PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3106-97

(19)

ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **01. 10. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **24.10.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/19644195**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17. 06. 98**
(Věstník č. 6/98)

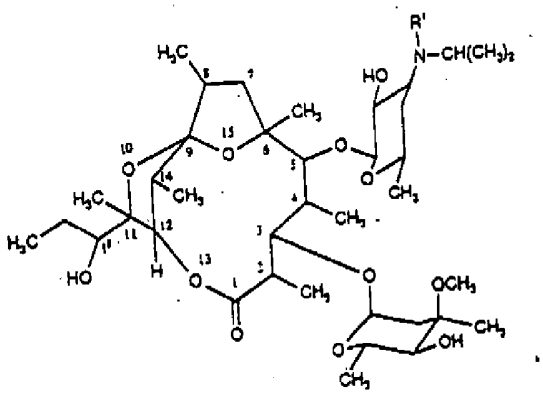
(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[6]:
C 07 H 17/08
A 61 K 31/365

(71) Přihlašovatel:
SOLVAY PHARMACEUTICALS GMBH, Hannover, DE;

(72) Původce:
Höltje Dagmar, Gehrden, DE;
Preuschoff Ulf, Uelzen/Oldenstadt, DE;
Eeckhout Christian, Lindwedel, DE;
Finner Emil, Isernhagen, DE;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha 4, 14021;



(54) Název přihlášky vynálezu:
Deriváty 10,13,15-trioxatricyklo [9.2.1.1.9.6] pentadekanonu, způsob jejich přípravy a léčiva, obsahující tyto sloučeniny

(57) Anotace:
Deriváty N-desmetyl-N-izopropyl-erytromycinu A obecného vzorce /I/ vhodné k léčení poruch motility v gastrointestinálním traktu. Produkty se získají kysele katalyzovanou intramolekulární spirocyhlizací výchozí látky při pokojové teplotě.

CZ 3106-97 A3

01.10.97

Deriváty 10,13,15-trioxatricyklo [9.2.1.1.$^{9.6}$] pentadekanonu, způsob jejich přípravy a léčiva, obsahující tyto sloučeniny.

Oblast techniky

Předložený vynález se týká nových sloučenin [(1'R),2R,3S,4S,5R, 6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1' -hydroxypropyl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-0-metyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-amino-β--D-xylohexopyranosyl)-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo[9.2.1.1.$^{9.6}$]-pentadekan-1-onu, substitovaných na atomu dusíku, s agonistickými vlastnostmi motilinu a jejich adičních solí kyselin, jakož i farmaceutických přípravků, obsahujících tyto sloučeniny a způsobu přípravy těchto sloučenin. Sloučeniny, podle vynálezu, jsou N-desmetyl-N-izopropyl-spiroacetalové deriváty erytromycinu A se zmenšenými kruhy.

Dosavadní stav techniky

Antibiotikum erytromycin A má také, jak známo, vedle svých antibiotických účinků, pro antibiotika nežádoucí gastrointestinální vedlejší účinky, mimo jiné silný vzrůst kontrakční aktivity v oblasti trávicícho ústrojí se žaludečními a střevními křečemi, nevolností, zvracením a průjmem.

Existovalo vícero pokusů, modifikovat erytromycin A tak, aby se získaly deriváty, u nichž se prakticky nevyskytuje žádný antibiotický účinek, avšak je zachován účinek, ovlivňující motilitu gastrointestinálního traktu. Z patentové přihlášky EP 0 550 895 jsou známy deriváty N-desmetyl-N-izopropyl-erytromycinu A se zmenšenými kruhy, s gastrointestinálně účinnými agonistickými vlastnostmi motilinu.

Podstata vynálezu

Předložený vynález si klade za úlohu, vyvinout nové orálně účinné deriváty erytromycinu A se zmenšenými kruhy bez antibiotického účinku a vlastnostmi se zlepšeným účinným profilem , příznivě ovlivňujícími motilitu gastrointestinálního traktu.

Bylo vynalezeno, že nové N-desmetyl-N-izopropyl-spiroacetalové

01.10.97

deriváty erytromycinu A se zmenšenými kruhy, mají selektivní agonistické vlastnosti motilinu a příznivým způsobem stimulují motilitu gastrointestinálního traktu a projevují zesilující účinky na tonus spodního jícnového svěrače a na tonus žaludku. Na základě svého účinného profilu se hodí látky podle vynálezu k léčení poruch motility v gastrointestinálním traktu a vyznačují se přitom dobrou snášenlivostí, dobrou orální účinností a dobrou stabilitou.

Předložený vynález se proto týká nových derivátů [(1'R),2R,3S,4S,5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1'-hydroxypropyl)-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo-[9.2.1.1.^{9,6}]-pentadekan-1-onu obecného vzorce I.

(viz vzorec I)

kde R^1 znamená metyl nebo vodík a jejich stabilních a fyziologicky únosných adičních solí kyselin.

Příznivou se ukazuje, zejména sloučenina vzorce I, kde R^1 znamená metyl.

Sloučeniny vzorce I lze získat tím, že se známým způsobem sloučeniny vzorce I, kde R^1 má shora uvedený význam, působením kyseliny převedou na deriváty [2R (2'R,3'R),3S,4S,5R,6R,10R,11R]-11-(2',3'-dihydroxypent-2'-yl)-2,4,6,8,10-pentametyl-12,13-dioxabicyklo [8.2.1.]tridec-8-en-1-onu obecného vzorce II

(viz vzorec II)

a v žádoucím případě se zavede, do získané sloučeniny vzorce I, kde R^1 znamená vodík, metylový zbytek nebo se ze získané sloučeniny, kde R^1 znamená metyl, metylový zbytek odštěpí a v žádoucím případě se převedou volné sloučeniny vzorce I na své stabilní adiční soli kyselin nebo se adiční soli kyselin převedou na volné sloučeniny vzorce I.

