



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 265 626 A5

4(51) C 07 D 413/04
C 07 D 498/08

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

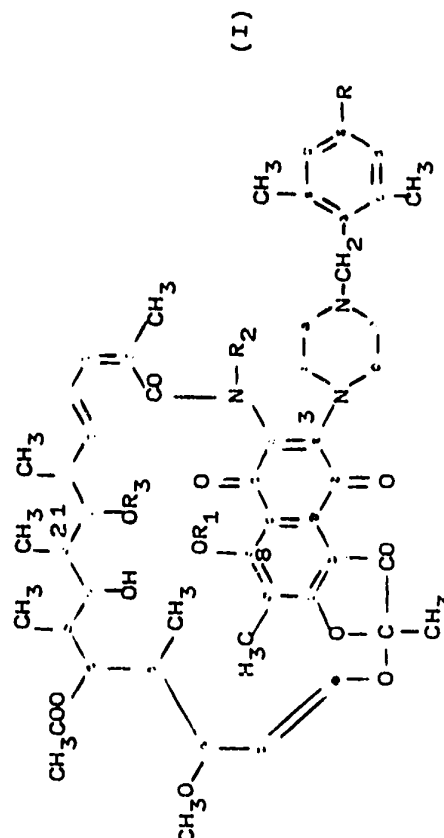
(21)	AP C 07 D / 307 707 8	(22)	06.10.87	(44)	08.03.89
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	siehe (73)
(72)	Traxler, Peter, Dr., CH; Müller, Klaus, Dr., CH; Kump, Wilhelm, Dr., AT
(73)	CIBA-GEIGY AG, 4002 Basel, CH
(74)	Internationales Patentbüro Berlin, Wallstraße 23/24, Berlin, 1020, DD

(54) Verfahren zur Herstellung von Diacylderivaten von 4-(Trialkylbenzyl)-piperazinyl-Verbindungen

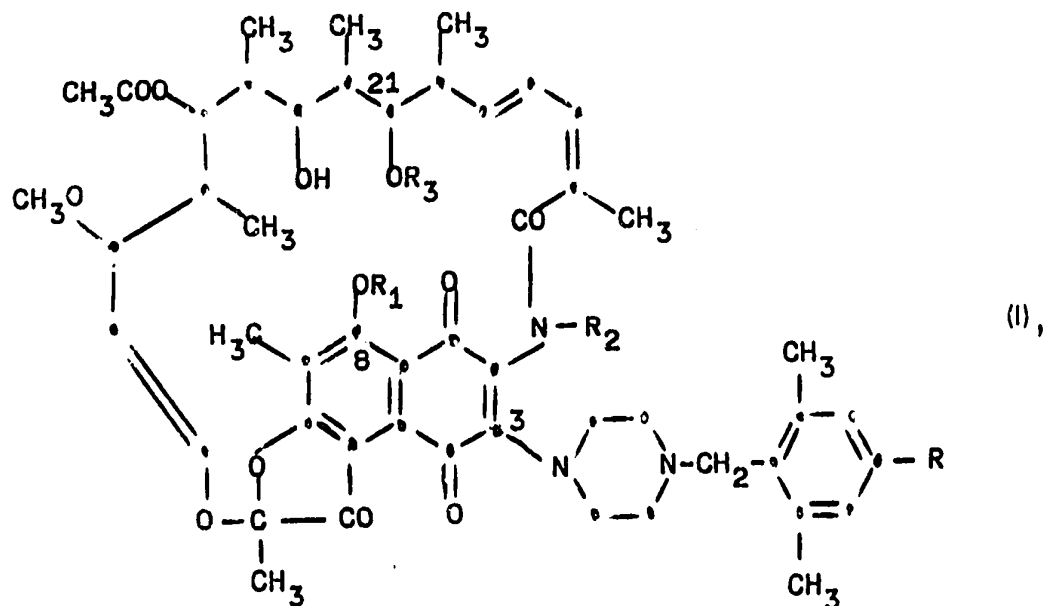
(55) Triniederalkylmethylcarbonyl, hypolipidämische, Acylieren

(57) Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung von Diacylderivaten von 4-(Trialkylbenzyl)-piperazinyl-Verbindungen der Formel (I), worin R Niederalkyl bedeutet, R₁ Triniederalkylmethylcarbonyl darstellt, und einer der Reste R₂ und R₃ Triniederalkylmethylcarbonyl und der andere Wasserstoff bedeuten, und ihre Salze, die hypolipidämische Eigenschaften aufweisen und durch Acylieren der entsprechenden nichtacylierten Rifamycin S-Verbindungen hergestellt werden. Formel (I)

