

(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

200 193 B

(22) Bejelentés napja: 1986.11.01.

(21) 5319/86

(33) GB

(32) 1985.11.28.

(31) 8529272

(86) PCT/EP86/00630

(87) WO87/03285

(51) Int Cl⁵

C 07 K 9/00

C 07 K 7/06

A 61 K 37/00

(41) (42) 1988.04.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma

a Szabadalmi Közlönyben: 1990.04.30.

(72) Feltalálók:

Malabarba Andriano, Binasco,
Trani Aldo, Milánó,
Ferrari Pietro, Piacenza,
Tarzia Giorgio, Saronno, IT

(73) Szabadalmaz:

Gruppo Lepetit S.P.A., Milánó, IT

(54) Eljárás új de-(acetyl-glukozaminil)-dl(dehidro)dezoxi-teicoplanin-származékok és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás új, (A) általános képletű vegyületek és savaddíciós sóik előállítására, a képletben

x további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

y további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

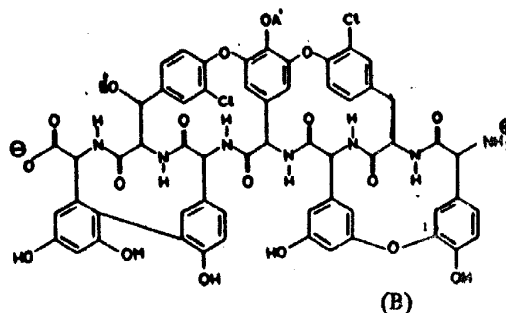
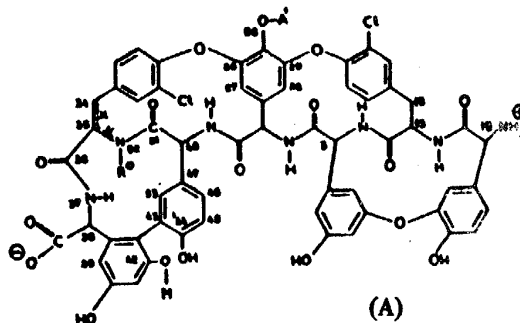
A' jelentése hidrogénatom vagy N-[10-11 szénatomos alifás-acil]-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport;

M jelentése hidrogénatom vagy α-D-mannopiranozil-csoport;

R⁰ jelentése hidrogénatom, ha y-nak nincs jelentése és nincs jelentése, ha y jelentése további kötés; azzal a feltétellel, ha x további kötést jelent, y-nak nincs jelentése, és ha x-nek nincs jelentése, y további kötést jelent, és ha M jelentése hidrogénatom, A' jelentése is hidrogénatom kell legyen.

Az eljárás során valamely (B) képletű teicoplanin kiindulási anyagot bázisos körülmények között kezelnek.

A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek mikrobaelenes hatásúak.



A leírás terjedelme: 11 oldal, 1 ábra

HU 200 193 B

A találmány tárgya eljárás (A) általános képletű – ahol

x további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

y további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

A' jelentése hidrogénatom vagy N-acil- β -D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport;

M jelentése hidrogénatom vagy α -D-mannopiranozil-csoport;

R^o-nak nincs jelentése, ha y további kötést jelent és R^o jelentése hidrogénatom, ha y-nak nincs jelentése, azzal a feltétellel, hogy ha x jelentése további kötés, akkor y-nak nincs jelentése ha x-nek nincs jelentése, akkor y további kötést jelent és ha M jelentése hidrogénatom, akkor A' jelentése is hidrogénatom — új de-(acetyl-glukozaminil)-di(dehidro)-dezoxi-teicoplanin-származékok és addíciós sóik előállítására.

Az (A) általános képletben az acil kifejezés Z-4-decenoil-, 8-metil-nonanoil-, dekanoil-, 8-metil-dekanoil- vagy 9-metil-dekanoil-csoportot jelent. Ha A és M az előzőekben részletezett cukor csoportokat jelent, ezek a csoportok a maghoz O-glikozidos kötésekkel kapcsolódnak.

Az (A) általános képletű vegyületek előnyös képviselői azok a vegyületek, ahol y további kötést jelent és x-nek nincs jelentése.

Előnyös (A) általános képletű vegyületek azok is, ahol a 36, 37 helyen lévő amid kötés transz konfigurációjú.

Az (A) általános képletű vegyületek legelőnyösebb képviselői azok a származékok, ahol y jelentése további kötés, x-nek nincs jelentése, és a 37, 37 helyen lévő amid kötés transz konfigurációjú.

A találmány szerinti eljárással előállított új vegyületek mikrobiellen hatásúak, főként gram pozitív baktériumokkal szemben jó hatásúak, ideértve néhány koaguláz-negatív staphylococcus törzset is.

A találmány szerinti vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy teicoplanint, egy teicoplanin faktort, komponens vagy pszeudoaglikont meghatározott bázisos körülmények között, poláros szerves oldószerek jelenlétében reagáltatunk.

A teicoplanin a nemzetközi szabad neve (international non-proprietary name, INN) az előzőleg teichomycinnek nevezett antibiotikumnak, amelyet az *Actinoplanes teichomyceticus* nov. sp. ATCC 31121 törzs tenyésztésével állítanak elő. A tápközeg emészthető szénforrást, nitrogénforrást és szervesen sokat tartalmaz (4.239.751. számú USA-beli szabadalmi leírás). Az előbb említett szabadalmi leírás szerint Teichomycin A₁, A₂ és A₃ tartalmú antibiotikus komplexet nyernek ki a szeparált fermentléből, a kinyerést valamilyen megfelelő vízzel nem elegendő szerves oldószerezrel történő extrahálással, majd ezt követően ismert módon való kicsapással végzik.

Az antibiotikum komplex fő faktorát, a Teichomycin A₂-t Sephadex-szel töltött oszlopon, kromatográfiával választják el az egyéb faktoroktól.

A 2.121.401. számú brit szabadalmi leírás szerint a Teichomycin A₂ antibiotikum öt nagyon hasonló, egyszerre keletkező fő komponens keveréke.

A jelenlegi szerkezeti vizsgálatok szerint a teicoplanin A₂ (előzőleg Teichomycin A₂) 1, 2, 3, 4 és 5 fő komponensek a (B) általános képlettel ábrázolhatók, ahol

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

A' jelentése N-[10–11 szénatomos alifás acil]- β -D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, B' jelentése N-acetyl- β -D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, M jelentése pedig α -D-mannopiranozil-csoport. Részletesebben: a teicoplanin A₂/1 komponensben a 10–11 szénatomos alifás acil szubsztituens Z-4-decenoil-csoportot, a teicoplanin A₂/2 komponensben 8-metil-nonanoil-csoportot, a teicoplanin A₂/3 komponensben dekanoil-csoportot, a teicoplanin A₂/4 komponensben 8-metil-dekanoil-csoportot, végül a teicoplanin A₂/5 komponensben 9-metil-dekanoil-csoportot jelent.

Minden cukor csoport O-glikozidos kötéssel kapcsolódik a teicoplanin maghoz.

A 119574. és 119575. számú európai szabadalmi leírások szerint a teicoplanint, annak valamilyen tisztítófaktorát, vagy az említett faktorok tetszőleges keverékét egy vagy két cukor csoport szelektív hidrolízisével egységes antibiotikus termékek képezhetők. Ezeket L 17054 és L 17046 antibiotikumoknak nevezik, és megfelelőleg a 119575. és 119574. számú európai szabadalmi leírások ismertetik őket.

Az L 17054 antibiotikum előállításának előnyös hidrolizálási körülményei: 0,5 N sósavval, 70–90 °C hőmérséklet között, általában 15 és 90 perc közti reakcióidővel.

Az L 17054 antibiotikum olyan (B) általános képletű vegyület, ahol A' jelentése hidrogénatom, B' jelentése N-acetyl- β -D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, M jelentése α -D-mannopiranozil-csoport, ahol a cukor csoportok O-glikozidos kötéssel kapcsolódnak a peptid maghoz.

Az L 17046 antibiotikum előállításának előnyös hidrolizálási körülményei: 1–3 N sósavval, 50–90 °C hőmérséklet között, általában 30–60 perc közötti reakcióidővel.

Az L 17046 antibiotikum olyan (B) általános képletű vegyület, ahol A' és M jelentése hidrogénatom, B' jelentése N-acetyl- β -D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, ahol a cukor csoport O-glikozidos kötéssel kapcsolódik a peptid maghoz.

