

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY 144 330

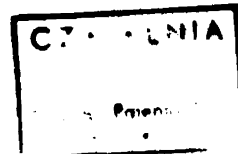
Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 85 04 12 (P. 256444)

Pierwszeństwo: 84 04 13 Stany
Zjednoczone
Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 86 09 23

Opis patentowy opublikowano: 89 03 31



Int. Cl.⁴ C07H 17/08

Twórca wynalazku _____

Uprawniony z patentu: Pfizer Inc., Nowy Jork (Stany Zjednoczone Ameryki)

SPOSÓB WYTWARZANIA NOWEJ 9-DEZKETO-9a-METYLO-4''-DEZOKSY-4''- β - -AMINO-9a-AZA-9a-HOMOERYTROMYCYN A

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowej 9-dezketo-9a-metylo-4''-dezoksy-4''- β -amino-9a-aza-9a-homoerytromycyny A o wzorze 1 oraz jej soli. Związki te mają działanie przeciwbakteryjne, a zatem są użyteczne w leczeniu zakażeń bakteryjnych u ssaków.

Związek wytwarzany sposobem według wynalazku jest pochodną dobrze znanego antybiotyku makrolidowego, a mianowicie erytromycyny A o wzorze 2. W związku wytwarzanym sposobem według wynalazku 14-członowy pierścień laktonowy jest jednak poszerzony poprzez wprowadzenie atomu azotu między pozycje 9 i 10 we wzorze 2, a ponadto grupa 4''- α -hydroksylowa jest zastąpiona podstawnikiem związanym z pozycją 4'' poprzez atom azotu (jak np. w przypadku I-rzędowej grupy aminowej). Tak więc związek wytwarzany sposobem według wynalazku jest pochodną związku o wzorze 3, zwanego tu 9a-aza-9a-homoerytromycyną A, Lokant 9a stosowany jest dla oznaczenia pozycji dodatkowego członu w pierścieniu laktonowym.

Pochodne 9a-aza-9a-homoerytromycyny A ujawniono w brytyjskim opisie patentowym nr 2 094 293 i opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 4 328 334, w których nazwano je pochodnymi 11-aza-10-dezketo-10-dihydroerytromycyny A. Przeciwbakteryjne pochodne 4''-dezoksy''-aminoerytromycyny A i 4''-dezoksy-4''-acyloaminoerytromycyny A znane są z opisów patentowych Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 4 150 220 i 4 180 654.

Cechą sposobu według wynalazku jest to, że związek o wzorze 4 poddaje się reakcji z nadmiarem octanu amonowego i cyjanoborowodoru sodowego.

Tak więc dla wytworzenia związku o wzorze 1, związek o wzorze 4 poddaje się reduktywnemu aminowaniu. Realizuje się je kontaktując związek o wzorze 4 z nadmiarem octanu amonowego, w niższym alkanolu, takim jak metanol, a następnie redukując powstały addukt przy użyciu cyjanoborowodoru sodu. W praktyce otrzymuje się żądany związek wraz z jego epimerem C-4''. Tworzy się również pewna ilość odpowiednich C-4''-hydroksyzwiązków (związek o wzorze 5 i jego epimer C-4''),

które łatwo usuwa się podczas obróbki. Cały produkt reakcji rozdziela się między octan etylu i wodę przy pH 6. W tych warunkach C-4''-hydroksywiązki przechodzą do warstwy organicznej, a C-4''-aminoswiązki pozostają w warstwie wodnej. Warstwę octanową oddziela się i odrzuca, a odczyn warstwy wodnej doprowadza do wartości 9-10. Związki C-4''-aminowe można następnie ekstrahować rozpuszczalnikiem organicznym, który następnie oddziela się, suszy i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem. Związek o wzorze 3 można oddzielić od jego epimeru C-4'' chromatograficznie.

Związek o wzorze 4 wytwarza się ze znanej pochodnej 9a-aza-9a-homoerytromycyny A o wzorze 5. Dla przeprowadzenia związku o wzorze 5 w związek o wzorze 4 zabezpiecza się grupę 2'-hydroksylową, a potem utlenia się grupę 4''-hydroksylową do grupy keto, a następnie odszczepia się grupę zabezpieczającą grupę 2'-hydroksylową.

