

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 163512 B

Patentdirektoratet  
TAASTRUP

- (21) Patentansøgning nr.: 3165/89  
(22) Indleveringsdag: 26 jun 1989  
(24) Løbedag: 21 okt 1988  
(41) Alm. tilgængelig: 26 jun 1989  
(44) Fremlagt: 09 mar 1992  
(86) International ansøgning nr.: PCT/CH88/00198  
(86) International indleveringsdag: 21 okt 1988  
(85) Videreførelsesdag: 26 jun 1989  
(30) Prioritet: 27 okt 1987 GB 8725118 30 jun 1988 CH 2500/88  
  
(71) Ansøger: \*Ciba-Geigy AG; Klybeckstrasse 141; 4002 Basel, CH  
(72) Opfinder: Wilhelm \*Kump; CH, Keith Allan \*Menear; GB

(51) Int.Cl.5 C 07 D 498/18  
//C 07 D 498/18,  
C 07 D 263:00,  
C 07 D 307:00,  
C 07 D 323:00

(74) Fuldmægtig: Dansk Patent Kontor A/S

(54) **Substituerede azacyclohexylderivater af rifamyciner og salte deraf, farmaceutiske præparater indeholdende disse forbindelser samt en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne**

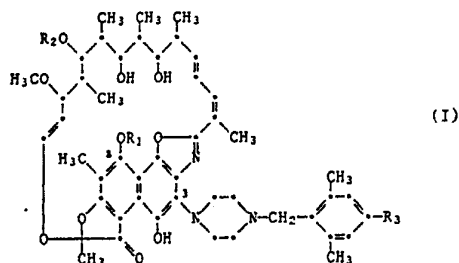
(56) Fremdragne publikationer

WO off.g. skrift nr. 87/02361

(57) **Sammendrag**

3165-89

Substituerede azacyclohexylderivater af rifamyciner med formlen

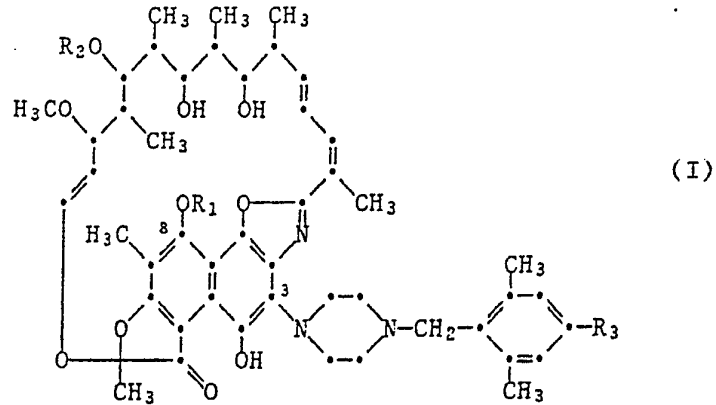


hvor  $R_1$  er H eller trialkylacetyl,  $R_2$  er H eller acetyl, og  $R_3$  er alkyl, eller salte deraf, fremstilles på kendt måde.

Forbindelserne I har værdifulde farmakologiske egenskaber og anvendes især som hypolipidæmikum og antisklerotikum.

DK 163512 B

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte substituerede azacyclohexylderivater af rifamyciner med formlen



5 hvori  $R_1$  betyder hydrogen eller trialkylacetyl,  $R_2$  betyder hydrogen eller acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, og salte deraf, deres fremstilling samt farmaceutiske præparater indeholdende disse forbindelser.

Fra WO offentliggørelsesskrift nr. 87/02361 kendes  
 10 rifamycinderivater, der strukturemæssigt kun adskiller sig fra forbindelserne med formlen I ved, at de i stedet for oxazolringen indeholder den for rifamycin S og SV sædvanlige iminocarbonylgruppe  $-\text{CO}-\text{NH}-$ . Disse kendte  
 15 forbindelser har kraftig antibiotisk virkning, hvorimod forbindelserne med formlen I overraskende er praktisk taget uden antibiotisk virkning, hvilket fremgår nærmere af det følgende.

Den anvendte nummerering af ringsystemet svarer til den, som er anvendt i f.eks. US-patentskrift nr. 4.005.077.

20 Forbindelserne med formlen I indeholder flere chiralitetscentre med de for rifamyciner sædvanlige konfigurationer.

Forbindelserne med formlen I kan foreligge som salte, især farmaceutisk anvendelige salte. Da forbindelserne ifølge opfindelsen indeholder basiske centre, kan de danne syre-  
 25 additionssalte. Disse dannes eksempelvis med uorganiske

syre, såsom mineralsyre, f.eks. svovlsyre eller en phosphor- eller hydrogenhalogenidsyre, eller med organiske carboxylsyre, såsom eventuelt, f.eks. med halogen, substituerede C(1-4)-alkancarboxylsyre, f.eks. eddikesyre, eventuelt umættede dicarboxylsyre, f.eks. oxal-, malon-, rav-, malein-, fumar-, phthal- eller terephthalsyre, hydroxycarboxylsyre, f.eks. glycol-, mælke-, æble-, vin- eller citronsyre, aminosyre, f.eks. asparagin- eller glutaminsyre, eller organiske sulfonsyre, såsom eventuelt, f.eks. med halogen, substituerede C(1-4)-alkan- eller arylsulfonsyre, f.eks. methan-, brombenzen- eller toluensulfonsyre. Tilsvarende syreadditionssalte kan også dannes med det yderligere tilstedeværende basiske center.

Endvidere kan forbindelserne ifølge opfindelsen med en sur phenolisk hydroxygruppe danne salte med baser, f.eks. alkalimetalsalte, såsom natrium- eller kaliumsalte. Opfindelsen omfatter tillige salte af forbindelser med formlen I, som ikke er egnede til farmaceutisk anvendelse, idet disse salte eksempelvis kan anvendes til isoleeringen eller rensningen af de omhandlede forbindelser eller deres farmaceutisk anvendelige salte.

Trialkylacetyl betyder især tri-C(1-7)-alkylacetyl, fortrinsvis tri-C(1-4)-alkyl-acetyl, hvor alkyl har den nedenfor angivne betydning. I første række skal nævnes pivaloyl.

Alkyl betyder især C(1-7)-alkyl og er eksempelvis methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sek-butyl og tert-butyl og omfatter endvidere tilsvarende pentyl-, hexyl- og heptylgrupper. Der foretrækkes C(1-4)-alkyl, i første række methyl.

Det er kendt, at rifamycin SV afledte derivater har udtalte antibiotiske egenskaber og eksempelvis kan anvendes til behandling af tuberkulose. Det er derfor særdeles overraskende, at forbindelserne med formlen I og

deres farmaceutisk anvendelige salte i de gængse farmakologiske testmodeller ikke udviser nogen tilsvarende antibiotisk aktivitet, hvilket er eksperimentelt verificeret.

5 Det er endvidere overraskende, at de omhandlede forbindelser har en signifikant lipidsenkende virkning, som kan påvises ved dyreforsøg, fortrinsvis med pattedyr, f.eks. rotter. Således kan sænkningen af "very low density"-, "low density"- og "high density"-lipoproteiner (VLDL, LDL  
10 og HDL) i serum påvises ved hjælp af to forsøgsmodeller, nemlig i genetisk hypercholesterolæmiske hanrotter (model A) og normolipæmiske rotter af begge køn (model B).