A teicoplanin vegyületek összes cukorcsoportjának teljes szelektív lehasítása egy aglikon molekulát eredményez, ezt L 17392 antibiotikumnak vagy deglucoteicoplanin-nak nevezik és olyan (B) általános képlettel jellemezhető, ahol A', B' és M mindegyike hidrogénatomot jelent. A szelektív hidrolizálási eljárást a 84114558.4. számú európai szabadalmi leírás ismerteti.

Ugyanilyen szerkezeti képletű anyagot ismertet a 0090578. számú európai szabadalmi leírás, az antibiotikum neve A41030 faktor B. Ezt az anyagot mikrobiológiai eljárással állítják elő, a *Streptomyces virginiae* NRRL 12525 vagy *Streptomyces virginiae* NRRL 15156 törzsekkel történő fermentálással. A fermentálást valamilyen megfelelő közegben végzik és ismertetik az A 41030 antibiotikum, egy legalább hét faktorból álló antibiotikus komplex, valamint az A 41030 faktor B antibiotikum izolálását, tisztítását és szétválasztását is.

Az előzőekben ismertetett vegyületek, így a teicoplanin, teicoplanin A₂ komplex, teicoplanin A₂/1 komponens, teicoplanin A₂/2 komponens, teicoplanin A₂/3 komponens, teicoplanin A₂/4 komponens, teicoplanin A₂/5 komponens, az L 17054 antibioti-

kum, az L17046 antibiotikum, valamint ezek bármilyen összetételű és bármilyen arányú keveréke megfelelő kiindulási anyag a találmány szerinti származékok előállításánál.

A leírásban és az igénypontokban a „teicoplanin kiindulási anyag kifejezés bármelyik fenti kiindulási anyagot jelenti, így például a teicoplanint a 4.239.751. számú USA-beli szabadalmi leírás szerint előállítva és tisztítva, a teicoplanin A₂ komplexet, amely olyan (B) általános képletű vegyületet, ahol A' jelentése hidrogénatom vagy -N[10-11 szénatomos alifás acil]-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, ahol az alifás acil kifejezés jelentése a fenti-ekben megadott, B' jelentése hidrogénatom vagy N-acetil-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, M jelentése hidrogénatom vagy α-D-mannopiranozil-csoport, azzal a feltétellel, hogy A' és M egyidejűleg hidrogénatomot nem jelenthet és M jelentése csak hidrogénatom lehet, ha A' jelentése hidrogénatom. A „teicoplanin kiindulási anyag kifejezés körébe tartoznak a fenti vegyületek sói vagy bármilyen arányú keverékei.

A találmány szerinti vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat meghatározott bázisos körülmények között, azaz poláros szerves oldószerben 60 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten, erős bázissal kezeljük, így szelektíven lehasítjuk a teicoplanin kiindulási molekuláról az N-acetil-β-D-2-dezoxi-2-glukozaminil-csoportot, miáltal a molekula 34–35 vagy 35–52 helyén kettős kötés alakul ki.

A teicoplanin vagy bármelyik faktora, komponense, pszeudoaglikonja vagy aglikonja bázisos kezelését a következő irodalomban leírtak szerint végezzük:

Barna J. C. J. és társai, „Structure and conformation of epimers derived from the antibiotic teicoplanin. J. Antibiotics, 37; 1204–1208 (1984). Az itt leírt bázisos kezelés eredménye azonban, hogy a 3-as helyen bekövetkező epimerizáció kevésbé aktív antibiotikus hatású anyagokat eredményez.

A találmány szerinti eljárásban alkalmazott bázisos körülmények olyanok kell legyenek, hogy az N-acetil-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport eltávolítása a teicoplanin kiindulási anyagról úgy menjen végbe, hogy az egyidejűleg ne legyen hatással a többi cukor csoportra. Mivel minden cukor csoport — ha van — a teicoplanin kiindulási anyagban glikozidos kötéssel át kapcsolódik a molekula peptid magjához, szelektív reakciókörülmények szükségesek ahhoz, hogy csak egy cukor csoport (nevezetesen az N-acetil-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport) hasadjon le. Sőt, ezeknek a szelektív reakciókörülményeknek olyanoknak kell lenni, hogy epimerizáció egyáltalán ne következzen be még kísérletekben sem, egyetlen királis pontján sem a molekulának. Azt találtuk, hogy ilyen szelektív bázisos körülményeket úgy érhetünk el, ha a kiindulási anyagot valamilyen poláros szerves oldószerben, valamilyen erős bázissal kezeljük körülbelül 60 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten.

Poláros szerves oldószerként például rövidszénláncú alkoholokat rövidszénláncú alkil-karboxamidokat, rövidszénláncú alkil-szulfamidokat, rövidszénláncú alkil-foszfamidokat, rövidszénláncú alkil-szulfamidokat vagy rövidszénláncú alkil-szulfonokat, továbbá ezek keverékeit alkalmazhatjuk.

Rövidszénláncú alkanolként 1–4 szénatomos alkanolokat, így metanolt, etanolt, propanolt, 1-metil-etanolt, butanolt és 2-metil-propanolt alkalmazhatunk.

A „rövidszénláncú alkil- kifejezés az előbbi vegyületekben 1,2,3 vagy 4 szénatomos alkil-csoportokat jelent. Rövidszénláncú alkil-karboxamidként például dimetil-formamidot, dietil-formamidot használhatunk előnyös rövidszénláncú alkil-szulfamid és dimetil-szulfamid; előnyös rövidszénláncú alkil-szulfon a dimetil-szulfon; előnyös rövidszénláncú alkil-foszfamid a hexametil-foszfamid.

A találmány szerinti eljárás egyik előnyös megvalósításában poláros szerves oldószerként valamilyen poláros aprotikus szerves oldószer és valamilyen poláros protikus szerves oldószer keverékét alkalmazzuk. Előnyös poláros aprotikus szerves oldószer a tercier alkil-amidok, dialkil-szulfamidok és szulfonok; míg előnyös poláros protikus szerves oldószer a rövidszénláncú alkanolok.

Az N-acetil-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport lehasításához szükséges bázisos körülményeket valamilyen erős lúggal érhetjük el. Előnyös például a koncentrált vizes alkálifém hidroxidok, alkálifém oxidok és 1–4 szénatomos alkálifém alkoxidok alkalmazása. Előnyös alkálifémek a nátrium vagy kálium, előnyös alkoxi-csoportok a metoxi-, etoxi-, propoxi- vagy butoxi-csoport.

Ha az alkalmazott bázis valamilyen alkálifém-alkoxid, a poláros szerves oldószer előnyösen a megfelelő alkanol lehet, valamilyen poláros aprotikus oldószert keverve. A találmány szerinti eljárás hatékony kivitelezéséhez szükség van a reakcióelegyben meghatározott mennyiségű vízre. Általában ez a vízmennyiség már jelen van a kiindulási anyagokban, amelyek sok esetben hidrátok.

Ha a reakcióban erős bázisként valamilyen alkálifém-hidroxidot vagy oxidot alkalmazunk, az előnyös vízmennyiség körülbelül 0,5–2 t% vagy 15–20 mólfeleslegnyi. Nagyobb vízmennyiség előnytelen a reakcióelegyben, mert az kedves a mellékreakcióknak.

A reakcióhőmérséklet is meghatározott kell legyen, a hőmérsékletet általában 60 °C alatt kell tartanunk.

A reakcióhőmérséklet előnyösen 0 °C–50 °C közötti, legelőnyösebben és legáltalánosabban szobahőmérséklet. A reakcióidő az egyéb paraméterek függvényében változik. A reakció lejátszódását vékonyréteglromatográfiával vagy előnyösen nagynyomású folyadékkromatográfiával követhetjük, így a szakember számára nyilvánvaló, hogy a reakció mikor tekinthető befejeződöttnek.

A találmány szerinti eljárás egy előnyös megvalósításában poláros szerves oldószerként dimetil-formamid és dimetil-szulfamid keverékét, erős lúggal vizes koncentrált nátrium- vagy kálium-hidroxidot alkalmazunk és a reakcióhőmérséklet szobahőmérséklet. A dimetil-formamid és dimetil-szulfamid térfogatarány 4:1–3:2 közötti, míg a vizes nátrium- vagy kálium-hidroxid koncentrációja 85–90 t% között van.

