

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT



(11) 157877 B

(21) Patentansøgning nr.: 4231/84

(51) Int.Cl.⁵ C 07 H 17/00

(22) Indleveringsdag: 05 sep 1984

(41) Alm. tilgængelig: 07 mar 1985

(44) Fremlagt: 26 feb 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 06 sep 1983 US 529828

(71) Ansøger: *PFIZER INC.; 235 East 42nd Street; New York; New York, US

(72) Opfinder: Gene Michael *Bright; US, James Robert *Hauske; US

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D og farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf samt 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin D til anvendelse som udgangsmateriale ved fremstilling deraf

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

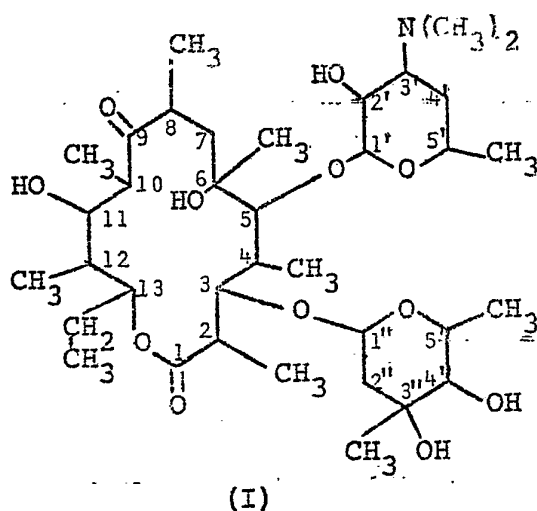
4231-84

9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D samt farmaceutisk acceptable salte deraf. Disse forbindelser udviser antibakteriel virkning. 9a-aza-9a-homoerythromycin D og dennes 9-deoxo-derivat er nyttige mellemprodukter ved fremstillingen af 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D ud fra erythromycin D.

DK 157877 B

Opfindelsen angår hidtil ukendte 9-deoxo-9a-methyl-9a-
 aza-9a-homoerythromycin D og farmaceutisk acceptable
 syreadditionssalte deraf samt 9-deoxo-9a-aza-9a-homo-
 erythromycin D til anvendelse som udgangsmateriale ved
 fremstilling deraf.

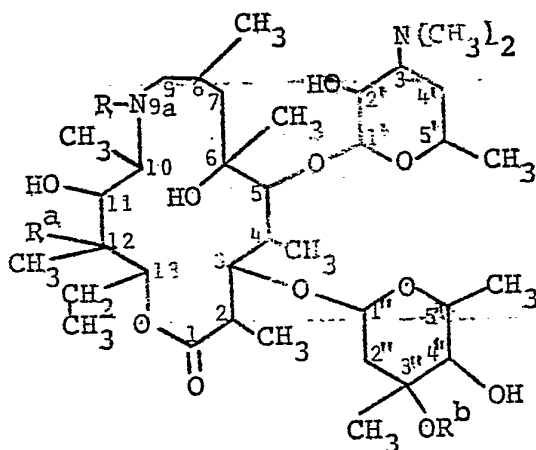
Erythromycin D er et kendt makrolid-antibiotikum med
 formlen (I)



Det blev først isoleret, jævnfør Majer et al., J. Am.
 Chem. Soc., 99, side 1620-1622, (1977), som en sporkom-
 ponent i et industrielt biprodukt fremkommet ved rens-
 ning af industrielt fremstillet erythromycin A. Prak-
 tisk fremstilling af erythromycin D ved direkte gæring
 er senere blevet kendt, jævnfør Celmer et al., EP
 patentansøgning publikations nr. 92 348.

