



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235048

(11)

(B2)

- (22) Přihlášeno 28 02 83
(21) [PV 7628-83]

(32) (31) (33) Právo přednosti od 01 03 82
[353547] Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 13 08 84

(45) Vydáno 15 02 87

(51) Int. Cl.³
C 07 H 17/08
//A 61 K 31/71

- (72)
Autor vynálezu SCIAVOLINO FRANK CHRISTIAN, NIAITIC, CONNECTICUT,
GUADLIANA MARK ALAN, GALES FERRY, CONNECTICUT (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu PFIZER INC., NEW YORK, NEW YORK (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby semisynthetických makrolidů

1

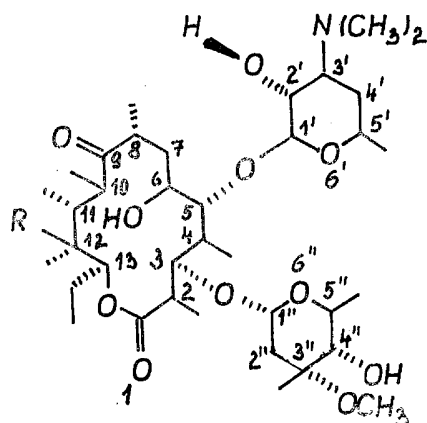
2

Předmětem vynálezu je způsob výroby semisynthetických makrolidů, které jsou deriváty 9-dihydro-4"-epierythromycinu A za jeho 11,12-karbonátů tak, že se podrobí hydrogenaci 4"-desoxy-4"-oxoerythromycin A za přítomnosti Raneyova niklu jako katalyzátoru při tlaku 9,8 MPa, načež se popřípadě

- a) acyluje 2'-hydroxyskupina,
- b) působí na 9-dihydro-4"-epierythromycin A ethylenkarbonátem za vzniku 11,12-karbonátu a
- c) produkt se převede na z farmaceutického hlediska přijatelnou sůl s kyselinou.

Vynález se týká způsobu výroby semisyn-
tických makrolidů, zejména 9-dihydro-4"-
epierythromycinu A a rovněž jeho 11,12-
-karbonátů.

Erythromycin je antibiotikum, které se
tvoří při pěstování kmene *Streptomyces e-*
rythreus ve vhodném prostředí, jak bylo po-
psáno v US patentovém spisu č. 2 653 899.
Erythromycin, který je produkován ve dvou
formách, A a B, je možno vyjádřit následu-
jícím obecným vzorcem



Erythromycin

R

A

-OH

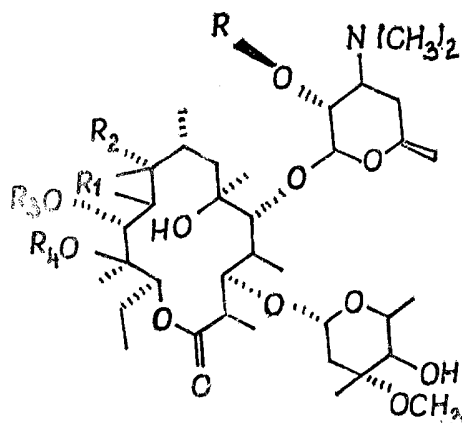
B

-H

Byla připravena řada derivátů erythromy-
cinu ve snaze pozměnit jeho biologické ne-
bo farmakodynamické vlastnosti.

V US patentovém spisu č. 3 417 077 je po-
psán reakční produkt erythromycinu a e-
thylenkarbonátu jako velmi účinná antibak-
teriální látka. V US patentu č. 3 884 903 se
popisují deriváty 4"-deoxy-4"-oxoerythromy-
cinu A a B jako cenná antibiotika a v US
patentovém spisu č. 4 150 220 se popisuje
nový způsob výroby 4"-oxoerythromycinu A
a jeho použití jako meziprojektu, který ve-
de k dalším antibakteriálním látkám. 9-Di-
hydroerythromycin A byl popsán v publika-
ci K. Gerzon, a další, J. Am. Chem. Soc., **78**,
6396 (1956) a M. V. Sigel a další J. Am.
Chem. Soc. **78**, 388 (1956).

Semisyntetické makrolidní antibakteriál-
ní sloučeniny, které je možno získat způso-
bem podle vynálezu, je možno vyjádřit o-
becným vzorcem

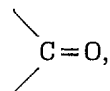


kde

R znamená atom vodíku, alkanoyl o 2 až
3 atomech uhlíku nebo ethylsukcinyly,

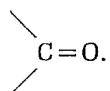
R₁ a R₂ mohou znamenat nezávisle na so-
bě hydroxyskupinu a atom vodíku

R₃ a R₄ znamenají atomy vodíku nebo spo-
lu tvoří skupinu



jakož i z farmaceutického hlediska přijatel-
né adiční soli těchto sloučenin s kyselina-
mi.

