

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ОЛЕАНДОМИЦИНОКСИМІВ ТА САМІ СПОЛУКИ

1

2

(20) 93003291, 28.10.93

(21) 4894988/SU

(22) 20.03.91

(24) 29.12.99

(31) P-556/90

(32) 21.03.90

(33) YU

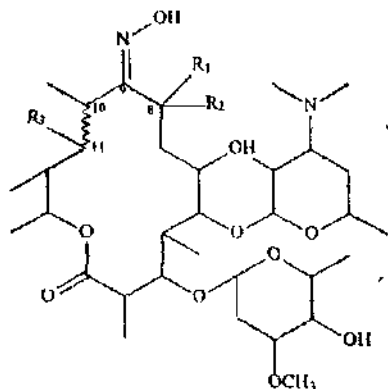
(46) 29.12.99. Бюл. № 8

(56) Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина. - 1986. - Т. II. - С. 248.

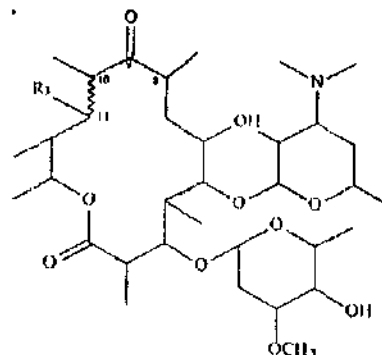
(72) Лазаревські Горяна (YU), Дьєкіч Слободан (YU)

(73) Пліва фармацевтска, кемійська, пре-рамбена і косметичка індустрія С.П.О. (YU)

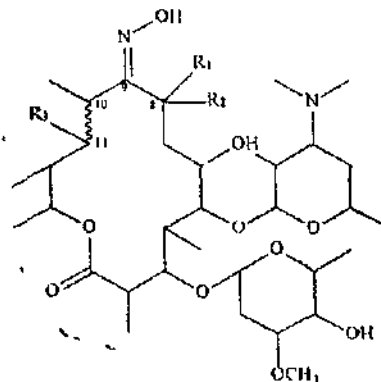
(57) 1. Способ получения олеандомицино-ксимов общей формулы

