

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 145877 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

- (21) Ansøgning nr. 2250/75 (51) Int.Cl.³ C 07 C 103/19
(22) Indleveringsdag 22. maj 1975
(24) Løbedag 22. maj 1975
(41) Alm. tilgængelig 29. nov. 1975
(44) Fremlagt 28. mar. 1983
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet 28. maj 1974, 473791, US

(71) Ansøger PFIZER INC., New York, US.

(72) Opfinder Charles John Vincent Scanio, US.

(74) Fuldmægtig Ingeniørfirmaet Hofman-Bang & Boutard.

- (54) Fremgangsmåde til fremstilling af
alfa-6-desoxy-5-hydroxytetracyclin.

Opfindelsen angår en fremgangsmåde til fremstilling af α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin ved reduktion af 6-methylen-5-hydroxytetracyclin eller hydrochloridsaltet deraf i nærvær af en katalysator.

Reaktionen af 6-methylen-tetracycliner, 11a-halogen-6-methylen-tetracycliner, syreadditionssalte deraf og polyvalent-metalsaltkomplekser deraf med hydrogen i nærvær af en heterogen ædelmetalkatalysator til fremstilling af de tilsvarende epimere α - og β -6-desoxytetracycliner er beskrevet i beskrivelsen til USA patent nr. 3 200 149. Anvendelsen af en forgiftet ædelmetalkatalysator til opnåelse af den samme omdannelse, men med en forøgelse i forholdet mellem α - og β -6-desoxytetracyclin er angivet i beskrivelsen til

USA patent nr. 3 444 198. I beskrivelsen til USA patent nr. 2 984.686 er beskrevet anvendelsen af katalytisk reduktion under anvendelse af hydrogen og en ædelmetalkatalysator til opnåelse af kun 11a-dehalogenering af 11a-halogen-6-methylentetracycliner. Desuden er reduktion af 11a-halogen-6-methylentetracycliner, salte og komplekser deraf i nærvær af en ædelmetalkatalysator under anvendelse af hydraziner som hydrogenkilde rapporteret i beskrivelsen til vesttysk patent nr. 2 131.944. I beskrivelsen til britisk patent nr. 1 296 340 er beskrevet anvendelsen af Raney-nikkel og Raney-cobalt som katalysatorer for sådanne reduktioner.

Rhodiumhalogenidkomplekser indeholdende tertiære fosphin- eller arsin-ligander, deres fremstilling og anvendelse som homogene hydrogeneringskatalysatorer er beskrevet i beskrivelsen til USA patent nr. 3 639 439, udstedt den 1. februar 1972. Opløselige komplekser af platingruppermetaller, især af rhodium, som indeholder et halogenid og en tertiær fosphin, arsin, stibin eller amin, deres fremstilling og anvendelse som hydrogeneringskatalysatorer er også angivet i beskrivelsen til de britiske patenter nr. 1 138 601 (offentliggjort den 1. januar 1969); 1 219 763 (offentliggjort den 20. januar 1971); 1 121.642 (offentliggjort den 31. juli 1968) og 1.121 643 (offentliggjort den 31. juli 1968) og i beskrivelserne til USA patenterne nr. 3 489.786 (udstedt den 13. januar 1970) og 3 459 780 (udstedt den 5. august 1969). Sådanne katalysatorer er rapporteret at give en forbedret fremgangsmåde til hydrogenring af umættede organiske forbindelser, især alkener, sammenlignet med anvendelsen af heterogene katalysatorer.

I DE offentliggørelsesskrift nr. 2 308 227, offentliggjort den 30. august 1973, er beskrevet fremstillingen af α -6-desoxytetracycliner ved homogen katalytisk hydrogenring under anvendelse af tris-(triphenylfosphin)chlororhodium som katalysator. Katalysatoren kan ifølge angivelserne fremstilles i forvejen eller kan fremstilles direkte i reaktionsmediet ved at opløse rhodiumtrichlorid i mediet i nærvær af mellem 1 og 3 molære ækvivalenter triphenylfosphin.

I beskrivelsen til USA patent nr. 3 692 864, udstedt den 19. september 1972, er angivet hydrogeneringen af umættede organiske mole-

kyler under anvendelse af homogene metalkomplekser af jerntriade-typen (nikkel, cobalt, jern) med tertiære fosphiner. Typisk for de beskrevne komplekser er chloro-tris-(triphenylphosphin)-cobalt(I).