Testningen for antibiotisk virkning gennemføres eksempelvis in vitro ved bestemmelse af den minimale hæmnings-  
15 koncentration MIC i den konventionelle pladetest. Som mikroorganismer anvendes i det foreliggende tilfælde især Mycobacterium tuberculosis TB H<sub>37</sub>Rv og Staphylococcus aureus. Ved forbindelser med lipidsenkende indikation betragtes en antibiotisk virkning som uheldig, da den kan  
20 føre til antibiotikaresistente mikroorganismestammer, især ved langvarig indgift.

Ved de ovenfor omtalte testmetoder udviser forbindelserne ifølge opfindelsen ved gentagen indgift i dosisområdet fra ca. 1 til ca. 10 mg/kg/dag en signifikant  
25 hypolipidæmisk virkning. Det er overraskende, at forbindelserne ifølge opfindelsen praktisk taget ikke udviser antibiotisk virkning. Den minimale hæmningskoncentration for forskellige pathogene Staphylococcus aureus-stammer ligger eksempelvis over 130 µg/ml. Sådanne  
30 koncentrationer er ca. 1000 gange større end de koncentrationer, der er nødvendige for opnåelse af en tilsvarende virkning ved behandling med moderne gængse antibiotika.

Især på grund af deres LDL-sænkende virkning kan forbindelserne ifølge opfindelsen anvendes f.eks. som hypolipidæmika til behandling af hyperlipidæmier, hovedsagelig af typen IIa og IIb, og atherosklerose, f.eks. i tilfælde med hyperlipoproteinæmi som risikofaktor.

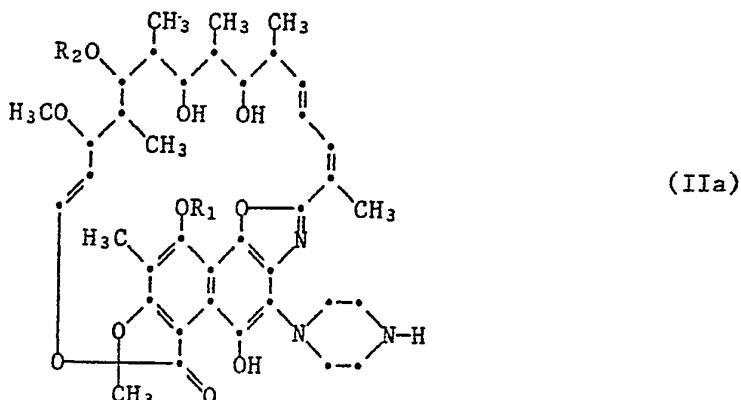
Følgelig kan forbindelserne med formlen I og deres farmaceutisk anvendelige salte anvendes som farmaceutika, f.eks. som hypolipidæmika til behandling af hyperlipidæmier, hovedsagelig af typen IIa og IIb, og af arteriosklerose i tilfælde af hyperlipoproteinæmi som risikofaktor. Opfindelsen angår tillige et farmaceutisk præparat indeholdende en forbindelse ifølge opfindelsen, især hypolipidæmika og antiarteriosklerotika, som anvendes til terapeutisk og profylaktisk behandling. Den industrielle fremstilling af de aktive forbindelser med formlen I er også omfattet af opfindelsen.

Opfindelsen angår især forbindelserne med formlen I og deres salte, hvori  $R_1$  betyder pivaloyl, og  $R_3$  betyder methyl.

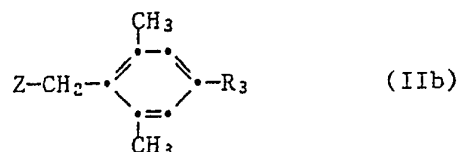
Opfindelsen angår især de i eksemplerne beskrevne hidtil ukendte forbindelser med formlen I og deres fremstilling.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at man

25 a) omsætter en forbindelse med formlen



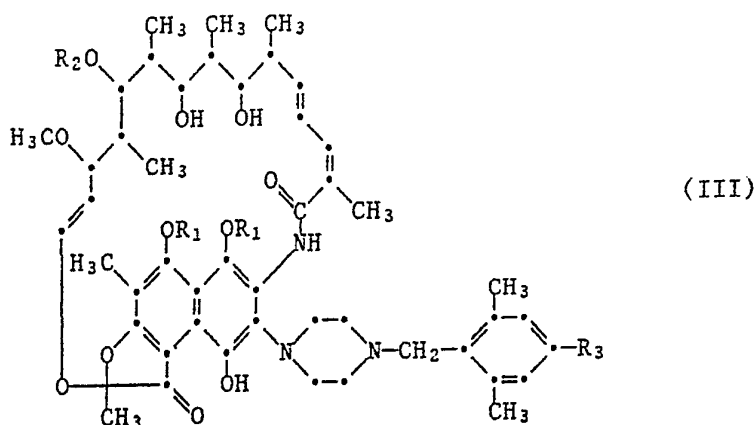
hvor  $R_1$  betyder hydrogen eller trilavalkylacetyl, og  $R_2$  betyder hydrogen eller acetyl, eller et salt deraf med en forbindelse med formelen



hvor  $Z$  betyder reaktionsdygtigt forestret hydroxy, og  $R_3$  betyder alkyl, eller

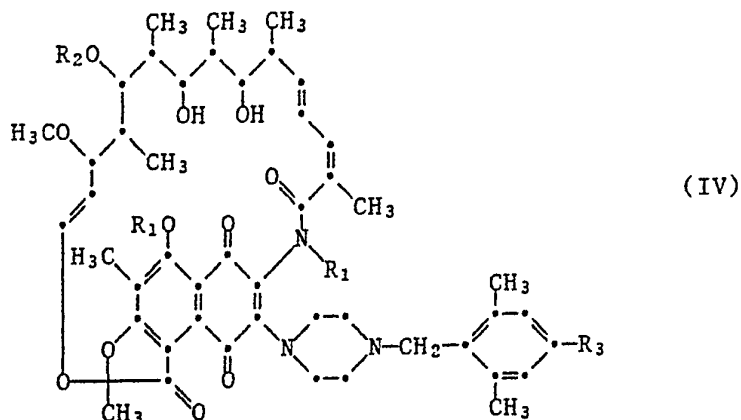
b) til fremstilling af forbindelser med formelen I eller salte deraf, hvor  $R_1$  betyder trialkylmethylcarbonyl, og

10  $R_2$  betyder acetyl, opvarmer en forbindelse med formelen



hvor  $R_1$  betyder trialkylmethylcarbonyl  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, eller

c) opvarmer eller bestråler en forbindelse med formelen



hvor  $R_1$  betyder trialkylcarbonyl,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, hvorpå man, om ønsket, omdanner en ved

- en af ovennævnte fremgangsmåder fremstillet forbindelse med formlen I eller et salt deraf til en anden forbindelse med formlen I eller et salt deraf, eller omdanner en ved
- 5 en af ovennævnte fremgangsmåder fremstillet fri forbindelse med formlen I til et salt heraf eller omdanner et ved en af ovennævnte fremgangsmåder fremstillet salt af en forbindelse med formlen I til den fri forbindelse med formlen I eller til et andet salt heraf.
- 10 Salte af udgangsforbindelserne med formlerne IIa, III og IV, som indeholder en sur phenolisk hydroxygruppe, er salte med baser af den ovenfor anførte art, medens tilsvarende udgangsforbindelser med basiske centre også kan danne syreadditionssalte analogt med forbindelserne med
- 15 formlen I.

