(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 35 250 T2** 2007.10.31

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 140 962 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 35 250.9**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/HR99/00035**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 964 758.9**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2000/040589**
(86) PCT-Anmeldetag: **29.12.1999**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **13.07.2000**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.10.2001**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **21.02.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **31.10.2007**

(51) Int Cl.[8]: ***C07H 17/08*** (2006.01)
C07H 15/26 (2006.01)
C07H 13/12 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
980646 **30.12.1998** **HR**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
GlaxoSmithKline istrazivacki centar Zagreb d.o.o., Zagreb, HR

(74) Vertreter:
Vossius & Partner, 81675 München

(72) Erfinder:
BUREK, Gordana, 10000 Zagreb, HR;
LAZAREVSKI, Gorjana, 10000 Zagreb, HR;
KOBREHEL, Gabrijela; , 10000 Zagreb, HR

(54) Bezeichnung: **OLEANDOMYCIN-DERIVATE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft neue Verbindungen aus der Klasse des Makrolid-Antibiotikums Oleandomycin, Intermediate zur Herstellung davon, ein Verfahren zu deren Herstellung sowie pharmazeutisch verträgliche Additionssalze davon mit anorganischen oder organischen Säuren.

[0002] Oleandomycin ist ein Makrolid-Antiobiotikum (U.S.-Patent Nr. 2,757,123) mit einem Aktivitätsspektrum, das dem von Erythromycin A ähnlich ist. Die Struktur von Oleandomycin ist durch einen 14-gliedrigen Lactonring mit einer Ketogruppe an der Position C-9, den Zucker Desosamin an der Position C-5 und den Zucker Oleandrose an der Position C-3 sowie durch drei OH-Gruppen gekennzeichnet. Sie unterscheidet sich durch einen exocyclischen Epoxidring am Atom C-8' von anderen Polyoxo-Makroliden. Frühere Untersuchungen (JACS 82, 3225-3227, 1960; JOC 51, 5397-5400, 1986) haben seine außergewöhnliche Empfindlichkeit sowohl unter sauren als auch unter basischen Bedingungen gezeigt. In einem sauren Medium wird das C-8-Epoxid geöffnet, Oleandrose wird abgespalten und eine Kontraktion des Aglyconrings findet statt. Die Wirkung einer Base verursacht eine Dehydrierung von H-10 und OH-11 unter der Erzeugung einer C-10/C-11-Doppelbindung, um Anhydrooleandomycin zu ergeben. Diese Umwandlungen führen alle zu einem Verlust der antibiotischen Wirkung.

[0003] Es ist bekannt, dass ähnliche Umwandlungen von Erythromycin A mit beteiligten OH-Gruppen durch deren O-Methylierung erfolgreich gehemmt werden (Watanabe Y. et al., U.S.-Patent Nr. 4,331,803, 5/1982). Durch die Umsetzung von Erythromycin A mit Benzyloxycarbonylchlorid und anschließendes Methylieren der so erhaltenen 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-Derivate, Entfernen der Schutzgruppen und N-Methylierung werden neben 6-O-Methylerythromycin (CLARITHROMYCIN) auch wesentliche Mengen von 11-O-Methylerythromycin und polysubstituierten Analoga erhalten (Morimo S. et al., J. Antibiotics 1984, 37, 187). Clarithromycin ist in einem sauren Medium wesentlich stabiler als Erythromycin A und zeigt eine verbesserte in vitro-Aktivität gegen Gram-positive Bakterienstämme (Kirst H. A. et al., Antimicrobial Agents and Chemother., 1989, 1419). Ähnlich wurde auch eine Reihe von O-Methylderivaten von Azythromycin synthetisiert (Kobrehel G. et al., U.S.-Patent Nr. 5,250,518, 5/1993).

[0004] GB 985,734 offenbart einen Deoleandrose-1,3-diacyloleandomycinester oder ein Salz davon und ein Verfahren zum Herstellen eines Deoleandrose-1,3-diacyloleandomycinesters, wobei die Acyleinheit von einer Kohlenwasserstoffmonocarbonsäure mit zwei bis sechs Kohlenstoffatomen abgeleitet ist, umfassend das Kontaktieren des entsprechenden 1,2,3-Triacyloleandomycinesters mit einer wenigstens bimolaren Menge einer Kohlenwasserstoffsulfonsäure aus der Gruppe bestehend aus Niederalkankohlenwasserstoff-Sulfonsäuren, Benzolsulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure und den Naphthalinsulfonsäuren, in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten polaren organischen Lösungsmittel bei einer Temperatur im Bereich von 20 °C bis 100 °C über einen Zeitraum von einer halben Stunde bis zu fünf Stunden, Filtrieren der so erhaltenen kristallinen Aufschlämmung von Deoleandrose-1,3-diacyloleandomycinsulfonylhydrinsulfonat und Lösen des so erhaltenen Filterkuchens in einem niederen Alkanol, Einstellen des pH-Werts der letztgenannten Lösung auf einen pH-Wert von wenigstens 8,0 und anschließend Gewinnen der freien Deoleandrose-1,3-diacyloleandomycinbase daraus.

[0005] Es ist gezeigt worden, dass es sich bei der biochemischen Grundlage der Erythromycin-Resistenz um eine Methylierung von 23S rRNA durch die N^6-Methyltransferase der erm-Familie handelt, die durch Makrolidantibiotika mit einem 16-gliedrigen Ring ausgelöst wird (Kamimiya S. und Weisblum B., Antimicrobial Agents and Chemother., 1997, 530-534).

[0006] In der Database WPI Section Ch, Week 199643 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B05, AN 1996-431789 & RU 2052263 wird eine pharmazeutische Zusammensetzung zum Behandeln und Vorbeugen von postnataler Endometritis bei Kühen beschrieben. Das „Bentocomplex" genannte Zäpfchenpräparat umfasst (Gew.-%): Oleandomycin (5-7), Norsulphazol-Natrium (5-7), Nitrofurazon (5-7), „Sferofizin"-Benzoat (sic) (0,5-1,0), Borsäure (25-32), $NaHCO_3$ (8-12), Bentonit (13-17) und Glycerin (Ausgleich).

