



(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 145084 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

- (21) Ansøgning nr. 2265/78 (51) Int.Cl.³ C 07 D 498/22
(22) Indleveringsdag 22. maj 1978
(24) Løbedag 22. maj 1978
(41) Alm. tilgængelig 23. nov. 1979
(44) Fremlagt 23. aug. 1982
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet -

(71) Ansøger FARMITALIA CARLO ERBA S.P.A., Milano, IT.

(72) Opfinder Leonardo Marsili, IT: Vittorio Rossetti, IT: Car=
mine Pasqualucci, IT.

(74) Fuldmægtig Internationalt Patent-Bureau.

(54) Analogifremgangsmåde til frem=
stilling af spiroperidylri=
famyciner.

Opfindelsen angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte rifamycinforbindelser, som har kraftig anti-biotisk virkning.

Dansk patentansøgning nr. 2580/76 omhandler spiroforbindelser som fås ved at omsætte 3-amino-4-desoxo-4-imino-rifamycin S med cycloalifatiske ketoner eller N-substituerede 4-piperidinoner.

Rifamycinforbindelserne fremstillet ifølge ovennævnte patentansøgning har antibakteriel virkning in vitro på grampositive og gramnegative bakterier og specielt på Mycobacterium Tuberculosis.

Ved in vitro forsøg på mus inficeret intravenøst med Mycobacterium Tuberculosis blev det påvist, at de rifamycinforbindelser

med formlen I (se kravet) som fås ved at omsætte en 3-amino-4-desoxo-4-imino-rifamycin S med formlen II (se kravet) med 4-piperidoner med formlen III (se kravet), hvori R betyder ligekædet eller forgrenet (C_4-C_6)alkyl, ligekædet eller forgrenet (C_3-C_4)-alkenyl, eller 2-methylfuryl, farmakologisk afviger fra de derivater som fås ved at omsætte nævnte 3-amino-4-desoxo-4-imino-rifamycin S med andre ketoner end 4-piperidonerne med formlen III, idet de har en væsentligt større terapeutisk aktivitet.

Blandt de derivater som fås ud fra 4-piperidoner og som omhandles i nævnte patentansøgning nr. 2580/76 har de rifamycinderivater som svarer til formlen I og som fås ved at omsætte en rifamycinforbindelse med formlen II med N-ethyl-4-piperidon, i det følgende kort kaldt "ethylderivatet", vist sig at have den største terapeutiske virkning.

Piperidinforbindelserne som omhandles i patentansøgning nr. 2580/76 blev fremstillet ved omsætning af en rifamycinforbindelse med formlen II med 4-piperidoner som svarer til formlen III, men med op til 3 C-atomer i lige kæde for R = alkyl, med op til 8 C-atomer for R = aralkyl og med op til 4 C-atomer for R = acyl.

Ikke andre substituerede 4-piperidoner var blevet anvendt.

Det har som nævnt nu vist sig, at det ved at anvende substituerede 4-piperidoner med formlen III (af hvilke nogle var hidtil ukendte) var muligt at opnå rifamycinforbindelser med formlen I, som har en terapeutisk virkning, som er overraskende større end virkningen af rifamycinforbindelserne som svarer til formlen I, og som fås ved at anvende de 4-piperidoner, som er beskrevet i ovennævnte patentansøgning nr. 2580/76.

For at demonstrere forskellene med henblik på terapeutisk virkning in vivo blev hvide mus CD1 inficeret med Mycobacterium Tuberculosis H₃₇RV-kultur af intravenøs vej. 0,2 ml af ovennævnte kultur indeholdende det dobbelte af LD₅₀-dosis blev injiceret i hver mus.

Tre dage efter, at musene var inficeret, blev de behandlet oralt med rifamycinforbindelser i doser andragende fra 20 til 1,25 mg/kg. Grupper på 15 mus blev behandlet med hver dosis af rifamycinforbindelse med enkelte daglige doser i 5 døgn i rækkefølge hver uge og i seks uger.

Ved afslutningen af behandlingerne blev antallet af dødsfald registreret, og PD₅₀ blev beregnet.

Dyrene blev holdt under observation i ca. 2 måneder.

PD₅₀-Værdien for "Etylderivatet" viste sig at være 20 mg/kg og in vitro-aktiviteten er 0,01 µg/ml for MIC.