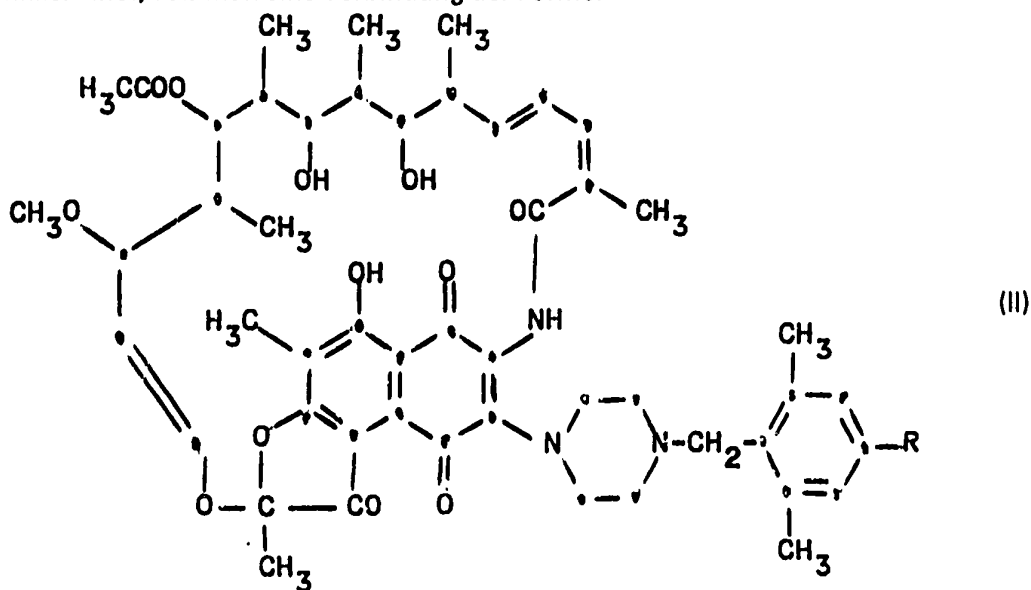


Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Diacylderivaten der Formel



worin R Niederalkyl bedeutet, R₁ Triniederalkylmethylcarbonyl darstellt, und einer der Reste R₂ und R₃ Triniederalkylmethylcarbonyl und der andere Wasserstoff bedeuten, und Salze davon, **dadurch gekennzeichnet**, daß man eine Verbindung der Formel



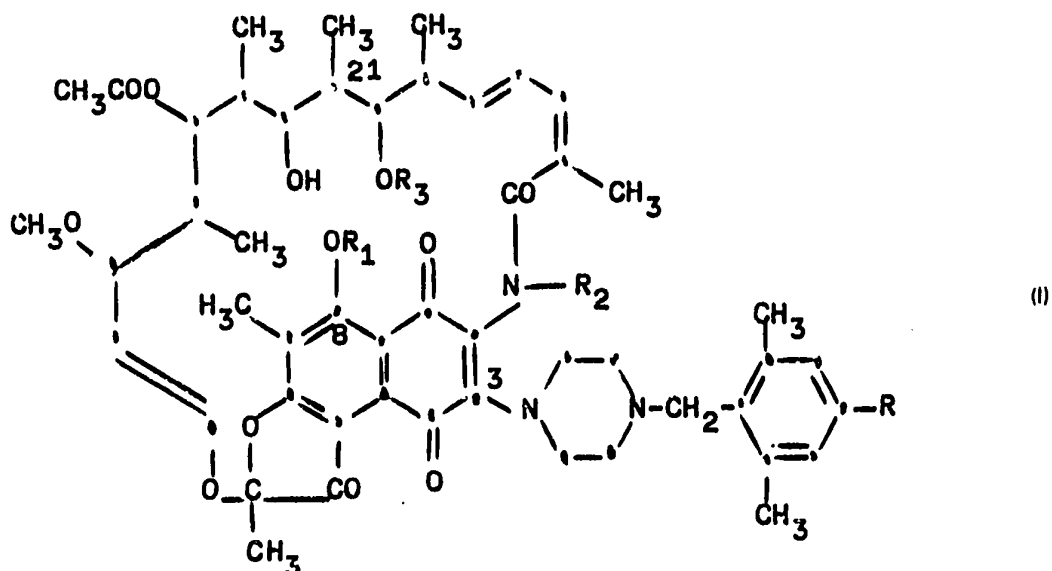
mit einem, einen Triniederalkylmethylcarbonylrest R₁ und R₂ bzw. R₁ und R₃ in die Stellung 8 und in die Stellung 21 oder in das Ringamidstickstoffatom einführenden Acylierungsmittel behandelt, und, wenn erwünscht, ein verfahrensgemäß erhältliches Gemisch von Isomeren auftrennt, und/oder ein verfahrensgemäß erhältliches Salz in die freie Verbindung oder in ein anderes Salz und/oder eine verfahrensgemäß erhältliche freie Verbindung in ein Salz überführt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine, einem Triniederalkylmethylcarbonylrest entsprechende Carbonsäure oder ein reaktionsfähiges Derivat davon verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man ein entsprechendes Anhydrid, insbesondere ein gemischtes Anhydrid der Carbonsäure verwendet.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß man ein entsprechendes Säurehalogenid, besonders Säurechlorid verwendet.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, in welcher R für Niederalkyl, besonders für Methyl steht, und worin R₁ und R₂ Triniederalkylmethylcarbonyl, worin Niederalkyl bis und mit 2 Kohlenstoffatome enthält, und R₃ Wasserstoff bedeuten, oder worin R₁ und R₃ Triniederalkylmethylcarbonyl, worin Niederalkyl bis und mit 2 Kohlenstoffatome enthält, und R₂ Wasserstoff bedeuten, und Salze davon herstellt.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, worin R Methyl ist, und R₁ und R₂ Pivaloyl und R₃ Wasserstoff bedeuten, oder R₁ und R₃ Pivaloyl und R₂ Wasserstoff bedeuten, und Salze davon herstellt.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß man 8-O,21-O-Dipivaloyl-3-(4-[2,4,6-trimethylbenzyl]-1-piperazinyl)-rifamycin S und Salze davon herstellt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß man das 8-O,N-Dipivaloyl-3-(4-[2,4,6-trimethylbenzyl]-1-piperazinyl)-rifamycin S und Salze davon herstellt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von Diacylderivaten von Rifamycinen, die in 3-Stellung einen substituierten 1-Piperazinyl-Rest tragen, und zwar von 8-O,N- und 8-O,21-O-Diacylderivaten von Rifamycin S-Verbindungen der Formel



worin R Niederalkyl bedeutet, R₁ Triniederalkylmethylcarbonyl darstellt, und einer der Reste R₂ und R₃ Triniederalkylmethylcarbonyl und der andere Wasserstoff bedeuten, ihre Salze, sowie von Gemischen von isomeren Verbindungen der Formel I bzw. deren Salze.

Die im vorliegenden Fall angewandte Numerierung bezieht sich auf die z. B. im USA Patent Nr. 4005077 verwendete Numerierung.

Niederalkyl R enthält vorzugsweise bis und mit 4 Kohlenstoffatome und ist z. B. Ethyl, Propyl, i-Propyl, n-Butyl, Isobutyl oder tert-Butyl, in erster Linie aber Methyl.