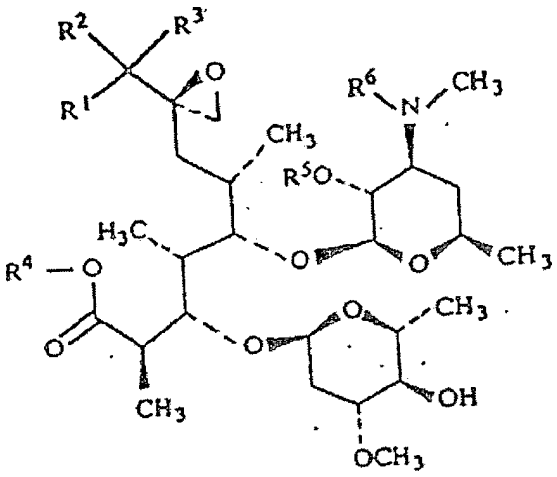
[0007] Unsere Bemühungen, das Entstehen eines inaktiven Anhydrooleandomycins durch O-Methylierung der C-11-Hydroxygruppe, Retroaldol-Fragmentierung, Dehydrieren und Isomerisierung zu hemmen, haben zu einer Reihe von linearen und cyclischen Derivaten von Oleandomycin geführt, die bisher noch nicht beschrieben worden sind und die als Intermediate für chimäre Oleandomycine mit einer möglichen biologischen Wirkung dienen können.

[0008] Die Synthese dieser Derivate umfasst eine Umsetzung von Oleandomycin mit Benzyloxycarbonylchlo-

rid, um 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycin zu ergeben, eine Umsetzung mit Methyliodid in Gegenwart von Natriumhydrid, eine Schutzgruppenentfernung an den Positionen 2' und 3' sowie eine reduzierende 3'-N-Methylierung.

[0009] Oleandomycin-Derivate gemäß der vorliegenden Erfindung und ihre pharmazeutisch verträglichen Additionssalze mit anorganischen und organischen Säuren, sowie Verfahren und Intermediate zur Herstellung davon sind nicht im Stand der Technik beschrieben.

[0010] Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Oleandomycin-Derivate der allgemeinen Formel (I)

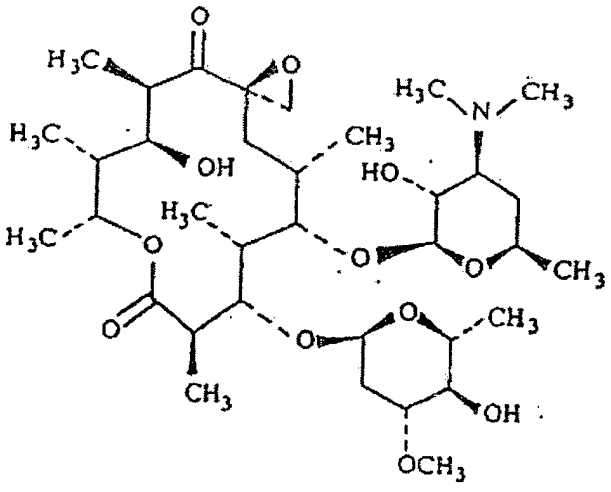


I

wobei
R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe,
R^1 zusammen mit R^3 ein Keton,
R^3 zusammen mit R^2 ein Keton,
R^4 eine Methylgruppe,
R^5 Wasserstoff oder eine Benzyloxycarbonylgruppe und
R^6 Wasserstoff, eine Methylgruppe oder eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten,
und ihre pharmazeutisch verträglichen Additionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren.

[0011] Die vorliegenden Verbindungen werden folgendermaßen erhalten:

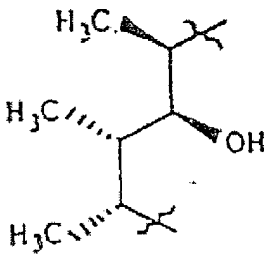
Schritt 1:



VI

[0012] Durch Umsetzen eines Oleandomycins der Formel (VI) mit Benzyloxycarbonylchlorid in Gegenwart einer Base, vorzugsweise Natriumhydrogencarbonat, in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel, vorzugsweise Benzol oder Toluol, wird 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleando-

mycin der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 zusammen mit R^4 ein Fragment der Formel (IV)

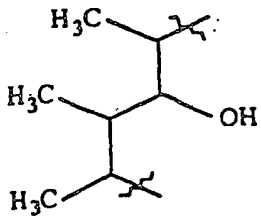


IV

bedeutet, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton bedeutet und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten, erhalten.

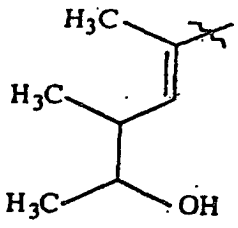
Schritt 2

[0013] Durch Umsetzen des 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycins aus Schritt 1 mit vorzugsweise 1,3 bis 3,25 Äquivalenten eines entsprechenden Methylierungsmittels, vorzugsweise Methyliodid, und vorzugsweise 1,1 bis 3,75 Äquivalenten einer entsprechenden Base, vorzugsweise Natriumhydrid, bei einer Temperatur von -15 °C bis Raumtemperatur, vorzugsweise bei 0 bis 5 °C, in einem geeigneten aprotischen Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch, vorzugsweise DMSO/THF = 1:1, und Auftrennen in einer Silicagelsäule mit dem System Toluol/Ethylacetat = 1:1 werden
eine Verbindung 2A der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton und R^4 eine Methylgruppe bedeuten, und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten,
eine Verbindung 2B (die kein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist) der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 zusammen mit R^4 ein Fragment der Formel (V) bedeuten,



V

R^2 zusammen mit R^3 ein Keton und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten, und
eine Verbindung 2C (die kein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist) der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 ein Fragment der Formel (II) bedeutet,



II

R^2 zusammen mit R^3 ein Keton und R^4 eine Methylgruppe bedeuten, und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten, erhalten.