A találmány szerinti eljárás egy másik előnyös megvalósításában az erős bázis valamilyen alkálifém-alkoxid, és a poláros szerves oldószer az alkoxidnak megfelelő alkanol. A reakciót adott esetben valamilyen poláros aprotikus oldószer, előnyösen di-

metil-formamid jelenlétében hajtjuk végre. Ebben az esetben előnyös keverék az 1–10%-os metanolos nátrium-metoxid, dimetil-formamidban.

Amikor a kiindulási anyag teicoplanin A₂, olyan megfelelő (A) általános képletű vegyületet kapunk, amelyből hiányzik az N-acetil-D-2-dezoxi-2-aminoglukopiranozil-csoport a 34-es helyen, és a 35–52 helyen C–N kettős kötés van (x-nek nincs jelentése, y jelentése további kötés): ez a vegyület I vegyület néven szerepel az 1. táblázatban. Hasonlóképpen, ha teicoplanin komponenszt használunk kiindulási anyagként, a megfelelő de-glikozilezett származékot kapjuk, a 35–52 helyen C–N kettős kötéssel.

Ha a kiindulási anyag L 17054 antibiotikum, a megfelelő deglikozilezett származékot nyerjük, a 35–52 helyen C–N kettős kötéssel. Ezt a vegyületet II vegyület néven szerepeltetjük az 1. táblázatban.

Az NMR analízis azt mutatja, hogy összehasonlítva ismert szerkezetekkel, semmiféle lényeges változás nem következik be ennél a két új vegyületnél, a kiindulási anyagokhoz viszonyítva, azaz olyan (B) általános képletű vegyületből kiindulva, ahol M jelentése D-mannopiranozil-csoport és az egyéb szubsztituensek jelentése a fentiekben megadott, erős bázisos reakciókörülmények között olyan megfelelő vegyületet kapunk, ahol x-nek nincs jelentése, y jelentése pedig egy további kötés.

Ha a kiindulási anyag L 17046 antibiotikum, azaz egy olyan (B) általános képletű vegyület, ahol A' és M jelentése hidrogénatom és az egyéb szubsztituensek jelentése a fentiekben megadott, a megfelelő de-glikozilezett vegyületet kapjuk, ahol a 34–34 helyen C–C kettős kötés van. Ez esetben, az alkalmazott lúgos reakciókörülményektől függően, a IV vagy V vegyületet kapjuk. Közlebből, a IV vegyületet úgy kapjuk, ha az L 17046 antibiotikumot a fent leírt bázisos reakciókörülmények között hosszabb ideig, vagy a legdrasztikusabb reakciókörülmények között kezeljük. Az V vegyületet enyhébb reakciókörülmények között, így például 50–100-szoros mólfeleslegben vett alkálifém-alkooxiddal, a megfelelő alkanol jelenlétében, szobahőmérsékleten, körülbelül 24–72 órás reakcióidővel állíthatjuk elő. Hosszabb reakcióidővel az V vegyület átalakul a N vegyületté. A IV vegyület is átalakítható enyhén savas reakciókörülmények között a III vegyületté, azaz olyan (I) általános képletű vegyületté, ahol A és M jelentése hidrogénatom, x-nek nincs jelentése és y jelentése egy kettős kötés (lásd az 1. táblázatot).

Az V vegyületnek III vegyületté való átalakítására alkalmazható enyhén savas reakciókörülmények például valamilyen ásványi sav vizes oldata, általában 0,5–1 N sósav oldat.

Az I vegyületet vagy a II vegyületet is átalakíthatjuk a III vegyületté erős savas hidrolízissel, valamilyen szobahőmérsékleten folyékony oldószer, például valamilyen keton, éter, vagy ezek keveréke jelenlétében. Éterként ciklikus étereket vagy diétereket alkalmazhatunk. Előnyös éterek lehetnek az

$R-OR_1$ és $R_2O-(CH_2)_n-OR_3$ általános képletű éterek, ahol R és R₁ jelentése egymástól függetlenül 1–8 szénatomos alkil-, 5–8 szénatomos cikloalkil-, fenil- vagy fenil(1–4 szénatomos)alkil-csoport, az oxigénatommal együtt pedig 5–10 tagú teljesen hidrogénezett heterociklusos gyűrűt

alkotnak; n jelentése egész szám, melynek értéke 2 vagy 3; R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül 1–4 szénatomos rövidszénláncú alkil-, fenil- vagy fenil(1–4 szénatomos)alkil-csoport, az $-O-(CH_2)_n-O-$ csoporttal együtt pedig 5–10 tagú teljesen hidrogénezett heterociklusos gyűrűt alkotnak.

Ketonként 3–8 szénatomos alifás ketonokat vagy 5–8 szénatomos cikloalifás ketonokat alkalmazhatunk. Előnyös ketonok az

R_4-CO-R_5

általános képletűek, ahol R₄ és R₅ jelentése egymástól függetlenül 1–6 szénatomos rövidszénláncú alkil-csoport lehet, azzal a feltétellel, hogy a fenti általános képletben a szénatomok száma összesen 8-nál nagyobb nem lehet, vagy R₄ és R₅ együtt egy 4–7 szénatomos polimetilén láncot alkot.

A felsorolt oldószerek közül különösen előnyösen alkalmazhatók a savas hidrolízises reakcióban a következők: tetrahidrofurán, tetrahidropirán, 1,2-dimetoxi-etán, 1,2-dietoxi-etán, dioxán, vagy ezek keverékei. Az oldószert a kiindulási teicoplanin vegyülethez viszonyítva nagy feleslegben alkalmazzuk. Bár az oldószer lemegfelelőbb mennyiségét minden esetben a szóban forgó oldószer határozza meg az oldó hatástól és a forrásponttól függően, általában azt mondhatjuk, hogy a savas hidrolízist a kiindulási teicoplanin vegyület egy grammjára vonatkoztatva 10–50 ml oldószernek megfelelő szerves oldószer jelenlétében előnyös végezni.

A hidrolízisnél használt erős sav erős ásványi sav vagy erős szerves sav lehet. Erős ásványi savként sósav, hidrogén-bromid, koncentrált kénsav és koncentrált foszforsav alkalmazható előnyösen. Erős szerves savként pedig előnyös az alfa-halogénezett rövidszénláncú alifás savak, az alkánszulfonsavak, a polifluoro-alkánszulfonsavak, a cikloalkánszulfonsavak vagy arilszulfonsavak használata, amelyek közül legelőnyösebbek a következők: trifluoecetsav, triklórecetsav, metánszulfonsav, etánszulfonsav, trifluor-metánszulfonsav, p-toluol-szulfonsav. Előnyösen általában 95–98 t% szulfonsavat és 85–98 t% ortofoszforsavat alkalmazhatunk a kielégítő hozam elérése érdekében. Szerves savak esetében 98 t% metánszulfonsav és 98 t% trifluoecetsav alkalmazása előnyös.

Az I vegyület szintén átalakítható a II vegyületté, meghatározott körülmények között végzett savas hidrolízissel, amelyet erős szerves savval, így 75–95%-os vizes trifluor-ecetsavval, 10–50 °C közötti hőmérsékleten hajthatunk végre. Előnyös sav a 90%-os trifluor-ecetsav, a reakcióhőmérséklet pedig előnyösen szobahőmérséklet.

Bár a leírásban és az igénypontokban szerepel az „oldószer kifejezés, a találmány szerinti eljárásban nem szükséges a kiindulási teicoplanin vegyületet és/vagy az (A) általános képletű antibiotikum végterméket teljesen feloldani az oldószertben és ily módon homogén fázisú reakciós oldatot képezni. Arra azonban szükség van, hogy a kiindulási teicoplanin vegyület az alkalmazott reakcióhőmérsékleten annyira feloldódjék a poláros oldószer, erős lúg rendszerben, hogy a kiindulási vegyület koncentrációja megfelelő reakciósebességet biztosítson.

Az alább következő 1. táblázatban a találmány szerinti eljárással előállított néhány jellemző vegyület látható.

1. táblázat
(A) általános képlet

Vegyület	A'	M	x	y	36,37-kötés
I	-GNHCOR	-M	nincs jelentés	további kötés	transz
II	H	-M	nincs jelentés	további kötés	transz
III	H	H	nincs jelentés	további kötés	transz
IV	H	H	további kötés	nincs jelentés	cisz
V	H	H	további kötés	nincs jelentés	transz

-GNHCOR jelentése N[10-11 szénatomos alifás acil]-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, a fentiekben a teicoplanin A₂ komponensnél leírtak szerint.