Talrige publikationer angiver, at homogen katalyse er en lovende metode til hydrogeneringsreaktioner, herunder regiospecifikke, selektive og asymmetriske reduktioner. Knowles et al., Chem. Commun., side 1445 (1968), Horner et al., Angew. Chem., Int. Ed. 7, 942 (1968) og belgisk patentskrift nr. 766 960, offentliggjort den 10. november 1971, rapporterer anvendelsen af komplekser af monovalent rhodium med optisk aktive tertiær-phosphinligander som homogene katalysatorer til opnåelse af asymmetrisk katalytisk hydrogenering. Nylige publikationer som giver en ret omfattende gennemgang af teknikken, er følgende: Harmon et al., Chem. Rev., 73, 21-52 (1973); Knowles et al., Chem. Commun., side 10 (1972); Grubbs et al., J. Am. Chem. Soc., 93, 3062 (1971); Kagan et al., J. Am. Chem. Soc., 94, 6429 (1972); og "Homogeneous Catalysis, Industrial Applications and Implications," Vol. 70, Advances in Chemistry Series, udgivet af the American Chemical Society, Washington, D.C. (1968); "Aspects of Homogeneous Catalysis" Vol. I, side 5-75 (1970), regigeret af R. Ugo og udgivet af Carlo Manfredi, Milano, Italien; og Vol'Pin et al., Russian Chemical Reviews, 38, 273-289 (1969).

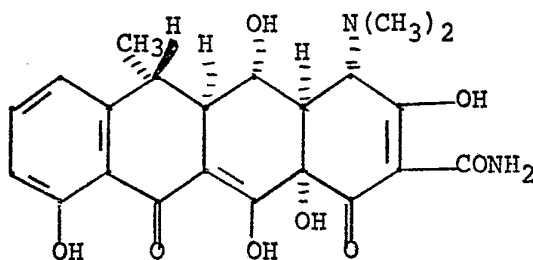
Homogen katalytisk hydrogenering af exocycliske methylengrupper i methylen-cyclohexaner (Augustine et al., Ann. N.Y. Sci., 158, 482-91 [1969]); coronopilin (Ruesch et al., Tetrahedron, 25, 807-11 [1969]); og i et mellemprodukt ved stereoselektiv totalsyntese af seychellen (Piers et al., Chem. Commun. 1069-70 [1969]) under anvendelse af tris-(triphenylphosphin)chlororhodium som katalysator er rapporteret.

Alle de ovenstående publikationer henviser til en teknik, der frembringer reduktion af et substrat ved anvendelse af hydrogen-gas i nærvær af en eller anden reduktionskatalysator.

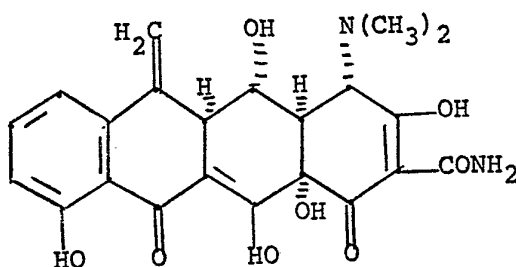
Fichteman et al., J. Org. Chem. 33, 1281 (1968) og Taylor et al., J. Org. Chem., 37, 3913 (1972) rapporterer anvendelsen af cobalt-

hydrocarbonyl, $\text{HCo}(\text{CO})_3$ eller $\text{HCo}(\text{CO})_4$, som et stof, der er i stand til at reducere alkener eller aromatiske substrater, idet cobalthydrocarbonylet dannes ved reduktion af dicobaltoctacarbonyl under anvendelse af hydrogen gas ved forhøjede temperaturer.