Niederalkylreste in einem Triniederalkylmethylcarbonylrest enthalten üblicherweise bis und mit 4, vorzugsweise bis und mit 2 Kohlenstoffatome und in erster Linie ein Kohlenstoffatom; und bedeuten u. a. n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl oder tert. Butyl, insbesondere Ethyl und in erster Linie Methyl.

In den Verbindungen der Formel I haben die Reste R₁ und R₂ oder R₃ vorzugsweise die gleiche Bedeutung.

Nicht acylierte Rifamycin-Verbindungen, die in 3-Stellung eine in 4-Stellung substituierte Piperazinogruppe aufweisen, sind bekannt. So werden z. B. im US-Patent 4005077, vor allem im Beispiel 77, solche Rifamycin-Derivate erwähnt, die in 4-Stellung einen Benzylrest enthalten, der im aromatischen Teil durch ein oder mehrere Alkylreste mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen substituiert sein kann, wie 3-(4-Benzyl-1-piperazinyl)-rifamycin SV, 3-(4-(4-Methylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV, 3-(4-(2-Methylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV, 3-(4-(3-Methylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV, 3-(4-(4-Isopropylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV, 3-(4-(2,3-Dimethylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV und 3-(4-(4-tert-Butylbenzyl)-1-piperazinyl)-rifamycin SV. Weitere Verbindungen dieses Typs, die insbesondere einen 4-(2,6-Dimethyl-4-alkylbenzyl)-piperazinrest aufweisen, sind z. B. in der PCT-Anmeldung Publ. Nr. WO 87/02361 beschrieben. Diese Verbindungen zeichnen sich durch eine antibiotische, vor allem antituberkulöse Wirkung aus, die an Mäusen oder Ratten in vivo nachgewiesen werden kann, und die, bezogen auf das Wirkungsspektrum, etwa derjenigen des bekannten antituberkulösen Mittels Rifampicin entspricht.

Ziel der Erfindung

Mit der Erfindung wird ein Verfahren zur Herstellung von Diacylderivaten von Rifamycinen zur Verfügung gestellt, die z. B. zur Behandlung von Hyperlipidämien eingesetzt werden können.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist es, Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen, die eine lipidsenkende Wirkung aufweisen, bereitzustellen.

Die Diacyl-Verbindungen der vorliegenden Erfindung dagegen weisen, wenn überhaupt, eine nur marginale antibiotische Wirkung auf. Überraschenderweise besitzen sie jedoch eine lipidsenkende Wirkung, die in Tierversuchen, vorzugsweise an Säugetieren, z. B. an Ratten, nachgewiesen werden kann. So kann die Senkung von "very low density"-, "low-density"- bzw. "high density"-Lipoproteinen (VLDL, LDL bzw. HDL) im Serum in zwei Testanordnungen, und zwar in genetisch hypercholesterolemischen männlichen Ratten (Anordnung A) und normolipämischen Ratten beider Geschlechter (Anordnung B) gezeigt werden.

Albino-Ratten mit einem Körpergewicht von 180–240 g, die freien Zugang zu Standard-Rattenfutter und Trinkwasser haben, werden verwendet, und zwar in Anordnung A Sprague Dawley Abkömmlinge des Stammes Tif:RAI und in Anordnung B Tiere des Wistar-Stammes IVA-WI. Die Testverbindung wird in einer Polyethylenglykollösung (mittleres Molekulargewicht von 400) oral an Gruppen von 8 bis 10 Ratten verabreicht, in der Anordnung A einmal täglich um 8 Uhr vormittags während drei aufeinanderfolgenden Tagen und zweimal, um 8 Uhr und 16 Uhr, am vierten Tag, oder im Falle der Anordnung B täglich während 5 aufeinanderfolgenden Tagen. Im Experiment A werden die Tiere 16 Stunden und im Experiment B zwei Stunden nach der letzten Gabe durch Ausblutenlassen vom Hals unter Anästhesie mit Ether getötet. Während 16 Stunden vor ihrem Tod erhalten die Tiere keine Nahrung mehr. Zum vereinigten Serum von 2 bis 3 Ratten fügt man eine 0,05%ige wäßrige Ethyldiamintetraessigsäure-Lösung und eine 0,01%ige wäßrige Thiomersal-Lösung. Die Serumlipoproteine werden unter Verwendung einer Ultrazentrifuge durch 24stündiges Zentrifugieren bei 78000 g, 78000 bzw. 109000 g in Salzlösungen mit den Dichten 1,006, 1,040 bzw. 1,21 getrennt und auf Gehalt von Cholesterin und Triglyceriden enzymatisch mit Hilfe der z. B. von Miles (Lausanne, Schweiz) bzw. Böhringer (Mannheim, Bundesrepublik Deutschland) gelieferten Testsysteme analysiert. Die Ermittlung der antibiotischen Wirkung erfolgt z. B. einerseits *in vitro* durch die Bestimmung der mittleren effektiven Konzentration EC_{50} für die Hemmung der RNA-Polymerase von *Escherichia coli*, sowie der minimalen Hemmkonzentration MIC („minimum inhibitory concentration“) im konventionellen Plattentest, andererseits *in vivo* an infizierten Mäusen und Ratten durch die Bestimmung von ED_{50} (effektive Dosis, die für 50% der Versuchstiere lebenserhaltend ist). Als Mikroorganismen werden für den vorliegenden Zweck insbesondere *Mycobacterium tuberculosis* TB H₃₇Rv und *Staphylococcus aureus* verwendet. Bei Verbindungen mit lipidsenkender Indikation wird eine antibiotische Wirksamkeit als nachteilig erachtet, da sie, insbesondere bei langfristiger Verabreichung, zur Bildung von gegen Antibiotika resistenten Stämmen von Mikroorganismen führen kann. In den oben beschriebenen Testmethoden weisen die erfindungsgemäßen Verbindungen sowohl bei einmaliger wie auch wiederholter Verabreichung im Dosisbereich von etwa 3 bis etwa 50 mg/kg/Tag eine signifikante hypolipidämische Wirksamkeit auf; dagegen sind sie in den oben erwähnten Tests frei von nennenswerter antibiotischer Aktivität.