Den her omhandlede forbindelse, som har den nedenfor
 angivne formel (II) er strukturelt beslægtet med et
 tidligere beskrevet erythromycin-A-derivat med formlen
 (III), der er genstand for GB patentansøgning nr.
 2 094 293 samt EP patentansøgning publikations nr.
 101 186. I disse patentansøgninger er forbindelsen med
 formlen (III) navngivet som N-methylderivatet af "11-

aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A", et navn, som tidligere i US patentskrift nr. 4 328 334 er givet til forstadieforbindelsen med formlen (V). For det sidstnævnte ringekspanderede (homo), aza (nitrogen i stedet for carbon) erythromycin-A-derivat foretrækker vi navnet 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin A. Denne forbindelse kunne også navngives som et 10-aza-14-hexadecanolidderivat.



- 10 (II) $R = \text{methyl}, R^a = R^b = \text{hydrogen}$
 (III) $R = \text{methyl}, R^a = \text{hydroxy}, R^b = \text{methyl}$
 (IV) $R = \text{hydrogen}, R^a = R^b = \text{hydrogen}$
 (V) $R = \text{hydrogen}, R^a = \text{hydroxy}, R^b = \text{methyl}$

15 Den foreliggende opfindelse angår forbindelsen 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D med formlen (II) og farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf, som udviser antibakterial virkning.

20 Den her omhandlede forbindelse (II) viser et relativt bredt spektrum af antibakterial aktivitet, som inkluderer erythromycin-A- og -D-modtagelige organismer samt desuden mange Gram-negative mikroorganismer, der er resistente over for erythromycin A og D. Den udviser bedre aktivitet over for mange mikroorganismer end erythro-

mycin D og bedre aktivitet over for E. coli 470 og H. influenzae 073 end det tilsvarende erythromycin-A-derivat. Forbindelsen (II) er særlig værdifuld til oral behandling af modtagelige bakterieinfektioner hos pattedyr.

Opfindelsen angår endvidere den hidtil ukendte forbindelse 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin D (med den ovenfor angivne formel (IV) til anvendelse som udgangsmateriale ved fremstilling af forbindelsen (II) og farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf.

9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D med formlen (II) fremstilles let ved en kemisk reaktionsfølge i flere trin ud fra erythromycin D med formlen (I) eller denne forbindelses 3",4"-di-O-acetyl-, 3"-O-acetyl-4"-O-propionyl- eller 4"-O-acetylestere, der alle kan fremstilles ved den af Celmer et al. i ovennævnte patentansøgning beskrevne gæringsproces.

Det første trin i reaktionsfølgen består i omsætning af erythromycin D eller en ester deraf med hydroxylamin eller et hydroxylaminsalt (det er bekvemt at anvende hydrochloridsaltet) til dannelse af den tilsvarende oxim af erythromycin D eller esteren deraf. Under foretrukne betingelser, som er fundet i forbindelse med den foreliggende opfindelse, anvendes mindst et molært ækvivalent, sædvanligvis et overskud på f.eks. 10-30 ækvivalenter, af hydroxylaminen i et overskud af en svagt basisk tertiær amin (fortrinsvis pyridin) som opløsningsmiddel ved en temperatur i området 0-75 °C, hensigtsmæssigt i området 20-60 °C.

Når udgangsmaterialet er en ester, er det bekvemt at fjerne acetyl- og/eller propionylgrupperne på oximstadiet, hvilket let gennemføres ved anvendelse af over-

skud af koncentreret NH_4OH i methanol. Temperaturen er ikke kritisk, f.eks. er temperaturer på 0-50 °C sædvanligvis tilfredsstillende, men stuetemperatur er mest bekvemt.

5 Den resulterende erythromycin-D-oxim omlejres til 9a-
aza-9a-homoerythromycin D via en Beckman-omlejring.
De foretrukne betingelser består i anvendelse af et
overskud (f.eks. 2-4 molære ækvivalenter) af et orga-
nisk sulfonylchlorid, fortrinsvis p-toluensulfonyl-
10 chlorid, som omsættes med oximen (som fri base eller
som et syresalt) i en blanding af en lavere keton (f.
eks. methylethylketon, eller acetone) og vand indehol-
dende et stort molært overskud af en natriumbicarbonat
ved en temperatur på 0-50 °C, fortrinsvis ved 0-30 °C,
15 bekvemt ved stuetemperatur.