где R_1 - водород или метил; R_2 - метил или водород, или R_1 и R_2 вместе образуют эпоксидную группу или $=CH_2$; R_3 - гидроксигруппа;

~~~~~ - простая или двойная связь, отличающаяся тем, что проводят реакцию олеандомициновых производных общей формулы

где  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и ~~~~~ имеют указанные значения, с 4-6 молярным избытком хлоргидрата гидроксиламина в присутствии избытка пиридина в потоке азота при комнатной температуре в течение 2-40 часов с последующим выделением целевого продукта.

2. Олеандомициноксимы общей формулы

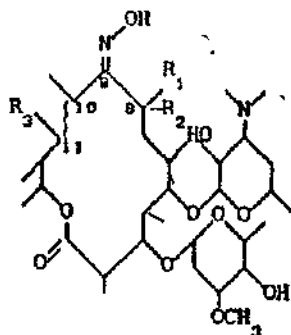
где  $R_1$  - метил, $R_2$  - водород или  $R_1$  и  $R_2$  вместе образуют эпоксидное кольцо, $R_3$  - гидроксигруппа,~~~~~ - простая связь, или  $R_3$  и ~~~~~ вместе образуют двойную связь.

Изобретение касается новых оксимов олеандомицина, обладающих антибактериальной активностью, и способу их получения.

Олеандомицин представляет собой 14-членный макролидный антибиотик, обладающий спектром действия, аналогичным спектру действия эритромицина [1].

Целью изобретения является создание новых производных олеандомицинооксимов, обладающих высокой антибактериальной активностью.

Изобретение охватывает олеандомицинооксими формулы (I)



в которой  $R_1$  представляет собой  $\text{CH}_3$ ,  $R_2$  водород, или  $R_1$  и  $R_2$  вместе друг с другом образуют эпоксидную группу,

$R_3$  представляет собой  $-\text{OH}$  и значком  $\sim$  означает одинарную связь или  $R^3$  и  $\sim$  вместе образуют двойную связь.

Конкретно соединениями формулы (I) являются следующие соединения (Ia)–(Ie)

Ia  $R_1 = R_2 = \text{C}=\text{O}$ ,  $R_3 = -\text{OH}$  – одинарная связь;

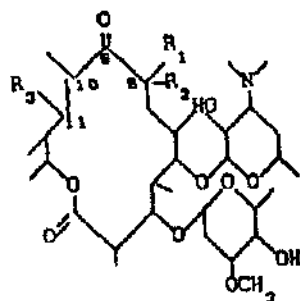
Ib  $R_1 = R_2 = \text{C}=\text{O}$ ,  $R_3$  – двойная связь;

Ic  $R_1 = R_2 = \text{CH}_2$ ,  $R_3 = -\text{OH}$  – одинарная связь;

Id  $R_1 = -\text{H}$ ,  $R_2 = -\text{CH}_3$ ,  $R_3 = -\text{OH}$  – одинарная связь;

Ie  $R_1 = -\text{CH}_3$ ,  $R_2 = -\text{H}$ ,  $R_3 = -\text{OH}$  – одинарная связь олеандомицинооксими формулы (I) являются новыми соединениями.

Указанные соединения получают путем взаимодействия олеандомицина формулы (II)



в которой  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $\sim$  имеют указанные значения, с избытком хлоргидрата гидроксиламина.

В частности, соединения (Ia)–(Ic), как определено выше, могут быть получены путем реакции соединений (IIa)–(IIc):

IIa  $R_1 = R_2 = \text{C}=\text{O}$ ,  $R_3 = -\text{OH}$   $\sim$  – одинарная связь;

IIb  $R_1 = R_2 = \text{C}=\text{O}$ ,  $R_3$  и  $\sim$  – двойная связь;

IIc  $R_1 = R_2 = \text{CH}_2$ ,  $R_3 = -\text{OH}$   $\sim$  – одинарная связь;

IIId  $R_1 = -\text{H}$ ,  $R_2 = -\text{CH}_3$ ,  $R_3 = -\text{OH}$   $\sim$  – одинарная связь;

IIe  $R_1 = -\text{CH}_3$ ,  $R_2 = -\text{H}$ ,  $R_3 = -\text{OH}$   $\sim$  – одинарная связь

с избытком хлоргидрата гидроксиламина.

Указанная реакция может осуществляться с 4–6 молярным избытком хлоргидрата гидроксиламина в присутствии избытка пиридина, служащего, кроме того, в качестве растворителя, в потоке азота, при комнатной температуре, в течение 2–40 ч.

Прекращение реакции определяют методом тонкослойной хроматографии (TLC) на силикагелевых пластинах 60F<sub>254</sub> в нижеприведенной системе:

А)  $\text{CHCl}_3$  ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) конц.  $\text{NH}_4\text{OH}$  (6:1:0,1)

В)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) конц.  $\text{NH}_4\text{OH}$  (90:0:1,5).

Извлечение продуктов осуществляют путем экстракции галогенированными растворителями, например, хлороформом или метилхлоридом, при величине pH в пределах 7,0–8,5 и в конечном итоге путем испарения досуха органического экстракта.

Получение 8-метилолеандомицинооксимов формул Id и Ie осуществляют с использованием в качестве исходного соединения 8-метилолеандомициновых аномеров формул II и IIe, которую без предварительного разделения непосредственно подвергали реакции оксимирования. Получали сырой продукт, состоящий из смеси аномерных оксимов формул (Id) и (Ic), которая разделялась путем хроматографии в колонке с силикагелем при элюировании смесью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ – $\text{CH}_3\text{OH}$  (85:15).

Антибактериальная активность определялась на ряде стандартных и клинически выделенных штаммов. Результаты выражены в минимальной ингибирующей концентрации (MIC, мкг/мл) и представлены в табл.1 и 2.