Sloučeniny vzorce I se získají protony katalyzovanou intramolekulární spirocyklizací sloučenin vzorce II. Spirocyklizace probíhá známým způsobem působením kyselin, výhodně ve vodném médiu, při nízkých hodnotách pH, například hodnotách pH nanejvýš 3, účelně při

01.10.97

pH 1,5 až 3. Jako kyseliny mohou být vůči ostatních funkčním skupinám sloučenin vzorců I a II použity inertní, ve vodě rozpustné anorganické nebo organické kyseliny. Je účelné, zabránit snížení hodnoty pH pod 1, čímž nedochází k žádným vedlejším hydrolyzačním reakcím. Vhodnými reakčními médii jsou např. vodné roztoky solí kyselin nebo vodný roztok kyseliny octové. Výhodně probíhá cyklizační reakce ve vodném roztoku kyseliny solné při pokojové teplotě.

Získaná sloučenina vzorce I, kde R^1 znamená vodík, může být alkylována známým způsobem na odpovídající sloučeninu s N-metylem. Alkylace může probíhat známým způsobem reakcí s metylhalogenidem nebo jako reduktivní alkylace reakcí s formaldehydem za redukčních podmínek a může být provedena, například při níže uvedených podmínkách, k alkylaci sloučenin vzorce III.

Ze sloučeniny vzorce I, kde R^1 znamená metyl, může být v žádoucím případě dodatečně odštěpen metylový zbytek. Demetylace může probíhat známým způsobem působením halogenu, zejména jodu anebo bromu, na sloučeninu v inertním rozpouštědle za přítomnosti vhodné zásady. Jako zásady se hodí například alkoholáty alkalických kovů, hydroxidy alkalických kovů a soli alkalických kovů slabých organických kyselin.

Sloučeniny vzorce I mohou být známým způsobem z reakční směsi izolovány a čištěny. Adiční soli kyselin mohou být převedeny známým způsobem na volné zásady a tyto se mohou v žádoucím případě převést známým způsobem na farmakologicky únosné adiční soli kyselin. K zabránění hydrolyzačních reakcí je účelné, použít k tvorbě soli pouze ekvivalentní množství kyselin.

Jako farmakologicky přijatelné adiční soli kyselin sloučenin vzorce I se hodí například jejich soli anorganických kyselin, např. kyseliny uhličité, halogenvodíkových kyselin, zejména kyseliny chlorovodíkové nebo organických kyselin, například nižších alifatických mono- nebo dikarbonových kyselin, jako kyselina maleinová, fumarová, mléčná, vinná nebo octová.

Na chiralitním centrum, vzniklém spirocyklizační reakcí na uhlíkovém atomu v pozici 8, se mohou vyskytovat 2 epimerní formy, takže jsou možné dva izomery sloučeniny vzorce I. Předložený vyná-

01.10.97

lez obsahuje nejen směs izomerů, ale i čisté izomerní sloučeniny vzorce I. Při cyklizační reakci vzniká směs izomerů. Čisté izomery mohou být získány ze směsi známým způsobem obvyklými dělicími postupy, například chromatografickým dělením.

Výchozí sloučeniny vzorce II jsou známy z patentové přihlášky EP 0 550 895 a mohou být připraveny způsobem, v ní popsaným. Tak mohou být sloučeniny vzorce II získány tím, že se do sloučenin obecného vzorce III

(viz vzorec III)

kde R^1 má shora uvedený význam, zavede známým způsobem izopropylový zbytek.

K zavedení izopropylového zbytku mohou být sloučeniny vzorce III alkylovány známým způsobem. Alkylace se výhodně provádí známým způsobem jako reduktivní, chemickou reakcí sloučeniny vzorce III s acetonem za redukčních podmínek. Sloučeniny vzorce III mohou reagovat například s acetonem za přítomnosti komplexních redukčních činidel, například borhydridových sloučenin, jako kyanoborhydrid sodný acetoxybordydrid sodný nebo borhydrid sodný. V žádoucím případě může probíhat alkylace, zejména té sloučeniny vzorce III, kde R^1 znamená metyl, také reakcí s izopropylhalogenidem, zejména izopropyljodidem nebo izopropylsulfátem nebo s esterem kyseliny izopropylsulfonové. Alkylace se účelně provádí v organickém rozpouštědle za inertních reakčních podmínek. K reduktivní alkylaci může sloužit jako rozpouštědlo, například přebytek acetonu. Dále je vhodným rozpouštědlem cyklický éter, jako tetrahydrofuran nebo dioxan, aromatické uhlovodíky, jako toluen nebo nižší alkoholy. Alkylace může probíhat při teplotách v rozmezí mezi pokojovou teplotou a teplotou bodu varu rozpouštědla. Při alkylaci s izopropylderivátem, například izopropylhalogenidem, jako izopropyljodid, se pracuje účelně za přítomnosti zásady, jako například s uhličitanem sodným nebo terciárním organickým aminem.