C-9-amidcarbonylgruppen i 9a-aza-9a-homoerythromycin D
reduceres derpå hensigtsmæssigt til det tilsvarende di-
hydro-derivat, dvs. 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin
D med formlen (IV), ved reduktion med natriumborhydrid
20 (fortrinsvis i overskud for at tvinge reaktionen til
fuldførelse på rimelig tid, men med mindst to ækviva-
lenter). Reduktionen gennemføres i et egnet protisk op-
løsningsmiddel, såsom en lavere alkanol (fortrinsvis
methanol) ved 0-50 °C, bekvemt ved stuetemperatur.

25 Endelig methylering af forbindelsen med formlen (IV)
til dannelse af forbindelsen med formlen (II) gennem-
føres ved reduktiv methylering under anvendelse af
formaldehyd i nærværelse af et reduktionsmiddel, så-
som hydrogen og en ædelmetalkatalysator, natriumcyan-
30 borhydrid eller, fortrinsvis, myresyre. Omsætningen
gennemføres fortrinsvis med mindst et ækvivalent (sær-
lig foretrukket ca. 2 ækvivalenter) af både formalde-
hyd og myresyre i et reaktionsinert opløsningsmiddel

ved 20-100 °C, fortrinsvis ved 40-70 °C. Det foretrukne opløsningsmiddel er chloroform. Ved "reaktionsinert opløsningsmiddel" forstås ethvert opløsningsmiddel, som ikke vekselvirker med reagenser eller produkter på en måde, som påvirker udbyttet af det ønskede produkt i uheldig retning.

Da forbindelsen (II) ifølge opfindelsen indeholder to basiske nitrogenatomer, dannes der farmaceutisk acceptable mono- eller disyreadditionssalte ved, at den frie base (II) bringes i kontakt med henholdsvis i det væsentlige et ækvivalent af syren eller mindst to ækvivalenter af syren. Saltene dannes almindeligvis ved kombineret af reagenserne i et reaktionsinert opløsningsmiddel. Hvis saltet ikke udfælder direkte, isoleres det ved koncentreret og/eller tilsætning af et ikke-opløsningsmiddel. Egnede farmaceutisk acceptable syreadditionssalte inkluderer f.eks. saltene med HCl, HBr, HNO₃, H₂SO₄, HO₂CCH₂CH₂CO₂H, cis- og trans-HO₂CCHCHCO₂H, CH₃SO₃H og p-CH₃C₆H₄SO₃H.

Den antibakterielle aktivitet af forbindelsen med formelen (II) påvises ved måling af dens minimale inhiberende koncentrationer (MIC) i µg/ml over for en række forskellige mikroorganismer i hjerne-hjerte-infusions-(BHI)-væske. Almindeligvis anvendes 12 dobbeltfortyndinger af prøveforbindelsen, hvor begyndelseskoncentrationen af prøvemidlet er i området 50-200 µg/ml. Prøveorganismens modtagelighed (MIC) accepteres som den laveste koncentration af forbindelsen, som er i stand til at frembringe fuldstændig inhibering af vækst bedømt med det blotte øje. En på samme dag gennemført sammenligning af aktiviteten af 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D (II) med aktiviteten af en erythromycin D-, erythromycin-A- og 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin-A-kontrol er vist i tabel I.