Zabezpieczenie grupy 2'-hydroksylowej realizuje się zwykle z użyciem niższej grupy alkanolo-wej, np. acetylowej lub propionylowej, jako grupy zabezpieczającej. Grupę acetylową lub propionylową wprowadza się do grupy 2'-hydroksylowej działając na związek o wzorze 5 niewielkim nadmiarem bezwodnika octowego lub bezwodnika propionowego w chloroformie, w temperaturze pokojowej, w ciągu kilku godzin, znany sposób. Utlenianie do odpowiedniego 2'-O-acetylo- lub 2'-O-propionylo-4''-dezo-4''-keto związku realizuje się działając dwumetylosulfotlenkiem i karbodwuimidem w obecności zasady. Wygodnie stosuje się N-etylo-N'-/N,N-dwumetyloaminopropilo/karbodwuimid jako karbodwuimid i trójfluorooctan pirydyniowy jako zasadę. Odszczepienie grupy 2'-O-acetylowej lub 2'-O-propionylowej można przeprowadzić drogą solwolizy z użyciem metanolu, w temperaturze 10-30°C, w ciągu 1-2 dni. Metanol odparowuje się następnie pod zmniejszonym ciśnieniem.

9-Dez keto-9a-metylo-9a-aza-homoerytromycynę A o wzorze 5 można wytworzyć sposobem podanym w opublikowanym brytyjskim zgłoszeniu patentowym nr 2 094 293, np. sposobem z przedstawionego w nim przykładu I, w którym związek ten nazwano N-metylo-11-aza-10-dez keto-10-dihydroerytromycyną A. Patrz również opis patentowy Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 4 328 344 i opis RFN DE-OS 3 012 533.

Związek o wzorze 1 oraz związki o wzorze 4 i 5 można w razie potrzeby oczyszczać znanymi sposobami. Można w tym celu stosować takie metody jak rekrytalizacja, chromatografia kolumnowa, preparatywna chromatografia cienkowarstwowa i metoda podziału w przeciwnym kierunku.

Związek o wzorze 1 ma charakter zasadowy, a zatem może tworzyć addycyjne sole z kwasami. Sole te można wytwarzać znanymi sposobami stosowanymi w chemii makrolidów. Związek o wzorze 1 zawiera więcej niż jedno centrum zasadowości, tak więc można wytwarzać jego jedno-, dwu- i trój-sole addycyjne z kwasami. W przypadku dwu- i trójso- li addycyjnych aniony mogą być jednakowe lub różne. Ogólnie, dla wytwarzania addycyjnej soli z kwasem związek o wzorze 1 łączy się ze stechio- metryczną ilością odpowiedniego kwasu w obojętnym rozpuszczalniku, po czym sól wyodrębnia się przez odparowanie rozpuszczalnika, wytrącenie samoistnie wytrącającej się soli lub przez wytrą- cenie soli nierozpuszczalnikami, a następnie odsączenie jej. Typowymi dającymi się wytwarzać so- lami są siarczany, chlorowodorek, bromowodorek, azotan, fosforan, cytrynian, winian, embonian, sulfosalicynian, metanosulfonian, benzosulfonian i 4-toluenosulfonian.

Związek o wzorze 1 wytwarzany sposobem według wynalazku i jego sole są użyteczne jako środki przeciwbakteryjne w zastosowaniach in vitro i in vivo, a zakres ich działania jest podobny do zakresu działania erytromycyny A. Tak więc, można je stosować w tych samych celach co erytromy- cynę A i w ten sam sposób. Ogólnie, przeciwbakteryjny związek o wzorze 1 i jego sole wykazują in vitro aktywność wobec różnych bakterii Gram-dodatnich, np. Staphylococcus aureus i Strepto- coccus pyogenes, a także wobec pewnych bakterii Gram-ujemnych, takich jak bakterie kształtu ku- listego i elipsoidalnego (cocci). Ich aktywność łatwo jest wykazać w testach in vitro z różnymi drobnoustrojami, prowadzonych w infuzyjnej pożywce mózgowo-sercowej zwykłą metodą kolejnych dwukrotnych rozcieńczeń. Aktywność związku o wzorze 1 i jego soli in vitro czyni je użytecznymi w zastosowaniach miejscowych, w procesach wyjaławiania, np. różnych przedmiotów w pokojach cho- rych, a także jako przemysłowe środki przeciwbakteryjne, np. w uzdatnianiu wody, obróbce osadów oraz konserwacji farb i drewna. Przy wykorzystywaniu związków o wzorze 1 i jego soli miejscowo in vitro stosuje się je zazwyczaj w postaci wygodnych preparatów, zawierających oprócz tych zwią- ków farmakologicznie dopuszczalny nośnik lub rozcieńczalnik, np. w postaci maści i kremów. Do