V žádoucím případě se může do získané sloučeniny vzorce II, kde R^1 znamená vodík, zavést metylový zbytek R^1 nebo se ze získané sloučeniny, kde R^1 znamená metyl, metylový zbytek R^1 odštěpí. Takovéto metylace nebo demetylace mohou probíhat známým způsobem,

01.10.97

například za podmínek, popsaných při zavádění nebo odštěpení metylové skupiny do nebo ze sloučeniny vzorce I.

Sloučeniny vzorce III mohou být získány známými metodami, vycházeje z erytromycinu A vzorce IV

(viz vzorec IV)

Erytromycin A tak může být nejdříve známým způsobem, například podle postupu, známého z patentu DE-OS 21 54 032, mono- nebo didemetylován, reakcí s halogenem, výhodně jodem, v inertním rozpouštědle za přítomnosti vhodné zásady. Jako zásady se hodí například alkoholáty alkalických kovů, hydroxidy alkalických kovů, uhličitany alkalických kovů a soli alkalických kovů slabých karbonových kyselin, jako například acetáty nebo propionáty alkalických kovů. Může být použito 1-10 ekvivalentího množství halogenu, vztaženo na množství sloučeniny erytromycinu, kterou je zapotřebí demetylovat. Pro demetylaci se využívá výhodně hydroxidů alkalických kovů anebo jejich solí. Množství zásady se zvolí výhodně tak, aby byla zajištěna hodnota pH v rozmezí 5-9. Vhodným rozpouštědlem je metanol, cyklický éter, jako dioxan nebo tetrahydrofuran, dimetylformamid nebo směsi známých rozpouštědel s vodou. Monodimetylace se provádí účelně při teplotách mezi pokojovou teplotou až 50°C. Reakce může být uskutečněna ozářením světlem, např. světlem o vlnové délce vyšší než 290 nm ze rtuťové nízkotlakové lampy s křemenným filtrem nebo žáruvzdorným sklem, (např. Pyrex ^{R}). Demetylace se výhodně provádí v suchém nízkém alkoholu, např. metanolu, za přítomnosti příslušných alkohátů alkalických kovů při teplotách mezi 0 - 10°C. V žádoucím případě lze při přípravě didemetylovaného produktu vycházet rovněž z monodimetylovaného produktu.

Mono- nebo didemetylovaný erytromycin A může být známým způsobem převeden působením mírné kyseliny na příslušný mono- nebo dimetylovaný 8,9-anhydroerytromycin-A-6,9-hemiketal obecného vzorce V

(viz vzorec V)

kde R^1 znamená vodík nebo metyl. Tvorba hemiketalu může probíhat například působením organické kyseliny, jako kyselina citronová, mravenčí nebo octová nebo zředěné minerální kyseliny při teplotách

PV 5106-94
NOVÁ

mezi pokojovou teplotou a cca 50°C.

Ve sloučeninách vzorce V může být provedeno známým způsobem, intramolekulární translaktonizací, zmenšení kruhu ze 14 členného laktonového kruhu skeletu erytromycinu na 12 členný laktonový kruh, za tvorby příslušných sloučenin vzorce III. K tomu se sloučeniny vzorce V zahřívají známým způsobem v nižším alkoholu, za přítomnosti zásady, například na teplotu mezi 40° až 70°C, výhodně na bod varu reakční směsi. Jako zásady jsou vhodné zejména uhličitany alkalických kovů nebo také organické zásady, jako terciární aminy, zejména terciární nízkoalkylované aminy. Při tomto zmenšení kruhu se nemění konfigurace chiralitních center.

Nové sloučeniny vzorce I a jejich fyziologicky únosné adiční soli kyselin mají zajímavé farmagologické vlastnosti, zejména agonistické vlastnosti motilinu, stimulující motilitu gastrointestinálního traktu. Přitom se vyznačují příznivým účinným profilem s dobrou orální účinností. Jsou zbaveny antibiotických účinků a mají vysokou selektivní afinitu k receptorům motilinu, zatímco v agonisticky účinném dávkovém pásmu motilinu neprojevují prakticky žádnou relevantní afinitu k ostatním receptorům v gastrointestinálním traktu, jako receptory adrenalin, acetylcholin, histamin, dopamin nebo serotonin. Tyto sloučeniny vykazují překvapivě dobrou jaterní snášenlivost, která je činí vhodnými pro jejich užívání na delší dobu.

Aby se zabezpečilo regulované trávení přijaté potravy, působí ve zdravém stavu autonomní nervový systém a hormony gastrointestinálního traktu společně, aby se vytvořila kontrakční činnost gastrointestinálního traktu, nejen přímo po požití potravy, nýbrž také při prázdném gastrointestinálním traktu. Motilin je známý gastrointestinální peptidový hormon, který stimuluje motilitu gastrointestinálního traktu a indukuje koordinovanou motilitu v celém gastrointestinálním traktu v lačném stavu, jakož i po požití potravy.

Sloučeniny vzorce I projevují fyziologické účinky motilinu tím, že se stávají účinnými, jako agonisté pro receptory motilinu. Sloučeniny vzorce I tak projevují vynikající stimulující účinky v trávicím ústrojí a na spodním jícnovém svěrači. Způsobují, především urychlení vyprázdnění žaludku, zvýšení žaludečního tonusu a dlouhotrvající zvýšení klidu tonusu jícnového svěrače. Na zák-

01.10.97

ladě svého účinného profilu motilinu, se hodí látky k léčení nemocných stavů, které jsou spojeny s poruchami motility v gastrointestinálním traktu anebo vracení kaše potravy ze žaludku do jícnu. Sloučeniny vzorce I se doporučují, například při gastroparitidě různého původu, poruchách tonusu žaludku, poruchách vyprazdňování žaludku a gastroezofagálního refluxu, dyspepsii a postoperačních poruchách motility.