Skupinou výhodných sloučenin jsou ty
látky, v nichž R₁ znamená hydroxyskupi-
nu, R₂ znamená atom vodíku a R₃ a R₄ společně
tvoří skupinu

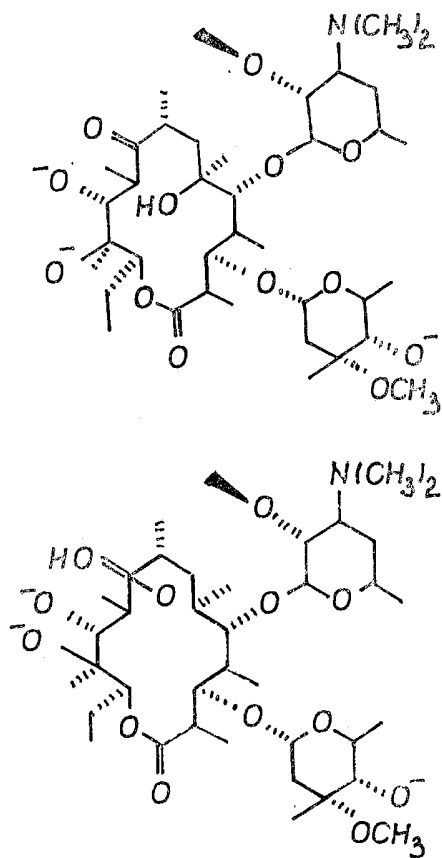


Zvláště výhodnými látkami této skupiny
jsou 9-dihydro-4"-epierythromycin A-11,12-
-karbonát a
9-dihydro-2'-acetyl-4"-epierythromycin A-
-11,12-karbonát.

Další výhodnou skupinou sloučenin jsou
ty látky, v nichž R₁ znamená hydroxyskupi-
nu, R₂ znamená atom vodíku a R₃ a R₄ zna-
menají atomy vodíku. Zvláště výhodnými
sloučeninami této skupiny jsou
9-dihydro-4"-epierythromycin A a
9-dihydro-2'-acetyl-4"-epierythromycin A.

Je zcela zřejmé, že makrolidy typu ery-
thromycinu se substituentem na hydroxy-
skupinách 11, 12 mohou existovat i ve for-

mě poloketalu, přičemž tato forma je v rovnováze s ketoformou, jak je znázorněno na následujícím schématu:



Všechny struktury, které mohou potenciálně existovat ve dvou formách, budou dále uváděny v ketoformě, přestože do oboru vynálezu samozřejmě spadají obě formy.

9-Dihydro-4'-epierythromycin A je možno získat redukcí 4"-deoxy-4"-oxoerythromycinu A (US patentový spis č. 4 150 220) působením Raneyova niklu. Reakce se provádí při teplotě místnosti při počátečním tlaku 9,8 MPa v rozpouštědle, inertním za reakčních podmínek. Za těchto reakčních podmínek je redukce obvykle dovršena v průběhu 12 až 14 hodin, s výhodou přes noc. Výhodným rozpouštědlem jsou nižší alkanoly, například ethanol, methanol nebo isopropanol. Hmotnostní poměr Raneyova niklu k makrolidnímu antibiotiku je 5 : 1. Po dovršení reakce se katalyzátor oddělí filtrací a filtrát se odpaří, čímž se získá výsledný produkt, který je možno čistit běžným způsobem.

9-Dihydro-4'-epierythromycin A 11,12-karbonát je možno získat tak, že se působí na 9-dihydro-4'-epierythromycin A ethylenkarbonátem v rozpouštědle, které je inertní za reakčních podmínek, například v toluenu nebo v benzenu. Je výhodné použít tří až pětinašobný přebytek ethylenkarbonátu k makrolidu, aby bylo možno zajistit dovršení reakce. Tento přebytek je možno přidat na počátku reakce nebo rozděleně v průběhu reakce. Reakce se provádí při teplotě 40

až 60 °C výhodná reakční teplota je 55 °C. Při této reakční teplotě je reakce dovršena v průběhu 4 až 5 hodin. Produkt je možno izolovat tak, že se na reakční směs působí vodou, směs se okyslí k rozpuštění makrolidu ve vodné fázi, načež se alkalizuje po předchozím odstranění nežádoucích vedlejších produktů nebo případného přebytku ethylenkarbonátu.

