

(19)



REPUBLIKA SLOVENIJA
Urad RS za intelektualno lastnino

(10) **SI 7910768 A8**

(12)

PRENEŠENI PATENT

(21) Številka prijave: **7910768**

(51) MPK⁶: **C07H 17/08 , A61K 31/71**

(22) Datum prijave: **02.04.1979**

(60) Patent pri ZPP: **YU 768/79, 02.04.1979 (31.10.1982)**
YU 43116

(45) Datum objave: **30.06.1996**

(72) Izumitelj: **KOBREHEL GABRIJELA, Zagreb, HR;**
RADOBOLJA GORJANA, Zagreb, HR;
TAMBURAŠEV ZRINKA, Zagreb, HR;
DJOKIĆ SLOBODAN, Zagreb, HR

(73) Nosilec: **PLIVA Farmaceutska, hemijska, prehrambena i kozmetička industrija, d.d.,**
Vukovarska av. 49, 41000 Zagreb, HR

(74) Zastopnik: **AVRELIJA GRAD-GORIUP Agencija za industrijsko lastnino, d.o.o.,**
Celovška 93a, 1000 Ljubljana, SI

(54) **POSTOPEK ZA PRIPRAVO 11-AZA-4-O-KLADINOZIL-6-O-DESOZAMINIL-15-ETIL-7,13,14-TRIHIDROKSI-3,5,7,**
9,12,14-HEKSAMETIL-OKSACIKLOPENTADEKAN-2-ONA IN NJEGOVIH DERIVATOV

SI 7910768 A8

SOUH PLIVA farmaceutska, kemijska,
prehrambena i kozmetička industrija,
n. s.o., 41001 Zagreb, I.L. Ribara 89

POSTUPAK ZA PRIPRAVU 11-AZA-4-O-KLADINOZIL-6-O-DESOZAMINIL-15-
-ETIL-7,13,14-TRIHIDROKSI-3,5,7,9,12,14-HEKSAMETILOKSACIKLO-
PENTADEKAN-2-ONA I NJEGOVIE DERIVATA

Autori:

Gabrijela Kobrehel

Gorjana Radobolja

Zrinka Tamburašev

Slobodan Djokić

NAZIV IZUMA

Postupak za pripravu 11-aza-4-O-kladinozil-6-O-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametiloksaciklopentadekan-2-ona i njegovih derivata

1. Oblast tehnike u koju spada pronalazak

Int. Cl. C07H 17/08

2. Tehnički problem

Predmet izuma je postupak za pripravu 11-aza-4-O-kladinozil-6-O-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametiloksaciklopentadekan-2-ona (11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A) kao i njegovih acil-odnosno N-(4-R-benzen-sulfonil)-derivata, novih polusintetskih antibiotika iz reda eritromicina s proširenim 15-teročlanim azalaktonskim prstenom.

3. Stanje tehnike

Strukturu makrolidnog antibiotika, eritromicina A (U.S. patent 2,653,899) karakterizira 14-teročlani laktonski prsten s 10 asimetričnih centara, eritronolid A, na koji su u C-3 i C-5 položaju vezani neutralni šećer, L-kladinoza i šećer bazičnog karaktera, D-desozamin. U svrhu modifikacije bioloških i/ili farmakokinetičkih svojstava eritromicina A pripremljeni su njegovi brojni esteri (Antibiotics Annual, 1953-1954, Proc. Symposium Antibiotics /Washington D.C./, 503-513 i 514-521, U.S. patent 3,417,077). Kemij-

skor transformacijom C-9 karbonilne grupe aglikonskog prstena sintetizirana je serija imino derivata, uključujući eritromicin A oksim (Brit. patent 1,100,504), vrlo efikasno antibakterijsko sredstvo, a posebno u slučaju infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim bakterijama.

Poznato je, da se ketoksimi pod utjecajem jakih kiselina pregrađuju u karbamide, odnosno kod cikličkih sistema u laktame (Houben-Weyl Bd. VII/2b, 1986, 1976; Org. Reactions 11, 1, 1960; J. Org. Chem. 37, 2035, 1972; J. Org. Chem. 37, 3961, 1972).

Poznato je također, da je uobičajan put za Beckmannovo pregrađivanje priprava in situ O-arilsulfoestera ketoksima, a naročito p-toluensulfonata, koji se u vodenoj sredini odmah dalje pregrađuju u odgovarajući laktam (J. Am. Chem. Soc. 72, 5323, 1950; J. Am. Chem. Soc. 77, 1094, 1955).

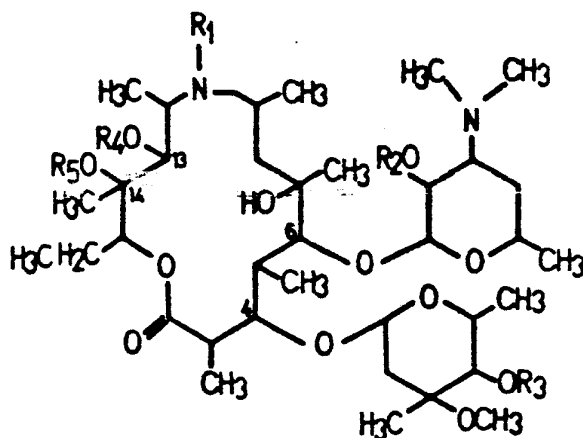
Poznato je nadalje, da se zamjenom vode s otapalima koja mogu djelovati kao nukleofil, pregrađivanje zaustavlja na iminskom stupnju, pa se na taj način mogu pripremiti O-alkil- i O-arilamino ester, amidini i sulfamidini (J. Chem. Soc. 1514, 1948; J. Am. Chem. Soc. 80, 5880, 1958) te O-imidilfosfati (Chemistry and Industry 1183, 1955) odnosno tetrazoli (J. Org. Chem. 15, 58, 1950).

Sada je nađeno, da se 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A može pripremiti Beckmannovim pregrađivanjem eritromicin A oksima s aromatskim sulfokloridima te zatim redukcijom tako dobivenog

produkta katalitičkim hidriranjem ili uz upotrebu kompleksnih metalnih hidrida. Također je opisan postupak za pripravu do sada neopisanih acil- odnosno N-(4-R-benzensulfonil)-derivata 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A. Novi spojevi s proširenim 15-teročlanim azalaktonskim prstenom pokazuju bolje antibakterijsko in vitro djelovanje u odnosu na eritromicin A odnosno eritromicin A oksim.

4. Opis rješenja tehničkog problema

Nadjeno je, da se 11-aza-4-O-kladinozil-6-O-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,9,11,13,15-heksametiloksa-ciklopentadekan-2-on (11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A) formule (1)

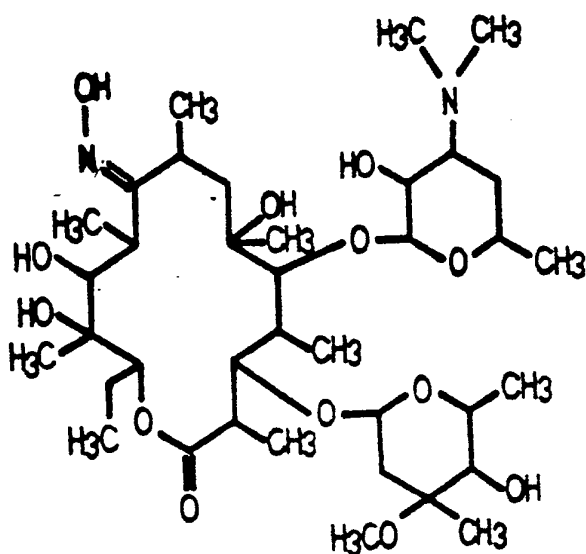


(1)

gdje R_1 ima značenje vodika, C_1-C_3 alkanoil- ili $4-R-C_6H_4-SO_2-$ grupe, gdje je R C_1-C_3 alkil,

R_2 , R_3 i R_4 , koji mogu biti isti ili različiti, imaju značenje vodika, C_1-C_3 alkanoil-grupe ili R_4 i R_5 imaju zajedno značenje karbonil grupe,
 R_5 vodika ili zajedno s R_4 ima značenje karbonil grupe,

mogu pripraviti Beckmannovim pregradjivanjem eritromicin A oksima formule (2)



(2)

s aromatskim sulfokloridima uz prisustvo anorganskih baza, u smjesi acetona i vode, a zatim redukcijom dobivenog intermedijera katalitički ili uz prisustvo kompleksnih metalnih hidrida, dajući 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A formule (1), gdje su R_1 , R_2 , R_3 , R_4 i R_5 međusobno isti i imaju značenje vodika, koji se po potrebi podvrgne reakciji aciliranja s anhidridima karbonskih kiselina ili aromatskim sulfokloridima odnosno postupku transesterifikacije s etilenkarbonatom dajući 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

formule (1), gdje su R_1 , R_2 i R_3 međusobno isti i imaju značenje vodika, a R_4 i R_5 imaju zajedno značenje karbonil grupe, koji se po potrebi podvrgne reakciji aciliranja s anhidridima karbonskih kiselina.

Prema ovom pronalasku Beckmannovo pregradjivanje eritromicin A oksima se provodi s 1-2 mola aromatskih sulfoklorida formule $4-R-C_6H_4-SO_2Cl$, gdje R ima značenje C_1-C_3 alkil radikala (metil), i 2-4 mola anorganskih baza ($NaHCO_3$) na $0-5^\circ C$, u smjesi acetona i vode ili drugog inertnog otapala. Nakon završene reakcije (oko 4 sata) aceton se otpari uparavanjem kod smanjenog pritiska, a dobivena vodena suspenzija ekstrahira metilenkloridom ili nekim drugim otapalom kod pH 5.5, 6.0 i 8.0. Sjedinjeni ekstrakti kod pH 8.0 suše se nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska dajući produkt sa slijedećim fizikalno-kemijskim konstantama: $C_{37}H_{66}N_2O_{12}$, M^+ 730, T.t. $128-131^\circ C$, IR($CHCl_3$) 1730 i 1705 cm^{-1} , ^{13}C NMR($CDCl_3$) 163.9 ppm (C-10).