Příklady provedení vynálezu

Gastrointestinálně účinné vlastnosti sloučenin vzorce I se dají prokázat farmagologickými zkušebními metodami ve zkumavce i v živém těle:

Popis testovacích metod.

1. Stanovení schopnosti zkušebních látek, vázat receptory motilinu.

Afinita sloučenin vzorce I k receptorům motilinu se zkouší ve zkumavce na frakci tkáňového homogenizátu z prepyrolitické části králičího žaludku. Stanovuje se vytlačení, radioaktivně jodem označeného motilinu, z vazby motilin-receptor, zkušebními látkami.

Studie vazby receptoru se provádějí podle modifikace metody Bormana a kol. (Regulátory peptidu 15 (1986), 143-153). K přípravě motilinu, označeného jodem^{125}, se motilin známým způsobem enzymaticky joduje, např. analogicky metodě, popsané Bloomem a kol. (Scand.J.Gastroenterol. 11 (1976) 47-52), za použití laktoperoxidázy.

K získání frakce tkáňového homogenizátu z prepyrolytické části králičího žaludku, použitého v testu, se prepyrolytická část žaludku, zbavená sliznice, rozdrtí a homogenizuje v 10ti násobném objemu chladného homogenizačního ústojného roztoku (50 mM pufru tris-HCl, 250 mM sacharózy, 25 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, pH 7,4) s přídavkem inhibitorů (1 mM jodacetamidu, 1 µM pepstatinu, 0,1 mM metylsulfonylfluoridu, 0,1 g/l inhibitoru trypsinu, 0,25 g/l bacitracinu), homogenizátorem, 15 sec. při 1500 otáčkách za minutu. Homogenizát se odstředuje po dobu 15 minut po 1000 g, získaný zbytek

01.10.97

se čtyřikrát promývá homogenizačním ústojným roztokem a nakonec se resuspenduje v 0,9%ním roztoku chloridu sodného (v objemu,odpovídajícím pětinásobnému váhovému množství prepyrolytické části žaludku). Takto získaná tkáňová frakce, která se označuje jako "surový membránový přípravek" se použije ke zkoušce.

K pokusu vazby se inkubuje 200 µl surové membránové frakce (0,5 - 1 mg proteinu) ve 400 µl ústojného roztoku A (50 mM pufru tris-HCl, 1,5 % BSA, 10 mM $MgCl_2$, ph 8,0) se 100 µl jodovaného motilinu v ústojného roztoku B (10 mM pufru tris-HCl, 1% BSA,pH 8), zředěno na (konečnou koncentraci 50 pM), 60 min. při 30 °C. Reakce se zastaví přídavkem 3,2 ml chladného ústojného roztoku B a vázaný i nevázaný motilin se od sebe oddělí odstředěním (1000 g, 15 minut) a změří ve sčítači impulsů gama. Studie sliznice jsou prováděny přídavkem, zvyšujícího se množství látky, kterou je třeba změřit, do inkubačního media. Jako zkušební roztoky látek se použijí vodné roztoky, které se připraví vhodným zředěním $60x10^{-4}$ molárních vodných kmenových roztoků. Zkušební látky, které jsou ve vodě těžko rozpustné, se rozpustí nejdříve v 60ti%ním etanolu a tento roztok se zředí takovým množstvím vody, aby koncentrace etanolu v roztoku, který je zapotřebí zkoušet, nepřesáhla 1,6% obj. Ze získaných naměřených dat se určí jako IC_{50}, koncentrace každé z měřených látek, která způsobí 50% inhibice specifické vazby jodovaného motilinu na receptory motilinu. Z této se pak vypočte příslušná hodnota pIC_{50}. Podle předcházející metody byla stanovena pro látku z příkladu 1 hodnota pIC_{50} 7,85.

2. Stanovení vlivu látek na tonus žaludku v živém těle.

Tonus žaludku hraje důležitou roli při vyprazdňování žaludku. Zvýšený tonus žaludku přispívá k jeho vyprazdňování.

Vliv látek na tonus žaludku se stanovuje na tonusu žaludku psí rasy Beagle pomocí barostatu, který je spojen s umělohmotným sáčkem v žaludku psa, a umožňuje měření objemu a tlaku žaludku psa. Barostatem se stanoví objem žaludku při konstantním tlaku v žaludku nebo tlak žaludku při jeho konstantním objemu. Při zvýšení tonusu žaludku se stanoví za určitého tlaku snížený objem žaludku a zvýšený tlak při určitém objemu. V modelu, použitém ke zkoušení látek, způsobujících zvýšení tonusu žaludku, se změří při konstantním

01.10.97

tlaku změna žaludku, způsobená látkami. Žaludek pokusného zvířete se relaxuje přijetím lipidů, t.j. tonus žaludku klesne, čímž se příslušně zvětší objem žaludku. Jako míra pro zvyšující se působení látek na tonus žaludku se v % měří vznikající redukce objemu žaludku, zvětšeného přídavkem lipidu po přijetí látky, opětným nárůstem žaludečního tonusu. Látka z příkladu 1, v maximálně tolerovatelné dávce, ukázala na tomto zkušebním modelu redukci, zvětšeného objemu žaludku po přídavku lipidu, o 69 %.