[0014] Das relative Verhältnis der chromatographisch homogenen Produkte hängt von dem äquimolaren Verhältnis der Reaktanden ab.

Schritt 3:

[0015] Das Oleandomycin-Derivat 2A aus Schritt 2 wird einer Hydrogenolysereaktion zum Entfernen der Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppen an den Positionen 2' und 3' gemäß dem Verfahren von E. H. Flynn et al. (Journal of the American Chemical Society, 77, 3104, 1950) unterworfen. Die Hydrogenolyse wird in einer Niederalkylalkohol-Lösung, vorzugsweise in Ethanol, in Gegenwart eines NaOAc/HOAc-Puffers (pH-Wert = 5) mit einem Katalysator wie Palladiumschwarz oder Palladium auf Kohlenstoff unter einem Wasserstoffdruck von 10^5 Pa bei Raumtemperatur durchgeführt, um eine Verbindung 3A der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 bis R^4 die für die Verbindung 2A angegebene Bedeutung haben und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und Wasserstoff bedeuten, zu erhalten.

Schritt 4:

[0016] Das 3'-N-Demethylderivat von Oleandomycin 3A aus Schritt 3 wird einer reduzierenden N-Methylierung an der Position 3' mit 1 bis 6,2 Äquivalenten Formaldehyd (36%-ig) in Gegenwart von 1 bis 4,2 Äquivalenten Ameisensäure (98-100%-ig) oder einer anderen Wasserstoffquelle in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel, wie z. B. halogenierte Kohlenwasserstoffe, niedere Alkohole oder niedere Ketone, vorzugsweise Chloroform, bei Rückflusstemperatur des Reaktionsgemischs unterworfen, um so eine Verbindung 4A der allgemeinen Formel (I), wobei R^1 bis R^4 die für die Verbindung 2A angegebene Bedeutung haben, R^5 Wasserstoff und R^6 eine Methylgruppe bedeuten, zu erhalten.

[0017] Die Fragmente der Formeln (II) und (V) werden ohne räumliche Orientierung der Bindungen dargestellt und definieren alle Kombinationen von Orientierungen von Bindungen, um alle möglichen Stereokonfigurationen, d. h. Epimere, zu umfassen.

[0018] Pharmazeutisch verträgliche Additionssalze, die ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind, werden durch Umsetzen der vorliegenden Oleandomycin-Derivate der allgemeinen Formel (I) mit einer wenigstens äquimolaren Menge einer entsprechenden anorganischen oder organischen Säure, wie z.B. Salzsäure, Iodwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Essigsäure, Propionsäure, Trifluoressigsäure, Maleinsäure, Citronensäure, Stearinsäure, Bernsteinsäure, Ethylbernsteinsäure, Methansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure, Laurylsulfonsäuren, in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel erhalten. Die Additionssalze werden durch Filtration isoliert, wenn sie in dem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel unlöslich sind, durch Präzipitation durch Nicht-Lösungsmittel oder durch Abdampfen von Lösungsmitteln, am häufigsten durch ein Gefriertrocknungsverfahren.

[0019] Das Verfahren zum Herstellen der vorliegenden Oleandomycin-Derivate wird durch die folgenden Beispiele veranschaulicht.

Beispiel 1

2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbony1)-3'-N-demethyloleandomycin

[0020] Zu einer Lösung von Oleandomycin (50,98 g, 0,0741 mol) in Benzol (385 ml) wurde $NaHCO_3$ (226,74 g; 2,6990 mol) zugesetzt, dann wurde das Reaktionsgemisch unter Rühren auf Rückflusstemperatur (55-60 °C) erwärmt. Anschließend wurden 95 %-iges Benzyloxycarbonylchlorid (312 ml; 354,20 g; 2,0762 mol) über einen Zeitraum von 4 Stunden unter Rühren tropfenweise zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 24 Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt und dann 42 Stunden bei Raumtemperatur belassen. Nach dem Filtrieren wurde das Präzipitat mit Benzol (75 ml) gewaschen, anschließend wurde die Benzollösung drei Mal mit 100 ml 0,25 N HCl und ein Mal mit 100 ml Wasser extrahiert. Die Benzollösung wurde über $CaCl_2$ getrocknet, filtriert und unter verringertem Druck eingedampft, um einen viskosen ölartigen Rückstand (306,4 g) zu ergeben, der durch Niederdruck-Chromatographie auf einer Säule mit Silicagel 60 (230-400 mesh ASTM) gereinigt wurde. Zu diesem Zweck wurde das rohe ölartige Produkt auf eine Silicagel-Säule (500 g) unter einem Stickstoffdruck von $0{,}5 \cdot 10^5$ Pa aufgebracht. Der Überschuss an Reagens wurde durch Durchleiten von CH_2Cl_2 (1400 ml) entfernt, anschließend wurde 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxcarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycin (19,77 g) unter Verwendung des Systems Methylenchlorid/Methanol 95:5 (1000 ml) und Eindampfen der Fraktionen, die das chromatographisch homogene Titelprodukt enthielten, mit folgenden physiko-chemischen Konstanten erhalten:

EI-MS	m/z 943	
DSC	Methylenchlorid/Methanol, 95:5	Rf 0,397
	Toluol/Ethylacetat, 1:1	Rf 0,420