Det har nu ifølge opfindelsen vist sig, at α -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclin, som har formelen



og hydrochloridadditionssalte deraf let kan fremstilles ved at bringe 6-methylen-5-hydroxytetracyclin med formelen



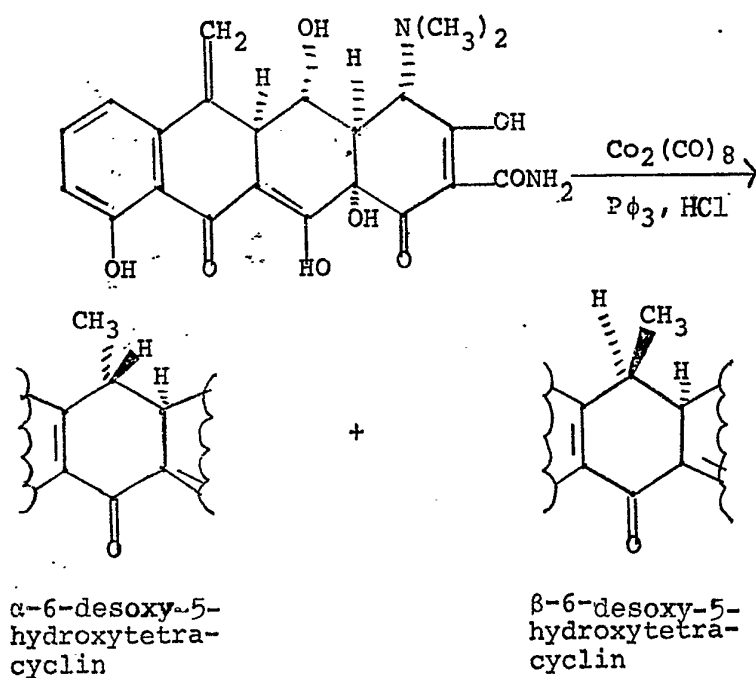
i kontakt med dicobaltoctacarbonyl, triphenylphosphin og saltsyre i et molært forhold mellem 6-methylen-5-hydroxytetracyclin/dicobaltoctacarbonyl/triphenylphosphin/saltsyre på 1,0:1,0:0,1-0,2:1,5-3,5 i et reaktionsopløsningsmiddel og under en inert atmosfære ved en reaktionstemperatur på 80-115 °C. Såfremt 6-methylen-5-hydroxytetracyclin-hydrochlorid anvendes som udgangsmateriale, betegner "1,5-3,5 mol saltsyre" summen af HCl fra hydrochloridet og tilsat saltsyre.

I overensstemmelse hermed er fremgangsmåden ifølge opfindelsen ejendommelig ved det i krav 1's kendetegnende del anførte.

Fuldstændigt uventet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen er den lette reduktion af den exocycliske dobbeltbinding i 6-methylen-tetracyclinen uden behov for hydrogengas hverken til reaktionen selv eller til dannelse af reaktionsreagenserne, såvel som den erkendelse, at tetracyclinmolekylet ikke ødelægges eller indgår irreversible komplekser med reagenserne $\text{Co}_2(\text{CO})_8$, saltsyre og/eller triphenylphosfin.

En lige så uventet erkendelse, som giver fremgangsmåden ifølge opfindelsen kommerciel interesse, er reduktionens stærkt specifikke natur, som medfører en næsten udelukkende dannelse af antibioticummet α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin fremfor den tilsvarende β -epimer.

Reduktionen ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan belyses ved det følgende reaktionsskema:



Reaktionen udføres i et reaktionsopløsningsmiddel. Det foretrækkes at opløsningsmidlet er af en sådan art, at alle reaktanterne holdes i opløsning under processens reaktionsbetingelser. Til dette formål foretrækkes det at anvende et opløsningsmiddel til

opløsning af dicobaltoctacarbonylet og hydrochloridet af 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclinen. Et meget praktisk opløsningsmiddel til dette formål er en blanding af et flydende aromatisk opløsningsmiddel, såsom benzen, toluen eller xylen, og et aprotisk, stærkt polært opløsningsmiddel, såsom dimethylformamid, dimethylacetamid eller hexamethylenphosphoramid. De aromatiske opløsningsmidler tjener som udmærkede midler til at holde cobaltcarbonylet i opløsning, og de polære aprotiske opløsningsmidler spiller en lignende rolle for 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclinen, triphenylphosphinet og mineralsyren. Når disse opløsningsmidler anvendes ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, foretrækkes det kun at anvende en minimal mængde af opløsningsmidlerne til netop at solubilisere de anvendte reaktanter. Anvendelse af forholdsvis større mængder af opløsningsmidler vil, som en fagmand let vil indse, føre til længere reaktionstider og tillade nedbrydning af enten reaktanterne eller de dannede produkter.