Reaktionsdygtigt forestret hydroxy er især med en stærk uorganisk syre eller organisk sulfonsyre forestret hydroxy, eksempelvis halogen, såsom chlor, brom eller iod, sulfonyloxy, såsom hydroxysulfonyloxy, halogensulfonyloxy,

20 f.eks. fluorsulfonyloxy, eventuelt, f.eks. med halogen, substitueret C(1-7)-alkansulfonyloxy, f.eks. methan- eller trifluormethansulfonyloxy, C(5-7)-cycloalkansulfonyloxy, f.eks. cyclohexansulfonyloxy, eller eventuelt, f.eks. med C(1-7)-alkyl eller halogen, substitueret benzensulfonyl-

25 oxy, f.eks. p-brombenzen- eller p-toluensulfonyloxy.

De ovenfor og i det følgende beskrevne omsætninger gennemføres på i og for sig kendt måde, i fravær eller sædvanligvis i nærværelse af et egnet opløsningsmiddel eller fortyndingsmiddel eller i en blanding af opløsnings-

30 midler eller fortyndingsmidler, idet man efter behov arbejder under afkøling, ved stuetemperatur eller under opvarmning, f.eks. i et temperaturområde fra ca. -80°C op til kogepunktet for reaktionsmediet, fortrinsvis fra ca. -10°C op til ca. 180°C og, om nødvendigt, i en lukket

35 beholder, under tryk, i en indifferent gasatmosfære

og/eller under vandfri betingelser.

Oparbejdningen af reaktionsproduktet med formlen I fra den fremkomne reaktionsblanding gennemføres på i og for sig  
5 kendt måde, f.eks. ved fortynding med vand og/eller eventuelt ved neutralisering eller svag syrning (til pH ca. 3) med en vandig syre, såsom en uorganisk eller organisk syre, f.eks. en mineralsyre, eller fordelagtigt, citrønsyre, og tilsætning af et med vand ikke-blandbart  
10 opløsningsmiddel, såsom et chloreret carbonhydrid, f.eks. chloroform eller methylenchlorid, hvorved reaktionsproduktet med formlen I går over i den organiske fase, hvorfra det på sædvanlig måde, f.eks. ved tørring, afdampning af opløsningsmidlet og krystallisation og/eller kromatografi  
15 af remanensen eller andre gængse rensningsmetoder kan fås på rensset form.

#### Fremgangsmåde a)

Z betyder reaktionsdygtigt forestret hydroxy, fortrinsvis halogen, såsom chlor, brom eller iod, eller sulfonyloxy,  
20 såsom methan- eller p-toluensulfonyloxy.

Omsætningen gennemføres på i og for sig kendt måde, fordelagtigt i nærværelse af en base.

Som baser anvendes fortrinsvis ikke-nucleofile tertiære aminer, eksempelvis trilavalkylaminer, basiske heterocycliske forbindelser og carbocycliske aminer, såsom  
25 ethyl-diisopropylamin, triethylamin, pyridin, 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN) samt 1,8-diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU).

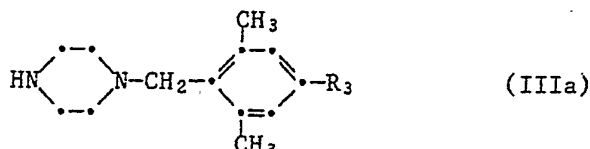
#### Fremgangsmåde b)

30 Behandlingen af forbindelser med formlen III gennemføres under opvarmning, f.eks. i et temperaturområde fra ca. 50



til 180°C, især fra ca. 100 til 170°C.

Udgangsmaterialet med formlen III kan eksempelvis fremstilles ved, at man omsætter rifamycin S eller 3-halogen-,  
5 især 3-brom-, rifamycin S med en amin med formlen



hvor  $R_3$  betyder alkyl.

Omsætningen gennemføres især i overskud af amin med formlen IIIa, eksempelvis i et temperaturområde fra ca. 0 til  
10 ca. 100°C. Der dannes en blanding af quinon- og hydroquinonformen. Denne blanding kan ved reduktion, f.eks. ved katalytisk hydrogenering, omdannes til den tilsvarende hydroquinon (derivat af rifamycin SV) ( $R_1 = H$ ). Ved  
15 behandling med tilsvarende acyleringsmidler, f.eks. med et syreanhydrid, såsom pivaloylchlorid, i nærværelse af en base, såsom pyridin, kan man få forbindelser med formlen III, hvor  $R_1$  betyder trialkylacetyl.

#### Fremgangsmåde c)

Omsætningen gennemføres især i et organisk opløsningsmiddel, f.eks. en alkohol, såsom methanol, ethanol eller  
20 isopropanol, en keton, såsom acetone eller methylethylketon, et chloreret carbonhydrid, såsom chloroform eller trichlorethan, en ether, såsom diethylether, en base, såsom pyridin eller triethylamin, eller et nitril, såsom  
25 acetonitril. Som opløsningsmiddel anvendes fortrinsvis isopropanol og pyridin.

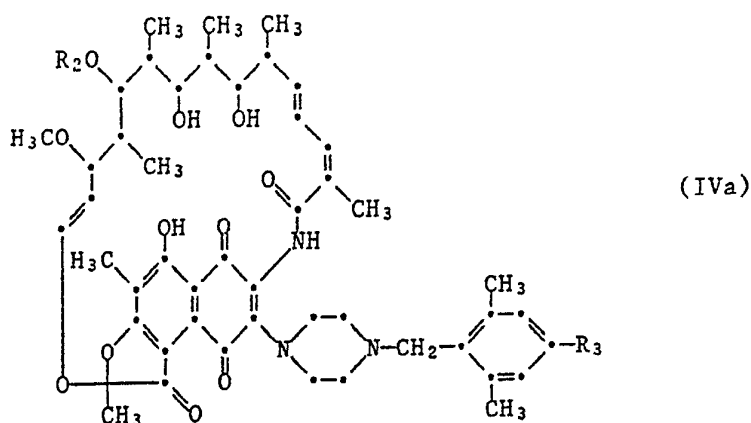
Hvis temperaturen er for lav, forløber omsætningen meget langsomt, medens der ved for høje temperaturer dannes større mængder uønskede biprodukter. Et egnet temperatur-

område er fra ca. 50 til ca. 90°C, fortrinsvis ca. 75°C.

Bestrålingen gennemføres på i og for sig kendt måde, eksempelvis under anvendelse af sædvanlige strålekilder, såsom mikrobølgebestråling.

Den dannede forbindelse med formlen I kan renses eller isoleres f.eks. ved kromatografi og/eller ved omkrystallisation fra et egnet opløsningsmiddel, såsom petroleums-ether.

