(19) DANMARK

(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **161706 B**

PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: **4349/85**

(22) Indleveringsdag: **25 sep 1985**

(41) Alm. tilgængelig: **27 mar 1986**

(44) Fremlagt: **05 aug 1991**

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: **26 sep 1984 IT 3581/84**

(51) Int.Cl.[5] **C 07 D 498/22**
**//(C 07 D 498/22,**
**C 07 D 213:00,**
**C 07 D 235:00,**
**C 07 D 267:00,**
**C 07 D 307:00)**

(71) Ansøger: ***ALFA FARMACEUTICI S.P.A.; Via Ragazzi del '99 No. 5; I-40133 Bologna, IT**

(72) Opfinder: **Vicenzo *Cannata; IT, Gian Franco *Tamagnone; IT, Manuela *Campana; IT, Silvano *Piani; IT, Raul Roberto *Alpino; IT**

(74) Fuldmægtig: **Th. Ostenfeld Patentbureau A/S**

# (54) Fremgangsmåde til fremstilling af pyrido-imidazo-rifamyciner

(56) Fremdragne publikationer

DK ans. nr. 5309/78 (= DK fremlskrift nr. 155797)
US pat. nr. 4341785

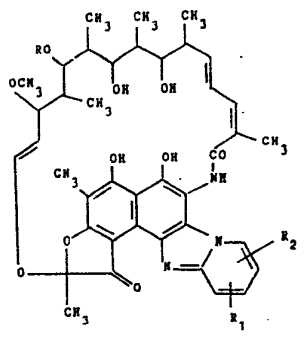
(57) Sammendrag:

hvor R er hydrogen eller acetyl, $R_1$ og $R_2$ uafhængigt betegner hydrogen, $(C_{1-4})$-alkyl, benzyloxy, mono- eller di-$(C_{1-3})$-alkyl-amino-$(C_{1-4})$-alkyl, $(C_{1-3})$-alkoxy-$(C_{1-4})$-alkyl, hydroxymethyl, hydroxy-$(C_{2-4})$-alkyl, cyano, halogen, nitro, mercapto, $(C_{1-4})$--alkylthio, phenylthio, carbamoyl, mono- eller di-$(C_{1-4})$-alkyl-carbamoyl, eller $R_1$ og $R_2$ sammen med to nabocarbonatomer i pyridinkernen danner en benzenring, der eventuelt er substitueret med 1 eller 2 methyl- eller ethylgrupper, fremstilles ved, at ét molækvivalent rifamycin B omsættes med fra cirka 1 til cirka 9 molækvivalenter af en 2-aminopyridin i nærvær af et passende oxidationsmiddel.

Til brug ved fremgangsmåden anvendes kommercielt tilgængelige udgangsmaterialer.