Acylace 9-dihydro-4'-epierythromycin-A 11,12-karbonátu vede ke vzniku odpovídajících 2'-acylderivátů. Uvádí se v reakci ekvimolární množství anhydridu, popřípadě až 10 % přebytek s příslušným makrolidem v rozpouštědle, které je inertní za reakčních podmínek.

Výhodnými rozpouštědly jsou s vodou nemísitelná, aprotická rozpouštědla, jako methylenchlorid, toluen, ethylacetát a chloroform.

Reakce se běžně provádí při teplotě místnosti, reakční směs je však možno chladit na teplotu 0 °C nebo zahřívát na teplotu varu pod zpětným chladičem. Při teplotě místnosti je reakce v podstatě ukončena v průběhu 5 až 7 hodin.

Po dovršení reakce se přidá voda, produkt se izoluje z organické fáze a čistí.

Acylaci 2'-hydroxyskupiny, je rovněž možno provádět acylhalogenidem, například chloridem nebo bromidem. V případě, že se užije acylhalogenidu jako acylačního činidla, je výhodné přidat alespoň ekvivalentní množství sloučeniny, která váže kyselinu, například hydrogenuhlíkatu sodného. Mimoto v případě, že acylačním činidlem je halogenid kyseliny, je výhodným rozpouštědlem aceton a po skončení reakce se směs vlije do směsi vody a rozpouštědla, nemísitelného s vodou, produkt se izoluje z organické vrstvy.

Při využití chemoterapeutické účinnosti těchto sloučenin, vyrobených způsobem podle vynálezu, které vytvářejí soli, je samozřejmě výhodné použití solí, přijatelných z farmaceutického hlediska. Přestože nerozpustnost některých solí ve vodě; jejich vysoká toxicita nebo neschopnost krystalizovat činí některé soli neschopné pro farmaceutické použití, je tyto soli možno převádět na odpovídající soli, které již jsou z farmakologického hlediska přijatelné rozkladem a tvorbou nové soli nebo převedením na adiční soli kyselinou.

Příkladem kyselin, vhodných z farmaceutického hlediska mohou být kyseliny chlorovodíková, bromovodíková, jodovodíková, dusičná, sírová, siřičitá, fosforečná, octová, mléčná, citrónová, vinná, jantarová, maleinová, glukonová a asparagová.

Nové erythromycinové deriváty, vyrobené způsobem podle vynálezu jsou in vitro účinné proti celé řadě grampozitivních mikroorganismů jako *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes* a proti některým gramnegativním mikroorganismům, zejména

kulovitého nebo oválného tvaru (koky). Účinnost je možno prokázat pokusy in vitro proti různým mikroorganismům v nálevu z mozkové a srdeční tkáně běžnou zředovací technikou. Jejich účinnost in vitro umožňuje jejich použití pro místní aplikaci ve formě mazání, krémů a podobně, ke sterilizaci, například může běžet o předměty v nemocničních místnostech a jako antimikrobiální látky pro průmyslové použití, například jako konzervační prostředky pro vodu, barvy a dřevo nebo k zamezení tvorby slizu.

Při použití in vitro, například při místním podání se sloučeninou s antimikrobiální účinností obvykle mísí s nosičem, přijatelným z farmaceutického hlediska, například s rostlinným nebo minerálním olejem nebo se zvláčňovadlem. Je tedy možno účinné látky také rozpouštět nebo dispergovat v kapalných nosičích nebo rozpouštědlech, jako jsou voda, alkohol, glykoly nebo směsi těchto látek nebo jiná inertní prostředí, přijatelná z farmaceutického hlediska, to jest prostředí bez škodlivého účinku na účinnou složku. Pro tyto účely se obvykle užívá koncentrace účinné látky 0,01 až 10 hmotnostních %, vztaženo na celkovou hmotnost prostředku.

Řada sloučenin, vyrobených způsobem podle vynálezu je účelná také proti gram pozitivním a některým gramnegativním mikroorganismům in vivo, například proti *Pasteurella multocida* a *Neisseria sicca* při orálním a/nebo parenterálním podání u živočichů včetně člověka. Jejich účinnost in vivo je poněkud omezena, jak je možno prokázat běžnými pokusy na myších přibližně stejné hmotnosti, které jsou infikovány příslušným mikroorganismem a léčeny perorálně nebo podkožně zkoumanou látkou.