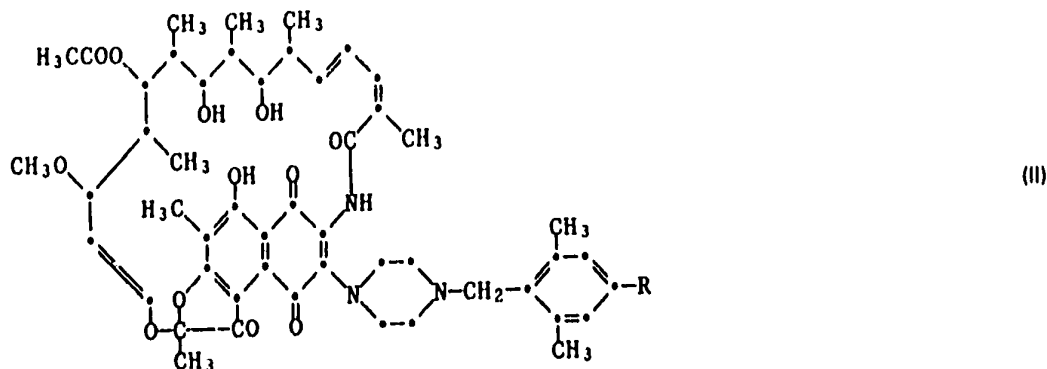
So kann z. B. gezeigt werden, daß, je nach Versuchsanordnung, die minimale effektive Dosis des 8-O,N-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S bei einmaliger Verabreichung bei etwa 3 bis etwa 10 mg/kg liegt, und durch eine wiederholte Verabreichung von täglich 30 mg/kg eine 50–70%ige Senkung der „LDL-Fraktion“ erreicht werden kann. Dabei hat die Verbindung praktisch keine antibiotische Wirksamkeit; eine EC_{50} für die Inhibition der RNA-Polymerase wird mit 100 µg/ml noch nicht erreicht, und die MIC für verschiedene pathogene Stämme von *Staphylococcus aureus* liegt bei etwa 64 µg/ml. Solche Werte sind etwa 1000fach höher als Konzentrationen, die für einen entsprechenden Effekt normalerweise erforderlich sind. Auch *in vivo* unter Verwendung von mit *Staphylococcus aureus* infizierten Mäusen erweist sich die Verbindung bei einer Einzeldosis von 200 mg/kg als antibiotisch unwirksam. Analoge Resultate werden auch mit der entsprechenden 8-O,21-O-Dipivaloyl-Verbindung gefunden.

Insbesondere dank ihrer LDL-senkenden Wirkung können die erfindungsgemäßen Verbindungen, z. B. als Hypolipidämika zur Behandlung von Hyperlipidämien, hauptsächlich der Typen IIa und IIb, und Atherosclerose bei Vorliegen von Hyperlipoproteinämie als Risikofaktor verwendet werden.

Einen bevorzugten Gegenstand der vorliegenden Erfindung stellen Verbindungen der Formel (I) dar, in welcher R für Niederalkyl, besonders für Methyl steht, und worin R₁ und R₂ Triniederalkylmethylcarbonyl, worin Niederalkyl bis und mit 2 Kohlenstoffatome enthält, und R₃ Wasserstoff bedeuten, oder worin R₁ und R₂ Triniederalkylmethylcarbonyl, worin Niederalkyl bis und mit 2 Kohlenstoffatome enthält, und R₃ Wasserstoff bedeuten, sowie Salze, insbesondere pharmazeutisch verwendbare Salze davon, wobei diese Verbindungen als Gemische oder vorzugsweise in Form des vom anderen Isomeren praktisch freien Isomeren, vor allem in Form der entsprechenden 8-O,N-diacylierten Verbindung vorliegen.

In erster Linie betrifft die Erfindung die Verbindungen der Formel I, worin R Methyl ist, und R₁ und R₂ Pivaloyl und R₃ Wasserstoff bedeuten, oder R₁ und R₂ Pivaloyl und R₃ Wasserstoff bedeuten, und Salze, insbesondere pharmazeutisch verwendbare Salze davon, wobei diese Verbindungen als Gemisch oder in Form der individuellen Isomeren vorliegen; bevorzugt ist insbesondere das entsprechende 8-O,N-Dipivaloylderivat.

Das Verfahren zur Herstellung der neuen Verbindungen der Formel I wird in an sich bekannter Weise durchgeführt, z. B. indem eine Verbindung der Formel



mit einem, einen Triniederalkylmethylcarbonylrest R_1 und R_2 bzw. R_1 und R_3 in die Stellung 8 und in die Stellung 21 oder in das Ringamidstickstoffatom einführenden Acylierungsmittel behandelt, und, wenn erwünscht, ein verfahrensgemäß erhältliches Gemisch von Isomeren auftrennt, und/oder ein verfahrensgemäß erhältliches Salz in die freie Verbindung oder in ein anderes Salz und/oder eine verfahrensgemäß erhältliche freie Verbindung in ein Salz überführt.

Die Einführung der Triniederalkylmethylcarbonylreste R_1 und R_2 bzw. R_1 und R_3 in die gewünschten Stellungen kann in an sich bekannter Weise unter Verwendung eines üblichen, zur Einführung von solchen Resten geeigneten Acylierungsmittels erfolgen, wobei mindestens zwei Äquivalente des letzteren verwendet werden. Dabei kann man z. B. eine entsprechende Carbonsäure, wenn notwendig, in Gegenwart eines geeigneten Kondensationsmittels, wie Dicyclohexylcarbodiimid, vorzugsweise jedoch ein reaktionsfähiges Derivat einer solchen Carbonsäure, wie ein Anhydrid, in erster Linie ein gemischtes Anhydrid, wie dasjenige mit einer anorganischen Säure, wie einer Halogenwasserstoff-, besonders Chlor-, sowie Bromwasserstoffsäure (d. h. ein entsprechendes Säurehalogenid, z. B. -chlorid), oder mit einer organischen Säure, wie Trifluoressigsäure oder einem geeigneten Monoester der Kohlensäure, oder auch ein symmetrisches Anhydrid, ferner ein inneres Anhydrid, d. h. das entsprechende Keten, verwenden.