-M jelentése α-D-mannopiranozil-csoport

A következő 2. táblázat néhány vegyületre vonatkozóan az analitikai eredményeket, a FAB-tömegspektrum értéket, a potenciometriás és a nagynyomású folyadékkromatográfiás (HPLC) analízis eredményeit mutatja be.

Az analitikai eredmények a C, H, N, Cl atomokra vonatkozóan az elméleti értékek ±0,4%-án belül vannak. A termogravimetriás analízissel (TGA) meghatározott súlyvesztés (oldószertartalom) általában 6-7%. Az oxigén atmoszférában 900 °C-on meghatározott szervesen maradék általában 0,3%. A só formára vonatkozó analitikai eredmények is láthatók a táblázatokban.

A FAB-MS pozitív ion spektrumot egy Kratos MS-50 berendezésen mértük, amelyhez standard FAB forrás és erős mezőjű mágnes csatlakozott. A mintát tioglicerín:diglicerín 1:1 térfogatarányú elegyben diszpergáltuk és 6-9 keV-os Xe sugárral sugároztuk be. A sav-bázis titrálást (pK_{MCS}) 2-metoxietanol:(Metilcellosolve[®]):víz 4:1 térfogatarányú oldatában, 0,01 N nátrium-hidroxiddal végeztük, megfelelő mennyiségű 0,01 N sósav hozzáadása után. A megadott egyenértékűsúlyokat (EW) az oldószertarta-

lommal és a szervesen maradékkal korrigáltuk.

A nagynyomású folyadékkromatográfiát (HPLC) egy Varian Mod. 5000 LC szivattyúval végeztük, amely 20 µl-es Rheodyne Mod. 7125 injektorral és UV detektorral (254 nm-nél) volt felszerelve.

Oszlopok: 5 cm-es előoszlop, megtöltve perisorb RP-8 (30 µm, Merck Co.) töltettel, majd 25 cm-es Hiber RT 250-4 (Merck Co.) oszlop, amely Li-Chrosorb RP-8 (10 µm) töltettel volt töltve.

Kromatografálási körülmények:

A eluens: 1,2l vizes HCO₂NH₄ (ammónium-formiát);

B eluens: 100% CH₃CN (metil-cianid); lineáris gradiens a B 15-35%-ig A-ban, 30 perc alatt, 2 ml/perc áramlási sebességnél; injektálás 20 µl. A reakciók végbemenetelét körülbelül 1 mg/ml végső koncentrációra hígított mintákkal figyeltük. A végterméket a következő módon vizsgáltuk: mindegyik anyagnál a 10 mg-ból készült 20 µl oldatot 10 ml, 1:1 térfogatarányú CH₃CN:0,2%-os vizes HCO₂NH₄ keverékbe (vagy a III vegyület esetében 0,1 N sósav) injektáltuk.

2. táblázat

A találmány szerinti néhány reprezentatív vegyület fizikai-kémiai és analitikai adatai

Vegyület	Képlet (MW)	Sóforma	FAB-MS (M+H)	Potenciometriás analízis pK _{mcs}	HPLC tr, min.) (EW) egyenértéksúly
I	—	HCl	n.d.	5,0 (COOH) 6,9 (NH ₂) (1870)	(komponens 1) 15,7 (komponens 2) 17,5 (komponens 3) 18,1 (komponens 4) 20,4 (komponens 5) 21,2
II	C ₆₄ H ₅₃ Cl ₂ N ₇ O ₂₂ (1343)	HCl	1342	4,8 (COOH) 6,9 (NH ₂) (1440)	7,74
III	C ₅₈ H ₄₃ Cl ₂ N ₇ O ₂₂ (1181)	HCl	1180	n.d.	10,06
IV	C ₅₈ H ₄₃ Cl ₂ N ₇ O ₂₂ (1181)	(belső só)	1180	4,8 (COOH) 7,1 (NH ₂) (1300)	11,18
V	C ₅₈ H ₄₃ Cl ₂ N ₇ O ₂₂ (1181)	(belső só)	1180	n.d.	12,24

A teicoplanin A₂-re vonatkozó adatok: pK_{mcs} 5,0 (COOH), 7,1 (NH₂, EW átlag 1930;
A deglucoteicoplaninra vonatkozó adatok: pK_{mcs} 4,9 (COOH), 6,9 (NH₂) EW 1407.
n.d.= nincs meghatározva.

3. táblázat

Néhány szignifikáns ¹H-NMR érték az I–V vegyületekre vonatkozóan, a deglucoteicoplanin értékeivel összehasonlítva (δ= ppm; m—multiplicitás)
Az ¹H-NMR spektrumokat DMSO-d₆-ban, 30 °C-on, Bruker WH-270 cryospektrométerrel határoztuk meg, belső referenciaként tetrametil-szilánt (TMS) alkalmaztunk (δ= 0,00 ppm)

Protonok	Vegyületek										Deglucoteicoplanin
	I	(m)	II	(m)	III	(m)	IV	(m)	V	(m)	
C ₁₅ -H	4,69	(s)	4,66	(s)	4,67	(s)	4,67	(s)	4,56	(s)	4,62 (s)
C ₁₈ -H	4,93	(ddd)	4,94	(ddd)	4,93	(ddd)	4,90	(ddd)	4,91	(d)	4,97 (d)
C ₃ -H	5,33	(d)	5,29	(d)	5,28	(d)	5,69	(d)	5,39	(d)	5,34 (d)
C _{50a} -H	5,67	(d)	5,65	(d)	5,55	(d)	5,67	(d)	5,56	(d)	5,67 (d)
C ₄₈ -H	4,53	(d)	4,57	(d)	4,58	(d)	5,57	(d)	5,34	(d)	4,34 (d)
C ₃₅ -H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4,12 (dd)
C ₃₈ -H	4,13	(d)	4,15	(d)	4,00	(d)	5,04	(d)	4,90	(d)	4,39 (d)
C ₁₉ -H	2,86	(dd)	2,86	(dd)	2,82	(dd)	2,84	(dd)	22,88	(dd)	2,85 (dd)
C ₃₄ -H	4,13	(d)	4,15	(d)	4,16	(d)	*	(s)	*	(s)	5,10 (d)
C ₃₄ -H	4,76	(d)	4,83	(d)	4,93	(d)	—	—	—	—	—
C ₂₆ -H	5,59	(s)	5,58	(s)	5,40	(s)	—	—	5,57	(s)	5,51 (s)
C ₂₇ -H	4,72	(s)	4,71	(s)	4,68	(s)	—	—	4,87	(s)	5,11 (s)
Mannóz CH	3,48	(m)	3,48	(m)	—	—	—	—	—	—	—
Mannóz anomer H	5,48	(s)	5,44	(s)	—	—	—	—	—	—	—
N ₅₂ -H	—	—	—	—	—	—	9,41	(s)	9,32	(s)	6,72 (d)
N ₃₇ -H	n.d.	—	n.d.	—	n.d.	—	6,76	(d)	7,54	(d)	8,36 (d)

*Eltolódva az aromás tartományba
n.d. — nincs meghatározva
M: s — szinglet; d — dublet

4. táblázat

UV spektrum adatok, $\lambda_{\max}$, nm (ϵ) az I–V vegyületekre vonatkozóan
(Az UV spektrum adatokat Unicam SP 800 spektrofotométerrel mértük)

Oldószer	Vegyület I	II	III	IV	V
metanol	n.d.	n.d.	282 (26870)	278 (18490)	280 (23070)
0,1 N sósav	279 (14980)	279 (15850)	280 (17310)	278 (17990)	278 (16020)
0,1 N nátrium- hidroxid	296 (18780)	296 (23140)	296 (24490)	296 (25420)	296 (22110)
H ₂ O puffer pH 7,4	279 (17650)	279 (17650)	280 (19000)	n.d.	278 (16540)

n.d. = Nincs meghatározva

5. táblázat

IR spektrum adatok (ν , cm^{-1}) az I–V vegyületekre vonatkozóan, a deglucoprotein adataival összehasonlítva
(A mérést Perkin Elmer 580 spektrométerrel, nujolban végeztük)

Vegyület	NH és fenolos OH	Amid I	ν C=O (COOH) vagy COO ⁻	δNH_3^+	Amid II	Fenolos OH és ν C–O	Mannóz kötés- vibráció
I	3280 (széles)	1645	1610	1590	1510	1230, 1060 1025–1010	970
II	3240 (széles)	1650	1725 (COOH)	1590	1515	1225, 1060 1005	970
III	3300 (széles)	1655	1615	1590	1515	1230, 1060 1010	–
IV	3400 3280 (széles)	1650	1615	1590	1520	1230, 1200, 1160, 1060 1020, 1005	–
V	3250	1650	1610	1590	1510	1230, 1200 1135, 1060, 1005	–
Deglucoprotein	3300	1655	1610	1590	1515	1230, 1140 1060, 1005	–

A találmány szerinti vegyületek antibakteriális aktivitását in vitro standard agar-hígítási vizsgálatokkal határoztuk meg.