Tabel 1

R	Aktivitet	
	In vitro MIC µg/ml	In vivo PD ₅₀ mg/kg
n-butyl	0,0005	5
n-hexyl	0,0005	10
allyl	0,0012	5
i-butyl	0,0012	2,6
methyl-allyl	0,005	5
sec-butyl	0,005	3,7
2-methyl-furyl	0,0012	----
1,2-dimethyl-propyl	0,005	2,5
n-pentyl	0,0012	5
1,3-dimethyl-butyl	0,0012	2,5
3-pentyl	0,0012	2,5

De ved disse forsøg opnåede resultater med de hidtil ukendte forbindelser er gengivet i tabel 1 og viser, at de afprøvede hidtil ukendte forbindelser med den almene formel I, har en PD₅₀-værdi som er overraskende lavere end for "etylderivatet", hvorfor de er mere effektive end etylderivatet og som følge deraf end samtlige forbindelser som omfattes af patentansøgning nr. 2580/76.

Frengangsmåden ifølge opfindelsen illustreres nærmere ved hjælp af nedenstående eksempler.

Eksempel 1

8 g 3-amino-4-deoxo-4-imino-rifamycin S blev opløst i 40 ml dichlormethan og omsat med 2,6 g 1-n-hexyl-4-piperidon ved +5°C i 48 timer. Opløsningen blev fortyndet med 600 ml ethylether, filtreret og vasket med vand. Den organiske fase blev tørret over natriumsulfat og derpå indampet til tørhed. Remanensen blev ekstraheret med ligroin og den violette opløsning indampet til tørhed.

Udbytte: 2,5 g af produktet med formlen I, hvori R betegner en n-hexylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol viser spidser ved 497, 314, 278 og 239 nm.

På lignende måde men ved at anvende 1-n-pentyl-4-piperidon som reagens fås en forbindelse med formlen I, hvori R er en n-pentylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 500, 316, 278 og 240 nm.

Eksempel 2

8 g 3-amino-4-deoxo-4-imino-rifamycin S blev opløst i 40 ml tetrahydrofuran. 4 g 1-(1',3'-dimethyl)butyl-4-piperidon, 0,5 g zink og 0,5 g ammoniumacetat blev tilsat, og blandingen omrørt ved stuetemperatur i 30 minutter. Reaktionsblandingen blev oparbejdet som i eksempel 1 under opnåelse af 3,5 g af et produkt med formlen I, hvori R betegner en 1,3-dimethyl-butylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 500, 315, 277 og 240 nm.

På lignende måde men under anvendelse af 1-(1-ethyl)-propyl-4-piperidon fås en forbindelse, hvori R betegner en 3-pentylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 500, 315, 276 og 240 nm.

Eksempel 3

8 g 3-amino-4-deoxo-4-imino-rifamycin S blev opløst i 40 ml tetrahydrofuran. 1,8 g 1-methallyl-4-piperidon, 0,2 g zink og 0,2 g ammoniumacetat blev tilsat, og blandingen henstillet ved +5°C natten over. Reaktionsblandingen blev oparbejdet som i eksempel 1 til opnåelse af 5,5 g af et produkt med formlen I,

hvor R er en methallylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 498, 313, 275 og 238 nm.

På lignende måde men under anvendelse af 1-allyl-4-piperidon fås en forbindelse med formlen I, hvori R betegner allyl. Det elektroniske absorptionsspektrum for denne forbindelse udviser spidser ved 491, 314, 276 og 235 nm.

Eksempel 4

8 g 3-amino-4-deoxo-4-imino-rifamycin S blev opløst i 40 ml tetrahydrofuran. 0,5 g zink, 0,5 g ammoniumacetat og 5,5 g 1-(2-methylfuryl)-4-piperidon blev tilsat, og blandingen omrørt ved stuetemperatur i 24 timer. Reaktionsblandingen blev filtreret, fortyndet med 500 ml dimethylether og vasket med vand. Den organiske fase blev koncentreret til 250 ml og derpå ekstraheret med vandig fortyndet eddikesyre. Den violette vandige opløsning blev ekstraheret med dichlormethan, og den organiske fase vasket med vand, tørret over natriumsulfat og indampet til tørhed. Udbytte: 3,3 g af et produkt med formlen I, hvori R betegner en 2-methylfurylgruppe.

Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 497, 316, 276 og 240 nm.

På lignende måde men under anvendelse af 1-n-butyl-4-piperidon som reaktant blev fremstillet en forbindelse med formlen I, hvori R betegner en n-butylgruppe. Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 496, 317, 276 og 240 nm.

På lignende måde fremstilles forbindelser med formlen I, hvori R betegner en i-butyl- eller sec-butylgruppe. Forbindelsen hvori R = i-butyl har et elektronisk absorptionsspektrum i methanol, som udviser spidser ved 493, 315, 274 og 238 nm. Forbindelsen hvori R = sec-butyl udviser spidser ved 500, 315, 275 og 240 nm.

Eksempel 5

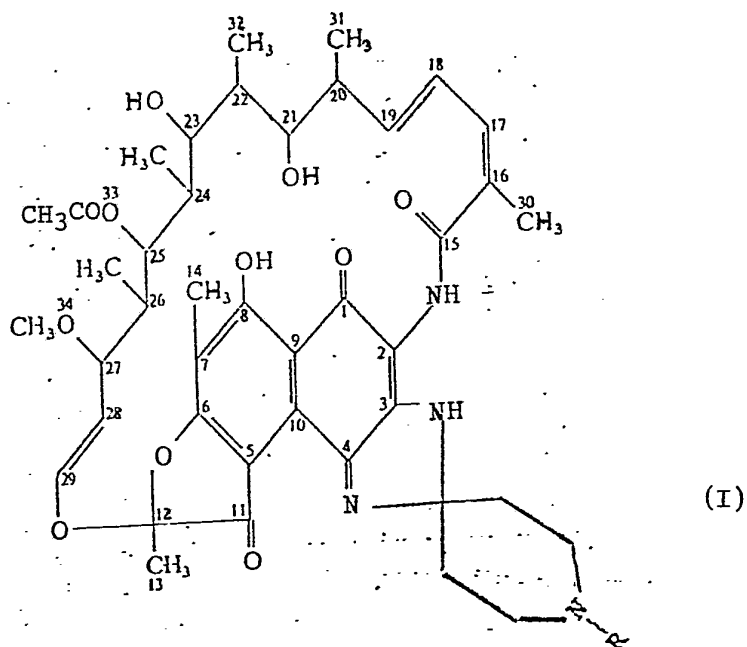
8 g 3-amino-4-deoxo-4-imino-rifamycin S blev opløst i 40 ml tetrahydrofuran og ved 50°C dryppet til en blanding af 15 ml tetrahydrofuran, 5 ml eddikesyre, 1 g zink og 4 g 1-(1,2-dimethyl)-propyl-4-piperidon.

Opvarmningen blev fortsat i 30 minutter, hvorpå reaktionsblandingen blev oparbejdet som i eksempel 4. Udbytte: 3,7 g af et produkt med formlen I, hvori R betegner en 1,2-dimethyl-propylgruppe.

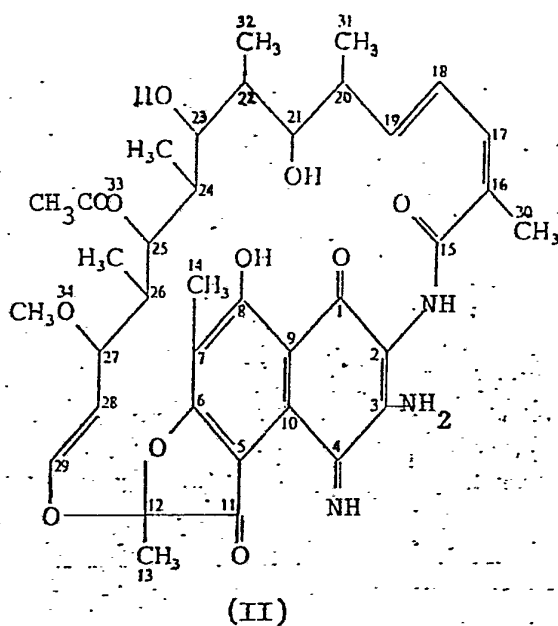
Det elektroniske absorptionsspektrum i methanol udviser spidser ved 498, 315, 277 og 240 nm.

P A T E N T K R A V

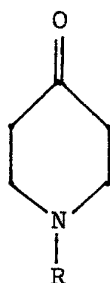
Analogifremgangsmåde til fremstilling af spiropiperidyl-
rifamyciner med den almene formel I



hvor R betegner ligekædet eller forgrenet (C_4-C_6)alkyl,
ligekædet eller forgrenet (C_3-C_4)alkenyl eller 2-methylfuryl,
kendetegnet ved, at man omsætter en forbindelse med
den almene formel II



med en 4-piperidon med formelen III



III

hvor i R har den ovenfor anførte betydning.

Fremdragne publikationer:
