutetaan kuiviin alen-
netussa paineessa. Jäännöstä trituroidaan eetterissä,
suodatetaan, jolloin saadaan haluttu suola.

Samankaltaisella menetelmällä muutetaan keksin-
nön mukaiset amiiniyhdisteet di-happoadditiosuoloikseen.

25 Esimerkki 32

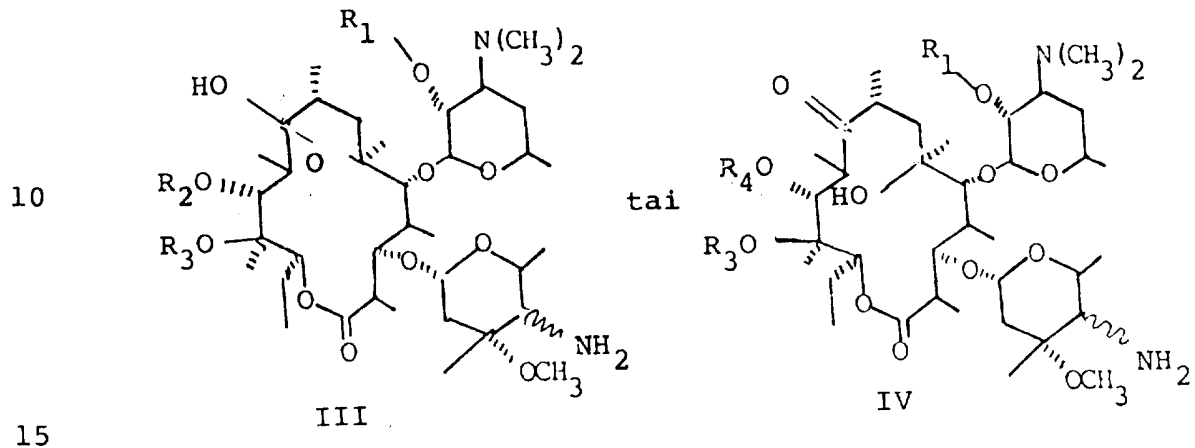
4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-6,9-hemiketaali-
11,12-karbonaattiesteri-hydrokloridi

Toistetaan esimerkin 31 menetelmä muuten paitsi,
että 1-n HCl-etyyliasetattiliuosta lisätään 10 ml. Liuos
30 haihdutetaan kuiviin, jäännöksenä saatua mono-hydroklori-
disuolaa trituroidaan eetterissä ja suodatetaan.

Vastaavalla tavalla muut keksinnön mukaiset amiini-
yhdisteet muutetaan mono-happoadditiosuoloikseen.

Patenttivaatimukset:

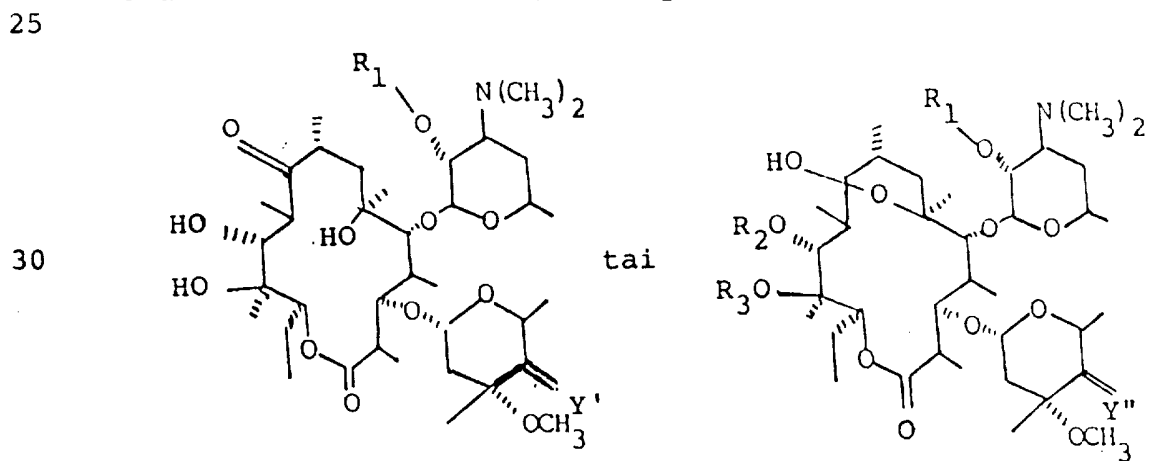
1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten
4"-deoksi-4"-aminoerytromysiini-A-johdannaisien valmis-
tamiseksi, joiden kaava on



jossa R_1 ja R_4 tarkoittavat vetyatomia tai 2 - 3 hiili-
atomia sisältävää alkanoyyliryhmää, R_2 on 2 - 3 hiili-
atomia sisältävä alkanoyyliryhmä, R_3 on vetyatomi tai

20 R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä ryhmän $\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{-}$ tai R_3 ja R_4