A staphylococcusok tenyésztéséhez Isosensitest (Oxoid) táptalajt, a streptococcusok tenyésztéséhez pedig Todd-Hewitt táptalajt használtunk. A kultúrákat úgy hígítottuk, hogy a végső inokulum körülbelül 10^4 (CFU) ml-es [colony forming units/ml] legyen. A

minimális gátlókoncentráció (MIC) az a legkisebb koncentráció, amelynél 18–24 óras, 37 °C-on való inkubálás után semmilyen szaporodás nem figyelhető meg.

Az alább következő 6. táblázatban közöljük a néhány (A) általános képletű vegyületre vonatkozó MIC értékeket.

60

65

6. táblázat
In vitro mikrobacellenes aktivitás (MIC, µg/ml)

Mikroorganizmus	Vegyület	I	II	III	IV	V
<i>S. aureus</i>	ATCC 6538	0,5	0,25	0,25	1	2
<i>S. aureus</i>	TOUR	0,5	0,25	0,25	1	4
<i>S. epidermidis</i>	ATCC 12228	0,25	0,5	0,12	0,12	0,4
<i>S. pyogenes</i>	C 203	0,06	2	1	4	8
<i>S. pneumoniae</i>	UC 41	0,06	2	1	4	8
<i>S. faecalis</i>	ATCC 7080	1	1	1	8	16
<i>E. coli</i>	SKF 12140	128	128	128	128	128
<i>P. vulgaris</i>	ATCC 881	128	128	128	128	128

Egy reprezentatív kísérletben vizsgáltuk a III vegyület (azaz a 35,52-didehidro-34-dezoxi-ticoplanin aglikont) hatását néhány klinikailag izolált koaguláz-negatív staphylococcus törzssel szemben. Az eredmények, a teicoplaninnal kapott eredményekkel összehasonlítva, a 7. táblázatban találhatók. A MIC értékeket Isosensitest (Oxoid) táptalajon mikroliterben határoztuk meg, az inokulum közelítőleg 10⁴ CFU/ml-es volt.

7. táblázat

Néhány klinikailag izolált koaguláz-negatív staphylococcus törzssel szemben mutatott in vitro aktivitás

Mikroorganizmus	MIC (mcg/ml)	
	III vegyület	Teicoplanin
<i>S. epidermidis</i> L 1378	0,125	0,5
<i>S. simulans</i> * L 785	0,125	0,25
<i>S. simulans</i> * L 1142	0,125	0,125
<i>S. hominis</i> L 1070	0,125	0,25
<i>S. warneri</i> L 1375	1	2
<i>S. haemolyticus</i> L 1520	0,5	4

*Methicillin-rezisztens

Az in vitro antibakteriális hatás mellett a találmány szerinti eljárással előállított vegyületek in vivo kísérletekben is mutatnak antibakteriális hatást. A hatást egereken vizsgáltuk, V Arioli és társai [Journal of Antibiotics 29, 511 (1976)] módszere szerint. Ezekben a vizsgálatokban az I, II és III vegyületek ED₅₀ értékei sorrendben: 0,35, 5,8 és 5 mg/kg.

Mikrobacellenes hatásuk következtében a találmány szerinti vegyületek hatékonyan alkalmazhatók mikrobacellenes készítmények hatóanyagaiként patogén baktériumok okozta fertőzések gyógyítására szolgáló humán és állatgyógyszerekben.

Ilyen kezeléseknél a vegyületek általában bármely arányú keverékekben alkalmazhatók. Beadhatók orálisan, helyileg vagy parenterálisan egyaránt, előnyös azonban a parenterális beadás. A beadás módjától függően a vegyületek különböző dózisformákban készíthetők ki. Orális beadás céljára készíthetünk kapszulákat, tablettákat, folyékony oldatokat vagy szuszpenziókat. A kapszulák és tabletták a hatóanyag mellett ismert módon egyéb adalékanyagokat így hígítókat, például laktózt, kalcium-foszfátot, szorbitot, lub-

rikánsokat, például magnézium-sztearátot, talkumot, polietilén-glikolt; kötőanyagokat, így polivinil-pirrolidont, zselatint, szorbitot, tragantint, glicint, akácmézgát; édesítőszerket, valamint gyógyászati al-
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

malma-
zható nedvesítőszereket és szétesést elősegítő szereket is tartalmazhatnak. A folyékony készítmények, amelyek előnyösen vizes vagy olajos oldatok és szuszpenziók lehetnek, közönséges adalékanyagokat, így szuszpendálószerket tartalmazhatnak. Helyi alkalmazás céljára a vegyületeket folyékony sprayk, inhalátumok, torokcseletek vagy szopogatható pasztillák formájában készíthetjük ki.

A szem vagy fül kezelésére készült készítmények folyékony vagy fél-folyékony formájúak lehetnek. Helyi alkalmazásra hidrofób vagy hidrofíl alapú kenőcsök, krémek, tejek, szuszpenziók vagy porok formájában készíthetjük ki őket.

Rektális alkalmazásra a találmány szerinti eljárással előállított vegyületek beadhatók közönséges kúpok formájában, amelyek a hatóanyagon kívül például kakaóvaját, viaszt, polietilén-glikolokat vagy ezek származékait tartalmazhatják.

Az injekciós készítmények olajos vagy vizes szuszpenziók, oldatok vagy emulziók lehetnek, amelyek szuszpendáló, stabilizáló és/vagy dispergálószerket tartalmazhatnak. A hatóanyagot por formájában is kikészíthetjük, amelyet a felhasználás előtt például steril vízzel hígíthatunk beadásra kész formává.

A hatóanyag mennyisége különböző faktoroktól, így a kezelendő személy méretétől és állapotától, a beadás módjától és gyakoriságától és a szóban forgó hatóanyag milyenségétől függ.

A találmány szerinti vegyületek általában körülbelül 0,5 — körülbelül 30 mg hatóanyag/testtömeg kg mennyiségben hatásosak, amely előnyösen napi 2-4 részre osztható. A különösen előnyös készítmények az egységenként körülbelül 20 — körülbelül 300 mg hatóanyagot tartalmazó dózisegységek.

A gyógyszerkészítményeket az alábbi módokon készíthetjük el:

Injektálható parenterális oldat: 100 mg I vegyületet feloldunk 2 ml steril vízben, vagy 250 mg II vegyületet feloldunk 3 ml steril vízben.

Helyi alkalmazásra való kenőcs: 200 mg III vegyület mellett 3,6 g polietilén-glikol 400 U.S.P., 6,2 g polietilén-glikol 4000 U.S.P.

Gyógyszerként való alkalmazásuk mellett a talá-

mány szerinti eljárással előállítható vegyületek állati növekedést serkentő szerként is használhatók.

Ilyen célra megfelelő táplálékba keverve orálisan adjuk be a találmány szerinti egy vagy több vegyületet. Az alkalmazott pontos koncentráció normál táplálékfelvétel mellett az állati növekedést serkentő hatás kifejtéséhez elegendő koncentráció.

Előnyösen ilyen célra hatóanyagtartalmú premix (előkeverék) készítése, amely aztán pontos arányban keverhető az állati táplálékkal.

Az állati premixek és a helyes keverékek az alábbi irodalmakban leírt módon készíthetők el: „Applied Animal Nutrition, W.H. Freedman and Co., S. Francisco, USA, 1969, vagy „Livestock Feeds and Feeding, O and B Books, Corvallis, Oregon, USA, 1977.

Az alábbi példák a találmány szerinti eljárást szemléltetik anélkül, hogy igényünket ezekre a példákra korlátoznánk.

1. példa

42- α -D-mannozil-56-N-acil- β -D-glukozaminil-35,52-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon (I vegyület) sói

a) 50 g (0,75 mól) kereskedelmi 85%-os kálium-hidroxid 1 liter metanolban készült oldatát cseppenként, szobahőmérsékleten, keverés közben 23 g (12 mmól) teicoplanin (körülbelül 15 % víztartalom) 2,5 liter, 3:2 térfogatarányú dimetil-formamid:dimetil-szulfoxid keverékben készült oldatához adjuk. A kapott szuszpenziót szobahőmérsékleten keverjük 24 óra hosszat. (A reakcióedény szódazárral ellátott szeleppel van lezárva.) A reakcióelegyet 48 óra hosszat 10 °C hőmérsékleten tartjuk, majd 1 liter metanol adunk hozzá és a kapott barna oldatot szobahőmérsékleten 2 óra hosszat keverjük. 1 liter éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet elkülönítünk és 1 liter metanolban szuszpendálunk. Az oldhatatlan anyagot elkülönítjük, 1 liter éterrel mossuk, majd vákuumban szobahőmérsékleten szárítjuk egy éjszakán át, vízmentes foszfor-pentoxid alatt szárítjuk: így módon 21 g nyers cím szerinti terméket kapunk a megfelelő kálium só formájában.

7 g nyers kálium só 400 ml, 1:2 térfogatarányú metil-cianid/víz elegyben oldjuk és a kapott zavaros oldatot pH= 2,8 értékre állítjuk jégecetes ecetsav hozzáadásával, majd 25 g szilanzált szilikagél (Szilikagél 60, Merck Co.; 0,06–0,2 mm) és 500 ml butanol adunk hozzá. Az oldószereket csökkentett nyomáson teljesen elpárologtatjuk, a maradékot 1,5 kg fenti szilikagéllal töltött (szilikagél 0,01 M vizes ammónium-dihidrogénfoszfátban) oszlopra töltjük. Az oszlopot lineáris grádienssel kifejlesztjük 10%–70% metil-cianiddal 0,5% vizes ecetsavban, 30 óra alatt 300 ml/óra sebességgel. 25 ml-es frakciókat gyűjtünk, ezeket HPLC-vel vizsgáljuk. A cí szerinti komplex öt tiszta komponensét tartalmazó frakciókat egyesítjük, butanol adunk hozzá, majd a keveréket addig koncentrálnuk, amíg a metil-cianid és a víz teljesen eltávozik. Ezt követően 5 l 1 N sósavat adunk hozzá és az oldatot kis térfogatra koncentrálnuk. Végül etil-acetát hozzáadásával szilárd anyag csapódik ki, melyet szűrővel elkülönítünk, éterrel mossuk és szobahőmérsékleten egy éjszakán át szárítjuk vákuumban. Így módon 5,04 g tiszta cím szerinti terméket kapunk

hidroklorid só formában.

b) A belső só előállítása

1,7 g (1 mmól) fenti módon előállított hidrokloridot 200 ml, 1:1 térfogatarányú víz:metil-cianid elegyben oldunk, az oldat pH-ját pH= 6 értékre állítjuk, 0,1 N nátrium-hidroxid hozzáadásával. 80 ml butanol hozzáadása után az elegyet körülbelül 40 ml végtérfogatra koncentrálnuk. A kivált szilárd csapadékot szűrővel elkülönítjük, 50 ml vízzel és 1:2 térfogatarányú acetone:etil-éter eleggyel mossuk, majd 48 óra hosszat szárítjuk vákuumban, szobahőmérsékleten. Így módon 1,4 g cím szerinti vegyületet kapunk, belső só formájában.

2. példa

42- α -D-mannozil-35,52-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon (II. vegyület) sói

a) L 17054 antibiotikumból

1,8 g (27 mmól) kereskedelmi 85%-os kálium-hidroxid 200 ml metanolban készült oldatát szobahőmérsékleten, keverés közben 1,1 g (0,7 mmól) L 17054 antibiotikum 300 ml, 3:2 térfogatarányú dimetil-formamid:dimetil-szulfoxid elegyben készült oldatához adjuk. A keletkezett szuszpenziót szobahőmérsékleten 30 óra hosszat keverjük, majd 800 ml etil-étert adunk hozzá. A csapadékot elkülönítjük, éterrel mossuk, majd szobahőmérsékleten vákuumban szárítjuk egy éjszakán át. Így módon 1,2 g nyers, cím szerinti terméket kapunk kálium só formájában, ezt oszlopkromatográfiával tisztítjuk. Az oszlopot 750 g szilanzált szilikagéllal töltjük. A kromatografálási körülmények az előbbieken az I. vegyületnél leírtakkal azonosak, de az eluciót 5%–35% acetonitriles vízzel képezett lineáris grádienssel végezzük 24 óra alatt, 250 ml/óra sebességgel. A tiszta cím szerinti vegyületet tartalmazó frakciókat összegyűjtjük, egyesítjük és az előző példában leírt módon dolgozzuk fel. Az acetonitril és a víz eltávolítása után 1 ml 1 N sósavat adunk a kapott butanos oldathoz, amelyet aztán körülbelül 40 ml végtérfogatra koncentrálnuk. Éter hozzáadására csapadék képződik, amelyet szűrővel elkülönítünk, éterrel mossuk és egy éjszakán át 35 °C-on szárítjuk, vákuumban. Így módon 0,6 g cím szerinti vegyületet kapunk, hidroklorid só formájában.

b) I vegyületből

i) 5 g (3 mmól), az 1. példa szerint előállított I vegyületet 60 ml 90%-os vizes trifluor-ecetsavban (TFA) készült oldatát 10 percig keverjük 5 °C-on és 90 percig szobahőmérsékleten. Ezután 240 ml etil-étert adunk hozzá és a keletkezett csapadékot elkülönítjük, majd 200 ml metanolban újra feloldjuk. Az oldhatatlan anyagot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet csökkentett nyomáson kis térfogatra koncentrálnuk.

Éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet elkülönítünk, éterrel mossunk és vákuumban, 35 °C-on egy éjszakán át szárítunk. Így módon 3,96 g tiszta cím szerinti vegyületet, trifluor-acetátot kapunk.

ii) 6 g (3 mmól) nyers I vegyület kálium só 100 ml 90%-os vizes trifluor-ecetsavban készült oldatát 15 percig keverjük 0 °C-on és 2 óra hosszat szobahőmérsékleten. Az oldószereket szobahőmérsékleten, csökkentett nyomáson teljesen eltávolítjuk. Az olajos maradékot 150 ml, 1:1 térfogatarányú víz:metil-cianid elegyben feloldjuk és a kapott oldatot 300 ml vízzel hígítjuk és kromatografáló oszlopra öntjük, amely

0,5%-os vizes ammónium-formiát: metil-cianid 90:10 térfogatarányú elegyében 750 g szilanizált szilikagél tartalmaz. Az oszlopot először 500 ml víz:metil-cianid 85:15 térfogatarányú elegyével mossuk, majd 15–30%-os acetonitril 0,001 N sósavas lineáris grádienssel kifejlesztjük 24 óra alatt, 250 ml/óra sebességgel, miközben 25 ml-es frakciókat gyűjtünk. A tiszta cím szerinti vegyületet tartalmazó frakciókat egyesítjük. A némi jelen lévő kristályos terméket elkülönítjük, acetonitril:etil-éter 1:2 térfogatarányú elegyével mossuk, majd vákuumban, szobahőmérsékleten, foszfor-pentoxid felett egy éjszakán át szárítjuk. Így módon 0,85 g cím szerinti vegyületet kapunk, belső só formájában. Az anyalúgot butanol hozzáadása után koncentrálnak, amíg körülbelül 200 ml száraz butanolos szuszpenziót kapunk. 3 ml 1 N sósav hozzáadása után tiszta oldat képződik, amelyet csökkentett nyomáson kis térfogatra koncentrálnak. Etil-éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet szűrővel elkülönítünk, éterrel mosunk és vákuumban egy éjszakán át szárítunk szobahőmérsékleten, kálium-hidroxid pelletek felett. Így módon 2,3 g nyers cím szerinti vegyületet kapunk hidroklorid só formájában.

3. példa

35,52-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon (III vegyület) sói

a) I vegyületből

0,6 g I vegyület (előállítva az 1. példában leírtak szerint) 50 ml dimetoxi-metánban (DME) készült szuszpenziójába keverés közben száraz sósavat vezetünk lassan, miközben a belső hőmérsékletet 15–20 °C-on tartjuk. Néhány óra múlva tiszta oldat keletkezik, amelyet csökkentett nyomáson szárazra párolunk. A maradékot 100 ml, 75:25 térfogatarányú víz:metil-cianid elegyben feloldjuk és a kapott oldatot 100 g vizes szilanizált szilikagéllal töltött oszlop-ra töltjük. Az oszlopot 25–60%-os metil-cianidos 0,001 N sósavas lineáris grádienssel 20 óra alatt, 150 ml/óra sebességgel kifejlesztjük, miközben 15 ml-es frakciókat gyűjtünk. A III. vegyületet tartalmazó frakciókat egyesítjük, majd elegendő butanol hozzáadása után addig koncentrálnak, amíg körülbelül 100 ml száraz butanolos oldatot kapunk. 300 ml száraz sósavas etil-éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet elkülönítünk, éterrel mossuk és vákuumban, szobahőmérsékleten 48 órán át szárítunk kálium-hidroxid pelletek felett. Így módon 0,35 g cím szerinti vegyületet kapunk hidroklorid só formájában.

b) II vegyületből

3 g II vegyület (előállítva a 2. példában leírtak szerint) 100 ml dimetoxi-etánban (DME) készült szuszpenziójához 25 ml 96–98%-os kénsavat adunk cseppenként, miközben 0 °C-ra hűtjük. A keletkezett oldatot szobahőmérsékleten 5 óra hosszat keverjük, majd 250 ml étert adunk hozzá és a keletkezett szilárd anyagot elkülönítjük, éterrel mossuk, végül vákuumban szobahőmérsékleten szárítjuk. Így módon 2,5 g cím szerinti vegyületet kapunk, szulfátja formájában.

c) V vegyületből

50 mg tiszta V vegyületet (előállítva az 5. példa szerint) 100 ml 1 N sósavban oldunk szobahőmérsékleten. 5 órás reakcióidő után 5:95 arányú V vegyület

— III vegyület keveréket kapunk. A III vegyület ezután az a) pontban leírtak szerint oszlopkromatográfiával választuk el a keveréktől.

4. példa

(36,37-cisz-51,52-transz)-34,36-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon (IV vegyület)

a) L 17046 antibiotikumból

7,5 g (0,12 mól) kereskedelmi 85%-os vizes kálium-hidroxid 200 ml metanolban készült oldatát szobahőmérsékleten, keverés közben 5 g (kb. 3,5 mmól) L 17146 antibiotikum 211 ml dimetil-formamidban készült oldatához adjuk. 21 óra után 11 ml ecetsavat adunk hozzá cseppenként 5–11 °C-on és az oldatot 1,5 liter etil-éterbe öntjük. A kivált csapadékot szűrővel elkülönítjük és 3:1, 3:2:1 térfogatarányú víz:n-butanol:metanol elegyben feloldjuk erőteljes keverés közben, miközben a pH-t jégecetes ecetsavval pH=3,5 értékre állítjuk be. a szerves fázist elválasztjuk, 1 liter vízzel mossuk, majd körülbelül 211 ml végtérfogatra koncentrálnak. 251 ml éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet elkülönítünk, éterrel mosunk és vákuumban, szobahőmérsékleten egy éjszakán át szárítunk, így módon 1,7 g tiszta cím szerinti terméket kapunk.

b) III vegyületből vagy V vegyületből

A cím szerinti vegyületet (IV vegyület, (36,37-cisz-51,52-transz)-34,35-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon) a III vegyületből (előállítás a 3. példában leírtak szerint) is, vagy az V vegyületből (előállítás a 5. példában leírtak szerint) is előállíthatjuk, gyakorlatilag ugyanolyan kitermeléssel, a 4. példa a) pontjában leírtak szerint eljárva, kiindulási anyagként L 17046 antibiotikumot alkalmazva.

5. példa

(36,37-transz-51,52-transz)-34,35-didehidro-34-dezoxi-teicoplanin aglikon (V vegyület)

a) L-17046 antibiotikumból

6 g (0,11 mól) frissen készített NaOCH₃-at 300 ml metanolban szobahőmérsékleten, keverés közben 2,8 g (2 mmól) L 17046 antibiotikum 300 ml, 4:1 térfogatarányú dietil-formamid:dimetil-szulfoxid elegyben készült oldatához adjuk. A kapott oldatot szobahőmérsékleten 72 óra hosszat keverjük, szódacsapás szeleppel ellátott reakcióedényben. Miután a reakcióelegyet 0 °C-ra lehűtjük 7 ml jégecetes ecetsavat adunk hozzá cseppenként, miközben 0–10 °C-on tartjuk. A metanolt 30 °C-on vákuumban elpárologtatjuk és a keletkezett csapadékot kiszűrjük, elvetjük. A szűrletet 1,5 liter vízbe öntjük, majd a kapott zavaros oldat pH-ját pH=6 értékre állítjuk be jégecetes sávvá. Az elegyet 2 liter 3:1 térfogatarányú n-butanol:etil-acetát eleggyel extraháljuk. A szerves fázist elválasztjuk és csökkentett nyomáson kis térfogatra koncentrálnak. Etil-éter hozzáadására szilárd anyag válik ki, amelyet elkülönítünk, éterrel mosunk és vákuumban szárítunk szobahőmérsékleten egy éjszakán át. Így módon 0,95 g nyers cím szerinti terméket kapunk, amelyet 100 ml, 1:1 térfogatarányú metil-cianid:víz elegyben oldunk. Az oldathoz 5 g szilanizált (Szilikagél 60; Merck Co.; 0,06–0,2 mm) és 200 ml vizet adunk. A kapott szuszpenziót szobahőmérsékleten 30 percig keverjük és vizes szilikagél tartalmazó oszlop-ra töltjük. Az oszlopot először 200 ml 0,01 M

vizes ammónium-formiáttal, majd 2–40%-os metilcianidos vizes lineáris gradienssel, 20 óra alatt, 200 ml/óra sebességgel kifejlesztjük. 20 ml-es rakciókat gyűjtünk, amelyeket HPLC-vel vizsgálunk. Az V vegyületet tartalmazókat egyesítjük, butanolt adunk hozzá és az elegyet addig koncentrálnak, amíg az acetonnitril és a víz teljesen el nem távolodik. Éter hozzáadására csapadék válik ki, amelyet elkülönítünk, éterrel mosunk és vákuumban, szobahőmérsékleten egy éjszakán át szárítunk. Így módon 0,22 g nyers cím szerinti vegyületet kapunk.

b) III vegyületből

1 g III vegyületet 2 liter, 1:1 térfogatarányú metilcianid/víz elegyben feloldunk, majd 2 g nátrium-hidrogénkarbonátot adunk hozzá szobahőmérsékleten. Az oldatot 30 másodpercig rázzuk és addig hagyjuk állni szobahőmérsékleten, amíg HPLC-vel követve (10 µl-es mintákkal) a reakció le nem játszódik.

30 és 50 perc múlva 58%-os és 90%-os III vegyület → V vegyület átalakulás figyelhető meg.

Az V vegyület azonosságát egy megfelelő mintával összehasonlítva bizonyítjuk. A III vegyület visszanyerését az a) pontban leírtak szerint hajtjuk végre, azaz jégecetes ecetsavval a pH-t pH= 6 értékre állítjuk be, a szerves oldószert elpárologtatjuk, n-butanol/etil-acetát 3:1 térfogatarányú elegyével extrahálunk, izoláljuk a nyers port, majd oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (A) általános képletű — ahol

x további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

y további kötést jelent, vagy nincs jelentése;

A' jelentése hidrogénatom vagy N-acil-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport, ahol az acil-csoport Z-4-decenoil-, 8-metil-nonanoil-, dekanoil-, 8-metil-dekanoil- vagy 9-metil-dekanoil-csoport;

M jelentése hidrogénatom vagy α-D-mannopiranozil-csoport;