Postupuje se tak, že se například 10 myším intraperitoneálně podá zředěná kultura, která obsahuje 1 až 10 dávek LD₁₀₀ (nejnižší koncentrace, vyvolávající 100% uhybnutí). Současně se provádí kontrolní pokusy, v nichž se myším podává mikroorganismus v malém zředění jako kontrola variace virulence pokusného organismu. Zkoumaná látka se podá 1/2 hodiny po nálezu a podání se opakuje po 4, 24 a 48 hodinách. Přezívané myši se chovají ještě 4 dny po posledním ošetření a zaznamenává se množství přežívajících.

Při použití in vivo je možno nové sloučeniny, vyrobené způsobem podle vynálezu podávat perorálně nebo parenterálně, například podkožně nebo nitrosvalově v dávce, která se pohybuje v rozmezí 25 až 200 miligramů/kg a den. Výhodná dávka je 150 až 200 mg/kg a den.

Vhodným nosičem pro parenterální podání je buď vodný roztok jako voda, isotonický roztok chloridu sodného, nebo destrózy, Ringerův roztok nebo roztoky nevodné povahy, například roztoky v olejích rostlinného původu, jako v oleji z bavlníkových semen, v arašídovém oleji, kukuřičném oleji nebo

sezamovém oleji, roztoky v dimethylsulfidu a dalších rozpouštědlech nevodné povahy, která nereagují s účinnou látkou, neovlivňují tuto látku a nejsou toxické v použitém množství. Jde například o glycerol, propylenglykol nebo sorbitol. Je také možno účinnou látku zpracovat na prostředky, vhodné pro příležitostné rozpuštění těsně před použitím.

Uvedené prostředky mohou obsahovat kapalná ředidla jako propylenglykol, diethylkarbonát, glycerol, sorbitol a podobně, pufrý, hyaluronidázu, místní anestetika a anorganické soli k zajištění požadovaného farmakologického účinku.

Uvedené sloučeniny je také možno mísit s různými inertními nosiči, přijatelnými z farmaceutického hlediska, například pevnými ředidly, rozpouštědly vodné povahy, netoxickými organickými rozpouštědly, a je možno je zpracovat na kapsle, tablety, sublinguální prostředky, práškové směsi, suspenze, roztoky, elixíry a roztoky nebo suspenze pro parenterální podání. Obecně je možno uvést, že se účinné látky užívají v různých dávkách v koncentracích 0,5 až 90 hmotnostních % celkové hmotnosti prostředku.

Vynález bude osvětlen následujícími příklady.

Příklad 1

9-dihydro-4"-epierythromycin A 11,12-karbonát

A. 9-dihydro-4"-epierythromycin A

Suspenze 50 g (68,3 mmolů) 4"-deoxy-4"-oxoerythromycinu A (US patent č. 4 150 220) a 250 g Raneyova niklu v 500 ml ethanolu se protřepává v dusíkové atmosféře při počátečním tlaku 9,8 MPa přes noc při teplotě místnosti. Směs se zfiltruje prostředkem super-cel a filtrát se zahustí ve vakuu na bezbarvou kapalinu, která se čistí překrytlováním ze směsi acetonu a vody, čímž se získá 37 g produktu o teplotě tání 139 až 143 °C NMR-spektrém má absorpci při 3,31 (3H, s) a 2,31 (6H, s) ppm.

B. 9-dihydro-4"-epierythromycin A 11,12-karbonát

Do baňky o objemu 2 litry, opatřené mechanickým míchadlem a teploměrem se vloží 60 g 9-dihydro-4"-epierythromycinu A, 300 g ethylenkarbonátu, 150 g uhličitanu draselného a 600 ml toluenu a směs se míchá 4,5 hodiny na olejové lázni při teplotě 55 °C. Zchlazená reakční směs se vlije do 600 ml vody a organická fáze se oddělí a vlije se do 600 ml čerstvé vody. Pak se upraví pH na hodnotu 2,5 a organická fáze se oddělí a odloží. Vodná vrstva se promyje 600 ml toluenu a pak se smísí se 600 ml me-

thylenchloridu a pH směsi se upraví na 9,5.

Organická vrstva se oddělí promyje se dvakrát 400 ml vody a jedenkrát 400 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, načež se vysuší síranem sodným. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, čímž se získá 98 g surového produktu, který se čistí překrystalováním ze směsi ethanolu a vody. Získá se 28,5 g čistého produktu o teplotě tání 131 až 135 °C. Tento produkt je v každém směru totožný s produktem, který byl získán způsobem podle příkladu 9. NMR-spektrum (CDCl_3) má absorpci při 3,26 (3H, s), 2,30 (6H, s) a 1,46 (3H, s) ppm.