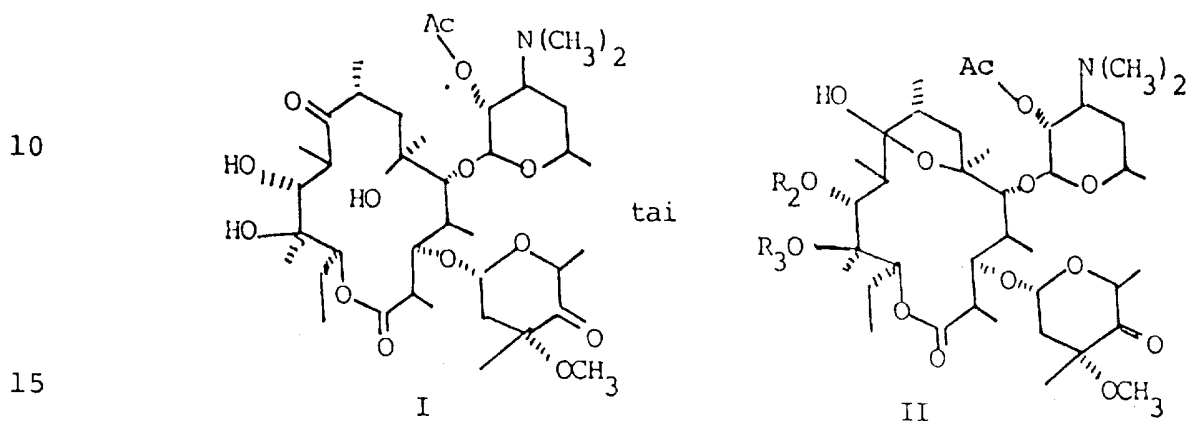
muodostavat yhdessä ryhmän $\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{-}$, sekä niiden farmaseutti-
sesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi,
t u n n e t t u siitä, että yhdiste, jonka kaava on



jossa Y' ja Y'' ovat NH, N - OH tai N-OCOCH₃, pelkistetään, jolloin

a) kun Y'' on NH ja Y' on NH, N - OH tai N-OCOCH₃ pelkistys suoritetaan katalyyttisesti hydrogenoimalla ja

5 b) kun Y' tai Y'' on NH, joka on valmistettu in situ vastaavasta ketonista, jonka kaava on



kondensoimalla mainittu ketoni alkaanihapon ammoniumsuolan kanssa, pelkistys suoritetaan pelkistämällä hydridillä, ja haluttaessa

20 c) kun R₁ tai R₄ on vetyatomi, se muutetaan alkanoyyli-ryhmäksi ja/tai kun R₁ tai R₄ on alkanoyyliryhmä se muutetaan vetyatomiksi, ja haluttaessa

d) muodostetaan farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja.

25 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että Y'' on NH ja Y' on NH, N - OH tai N - OCOCH₃ ja että pelkistys on katalyyttipelkistys.

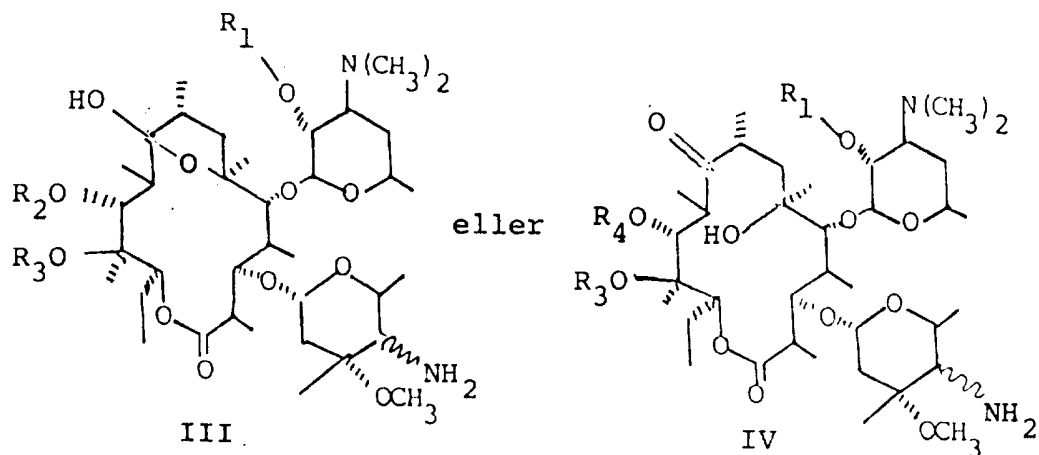
30 3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että pelkistys suoritetaan vedyllä kun läsnä on Raney-nikkeliä, palladiumia hiilellä tai platinaoksidia.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että Y' ja Y'' tarkoittavat molemmat iminoryhmää ja käytetään ylimäärä alkaanihapon ammoniumsuolaa, edullisesti ammoniumasetaattia.

35

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että pelkistin on natriumsya-
noboorigidridi.

