

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

143 138

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 84 07 16 /P.248784/

Pierwszeństwo: 83 07 18 Jugosławia

Zgłoszenie ogłoszono: 85 03 26

Opis patentowy opublikowano: 88 12 31

C. : L N I A

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Int. Cl.⁴ C07H 17/08

Twórcy wynalazku: Nevenka Lopotar, Gabrijela Kobrehel, Miljenko Ćorić, Slobodan Djokić,

Uprawniony z patentu: Sour Pliva farmaceutska, kemijska, prehrambena i kozmetička
industrija n.eol.o., Zagrzeb, /Jugosławia/

SPOSÓB WYTWARZANIA 7,16-DIOKSA-2-AZA-10-O-KLADYNOZYLO-12-O-
DESOZAMINYLO-4,5-DIHYDROKSY-6-ETYLO-3,5-9,11,13,15-HEKSAMETYLOBICYKLO-
-/11.12.1/ HEKSADEC -1/2/-EN-8-ONU

Przedmiotem wynalazku jest nowy sposób wytwarzania 7,16-dioksa-2-aza-10-o-kladyno-
zylo-12-o-desozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5-9,11,13,15-heksametylobicyklo-/11.2.1/
heksadec-1/2/-en-8-onu, półsyntetycznego antybiotyku makrolidowego z grupy erytromycyny A,
określonego wzorem przedstawionym na rysunku, poprzez przegrupowanie Beckmann'a.

Wiadomo, że przez oksymowanie erytromycyny A chlorowodorkiem hydroksyloaminy w suchym
metanolu w obecności dużego nadmiaru węgla barowego przy wartości pH około 7,0 uzyskuje
się ze względnie małą wydajnością monochlorowodorek oksymu erytromycyny A /temperatura
topnienia 184-189°C, R_f 0,25 w mieszaninie alkoholu II rząd.-butylowego-nitrometanu-octanu
etylu-wody w stosunku 6:3:2:2/, który łatwo przekształca się przez zalkalizowanie wodoro-
tlenkiem sodowym w oksym erytromycyny A /brytyjski opis patentowy nr 1 100 504, Tetra-
hedron Lett, 157, 1970/.

Wiadomo również, że w wyniku przegrupowania Beckmann'a oksymu erytromycyny A z sul-
fochlorkami aromatycznymi w obecności zasad nieorganicznych lub organicznych w mieszaninie
acetonu i wody uzyskuje się 7,16-dioksa-3-aza-10-o-kladynozylo-12-o-desozaminylo-4,5-di-
hydroksy-6-etylo-3 5 9,11,13,15-heksametylobicyklo-/11.2.1/heksadec-1/2/-en-8-on /wyłóże-
nie jugosławańskiego zgłoszenia patentowego nr P 2764/82/, będący ważnym półproduktem
w syntezie biologicznie czynnych półsyntetycznych erytromycyn A z 15-członowym pierścieniem
aglikonowym /opis patentowy Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 4 328 334, belgijski opis pa-
tentowy nr 892 357/.

Obecnie stwierdzono, że w reakcji oksymowania erytromycyny A chlorowodorkiem hydro-
ksyloaminy w obecności zasad nieorganicznych, takich jak węgiel sodowy lub węgiel potasowy,
w obojętnym rozpuszczalniku, korzystnie w alkoholu alifatycznym, takim jak metanol, w pod-
wyższonej temperaturze i przy wartości pH mieszaniny reakcyjnej 5,0-6,5 uzyskuje się z dużą
wydajnością dotychczas nie opisany dwuchlorowodorek oksymu erytromycyny A, który w wyniku

przegrupowania Beckmann'a z sulfochlorkami aromatycznymi, w obecności zasad nieorganicznych lub organicznych, ulega łatwo przekształceniu w 7,16-dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-desozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo-11.2.1/heksadec-1/2/-en-8-on.