Na základě svých účinků v gastrointestinálním traktu jsou sloučeniny vzorce I vhodné v gastroenterologii jako léčiva pro větší savce, zejména člověka, k profylaxy a léčení poruch motility gastrointestinálního traktu.

Dávky, které je zapotřebí použít, mohou být individuálně různé a mohou se přirozeně měnit podle druhu stavu, který je zapotřebí léčit, a formy aplikace. Například parenterální formulace budou obsahovat všeobecně nižší množství účinné látky než orální preparáty. Všeobecně jsou však pro aplikace u větších savců; zejména člověka, vhodné lékové formy, s obsahem účinné látky od 1 do 100 mg v jednotlivé dávce.

Jako léčivé látky mohou být sloučeniny vzorce I obsaženy s obvyklými farmaceutickými pomocnými látkami v galenických přípravcích, jako. např. tabletách, kapslích, čípcích nebo roztocích. Tyto galenické přípravky mohou být vyrobeny podle známých metod, za použití obvyklých pevných nosičů, jako např. mléčného cukru, škrobu a talku nebo kapalných ředidel, jako např. vody, kapalných tuků nebo kapalných parafinů a s použitím farmaceuticky známých pomocných látek, například rozvolňovačů tablet, látek, zprostředkujících rozpouštění, nebo konzervačních prostředků.

Následující příklady mají vynález blíže objasnit, avšak jejich rozsah není žádným způsobem omezen.

Příklad 1

[(1'R),2R,3S,4S,5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1'-hydroxypropyl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)-oxy]-5-

01.10.97

[(3,4,6-trideoxy-3-(N-metyl-N-izopropylamino)-β-D-xylohexopyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo [9.2.1.1.$^{9.6}$]-pentadekan-1-onu (= směs izomerů sloučeniny vzorce I, R^1 = metyl)

A) Výroba N-desmetylerytromycinu A

20 g erytromycinu A (= 27,2 mmol) a 11,2 g (= 136,2 mmol) acetátu sodného bylo rozpuštěno ve 200 ml roztoku metanol/voda 8:2. Roztok byl zahřát na teplotu 47°C. Poté bylo přidáno 6,9 g (= 136,2 mmol) jodu. Hodnota pH byla udržována přídavkem zředěného vodného roztoku hydroxidu sodného na 8 až 9. Po 3 hodinách byla reakční směs ke zpracování vlita do směsi z 1 l vody a 20 ml roztoku hydroxidu amonného. Reakční směs byla extrahována etylesterem kyseliny octové a organický extrakt byl promyt hydroxidem amonným s obsahem vody a zahuštěn. Po odstranění rozpouštědla byl zbývající surový produkt překrystalován z roztoku aceton/hydroxid amonný 50:3. Bod tání 143-148°C.

B) Výroba N-desmetyl-8,9-anhydroerytromycin-A-6,9-hemiketalu (sloučenina vzorce V, R^1 = metyl)

21 g produktu, získaného způsobem A), bylo rozpuštěno ve 110 ml ledové kyseliny octové a roztok byl míchán po dobu 1 hodiny při pokojové teplotě. Poté byla reakční směs ke zpracování odkapána za chlazení ledem do 400 ml koncentrovaného roztoku hydroxidu amonného. Reakční směs byla extrahována etylesterem kyseliny octové, organický extrakt byl promyt vodou a bylo odtaženo rozpouštědlo. Surový produkt, zbývající jako zbytek, byl nejprve překrystalován z éteru a poté z metanolu. Bylo získáno 14 g čistého produktu s bodem tání 145 °C.

C) Výroba [2R(2'R,3'R),3S,4S,5R,6R,10R,11R]-11-(2',3'-dihydroxypent-2'-yl)-3-[(2,6-dideoxy-3C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-metylamino-β-D-xylo-hexopyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,10-pentametyl-12,13-dioxabicyklo[8.2.1]tridec-8-en-1-onu (=sloučenina vzorce III, R^1= metyl)

9,4 g (= 13,4 mmol) produktu, získaného způsobem B), bylo vařeno po dobu 2,5 hodin s 1,9 g (= 13,4 mmol) uhličitanu draselného v metanolu pod refluxem. Ke zpracování byla reakční směs zahuštěna

01.10.97

odpařením, zředěna vodou a extrahována etylesterem kyseliny octové. Surový produkt, zbývající po odstranění rozpouštědla, byl překrystalován z izopropanolu. Bylo získáno 7,1 g čistého produktu s bodem tání od 199°C do 200°C, hodnota optické otáčivosti $[\alpha]^{20}_D$: -31,6° (c = 1, metanol)

D) Příprava [2R(2'R,3'R),3S,4S,5R,6R,10R,11R]-11-(2',3'-dihydroxy-pent-2'-yl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribohexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-(N-metyl-N-izopropylamino)-β-D-xylohexopyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,10-pentametyl-12,13-dioxabicyklo[8.2.1]tridec-8-en-1-onu (=sloučenina vzorce II, R^1= metyl)

2 g (= 2,8 mmol) produktu, získaného předešle uvedeným způsobem C), bylo rozpuštěno v metanolu a hodnota pH byla přídavkem zředěného roztoku kyseliny solné nastavena na 4. K roztoku bylo přidáno 2 g molekulového síta (křemičitan hlinitovápenatý, s průměrem pórů 4 Å), přebytek acetonu a 0,4 g (= 6,4 mmol) kyanoborhydridu sodného. Reakční směs byla míchána po dobu 12 hodin. Ke zpracování bylo odfiltrováno molekulové síto, filtrát zahuštěn odpařením, rozředěn vodou a extrahován etylesterem kyseliny octové. Surový produkt, zbývající po zahuštění extraktu etylesteru kyseliny octové jako zbytek, byl čištěn sloupcovou chromatografií přes silikagel (eluční roztok etylester kyseliny octové/metanol 95 : 5). Bylo získáno 1,4 g vyčištěného produktu s bodem tání od 130° do 134°C, hodnota optické otáčivosti $[\alpha]^{20}_D$: -32,8°