Das als Acylierungsmittel eingesetzte Derivat einer Carbonsäure wird vorzugsweise in Gegenwart eines basischen Mittels angewandt; als solches kommt in erster Linie eine nicht-acylierbare organische Base, wie eine heteroaromatische Base, z. B. Pyridin, Collidin oder Chinolin, tertiäres Amin, z. B. Triethylamin, N-Ethyl-piperidin, N-Methyl-morpholin oder 1,4-Dimethyl-piperazin, oder 1,5-Diazabicyclo-[5,4,0]undec-5-en in Frage.

Die Acylierungsreaktion wird üblicherweise in Gegenwart eines Lösungs- bzw. Verdünnungsmittels vorgenommen, wobei als solches auch ein Überschuß des Acylierungsmittels oder die zusammen mit einem Acylierungsmittel eingesetzte Base, z. B. Pyridin, dienen kann. Weitere Lösungsmittel, die z. B. auch im Gemisch mit einer Base verwendet werden können, sind z. B. nicht acylierbare organische Lösungsmittel, wie Kohlenwasserstoffe, z. B. Pentan, Hexan oder Cyclohexan, halogenierte Kohlenwasserstoffe, z. B. Methylenechlorid oder Chloroform, Ether, z. B. Diethylether, Ethylenglykoldimethylether, Tetrahydrofuran oder Dioxan, Säureester, z. B. Ethylacetat, Säureamide, z. B. Acetamid oder Dimethylformamid.

Die Reaktion wird üblicherweise bei Raumtemperatur oder leicht erhöhten Temperaturen, z. B. bis etwa 70°C, vorgenommen, wobei man, wenn notwendig, unter einer Inertgasatmosphäre arbeitet. Die Acylierungsbedingungen, insbesondere die Menge des angewandten Acylierungsmittels, das Reaktionsmedium, die Temperatur und die Reaktionszeit, sind so zu wählen, daß beide Acylgruppen eingeführt werden, wobei man vorzugsweise gemäß den in den Beispielen näher illustrierten Methoden vorgeht. Der Ablauf der Reaktion kann zweckmäßig mittels üblicher analytischer Methoden, insbesondere mittels Dünnschichtchromatographie, verfolgt werden.

Die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes aus dem verfahrensgemäß erhältlichen Reaktionsgemisch erfolgt in an sich bekannter Weise, z. B. durch Verdünnen mit Wasser, und/oder gegebenenfalls durch Neutralisieren oder leichtes Ansäuern (bis etwa pH = 3) mit einer wäßrigen Säure, wie einer anorganischen oder organischen Säure, z. B. einer Mineralsäure oder, vorteilhafterweise, Zitronensäure, und Zugabe eines mit Wasser nicht-mischbaren Lösungsmittels, wie eines chlorierten Kohlenwasserstoffs, z. B. Chloroform oder Methylenechlorid, wobei das Reaktionsprodukt in die organische Phase übergeht, aus welcher es in üblicher Weise, z. B. durch Trocknen, Eindampfen des Lösungsmittels und Kristallisation und/oder Chromatographie des Rückstandes oder andere übliche Reinigungsmethoden in gereinigter Form erhalten werden kann.

Die obige Reaktion ergibt im allgemeinen ein Gemisch der beiden diacylierten Verbindungen, üblicherweise einen überwiegenden Anteil der 8-O,N-diacylierten Verbindung. Das Gemisch kann in an sich bekannter Weise, z. B. mittels fraktionierter Kristallisation, Chromatographie, etc. in die gewünschten individuellen Diacyl-Verbindungen aufgetrennt werden.

Die Ausgangsstoffe der Formel II sind bekannt und können in an sich bekannter Weise hergestellt werden; es wird z. B. auf die PCT-Anmeldung Publ. Nr. WO 87/02381 verwiesen.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können Säureadditionssalze, in erster Linie pharmazeutisch verwendbare Säureadditionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren bilden. Solche sind u. a. Halogen-, z. B. Chlor- und Bromwasserstoffsäuren, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure oder Perchlorsäure, oder aliphatische, carbocyclische (insbesondere aromatische) oder heterocyclische Carbon- oder Sulfonsäuren, wie Ameisen-, Essig-, Propion-, Bernstein-, Glykol-, Milch-, Äpfel-, Wein-, Zitronen-, Fumar-, Malein-, Hydroxymalein-, Brenztrauben-, Phenylessig-, Benzoe-, p-Aminobenzoe-, Anthranil-, p-Hydroxybenzoe-, Salicyl-, p-Aminosalicyl- oder Embonsäure, ferner Methansulfon-, Ethansulfon-, Hydroxyethansulfon, Ethylendisulfon-, Halogenbenzolsulfon-, Toluolsulfon-, Naphthalinsulfonsäuren oder Sulfanilsäure, ferner Methionin, Tryptophan, Lysin oder Arginin, sowie Ascorbinsäure. Die Bildung der Salze, sowie die Überführung von Salzen in die freien Verbindungen erfolgt in an sich bekannter Weise. So erhält man die Säureadditionssalze z. B. durch Behandeln mit einer zur Salzbildung geeigneter Säure, wie einer der oben genannten, während Salze durch Behandeln mit basischen Mitteln, wie anorganischen Hydroxiden, Carbonaten und Bicarbonaten, oder organischen Basen und Ionenaustauschern in die freien Verbindungen umgewandelt werden können. Diese Salze mit den obengenannten Säuren oder andere Salze, wie z. B. Oxalate

oder Pikrate, können auch zur Reinigung der erhaltenen Verbindungen dienen, indem man die freien Verbindungen in Salze überführt, diese abtrennt und aus den Salzen wiederum die freien Verbindungen gewinnt. Infolge der engen Beziehung zwischen den Verbindungen in freier Form und in Form ihrer Salze sind im vorausgegangenen und nachfolgend unter den freien Verbindungen sinn- und zweckgemäß gegebenenfalls auch die entsprechenden Salze zu verstehen.