Sposób według wynalazku oksymowania erytromycyny A przeprowadza się z użyciem 1-5 molowego nadmiaru chlorowodoru hydroksyloaminy i 0-2 molowego nadmiaru zasad nieorganicznych, takich jak węglan sodowy lub węglan barowy, w podwyższonych temperaturach, w obojętnym rozpuszczalniku takim jak alkohol, przy wartości pH 5,0-6,5. Po zakończeniu reakcji, co trwa 10-22 godzin, mieszaninę reakcyjną po ewentualnym przefiltrowaniu zatęża się przez odparowanie alkoholu pod zmniejszonym ciśnieniem do około 1/3 objętości początkowej i pozostawia się z chłodzeniem na 24 godziny w celu wykrystalizowania. Po odfiltrowaniu wytrąconych kryształów i przemyciu osadu zimnym metanolem uzyskuje się nowy związek-dwuchlorowodorek oksymu erytromycyny A /temperatura topnienia 140-145°C, R_f 0,41 w mieszaninie alkoholu II rząd. butylowego-nitrometanu-octanu etylu-wody 6:3:2:2/, który bez uprzedniego wydzielenia oksymu erytromycyny A łatwo przekształca się w znanych warunkach przez przegrupowanie Beckmann'a z 1-4 molami sulfochlorków aromatycznych o wzorze $4-R-C_6H_4SO_2Cl$, w którym R oznacza grupę alkilową zawierającą 1-3 atomów węgla, atom chlorowca lub grupę acyloaminową o wzorze $-NHCOR_1$, w którym R_1 oznacza grupę alkilową o 1-3 atomach węgla, w 7,16-dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-desozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo-11.2.1/heksadec-1/2/-en-8-on. Po zakończeniu reakcji, co trwa od 30 minut do 24 godzin, aceton odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt wydziela się przez ekstrakcję z gradientem pH chlorkiem metylenu, chloroformem lub dowolnym innym niepolarnym rozpuszczalnikiem. Przegrupowanie Beckmann'a prowadzi się w obecności zasad nieorganicznych lub organicznych takich jak $NaHCO_3$, NaOH lub C_2H_5/N , w temperaturze od 0°C do temperatury wrzenia pod chłodnicą zwrotną w mieszaninie CH_3COCH_3 i H_2O .

Zaletą sposobu według wynalazku jest oksymowanie erytromycyny A w łagodnie kwaśnych warunkach, a następnie bezpośrednie przegrupowanie w mieszaninie reakcyjnej, złożonej wyłącznie z wyjściowych reagentów i dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A, pod wpływem stałego chlorku p-acetyloaminobenzenosulfonylowego po dodaniu alkaliów.

Zalety sposobu według wynalazku polegają na możliwości prowadzenia reakcji w jednej fazie i otrzymywaniu produktu z wysoką wydajnością. Sposób według wynalazku ilustrują następujące przykłady.

P r z y k ł a d I. Dwuchlorowodorek oksymu erytromycyny A. Do roztworu 666g /0,907 mola/ erytromycyny A w 3330 cm^3 metanolu dodano przy mieszaniu 312 g /4,489 mola/ chlorowodoru hydroksyloaminy i 79,5 g /0,745 mola/ suchego węglanu sodowego, po czym utrzymywano w ciągu 10 godzin w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Gorącą mieszaninę reakcyjną o pH 5,8 przefiltrowano. Osad przemyto szereg razy gorącym metanolem, po czym połączone filtry metanolowe zatężono do 1/3 objętości wyjściowej przez odparowanie pod zmniejszonym ciśnieniem. Mieszaninę reakcyjną pozostawiono na 24 godziny do wykrystalizowania, po czym wytrącony produkt krystaliczny odfiltrowano, przemyto zimnym metanolem i wysuszono w temperaturze otoczenia w suszarce próżniowej.

Uzyskano w ten sposób 570 g /76,4%/ dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A. Temperatura topnienia 140-145°C, $[\alpha]_D^{20} = -50,29^\circ /1\%$, metanol; widmo w podczerwieni IR /KBr/: 1725 /C=O, lakton/ i 1639 cm^{-1} /C=N/; 1H NMR /dwumetylosulfotlenek-d/; 2,67 ppm /s, 6H, $-N/CH_3/2/$; pK 7,3 /dwumetyloformamid-woda, 66%/; R_f 0,41 /alkohol II rząd.-butylowy-nitrometan-octan etylu-woda w stosunku 6:3:2:2/; analiza: Cl Obliczono: 8,63%, znaleziono 8,08%.