4349-85

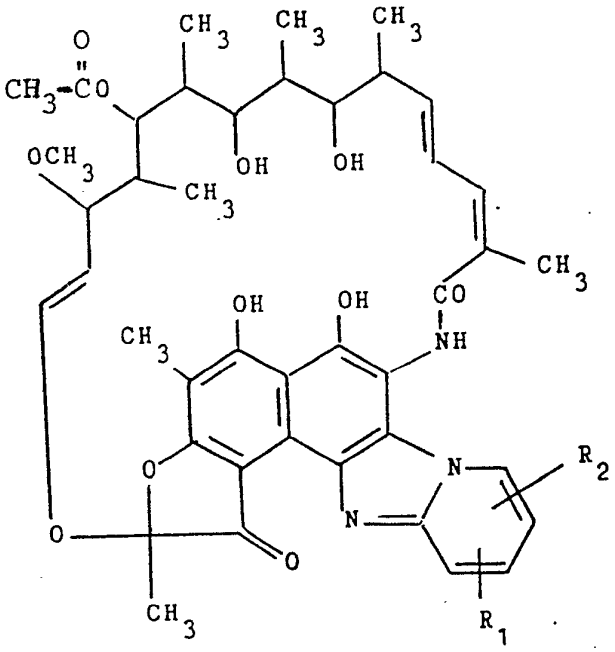
Pyrido-imidazo-rifamyciner med formlen



I

DK 161706 B

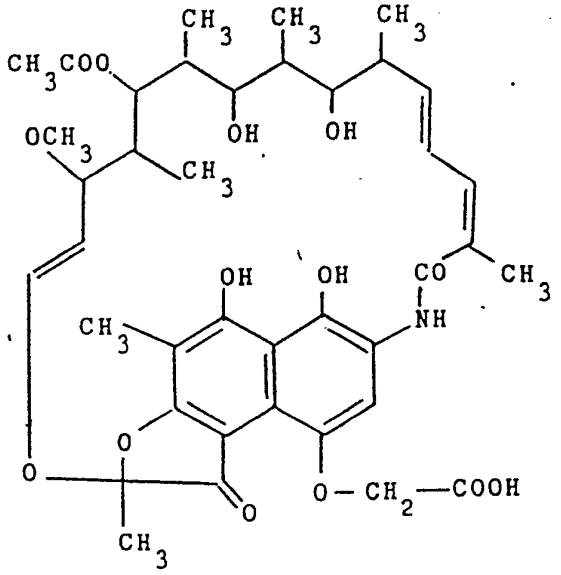
Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af pyrido-imidazo-rifamyciner med formlen



I

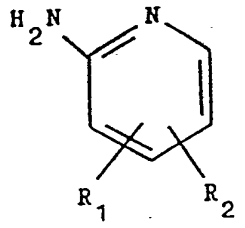
hvor $R_1$ og $R_2$ uafhængigt betegner hydrogen, $(C_{1-4})$-alkyl, eller halogen, eller $R_1$ og $R_2$ sammen med to nabocarbonatomer i pyridinkernen danner en benzenring.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at man omsætter én molækvivalent rifamycin B med formlen



II

med fra 1 til 9 molækvivalenter 2-aminopyridin med formlen



III

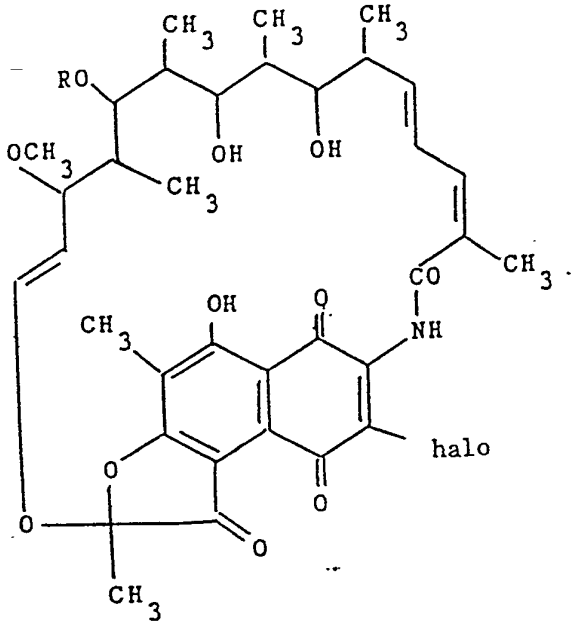
hvor $R_1$ og $R_2$ har de ovenfor anførte betydninger, og med fra 1 til 4 molækvivalenter af et passende oxidationsmiddel i nærvær af et opløsningsmiddel eller et opløsningsmiddelsystem ved en temperatur imellem stuetemperatur og kogepunktet for reaktionsblandingen i et tidsrum imellem 10 og 100 timer og om nødvendigt derefter behandler reaktionsblandingen med et passende reduktionsmiddel.

Nogle af forbindelserne med formel (I), nærmere betegnet de forbindelser, hvori $R_1$ og $R_2$ uafhængigt betegner hydrogen eller ($C_{1-4}$)-alkyl, eller $R_1$ og $R_2$ sammen med to nabocarbonatomer i pyridinkernen danner en benzenring, er kendte inden for patentlittera-turen, se f.eks. US patentskrift nr. 4.341.785.

Andre forbindelser med formel (I), nærmere betegnet de forbindelser, hvori mindst én af $R_1$ eller $R_2$ betegner halogen, er beskrevet i den offentligt tilgængelige italienske patentansøgning nr. 3626 A/82.

I disse to referencer beskrives også en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne med formel (I).