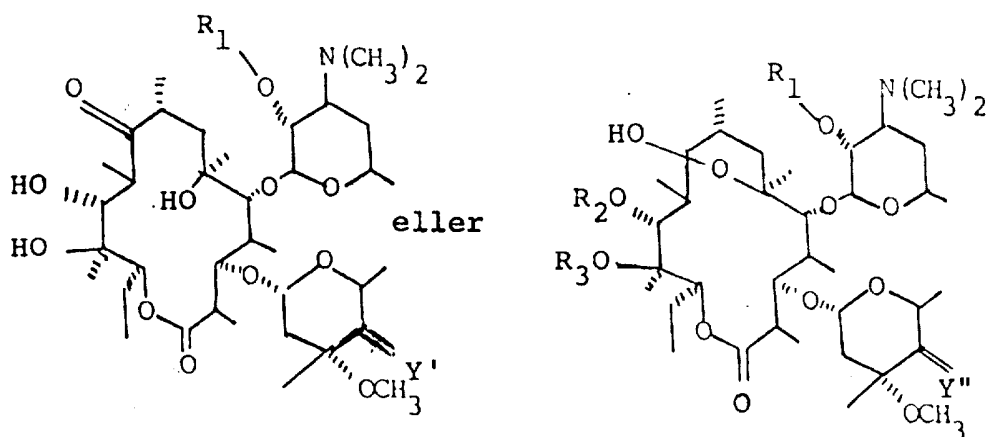
1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 4"-deoxi-4"-aminoerytromycin-A-derivat med formeln



vari R_1 och R_4 betecknar en väteatom eller en alkanoylgrupp med 2 - 3 kolatomer, R_2 är en alkanoylgrupp med 2 - 3 kolatomer, R_3 är en väteatom eller R_2 och R_3

bildar tillsammans gruppen $\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-$ eller R_3 och R_4 bildar

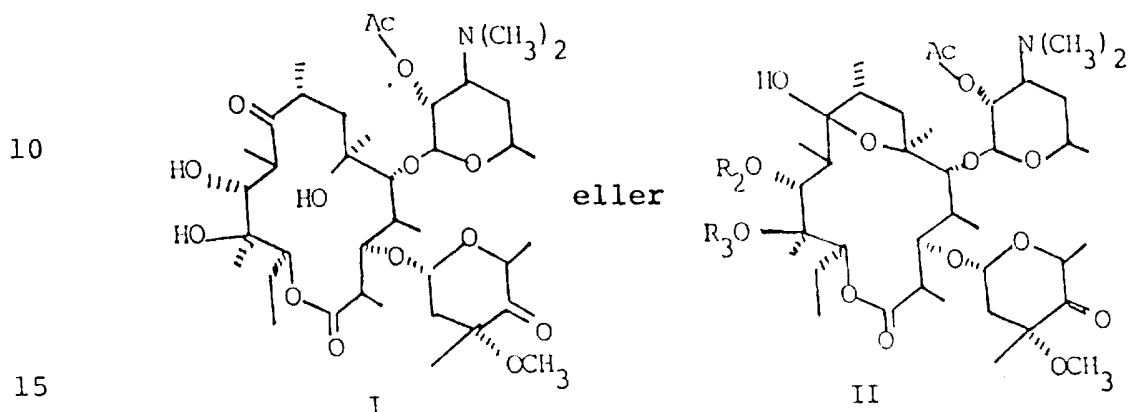
tillsammans gruppen $\text{-C}^{\text{O}}\text{-}$, samt deras farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter, k ä n n e t e c k n a t därav, att en förening med formeln



vari Y' och Y'' är NH , $N - OH$ eller $N - OCOCH_3$, reduceras, varvid

a) då Y'' är NH och Y' är NH , $N - OH$ eller $N - OCOCH_3$, utförs reduktionen katalytiskt genom hydrogenering och

5 b) då Y' eller Y'' är NH , som framställts in situ av en motsvarande keton med formeln



genom kondensation av nämnda keton med ammoniumsaltet av en alkansyra, utförs reduktionen genom att reducera med en hydrid, och om så önskas

20 c) då R_1 eller R_4 är en väteatom, omvandlas den till en alkanoylgrupp och/eller då R_1 eller R_4 är en alkanoylgrupp, omvandlas den till en väteatom, och om så önskas

d) farmaceutiskt godtagbara salter bildas.

25 2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att Y'' är N och Y' är NH , $N - OH$ eller $N - OCOCH_3$ och att reduktionen utgörs av en katalytisk reduktion.

30 3. Förfarande enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att reduktionen utförs med väte i närvaro av raneynickel, palladium på kol eller platinaoxid.

35 4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att Y' och Y'' betecknar både en iminogrupp och ett överskott av ammoniumsaltet av en

68404

alkansyra, företrädesvis ammoniumasetat, används.

5. Förfarande enligt patentkravet 4, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att reduktionsmedlet utgörs
av natriumcyanoborhydrid.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-