Dobiveni produkt se zatim reducira katalitički ili upotrebom kompleksnih metalnih hidrida. Katalitička redukcija provodi se na sobnoj temperaturi u visokotlačnom autoklavu kod pritiska vodika od oko 500000 do oko 7100000 Pa u ledenoj octenoj kiselini ili nekom drugom inertnom otapalu uz odnos supstrat: katalizator 1:24 do 1:2. Kao katalizatori se mogu upotrebiti plemeniti metali ili njihovi oksidi, kao npr. Rh/C ili PtO_2 . Nakon završenog hidriranja (2 do 24 sata) reakcijska smjesa se filtrira, filtrat upari do gustog sirupa, ostatak otopi u vodi te ekstrahira metilenkloridom, kloroformom ili nekim drugim otapalom kod pH 6.0, 6.5 i

8.3. Sjedinjeni ekstrakti kod pH 8.3 suše se nad K_2CO_3 te upare do suhog dajući 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A formule (1), gdje su R_1 , R_2 , R_3 , R_4 i R_5 međusobno isti i imaju značenje vodika.

Redukcija upotrebom kompleksnih metanih hidrida, kao npr. $NaBH_4$, provodi se postepenim dodavanjem krutog reagensa na temperaturi oko $4^\circ C$ kroz oko 4 sata u metanolnu otopinu produkta dobivenog Beckmannovim pregradjivanjem eritromicin A oksima, a zatim se uobičajnom metodom ekstrakcije izolira sirovi 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A. Dobiveni talog suspendira se u eteru, suspenzija miješa oko 2 sata uz hladjenje ledom, filtrira, a filtrat upari kao kromatografski čist (dimetilformamid:metanol 3:1) produkt.

Sada je također nadjeno, da se aciliranjem 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A s anhidridima karbonskih kiselina formule R_6-O-R_7 , gdje R_6 i R_7 imaju značenje C_1-C_3 alkanoil grupe, mogu pripremiti odgovarajući 2',N-diacil derivati formule (1), gdje su R_1 i R_2 međusobno isti ili različiti i imaju značenje C_1-C_3 alkanoil grupe, a R_3 , R_4 i R_5 su vodici, 2',4'',N-triacil derivati formule (1), gdje su R_1 , R_2 i R_3 međusobno isti ili različiti i imaju značenje C_1-C_3 alkanoil grupe, a R_4 i R_5 su vodici, odnosno 2',4'',13,N-tetraacil derivati formule (1). Gdje su R_1 , R_2 , R_3 i R_4 međusobno isti ili različiti i imaju značenje C_1-C_3 alkanoil grupe a R_5 je vodik. Ovisno o upotrebljenom anhidridu karbonskih kiselina reakcija se provodi na temperaturi $0-25^\circ C$ u piridinu, a

izolacija uobičajnim metodama (J. Med. Chem. 15, 631, 1972). Hidrolizom 2',N-diacil derivata u metanolu uz dodatak 5%-tne vodene otopine NaHCO_3 mogu se pripraviti odgovarajući N-acil derivati formule (1), gdje R_1 ima značenje C_1 - C_3 alkanoil grupe, a R_2 , R_3 , R_4 i R_5 su međusobno isti i imaju značenje vodika.

Reakcijom 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A s etilenkarbonatom uz prisutnost K_2CO_3 u etilacetatu, toluenu ili nekom drugom inertnom otapalu dobiva se 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A ciklički 13,14-karbonat formule (1), gdje su R_1 , R_2 i R_3 međusobno isti i imaju značenje vodika, a R_4 i R_5 imaju zajedno značenje karbonil grupe, koji aciliranjem s anhidridima karbonskih kiselina formule R_6 -O- R_7 , gdje R_6 i R_7 imaju značenje C_1 - C_3 alkanoil grupe, daje odgovarajuće acil derivate formule (1), gdje su R_1 , R_2 i R_3 međusobno isti ili različiti i imaju značenje C_1 - C_3 alkanoil grupe, a R_4 i R_5 zajedno predstavljaju karbonil grupu.

Reakcijom 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A s 2-6 mola aromatskih sulfoklorida formule 4-R- C_6H_4 - SO_2Cl , gdje R ima značenje nižeg alkil radikala, halogena ili niže alkanoilamino grupe, u acetonu ili nekom drugom inertnom otapalu, uz prisustvo alkalija, kao npr. Na_2CO_3 , pripremljeni su odgovarajući N-(4-R-benzosulfonil) derivati formule (1), gdje R_1 ima značenje 4-R- C_6H_4 - SO_2 -grupe, a R ima značenje kao što je gore navedeno.