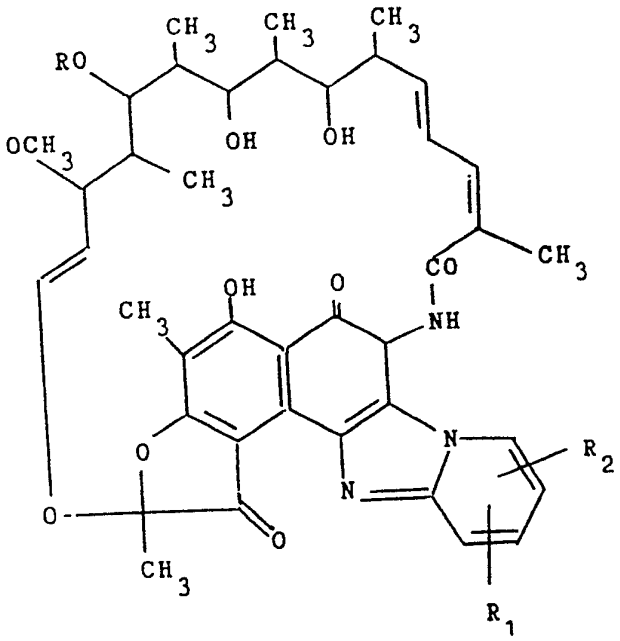
I korthed udførtes den kendte fremgangsmåde ved omsætning af en molær mængde 3-halogen rifamycin S med formlen



IV

hvor R betegner hydrogen eller acetyl og halo fortrinsvis betegner brom eller iod, med fra 2 til 8 molækvivalenter af en passende 2-amino-pyridin med formel (III).

Herved opnås en forbindelse med formlen



V

hvori R, $R_1$ og $R_2$ har de ovenfor anførte betydninger, hvilken forbindelse fortrinsvis isoleres og karakteriseres og dernæst behandles med ascorbinsyre til opnåelse af slutprodukterne med formel (I) eller de tilsvarende deacetylforbindelser.

Selv om udbyttet fra de to nævnte trin beregnet i forhold til udgangsforbindelsen (IV) undertiden er temmeligt godt (mellem cirka 45% og cirka 75%), har fremgangsmåden beskrevet i US patentskrift nr. 4.341.785 alvorlige begrænsninger, idet udgangsforbindelsen (IV) ikke er et kommercielt produkt, men hver gang skal fremstilles ud fra rifamycin S ved passende halogeneringsprocesser, f.eks. den fra DK patentansøgning nr. 5309/78 kendte. Fra DK patentansøgning nr. 5309/78 kendes således en fremgangsmåde til fremstilling af 3-iod-rifamycin S og 3-brom-rifamycin S i et udbytte på hhv. 81,5% og 85,5%. Kombineres den fra DK patentansøgning nr. 5309/78 kendte fremgangsmåde med den fra ovennævnte US patentskrift nr. 4.341.785 kendte opnås en tretrinsproces, hvor f.eks. udbyttet af 4-deoxy-4'-methyl-pyrido[1',2';1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV bliver 62,5%, hvilket er væsentligt ringere end udbyt-tet opnået ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, specielt i betragtning af, at fremgangsmåden ifølge opfindelsen er industrielt mere attraktiv, da

den forløber i et enkelt trin og ikke kræver anvendelse af kostbare og toxiske reagenser som brom og iod.

I det foreliggende betegner ($C_{1-4}$)-alkyl ligekædede eller forgrenede alkylgrupper, nemlig methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sec.-butyl, isobutyl og tert.-butyl.

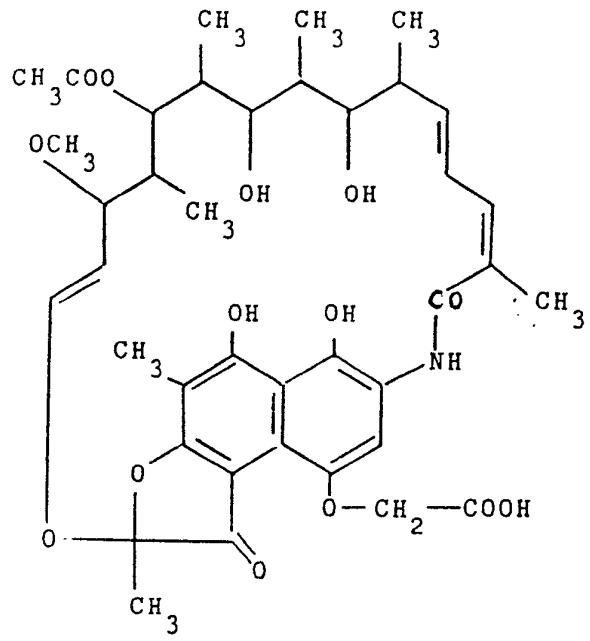
Forbindelserne med formel (I) har fremragende antibakterielle egenskaber både in vitro og in vivo. På grund af deres ringe absorption i dyrs organer og væv ved oral administrering har de vist sig at være særligt egnede til behandling af microbielle infektioner i mave- og tarmkanalen.

Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse er en betydelig forbedring sammenlignet med den hidtil kendte fremgangsmåde. Rifamycin B, der er et kommercielt produkt, anvendes ifølge opfindelsen som udgangsforbindelse. Denne forbindelse opnås let ved fermentation af Streptomyces mediterranei som beskrevet i Antibiotics Annual 1959-1960, pp. 262-270, 1960 og i tysk patentskrift nr. 1.113.288 og af Streptomyces mediterranei ATCC 21789 som beskrevet i belgisk patentskrift nr. 799.122.

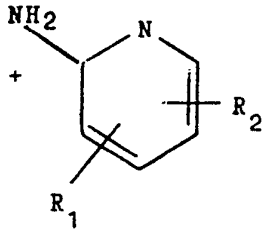
Rifamycin B omsættes ifølge opfindelsen under milde betingelser med en udvalgt 2-aminopyridin med formel (III) og med et passende oxidationsmiddel i et egnet opløsningsmiddel eller opløsningsmiddelsystem, hvorfra der ved hjælp af metoder, som er kendte for fagmanden, isoleres de ønskede slutprodukter med formel (I), hvor $R_1$ og $R_2$ har de ovenfor anførte betydninger, i udbytter, der varierer fra cirka 65% til cirka 80% beregnet ud fra det som udgangsmateriale anvendte rifamycin B.

Omsætningen af forbindelserne med formel (II) og (III) i nærvær af et egnet oxidationsmiddel forløber i kun ét trin og belyses med følgende reaktionsskema, hvor $R_1$ og $R_2$ har de ovenfor anførte betydninger.

SKEMA I

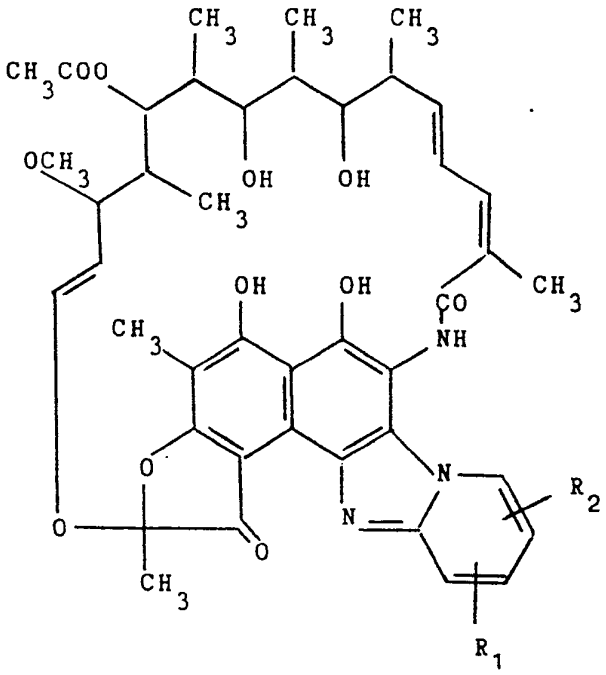


II



III

oxidations-
middel



I

I praksis omsættes en molær mængde rifamycin B med formel (II) med fra 1 til 9 molækvivalenter af en 2-aminopyridin med formel (III) og fortrinsvis fra 2 til 4 molækvivalenter af den nævnte aminopyridin og fra 1 til 4 molækvivalenter af et passende oxidationsmiddel.

Oxidationsmidlet kan anvendes enten i opløsning i reaktionsmediet, i suspension eller opløst i et opløsningsmiddel, der ikke er blandbart med reaktionsopløsningsmidlet. Når et molært overskud af oxidationsmiddel i forhold til rifamycin B anvendes, skal slutreaktionsblandingen behandles med et egnet reduktionsmiddel, almindeligvis en vandig opløsning af ascorbinsyre, for at opnå slutproduktet med formel (I).

Mange oxidationssystemer kan anvendes med fordel, enten organiske eller uorganiske, såsom alkylnitritter, quinoner, organiske peroxider, hydrogenperoxid, luft og oxygen eventuelt i nærvær af katalysatorer, iod, mangandioxid, blytetracetat, alkalipersulfater, ferrisalte, kuprisalte, mercurisalte, alkaliferricyanider, mercurioxid og alkalihypochloritter. Iod, mangandioxid, kaliumferricyanid og natriumhypochlorit i vandig opløsning foretrækkes.