P r z y k ł a d II. Dwuchlorowodorek oksymu erytromycyny A. Z 666 g /0,907 mola/ erytromycyny A rozpuszczonej w 3330 cm^3 metanolu, 312g /4,489mola/ chlorowodoru hydroksyloaminy i 321 g /1,626 mola/ węglanu barowego wydzielono, zgodnie ze sposobem opisanym w przykładzie I, 563 g /75,5 %/ produktu o takich samych właściwościach fizykochemicznych.

P r z y k ł a d III. 7,16-dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo-11.2.1/heksadec-1/2/-en-8-On.

Roztwory 2,32 g /0,0122 mola/ chlorku p-toluenosulfonylowego w 20 cm³ acetonu i 2,55 g /0,0303 mola/ wodorowęglanu sodowego w wodzie wkropiono w ciągu 30 minut w temperaturze od 0 do 5°C do zawiesiny 5,0 g /0,00608 mola/ dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A w 50 ml acetonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano następnie w ciągu 3 godzin w tej samej temperaturze, po czym aceton odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a do pozostałej zawiesiny wodnej dodano 10 cm³ chloroformu, uzyskując pH 7,3. Z kolei pH doprowadzono do 5,5 przez zakwaszenie 2 n kwasem solnym. Warstwy rozdzielono, po czym warstwę wodną wyekstrahowano dwukrotnie porcjami po 10 cm³ chloroformu. Ekstrakcję powtórzono przy pH 6,0 /3 x 10 cm³/ i przy pH 8,0 /3 x 20 cm³/. Połączone ekstrakty wysuszono nad węglanem potasowym i odparowano do sucha.

Przy pH 8,0 wydzielono 3,3g /74,3%/ chromatograficznie jednorodnego produktu o R_f 0,22 /n-butanol - kwas octowy - woda 4:1:5/.

Temperatura topnienia 128-131°C, widmo IR /CHCl₃/ : 1725 /=O, lakton/ i 1706 cm⁻¹ /O-C=N/, ¹³C NMR /CDCl₃/ : 178,1 /s, C-8/, 163,9 /s, C-1/ i 87,3 ppm /s, C-13/; M⁺ 730.

P r z y k ł a d IV. /Porównawczy/ 7,16-dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo /11.2.1/ heksadeo-1/2/-en-8-on. Roztwory 2,42g /0,0127 mola/ chlorku p-toluenosulfonylowego w 20 cm³ acetonu i 2,14 g /0,0255 mola/ wodorowęglanu sodowego w 60 cm³ wody wkropiono w ciągu 1 godziny w temperaturze otoczenia do zawiesiny 5,0 g /0,00636 mola/ monochlorowodorku oksymu erytromycyny A w 50 cm³ acetonu.

Mieszaninę reakcyjną mieszano w ciągu 2 godzin w tej samej temperaturze, po czym aceton odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt wydzielono przez ekstrakcję z gradientem pH za pomocą chloroformu przy pH 5,5 /3x10 cm³/, pH 6,0 /3 x 10 cm³/ i pH 8,0 /3 x 20 cm³/.