E) Příprava titulní sloučeniny

30 g produktu, získaného předešle způsobem, uvedeným pod D) bylo vloženo do 2250 ml vody. Za míchání byla ke směsi přikapána koncentrovaná kyselina solná až bylo dosaženo hodnoty pH 2-3. Nakonec byla reakční směs míchána při pokojové teplotě pod dobu 7 hodin. Ke zpracování byl přidáván k reakční směsi koncentrovaný roztok amoniaku až bylo dosaženo hodnoty pH 11. Nakonec byla reakční směs extrahována dichlormetanem. Organický extrakt byl zahuštěn. Surový produkt, zbývající po zahuštění, byl čištěn překrystalováním z acetonitrilu. Bylo získáno 19,6 titulní sloučeniny s bodem tání od 181°C do 183°C, hodnota optické otáčivosti $[\alpha]^{20}_D$: -52,2°.

01.10.97

Oddělení izomerů:

Oddělení izomerů probíhalo semipreparativně vysokovýkonnou kapalnou chromatografií (= High Performance liquid Chromatography, zkráceno jako HPCL) na zhotoveném sloupci s rozměry 300 mm (L) x (ID) firmy Waters. Byl použit sloupcový materiál Reversed-Phase" Symetry-Prep" C18 (7µm). Jako eluent sloužila směs ze 600 ml vodného roztoku 0,05 M KH_2PO_4 s hodnotou pH 6,0 (nastaveno 1M roztokem hydroxidu sodného) a 400 ml acetonitrilu.

S retenčním časem 5,2 minut byl získán 8R-izomer.
S retenčním časem 6,8 minut byl získán 8S-izomer.

Příklad 2

[(1'R),2R,3S,4S,5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1'-hydroxypropyl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribohexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-(N-izopropylamino)-β-D-xylohexopyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo[9.2.1.1.$^{9.6}$]-pentadekan-1-onu (izomerní směs sloučeniny vzorce I, R^1= vodík)

A) Příprava [2R(2'R,3'R),3S,4S,5R,6R,10R,11R]-11-(2',3'-dihydroxypent-2'-yl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribohexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-(N-izopropylamino)-β-D-xylohexopyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,10-pentametyl-12,13-dioxabicyklo[8.2.1.]tridec-8-en-1-onu

Směs 7,3 g etylátu sodného a 500 ml metanolu byla ochlazena pod dusíkovou atmosférou na teplotu 0°C. Poté byl přikapáván roztok 20 g sloučeniny vzorce II (R^1=metyl), získané způsobem podle 1D), do 100 ml metanolu. Nakonec bylo přidáno po částech 34,1 g jodu a reakční směs byla udržována na teplotě od 0°C do 5°C. Ke zpracování byla vložena reakční směs do roztoku 58 g thiosíranu sodného a 48 ml koncentrovaného roztoku amoniaku v 1,5 l vody. Vodná fáze byla čtyřikrát extrahována chloroformem vždy po 100 ml. Sloučené organické fáze byly jednou promyty směsí z 5 ml koncentrovaného roztoku amoniaku a 100 ml vody, sušeny síranem sodným a zahuštěny. Zbývající zbytek byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu. Bylo získáno 0,5 g vyčištěného produktu s bodem tání od 147°C do 155°C, hodnota optické otáčivosti $[\alpha]^{20}_d$: -26,2°

01-10-97

B) Příprava titulní sloučeniny

1 g předešle získaného produktu byl zreagován metodou podle příkladu 1E). Bylo získáno 0,47 g titulní sloučeniny s bodem tání od 201°C do 209°C, hodnota optické otáčivosti $[\alpha]^{20}_D$: -45,8°

Příklad I:

[(1'R),2R,3S,4S,5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1'-hydroxypropyl)-3-[(2,6-dideoxy-3-C-metyl-3-O-metyl-α-L-ribohexopyranosyl)-oxy]-5-[(3,4,6-trideoxy-3-(N-metyl-N-izopropylamino)-β-D-xylohexapyranosyl)-oxy]-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo[9.2.1.1.^{9,6}]-pentadekan-1-onu (izomerní směs sloučeniny vzorce I, R^1= metyl) 20,mg
kukuřičný škrob 60 mg
mléčný cukr 135 mg
želatina (jako 10%ní roztok) 6 mg