Die Erfindung betrifft auch diejenigen Ausführungsformen des Verfahrens, nach denen man einen Ausgangsstoff in Form eines Derivates, z. B. Salzes, verwendet oder unter den Reaktionsbedingungen bildet.

Bei den Verfahren der vorliegenden Erfindung werden vorzugsweise solche Ausgangsstoffe verwendet, welche zu den eingangs als besonders wertvoll geschilderten Verbindungen führen.

Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen der Formel I und ihre Salze können allein oder zusammen mit Hilfsstoffen, sowie auch in Kombination mit anderen Wirkstoffen, als Mittel zur therapeutischen, und zwar sowohl kurativen wie auch präventiven Behandlung von Krankheiten oder krankhaften Zuständen verwendet werden, die z. B. durch einen erhöhten Gehalt an Cholesterin und/oder Triglyceriden im Blut, insbesondere im Blutserum, angezeigt oder verursacht werden. Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe werden in therapeutisch wirksamen Mengen, vorzugsweise in Form von pharmazeutischen Zusammensetzungen zusammen mit konventionellen pharmazeutischen Trägermaterialien und/oder Hilfsstoffen an den behandlungsbedürftigen Warmblütern, in erster Linie Menschen, verabreicht. Dabei werden z. B. an Warmblüter je nach Spezies, Körpergewicht, Alter und individuellem Zustand, sowie je nach Applikationsweise und insbesondere auch je nach individuellem Zustand, tägliche Dosen entsprechend etwa 1 bis etwa 100, insbesondere etwa 3 bis etwa 50 mg pro kg Körpergewicht, die in schweren Fällen überschritten werden können, verabreicht. Sinngemäß umfaßt die Erfindung auch die entsprechende Methode zur medizinischen Behandlung.

Die Erfindung betrifft im weiteren pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Verbindungen der vorliegenden Erfindung als Wirkstoffe enthalten, sowie Verfahren zu ihrer Herstellung.

Bei den erfindungsgemäßen pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen, wie peroralen oder rektalen, sowie zur parenteralen Verabreichung an Warmblüter. Entsprechende Dosiseinheitenformen, insbesondere zur peroralen Verabreichung, z. B. Dragées, Tabletten oder Kapseln, enthalten vorzugsweise von etwa 50 bis etwa 500 mg, insbesondere von etwa 100 bis etwa 300 mg des Wirkstoffs zusammen mit pharmazeutisch verwendbaren Träger- und/oder Hilfsstoffen.

Geeignete Trägerstoffe sind insbesondere Füllstoffe, wie Zucker, z. B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit, Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate, z. B. Tricalciumphosphat oder Calciumhydrogenphosphat, ferner Bindemittel, wie Stärkekleister zubereitet z. B. aus Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Tragant, Methylcellulose und/oder, wenn erwünscht, Sprengmittel, wie die obengenannten Stärken, ferner Carboxymethylstärke, quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar, Alginsäure oder ein Salz davon, wie Natriumalginat. Hilfsmittel sind in erster Linie Fließregulier- und Schmiermittel, z. B. Kieselsäure, Talk, Stearinsäure oder Salze davon, wie Magnesium- oder Calciumstearat, und/oder Polyethylenglykol. Dragée-Kerne können mit geeigneten, gegebenenfalls Magensaft resistenten Überzügen versehen werden, wobei man u. a. konzentrierte Zuckerlösungen, welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyethylenglykol und/oder Titandioxid enthalten, oder Lacklösungen in geeigneten organischen Lösungsmitteln, oder zur Herstellung von Magensaft resistenten Überzügen, Lösungen von geeigneten Cellulosepräparaten, wie Acetylcellulosephthalat oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, verwendet. Den Tabletten oder Dragée-Überzügen können Farbstoffe oder Pigmente, z. B. zur Identifizierung oder zur Kennzeichnung verschiedener Wirkstoffdosen, beigelegt werden.

Weitere oral anwendbare pharmazeutische Präparate sind Steckkapseln aus Gelatine, sowie welche, geschlossene Kapseln aus Gelatine und einem Weichmacher, wie Glycerin oder Sorbit. Die Steckkapseln können den Wirkstoff in Form eines Granulats, z. B. im Gemisch mit Füllstoffen, wie Lactose, Bindemitteln, wie Stärken und/oder Gleitmitteln, wie Talk oder Magnesiumstearat, und gegebenenfalls von Stabilisatoren enthalten. In welchen Kapseln ist der Wirkstoff vorzugsweise in geeigneten Flüssigkeiten, wie fetten Ölen, Paraffinöl oder flüssigen Polyethylenglykolen, gelöst oder suspendiert, wobei gegebenenfalls Stabilisatoren zugelegt sein können.

Als rektal anwendbare pharmazeutische Präparate kommen z. B. Suppositorien in Betracht, welche aus einer Kombination des Wirkstoffs mit einer Suppositoriengrundmasse bestehen. Als Suppositoriengrundmasse eignen sich z. B. natürliche oder synthetische Triglyceride, Paraffinkohlenwasserstoffe, Polyethylenglykole oder höhere Alkanole.

Zu parenteralen Verabreichung eignen sich in erster Linie wäßrige Lösungen eines Wirkstoffes in wasserlöslicher Form, z. B. eines wasserlöslichen Salzes, oder wäßrige Injektionssuspensionen, welche viskositätserhöhende Stoffe, z. B.

Natriumcarboxymethylcellulose, Sorbit und/oder Dextran und gegebenenfalls Stabilisatoren enthalten. Dabei kann der Wirkstoff, gegebenenfalls zusammen mit Hilfsstoffen, auch in Form eines Lyophilisats vorliegen und vor der parenteralen Verabreichung durch Zugabe von geeigneten Lösungsmitteln in Lösung gebracht werden.