odpowiednich nośników i rozcieńczalników należą oleje mineralne i roślinne oraz takie rozpuszczalniki jak woda, alkohole i glikole oraz ich mieszaniny. Stosunek wagowy farmakologicznie dopuszczalnego nośnika do związku o wzorze 1 wynosi w takim preparacie zazwyczaj od 4:1 do 1:4.

Ponadto, związek o wzorze 1 i jego farmakologicznie dopuszczalne sole są aktywne *in vivo* wobec różnych bakterii Gram-dodatnich, np. wobec *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*, a także wobec pewnych bakterii Gram-ujemnych. Związki te podaje się ludziom i zwierzętom doustnie lub pozajelitowo. Tak więc związek o wzorze 1 i jego sole można stosować w sposobie leczenia zakażeń bakteryjnych polegających na tym, że pacjentom podaje się przeciwbakteryjnie skuteczną ilość związku o wzorze 1 lub jego soli.

Zakres działania związków o wzorze 1 i jego soli wobec wrażliwych organizmów jest *in vivo* węższy od zakresu ich działania *in vitro*, przy czym to działanie *in vivo* można wykazać w znany sposób, zakażając myszy o jednakowej wadze badanym organizmem i podając im następnie, doustnie lub podskórnie, badany związek. W praktyce, myszom (np. 10) podaje się *dootrzewnowo* odpowiednio rozcieńczoną kulturę zawierającą badany organizm w stężeniu odpowiadającym 1 - 10 LD₁₀₀ (najniższe stężenie organizmu dające 100% śmiertelności). Równolegle bada się kontrolną grupę myszy, którym podano niższe stężenia, dla stwierdzenia ewentualnych zmian zjadliwości badanego organizmu. Badany związek podaje się w 0,5 godziny po zakażeniu, a następnie w 4, 24 i 48 godzin później. Myszy pozostałe przy życiu po ostatnim zabiegu przetrzymuje się w ciągu 4 dni, po czym zlicza się osobniki żywe.

W zabiegach *in vivo* na ssakach, w tym ludziach, związek o wzorze 1 i jego sole można stosować same lub też, korzystnie, można je podawać w postaci preparatów farmakologicznych zawierających farmakologicznie dopuszczalny nośnik lub rozcieńczalnik. Preparaty takie można podawać doustnie, jak np. w przypadku tabletek lub kapsułek, względnie pozajelitowo, w tym poprzez wstrzyknięcie podskórne i domięśniowe. Rodzaj farmakologicznie dopuszczalnego nośnika zależy od przewidzianej drogi podawania. Przykładowo, w tabletkach jako nośniki można stosować laktozę, cytrynian sodowy i sole kwasu fosforowego, przy czym stosuje się je wraz ze środkami ułatwiającymi rozpad (takimi jak skrobia) i środkami poślizgowymi (takimi jak stearynian magnezu, laurylosiarczan sodowy i talk). W kapsułkach jako nośniki stosuje się laktozę i glikole polietylenowe o dużej masie cząsteczkowej (np. 2000-4000). Pozajelitowo podaje się jałowe roztwory i zawiesiny, w których farmakologicznie dopuszczalny nośnik ma charakter wodny (np. woda, izotoniczna solanka, izotoniczny roztwór dekstrozy) lub niewodny (np. oleje tłuszczowe pochodzenia roślinnego, takie jak olej z nasion bawełny lub olej arachidowy, względnie poliole, takie jak gliceryna lub glikol propylenowy).