(IR) (KBr) cm^{-1} 3480, 2980, 2940, 1755, 1710, 1460, 1385, 1325, 1295, 1255, 1115, 1060, 1005, 990, 760, 700.
^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,35-7,28 (Ph), 5,11, 5,09 (CH_2-Ph), 5,58 (H-13), 4,95 (H-1''), 4,66 (H-2'), 4,49 (H-1'), 4,41 (H-3'), 3,80 (H-11), 3,70 (H-5''), 3,46 (H-3''), 3,40 (3''-OCH_3), 3,40 (H-5), 3,15 (H-4''), 3,00 (H-10), 3,00 (H-8a), 2,85 (H-8b), 2,83 (H-2), 2,80 (3'-$NHCH_3$), 2,35 (H-2''a), 2,24 (H-7a), 1,73 (H-7b), 1,69 (H-6), 1,69 (H-4'a), 1,65 (H-4), 1,62 (H-12), 1,53 (H-2''b), 1,31 (5''-CH_3), 1,26 (13-CH_3), 1,22 (5'-CH_3), 1,20 (2-CH_3), 1,03 (6-CH_3), 1,03 (10-CH_3), 0,89 (4-CH_3), 0,86 (12-CH_3).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 214,2 (C-9), 176,4 (C-1), 156,4, 156,0 (OCO), 154,4, 154,3 (NCO), 136,6 (OPh), 134,9 (N Ph), 128,5-127,6 (Ph), 101,8 (C-1'), 99,0 (C-1''), 86,1 (C-5), 80,1 (C-3), 77,6 (C-3''), 75,8 (C-4''), 74,6 (C-2'), 70,2 (C-13), 69,2 (C-5'), 68,7 (C-11), 68,5 (C-5''), 69,6, 69,5, 67,1, 66,9 (CH_2-Ph), 61,9 (C-8), 56,2 (3''-OCH_3), 54,7 (C-3'), 50,2 (8-CH_2), 44,5 (C-10), 44,3 (C-2), 42,2 (C-4), 41,4 (C-12), 35,4 (C-4'), 33,8 (C-6), 33,6 (C-2''), 30,0 (C-7), 28,9 (3'-$NHCH_3$), 20,4 (5'-CH_3), 18,1 (13-CH_3), 17,6 (5''-CH_3), 9,0 (4-CH_3), 8,5 (12-CH_3), 6,4 (10-CH_3).

Beispiel 2

Verfahren A

2'-O,3'-N-Bis(benzylozycarbonyl)-3'-N-demethyl-11,12,13-trisnor-1-methozy-10,11-seco-oleandomycin (2A)

2'-O,3'-N-Bis(benzylogycarbonyl)-3'-N-demethyl-epi-oleandomycin (2B)

2'-O,3'-N-Bis(benzylozycarbonyl)-3'-N-demethyl-1-methogy-10,11-anhydro-1,13-seco-oleandomycin (2C)

[0021] Zu einer Lösung von 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycin (6,00 g, 6,4 mmol) aus Beispiel 1 in einem auf 0-5 °C gekühlten Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 48 ml) wurden Methyliodid (1,32 ml; 20,7 mmol), das mit einem Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 12 ml) verdünnt war, und 60 %-iges Natriumhydrid in Mineralöl (0,76 g; 17,5 mmol) über einen Zeitraum von 1 Stunde Schritt für Schritt zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 2 Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt. Die Umsetzung wurde durch Zusetzen von Triethylamin (10 ml) NaCl-Lösung (80 unterbrochen, 10 Minuten gerührt, eine gesättigte ml) wurde zugesetzt, es wurde weitere 10 Minuten gerührt, dann wurde der anorganische Teil abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Ethylacetat (80 ml) extrahiert, die organische Schicht wurde zwei weitere Male mit einer gesättigten NaCl-Lösung (80 ml) gewaschen und über K_2CO_3 getrocknet. Nach der Filtration und dem Eindampfen unter verringertem Druck wurde ein gelbliches amorphes Präzipitat (5,36 g) erhalten. Durch Chromatographie auf einer Silicagel-Säule unter Verwendung des Systems Toluol/Ethylacetat = 1:1 wurden aus dem Reaktionsgemisch (2,82 g) eine chromatographisch homogene Verbindung 2A (0,40 g), eine chromatographisch homogene Verbindung 2B (0,12 g) und eine chromatographisch homogene Verbindung 2C (0,39 g) isoliert, die durch folgende physiko-chemische Konstanten gekennzeichnet sind.

2A

DSC	Methylenchlorid/Methanol, 95:5	Rf 0,587
	Toluol/Ethylacetat, 1:1	Rf 0,687

(IR) (KBr) cm^{-1} 3480, 2980, 2940, 1750, 1710, 1455, 1385, 1335, 1295, 1260, 1165, 1110, 1055, 1005, 830, 790, 760, 700.
^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,35-7,27 (Ph), 5,12, 5,09 (CH_2-Ph), 4,89 (H-1''), 4,64 (H-2'), 4,49 (H-1'), 4,46 (H-3'), 3,90 (H-3), 3,70 (1-OCH_3), 3,70 (H-5''), 3,61 (H-5'), 3,45 (H-3''), 3,41 (H-5), 3,40 (3''-OCH_3), 3,12 (H-4''), 2,85 (3'-$NHCH_3$), 2,79 (H-2), 2,76 (H-8a), 2,74 (H-8b), 2,56 (H-7a), 2,39 (H-10a), 2,34 (H-10b), 2,27 (H-2''a), 1,90 (H-6), 1,73 (H-4), 1,70 (H-4'a), 1,61 (H-4'b), 1,46 (H-2''b), 1,22 (5'-CH_3), 1,21 (5''-CH_3), 1,18 (2-CH_3), 1,16 (H-7b), 1,03 (6-CH_3), 1,03 (10-CH_3), 0,90 (4-CH_3).
(IR) (KBr) cm^{-1} 3480, 2980, 2940, 1750, 1710, 1455, 1385, 1335, 1295, 1260, 1165, 1110, 1055, 1005, 830, 790, 760, 700.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,35-7,27 (Ph), 5,12, 5,09 (CH_2-Ph), 4,89 (H-1''), 4,64 (H-2'), 4,49 (H-1'), 4,46 (H-3'), 3,90 (H-3), 3,70 (1-OCH_3), 3,70 (H-5''), 3,61 (H-5'), 3,45 (H-3''), 3,41 (H-5), 3,40 (3''-OCH_3), 3,12 (H-4''), 2,85 (3'-$NHCH_3$), 2,79 (H-2), 2,76 (H-8a), 2,74 (H-8b), 2,56 (H-7a), 2,39 (H-10a), 2,34 (H-10b), 2,27 (H-2''a), 1,90 (H-6), 1,73 (H-4), 1,70 (H-4'a), 1,61 (H-4'b), 1,46 (H-2''b), 1,22 (5'-CH3), 1,21 (5''-CH3), 1,18 (2-CH3), 1,16 (H-7b), 1,03 (6-CH3), 1,03 (10-CH3), 0,90 (4-CH3).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 209,5 (C-9), 175,2 (C-1), 156,1, 155,7 (OCO), 154,2, 154,1 (NCO), 136,3 (O Ph), 134,9 (NPh), 129,2-127,3 (Ph), 100,9 (C-1'), 97,8 (C-1 ''), 82,9 (C-5), 79,7 (C-3), 77,8 (C-3''), 75,5 (C-4''), 74,3 (C-2'), 68,2 (C-5'), 68,2 (C-5''), 69,3, 69,1, 67,1, 66,9 (CH_2-Ph), 62,1 (C-8), 56,1 (3''-OCH_3), 54,5 (C-3'), 51,5 (1-OCH_3), 49,9 (8-CH_2), 42,0 (C-2), 39,4 (C-4), 35,9 (C-4'), 33,9 (C-2''), 32,4 (C-6), 31,7 (C-7), 29,1 (10-CH_2), 28,4 (3'-$NHCH_3$), 20,3 (5'-CH_3), 17,6 (6-CH_3), 17,4 (5''-CH_3), 11,9 (2-CH_3), 9,7 (4-CH_3), 7,1 (10-CH_3).