TABEL I

In vitro aktivitet af forbindelsen med
formel (II) og beslægtede forbindelser

		MIC-værdier (,ug/ml)			
		(1)	(2)	(3)	(4)
Staph. aur.	005	0,05	0,39	0,20	0,39
	052	0,10	0,39	0,39	0,78
	400	6,25	6,25	25	(a)
Staph. epi	111	0,05	0,20	0,10	0,39
Strep. faec.	006	0,39	0,39	1,56	3,12
Strep. pyog.	203	0,025	0,025	0,025	0,025
E. coli	125	(a)	(a)	12,5	25
	129	(a)	(a)	6,25	12,5
	266	(a)	(a)	6,25	12,5
	470	1,56	3,12	0,78	0,39
Kleb. pn.	009	(a)	(a)	12,5	50
	031	(a)	(a)	12,5	50
Kleb. oxy.	024	(a)	(a)	25	50
Past. mult.	001	0,78	6,25	0,10	0,20
Serr. mar.	017	(a)	(a)	50	(a)
Neiss. sic.	000	3,12	6,25	0,39	0,78
Ent. aerog.	040	(a)	(a)	12,5	50
Ent. cloac.	009	(a)	(a)	25	(a)
Prov. strua.	013	(a)	(a)	50	(a)
H. influ.	012	3,12	25	--	3,12
	036	3,12	50	0,78	3,12
	038	1,56	25	0,78	1,56
	042	3,12	25	0,78	3,12
	051	3,12	12,5	1,56	3,12
	073	3,12	50	0,78	0,39
	078	1,56	12,5	0,39	0,78
	081	3,12	25	0,78	3,12

(a) Større end 50

(1) Erythromycin A

(2) Erythromycin D

(3) 9-Deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin A

(4) 9-Deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D

Desuden prøves forbindelsen (II) in vivo ved den velkendte musebeskyttelsesprøvning eller ved en mikrobiologisk bestemmelse (bioprøvning) af serumniveauer i en række forskellige pattedyr (f.eks. mus, rotte, hund). Under anvendelse af mus som forsøgsdyr har forbindelsen (II) vist sig at absorberes særdeles godt efter oral dosering og give yderst høje og langvarige serumniveauer.

Til behandling af systemiske infektioner hos dyr, herunder mennesker, forårsaget af modtagelige mikroorganismer, doseres forbindelsen (II) i et niveau på 2,5-100 mg/kg/dag, fortrinsvis 5-50 mg/kg/dag, i opdelte doser, eller fortrinsvis i en enkelt daglig dosis. Variation i dosering vil blive foretaget afhængigt af individet og af mikroorganismens modtagelighed. Disse forbindelser doseres oralt eller parenteralt, idet den foretrukne indgivningsvej er oral. Modtageligheden af mikroorganismer isoleret i klinikkerne prøves rutinemæssigt i kliniske laboratorier ved den velkendte skive-plade-metode. Forbindelsen (II) er almindeligvis den, der vælges, når den viser en relativt stor inhiberingszone over for den bakterie, der er årsag til den infektion, som skal behandles.

Fremstilling af optimale doseringsformer foregår under anvendelse af inden for farmacien velkendte metoder. Til oral indgivning sammensættes forbindelserne alene eller i kombination med farmaceutiske bærere, såsom inerte faste fortyndingsmidler, vandige opløsninger eller forskellige ikke-toxiske organiske opløsningsmidler, i sådanne doseringsformer som gelatinkapsler, tabletter, pulvere, pastiller, sirupper og lignende. Sådanne bærere inkluderer vand, ethanol, benzylalkohol, glycerol, propylenglycol, vegetabiliske olier, lactose, stivelser, talkum, gelatiner, gummier og andre velkendte bærere. De parenterale doseringsformer, som kræves til den ovennævnte systemiske anvendelse, opløses eller suspenderes i en farmaceutisk

acceptabel bærer, såsom vand, saltopløsning, sesamolie og lignende. Midler, som forbedrer suspenderbarheds- og dispersionskvaliteterne, kan også tilsættes.

5 Til topisk behandling af overfladeinfektioner hos dyr, herunder mennesker, forårsaget af modtagelige mikroorganismer, sammensættes forbindelsen (II) ved velkendte metoder inden for farmacien til lotioner, salver, cremer, geler eller lignende i koncentrationer i området 5-200 mg/cm³ af doseringsformen, fortrinsvis i området 10-100 mg/cm³. Doseringsformen påføres infektionsstedet 10 ad libitum, almindeligvis mindst én gang om dagen.

I det følgende illustreres opfindelsen ved en række eksempler.

EKSEMPEL 1

15 3",4"-di-O-acetylerythromycin-D-oxim

3",4"-di-O-acetylerythromycin D (2,0 g, 2,54 mmol) og hydroxylamin-hydrochlorid (3,17 g, 45,7 mmol) blev indført i 55 ml pyridin og omrørt i 24 timer ved 55 °C. Derpå blev reaktionsblandingen hældt ud i en blanding 20 af H₂O og CH₂Cl₂. Den vandige fase blev skilt fra og ekstraheret med frisk CH₂Cl₂. De organiske lag blev forenet med et lige så stort volumen frisk H₂O, og pH-værdien blev indstillet på 10,0 med fortyndet NaOH. Det basiske vandige lag blev skilt fra og ekstraheret med 25 frisk CH₂Cl₂. De organiske lag blev forenet, tørret over Na₂SO₄ og inddampet, hvilket gav den i overskriften angivne forbindelse som et skum, 1,94 g.

13C-NMR (CDCl₃): 175,6; 170,3; 170,0; 103,6; 98,1; 84,0; 84,5; 77,8; 75,1; 70,9; 68,8; 65,5; 62,8; 44,7; 40,2; 40,0; 38,7; 32,8; 29,7; 27,2; 25,7; 25,3; 23,0; 22,5; 21,5; 20,7; 19,0; 18,3; 11,8; 10,5; 9,6; 9,2.

EKSEMPEL 2Erythromycin-D-oximMetode A

Erythromycin D (200 mg, 0,284 mmol),hydroxylamin-hydrochlorid (296 mg, 4,26 mmol) og 5 ml pyridin blev forenet og opvarmet ved 70 °C i 4 timer. Derpå blev reaktionsblandingen under omrøring hældt ud i en blanding af 20 ml mættet NaCl, 10 ml H₂O og 30 ml CH₂Cl₂. Den i overskriften angivne forbindelse blev isoleret som beskrevet i det foregående eksempel i form af et hvidt skum, 171 mg.

¹³C-NMR (CDCl₃); 174,7; 169,6; 104,7; 98,5; 85,5; 83,9; 76,5; 76,3; 75,4; 75,2; 70,8; 70,3; 69,3; 69,1; 65,4; 65,3; 44,5; 40,5; 40,1; 39,7; 39,6; 38,6; 37,4; 32,4; 28,7; 26,8; 25,5; 25,2; 25,1; 21,3; 21,1; 18,8; 18,4; 15,9; 11,8; 10,4; 9,2; 8,9.

Metode B

1,92 g af den i eksempel 1 fremstillede forbindelse blev kombineret med en blanding af 50 ml methanol og 50 ml koncentreret NH₄OH, og blandingen blev omrørt i 16 timer ved stuetemperatur. Derpå blev reaktionsblandingen udhældt i 200 ml mættet NaCl, 200 ml H₂O og 300 ml CH₂Cl₂, hvorefter den i overskriften angivne forbindelse blev isoleret som et skum som beskrevet i det foregående eksempel, 1,67 g. Denne forbindelse er identisk med produktet fremstillet ved metode A.

EKSEMPEL 3(A) 9a-Aza-9a-homoerythromycin D

Til en opløsning af den i det foregående eksempel fremstillede forbindelse (1,84 g, 2,56 mmol) i 180 ml acetone tilsattes under omrøring 1,18 g NaHCO_3 (14 mmol) efterfulgt af 60 ml H_2O . Derpå tilsattes p-toluensulfonylchlorid (976 mg, 5,12 mmol), og blandingen blev omrørt i 2 timer, hvorefter den blev udhældt i 1:1 mættet $\text{NaCl}:\text{H}_2\text{O}$ og CH_2Cl_2 i lige store rumfang. Når pH-værdien var mindre end 9,5, blev den indstillet på denne værdi med fortyndet NaOH . Det vandige lag blev skilt fra og ekstraheret med frisk CH_2Cl_2 . Derpå blev de organiske lag forenet, tørret og inddampet, hvorved man fik et råprodukt af den i overskrift (A) angivne forbindelse. Udbytte: 2,24 g, større end det teoretiske.