Пример 1. В раствор олеандомицин-фосфата (IIa) (13,4 г 0,00186 моль) в

19 мл сухого пиридина вводят  $\text{NH}_2\text{OH HCl}$  (6 г 0,086 моль) и реакционная смесь перемешивается при комнатной температуре в потоке азота в течение 2 ч. В реакционную смесь вводят воду (400 мл), и она экстрагируется дихлорметаном путем градиентной экстракции при pH равном 5 и 7. Органический экстракт (pH 7,0) выпаривается при пониженном давлении досуха и остаточный продукт выпаривания высушивается в вакууме при  $40^\circ\text{C}$ , в результате чего получается 9,1 г (70,0%) продукта.

Rf(A) 0,51,  
(B) 0,32,  
M<sup>+</sup> 702.

Ультрафиолетовый спектр (MeOH): пик при 290 нм исчезает ( $-\text{C}=\text{O}$ ). Спектр ЯМР (Диметилсульфоксид- $d_6$ )  $\delta$  ч/млн: 2,23 [6H, с,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ], 3,33 [3H, с, 3-OCH<sub>3</sub>].

10,82 (=NOH), исчезает в результате ионообмена с  $\text{D}_2\text{O}$ .

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ч/млн: 175,8 (C-1, лактон), 159,6 ( $-\text{C}=\text{N}-$ ), 104,3 (C-1'), 99,3 (C-1''), 51,1 (C-8-CH<sub>2</sub>), 40,3 [C-3'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].

MIC (мкг/мл) (клинические изоляты)  
Strept. pneumoniae 0,5 Strept. serol. группа A 0,5.

Пример 2. Ангидроолеандомицинон-оксим (Ib).

Ангидроолеандомицин (IIb) (2,2 г 0,0033 моль) растворяют в сухом пиридине (4 мл), вводят  $\text{NH}_2\text{OH HCl}$  (1,2 г 0,017 моль) и реакционная смесь перемешивалась при комнатной температуре в потоке азота в течение 18 ч. Пиридин удаляли путем выпаривания при пониженном давлении и путем ввода воды. В воду добавляли суспензию хлороформа, величину pH доводили до 8,3 путем ввода NaOH (20% раствор в воде) и раствор экстрагировали хлороформом (3x35 мл). Экстракт высушивали  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и выпаривали досуха и в результате получали 21 г (93,0%) белого твердого вещества.

Rf(A) 0,52  
(B) 0,37  
M<sup>+</sup> 68.

Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (Диметилсульфоксид- $d_6$ )  $\delta$  ч/млн: 2,21 [6H, с,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ], 3,34 [CH, с, 3"-OCH<sub>3</sub>], 10,97 (1H, с, =NOH) исчезает в результате обмена с  $\text{D}_2\text{O}$ .

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ч/млн: 174,8 (C-1, лактон), 157,3 ( $-\text{C}=\text{N}-$ ), 104,6 (C-1'), 99,5 (C-1''), 130,1 (C-II), 135,0 (C-10), 51,2 (C-8-CH<sub>2</sub>), 40,3 [C-3'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].

MIC (мкг/мл) клинические изоляты  
Strept. pneumoniae 2,0; Strept. serol. группа A 1,0.

Пример 3. 8-Метил-олеандомицинон-оксим (Ic).

8-Метил-олеандомицин (IIc) (2,7 г 0,004 моль) растворяют в сухом пиридине (19 мл) и вводят хлоргидрат гидроксиламина (1,35 г 0,019 моль). Реакционная смесь перемешивается при комнатной температуре в потоке азота в течение 2 ч. После экстракции дихлорметаном при величине pH, равной 5 и 7, продукт извлекается путем выпаривания экстракта (pH 7,0) досуха (2,0 г 73,0%).

Rf(A) 0,58  
(B) 0,35  
M<sup>+</sup> 686

Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (Диметилсульфоксид- $d_6$ )  $\delta$  ч/млн: 2,29 [6H, с,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ], 3,34 [CH, с, 3"-OCH<sub>3</sub>], 10,28 (1H, с, =NOH), исчезает в результате обмена с  $\text{D}_2\text{O}$ .

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ч/млн: 176,6 (C-1, лактон), 163,4 ( $-\text{C}=\text{N}-$ ), 141,4 (C-8), 116,4 (C-8a), 104,6 (C-1'), 90,2 (C-1''), 40,4 [C-3'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].

MIC (мкг/мл) (клинические изоляты)  
Strept. pneumoniae 1,0; Strept. serol. группа A 1,0.

Пример 4. 8-Метил-олеандомицинон-оксими (Id) и (Ie).

8-Метил-олеандомицин - смесь аномеров (IIId) и (IIe).

(1,2 г 0,0018 моль) растворяют в сухом пиридине (4 мл) и вводят  $\text{NH}_2\text{OH HCl}$  (0,6 г 0,0086 моль), и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в потоке азота. Тонкослойная хроматография показывает полную конверсию соединения IIId (Rf(A) - 0,67) по прошествии 5 ч в продукт (Id) (Rf(A) - 0,48), в то время как исходное соединение (IIe) (Rf(A) = 0,63) дает продукт (Ie) (Rf(A) = 0,57) по прошествии 40 ч. Осуществляя градиентную экстракцию метилхлоридом при величине pH - 7,5, получают продукт в виде смеси изомеров (0,7 г 57%), который может быть разделен в колонке с силикагелем при элюировании  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  (85:15).