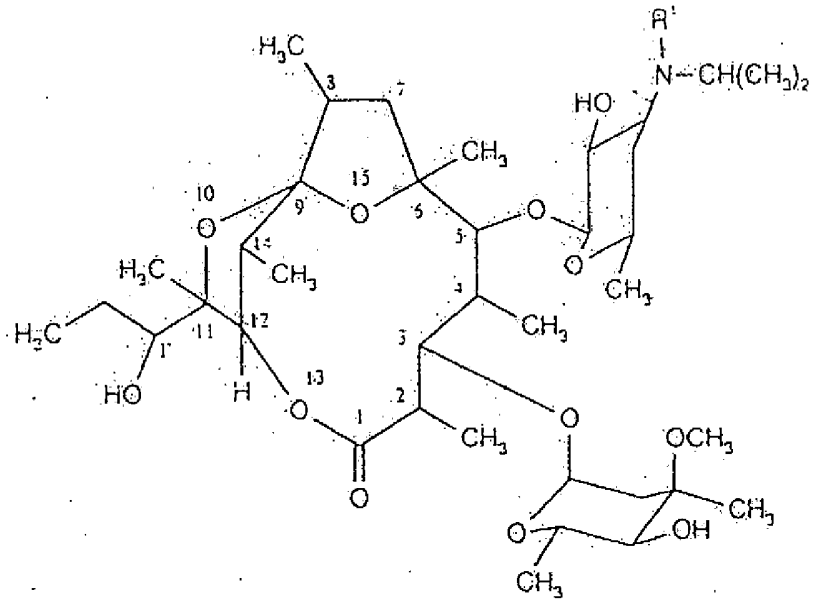
Účinná látka, kukuřičný škrob a mléčný cukr byly zahuštěny 10%-ním roztokem želatiny. Pasta byla rozmělněna a vzniklý granulát byl umístěn na vhodný plech a sušen při 45°C. Usušený granulát byl veden do drtiče a v mixéru smíchán s pomocnými látkami:

talek 5 mg
stearan hořečnatý 5 mg
kukuřičný škrob 9 mg
a poté slisován na tablety o hmotnosti 240 mg.

01.10.97

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Deriváty [(1'R),2R,3S,4S, 5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1'-hydroxypropyl)-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo [9.2.1.1.$^{9.6}$]-pentadekan-1-onu obecného vzorce I



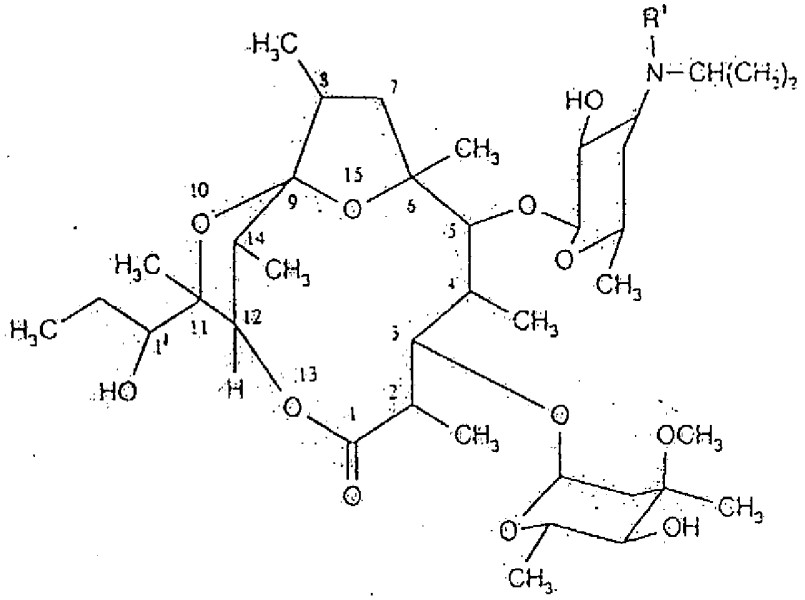
kde R^1 znamená metyl nebo vodík, a jejich stabilní a fyziologicky únosné soli adičních kyselin.

2. Sloučeniny podle nároku 1, kde R^1 znamená metyl.

3. Léčiva, obsahující farmakologicky účinné množství sloučeniny podle nároku 1 a obvyklé farmaceutické pomocné a nosné látky.

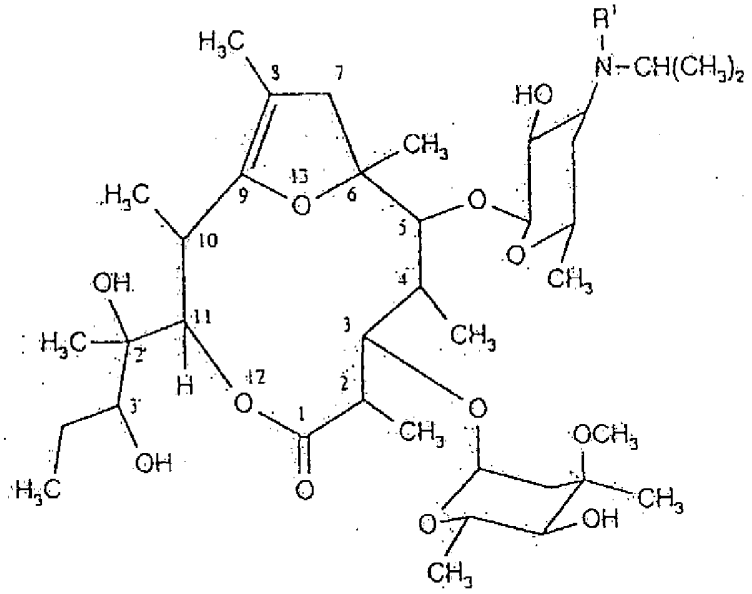
4. Způsob přípravy derivátů [(1'R),2R,3S,4S, 5R,6R,9R,11R,12R,14R]-11-(1' hydroxypropyl)-2,4,6,8,11,14-hexametyl-10,13,15-trioxatricyklo[9.2.1.1$^{9.6}$]-pentadekan-1-onu obecného vzorce I,