(B) 9-Deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin D

Hele portionen af råprodukt fra (A) (2,24 g, formentlig svarende til 2,56 mmol) blev opløst i 50 ml methanol. NaBH_4 (920 mg, 24,3 mmol) blev tilsat portionsvis i løbet af 4 minutter. Herved konstateredes kraftig gasudvikling. Efter omrøring i 45 minutter blev reaktionsblandingen inddampet til et volumen på 10 ml, og den herved dannede suspension blev hældt ud i 150 ml 2:1 mættet $\text{NaCl}/\text{H}_2\text{O}$ og 75 ml CH_2Cl_2 , hvorefter råproduktet blev isoleret som et skum som beskrevet i de foregående eksempler. Råproduktet blev fordelt mellem 30 ml H_2O og 30 ml CH_2Cl_2 , og pH-værdien blev indstillet på 5,1 med fortyndet HCl . Den vandige fase blev skilt fra og ekstraheret med frisk CH_2Cl_2 . Den vandige fase blev derpå indstillet på pH 6,1 med fortyndet NaOH og ekstraheret med 1 x 30 ml frisk CH_2Cl_2 . Endelig blev den vandige fase indstillet på pH 9,5, hvorefter produktet blev ekstraheret i 2 x 30 ml frisk CH_2Cl_2 . Eks-

trakterne ved pH 9,5 blev forenet, tørret og inddampet, hvilket gav 781 mg 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin D som et hvidt skum.

¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8; 104,5; 97,5; 84,6; 81,0; 76,5; 75,7; 74,1; 73,4; 70,7; 70,6; 69,7; 69,3; 69,2; 66,1; 65,4; 57,0; 56,3; 45,0; 42,9; 41,6; 40,5; 40,2; 38,1; 30,3; 28,5; 27,6; 25,6; 24,6; 22,8; 22,0; 21,3; 18,1; 15,0; 12,8; 10,3; 9,4; 9,1.

EKSEMPEL 4

10 9-Deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D

Den i det foregående eksempel fremstillede 9-deoxo-forbindelse (760 mg, 1,08 mmol) blev forenet med 37 % HCHO (0,162 ml, 2,16 mmol) og HCO₂H (0,075 ml, 2,05 mmol) i 35 ml CHCl₃ og omrørt ved 50-55 °C i 6 timer. Derpå blev blandingen hældt ud i 30 ml 2:1 mættet NaCl/H₂O, og pH-værdien blev indstillet på 9,5 med fortyndet NaOH. Det vandige lag blev skilt fra og ekstraheret med frisk CHCl₃. De organiske lag blev forenet, tørret og inddampet, hvilket gav 732 mg af den i overskriften angivne forbindelse som et hvidt skum.

¹³C-NMR (CDCl₃): 178,0; 104,4; 97,1; 84,2; 80,2; 76,4; 75,6; 74,6; 74,1; 70,8; 69,7; 69,6; 69,3; 66,2; 65,5; 62,2; 44,9; 43,1; 41,7; 40,5; 40,2; 38,4; 37,0; 28,5; 27,9; 27,0; 25,6; 24,7; 22,1; 21,3; 18,1; 14,6; 10,2; 9,5; 9,3; 7,6.

P a t e n t k r a v :

1. 9-deoxo-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin D og farmaceutisk acceptable syreadditioner deraf.
2. 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin D til anvendelse som udgangsmateriale ved fremstilling af forbindelserne ifølge krav 1.