W zastosowaniach *in vivo* środek farmakologiczny zawiera zwykle farmakologicznie dopuszczalny nośnik i związek o wzorze 1 lub jego sól w stosunku wagowym od 4:1 do 1:4.

Przy leczeniu zakażeń bakteryjnych drogą doustną lub pozajelitową dzienna dawka związku o wzorze 1 lub jego soli wynosi 5-100 mg/kg wagi ciała, w dawkach pojedynczych lub podzielonych.

Wynalazek ilustruje poniższy przykład.

P r z y k ł a d. Wytwarzanie 9-dezketo-9a-metylo-4''-dezoksy-4''-β-amino-9a-aza-9a-homoerytromycyny A.

A. 9-Dezketo-9a-metylo-4''-dezoksy-4''-keto-9a-aza-9a-homoerytromycyna A. Roztwór 0,93 g (1,2 mmola) 9-dezketo-9a-metylo-2'-O-acetylo-4''-dezoksy-4''-keto-9a-aza-9a-homoerytromycyny A w 50 ml metanolu przechowuje się w temperaturze pokojowej w ciągu 20 godzin, po czym rozpuszczalnik odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się 0,74 gżądanego związku.

Widmo ¹H NMR: 2,30 (s, 6H), 2,38 (s, 3H) i 3,35 (s, 3H) ppm.

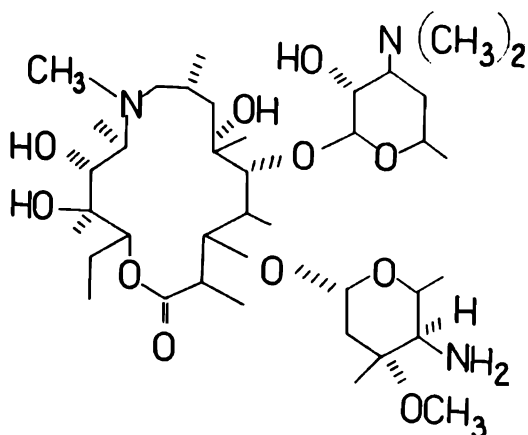
B. 9-Dezketo-9a-metylo-4''-dezoksy-4''-β-amino-9a-aza-9a-homoerytromycyna A. Sporządza się roztwór 0,50 g (0,67 mmola) 9-dezketo-9a-metylo-4''-dezoksy-4''-keto-9a-aza-9a-homoerytromycyny A i 0,54 g (6,7 mmola) octanu amonowego w 50 ml metanolu, po czym dla doprowadzenia wartości pH do 6 dodaje się w trakcie mieszania 7 kropli kwasu octowego. Mieszanie kontynuuje się w ciągu 1 godziny, po czym porcjami dodaje się 0,13 g (2,1 mmola) cyjanoborowodoru sodu. Mieszanie kontynuuje się w ciągu 2,5 godziny, po czym mieszaninę reakcyjną odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem.

Pozostałość rozdziela się między chloroform i wodę i pH warstwy wodnej doprowadza się do 2. Warstwę wodną oddziela się, jej pH doprowadza się do 6,2 i przy tej wartości pH prowadzi się ekstrakcję dla usunięcia 4''-hydroksywiązków. Ekstrakty odrzuca się. Wartość pH warstwy wodnej podnosi się do 9,5 i warstwę tę ekstrahuje chloroformem. Ekstrakty te suszy się i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszcza się w wodzie przy pH 2 i wodny roztwór ekstrahuje chloroformem przy pH 2, 6,2 i 9,5. Roztwór chloroformowy z ekstrakcji przy pH 9,5 suszy się i odparowuje, a pozostałość rozpuszcza się w wodzie przy pH 2. Tak uzyskany roztwór wodny ekstrahuje się chloroformem przy pH 2, 6,2 i 9,5. Roztwór chloroformowy z ekstrakcji przy pH 9,5 suszy się i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując 0,18 g mieszaniny (1:1)żądanego związku i jego epimeru 4''- α . Widmo $^1\text{H-NMR}$: 2,13 (szeroki s, 9H), 3,28 (s, 3H), ppm.