01.10.97



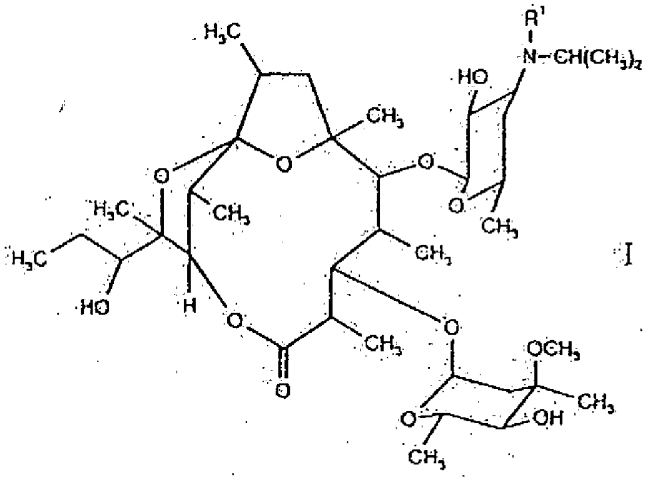
I

kde R^1 znamená metyl nebo vodík, a jejich stabilní fyziologicky a psychologicky účinné adiční soli kyselin, v y z n a č u j í c í s e t í m, že deriváty [2R(2'R,3'R),3S,4S,5R,6R,10R,11R]-11-(2',3'-dihydroxypent-2'-yl)-2,4,6,8,10-pentametyl-12,13-dioxabicyklo[8.2.1.]tridec-8-en-1-onu obecného vzorce II

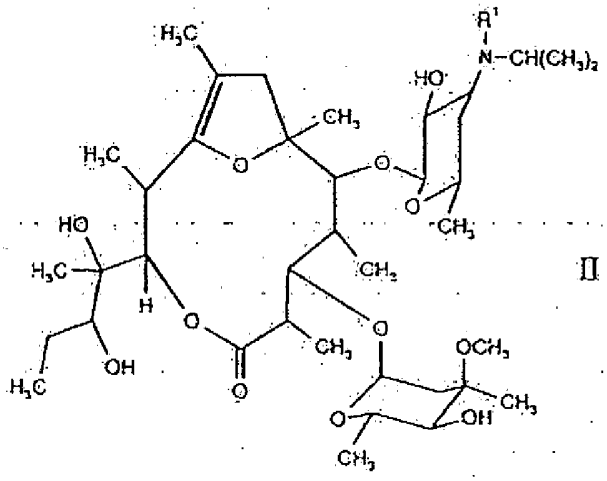


II

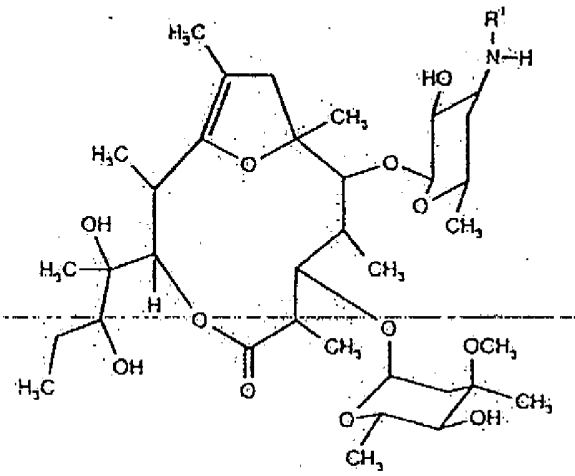
kde R^1 má shora uvedený význam, se převedou působením kyseliny na sloučeninu vzorce I a v žádoucím případě se zavede do získané sloučeniny vzorce I, kde R^1 znamená vodík, metylový zbytek nebo se ze získané sloučeniny vzorce I, kde R^1 znamená metyl, metylový zbytek odštěpí a v žádoucím případě se převedou volné sloučeniny vzorce I na své stabilní adiční soli kyselin nebo se převedou adiční soli kyselin na volné sloučeniny vzorce I.



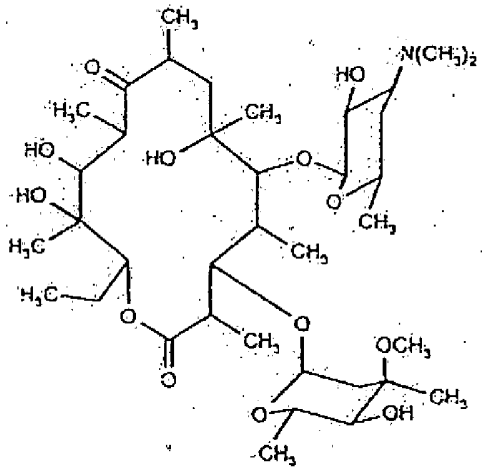
I



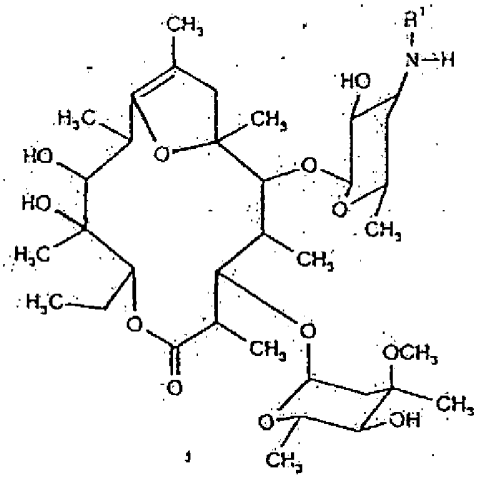
II



III



IV



V