U svrhu ispitivanja antibakterijskog djelovanja neki od novo pripremljenih spojeva testirani su in vitro na seriji gram-pozitivnih

Tabela 1. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIK u mg/ml)

Soj test bakterije	E	EO	2	5	6	7	8	9	10	12 ⁺
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 3043	0.05	0.05	0.5	5	50	125	175	25	0.05	20
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	0.1	0.1	0.5	25	75	200	200	75	2.5	100
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	0.5	0.5	0.5	10	100	150	200	50	1.0	100
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	0.05	0.1	0.05	5	50	50	175	25	0.5	20
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	0.05	0.05	0.05	10	25	10	10	25	0.1	50
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> ATCC 11778	0.1	0.1	0.5	10	100	175	175	75	0.5	100
<i>Corynebacterium xerosis</i> NCTC 9755	0.1	0.1	1.0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brucella bronchiseptica</i> ATCC 4617	1.0	1.0	1.0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	50	50	50	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	5.0	5.0	10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	25	25	10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella flexneri</i> II-1819/C	25	50	10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella panama</i>	50	50	50	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.05	0.1	5.0	10	100	200	200	75	2.5	50

E = eritromicin A; EO = eritromicin A okimi; *Arapski brojevi odgovaraju numeriranju primjera

i gram-negativnih mikroorganizama. Rezultati su prikazani u Tabeli 1. kao minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) izražene u mcg/ml u usporedbi s eritromicinom A i eritromicin A oksimom.

Ispitivanjem akutnog i.v. toksicitet na bijelim miševima po metodi Litchfield-Wilcoxa utvrđeno je, da je 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A manje toksičan od polaznog eritromicin A oksima (Tabela 2).

Tabela 2.

	Eritromicin A oksim	11-aza-10-deokso-10- dihidroeritromicin A
(LD ₅₀) mg/kg	74	110

Da bi se odredio stabilitet novih spojeva u kiseloj sredini izloženi su djelovanju 1 N HCl kod pH 1.2 kroz vrijeme od 30 minuta, 1, 2, 3 i 6 sati, a zatim je preostali aktivitet testiranih supstancija odredjen kao minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) u mcg/ml uz pomoć test organizma *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. Utvrđeno je, da se stabilitet 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A i njegovog cikličkog 13,14-karbonata kreće u okviru stabilnosti eritromicin A oksima, međjutim u odnosu na eritromicin A novo pripravljeni spojevi su znatno stabilniji kod pH 1.2, dakle uvjeta koji imitiraju situaciju u gastrointestinalnom traktu (Tabela 3).

Tabela 3.

Vrijeme izlaganja djelovanju kiseline (h)	E	EO	2	10 ⁺
0	0.5	0.1	0.5	1.0
1/2	7.5	0.1	0.5	1.0
1	10	0.1	0.5	1.0
2	10	0.5	1.0	2.5
3	10	0.5	1.0	2.5
6	20	0.5	1.0	2.5

E = eritromicin A

EO = eritromicin A oksim

⁺Arapski brojevi označuju broj primjera.

Pronalazak je ilustriran slijedećim primjerima koji ni u čemu ne ograničavaju širinu ovog izuma.

Primjer 1.

Beckmannovo pregrađivanje eritromicin A oksima

Otopine p-toluensulfoklorida (6.16 g, 0.032 mol) u acetonu (70 ml) i NaHCO_3 (5.4 g, 0.064 mol) u vodi (245 ml) dokapaju se uz miješanje na temperaturi od 0 do 5°C kroz 2 sata u otopinu eritromicin A oksima (12 g, 0.016 mol) u acetonu (200 ml). Reakcijska se smjesa miješa daljnja dva sata na istoj temperaturi, aceton otpari uparavanjem kod smanjenog pritiska, zaostaloj vodenoj suspenziji doda metilenklorid (50 ml) (pH 7.9), a zatim se zakiseljavanjem s 1 N HCl pH podesi na 5.5. Slojevi se odvoje, a vodeni ekstrahira još dva puta s 50 ml metilenklorida. Ekstrakcija metilenkloridom ponovi se na pH 6.0 (3 x 50 ml) i pH 8.0 (5 x 100 ml) s jedinjenjima organski ekstrakti suše nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska. Kod pH 8.0 izolirano je 8.4 g produkta koji ima slijedeće fizikalno-kemijske konstante:

T.t. 128-131°C

$n_D^{20} = -54.63$ (1%, CH_2Cl_2)

IR(CHCl_3): 1725 (C=O, lakton) i 1705 cm^{-1} (-O-C=N-)

^{13}C NMR(CDCl_3): 163.9 ppm (-O-C=N-)

M^+ 730

Primjer 2.

11-Aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A (Metoda 1)

6.0 g (0.008 mol) sirovog produkta iz primjera 1. otopi se u ledenoj octenoj kiselini (60 ml), doda se PtO_2 (0.25 g), te zatim hidrira uz miješanje 2 sata kod pritiska 7100000 Pa. Katalizator se odfiltrira, filtrat upari kod smanjenog pritiska do gustog sirupa, otopi u vodi (160 ml) te ekstrahira metilenkloridom kod pH 6.0 i 6.5 (3×50 ml) i pH 8.3 (3×100 ml). Sjedinjeni ekstrakti kod pH 8.3 suše se nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska dajući 4.8 g kromatografski čistog (dimetilformamid:metanol 3:1) 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A.

T.t. 113-116°C

$[\alpha]_D^{20} = -33.91$ (1%, CH_2Cl_2)

IR(CHCl_3): 1725 (C=O lakton) i 1640 cm^{-1} (-NH-)

$^{13}\text{CNMR}(\text{CDCl}_3)$: 56.8 ppm (C-10)

M^+ 734

Primjer 3.

11-Aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A (Metoda 2)

2.0 g (0.0027 mol) sirovog produkta iz primjera 1. otopi se u ledenoj octenoj kiselini (20 ml), doda se 1.0 g Rh/C 5% te uz miješanje hidrira 8 sati kod pritiska 6500000 Pa. Katalizator se odfiltrira, a produkt izolira prema postupku opisanom u primjeru 2. Dobiveno je 1.3 g produkta s fizikalno-kemijskim konstantama identičnim s produktom iz primjera 2.

Primjer 4.

11-Aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A (Metoda 3)

U otopinu od 12 g (0.016 mol) sirovog produkta iz primjera 1. u apsolutnom metanolu (300 ml) doda se postepeno kroz 4 sata uz miješanje na temperaturi oko 4°C kruti NaBH_4 (12 g, 0.316 mol). Nakon 24 sata stajanja na sobnoj temperaturi u reakcijsku smjesu uvodi se CO_2 do prestanka taloženja, nastali talog se odfiltrira, a filtrat upari kod smanjenog pritiska. Dobiveni talog otopi se u kloroformu (300 ml), kloroformna otopina pere pere s 10%-tnom otopinom NaHCO_3 i vodom (2 x 150 ml), suši nad K_2CO_3 , filtrira te upari kod smanjenog pritiska. Dobiveni produkt otopi se u kloroformu (100 ml), otopini se doda voda (300 ml) (pH 11.3), reakcijska smjesa zakiseli s 2 N HCl na pH 2.5 te miješa 15 minuta na sobnoj temperaturi. pH reakcijske otopine podesi se s 20%-tnom NaOH na 6.0, slojevi se odvoje s vodeni sloj ekstrahira još dva puta s 100 ml CHCl_3 . Ekstrakcija kloroformom ponovi se na pH 6. (3 x 50 ml) i pH 8.3 (5 x 50 ml), sjedinjeni kloroformni ekstrakti suše nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska. Talog dobiven kod pH 8.3 suspendira se u eteru, miješa 2 sata uz hlađenje ledom, filtrira a filtrat upari kao krematografski čist (dimetilformamid:metanol 3:1) 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A. Dobiveni produkt ima identične fizikalno-kemijske konstante kao supstancija dobivena u primjeru 2.

Primjer 5.

2',N-Diacetil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (4 g, 0.0054 mol) u piridinu (80 ml) doda se anhidrid octene kiseline (50 ml) te ostavi da reakcijska otopina stoji 30 minuta na sobnoj temperaturi. Reakcija aciliranja prekine se dodatkom leda, pH pode-se s 20%-tnom NaOH na 9.0 te ekstrahira kloroformom (3 x 75 ml). Sjedinjeni kloroformni ekstrakti peru se vodom (2 x 75 ml), suše nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska. Dobiveni produkt pre-taloži se iz etera s petroleterom. Iskorištenje 3.4 g (76.4%).

T.t. 133-138°C

pK_b 6.7 (dimetilformamid-voda, 66% v/v)

IR(CHCl₃): 1725 (C=O, lakton), 1610 (-CO-N<) i 1235 cm⁻¹ (acetil)

Primjer 6.

2',N-Dipropionil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

Iz 2.0 g (0.0027 mol) 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A i 25 ml (0.194 mol) anhidrida propionske kiseline reakcijom u pi-ridinu (40 ml) izolirano je prema postupku opisanom u primjeru 5. 1.35 g (57.6%) kromatografski čistog (kloroform:metanol 7:3) 2',N-dipropionil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A.

T.t. 183-186°C

pK_b 6.7 (dimetilformamid-voda, 66% v/v)

IR(CHCl₃): 1725 (C=O, lakton i ester), 1615 (-CO-N<) i 1175 cm⁻¹
(propionil)

Primjer 7.

2',4'',N-Triacetil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (1.0 g, 0.00136 mol) u piridinu (20 ml) doda se anhidrid octene kiseline (20 ml, 0.212 mol) te reakciona smjesa ostavi da stoji 76 sati na sobnoj temperaturi. Reakcija se prkine dodatkom leda, pE reakcijske smjese podese s 20%-tnom NaOH na 9.0, a zatim produkt izolira ekstrakcijom kloroformom (5 x 30 ml). Sjedinjeni kloroformni ekstrakti peru se s zasićenom otopinom NaHCO_3 (3 x 30 ml) i vodom (2 x 30 ml), suše nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska. Sirovi produkt pretaloži se iz kloroforma s petroleterom. Iskorištenje 0.72 g (61.5%) kromatografski čistog (kloroform:metanol:formamid 100:20:2) triacetil derivata.

T.t. 148-156°C

$[\alpha]_D^{20} = -31.5$ (dimetilformamid-voda, 66% v/v)

IR(CHCl_3): 1735 (C=O, lakton i ester), 1625 ($-\text{CO}-\text{N}<$) i 1235 cm^{-1} (acetil)

Primjer 8.

2',4'',13,N-Tetraacetil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (1.5 g, 0.002 mol) doda se anhidrid octene kiseline (15 ml, 0.159 mol), a zatim reakcijska otopina ostavi da stoji 10 dana na sobnoj temperaturi. Reakcija se prekine dodatkom leda, a produkt izolira analogno kao triacetil derivat u primjeru 7. Nakon nekoliko uzastopnih pretaloživanja sirovog produkta iz kloroforma petroleterom dobiveno je 1.42 g (77%) 2',4'',13,N-tetraacetil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A.

T.t. 110-115°C

$[\alpha]_D^{20} = -35.43$ (1%, CH_2Cl_2)

IR(CHCl_3): 1735 (C=O, lakton i ester), 1625 ($-\text{CO}-\text{N}<$) i 1240 cm^{-1}
(acetil)

M^+ 902

Primjer 9.

N-Propionil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

U otopinu 2',N-dipropionil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (2.15 g, 0.00254 mol) u metanolu (45 ml) doda se 5%-tna otopina NaHCO_3 (45 ml) te ostavi da stoji 7 dana na sobnoj temperaturi. Metanol se otpari kod smanjenog pritiska, pH vodene suspenzije s 20%-tnom NaOH podese na 9.0 a zatim ekstrahira kloroformom (3 x 50 ml). Sjedinjeni kloroformni ekstrakti peru se vodom (2 x 50 ml), suše nad K_2CO_3 te upare kod smanjenog pritiska. Iskorištenje 1.84 g (92.6%).

T.t. 122-129°C

pK_a 8.6 (dimetilformamid-voda, 66% v/v)

IR(CHCl_3): 1720 cm^{-1} (C=O, lakton) i 1620 ($-\text{CO}-\text{N}<$).

Primjer 10.

11-Aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A ciklički 13,14-karbonat

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (1.0 g, 0.0013 mol) u etilacetatu (10 ml) doda se 0.2 g (0.0014 mol) K_2CO_3 i 0.5 g (0.00568 mol) etilenkarbonata te zatim dva sata kuha pod

povratnim hladilom. Reakcijska smjesa ohladi se na sobnu temperaturu, filtrira, a zatim upari kod smanjenog pritiska do gustog uljastog ostatka iz kojeg se dodatkom vode (oko 25 ml) istaloži 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A ciklički 13,14-karbonat (0.85 g, 82.1%).

T.t. 129-135°C

IR(CHCl₃): 1790 (C=O, karbonat) i 1725 cm⁻¹ (C=O, lakton)

N⁺ 760

Primjer 11.

2',4'',N-Triacetil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A ciklički 13,14-karbonat

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A cikličkog 13,14-karbonata (0.5 g, 0.00065 mol) u piridinu (2.5 ml) doda se anhidrid octene kiseline (2.5 ml, 0.00265 mol) te ostavi da stoji 28 sati na sobnoj temperaturi. Reakcija se prekine dodatkom leda, a produkt izolira ekstrakcijom kloroformom (3 x 15 ml). Sjedinjeni kloroformni ekstrakti peru se vodom (2 x 10 ml), suše nad K₂CO₃ te upare kod smanjenog pritiska. Iskorištenje 0.58 g.

T.t. 109-117°C

IR(CHCl₃): 1800 (C=O, karbonat), 1730 (C=O, lakton i ester) ,
1625 (-CO-N<) i 1240 cm⁻¹ (acetil)

¹H NMR(CDCl₃): 2.06(3H), 2.1(3H), 2.12(3H), 2.3(6H) i 3.3(3H) ppm.

Primjer 12.

N-(4-metilbenzensulfonil)-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A

U otopinu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (4.0 g, 0.0054 mol) u acetonu (120 ml) doda se 13.8 g (0.110 mol) Na_2CO_3 monohidrata a zatim uz snažno miješanje dokapa otopina p-toluen-sulfoklorida (6.24 g, 0.0327 mol) u acetonu (120 ml) te kuha 12 sati pod povratnim hladilom. Reakcijska suspenzija se profiltrira, a filtrat upari kod smanjenog pritiska. Dobiveni talog otopi se u metilenkloridu (100 ml), otopini doda 40 ml vode (pH 7.0), pH podesi s 1 N HCl na 6.0, slojevi odvoje a vođeni ekstrahira još tri puta metilenkloridom (40 ml). Nakon sušenja sjedinjenih organskih ekstrakta nad K_2CO_3 te otparavanja otapala dobiveno je 3.6 g sirovog produkta koji se čisti kromatografijom na stupcu silikagela.

T.t. 150-153°C

$[\alpha]_D^{20} = -9.04$ (1%, CH_2Cl_2)

IR(CHCl_3): 1730 (C=O, lakton), 1600, 755 i 655 (p-fenil) i 1340 cm^{-1} ($-\text{SO}_2$)

M^+ 888

NAJBOLJI NAČIN ZA PRIMJENU PRONALASKA U PROIZVODNJI 11-AZA-4-O-
-KLADINOZIL-6-O-DESOZAMINIL-15-ETIL-7,13,14-TRIHIDROKSI-3,5,7,9,
12,14-HEKSAMETILOKSACIKLOPENTADEKAN-2-ONA I NJEGOVIH DERIVATA

Prema ovom pronalasku 11-aza-4-o-kladinozil-6-o-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametiloksaciklopentadekan-2-on (11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A) se može najjednostavnije i u najboljem iskorištenju pripremiti

A/ Beckmannovim pregradjivanjem eritromicin A oksima s p-toluen-sulfokloridom uz prisustvo NaHCO_3 u smjesi acetona i vode na temperaturi $0-5^\circ\text{C}$ te izolacijom produkata gradijent pH ekstrakcijom metilenkloridom, a zatim

B/ Katalitičkim hidriranjem izoliranog produkta s platinskim (IV) oksidom u ledenoj octenoj kiselini kod sobne temperature i tlaka 5-70 atmosfera kroz vrijeme od 2-20 sati, što ovisi o pritisku kod kojeg se provodi redukcija.

Dobiveni 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A se po potrebi reakcijom s etilenkarbonatom u prisutnosti K_2CO_3 prevede u 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A-ciklički 13,14-karbonat.

Aciliranjem 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A odnosno njegovog cikličkog 13,14-karbonata s anhidridima karbonskih kiselina, kao npr. anhidridom octene ili propionske kiseline, u piridinu na temperaturi $0-25^\circ\text{C}$ pripremljeni su odgovarajući 2',N-diacil-, 2',4'',N-triacil odnosno 2',4'',13,N-tetraacil derivati, a hidrolizom 2',N-diacil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A u meta-

nolu uz dodatak 5%-tne vodene otopine NaHCO_3 odgovarajući N-acil-
-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicini A.

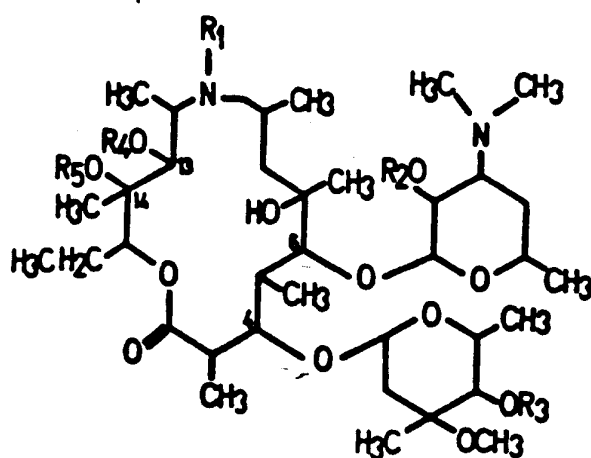
Reakcijom 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A s aromatskim sulfokloridima formule $4\text{-R-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{Cl}$, u kojoj R ima značenje nižeg alkil radikala, halogena ili niže alkanolamino grupe, u prisutnosti alkalija, kao npr. Na_2CO_3 , u acetonu ili nekom drugom prikladnom otapalu pripremljeni su odgovarajući N-(4-R-benzensulfonil) derivati, kao npr. N-(4-metil-, N-(4-jod- ili N-(4-acetilaminobenzensulfonil)-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A.

SOUR PLIVA-ZAGREB
Pravno-patentni poslovi
Rukovodilac:


(Ž. Bedeković, dipl. pravnik)

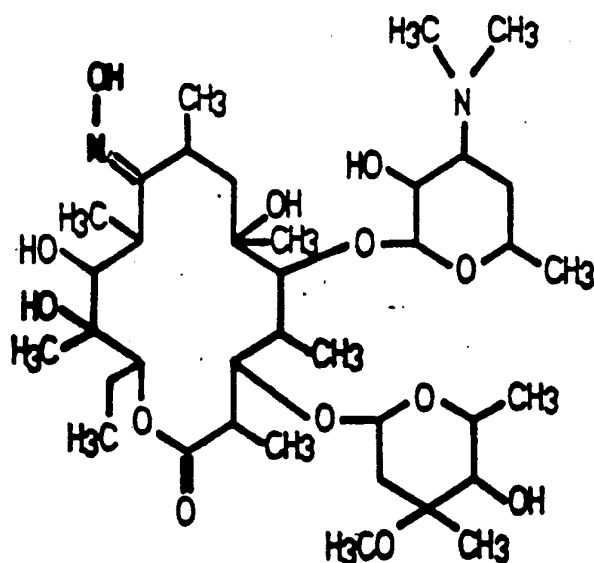
PATENTNI ZAHTJEV

1. Postupak za pripravu 11-aza-4-O-kladinozil-6-O-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,9,11,13,15-heksametiloksa-ciklopentadekan-2-ona (11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromi-cin A) formule (1),



(1)

gdje R_1 ima značenje vodika, C_1-C_3 alkanoil- ili $4-R-C_6H_4-SO_2$ -grupe, gdje je R C_1-C_3 alkil, R_2 , R_3 i R_4 , koji mogu biti isti ili različiti, vodika, C_1-C_3 alkanoil grupe ili R_4 i R_5 imaju zajedno značenje karbonil grupe, R_5 vodika ili zajedno s R_4 ima značenje karbonil grupe, naznačen time da se A/ eritromicin A oksim formule (2),



(2)

podvrgne reakciji Beckmannovog pregradjivanja s 1-2 mola p-toluensulfoklorida i 2-4 mola NaHCO_3 na temperaturi od 0 do 5°C , kroz 4 sata, u smjesi acetona i vode, a dobiveni produkt bruto formule $\text{C}_{37}\text{H}_{66}\text{N}_2\text{O}_{12}$, M^+ 730, T.t. $128-131^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = -54.63$ (1%, CH_2Cl_2), IR(KBr) 1730 i 1705 cm^{-1} , ^{13}C NMR(CDCl_3) 163.9 ppm (C-10) podvrgne

B_1 / katalitičkom hidriranju s Rh/C 5% u ledenoj octenoj kiselini, kod sobne temperature, kroz 8 sati, kod pritiska od 650000 Pa, ili

B_2 / katalitičkom hidriranju s PtO_2 u ledenoj octenoj kiselini, kod sobne temperature, kroz vrijeme od 2 do 24 i pritiska vodika 500000 do 7100000 Pa, ovisno o odnosu supstrat:katalizator (1:24 do 1:2), u ledenoj octenoj kiselini ili drugom inertnom otapalu.

B₃/ redukciji s NaBE₄ u metanolu, na temperaturi od 4°C, kroz 24 sata,

dajući 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A formule (1), gdje su R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ međusobno isti i imaju značenje vodika, koji se po potrebi podvrgne

C₁/ reakciji aciliranja s anhidridom octene ili propionske kiseline u piridinu, na sobnoj temperaturi kroz vrijeme od 30 minuta do 10 dana, dajući

2',N-diacil-derivate formule (1), gdje R₁ i R₂ imaju značenje acetil- ili propionil-grupe, a R₃, R₄ i R₅ su međusobno isti i imaju značenje vodika, koji se po potrebi podvrgnu hidrolizi u metanolu uz prisustvo 5%-tne vodene otopine NaHCO₃, kroz 7 dana, dajući N-acil derivate formule (1), gdje R₁ ima značenje kao što je gore navedeno, a R₂, R₃, R₄ i R₅ su međusobno isti i imaju značenje vodika, ili

2',4'',N-triacil-derivate formule (1), gdje R₁, R₂ i R₃ imaju značenje acetila, a R₄ i R₅ su međusobno isti i imaju značenje vodika, ili

2',4'',13,N-tetraacil-derivate formule (1), gdje R₁, R₂, R₃ i R₄ imaju značenje acetila, a R₅ vodika,

ili se podvrgne

C₂/ reakciji s 1-4 molarnim suviškom etilen karbonata u etil-acetatu, na temperaturi refluksiranja otapala, kroz 2 sata, dajući 13,14-ciklički karbonat formule (1), gdje su R₁, R₂ i R₃ međusobno isti i imaju značenje vodika, a R₄ i R₅ zajedno imaju značenje karbonil grupe, koji se po potrebi podvrgne reakciji aciliranja s anhidridom octene kiseline u piridinu, na sobnoj temperaturi, kroz 2 dana, dajući 2',4~,N-triacil-derivat formule (1), gdje su R₁, R₂ i R₃ međusobno isti i imaju značenje acetila, a R₄ i R₅ zajedno karbonil grupe,

ili se podvrgne

C₃/ reakciji aciliranja s aromatskim sulfokloridima formule 4-R-C₆H₄-SO₂Cl, gdje R ima značenje metil-grupe, u acetonu, uz prisustvo Na₂CO₃, na temperaturi refluksiranja otapala, kroz vrijeme od 12 sati, dajući N-(4-R-benzensulfonil)-derivate formule (1), gdje R₁ ima značenje kao što je gore navedeno,, a R₂, R₃, R₄ i R₅ su međusobno isti i imaju značenje vodika.

2. Postupak prema zahtjevu 1 naznačen time, da je inertno otapalo pri katalitičkom hidriranju s PtO₂ C₁ - C₄ alkanol.

SOUR PLIVA-ZAGREB
Pravno-patentni poslovi
Rukovodilac:


(Ž. Bedeković, dipl. pravnik)

KRATAK SADRŽAJ

Izum se odnosi na postupak za pripremu 11-aza-4-O-kladinozil-6-O-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametiloksaciklopentadekan-2-ona (11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A), novog polusintetskog antibiotika iz reda eritromicina s 15-teročlanim azalaktonskim prstenom. Prema ovom izumu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A se dobiva Beckmannovim pregradjivanjem eritromicin A oksima s aromatskim sulfokloridima te katalitičkim hidriranjem ili redukcijom izoliranog produkta s kompleksnim metalnim hidridima. Izum se odnosi nadalje na postupak za pripremu acil odnosno N-(4-R-benzensulfonil) derivata 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A, novih spojeva s antibakterijskim in vitro djelovanjem.