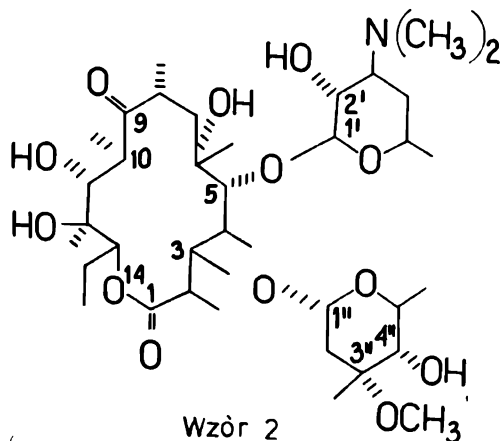
Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

1. Sposób wytwarzania nowej 9-dez keto-9a-metylo-4''-dezoksy-4''- β -amino-9a-aza-9a-homoery-tromycyny A o wzorze 1, a także farmakologicznie dopuszczalnych addycyjnych soli tego związku z kwasami, z n a m i e n n y t y m, że związek o wzorze 4 poddaje się reakcji z nadmiarem octanu amonowego i cyjanoborowodorku **sodowego**, po czym powstały związek o wzorze 1 wyodrębnia się ewentualnie w postaci farmakologicznie dopuszczalnej addycyjnej soli z kwasem.

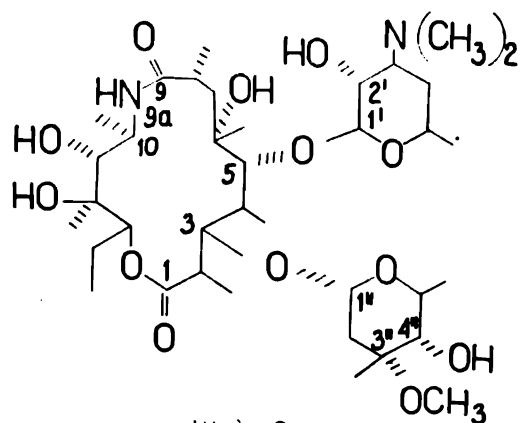
2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że reakcję prowadzi się w rozpuszczalniku typu niższego alkanolu, w temperaturze pokojowej.



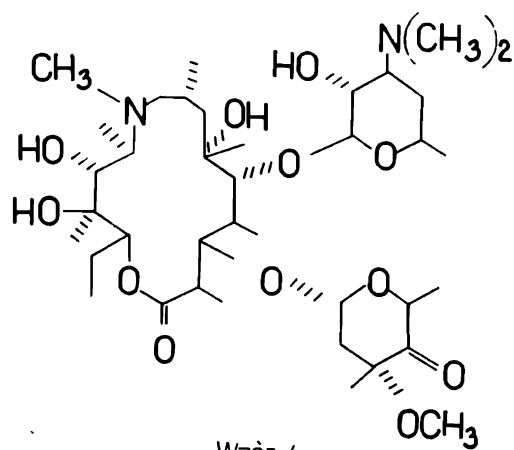
Wzór 1



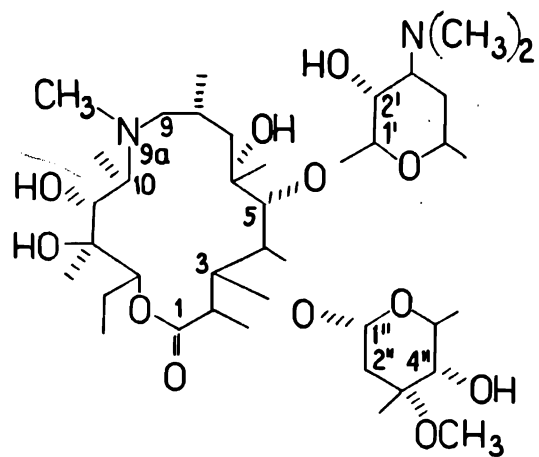
Wzór 2



Wzór 3



Wzór 4



Wzór 5