Die pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung können in an sich bekannter Weise, z. B. mittels konventioneller Misch-, Granulier-, Dragier-, Lösungs- oder Lyophilisierungsverfahren, hergestellt werden. So kann man pharmazeutische Präparate zur oralen Anwendung erhalten, indem man den Wirkstoff mit festen Hilfsstoffen kombiniert, ein erhaltenes Gernisch gegebenenfalls granuliert, und das Gemisch bzw. Granulat, wenn erwünscht oder notwendig, nach Zugabe von geeigneten Hilfsstoffen, zu Tabletten oder Dragée-Kernen verarbeitet.

Ausführungsbeispiele

Die nachfolgenden Beispiele illustrieren die oben beschriebene Erfindung, schränken jedoch deren Umfang in keiner Weise ein. Temperaturen werden in Celsiusgraden angegeben.

Beispiel 1: 8-O,N- und 8-O,21-O-Dipivaloyl-3-[2,4,6-trimethylbenzyl]-1-piperazinyl-rifamycin S

Eine Lösung von 25g 3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S in 250ml Pyridin wird mit 35,5ml Pivaloylchlorid (10,5 Äquivalente) tropfenweise versetzt und 8 Std. bei Raumtemperatur gerührt, bis im Dünnschichtchromatogramm kein Ausgangsmaterial mehr nachgewiesen werden kann. Anschließend wird die Lösung mit 150ml Methanol versetzt, 1 Std. bei Raumtemperatur gerührt, um überschüssiges Pivaloylchlorid zu zersetzen, und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 300ml Methylenchlorid aufgenommen, die Lösung filtriert, und das Filtrat mit 300ml Wasser extrahiert. Die wäßrige Phase wird mit 1N Salzsäure auf pH 3 bis 4 eingestellt und dreimal mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten Methylenchloridextrakte werden dreimal mit je 100ml Wasser gewaschen, getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird auf eine Säule aus 1000g Silicagel aufgetragen und mit einem 1:4-Gemisch von Essigsäureethylester und Cyclohexan eluiert. Die ersten Fraktionen enthalten das 8-O,21-O-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S, das durch weitere Chromatographie an Silicagel und Kristallisation aus Diethylether in Form von violett-braunen Kristallen vom Smp. 135–145°C (Zersetzung) erhalten wird. Die nachfolgenden Fraktionen enthalten als Hauptprodukt der Reaktion das 8-O,N-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S, welches, aus Diethylether kristallisiert, rot-violette Kristalle vom Smp. 157 bis 163°C bildet.

Physikalische Kenndaten:

a) 8-O,21-O-Dipivaloyl-Verbindung:

Ultraviolettabsorptionsspektrum

(in Ethanol) ($\lambda_{\max}$ [ϵ]): 218 (36400), 258 (Schulter), 318 (Schulter), 354 (8800), 517 (1800) nm.

Massenspektrum: $m/z = 1080$ ($M^+ + H$) entsprechend der Summenformel $C_{61}H_{81}N_3O_{14}$.

1H -NMR (in $CDCl_3$) (ppm [Zuordnung]):

6,83	s	(2H am aromatischen Ring des Benzylrestes)
5,2	dd	(H-21)
2,37	}	s (aromatisch gebundene Methylgruppen)
2,27		
3,48	AB	(Methylen des Benzylrestes)
1,47	}	s (Methylgruppen der Pivaloylreste)
1,42		
0,95	}	s (4H von Methylgruppen oder Ansaring)
0,85		
0,70		
0,18		

^{13}C -NMR (in $CDCl_3$) (ppm [Zuordnung]):

179,2	1 C	(Pivaloyl-carbonyl)
176,8	1 C	(Pivaloyl-carbonyl)
27,3	3 C	} (Methylgruppen der Pivaloylreste)
27,2	3 C	
53,2	2 C	} (Methylgruppen des Piperazinrestes)
49,0	2 C	
58,0	1 C	(Methylen des Benzylrestes)
173,5	2 C	} (Trimethylphenyl)
135,6	1 C	
131,1	1 C	
128,8	2 C	
20,4	3 C	

b) 8-O,N-Dipivaloyl-Verbindung:

Ultraviolettabsorptionsspektrum

(in Ethanol) ($\lambda_{\max}$ [ϵ]): 264 (32880), 320 (Schulter), 350 (Schulter), 524 (2200) nm.

Massenspektrum: $m/z = 1080$ ($M^+ + H$) entsprechend der Summenformel für $C_{61}H_{81}N_3O_{14}$.

Infrarotsorptionsspektrum

(in CH_2Cl_2): 3500, 2960, 2940, 1735, 1710, 1640, 1600, 1565 cm^{-1} , kein Amid-NH- vorhanden.

1H -NMR ($CDCl_3$) (ppm [Zuordnung]):

6,83	s	(2H vom aromatischen Ring des Benzylrestes)
3,45	AB	(Methylen des Benzylrestes)
3,05	m	(H-21)
2,33	}	s (3 Methylgruppen am Benzylrest)
2,26		
1,48	}	s (6 Methylgruppen des Pivaloyls)
1,44		
1,07	}	d (4H von Methylgruppen oder Ansaring)
0,96		
0,81		
0,24		

^{13}C -NMR (in $CDCl_3$):

190,4	1 C	(Pivaloyl-carbonyl)
179,0	1 C	(Pivaloyl-carbonyl)
45,3	1 C	(quaternäres C der Pivaloylreste)
40,5	1 C	(quaternäres C der Pivaloylreste)
29,4	3 C	(3 Methylgruppen der Pivaloylreste)
27,7	3 C	(3 Methylgruppen der Pivaloylreste)
52,5	2 C	} (4 Methylgruppen des Piperazinrestes)
50,2	2 C	