De foretrukne opløsningsmidler for fremgangsmåden ifølge opfindelsen er benzen/dimethylformamid og benzen/dimethylacetamid.

Som tidligere nævnt skal atmosfæren og reaktionsoverfladen være af inert art, så den ikke reagerer i nogen betydelig grad med hverken udgangsreagenserne eller produkterne. Sådanne gasser som oxygen, luft eller carbondioxid har en mærkbar skadelig virkning på den heldige dannelse af de ønskede produkter. I overensstemmelse hermed udgør sådanne gasser som nitrogen, argon eller helium egnede atmosfærer, idet de foretrukne er nitrogen og argon.

Selv om det temperaturområde, inden for hvilket denne reduktionsproces kan udføres, er relativt bredt, nemlig 80-115°C, har en overskridelse af disse grænser en skadelig virkning på reaktionens resultat. Reaktionstemperaturer på under 70°C fører til meget langsom reduktion og ofte til en ufuldstændig reaktion, selv efter længere reaktionstider, medens reaktionstemperaturer på over 115°C forårsager udstrakt nedbrydning af det ønskede α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclinprodukt. Den foretrukne reaktionstemperatur, som tillader tilfredsstillende dannelse af det ønskede produkt uden udstrakt nedbrydning af produktet, er fra omkring 90 til omkring 95°C.

Som en fagmand let vil indse, afhænger reaktionstiderne af et antal reaktionsvariable, herunder temperatur, udgangsreagensernes iboende reaktivitet og reaktanternes koncentration i opløsningsmediet. Ved kun at anvende tilstrækkeligt opløsningsmiddel til at opløse alle udgangsreagenserne, som tidligere omtalt, og anvendelse af et temperaturområde på 90-95°C fuldføres reaktionen ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen på omkring 4 timer.

Et nødvendigt træk ved fremgangsmåden er anvendelsen af hydrogenchlorid. 6-Methylen-5-hydroxytetracyclin-udgangsmaterialet kan tilsættes som den frie base, og saltsyren sættes separat til reaktionsblandingen, eller alternativt kan udgangstetracyclinen tilsættes som hydrochloridsaltet, og yderligere saltsyre tilsættes. På grund af udgangs-tetracyclins ringe opbevaringsstabilitet som den frie base og hydrochloridsaltets stabilitet og let tilgængelighed foretrækkes det sidstnævnte som udgangsmateriale. Under reaktionsbetingelser, hvor der kun anvendes 1 mol eller ækvivalent saltsyre, dannes den ønskede Δ -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclin som hydrochloridsaltet, men ikke i optimalt udbytte eller renhed. Der anvendes derfor mere end en molær eller ækvivalent mængde syre pr. mol 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin, og for at opnå dette sætter man yderligere syre til reaktionsblandingen. Eftersom Δ -6-desoxy-5-hydroxytetracyclinproduktet ikke er stabilt under fremgangsmådens reaktionsbetingelser i nærvær af en for høj syrekonzentration, må der ikke anvendes mere end 3,5 ækvivalenter syre pr. mol tetracyclin, og det foretrækkes, at den anvendte mængde saltsyre er 1,5-2 ækvivalenter pr. mol tetracyclin-udgangsmateriale.

Eksperimentelt er det ofte hensigtsmæssigt at sætte saltsyren til en opløsning af det kommercielt tilgængelige 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin-hydrochlorid opløst i et polært aprotisk opløsningsmiddel, indtil det ønskede indhold af syre er nået.

Et andet af udgangsreagenserne, som indvirker stærkt på produkt-dannelsen ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er triphenyl-

phosphin. Andre phosphiner, herunder trialkyl-, tricycloalkyl- og substituerede triphenylphosphiner, er blevet anvendt, men uden det heldige resultat, som opnås med triphenylphosphin. Endvidere har den anvendte mængde af dette reagens en mærkbar indflydelse på forholdet mellem α -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclin, det foretrukne produkt af fremgangsmåden, og β -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclin. Et forhold på 0,1-0,2 ækvivalenter triphenylphosphin pr. mol 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin er anvendeligt til opnåelse af et gunstigt forhold mellem α - og β -6-desoxy-5-hydroxytetracyclinprodukterne med et foretrukket forhold på 0,1 ækvivalent triphenylphosphin pr. mol tetracyclin-udgangsmateriale.

Hvad angår mængden af dicobaltoctacarbonyl, som anvendes ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, har det vist sig, at anvendelse af så meget som 2-5 ækvivalenter pr. mol 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin ikke medfører nogen fordel fremfor 1 ækvivalent med hensyn til den totale reduktion såvel som til forholdet mellem α - og β -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin i produktet. Anvendelse af fra mindre end 1 ækvivalent til så lidt som 0,1 ækvivalent medfører en stadig større reduktion i den totale mængde dannede produkter. Af økonomiske grunde anvendes 1 ækvivalent dicobaltoctacarbonyl pr. mol tetracyclin-udgangsmateriale.

Den rækkefølge, hvori reaktanterne kombineres ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er ikke kritisk, selv om der opnås lidt højere reduktionsudbytter ved at anvende en procedure, hvor reaktanterne dicobaltoctacarbonyl, triphenylphosphin, saltsyre og det aprotiske polære opløsningsmiddel omrøres ved 85°C i omkring 10 minutter før tilsætningen af 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin eller hydrochloridsaltet deraf.

Ved udforskning af omfanget af de reaktionsvariable ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen er det yderst tidskrævende at prøve reaktionsblandingen ved isolering og identifikation af reduktionsprodukterne, og derfor anvendes ofte tidsbesparende prøvninger, såsom tyndtlagschromatografi og højtrykssvæskechromatografi.

Efter fuldførelse af reaktionen eksisterer α -6-desoxy-5-hydroxy-

tetracyclin-produktet i reaktionsblandingen som hydrochlorid-additionssaltet. Hvad angår isolering af α -6-desoxy-5-hydroxy-tetracyclinen fra reaktionsblandingen foretrækkes det, at blandingen filtreres, og det aromatiske opløsningsmiddel fjernes under formindsket tryk. Den resterende opløsning i polært opløsningsmiddel filtreres derpå og behandles med mættet vandig opløsning af sulfosalicylsyre. Den efterfølgende tilsætning af vand udfælder sulfosalicylaterne af reduktionsprodukterne såvel som af eventuelt ureduceret 6-methylen-5-hydroxy-tetracyclin. Yderligere rensning udføres ved omkrystallisation fra methanol/vand.

De foretrukne reaktionsbetingelser for reduktionen af 6-methylen-5-hydroxytetracyclin til α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin består i at bringe den ovennævnte tetracyclin, dicobaltoctacarbonyl og triphenylphosphin i molforholdet 1,0:1,0:0,1 i kontakt med salt-syre i et opløsningsmiddel bestående af benzen/dimethylacetamid eller benzen/dimethylformamid i en inert atmosfære af nitrogen eller argon ved en reaktionstemperatur på 90-95°C.

Tetracyclinernes kemi og deres anvendelse som antibiotica til behandling af forskellige mikrobielle infektioner er velkendt og dokumenteret i udstrakt grad i den medicinske litteratur. Meget af baggrunden for disse midler, herunder α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin, og hvordan de anvendes som terapeutiske midler, er gennemgået af R.K. Blackwood, Encyclopedia of Chemical Technology, 20, 1-33 (1969). Måling af tilstedeværelsen af α -isomeren og den tilstedeværende mængde er derfor det eneste krav til dokumentation for fremgangsmådens effektivitet.

De følgende eksempler tjener til nærmere at belyse fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

EKSEMPEL 1

Til 27,5 mg (0,1 m mol) triphenylphosphin i 25 ml tørt benzen indeholdt i en lukket tre-halset kolbe under en nitrogenatmosfære sættes ved hjælp af en kanyle igennem en gummivæg, som dækker halsåbningen, 342 mg (1,0 m mol) dicobaltoctacarbonyl i 10 ml af det samme opløsningsmiddel. Efter omrøring i 30 minutter ved

stuetemperatur blev 399 mg (1,0 m mol) 6-methylen-5-hydroxytetracyclin i 40 ml dimethylformamid og indeholdende 54 mg (1,5 m mol) hydrogenchlorid sprøjtet ind i reaktionskolben, og den resulterende opløsning blev opvarmet til 70°C i 18 timer.