10 Udgangsmaterialet med formlen IV kan fremstilles på i og for sig kendt måde, eksempelvis ved omsætning af en forbindelse med formlen



15 hvori R<sub>2</sub> betyder acetyl og R<sub>3</sub> betyder alkyl med et acyleringsreagens, som indfører trialkylacetylgruppen i position 8 og 14.

Indføringen af trialkylacetylgruppen kan gennemføres på i og for sig kendt måde under anvendelse af et egnet acyleringsmiddel, idet der anvendes mindst to ækvivalenter af acyleringsmidlet. Man kan således eksempelvis anvende en 20 trialkyleddikesyre, om nødvendigt i nærværelse af et egnet kondensationsmiddel, såsom dicyclohexylcarbodiimid, men man anvender dog fortrinsvis et reaktionsdygtigt derivat af en sådan syre, såsom et anhydrid, især et blandet

anhydrid, f.eks. med en uorganisk syre, såsom en hydrogenhalogenidsyre, især hydrogenchloridsyre eller hydrogenbromidsyre (dvs. det tilsvarende syrehalogenid, f.eks. -chlorid), eller med en organisk syre, såsom (trifluor-)eddikesyre eller en egnet kulsyremonoester eventuelt et symmetrisk anhydrid. Trialkyleddikesyre-derivatet, der anvendes som acyleringsmiddel, anvendes fortrinsvis i nærværelse af et basisk middel. Som egnede basiske midler kan især anvendes en ikke-acylerbar organisk base, såsom en heteroaromatisk base, f.eks. pyridin, collidin eller quinolin, eller en tertiær amin, f.eks. triethylamin, N-ethylpiperidin, N-methyl-morpholin eller 1,4-dimethyl-piperazin eller 1,5-diazobicyclo- [5.4.0]undec-5-en.

Acyleringen gennemføres sædvanligvis i nærværelse af et opløsningsmiddel eller fortyndingsmiddel, idet der også kan anvendes et overskud af acyleringsmidlet eller basen, f.eks. pyridin, sammen med et acyleringsmiddel. Andre opløsningsmidler, der eksempelvis ligeledes kan være blandet med en base, er f.eks. ikke-acylerbare organiske opløsningsmidler, såsom carbonhydrider, f.eks. pentan, hexan eller cyclohexan, halogenerede carbonhydrider, f.eks. methylenchlorid eller chloroform, ethere, diethyl-ether, ethylenglycoldimethylether, tetrahydrofuran eller dioxan, syreestere, såsom ethylacetat, og syreamider, f.eks. acetamid eller dimethylformamid.

Omsætningen gennemføres sædvanligvis ved stuetemperatur eller lidt højere temperatur, f.eks. op til ca. 70°C, idet omsætningen om nødvendigt gennemføres under en indifferent gasatmosfære. Acyleringsbetingelserne, især mængden af acyleringsmiddel, reaktionsmediet, temperaturen og reaktionstiden, skal vælges således, at begge acylgrupper indføres, og til dette formål anvendes fortrinsvis den i eksemplerne detaljerede beskrevne metodik. Reaktions-

forløbet kan fordelagtigt følges ved hjælp af gængse analytiske metoder, især ved tyndtlagskromatografi.

Udgangsmaterialet med formlen IVa er kendt eller kan fremstilles på i og for sig kendt måde. I denne forbindelse henvises især til det tidligere omtalte WO offentliggørelsesskrift nr. 87/02361.

En ifølge opfindelsen fremstillet forbindelse med formlen I eller et salt deraf kan på i og for sig kendt måde omdannes til en anden forbindelse med formlen I.

Forbindelser med formlen I, hvori  $R_1$  betyder hydrogen, kan acyleres på kendt måde, eksempelvis ved omsætning med en trialkyleddikesyre eller et reaktionsdygtigt derivat deraf. Sådanne reaktionsdygtige derivater er eksempelvis anhydrider, herunder blandede anhydrider, såsom et syrehalogenid, f.eks. et syrechlorid, eller anhydrider med en kulsyreester eller aktiverede carboxylsyreestere, såsom cyanmethyl-, (4)-nitrophenyl-, polyhalogenphenyl-, f.eks. pentachlorphenylester. Omsætningen med trialkyleddikesyren eller et salt deraf gennemføres under vandfraspaltningensbetingelser, f.eks. under azeotrop fjernelse af det ved reaktionen dannede vand, eller ved behandling med et egnet kondensationsmiddel, f.eks. N,N'-dicyclohexylcarbodiimid. Omsætningen med et reaktionsdygtigt trialkyleddikesyrederivat gennemføres fordelagtigt i nærværelse af en base. Tilsvarende kan acetylgruppen  $R_2$  indføres i forbindelser med formlen I, hvori  $R_2$  betyder hydrogen, ved behandling med et tilsvarende acetyleringsmiddel.

Ved behandling med stærke baser, såsom alkalimetallhydroxider, kan acetylgruppen  $R_2$  og trialkylacetylgruppen  $R_1$  ombyttes med hydrogen. Trialkylacetylgruppen  $R_1$  kan også fraspaltes selektivt i nærværelse af acetylgruppen  $R_2$ , f.eks. ved behandling med et fluorid, såsom et alkalimetallfluorid, f.eks. natrium- eller cæsiumfluorid,

eller et ammoniumfluorid, f.eks. tetrabutylammoniumfluorid.

Salte af forbindelser med formlen I kan fremstilles på i  
5 og for sig kendt måde. Således får man eksempelvis  
syreadditionssalte af forbindelser med formlen I ved  
omsætning med en syre eller et egnet ionbytteregens.  
Salte kan på sædvanlig måde omdannes til de frie forbindelser  
med formlen I, syreadditionssalte, f.eks. ved  
10 omsætning med et egnet basisk middel.

Afhængigt af fremgangsmåden eller reaktionsbetingelserne  
kan forbindelserne ifølge opfindelsen med saltdannende,  
især basiske egenskaber, fås på fri form eller fortrinsvis  
i form af salte.

15 De nye forbindelser med formlen I inklusive deres salte af  
saltdannende forbindelser kan også fås i form af hydrater  
eller indesluttende andre opløsningsmidler anvendt til  
krystallisationen.

Afhængigt af valget af udgangsforbindelser og arbejdsmåde  
20 kan de nye forbindelser med formlen I foreligge i form af  
en af de mulige isomerer eller som blandinger deraf,  
eksempelvis, afhængigt af antallet af de asymmetriske  
carbonatomer, som rene optiske isomere, såsom antipoder,  
eller som isomerblandinger, såsom racemater, diastereo-  
25 isomerblandinger eller racematblandinger.

Dannede racematblandinger kan på grund af bestanddelenes  
fysisk-kemiske forskelle adskilles på kendt måde i de rene  
isomerer eller racemater, eksempelvis ved fraktioneret  
krystallisation.