Данные изомеры имеют следующие физико-химические свойства:

ID  
Rf (A) 0; 48  
(B) 0,34  
M<sup>+</sup> 688.

Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (Диметилсульфоксид- $d_6$ )  $\delta$  ч/млн: 2,42 [6H, с,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ], 3,43 [3H, с, 3"-OCH<sub>3</sub>], 10,40 (1H, с, =NOH), исчезает в результате обмена с  $\text{D}_2\text{O}$ .

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ч/млн: 176,8 (C-1, лактон), 165,5 (-C=N-), 104,7 (C-1'), 99,5 (C-1''), 40 [C-3''-N(CH $_3$ ) $_2$ ].

$\text{Ie}$   
Rf (A) 0,57  
M $^+$  688.

Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (Диметилсульфоксид- $d_6$ )  $\delta$  ч/млн: 2,29 [6H, с, (CH $_3$ ) $_2$ N-] 3,32

(3H, с, 3''-OCH $_3$ ), 1061 (1H, с, =NOH) исчезает в результате обмена с D $_2$ O.

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) ч/млн: 176,2 (лактон), 168,6 (-C=N-), 104,2 (C-1'), 98,5 (C-1''), 40,4 [C-3''-N(CH $_3$ ) $_2$ ].

Активность: 657 ед/мг *Sarcinalutea* ATCC9341.

Т а б л и ц а 1

Антибактериальная активность в условиях ин витро 8-метиолеандомициноксима (Ie) по сравнению с олеандомицинфосфатом (I) против стандартных штаммов

| Испытываемый организм                   | Минимальные ингибирующие концентрации олеандомицинфосфата | (MIC, в мкг/мл) Ie |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| <i>Staph. aureus</i><br>ATCC 6538-P     | 0,4                                                       | 0,2                |
| <i>Strept. faecalis</i><br>ATCC-8043    | 0,8                                                       | 0,2                |
| <i>Sarcina lutea</i><br>ATCC-9341       | 0,2                                                       | 0,2                |
| <i>E.coli</i><br>ATCC-10536             | 25                                                        | 6,2                |
| <i>Klebsiella pneum.</i><br>N CTC-10499 | >50                                                       | 50                 |
| <i>Pseud aerug</i><br>N CTC-10490       | >50                                                       | 50                 |

Т а б л и ц а 2

Антибактериальная активность в условиях ин витро 8-метилолеандомициноксима (Ie) в сравнении с олеандомицинфосфатом против клинических изолятов

| Испытываемый организм   | Минимальные ингибирующие концентрации олеандомицинфосфата | (MIC, в мкг/мл) Ie |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| Staph aureus 10099      | 0,8                                                       | 0,4                |
| Staph saprophyt 3947    | 1,6                                                       | 1,6                |
| Strept. faecalis 10390  | 3,1                                                       | 0,8                |
| Staph aureus 10097      | 0,8                                                       | 0,4                |
| Strept. pneumoniae 4050 | 1,6                                                       | 0,4                |
| H influenzae 4028       | —                                                         | 0,4                |

Т а б л и ц а 3

Антибактериальная активность in vitro соединений (Ia), (Ib), (Ic), в сравнении с олеандомицинфосфатом против клинических изолятов

| Тест организмов        | Минимальная ингибирующая концентрация, мг/мл |      |     |      |                    |
|------------------------|----------------------------------------------|------|-----|------|--------------------|
|                        | 1a                                           | 1b   | 1c  | 1d   | Олеандомицинфосфат |
| Strept pneumoniae      | 0,5                                          | 2,0  | 1,0 | 4,0  | 1,0                |
| Strept. serol. group A | 0,5                                          | 1,0  | 1,0 | 4,0  | 0,5                |
| Staph. aureus          | 4,0                                          | 8,0  | 8,0 | 16,0 | 1,0                |
| Staph Saprophyt.       | 2,0                                          | 16,0 | 8,0 | 8,0  | 2,0                |
| E coli                 | 64                                           | 64   | 64  | 64   | 64                 |
| S lutea                | 0,4                                          | 8,0  | 8,0 | 16,0 | 0,4                |

Упорядник

Техред М. Келемеш

Коректор О. Обручар

Замовлення 538

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