Po wysuszeniu połączonych ekstraktów organicznych nad węglanem potasowym wydzielono przy pH 8,0, 2,12 g /45,6%/ produktu wykazującego takie same parametry fizykochemiczne, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d V. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo /11.2.1/ heksadeo-1/2/-en-8-on. Do zawiesiny 5,0g /0,00608 mola/ dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A w 50 cm³ acetonu dodano 3,074 g /0,03074 mola/ trietyloaminy, po czym wkropiono przy mieszaniu w temperaturze od 0 do 5°C w ciągu 30 minut roztwór 2,32 g /0,01216 mola/ chlorku p-toluenosulfonylu w 20 cm³ acetonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano w ciągu 2 godzin w tej samej temperaturze i pozostawiono na 24 godziny w temperaturze otoczenia. Aceton odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostały osad zdyspergowano w 50 cm³ wody i 10 cm³ chloroformu, uzyskując pH 7,7. Następnie prowadzono ekstrakcję z gradientem pH za pomocą chloroformu przy pH 5,5 /3 x 10 cm³/ i przy pH 8,0 /3 x 20 cm³/. Po wysuszeniu połączonych ekstraktów organicznych nad węglanem potasowym i odparowaniu chloroformu uzyskano przy pH 8,0 2,94 g /66,1%/ produktu o tych samych parametrach fizykochemicznych, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d VI. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo /11.2.1/ heksadec-1/2/-en-8-on. Do zawiesiny 5,0 g /0,00636 mola/ dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A w 50 cm³ acetonu dodano 2,574 g /0,0257 mola/ trietyloaminy, po czym wkropiono przy mieszaniu w temperaturze od 0 do 5°C 2,425 g /0,0127 mola/ chlorku p-toluenosulfonylowego w 20 cm³ acetonu. Zgodnie ze sposobem opisanym w przykładzie V wydzielono przy pH 8,0 3,3 g /70,9%/ produktu o tych samych parametrach fizykochemicznych, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d VII. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-10-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo /11.2.1/ heksadec-1/2/-en-8-on. Wychodząc z 5,0 g /0,00608 mola/ dwuchlorowodorku oksymu erytromycyny A zdyspergowanego w 50 cm³ acetonu, 7,35 g /0,0243 mola/ chlorku p-jodobenzenosulfonylowego rozpuszczonego w 70 cm³ acetonu i 10,22 g /0,122 mola/ wodorowęglanu sodowego rozpuszczonego w 210 cm³

wody, otrzymano i wydzielono zgodnie z metodą opisaną w przykładzie III 2,98 g /66,9%/ produktu o tych samych parametrach fizykochemicznych, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d VIII. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15- heksametylobicyklo[11.2.1]heksadec-1/2/-en-8-on. Wychodząc z 5,0 g /0,00608 mola/ dwuchlorowodoru oksymu erytromycyny A zdyspergowanego w 50 cm³ acetonu, 2,84 g /0,0122 mola/ chlorku p-acetyloaminobenzenosulfonowego rozpuszczonego w 180 cm³ mieszaniny aceton-woda /1:1/ i 2,55 g /0,0304 mola/ wodorowęglanu sodowego rozpuszczonego w 90 cm³ wody, uzyskano i wydzielono zgodnie z metodą opisaną w przykładzie III 2,73 g /61,4 %/ produktu o takich samych parametrach fizykochemicznych, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d IX. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo[11.2.1]heksadec-1/2/-en-8-on. Do roztworu 55,5 g /0,76 mola/ erytromycyny A w 280 cm³ metanolu dodano przy mieszaniu 26,01 g /0,373 mola/ chlorowodoru hydroksylaminy i 6,62 g /0,062 mola/ suchego węgla sodowego, po czym mieszaninę utrzymywano we wrzeniu w ciągu 18 godzin pod chłodnicą zwrotną. Metanol oddestylowano pod obniżonym ciśnieniem, w ilości około 2/3 objętości wyjściowej, a zatężoną zawiesinę reakcyjną pozostawiono do wykrystalizowania na 24 godziny w temperaturze od 0-8°C, odfiltrowano i przemyto zianym metanolem.

Uzyskany krystaliczny produkt w ilości 52,7 g zdyspergowano w 525 cm³ acetonu, zawiesinę schłodzono do temperatury od 0 do 5°C i wkroplono z mieszaniną 24,4 g /0,128 mola/ chlorku p-toluenosulfonowego rozpuszczonego w 210 cm³ acetonu i 21,5 g /0,526 mola/ wodorowęglanu sodowego rozpuszczonego w 630 cm³ wody. Mieszaninę reakcyjną mieszano następnie w ciągu 3 godzin w tej samej temperaturze, aceton odparowano, a produkt wydzielono przez ekstrakcję z gradientem pH, opisaną w przykładzie III. Uzyskano 34,7 g /62,1% wydajności/ produktu wykazującego takie same parametry fizykochemiczne, jak produkt opisany w przykładzie III.

P r z y k ł a d X. 7,16-Dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo[11.2.1]heksadec-1/2/-en-8-on. 30,7g dwuchlorowodoru oksymu erytromycyny A otrzymanego zgodnie z metodą opisaną w przykładzie IX, zdyspergowano w mieszaninie 470 cm³ acetonu i 200 cm³ wody i schłodzono do temperatury od 0 do 5°C, po czym do otrzymanej zawiesiny dodano przy mieszaniu w ciągu 1 godziny stopniowo 17,3 g /0,07403 mola/ stałego chlorku p-acetyloaminobenzenosulfonylowego i 15,6 g /0,186 mola/ wodorowęglanu sodowego rozpuszczonego w 230 cm³ wody.

Mieszaninę reakcyjną mieszano w ciągu 3 godzin w tej samej temperaturze, aceton odparowano, a produkt wydzielono sposobem opisanym w przykładzie III. Wydajność: 16,0 g/56,01%/.

P r z y k ł a d XI. 7,16-dioksa-2-aza-10-O-kladynozylo-12-O-deozaminylo-4,5-dihydroksy-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicyklo[11.2.1]heksadec-1/2/en-8-on. Do roztworu erytromycyny A /42,6 g, 0,058 mola/ w metanolu /42,6 cm³/ dodano podczas mieszania chlorowodorek hydroksylaminy /20g, 0,288 mola/ i węgiel sodu /7,5 g, 0,072 mola/ i całość utrzymywano 12 godzin w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Zawiesinę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej i stopniowo, podczas mieszania dodano do wstępnie ochłodzonej do temperatury 0-5°C mieszaniny acetonu /400 ml/ i wody /360 cm³/. Do mieszaniny reakcyjnej dodano stały wodorowęgiel sodu /26 g, 0,309 mola/ i chlorek p-acetyloaminobenzenosulfonylowy /25,5 g, 0,109 mola/ i całość mieszano 4 godziny w temperaturze 0-5°C.

Wartość pH mieszaniny reakcyjnej doprowadzono do 5,5 2N roztworem kwasu solnego a następnie mieszaninę tę ekstrahowano chlorkiem metylenu /1 x 250 cm³ i 1 x 400 cm³/. Warstwy rozdzielono i warstwę wodną ekstrahowano chloroformem /1 x 150 cm³ i 1 x 200 cm³/ po doprowadzeniu wartości pH do 8,0. Połączone wyciągi organiczne o wartości pH 8 suszono K₂CO₃ i odparowano do sucha, otrzymując 31 g /73,1 %/ tytułowego produktu, mającego takie same parametry fizykochemiczne, jak podane w przykładzie III.

Z a s t r z e ż e n i e p a t e n t o w e

Sposób wytwarzania 7,16-dioksa-2-aza-10-okladynozylu-12-O-deozaminylo-4,5-dihydrokay-6-etylo-3,5,9,11,13,15-heksametylobicykle[11.2.1] heksadeo-1/2/-en-8-onu o wzorze przedstawionym na rysunku, z n a m i e n n y t y m, że oksymuje się erytromycynę A chlorowodorkiem hydroksyloaminy użytym w nadmiarze 1-5 molowym, w obecności 0-2 molowego nadmiaru zasady nieorganicznej, takiej jak węgiel sodowy lub węgiel barowy, w alkoholu, w podwyższonej temperaturze, przy wartości pH mieszaniny reakcyjnej 5,0-6,5 i otrzymany nowy związek dwuchlorowoderek oksymu erytromycyny A poddaje się przegrupowaniu Beckmann'a z 1-4 molami sulfochlorków aromatycznych o wzorze $4-N-O_6H_4 SO_2Cl$, w którym R oznacza grupę alkilową o 1-3 atomach węgla, atom chlorowca lub grupy acyloaminowe o wzorze $-NHCOR_1$, w którym R_1 oznacza grupę alkilową o 1-3 atomach węgla, w obecności zasad nieorganicznych lub organicznych takich jak wodorowęgiel sodowy, wodorotlenek sodowy lub trójetyloamina, w temperaturze od $0^\circ C$ do temperatury wrzenia pod chłodnicą zwrotną w mieszaninie acetonu i wody.