30 Dannede racemater kan endvidere på kendt måde adskilles i  
de optiske antipoder, eksempelvis ved omkrystallisation  
fra et optisk aktivt opløsningsmiddel, kromatografi på

chirale adsorptionsmidler, ved hjælp af egnede mikroorganismer, ved spaltning med specifikke, immobiliserede enzymer, over dannelsen af indslutningsforbindelser, 5 f.eks. under anvendelse af chirale kroneethere, hvorved kun én enantiomer komplekseres, eller ved omdannelse til diastereomere salte, f.eks. ved omsætning af et basisk slutproduktracemat med en optisk aktiv syre, f.eks. en carboxylsyre, såsom vinsyre eller æblesyre, eller en 10 sulfonsyre, f.eks. camphersulfonsyre, og adskillelse af den på denne måde dannede diastereomerblanding, eksempelvis som følge af bestanddelenes forskellige opløseligheder, i de diastereomerer, hvorfra den ønskede enantiomer kan frigøres ved behandling med et egnet 15 middel. Med fordel isoleres den mere virksomme enantiomer.

Opfindelsen angår også sådanne udførelsesformer for fremgangsmåden, ved hvilke man anvender udgangsmaterialet med formlen IIa i form af et salt.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes fortrinsvis 20 sådanne udgangsforbindelser, som fører til de ovenfor beskrevne særligt foretrukne forbindelser med formlen I.

Forbindelserne med formlen I og salte deraf kan anvendes alene eller sammen med hjælpestoffer samt i kombination med andre aktive stoffer som middel til terapeutisk, dvs. 25 såvel kurativ som præventiv behandling af sygdomme eller sygdomsagtige tilstande, der indiceres eller forårsages af f.eks. et forøget kolesterolindhold og/eller triglyceridindhold i blodet, især i blodserum. De omhandlede aktive forbindelser indgives i terapeutisk virksomme mængder, 30 fortrinsvis i form af farmaceutiske sammensætninger sammen med konventionelle farmaceutiske bærematerialer og/eller hjælpestoffer til varmblodede dyr eller især mennesker, som har behov herfor. Til et varmblodet dyr eller menneske indgives afhængigt af legemsvægt, alder og individuel 35 tilstand dagsdoser svarende til ca. 1 til ca. 100, især

ca. 3 til ca. 50 mg pr. kg legemsvægt, som i svære tilfælde kan overskrides.

Opfindelsen angår desuden farmaceutiske præparater, der  
5 indeholder de omhandlede forbindelser eller farmaceutisk  
anvendelige salte deraf som aktive stoffer.

De omhandlede farmaceutiske præparater, som indeholder den  
omhandlede forbindelse eller farmaceutisk anvendelige  
salte deraf, er præparater til enteral, såsom oral eller  
10 rektal indgift, og parenteral indgift til mennesker eller  
varmblodede dyr, idet det farmakologisk virksomme stof  
forekommer alene eller sammen med et farmaceutisk anvende-  
ligt bæremateriale.

De omhandlede farmaceutiske præparater indeholder f.eks.  
15 fra ca. 10 til ca. 80%, fortrinsvis fra ca. 20 til ca.  
60%, aktiv forbindelse med formlen I eller et farmaceutisk  
acceptabelt salt deraf. Farmaceutiske præparater til  
entereal eller parenteral indgift er eksempelvis sådanne  
på dosisenhedsformer, såsom dragéer, tabletter, kapsler  
20 eller suppositorier, endvidere ampuller. Disse fremstilles  
på i og for sig kendt måde, f.eks. ved hjælp af konventio-  
nelle blandings-, dragérings-, opløsnings- eller lyofili-  
seringsfremgangsmåder. Man kan således fremstille farma-  
ceutiske præparater til oral indgift ved at kombinere det  
25 virksomme stof med faste bærestoffer, eventuelt granulere  
en dannet blanding og forarbejde blandingen eller granu-  
latet, om ønsket eller om nødvendigt, efter tilsætning af  
egnede hjælpestoffer, til tabletter eller dragékerner.

Egnede bærestoffer er især fyldstoffer, såsom sukkerarter,  
30 f.eks. lactose, saccharose, mannitol eller sorbitol,  
cellulosepræparater og/eller calciumphosphater, f.eks.  
tricalciumphosphat eller calciumhydrogenphosphat,  
endvidere bindemidler, såsom stivelsesklister, under  
anvendelse f.eks. af majs-, hvede-, ris- eller kartoffel-

stivelse, gelatine, traganth, methylcellulose og/eller polyvinylpyrrolidon, om ønsket, disintegreringsmidler, såsom de ovenfor anførte stivelsesarter, tillige carboxy-  
5 methylstivelse, tværbundet polyvinylpyrrolidon, agar, alginsyre eller et salt deraf, såsom natriumalginat. Hjælpemidler er i første række strømningsmidler, strøm-  
ningsregulerende midler og smøremidler, f.eks. kiseltsyre, talkum, stearinsyre eller salte deraf, såsom magnesium-  
10 eller calciumstearat, og/eller polyethylenglycol. Dragékerner forsynes med egnede, eventuelt mavesaftresistente overtræk, idet man bl.a. anvender koncentrerede sukker-  
opløsninger, som eventuelt indeholder gummiarabicum, talkum, polyvinylpyrrolidon, polyethylenglycol og/eller  
15 titandioxid, lakopløsninger i egnede organiske opløsningsmidler eller opløsningsmiddelblandinger eller, til fremstilling af mavesaftresistente overtræk, opløsninger af egnede celleulosepræparater, såsom acetylcellulosephthalat eller hydroxypropylmethylcellulosephthalat.  
20 Tabletterne eller dragéovertrækkene kan tilsættes farvestoffer eller pigmenter, f.eks. til identificering eller til karakterisering af forskellige doser aktivt stof.

Andre farmaceutiske præparater til oral anvendelse er stikkapsler af gelatine, samt bløde, lukkede kapsler af  
25 gelatine og en blødgører, såsom glycerol eller sorbitol. Stikkapslerne kan indeholde det aktive stof i form af et granulat, f.eks. i blanding med fyldstoffer, såsom lactose, bindemidler, såsom stivelse, og/eller glittemidler, såsom talkum eller magnesiumstearat, og eventuelt  
30 stabilisatorer. I bløde kapsler er det virksomme stof fortrinsvis opløst eller suspenderet i egnede væsker, såsom fede olier, paraffinolie eller flydende polyethylenglycoler, idet der ligeledes kan være tilsat stabilisatorer.

35 Farmaceutiske præparater til rektal anvendelse er eksempelvis suppositorier, som består af en kombination af det



aktive stof med en suppositoriegrundmasse. Som suppositoriegrundmasse kan eksempelvis anvendes naturlige eller syntetiske triglycerider, paraffincarbonhydrider, polyethylenglycoler eller højere alkanoler. Man kan endvidere også anvende gelatinerektalkapsler, som indeholder en kombination af det virksomme stof med grundmassestof. Som grundmassestoffer kan eksempelvis anvendes flydende triglycerider, polyethylenglycoler eller paraffincarbonhydrider.

Til parenteral indgift anvendes i første række vandige opløsninger af et aktivt stof i vandopløselig form, f.eks. et vandopløseligt salt, endvidere suspensioner af det aktive stof, såsom tilsvarende olieinjektionssuspensioner, hvortil man anvender egnede lipofile opløsningsmidler eller bærestoffer, såsom fede olier, f.eks. sesamolie, eller syntetiske fedtsyrestere, f.eks. ethyloleat eller triglycerider, eller vandige injektionssuspensioner, som indeholder viskositetsforøgende stoffer, f.eks. natriumcarboxymethylcellulose, sorbitol og/eller dextrans, og eventuelt også stabilisatorer.

