



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **279 483 A5**

5(51) C 07 H 17/00

PATENTAMT der DDR

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	AP C 07 H / 306 907 8	(22)	11.09.87	(44)	06.06.90
(31)	P1592/96	(32)	12.09.86	(33)	YU

(71) siehe (73)
 (72) Vajtner, Zlatko, Dr.-Ing.; Lopotar, Nevemla; Djokic, Slobodan, Dr.-Ing., YU
 (73) Sour Pliva farmaceutska, kemijska, prehrambena i kozmeticka industrija, Zagreb, YU
 (74) Internationales Patentbüro Berlin, Wallstraße 23/24, Berlin, 1020, DD

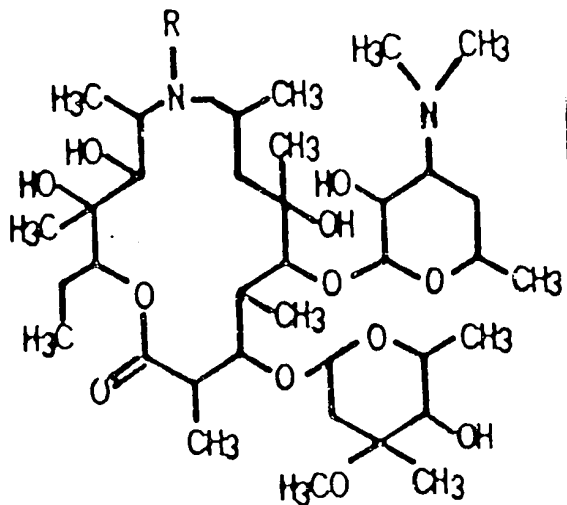
(54) Verfahren zur Herstellung von Metallkomplexen des N-Methyl-11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycins A und 11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycins A

(55) Verfahren; Herstellung; Antibiotika; N-Methyl-11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A; 11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A; 2:1-Komplexe; bivalente Metalle; Komplexierung

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Metallkomplexen des N-Methyl-11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycins A und 11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycins A. Die Erfindung beschreibt ein Verfahren zur Herstellung von neuen, biologisch aktiven 2:1-Komplexen von halbsynthetischen 15gliedrigen makroliden Antibiotika N-Methyl-11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A und 11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A mit bivalenten Metallen Cu^{+2} , Zn^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} und Ca^{+2} . Die erfindungsgemäße Komplexierung wird mit den Salzen der oben angeführten Metalle, in einer alkoholwässrigen Lösung, bei einem pH-Wert von 8–11 und unter Raumtemperatur, oder ausgehend von wasserlöslichen Salzen von N-Methyl-11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A und 11-AZA-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A in wässriger Lösung und durch anschließende Isolierung der Produkte durch Filtrierung ausgeführt.

Patentanspruch:

Verfahren zur Herstellung von Metallkomplexen des N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycins A der Formel Ia oder des 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycins A der Formel Ib

Ia R = CH₃

Ib R = H

mit bivalenten Metallen Cu⁺², Zn⁺², Co⁺², Ni⁺² und Ca⁺² im Verhältnis von 2:1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindung der Formel Ia oder Ib in der Form eines wasserlöslichen Salzes, vorzugsweise eines Hydrochlorids, mit einem Salz der oben angeführten bivalenten Metalle im Molverhältnis 2:1, in wässriger Lösung, bei Raumtemperatur und unter Einhaltung eines pH-Wertes von 8–11 umsetzt und das Produkt durch Filtrierung isoliert, oder die Verbindung der Formel Ia oder Ib mit einem Salz der oben angeführten bivalenten Metalle im Molverhältnis von 2:1, in Alkohol-wässriger Lösung, bei Raumtemperatur und unter Einhaltung eines pH-Wertes von 8 bis 11 mittels Alkalilaugen, umsetzt, das Alkohol unter vermindertem Druck verdampft und das Produkt durch Filtrierung isoliert.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen, biologisch aktiven Verbindungen von halbsynthetischen 15gliedrigen makroliden Antibiotika N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A und 11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A mit bivalenten Metallen.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Durch chemische Umwandlungen der C-9-Ketogruppe des Erythromycins A wurden 15gliedrige Makrolide, die im Aglyconring ein Stickstoffatom aufweisen, namentlich 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A (US-PS 4328334) und N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A (BE-PS 892357 bzw. GB-PS 2094293), erhalten, wobei das letztere ein wirksames antibakterielles Mittel zur Einwirkung auf Gram-positive und Gram-negative Mikroorganismen ist, das in präliminären In-vivo-Untersuchungen eine bedeutende Aktivität (EP-A-0101186) aufwies.

Es ist bekannt, daß die Anwesenheit von Metallen bzw. die Bildung von Metallkomplexen die Stabilität, Verteilung, Biotransformierung, Eliminierung und andere Eigenschaften von Arzneimitteln, insbesondere Antibiotika, beeinflussen. Gemäß Literatur (J. Pharm. Pharmac. 18 [1966] 729) ergibt Erythromycin A theoretisch vermutlich ein schwaches Komplex mit Co⁺², jedoch kein Komplex mit Cu⁺², Ca⁺², Mg⁺², Ni⁺² und Zn⁺²-Ionen.

Im bekannten und recherchierten Stand der Technik sind Metallkomplexe von N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A und 11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A bisher nicht beschrieben worden.

Ziel der Erfindung

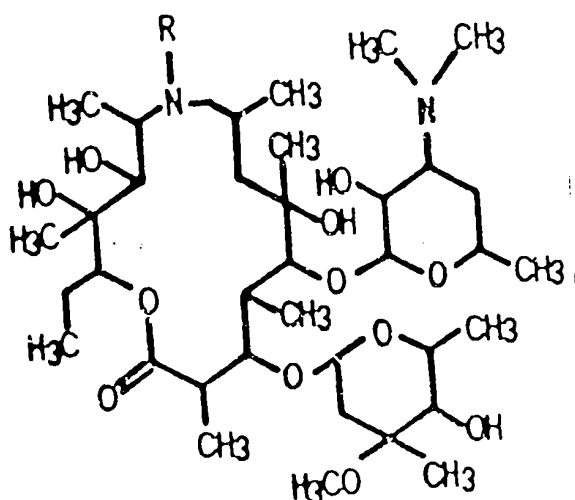
Ziel der Erfindung ist es, die Handhabung von biologisch aktiven Verbindungen von halbsynthetischen 15gliedrigen makroliden Antibiotika N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A und 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A bei seiner Verteilung, Biotransformierung u.ä. zu vereinfachen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A und 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A durch Komplexbildung zu stabilisieren.

Gemäß der Erfindung wurde nun gefunden, daß man nach dem folgenden Verfahren auf eine einfache Weise und in hohen Ausbeuten 2: i-Komplexe der oben angeführten makroliden Antibiotika mit bivalenten Metallen (Cu^{+2} , Zn^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Ca^{+2}) herstellen kann.

Das erfindungsmäßige Verfahren besteht in der Reaktion von N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A der Formel Ia oder 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A der Formel Ib



Ia R = CH₃
Ib R = H

oder deren Salzen mit Salzen von bivalenten Metallen (Cu^{+2} , Zn^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Ca^{+2}) im Molverhältnis von 2:1 bei Raumtemperatur.

Wenn man von Verbindungen der Formeln Ia bzw. Ib in Salzform ausgeht, werden die freien Basen der Formeln Ia bzw. Ib zuerst durch geeignete Säuren in ihre wasserlöslichen Salze, wie z. B. Hydrochloride, überführt, die Reaktion wird in wässriger Lösung durch Zugabe des Metallsalzes und unter Einstellung des pH-Wertes von 8 bis 11 mittels Alkalilaugen (pH-Statierung) ausgeführt und das Produkt wird durch Filtrierung isoliert (Methode A).

Beim Einsatz der Reagenzien Ia bzw. Ib in Form von freien Basen wird die Reaktion in einem Alkohol-wässrigen Gemisch ausgeführt und das Produkt wird durch die Zugabe des Metallsalzes, die Einstellung des pH-Wertes von 8-11 mittels Alkalilaugen, die Verdampfung des Alkohols unter vermindertem Druck und Filtrierung isoliert (Methode B). Die antibiotische Aktivität wurde auf dem Testorganismus *Sarcina lutea* ATCC 9341 bestimmt.

Ausführungsbeispiele

Das erfindungsgemäße Verfahren soll durch die folgenden Beispiele näher erläutert werden.

Beispiel 1 (Methode A)

0,749 g N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A wurden in ein 100-ml-Becherglas abgewogen und unter Zugabe von 1 n (mol/l) HCl in 50 ml Wasser (0,02 mol/l Lösung) unter Rühren gelöst (pH-Wert etwa 6). Dann wurden 0,086 g $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01 mol/l Lösung, bez. auf Cu^{+2}) zugegeben und unter Rühren portionsweise mit 0,1 n (mol/l) NaOH bis zu einem pH-Wert von 8,5 versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden unter Einhaltung eines konstanten pH-Wertes (pH-Statierung) gerührt, der violette Niederschlag wurde abgesaugt, dreimal mit je 10 ml Wasser gewaschen, getrocknet und ergab 0,64 g des Produktes (81,8%).

Cu-Analyse: (polarographische Methode, 0,1 n [mol/l] HCl, $E_{1/2} = -0,25\text{V}$ gemäß SCE/gesättigte Kalomelektrode)
Ber.: 4,07 %
Gef.: 4,1 %

Aktivität: 834 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 2 (Methode B)

In 50 ml einer 0,02molaren Lösung von N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A in 60%igem Methanol wurden 0,086 g $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01 molare Lösung bez. auf Cu^{+2}) gelöst und nach Einstellung des pH-Wertes auf 8,5 mittels 0,1 n (mol/l) NaOH wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde bei vermindertem Druck auf etwa die Hälfte des Volumens eingeeengt, der violette Niederschlag wurde abgesaugt, dreimal mit je 10 ml Wasser gewaschen, getrocknet und ergab 0,62 g des Produktes (79,3%).

Die Analyse des Produktes war identisch wie im Beispiel 1.

Beispiel 3

Es wurde wie im Beispiel 1 beschrieben verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt CuCl_2 0,068 g ZnCl_2 zugab und den pH-Wert von 8,6 einhielt. Es wurden 0,61 g eines weißen Produktes (77,9%) erhalten.

Zn-Analyse: (Atomabsorptions-spektralphotometrische Methode)
Ber.: 4,18 %
Gef.: 4,5 %

Aktivität: 852 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 4

Es wurde wie im Beispiel 1 beschrieben verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt CuCl_2 0,118 $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ zugab und den pH-Wert von 8,6 einhielt. Es wurden 0,63g eines hellgrünen Produktes gewonnen (80,7%).

Co-Analyse: (polarographische Methode, 0,1 n [mol/l] HCl – 0,1 n [mol/l] KCl [1:25], $E_{1/2} = -1,60\text{V}$ [gemäß SCE])

Ber.: 3,79%

Gef.: 4,1%

Aktivität: 149 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 5

Es wurde wie im Beispiel 1 beschrieben verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt CuCl_2 0,119 g $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ zugab und den pH-Wert von 8,6 einhielt. Es wurden 0,62 g (79,6%) eines hellgrünen Produktes erhalten.

Ni-Analyse: (polarographische Methode, 0,1 n [mol/l] HCl – 0,1 n [mol/l] KCl [1:25], $E_{1/2} = 1,55\text{V}$ gemäß SCE [gesättigte Kalomelektrode])

Ber.: 3,77%

Gef.: 4,3%

Aktivität: 852 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 6

Es wurde wie im Beispiel 1 verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt CuCl_2 0,074 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ zugab und den pH-Wert von 8,6 einhielt. Es wurden 0,60 g (77,9%) eines weißen Produktes erhalten.

Ca-Analyse: (Atomabsorptions-spektralphotometrische Methode)

Ber.: 2,60%

Gef.: 3,3%

Aktivität: 856 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 7

Es wurde wie im Beispiel 1 verfahren, mit dem Unterschied, daß man anstatt N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A 0,735 g 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A einwog und den pH-Wert von 9,0 einhielt. Es wurden 0,62g eines violetten Produktes isoliert (80,8%).

Cu-Analyse: (polarographische Methode, 0,1 n [mol/l] HCl)

Ber.: 4,14%

Gef.: 4,4%

Aktivität: 495 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 8

Es wurde wie im Beispiel 2 beschrieben verfahren, mit dem Unterschied, daß man anstatt N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A 0,735 g 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A und anstatt CuCl_2 0,068 g ZnCl_2 einwog und den pH-Wert von 10,0 während 3 Stunden einhielt. Es wurden 0,53g (69,0%) eines weißen Produktes isoliert.

Zn-Analyse: (Atomabsorptions-spektralphotometrische Methode)

Ber.: 4,10%

Gef.: 4,6%

Aktivität: 530 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 9

Es wurde wie im Beispiel 4 beschrieben verfahren, mit dem Unterschied, daß man anstatt N-Methyl-11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A 0,735 g 11-Aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A einwog und den pH-Wert von 10 einhielt. Es wurden 0,54 g (70,6%) eines hellgrünen Produktes isoliert.

Co-Analyse: (polarographische Methode, 0,1 n [mol/l] HCl – 0,1 n [mol/l] KCl)

Ber.: 3,72%

Gef.: 4,1%

Aktivität: 435 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 10

Es wurde wie im Beispiel 9 beschrieben verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt CoCl_2 0,118 g $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ zugab. Es wurden 0,56 g (73,2%) eines hellgrünen Produktes isoliert.

Ni-Analyse: (polarographische Methode; 0,1 n [mol/l] HCl – 0,1 n [mol/l] KCl)

Ber.: 3,70%

Gef.: 4,1%

Aktivität: 500 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.

Beispiel 11

Es wurde wie im Beispiel 9 beschrieben verfahren, mit dem einzigen Unterschied, daß man anstatt $\text{CoCl}_2 \cdot 0,074 \text{ CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ zugab. Es wurden 0,52 g (68,9%) eines weißen Produktes isoliert.

Ca-Analyse: (Atomabsorptions-spektralphotometrische Methode)

Ber.: 2,55%

Gef.: 3,0%

Aktivität: 517 E/mg *Sarcina lutea* ATCC 9341.