Příklad 2

9-dihydro-2'-acetyl-4"-epierythromycin A 11,12-karbonát

K roztoku 1,5 g 9-dihydro-4"-epierythromycin A 11,12-karbonátu v 15 ml methylenchloridu se přidá 0,214 ml anhydridu kyseliny octové a reakční směs se míchá 6 hodin při teplotě místnosti. Pak se směs vlije do 25 ml vody a pH se upraví na 9,5. Organická fáze se oddělí, promyje se vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, načež se vysuší síranem sodným. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, čímž se získá 1,4 gramů výsledného produktu. NMR-spektrum (CDCl_3) má absorpci při 3,29 (3H, s), 2,25 (6H, s), 2,0 (3H, s), 1,43 (3H, s) ppm.

Příklad 3

9-dihydro-2'-propionyl-4"-epierythromycin A 11,12-karbonát

Obdobným způsobem jako v příkladu 11 se získá z 1,5 g 9-dihydro-4"-epierythromycin A 11,12-karbonátu a 0,306 ml anhydridu kyseliny propionové v 15 ml methylenchloridu po 5 hodinách v průběhu reakce celkem 1,41 g výsledného produktu. NMR-spektrum (CDCl_3) má absorpci při 3,32 (3H, s), 2,27 (6H, s) a 1,46 (3H, s) ppm.

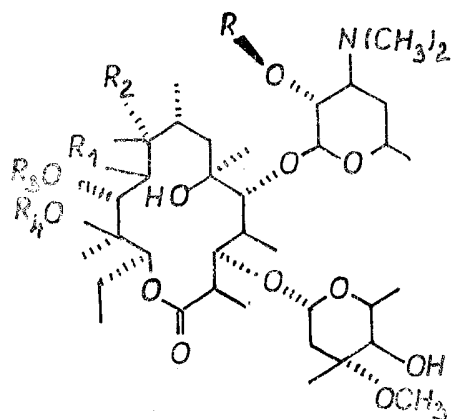
Příklad 4

9-dihydro-2'-(2-ethoxykarbonylpropionyl)-4"-epierythromycin A 11,12-karbonát

K roztoku 1,4 g 9-dihydro-4"-epierythromycin A 11,12-karbonátu v 15 ml acetonu se za stálého míchání přidá 1 g hydrogenuhlíčitanu sodného a pak ještě 0,421 ml ethylsukcynylchloridu a směs se míchá 6,5 hodiny při teplotě místnosti. Pak se směs vlije do směsi vody a methylenchloridu a pH se upraví na 9,5. Organická fáze se oddělí, promyje se vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, načež se vysuší síranem sodným. Odpařením rozpouštědla ve vakuu se získá 1,6 g výsledného produktu. NMR-spektrum (CDCl_3) má absorpci při 3,31 (3H, s), 2,62 (4H, s), 2,27 (6H, s) a 1,47 (3H, s) ppm.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby semisynthetických makrolidů obecného vzorce



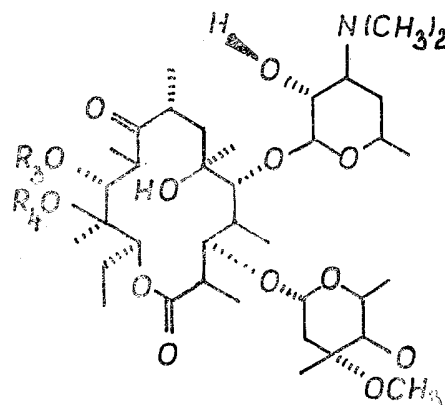
kde

R znamená atom vodíku, alkanoyl o 2 až 3 atomech uhlíku nebo ethylsukcynyl,

R₁ a R₂ znamenají nezávisle na sobě hydroxyskupinu a atom vodíku,

R₃ a R₄ znamenají atomy vodíku nebo spolu tvoří skupinu C=O, jakož i adičních solí těchto látek s kyselinami, přijatelných z farmaceutického hlediska, vyznačující se

tím, že se hydrogenuje sloučenina obecného vzorce



za přítomnosti Raneyova niklu jako katalyzátoru, načež se popřípadě

a) převede výsledný produkt na sloučeninu, v níž R znamená alkanoyl o 2 až 3 atomech uhlíku nebo ethylsukcynyl reakcí s příslušným halogenidem kyseliny nebo anhydridem obecného vzorce RCI , RBr nebo R_2O , kde R má výše uvedený význam s výjimkou atomu vodíku,

b) převede produkt, v němž R₃ a R₄ zna-

11

menají atomy vodíku, na sloučeninu, v níž
R₃ a R₄ tvoří skupinu



12

reakcí s ethylenkarbonátem,
c) výsledný produkt převede na sůl, přijatelnou z farmaceutického hlediska reakcí s vhodnou kyselinou.