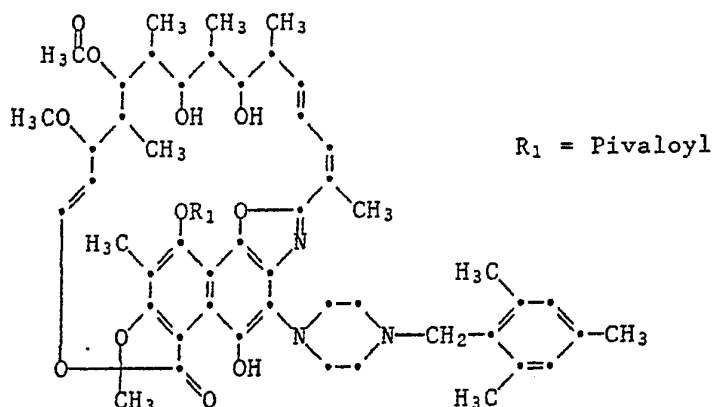
Doseringen af en forbindelse med formlen I afhænger af det pågældende menneske eller den pågældende varmbloddyreart, alderen og den individuelle tilstand samt af applikationsmåden. Sædvanligvis tilrådes en omtrentlig dagsdosis på fra ca. 150 mg op til ca. 1500 mg fordelt i flere ens deldoser ved oral applikation til et menneske eller varmblodet dyr med en legemsvægt på ca. 75 kg.

Opfindelsen illustreres nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler.

Eksempel 1

30 g 1,8-di-O-pivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-  
 piperazin-1-yl]-rifamycin SV opløses i varmen i 1000 ml  
 5 2-methoxyethanol, og opløsningen koges under nitrogen i  
 5 timer med tilbagesvaling. Derefter afdampes opløsnings-  
 midlet i vakuum, og remanensen omkrystalliseres to gange  
 fra methanol. På denne måde får man 8-O-pivaloyl-1-desoxy-  
 15-dexoso-1,15-oxy-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-  
 10 1-yl]-rifamycin med formlen I, hvori R<sub>1</sub> betyder pivaloyl,  
 R<sub>2</sub> betyder acetyl, og R<sub>3</sub> betyder methyl. Smeltepunkt:  
 160-165°C.

C<sub>56</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>, M = 979, fundet (MS): 979, <sup>1</sup>H-NMR (360 MHz,  
 CDCl<sub>3</sub>, TMS): 1,49 (s, 9H, pivaloyl ved O-8).



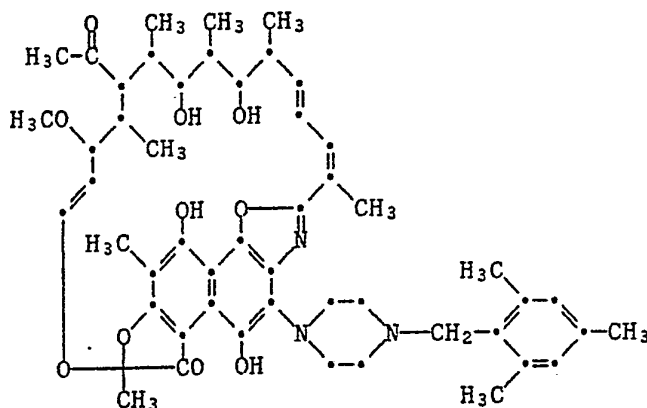
Udgangsmaterialet kan fremstilles på følgende måde:  
 En blanding af 5 g 3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-  
 piperazin-1-yl]-rifamycin SV, 50 ml tør pyridin og 4,5 ml  
 pivaloylchlorid holdes i 30 minutter på 50°C. Derefter  
 20 afdampes opløsningsmidlet i vakuum. Den olieformige  
 remanens opløses i ethylacetat, og opløsningen vaskes med  
 2 N saltsyre, med pufferopløsning med pH-værdi 7 og med  
 natriumchloridopløsning. Efter tørring med natriumsulfat  
 og indampning krystalliseres den gule remanens fra

ether/hexan. På denne måde får man 1,8-di-O-pivaloyl-  
 3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-1-yl]-rifamycin SV  
 med smeltepunkt 203-204°C.  $C_{61}H_{83}N_3O_{16}$ , M: 1081 (fundet  
 5 MS).

### Eksempel 2

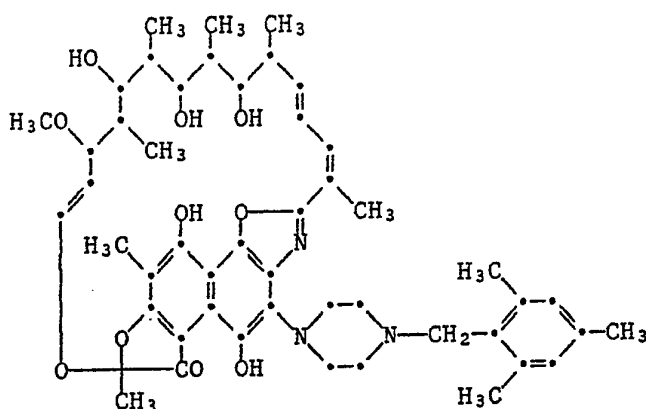
Til en opløsning af 10,7 g af den ovenfor i eksempel 1  
 fremstillede forbindelse i 200 ml tetrahydrofuran sættes  
 portionsvis tetrabutylammoniumfluorid-trihydrat, indtil  
 10 opløsningens i begyndelsen røde farve slår om til gul.  
 Derefter tilsættes vand, syrnes med citronsyre, og  
 reaktionsproduktet optages i ethylacetat. Efter vaskning  
 af ethylacetatekstrakten med vand og natriumchlorid-  
 opløsning tørres den med natriumsulfat og inddampes i  
 15 vakuum. Remanensen krystalliseres fra ether. På denne måde  
 får man 1-desoxy-15-desoxo-1,15-oxy-3-[4-(2,4,6-trimethyl-  
 benzyl)-piperazin-1-yl]-rifamycin med formlen I, hvori  $R_1$   
 betyder hydrogen,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder methyl,  
 i lange citrongule prismer, som omkrystalliseres fra  
 20 methanol/vand. Smp. 175°C.

$C_{51}H_{65}N_3O_{11}$ , M: 895 (fundet MS, FD). UV-spektrum i  
 0,01 N alkoholisk HCl, maxima i nm/ $\epsilon$ : 241/37240,  
 298/23000, 330 (skulder), 437/9920.



Eksempel 3

En opløsning af den ovenfor i eksempel 2 fremstillede forbindelse i dioxan-1 N natriumhydroxid (1:1) henstår i 5 21 timer ved stuetemperatur. Derefter fortyndes opløsningen med vand og syrnes med citronsyre, og reaktionsproduktet optages i ethylacetat og krystalliseres fra ethylacetat/ether. På denne måde får man 25-desacetyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-1-yl]-1-desoxy-15-desoxy-10 1,15-oxy-rifamycin med formlen I, hvori  $R_1$  betyder hydrogen,  $R_2$  betyder hydrogen, og  $R_3$  betyder methyl, i form af gule krystaller med smp. 190-195°C (sønderdeling).  $C_{49}H_{63}N_3O_{10}$ , M: 853 (fundet MS, FD).



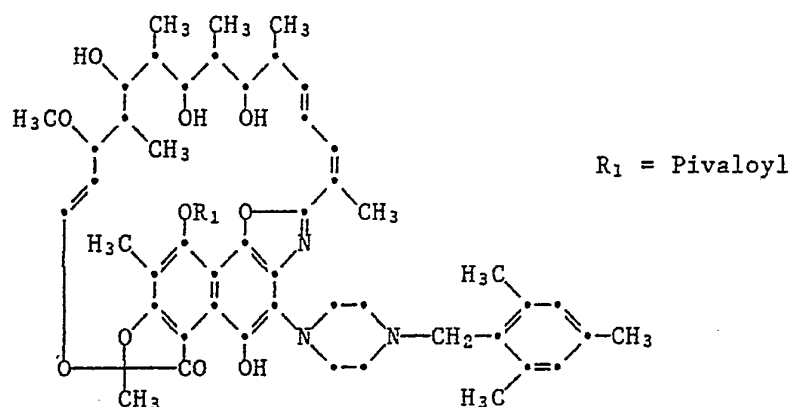
15

Eksempel 4

Til en opløsning af den ovenfor i eksempel 3 fremstillede forbindelse i pyridin sættes 10 ækvivalenter pivaloylchlorid, og blandingen henstår ved stuetemperatur, indtil der ved tyndtlagskromatografi ikke længere kan konstateres 20 noget udgangsmateriale i reaktionsproduktet. Opløsningen indampes hurtigt i højvakuum til tørhed, reanensen optages i methylenchlorid, methylenchloridekstrakten vaskes med citronsyreopløsning, pufferopløsning med pH-værdi 7 og mættet natriumchloridopløsning i nævnte

rækkefølge. Efter tørring og inddampning af methylenchloridekstrakten fås en rød remanens, som består af 25-desacetyl-8-O-pivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-1-yl]-1-desoxy-15-desoxo-1,15-oxy-rifamycin med formelen I, hvori R<sub>1</sub> betyder pivaloyl, R<sub>2</sub> betyder hydrogen, og R<sub>3</sub> betyder methyl.

C<sub>54</sub>H<sub>71</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>, M: 937 (fundet MS, FD). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 360 MHz): signal for pivaloylgruppen ved 1,41 (s, 9H, CH<sub>3</sub>C).



#### Eksempel 5

4 g 8-O,N-dipivaloyl-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-1-yl]-rifamycin S (fremstillet ifølge beskrivelsen til WO87/02361, eksempel 1) opvarmes under beskyttelse mod lys i 70 ml isopropanol i et trykrør i 4 timer til 100°C. Derefter fjernes opløsningsmidlet i vakuum, og den mørkerøde remanens kromatograferes på 600 g kiselgel (Merck) med petroleumsether/ethylacetat (3:2). De i de to første zoner indeholdte stoffer kasseres. Den derefter følgende røde fraktion indeholder den ovenfor i eksempel 1 fremstillede forbindelse. Yderligere produkt, som befinder sig på kromatografisøjlen, elueres med ethylacetat/methanol (9:1) og renses endnu en gang ved yderligere kromatografering. Efter inddampning af eluatet får man den i eksempel 1 karakteriserede 8-O-pivaloyl-1-desoxy-15-desoxo-1,15-oxy-3-[4-(2,4,6-trimethylbenzyl)-piperazin-1-yl]-rifamycin.

Eksempel 6

Kapsler indeholdende 250 mg aktiv forbindelse med formlen I, f.eks. forbindelsen med formlen I, hvori  $R_1$  betyder pivaloyl,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder methyl, kan fremstilles på følgende måde:

Sammensætning (for 1000 kapsler):

|    |                           |         |
|----|---------------------------|---------|
|    | Forbindelse med formlen I | 250,0 g |
|    | Majsstivelse              | 50,0 g  |
| 10 | Polyvinylpyrrolidon       | 15,0 g  |
|    | Magnesiumstearat          | 5,0 g   |
|    | Ethanol                   | q.s.    |

Forbindelsen med formlen I blandes med majsstivelsen, og blandingen fugtes med en opløsning af polyvinylpyrrolidon i 50 g ethanol. Den fugtige masse presses gennem en sigte med en maskevidde på 3 mm, og granulatet tørres ved 45°C. Det tørre granulat sigtes gennem en sigte med en maskevidde på 1 mm og blandes derpå med 5 g magnesiumstearat. Blandingen fyldes i portioner på 0,320 g i stikkapsler i størrelse 0.

På tilsvarende måde kan man også anvende de øvrige i eksemplerne fremstillede forbindelser som aktive komponenter.

Eksempel 7

25 250 g aktiv forbindelse med formlen I ifølge et af eksemplerne 1-5 og 1750 g finrevet suppositoriegrundmasse (f.eks. kakaosmør) blandes grundigt, hvorpå blandingen smeltes. Af smelten, som holdes homogen ved omrøring, støbes 1000 suppositorier af 2 g. Hver suppositorie 30 indeholder 250 mg aktivt stof.

Eksempel 8

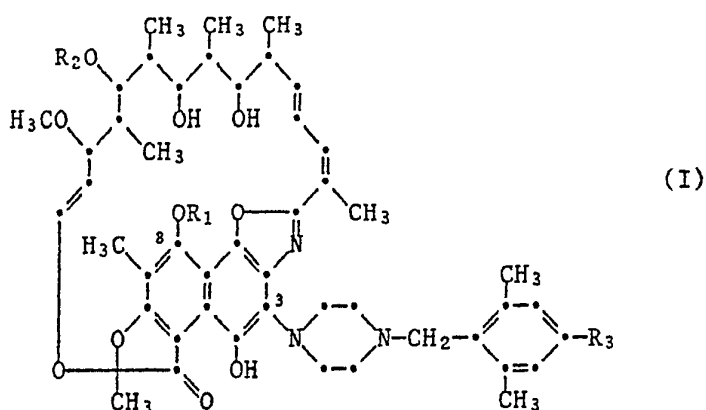
Som forsøgsdyr anvendes albinorotter med en legemsvægt på 180-240 g, nemlig Sprague Dawley-afkom af stammen COBS, som har fri adgang til standard-rottefoder og drikkevand. Forsøgsforbindelsen med formlen I indgives oralt i en 3%'s majsstivelsesopløsning til grupper på 8-10 rotter daglig i 5 på hinanden følgende dage. Dyrene aflive 2 timer efter den sidste indgivelse ved stik i hjertet og afstrømning af blod under anæstesi med carbondioxid. I 16 timer inden dødstidspunktet gives dyrene ikke længere foder. Det totale kolesterol-, lipoprotein- og triglyceridblodplasma-spejl bestemmes separat for hver enkelt forsøgsdyr. Til bestemmelse af lipoproteinerne udfældes VLDL- og LDL-fraktionerne i 1 ml med ethylendiamintetraeddikesyre mod koagulering beskyttet plasma ved tilsætning af 200 enheder heparin og af manganchlorid til en slutkoncentration på 46 mmol/l, hvorpå fraktionerne isoleres ved centrifugering. Supernatanten blandes med det resterende plasma, og den enzymatiske bestemmelse af kolesterol- og triglycerid-indholdet foretages ved hjælp af f.eks. testsystemerne fra Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Før forsøgets start er det gennemsnitlige kolesterol-indhold 69,4 mg/100 ml plasma. Den procentvise reduktion af plasmacholesterolinholdet fremkaldt af forsøgsforbindelserne med formlen I fremgår af nedenstående tabel

| Forbindelse<br>ifølge eks. nr. | Dosis<br>mg/kg | Reduktion<br>% |
|--------------------------------|----------------|----------------|
| 1                              | 10             | 46             |
| 30 1                           | 30             | 60             |
| 2                              | 30             | 70             |
| 4                              | 10             | 38             |

## P A T E N T K R A V

1. Substituerede azacyclohexylderivater af rifamyciner med formlen



hvor  $R_1$  betyder hydrogen eller trialkylacetyl,  $R_2$  betyder hydrogen eller acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, og salte deraf.

2. Forbindelse ifølge krav 1, kendetegnet ved, at  $R_1$  betyder tri-C(1-7)-alkyl-acetyl, især tri-C(1-4)-alkyl-acetyl, og  $R_3$  betyder C(1-7)-alkyl, især C(1-4)-alkyl.
3. Forbindelse ifølge krav 1, kendetegnet ved, at  $R_1$  betyder pivaloyl og  $R_3$  betyder methyl.
4. Forbindelse ifølge krav 1, kendetegnet ved, at  $R_1$  betyder pivaloyl,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder methyl.
5. Forbindelse ifølge krav 1, kendetegnet ved, at  $R_1$  betyder pivaloyl,  $R_2$  betyder hydrogen, og  $R_3$  betyder methyl.
6. Forbindelse ifølge et af kravene 1-5, kendetegnet ved, at den foreligger i form af et farmaceutisk anvendeligt salt.

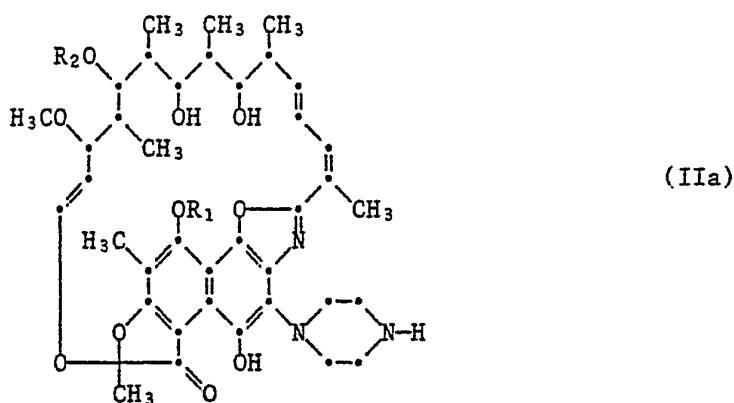


7. Forbindelse ifølge et af kravene 1-6 til anvendelse som hypolipidæmikum og antisklerotikum.

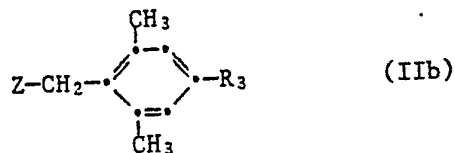
8. Farmaceutisk præparat, kendetegnet ved, at det som aktivt stof indeholder en forbindelse ifølge et af kravene 1-5 i fri form eller i form af et farmaceutisk anvendeligt salt.

9. Fremgangsmåde til fremstilling af en forbindelse ifølge et af kravene 1-5, kendetegnet ved, at man

10 a) omsætter en forbindelse med formlen



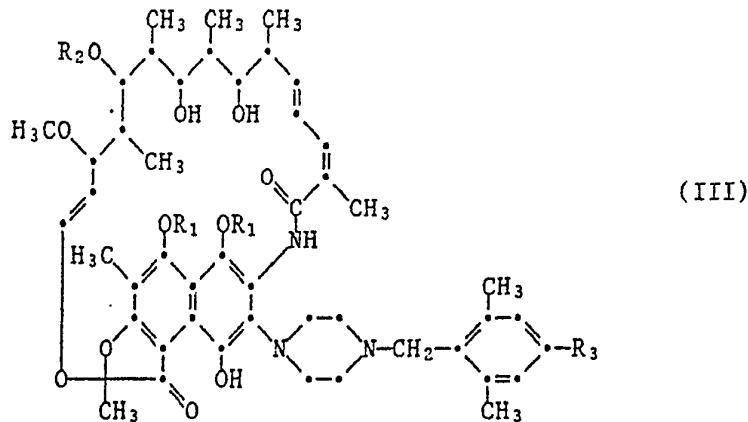
hvor  $R_1$  betyder hydrogen eller trialkylacetyl, og  $R_2$  betyder hydrogen eller acetyl, eller et salt deraf med en forbindelse med formlen



hvor  $Z$  betyder reaktionsdygtigt forestret hydroxy, og  $R_3$  betyder alkyl, eller

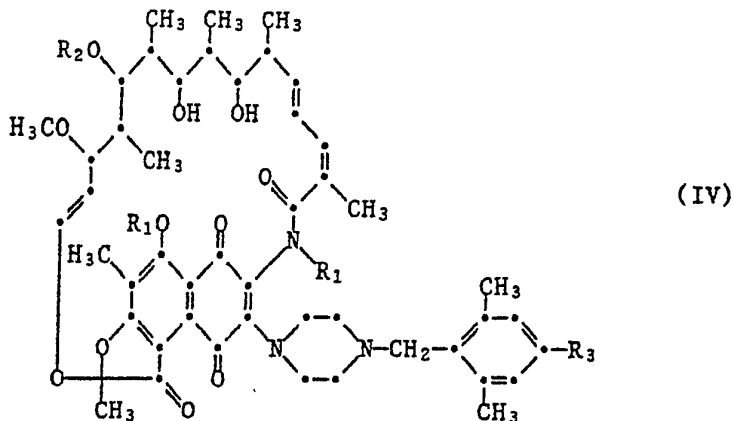
b) til fremstilling af forbindelser med formlen I eller salte deraf, hvor  $R_1$  betyder trialkylmethylcarbonyl, og  $R_2$  betyder acetyl, opvarmer en forbindelse med formlen

20



hvor  $R_1$  betyder trialkylmethylcarbonyl,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, eller

5 c) opvarmer eller bestråler en forbindelse med formlen



hvor  $R_1$  betyder trialkylmethylcarbonyl,  $R_2$  betyder acetyl, og  $R_3$  betyder alkyl, hvorpå man, om ønsket, omdanner en ved en af ovennævnte fremgangsmåder frem-

10 stillet forbindelse med formlen I eller et salt deraf til en anden forbindelse med formlen I eller et salt deraf, eller omdanner en ved en af ovennævnte fremgangsmåder fremstillet fri forbindelse med formlen I til et salt heraf eller omdanner et ved en af ovennævnte fremgangs-

15 måder fremstillet salt af en forbindelse med formlen I til den fri forbindelse med formlen I eller til et andet salt heraf.