54,9 1 C	(Methylen des Benzylrestes)
137,5 2 C	} (2,4,6-Trimethylphenyl)
135,7 1 C	
131,3 1 C	
128,7 2 C	
19,7 3 C	

Das Ausgangsmaterial kann folgendermaßen erhalten werden:

- a) Eine Lösung von 50g Rifamycin S in 500 ml Dioxan wird mit 30g N-(2,4,6-Trimethylbenzyl)-piperazin versetzt und bei Raumtemperatur während 18 Stunden stehen gelassen. Anschließend säuert man durch Zugabe von 100%iger wäßriger Zitronensäurelösung an und nimmt das Reaktionsprodukt in Methylenchlorid auf. Nach dem Trocknen und Eindampfen des Methylenchloridextraktes wird der dunkel gefärbte Rückstand in Ethanol gelöst und tropfenweise mit wäßriger Ascorbinsäure versetzt. Das 3-[4-(2,4,6-Trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin SV fällt in Form von gelben Kristallen vom Smp. 178–181 °C (teilweise Zersetzung) aus.
- b) Eine Lösung von 10g des gemäß a) hergestellten Produktes in 200ml Methylenchlorid wird mit 10g feinpulverisiertem Mangandioxid 5 Minuten intensiv gerührt. Die festen Anteile werden abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft, womit das blauschwarze amorphe 3-[4-(2,4,6-Trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S resultiert, welches ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet wird.

Beispiel 2: 8-O,N-Dipivaloyl-3-[4-(2,6-dimethyl-4-tert-butyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S.

In analoger Weise wie im Beispiel 1, ausgehend von 3-[4-(2,6-Dimethyl-4-tert-butyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S, wird die Titelverbindung als Feststoff ohne scharfen Schmelzpunkt erhalten;

Massenspektrum: $m/z = 1121 (M^+)$, entsprechend der Summenformel für $C_{64}H_{87}N_3O_{14}$;

Ultraviolettabsorptionsspektrum

(in Ethanol) (λ_{max} [ε]): 263 (29960); 324 (Schulter); 360 (Schulter); 526 (2000) nm;

Infrarotabsorptionsspektrum

(in Methylenchlorid): 3500, 2970, 1735, 1675, 1640, 1600, 1570 cm^{-1} .

1H -NMR (in $CDCl_3$) (ppm [Zuordnung]):

7,00	s	(2H am aromatischen Ring des Benzylrestes)
3,45	AB	(Methylen des Benzylrestes)
2,35	s	(3 Methylgruppen am aromatischen Ring)
1,48	s	(6 Methylgruppen der Pivaloylreste)
1,44		

Das Ausgangsmaterial kann folgendermaßen hergestellt werden:

Eine Lösung von 5g 3-Brom-rifamycin S in 50ml Tetrahydrofuran wird mit 3g N-(2,6-Dimethyl-4-tert-butyl-benzyl)-piperazin versetzt und bei 20 °C während 30 Minuten stehen gelassen. Anschließend säuert man durch Zugabe von wäßriger Zitronensäurelösung an und nimmt das Reaktionsprodukt in Methylenchlorid auf. Nach dem Trocknen und Eindampfen des Methylenchloridextraktes hinterbleibt ein dunkelgefärbter Rückstand; man löst ihn in Methanol und setzt tropfenweise wäßrige Ascorbinsäure zu. Das 3-[4-(2,6-Dimethyl-4-tert-butyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin SV fällt in Form von gelbgefärbten Kristallen aus, Smp. 260 °C. Durch Behandeln mit Mangandioxid, wie unter b) im Beispiel 1 beschrieben, erhält man das gewünschte Ausgangsmaterial der S-Reihe.

Beispiel 3: In analoger Weise können folgende Verbindungen der Formel I erhalten werden:

- 8-O,21-O-Di-(2,2-dimethyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2,2-dimethyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon;
 8-O,21-O-Di-(2-ethyl-2-methyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2-ethyl-2-methyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon;
 8-O,21-O-Di-(2,2-diethyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2,2-diethyl-butyryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon;
 8-O,21-O-Di-(2,2-dimethyl-valeryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2,2-dimethyl-valeryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon;
 8-O,21-O-Di-(2-ethyl-2-methyl-valeryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2-ethyl-2-methyl-valeryl)-3-[4-(2,4,6-trimethyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon;
 8-O,21-O-Di-(2,2-diethyl-butyryl)-3-[4-(2,6-dimethyl-4-tert.-butyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S und
 8-O,N-Di-(2,2-diethyl-butyryl)-3-[4-(2,6-dimethyl-4-tert.-butyl-benzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon.

Beispiel 4: Kapseln, enthaltend 250 mg 8-O,N-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S, können wie folgt hergestellt werden:

Zusammensetzung (für 1000 Kapseln):

8-O,N-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S	250,0 g
Maisstärke	50,0 g
Polyvinylpyrrolidon	15,0 g
Magnesiumstearat	5,0 g
Ethanol	q. s.

Der Wirkstoff und die Maisstärke werden vermisch mit einer Lösung des Polyvinylpyrrolidons in 50g Ethanol befeuchtet. Die feuchte Masse wird durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 3 mm gepreßt und bei 45 °C getrocknet. Das trockene Granulat wird durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 1 mm gesiebt und mit 5g Magnesiumstearat vermisch. Die Mischung wird in von Portionen von 0,320g in Steckkapseln der Größe 0 abgefüllt.

In analoger Weise kann auch das 8-O,21-O-Dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1-piperazinyl]-rifamycin S oder ein Gemisch davon mit der entsprechenden 8-O,N-Dipivaloyl-Verbindung verwendet werden.

Beispiel 5: 250g eines Wirkstoffes gemäß Beispiel 1 oder 2 und 1750g fein geriebene Suppositoriengrundmasse (z. B. Kakaobutter) werden gründlich gemischt und dann geschmolzen. Aus der durch Rühren homogen gehaltenen Schmelze werden 1000 Suppositorien von 2g gegossen. Sie enthalten je 250mg Wirkstoff.