2B

DSC	Methylenchlorid/Methanol, 95:5	Rf 0,447
	Toluol/Ethylacetat, 1:1	Rf 0,520

(IR) (KBr) cm^{-1} 3480, 2970, 2930, 1750, 1725, 1700, 1450, 1380, 1330, 1295, 1255, 1160, 1110, 1060, 990, 785, 755, 695, 665.
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38-7,27 (Ph), 5,13, 5,08 (CH_2-Ph), 4,88 (H-13), 4,88 (H-1''), 4,66 (H-2'), 4,47 (H-3'), 4,41 (H-1'), 3,85 (H-11), 3,68 (H-5''), 3,66 (H-3), 3,62 (H-5'), 3,43 (H-3''), 3,40 (3''-OCH_3), 3,33 (H-5), 3,26 (H-10), 3,13 (H-4''), 2,83 (H-8a), 2,83 (H-8b), 2,81 (3'-$NHCH_3$), 2,67 (H-2), 2,64 (H-7a), 2,34 (H-2''a), 1,76 (H-6), 1,72 (H-12), 1,70 (H-4'a), 1,70 (H-4), 1,62 (H-4'b), 1,50 (H-2''b), 1,32 (H-7b), 1,28 (13-CH_3), 1,27 (5''-CH_3), 1,22 (5'-CH_3), 1,18 (2-CH_3), 1,12 (6-CH_3), 1,06 (10-CH_3), 1,03 (12-CH_3), 0,96 (4-CH_3).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 211,3 (C-9), 174,9 (C-1), 156,5, 156,1 (OCO), 154,5, 154,4 (NCO), 136,6 (O Ph), 135,0 (N Ph), 128,5-127,6 (Ph), 101,6 (C-1'), 98,8 (C-1''), 83,9 (C-5), 79,8 (C-3), 77,7 (C-3''), 75,8 (C-4''), 74,6 (C-2'), 73,2 (C-13), 70,1 (C-11),

Toluol/Ethylacetat, 1:1 Rf 0,360

(IR) (KBr) cm^{-1} 3460, 2970, 2930, 1740, 1690, 1450, 1380, 1330, 1290, 1250, 1160, 1110, 1050, 1000, 785, 755, 695, 665.
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34-7,20 (Ph), 6,74 (H-11), 5,10, 5,09 (CH_2-Ph), 4,84 (H-1''), 4,64 (H-2'), 4,51 (H-1'), 4,43 (H-3'), 3,94 (H-3), 3,84 (H-13), 3,72 (H-5''), 3,58 (H-5'), 3,44 (1-OCH_3), 3,42 (H-3''), 3,38 (3''-OCH_3), 3,29 (H-5), 3,09 (H-4''), 2,85 (3'-$NHCH_3$), 2,83 (H-8a), 2,83 (H-7a), 2,75 (H-8b), 2,73 (H-12), 2,65 (H-2), 2,19 (H-2''a), 1,84 (10-CH_3), 1,78 (H-4), 1,74 (H-4'a), 1,69 (H-6), 1,39 (H-2''b), 1,24 (5''-CH_3), 1,22 (H-7b), 1,22 (13-CH_3), 1,22 (5'-CH_3), 1,08 (12-CH_3), 1,07 (2-CH_3), 1,00 (6-CH_3), 0,82 (4-CH_3).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 199,0 (C-9), 175,7 (C-1), 156,3, 156,0 (OCO), 154,6, 154,4 (NCO), 147,7(C-11), 136,5 (O Ph), 135,2 (N Ph), 134,1 (C-10), 128,7-127,4 (Ph), 101,0 (C-1'), 97,4 (C-1''), 82,6 (C-5), 79,6 (C-3), 78,0 (C-3''), 75,8 (C-4''), 74,3 (C-2'), 70,3 (C-13), 68,6 (C-5'), 68,3 (C-5''), 69,6, 69,3, 67,1, 66,9 (CH_2-Ph), 62,0 (C-8), 56,1 (3''-OCH_3), 55,1 (C-3'), 51,7 (1-OCH_3), 50,0 (8-CH_2), 41,0 (C-12), 40,3 (C-2), 38,6 (C-4), 37,0 (C-7), 35,4 (C-4'), 33,9 (C-2''), 33,1 (C-6), 28,9 (3'-$NHCH_3$), 20,9 (5'-CH_3), 20,7 (13-CH_3), 17,5 (5''-CH_3), 16,8 (6-CH_3), 14,0 (2-CH_3), 11,5 (10-CH_3), 10,1 (12-CH_3), 9,4 (4-CH_3).

Beispiel 2

Verfahren B

2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyl-11,12,13-trisnor-1-methoxy-10,11-seco-oleandomycin (2A)

2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyl-1-methoxy-10,11-anhydro-1,13-seco-oleandomycin (2C)

[0022] Zu einer Lösung von 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycin (6,00 g, 6,4 mmol) aus Beispiel 1 in einem auf 0 bis 5 °C gekühlten Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 12 ml) wurden Methyliodid (1,32 ml; 20,7 mmol), das mit einem Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 12 ml) verdünnt war, und 60 %-iges Natriumhydrid in Mineralöl (1,04 g; 23,9 mmol) über einen Zeitraum von 1 Stunde Schritt für Schritt zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 2 Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt. Die Umsetzung wurde durch Zusetzen von Triethylamin (10 ml) unterbrochen, 10 Minuten gerührt, eine gesättigte NaCl-Lösung (80 ml) wurde zugesetzt, es wurde weitere 10 Minuten gerührt, dann wurde der anorganische Teil abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Ethylacetat (80 ml) extrahiert, die organische

Schicht wurde zwei weitere Male mit einer gesättigten NaCl-Lösung (80 ml) gewaschen und über K_2CO_3 getrocknet. Nach der Filtration und dem Eindampfen unter verringertem Druck wurde ein gelbliches amorphes Präzipitat (5,90 g) erhalten. Durch Chromatographie auf einer Silicagel-Säule unter Verwendung des Systems Toluol/Ethylacetat = 1:1 wurden aus dem Reaktionsgemisch (2,95 g) eine chromatographisch homogene Verbindung 2A (0,12 g) und eine chromatographisch homogene Verbindung 2C (0,40 g) isoliert, die durch die in Beispiel 2, Verfahren A, angegebenen physiko-chemische Konstanten gekennzeichnet sind.

Beispiel 2

Verfahren C

2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyl-11,12,13-trisnor-1-methoxy-10,11-seco-oleandomycin (2A)

2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyl-epi-oleandomycin (2B)

[0023] Zu einer Lösung von 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-3'-N-demethyloleandomycin (6,00 g, 6,4 mmol) aus Beispiel 1 in einem auf 0 bis 5 °C gekühlten Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 48 ml) wurden Methyliodid (0,52 ml; 8,1 mmol), das mit einem Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Tetrahydrofuran (1:1, 12 ml) verdünnt war, und 60 %-iges Natriumhydrid in Mineralöl (0,30 g; 6,8 mmol) über einen Zeitraum von 1 Stunde Schritt für Schritt zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 2 Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt. Die Umsetzung wurde durch das Zusetzen von Triethylamin (10 ml) unterbrochen und 10 Minuten gerührt, anschließend wurde eine gesättigte NaCl-Lösung (80 ml) zugesetzt und weitere 10 Minuten gerührt, dann wurde der anorganische Teil abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Ethylacetat (80 ml) extrahiert, die organische Schicht wurde zwei weitere Male mit einer gesättigten NaCl-Lösung (80 ml) gewaschen und über K_2CO_3 getrocknet. Nach der Filtration und dem Eindampfen unter verringertem Druck wurde ein gelbliches amorphes Präzipitat (5,59 g) erhalten. Durch Chromatographie auf einer Silicagel-Säule unter Verwendung eines Systems Toluol/Ethylacetat = 1:1 wurden aus dem Reaktionsgemisch (2,80 g) eine chromatographisch homogene Verbindung 2A (0,44 g) und eine chromatographisch homogene Verbindung 2B (0,66 g) isoliert, die durch die in Beispiel 2, Verfahren A, angegebenen physiko-chemische Konstanten gekennzeichnet sind.

Beispiel 3

3'-N-Demethyl-11,12,13-trisnor-1-methoxy-10,11-seco-oleandomycin (3A)

[0024] Das Produkt 2A (2,65 g, 3 mmol) wurde in Ethanol (42 ml) gelöst, der pH-Wert wurde mittels eines Puffers mit einem pH-Wert von 5 (0,19 ml HOAc, 0,30 g NaOAc und 10 ml Wasser) auf einen Wert von 6,8 eingestellt, Pd/C 10 % (0,28 g) wurde zugesetzt und das Reaktionsgemisch unter Rühren in einem Autoklaven über einen Zeitraum von 3,5 Stunden bei einem Wasserstoffdruck von 10^5 Pa bei Raumtemperatur hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert, das Filtrat wurde zu einem viskosen Sirup eingedampft, $CHCl_3$ (50 ml) und Wasser (50 ml) wurden zugesetzt, der pH-Wert des Gemischs wurde mit 20 %-iger NaOH auf einen Wert von 9,0 eingestellt, die Schichten wurden getrennt und der wässrige Extrakt drei weitere Male mit $CHCl_3$ (50 ml) extrahiert. Die kombinierten organischen Extrakte wurden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert, unter verringertem Druck eingedampft und gegebenenfalls durch Chromatographie auf einer Silicagel-Säule gereinigt, wobei das System Chloroform/Methanol/konz. Ammoniak 60:10:1 verwendet wurde, um das Titelprodukt (1,45 g) mit den folgenden physiko-chemischen Konstanten zu ergeben:

EI-MS	m/z 604	
DSC	Chloroform/Methanol/konz. Ammoniak 60:10:1	Rf 0,602
	Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak 90:9:1,5	Rf 0,385

(IR) (KBr) cm^{-1} 3310, 2970, 2930, 1730, 1715, 1465, 1455, 1380, 1260, 1195, 1155, 1070, 1045, 1005, 985, 900, 755, 665.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4,90 (H-1''), 4,27 (H-1'), 3,99 (H-3), 3,74 (H-5''), 3,70 (1-OCH_3), 3,55 (H-5'), 3,46 (H-5), 3,42 (H-3''), 3,40 (3''-OCH_3), 3,19 (H-2'), 3,17 (H-4''), 2,81 (H-2), 2,77 (H-8a), 2,74 (H-8b), 2,67 (H-7a), 2,52 (H-3'), 2,41 (H-10a), 2,40 (3'-$NHCH_3$), 2,35 (H-10b), 2,29 (H-2''a), 2,05 (H-6), 1,93 (H-4'a), 1,87 (H-4), 1,49 (H-2''b), 1,28 (5''-CH_3), 1,21 (2-CH_3), 1,20 (H-4'b), 1,20 (5'-CH_3), 1,10 (H-7b), 1,04 (4-CH_3), 1,02 (6-CH_3), 1,02 (10-CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 209,9 (C-9), 175,7 (C-1), 103,3 (C-1'), 98,1 (C-1''), 82,3 (C-5), 80,2 (C-3), 77,8 (C-3''), 75,4 (C-4''), 73,4 (C-2'), 68,5 (C-5'), 68,4 (C-5''), 62,1 (C-8), 59,9 (C-3'), 56,2 (3''-OCH_3), 51,4 (1-OCH_3),

49,8 (8-CH_2), 42,0 (C-2), 39,1 (C-4), 36,6 (C-4'), 33,9 (C-2''), 32,7 (3'-$NHCH_3$), 32,6 (C-7), 32,3 (C-6), 29,0 (10-CH_2), 20,6 (5'-CH_3), 17,2 (5''-CH_3), 17,0 (6-CH_3), 11,7 (2-CH_3), 10,3 (4-CH_3), 6,9 (10-CH_3).

Beispiel 4

11,12,13-Trisnor-1-methogy-10,11-seco-oleandomycin (4A)

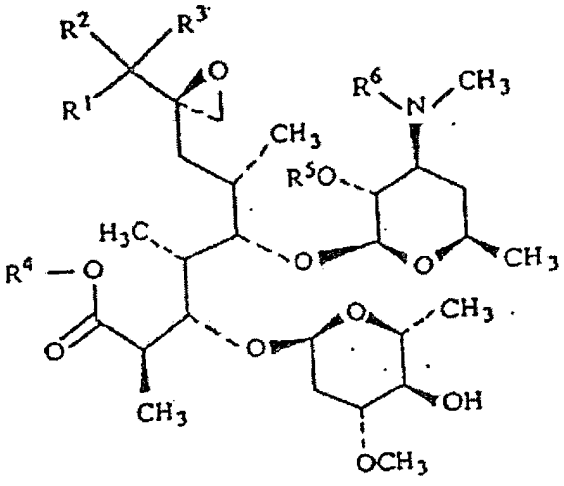
[0025] Zu einer Lösung von 3'-N-Demethyl-11,12,13-trisnor-1-methoxy-10,11-seco-oleandomycin aus Beispiel 3 (0,90 g; 1,5 mmol) in $CHCl_3$ (60 ml) wurden 36 %-iges Formaldehyd (0,236 ml; 8,5 mmol) und 98-100 %-ige Ameisensäure (0,217 ml; 5,8 mmol) zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3,5 Stunden unter Rückfluss gerührt, auf Raumtemperatur abgekühlt und in Wasser (60 ml) gegossen, dann wurde der pH-Wert des Gemischs mit 2 N NaOH auf einen Wert von 9,0 eingestellt, die Schichten wurden getrennt und die wässrige Schicht drei weitere Male mit $CHCl_3$ (30 ml) extrahiert. Die kombinierten organischen Extrakte wurden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert, unter verringertem Druck eingedampft und gegebenenfalls auf einer Silicagel-Säule gereinigt, wobei das System Chloroform/Methanol/konz. Ammoniak 60:10:1 verwendet wurde, um das Titelprodukt (0,97 g) mit den folgenden physikochemischen Konstanten zu ergeben:

EI-MS	m/z 618	
DSC	Chloroform/Methanol/konz. Ammoniak 60:10:1	Rf 0,787
	Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak 90:9:1,5	Rf 0,575

(IR) (KBr) cm^{-1} 3450, 2970, 2930, 1735, 1715, 1460, 1455, 1380, 1260, 1195, 1160, 1075, 1045, 1000, 795, 755.
^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4,92 (H-1''), 4,27 (H-1'), 4,00 (H-3), 3,77 (H-5''), 3,69 (1-OCH_3), 3,48 (H-5'), 3,46 (H-3''), 3,41 (H-5), 3,40 (3''-OCH_3), 3,23 (H-2'), 3,14 (H-4''), 2,83 (H-2), 2,78 (H-8a), 2,75 (H-8b), 2,66 (H-7a), 2,49 (H-3'), 2,43 (H-10a), 2,28 (3'-$N(CH_3)_2$), 2,37 (H-10b), 2,31 (H-2''a), 2,04 (H-6), 1,88 (H-4), 1,65 (H-4'a), 1,48 (H-2''b), 1,29 (5''-CH_3), 1,24 (H-4'b), 1,23 (2-CH_3), 1,20 (5'-CH_3), 1,20 (H-7b), 1,12 (4-CH_3), 1,05 (6-CH_3), 1,03 (10-CH_3).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 209,9 (C-9), 175,6 (C-1), 104,0 (C-1'), 98,5 (C-1''), 83,1 (C-5), 80,5 (C-3), 77,9 (C-3''), 75,7 (C-4''), 70,1 (C-2'), 68,9 (C-5'), 68,2 (C-5''), 65,2 (C-3'), 62,1 (C-8), 56,0 (3''-OCH_3), 51,4 (1-OCH_3), 49,9 (8-CH_2), 42,6 (C-2), 40,0 (3'-$N(CH_3)_2$), 39.6 (C-4), 33,9 (C-2''), 31,9 (C-6), 31,8 (C-7), 29,0 (10-CH_2), 28,4 (C-4'), 20,8 (5'-CH_3), 17,5 (6-CH_3), 17,2 (5''-CH_3), 12,7 (2-CH_3), 10,1 (4-CH_3), 7,0 (10-CH_3).

Patentansprüche

1. Verbindung der allgemeinen Formel I



I

worin
R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe,
R^2 zusammen mit R^3 ein Keton,
R^3 zusammen mit R^2 ein Keton,
R^4 eine Methylgruppe,

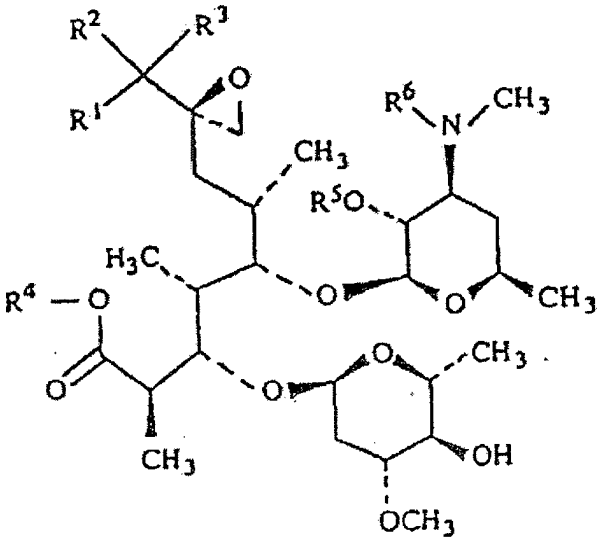
R^5 Wasserstoff oder eine Benzyloxycarbonylgruppe und
R^6 Wasserstoff, eine Methylgruppe oder eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten,
und ihre pharmazeutisch verträglichen Additionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe bedeutet, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton bedeutet, R^4 eine Methylgruppe bedeutet und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten.

3. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe bedeutet, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton bedeutet, R^4 eine Methylgruppe bedeutet und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und Wasserstoff bedeuten.

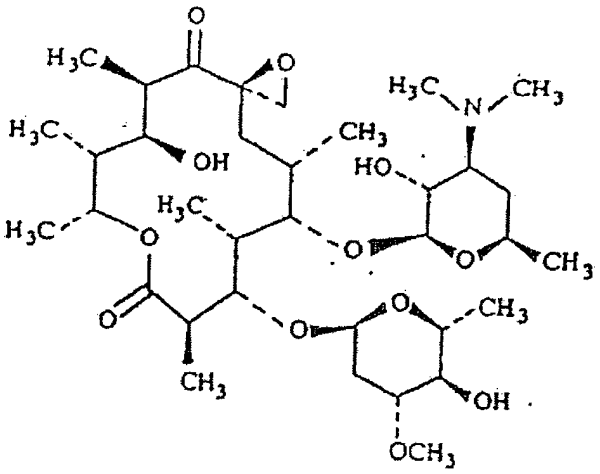
4. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe bedeutet, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton bedeutet, R^4 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Methylgruppe bedeuten und R^5 Wasserstoff bedeutet.

5. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der allgemeinen Formel I



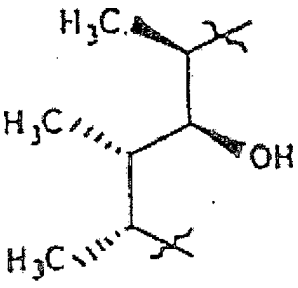
I

worin
R^1 eine -CH_2CH_3-Gruppe,
R^2 zusammen mit R^3 ein Keton,
R^3 zusammen mit R^2 ein Keton,
R^4 eine Methylgruppe,
R^5 Wasserstoff oder eine Benzyloxycarbonylgruppe und
R^6 Wasserstoff, eine Methylgruppe oder eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten,
und ihrer pharmazeutisch verträglichen Additionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren, dadurch gekennzeichnet, dass ein Oleandomycin der Formel VI



VI

mit Benzyloxycarbonylchlorid in Anwesenheit einer Base, vorzugsweise Natriumhydrogencarbonat, in einem unter Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel, vorzugsweise Benzol oder Toluol, zu 2'-O,3'-N-Bis(benzyloxycarbonyl)-N-demethyloleandomycin der allgemeinen Formel I, worin R^1 zusammen mit R^4 ein Fragment der Formel IV



IV

bedeutet, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton bedeutet und R^5 und R^6 dieselben Bedeutungen haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten, umgesetzt wird, dann der Einwirkung eines entsprechenden Methylierungsmittels, vorzugsweise Methyliodid, in Anwesenheit einer entsprechenden Base, vorzugsweise Natriumhydrid, bei einer Temperatur von -15°C bis Raumtemperatur, vorzugsweise 0-5°C, in einem geeigneten aprotischen Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch, vorzugsweise DMSO-THF = 1:1, unterworfen und dann in einer Silicagelsäule im System aus Toluol- Ethylacetat = 1:1 aufgetrennt wird, wodurch man eine chromatographisch homogene Verbindung 2A der allgemeinen Formel I erhält, worin R^1 eine -CH_2CH_3-Crruppe, R^2 zusammen mit R^3 ein Keton und R^4 eine Methylgruppe bedeuten, und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und eine Benzyloxycarbonylgruppe bedeuten, diese Verbindung dann einer Hydrogenolyse-Reaktion in der Lösung eines niedrigen Alkohols, vorzugsweise in Ethanol, in Anwesenheit eines NaOAc/HOAc-Puffers (pH 5) mit einem Katalysator wie Palladiumschwarz oder Pd/C unter einem Wasserstoffdruck von 10^5 Pa bei Raumtemperatur unter Bildung einer Verbindung 3A der allgemeinen Formel I, worin R^1-R^4 die für die Verbindung 2A angegebene Bedeutung haben und R^5 und R^6 dieselbe Bedeutung haben und Wasserstoff bedeuten, unterworfen wird, und diese Verbindung dann einer reduzierenden N-Methylierung in 3'-Stellung mit 1-6,2 Äquivalenten Formaldehyd (36%-ig) in Anwesenheit von 1-4,2 Äquivalenten Ameisensäure (98-100%-ig) oder einer anderen Wasserstoffquelle in einem unter Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel wie Halogenkohlenwasserstoffen, niederen Alkoholen oder niederen Ketonen, vorzugsweise Chloroform, bei Rückflusstemperatur des Reaktionsgemisches unterworfen wird, wodurch man eine Verbindung 4A der allgemeinen Formel I, worin R^1-R^4 die für die Verbindung 2A angegebene Bedeutung haben, R^5 Wasserstoff und R^6 eine Methylgruppe bedeuten, erhält, die man gegebenenfalls mit anorganischen oder organischen Säuren umsetzt, wodurch man pharmazeutisch verträgliche Additionssalze davon erhält.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen