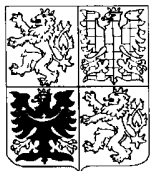


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23.07.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **05.08.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/9716567**

(33) Země priority: **GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.05.2000**
(Věstník č. 5/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/EP98/04931**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/07721**

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 95

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 H 19/01

A 61 K 31/7048

(71) Přihlašovatel:

PFIZER INC., New York, NY, US;

(72) Původce:

Walshe Nigel Derek Arthur, Sandwich, GB;

Cambers Selena Jane, Sandwich, GB;

(74) Zástupce:

Hořejš Milan Dr. Ing., Národní 32, Praha 1,
110 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Zlepšený způsob přípravy antiparazitického
prostředku**

(57) Anotace:

Způsob přípravy antiparazitika 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin-B1-mono-sacharidu zahrnuje
strupně (i) katalytickou hydrogenaci doramektinu
v organickém rozpouštědle k získání 25-cyklohexyl-22,23-dihydroavermektinu B1, (ii) oxidací výše uvedeného produktu
oxidem manganičitým v organickém rozpouštědle k získání
25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektinu B1, a když je
třeba krystalizací tohoto produktu, (iii) reakcí výše uvedeného
produktu s hydroxylaminhydrochloridem ve vodném
organickém rozpouštědle, (iv) případnou krystalizací produktu
z toluenu a/nebo methanolu. Nový meziprodukt 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1 je také aktivní
jako antiparazitický prostředek.

Zlepšený způsob přípravy antiparazitického prostředku

Oblast techniky

Vynález se týká zlepšeného způsobu přípravy antiparazitického prostředku odvozeného od doramektinu a jeho meziprodukty.

Dosavadní stav techniky

Doramektin je široce používaným fermentací odvozeným antiparazitickým prostředkem, který je aktivní vůči různým nematodům a členovcovým parazitům u ovcí a dobytka. Podle popisu mezinárodní patentové přihlášky WO 94/15944 jsou popsány a nárokovány různé avermektin-5-oximmonosacharidové deriváty včetně sloučeniny 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyimino-avermektin B1 monosacharidu (nazývaného v této přihlášce jako 5-oximino-22,23-dihydro-25-cyklohexylavermektin-B1-monosacharid) odvozený od doramektinu. Tato sloučenina, jak bylo nalezeno, má výjimečnou aktivitu vůči blechám a červům ve spojení s nízkou toxicitou, což je zvláště hodnotné pro použití u domácích zvířat jako jsou kočky a psi.

Jak je popsáno v dřívější přihlášce, tato sloučenina se připraví z doramektinu způsobem, který zahrnuje nejdříve hydrogenaci, čímž se získá 25-cyklohexyl-22,23-dihydroavermektin B1, načež následuje mírná kyselá hydrolýza jedné z C-13 α -oleandroxylových skupin, čímž se získá odpovídající monosacharidový derivát. Tento produkt se pak oxiduje, čímž se získá 5-oxoderivát, který se nakonec nechá zreagovat s hydroxylaminhydrochloridem, čímž se získá 5-oxim.

Avšak jako většina avermektinů, všechny meziprodukty zahrnuté v tomto postupu se získají jako gumy nebo amorfní tuhé látky, které vyžadují čištění chromatografií a způsob nelze

tak snadno zprovoznit.

Podstata vynálezu

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že prováděním reakční sekvence v rozdílném pořadí, s hydrogenačními a oxidačními stupni prováděnými nejdříve, výsledný nový meziprodukt (25S)-25-cyklohexyl-5-demethoxy-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-oxoavermektin Ala (25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1) může být vykryštalizován z vodného nižšího alkanolu jako je methanol nebo isopropanol, a to značně usnadňuje izolaci a vyčištění tohoto meziproduktu.

Dále bylo zjištěno, že reakce tohoto meziproduktu s hydroxylaminhydrochloridem poskytující 5-oxim a hydrolýzní stupeň poskytující monosacharidový derivát mohou být provedeny jako jediná souběžná reakce a toto další zlepšení snižuje počet jednotlivých stupňů v postupu, což snižuje manipulační a izolační stupně, což vede ke zvýšení celkového výtěžku a kvality finálního produktu. Navíc bylo neočekávaně objeveno, že konečný produkt může být jako takový rekrystalizován z řady organických rozpouštědel včetně a zejména z toluenu a methanolu a to tvoří další aspekt předloženého vynálezu.

Použitá nomenklatura v této přihlášce je adaptována z nomenklatury použité pro avermektiny. Tak symboly A a B jsou použity k označení methoxy nebo hydroxyskupiny v poloze 5, číslo 1 je použito k označení dvojné vazby v poloze C-22, 23 a 2 k označení nepřítomnosti dvojné vazby a přítomnosti C-23 hydroxyskupiny, a symboly a a b indikují sek.butyl nebo isopropylovou skupinu příslušné v poloze C-25.

Tak chemický název pro doramektin je 25(R)-25-cyklohexyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)avermektin Ala, ačkoli je obvykleji popisován v dřívějších publikacích jako

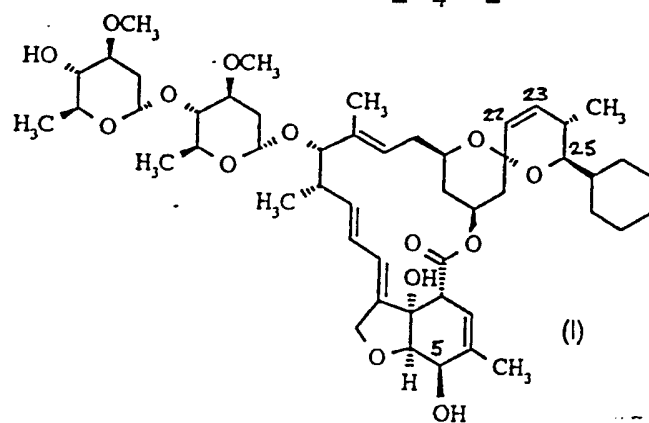
25-cyklohexylavermektin B1. Podobně sloučenina 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin-B1 monosacharid je přesněji označen jako (5Z,25S)-25-cyklohexyl-4'-O-de(2,6-di-deoxy-3-O-methyl- α -L-arabinohexopyranosyl)-5-demethoxy-25-de-(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin Ala. Z hlediska jasnosti a stručnosti bude krátká nomenklatura forma dále používána v tomto popisu, ačkoli oba názvy jsou zahrnuté v experimentální sekci.

Podle předloženého vynálezu celkový způsob přípravy 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin-B1-monosacharidu zahrnuje stupně

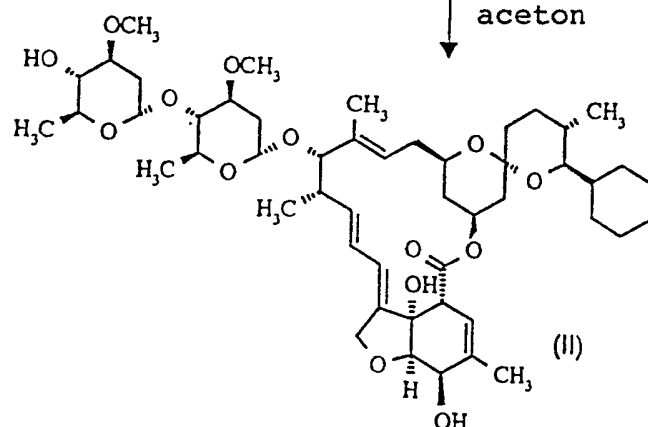
- (i) katalytickou hydrogenaci doramektinu v organickém rozpouštědle k získání 25-cyklohexyl-22,23-dihydroavermektinu B1,
- (ii) oxidaci výše uvedeného produktu oxidem manganičitým v organickém rozpouštědle k získání 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektinu B1 a když je třeba krystalizaci tohoto produktu,
- (iii) reakci výše uvedeného produktu s hydroxylaminhydrochloridem ve vodném organickém rozpouštědle,
- (iv) případnou krystalizaci produktu z toluenu a/nebo methanolu.

Nový meziprodukt 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1 je také aktivní přímo jako antiparazitický prostředek stejně, jako je klíčovým meziproduktem v předloženém postupu.

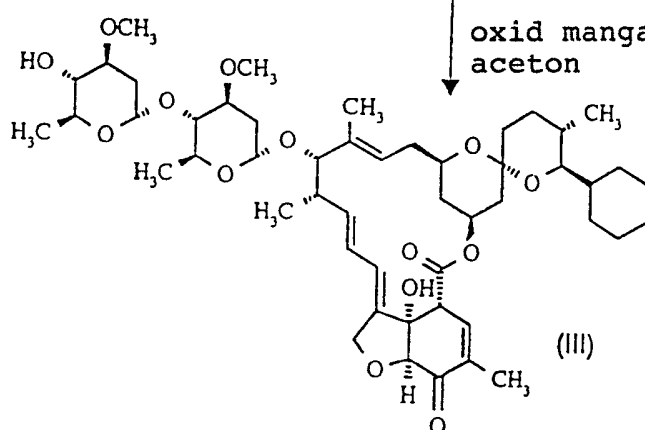
Způsob je znázorněn v následujícím reakčním schématu.



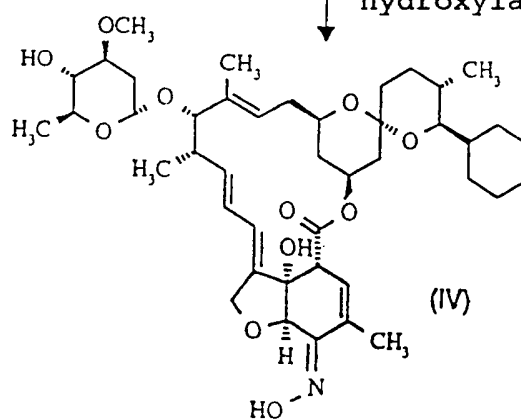
Wilkinsonův katalyzátor
vodík
aceton



oxid manganický
aceton



IPA/voda
hydroxylaminhydrochlorid



První stupeň ve výše uvedeném postupu se obecně provádí za použití acetonu jako rozpouštědla a za použití Wilkinsova katalyzátoru (tris(trifenylfosfin)rhodium(I)chlorid). Hydrogenace se provádí při tlaku 300 kPa až 400 kPa a je obvykle dokončena po době 6 až 10 hodin při 20 až 30 °C. Produkt II se izoluje filtrací a odstraněním rozpouštědla.

Oxidační stupeň se znovu obecně provádí v acetonu v přítomnosti oxidu manganického při teplotě místnosti, ale mohou být také použita jiná rozpouštědla. Reakce je obvykle dokončena po 1 až 3 hodinách a reakční směs se zfiltruje, rozpouštědlo se nahradí isopropanolem nebo methanolem pod refluxem a přidá se voda. Při ochlazování 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1 vzorce III vykrystalizuje z roztoku a jímá se a vysuší.

Konečný stupeň tohoto postupu se provádí zpracováním výše uvedeného 5-oxo meziproduktu s hydroxylaminhydrochloridem. Reakce se obecně provádí ve vodném isopropanolu při teplotě od 30 °C k refluxní teplotě, výhodně při 40 až 50 °C. Tvorba 5-oximu a hydrolýza terminální C-13 sacharidové skupiny probíhá souběžně a reakce se monitoruje například pomocí vysokotlaké kapalinové chromatografie až je dokončena. S vodou nemísitelná organická rozpouštědla, například toluen a t-butylmethylether se přidají, organická vrstva se promyje, typicky zředěným hydrogenuhličitánem sodným a solankou, když je třeba vysuší se a rozpouštědlo se odstraní.

Surový produkt může být dále vyčištěn krystalizací z toluenu a získá se jako variabilní solvat, který zkolabuje na amorfní prášek při sušení za vakua. Alternativně se produkt vzorce IV vykrystalizuje nebo rekrystalizuje z methanolu a získá se jako bílá krystalická tuhá látka, znovu jako variabilní methanol/voda solvat.

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady provedení znázorňují způsob předloženého vynálezu, přípravu meziprojektu 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektinu B1 a jeho použití při přípravě 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektinu B1 monosacharidu. Výtěžky jsou uváděny ve vztahu k aktivitě doramektinového výchozího materiálu a produktu.

Příklad 1

(25S)-25-Cyklohexyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydroavermektin Ala, [25-cyklohexyl-22,23-dihydroavermektin B1]

(25R)-25-Cyklohexyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-avermektin Ala (doramektin) (500 g) byl rozpuštěn v acetonu (2 500 ml). Roztok byl naplněn do 5litrového nerezového Buchi hydrogenátoru a pročištěn dusíkem. Byl přidán Wilkinsonův katalyzátor (tris(trifenyltrifosfin)rhodium(I)chlorid) (9,5 g) a reakce hydrogenována při 345 kPa tlaku vodíku při teplotě místnosti. Po 8 hodinách byla reakce dokončena a reakční směs byla zfiltrována k odstranění nerozpustných látek. Výsledná kapalina byla koncentrována do sucha za vakua a výsledná hnědá pěna byla promyta acetonitrilem a v sušárně vysušena při 50 °C za vakua, čímž se získala nadeptaná sloučenina jako krémová tuhá látka (416 g, 90 %).

Příklad 2

(25S)-25-cyklohexyl-5-demethoxy-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-oxoavermektin Ala, [25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1]

(25S)-25-Cyklohexyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydroavermektin Ala (200 g) byl rozpuštěn v acetonu (1 600 ml).

Byl přidán oxid manganičitý (483 g) a výsledná suspenze byla míchána při teplotě místnosti. Po 1 až 2 hodinách byla reakce dokončena a směs byla zfiltrována přes klarcelovou vložku o odstranění oxidu manganičitého.

Výsledná filtrační kapalina byla oddestilována na nízký objem, pak byl přidán isopropylalkohol a destilace pokračovala (za přidání více isopropylalkoholu, když to bylo nutné) až refluxní teplota dosáhla 82 °C (ekvivalent teploty varu isopropylalkoholu). Reakční objem byl pak upraven na 700 ml další destilací nebo přidáním dalšího isopropylalkoholu a reflux zastaven. Byla přidána voda (7 ml) a reakční směs ponechána ochladit na teplotu místnosti, načež produkt vykrystalizoval z rotoku. Ten byl granulován přes noc při teplotě místnosti, produkt získán filtrací, promyt isopropylalkoholem a vysušen v sušárně při 50 °C za vakua, čímž se získal nadepsaný produkt jako bleděžlutá tuhá látka (152,5 g, 81,3 %).

HPLC: Novapak (ochranná známka) C18, 150 mm-3,9 mm kolona, mobilní fáze acetonitril, voda (80:20 obj/obj), průtoková rychlost 1,0 ml/min, doba zdržení 19 minut.

MS: (kladný iontový elektrosprej) $MNa^+ = 923,3$.

NMR: spektrum plně konzistentní s přiřazenou strukturou.

Příklad 3

(5Z,25S)-25-Cyklohexyl-4'-O-de(2,6-dideoxy-3-O-methyl- α -L-arabinohexopyranosyl)-5-demethoxy-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin Ala, [25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin B1 monosacharid]

(25S)-25-cyklohexyl-5-demethoxy-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-oxoavermektin Ala (15 g) byl míchán s isopropylalkoholem (120 ml) a vodou (15 ml), čímž se získala bleděžlutá suspenze.

Byl přidán hydroxylaminhydrochlorid (4,67 g) a reakční směs byla zahřáta na 40 až 45 °C, čímž se vytvořil roztok. Po 14h byla reakce dokončena a byla ponechána ochladit na teplotu místnosti, byl přidán terc.butylmethylether (60 ml), toluen (60 ml) a voda (30 ml) a reakční směs dobře promíchána.

Vrstvy pak byly ponechány oddělit a výsledná organická vrstva byla promyta 5%ním hm/obj vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a pak 20%ním hm/obj solným roztokem (60 ml). Konečná organická vrstva byla oddestilována na nízký objem a byl přidán toluen. Destilace pokračovala (jak bylo nutné a kdy to bylo nutné za přídatku toluenu) až refluxní teplota dosáhla 111 °C (teplota varu toluenu). Reakční objem pak byl nastaven na 120 ml další destilací nebo přidavkem dalšího toluenu a reakce pak byla ponechána ochladit na teplotu místnosti a požadovaný produkt vykrytalizoval z roztoku. Produkt byl granulován přes noc při teplotě místnosti a získán filtrací a promyt toluenem, čímž se získal finální produkt, krystalická tuhá látka jako toluenový solvat různé stechiometrie.

Produkt byl vysušen za vakua při 50 °C, čímž se získal nadepsaný produkt jako bílý amorfnní prášek (9,9 g, 77 %).

Alternativní rekrystalizace (5Z,25S)-25-cyklohexyl-4'-O-de(2,-6-dideoxy-3-O-methyl- α -L-arabinohepyranosyl)-5-demethoxy-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektinu Ala

Způsob je stejný jako výše uvedený pokud jde o izolaci krystalizovaného materiálu z toluenu. V alternativním postupu se tato tuhá látka nevysuší v sušárně, ale rozpustí se v methanolu.

Z toluenu vykrytalizovaná tuhá látka (121 g) byla rozpuštěna v methanolu a zahřáta k refluxu.

Rozpouštědlo bylo odstraněno destilací, dokud nezačal produkt krystalizovat z roztoku. Reakční směs byla ponechána zchladnout pod refluxní teplotu a byla přidána voda (31 ml).

Roztok pak byl ponechán ochladit na teplotu místnosti k umožnění krystalizace a ponechán granulovat přes noc. Produkt byl získán filtrací, promyt methanolem a vysušen v sušárně při 50 °C za vakua, čímž se získal nadepsaný produkt jako bílá krystalická tuhá látka (88,15 g, 68,6 %). Produkt byl získán jako solvat methanol/voda různé stechiometrie.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob přípravy 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydrox-iminoavermektin B1 monosacharidu vyznačený tím, že se nechá reagovat 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1 s hydroxylaminhydrochloridem ve vodném organickém rozpouštědle.
2. Způsob podle nároku 1 vyznačený tím, že rozpouštědlem je vodný isopropylalkohol.
3. Způsob podle nároku 2 vyznačený tím, že se provádí při teplotě od 40 do 50 °C.
4. Způsob podle kteréhokoli z nároků 1 až 3 vyznačený tím, že se produkt vykryštalizuje z toluenu a/nebo methanolu.
5. 25-Cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektin B1.
6. Způsob přípravy 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-oxoavermektinu B1 vyznačený tím, že se oxiduje 25-cyklohexyl-22,23-dihydroavermektin B1.
7. Způsob podle nároku 6 vyznačený tím, že se provádí s oxidem manganičitým v organickém rozpouštědle.
8. Způsob podle nároku 7 vyznačený tím, že rozpouštědlem je aceton.
9. Způsob přípravy 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin B1 monosacharidu z doramektinu, vyznačený tím, že zahrnuje stupně

- (i) katalytické hydrogenace v organickém rozpouštědle,
- (ii) oxidaci oxidem manganičitým v organickém rozpouštědle a, když je třeba, krystalizaci produktu,
- (iii) reakci s hydroxylaminhydrochloridem ve vodném organickém rozpouštědle,
- (iv) případnou rekrytalizaci produktu z toluenu nebo methanolu.

10. Krystalický 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyimino-avermektin B1 monosacharid toluenový solvat získaný rekrytalizací 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin B1 monosacharidu z toluenu.

11. Krystalický 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyimino-avermektin B1 monosacharid, solvat methanol/voda, získaný krystalizací 25-cyklohexyl-22,23-dihydro-5-hydroxyiminoavermektin B1 monosacharidu z vodného methanolu.

Zastupuje: JUDr. Ing. Milan Hořejš