Reaktionen udføres i nærvær af et opløsningsmiddel eller et opløsningsmiddelsystem, der generelt er udvalgt blandt dem, der almindeligvis anvendes i rifamycin-kemien. For eksempel anvendes med fordel aromatiske hydrocarboner såsom benzen og toluen, lavere halogenerede hydrocarboner såsom methylenchlorid, chloroform, 1,2-dichlorethan og analoge, lavere alkanoler såsom methanol, ethanol, propanol, isopropanol eller n-butanol. Lavere alkylestere af lavere alifatiske syrer, acetonitril, dioxan og tetrahydrofuran kan med fordel også anvendes. Disse opløsningsmidler kan anvendes alene, blandet med hinanden eller blandet med vand i forskellige volumetriske forhold. De opløsningsmidler, der har givet de bedste resultater, er benzen, toluen, lavere halogenerede hydrocarboner, lavere alkanoler alene eller blandet med vand, acetonitril, dioxan og tetrahydrofuran.

Reaktionen finder sted ved normalt tryk og inden for vide temperaturgrænser, nemlig mellem stuetemperatur og reaktionsblandingens kogepunkt. En temperatur mellem stuetemperatur og cirka 60°C giver normalt absolut tilfredsstillende resultater.

Reaktionen løber til ende inden for en tidsperiode, der hovedsageligt er afhængig af beskaffenheden af aminopyridinen med formel (III) og de forhold, hvorunder reaktionen udføres. Der kræves fra 10 til 100 timer for at opnå slutprodukterne med formel (I) i de ønskede udbytter.

De således opnåede forbindelser med formel (I) isoleres fra reaktionsmediet i overensstemmelse med konven-tionelle teknikker. Således fjernes for eksempel overskuddet af uomsat aminopyridin med formel (III) fra den organiske fase ved hjælp af en vandig opløsning af en mineralsyre. Den organiske fase separeres dernæst og tørres eventuelt over et egnet middel som for eksempel natriumsulfat, og slutproduktet med formel (I) opnås ved at afdampe opløsningsmidlet. Alternativt opnås de ønskede forbindelser ved krystallisation fra reak-tionsmediet ved en temperatur på cirka $0^{o}C$ til $10^{o}C$, når der anvendes opløsningsmiddelsystemer indeholdende vand.

Forbindelserne med formel (I) kan, om nødvendigt, renses ved krystallisation fra egnede opløsningsmidler eller opløsningsmiddel-systemer.

Opfindelsen belyses i det følgende nærmere ved hjælp af eksempler.

IR spektra blev foretaget i KBr med et "Perkin-Elmer 281-B"-spektrofotometer.

$^{1}H$-NMR og $^{13}C$-NMR spektra foretoges i deuterochloroform med et "Varian XL 100"-spektrofotometer under anvendelse af tetramethylsilan som intern standard. UV spektra foretoges i absolut methanol med et "Perkin-Elmer 552"-spektrofotometer.

Eksempel 1

4-deoxy-4'-methyl-pyrido[1',2':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

7,5 g (0,01 mol) rifamycin B, 4,3 g (0,04 mol) 2-amino-4-methyl-pyridin og 2,5 g (0,01 mol) iod opløstes i 60 ml methylenchlorid, og den således opnåede opløsning henstod ved stuetemperatur i 15 timer. Efter at reaktionsblandingen var blevet vasket, først med 40 ml af en vandig 2N opløsning af saltsyre og dernæst med vand, og den organiske fase var blevet tørret over natriumsulfat, fjernedes methylenchloridet ved afdampning under vakuum.

Der opnåedes en remanens, som krystalliseredes med ethanol og vand 7:3 (vol/vol). Udbytte 5,3 g (67% af det teoretiske). Smp. $200^{o}$-$205^{o}C$ (dekomponering).

UV Spektrum:

| λ max (mμ) | $E^{1}$1cm |
|---|---|
| 232 | 489 |
| 260 | 339 |
| 292 | 295 |
| 320 | 216 |
| 370 | 119 |
| 450 | 159 |

IR Spektrum: karakteristiske absorptionsbånd observeredes ved følgende frekvenser (i $cm^{-1}$): 3440 (b), 2960 (st), 2920 (st), 2860 (sv), 2820 (msv), 1705 (st), 1640 (st), 1580 (st), 1500 (st).
b = bred, s = stærk, sv = svag, msv = meget svag.

$^{1}$H-NMR Spektrum: karakteristiske resonanstoppe observeredes ved følgende δ (udtrykt som ppm): -0,56 (d,3H); 0,14 (d,3H), 0,74 (d,3H), 0,94 (d,3H), 1,94 (s,3H), 1,98 (s,3H), 2,02 (s,3H), 2,26 (s,3H), 2,63 (s,3H), 3,00 (s,3H), 3,2-3,9 (m,3H), 4,15-5,20 (m,2H), 5,9-6,9 (m,4H), 7,06 (dd,1H), 7,38 (s,1H), 8,39 (s,1H), 8,43 (d,1H), 11,0 (s,1H), 13,12 (s,1H).
s = singlet, d = dublet, m = multiplet, dd = dublet af dublet.

$^{13}$C-NMR Spektrum: karakteristiske resonanstoppe observeredes ved følgende δ (udtrykt som ppm): 6,98, 8,06, 8,21, 10,76, 17,56, 20,43, 20,78, 21,44, 22,35, 32,91, 36,93, 37,78, 38,59, 56,99, 72,65, 73,91, 76,75, 77,86, 97,83, 103,86, 104,09, 108,97, 109,99, 112,03, 114,96, 115,52, 117,61, 119,26, 122,99, 125,35, 128,44, 128,96, 136,21, 138,87, 141,75, 142,10, 147,74, 155,10, 170,63, 171,89, 182,19, 188,84.

Eksempel 2

4-deoxy-isoquinolino[2',1':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

Ved i alt væsentligt at følge det foregående eksempel opnåedes ud fra 7,5 (0,01 mol) rifamycin B og 4,3 g (0,03 mol) 1-amino-isoquinolin og 2,5 g (0,01 mol) iod, 5,8 g af titelforbindelsen (71% af det teoretiske). Smp. 181-186°C (dekomponering).

UV Spektrum:

| λ max (mμ) | $E^{1}$1cm |
|---|---|
| 253 | 532 |
| 288 | 363 |
| 300 | 346 |
| 320 | 290 |
| 382 | 120 |
| 430 | 129 |

IR Spektrum: karakteristiske absorptionsbånd observeredes ved følgende frekvenser (i $cm^{-1}$): 3440 (b), 3140 (b), 2910 (st), 2850 (sv), 1700 (st), 1630 (b), 1610 (b), 1580 (sv), 1555 (msv), 1535 (msv).
b = bred, s = stærk, sv = svag, msv = meget svag.

$^{1}$H-NMR Spektrum: karakteristiske resonanstoppe observeredes ved følgende δ (udtrykt som ppm): -0,65 (d,3H), 0,04 (d,3H), 0,7 (d,3H), 0,88 (d,3H), 1,55 (s,3H), 1,92 (s,3H), 2,02 (s,3H), 2,27 (s,3H), 2,77 (d,1H), 2,94 (s,3H), 3,00-3,90 (m,4H), 4,78 (d,1H), 4,93 (q,1H), 5,75-7,00 (m,4H), 7,34 (d,1H), 7,6-8,0 (m,6H), 16,6 (m,1H).
s = singlet, d = dublet, m = multiplet, q = kvartet.

Eksempel 3

3'-brom-4-deoxy-pyrido[1',2':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

Ved at følge eksempel 1 opnåedes ud fra 7,5 g (0,01 mol) rifamycin B, 3,5 g (0,02 mol) 2-amino-5-brom-pyridin og 2,5 g (0,01 mol) iod 6,4 g (udbytte 75% af det teoretiske) af titelforbindelsen.

UV Spektrum:

| λ max (mμ) | $E_{1}$1cm |
|---|---|
| 225 | 481 |
| 238 | 502 |
| 298 | 345 |
| 330 | 185 |
| 378 | 107 |
| 450 | 133 |

IR Spektrum: karakteristiske absorptionsbånd observeredes ved følgende frekvenser (i $cm^{-1}$): 3440 (b), 3220 (sv), 2960 (st), 2925 (m), 2870 (m), 1725 (sv), 1715 (st), 1655 (sv), 1635 (st), 1600 (mst).
b = bred, m = medium, sv = svag, st = stærk, mst = meget stærk.

$^{1}$H-NMR Spektrum: karakteristiske resonanstoppe observeredes ved følgende $\delta$ (udtrykt som ppm): -0,56 (d,3H), 0,13 (d,3H), 0,80 (d,3H), 0,85 (d,3H), 1,91 (s,3H), 1,94 (s,3H), 2,02 (s,3H), 2,26 (s,3H), 2,98 (s,3H), 2,60-3,00 (m,1H), 3,25 (d,1H), 3,56 (s,1H), 3,38-3,80 (m,2H), 4,84 (d,1H), 5,00 (q,1H), 6,02 (d,1H), 6,00-7,00 (m,3H), 7,60 (d,1H), 7,87 (q,1H), 8,39 (s,1H), 8,56 (d,1H), 16,80 (s,1H)
s = singlet, d = dublet, q = kvartet, m = multiplet.

$^{13}$C-NMR Spektrum: karakteristiske resonanstoppe observeredes ved følgende $\delta$ (udtrykt som ppm): 7,13, 8,17, 10,86, 17,47, 20,41, 20,73, 21,28, 33,07, 37,12, 38,08, 38,77, 57,01, 72,94, 73,92, 76,80, 77,88, 98,48, 103,82, 105,11, 108,96, 109,28, 112,59, 112,81, 115,57, 116,33, 120,94, 123,38, 125,22, 129,06, 136,03, 136,80, 137,46, 141,96, 170,92, 171,59, 171,81, 182,62, 187,68.

Eksempel 4

4-deoxy-4'-methyl-pyrido[1',2':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

En opløsning af 7,5 g (0,01 mol) rifamycin B og af 3,2 g (0,03 mol) 2-amino-4-methyl-pyridin i 60 ml methylenchlorid tilsattes 3,3 g (0,01 mol) kaliumferricyanid, og reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 24 timer. Reaktionsblandingen vaskedes først med 40 ml 1N vandig opløsning af saltsyre og dernæst med vand til neutralisering. Det organiske lag isoleredes, tørredes over natriumsulfat, opløsningsmidlet afdampedes under vakuum, og der opnåedes en remanens, som krystalliseredes fra ethanol/vand = 7/3 (vol/vol). Udbytte 5,9 g (75% af det teoretiske).

Det opnåede produkt har samme kemisk-fysiske karakteristika som det i eksempel 1 opnåede.

Eksempel 5

4-deoxy-4'-methyl-pyrido[1',2':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

7,5 g (0,01 mol) rifamycin B og 4,3 g (0,04 mol) 2-amino-4-methyl-pyridin opløst i 75 ml methylenchlorid tilsattes 10 ml 1M vandig opløsning af natriumhypochlorit, og den resulterende reaktionsblanding omrørtes ved stuetemperatur i 15 timer. Dernæst fraskiltes det vandige lag, og det organiske lag vaskedes først med 50 ml 2N vandig opløsning af saltsyre og dernæst med vand til neutralisering. Efter tørring over natriumsulfat afdampedes det organiske lag under vakuum, og remanensen krystalliseredes fra 7/3 (vol/vol) ethanol/vand-blanding, og der opnåedes 5,2 g (66% af det teoretiske) produkt med samme kemisk-fysiske karakteristika som det i eksempel 1 opnåede.

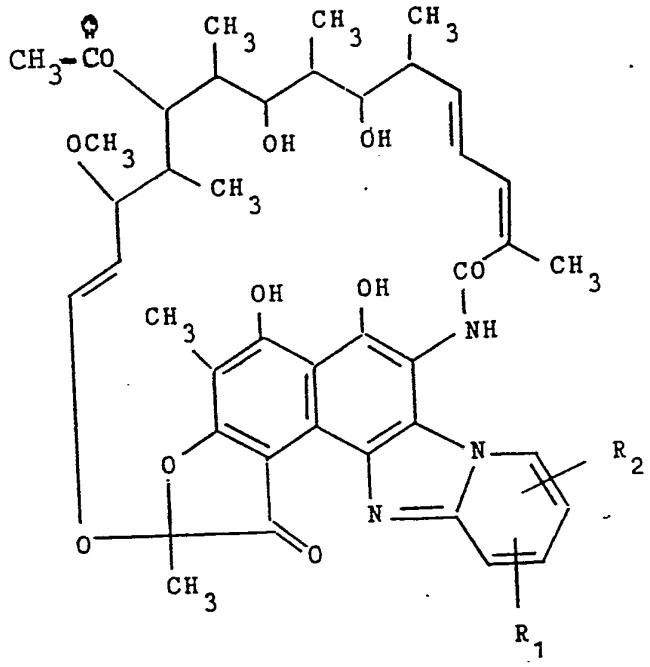
Eksempel 6

4-deoxy-4'-methyl-pyrido[1',2':1,2]imidazo[5,4-c]rifamycin SV

En suspension af 75 g (0,1 mol) rifamycin B, 43 g (0,4 mol) 2-amino-4-methyl-pyridin og 26 g (0,3 mol) mangandioxid i 250 ml aceonitril omrørtes ved stuetemperatur i 24 timer. Reaktionsblandingen filtreredes, fortyndedes med 800 ml methylenchlorid og behandledes i 15 minutter med 100 ml 25% (vægt/vol) vandig opløsning af ascorbinsyre. Dernæst vaskedes det organiske lag med 400 ml 2N vandig opløsning af saltsyre og dernæst med vand til neutralisering. Efter tørring over natriumsulfat afdampedes opløsningsmidlet, remanensen krystalliseredes fra 7/3 (vol/vol) ethanol/vand, og der opnåedes efter tørring 61 g (78% af det teoretiske) produkt med de samme kemisk-fysiske karakteristika som det, der opnåedes i eksempel 1.

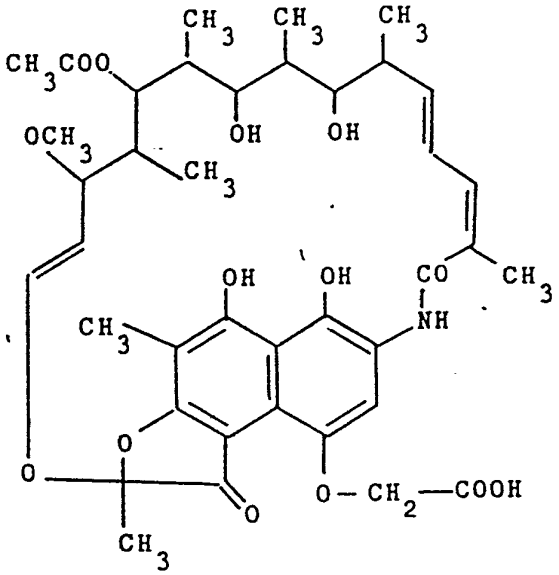
PATENTKRAV

1. Fremgangsmåde til fremstilling af pyrido-imidazo-rifamyciner med formlen



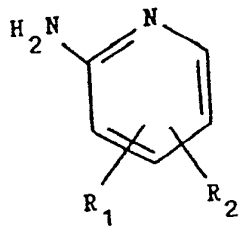
I

hvor $R_1$ og $R_2$ uafhængigt betegner hydrogen, $(C_{1-4})$-alkyl eller halogen, eller $R_1$ og $R_2$ sammen med to nabocarbonatomer i pyridinkernen danner en benzenring, KENDETEGNET ved, AT man omsætter én mol-ækvivalent rifamycin B med formlen



II

med fra 1 til 9 molækvivalenter 2-aminopyridin med formlen



III

hvori $R_1$ og $R_2$ har de ovenfor anførte betydninger, og med fra 1 til 4 molækvivalenter af et passende oxidationsmiddel i nærvær af et opløsningsmiddel eller et opløsningsmiddelsystem ved en temperatur imellem stuetemperatur og kogepunktet for reaktionsblandingen i et tidsrum imellem 10 og 100 timer og om nødvendigt derefter behandler reaktionsblandingen med et passende reduktionsmiddel.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT der for hvert molækvivalent rifamycin B anvendes fra 2 til 4 molækvivalenter 2-aminopyridin med formel (III).

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT oxidationsmidlet er udvalgt blandt alkylnitritter, quinoner, organiske peroxider, hydrogenperoxid, luft og oxygen eventuelt i nærvær af katalysatorer, iod, mangandioxid, blytetraacetat, alkalipersulfater, ferrisalte, kuprisalte, mercurisalte, alkaliferricyanider, mercurioxid og alkalihypochloritter.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 3, KENDETEGNET ved, AT oxidationsmidlet er udvalgt blandt iod, kaliumferricyanid, natriumhypochlorit i vandig opløsning og mangandioxid.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT opløsningsmidlet eller opløsningsmiddelsystemet er udvalgt blandt lavere halogenerede hydrocarboner, lavere alkanoler, lavere alkylestere af lavere alifatiske syrer, acetonitril, dioxan og tetrahydrofuran alene, blandet med hinanden eller blandet med vand i forskellige volumetriske forhold.