R° jelentése hidrogénatom, ha y-nak nincs jelentése, és nincs jelentése, ha y jelentése további kötés; azzal a feltétellel, hogy ha x további kötést jelent, y-nak nincs jelentése, és ha x-nek nincs jelentése, y további kötést jelent és ha M jelentése hidrogénatom, A' jelentése is hidrogénatom kell legyen — de-(acil-glukozaminil)-di(dehidro)-dezoxi-teicoplanin-származékok és addíciós sóik előállítására, azzal jellemezve, hogy valamely (B) általános képletű teicoplanin — ahol B' jelentése N-acetil-β-D-2-dezoxi-2-amino-glukopiranozil-csoport; A' és M jelentése a tárgyi körben megadott; azzal a feltétellel, hogy M jelentése hidrogénatom, ha A' jelentése hidrogénatom — vagy sóját, vagy bármely arányú keverékét poláros szerves oldószerben, 60 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten erős bázissal kezeljük, majd kívánt esetben a kapott (A) általános képletű vegyületet átizomerizáljuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (A) Általános képletű vegyület előállítására, ahol x-nek nincs

jelentése, y pedig további kötést jelent, A', M és R° jelentése az 1. igénypontban megadott, azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (A) általános képletű vegyület előállítására, ahol a 36,37-amid kötés transz konfigurációjú, A', M, R° jelentése hidrogénatom, y-nak nincs jelentése és x további kötést jelent, azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy poláros szerves oldószerként 1–4 szénatomos alkanolt, (1–4 szénatomos)alkil-karboxamidot vagy (1–4 szénatomos)-alkil-szulfoxidot, vagy ezek keverékét alkalmazzuk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy poláros szerves oldószerként dimetil-formamidot vagy dimetil-szulfoxidot, vagy ezek keverékét alkalmazzuk.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy erős bázisként alkálifém-hidroxidot vagy alkálifém-(1–4 szénatomos)-alkoxidot alkalmazunk.

7. A 6. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy erős bázisként nátrium-hidroxidot, kálium-hidroxidot, nátrium-(1–4 szénatomos)-alkoxidot vagy kálium-(1–4 szénatomos)-alkoxidot alkalmazunk.

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a reakciót 0 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten hajtjuk végre.

9. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a reakciót szobahőmérsékleten hajtjuk végre.

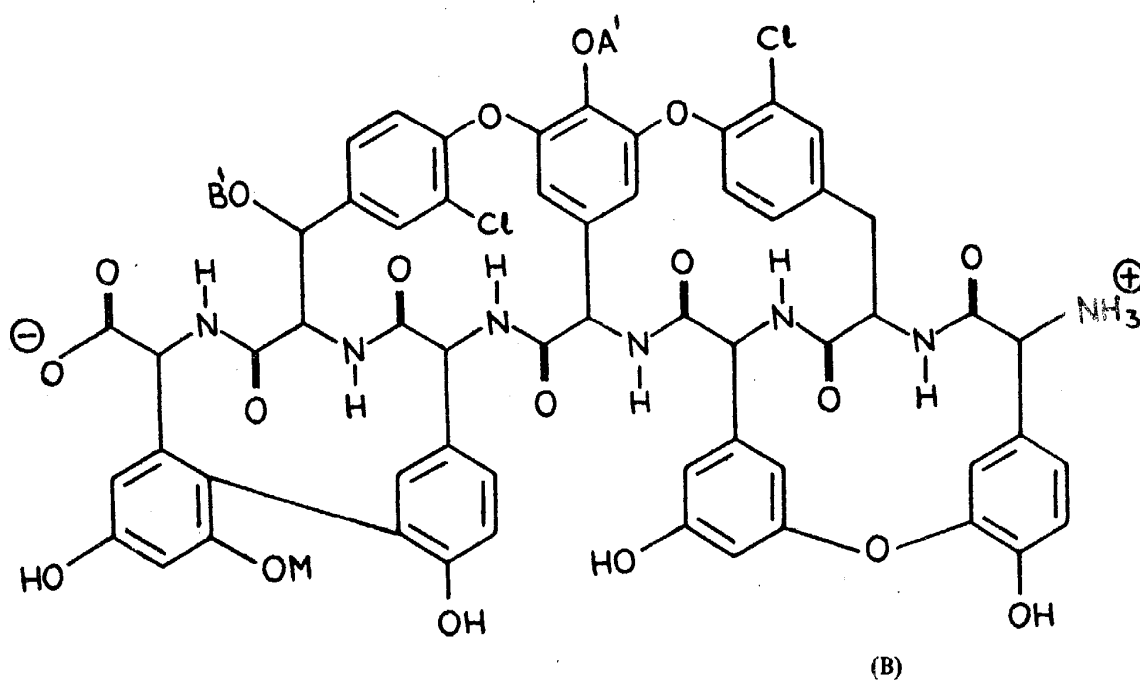
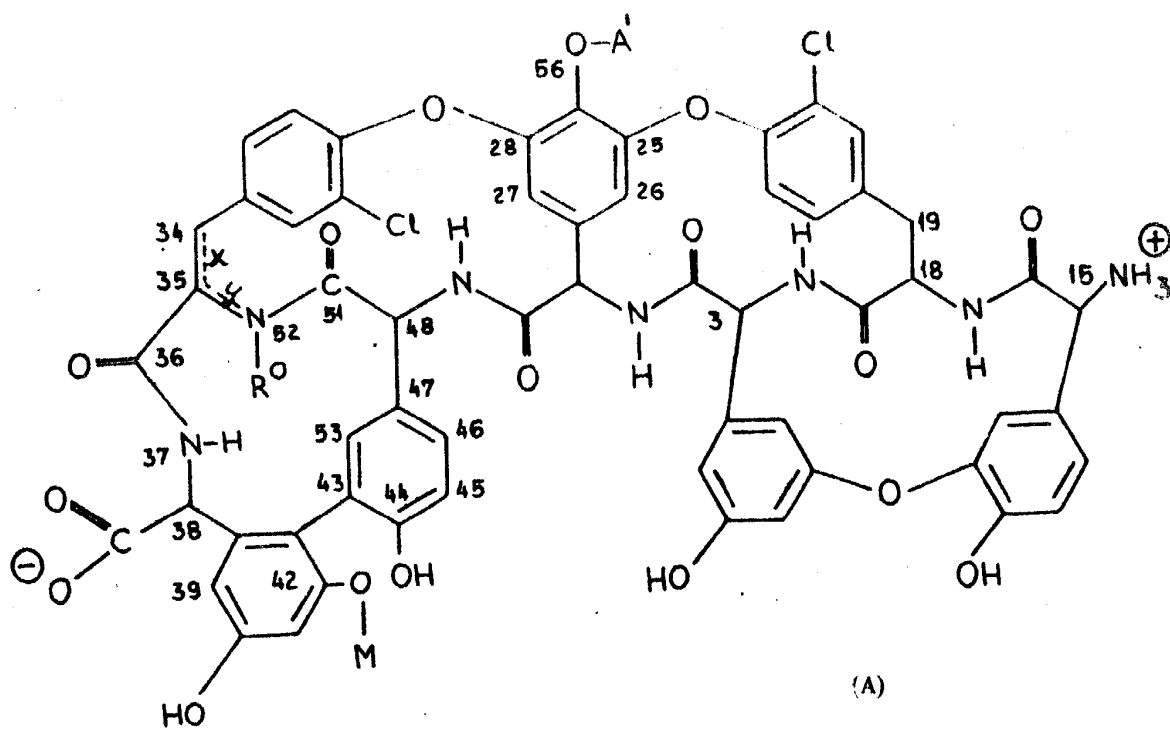
10. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakcióban poláros szerves oldószerként dimetil-formamid és dimetil-szulfoxid keverékét és erős bázisként pedig koncentrált vizes nátrium- vagy kálium-hidroxidot alkalmazunk.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy 4:1 és 3:2 közötti arányú dimetil-formamid:dimetil-szulfoxid keverékét és 85–90 t/t% közötti koncentrációjú vizes nátrium- vagy kálium-hidroxidot alkalmazunk.

12. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a reakcióban erős bázisként alkálifém-alkoxidot, poláros szerves oldószerként pedig az alkoxidnak megfelelő alkanolt alkalmazunk, adott esetben valamilyen poláros aprotikus oldószer jelenlétében.

13. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakcióban erős bázisként nátrium- vagy kálium-metoxidot, poláris szerves oldószerként pedig metanol/dimetil-formamid keverékét alkalmazunk.

14. Eljárás mikroba-ellenes hatású gyógyszerkészítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (A) általános képletű hatóanyagot — ahol a képletben A', M R°, x és y jelentése az 1. igénypontban megadott — vagy addíciós sóit gyógyászati célra alkalmas hígító- vagy vivőanyaggal és adott esetben adalékanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.



Kiadja: Országos Találmányi Hivatal, Budapest
 Felelős kiadó: Szvoboda D. Gabriella

UNITAS-KÓDEX