En prøve af reaktionsblandingen udtages og chromatograferes på en silicagelplade, som i forvejen er blevet behandlet med en sprøjtning med 0,005 N natriumacetat, 0,002 N ethylendiamin-tetraeddikesyre indstillet til pH 6 med eddikesyre og derpå tørret ved 110°C natten over.

Chromatografien, som udføres i et stigende system af 95% tetrahydrofuran og 5% vand, udvikles i ammoniak, hvorved α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin viser sig som en gul plet under en 366 nm ultravioletlampe. Resultaterne angiver et forhold mellem α -6-desoxy- og β -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin på 5:1.

Resten af reaktionsblandingen filtreres, og benzenet fjernes under formindsket tryk. Den resterende grønne opløsning filtreres, og filtratet behandles først med 2 ml af en 10% vandig opløsning af sulfosalicylsyre efterfulgt af 6 ml vand. Den resulterende opslæmning filtreres efter omrøring i 10 minutter, og det faste stof vaskes med vand og tørres.

Det faste stof opløses i en minimal mængde vand og anbringes på en højtryksvæskechromatografisøjle pakket med en kvaternær-ammonium-substitueret methacrylatpolymer overtrukket med 1% på en bærer med kontrolleret overfladeporøsitet (USA patentskrifter nr. 3 485 658 og 3 505 785). Produktet elueres med en puffer af 0,005 N natriumacetat og 0,002 N ethylendiamin-tetraeddikesyre, indstillet til pH 5,8 med eddikesyre, under et tryk på 11,7 MPa. En ultraviolet monitor (254 nm) ved søjleudgangen måler tetracyclin i eluatet. Ultravioletmålingen registreres på sin side med en "Varian A-25" skriver. Målingerne angiver, at udbyttet af α -6-desoxy- og β -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin er 35-40%, hvoraf 83% er den ønskede α -epimer og 17% β -epimeren.

EKSEMPEL 2

Til 27,5 mg (0,104 m mol) triphenylphosphin i 5 ml benzen under

en nitrogenatmosfære sættes 180 mg (0,52 m mol) dicobaltoctacarbonyl i 5 ml af det samme opløsningsmiddel, 250 mg 0,52 m mol 6-methylen-5-hydroxytetracyclin-hydrochlorid i 5 ml dimethylformamid og 18 mg (0,50 m mol) hydrogenchlorid i 1 ml dimethylformamid, og den resulterende reaktionsblanding opvarmes til 85° C i 3,0 timer. Højtryksvæskechromatografi viser, at der ikke er noget resterende tetracyclin-udgangsmateriale, men at reduktionen er fuldstændig.

Reaktionsblandingen afkøles til stuetemperatur og oparbejdes som beskrevet i eksempel 1. Sulfosalicylsyresaltene, 260 mg, består af 98% α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin. De rå sulfosalicylsyresalte omdannes til hydrochloridsaltene ved tilsætning til methanol/vand indeholdende hydrogenchlorid. Yderligere omkrystallisation fra methanol/vand giver rent α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin-hydrochlorid.

P a t e n t k r a v:

1. Fremgangsmåde til fremstilling af α -6-desoxy-5-hydroxytetracyclin ved reduktion af 6-methylen-5-hydroxytetracyclin eller hydrochloridsaltet deraf i nærvær af katalysator, k e n d e t e g n e t ved, at 6-methylen-5-hydroxytetracyclin eller hydrochloridsaltet deraf bringes i kontakt med dicobaltoctacarbonyl, triphenylphosphin og HCl i et molforhold mellem 6-methylen-5-hydroxytetracyclin, dicobaltoctacarbonyl, triphenylphosphin og HCl på 1,0:1,0:0,1-0,2:1,5-3,5 i et opløsningsmiddel for reaktanterne og under en inert atmosfære ved en reaktionstemperatur på 80-115° C.
2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at temperaturen er 90-95° C.
3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at molforholdene er 1,0:1,0:0,1:1,5.
4. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-3, k e n d e t e g n e t ved, at opløsningsmidlet består af benzen/dimethylformamid eller benzen/dimethylacetamid.
5. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-4, k e n d e t e g n e t ved, at den inerte atmosfære er nitrogen eller argon.

Fremdragne publikationer:
