



CONFEDERAZIONE SVIZZERA
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

Int. Cl.³: C 07 D 498/08

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein
Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein



FASCICOLO DEL BREVETTO A5

11

636 619

21 Numero della domanda: 12179/78

73 Titolare/Titolari:
Alfa Farmaceutici S.p.A., Bologna (IT)

22 Data di deposito: 28.11.1978

30 Priorità: 29.11.1977 IT 3620/77

72 Inventore/Inventori:
Egidio Marchi, Casalecchio di Reno (IT)
Lauretta Montecchi, Casalecchio di Reno (IT)

24 Brevetto rilasciato il: 15.06.1983

45 Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 15.06.1983

74 Mandatario:
Patentanwaltsbureau Isler & Schmid, Zürich

54 Procedimento per la preparazione di 3 iodo e 3 bromorifamicina S.

57 La 3 iodo e 3 bromorifamicina S è preparato con buona resa in che si fa reagire la rifamicina S con almeno due equivalenti di iodo o bromo per mole di rifamicina S, in presenza di al meno 1 mole di piridina per ogni equivalente di alogeno e in presenza di un solvente inerte, polare ed idrofilo.

I prodotti ottenuti sono utili come intermedi per la sintesi di derivati dotati di attività microbiologica.

RIVENDICAZIONI

1. Procedimento per la preparazione della 3 iodio e della 3 bromorifamicina S caratterizzato dal fatto che si fa reagire la rifamicina S con almeno due equivalenti di un alogeno scelto dal gruppo che comprende iodio e bromo, per mole di rifamicina S, in presenza di almeno una mole di piridina per ogni equivalente di alogeno ed in presenza di un solvente inerte polare ed idrofilo, operando ad una temperatura non superiore alla temperatura ambiente.

2. Procedimento secondo la rivendicazione 1 per la preparazione della 3 iodiorifamicina S caratterizzato dal fatto che si impiegano da 2 a 6 equivalenti di iodio per mole di rifamicina S, da 1 a 10 moli di piridina per equivalente di iodio e si opera ad una temperatura nell'intorno della temperatura ambiente.

3. Procedimento secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che si impiegano 4 equivalenti di iodio per mole di rifamicina S.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 1 per la preparazione della 3 bromorifamicina S caratterizzato dal fatto che si impiegano da 2 a 4 equivalenti di bromo per mole di rifamicina S, 1 mole, o un leggero eccesso rispetto a tale quantità, di piridina per equivalente di bromo e si opera ad una temperatura compresa fra -10 e $+15^{\circ}\text{C}$ e preferibilmente all'intorno di 0°C .

5. Procedimento secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che si impiegano 3 equivalenti di bromo per mole di rifamicina S.

6. Procedimento secondo una delle rivendicazioni 1 a 5, caratterizzato dal fatto che come solventi inerti polari e idrofili si impiegano: metanolo, etanolo; diossano, acetone, nitrile, dimetilformamide, tetraidrofurano, dimetilsolfossido, miscele di tali solventi con acqua e nel solo caso dello iodio, piridina e piridina acquosa.

La presente invenzione si riferisce ad un procedimento perfezionato per la preparazione della 3 iodio e 3 bromorifamicina S.

Le 3 alogenorifamicine S ed SV sono note da M. F. Dampier, C. W. Chen, H. W. Whitlock Jr.: Journ. of Am. Chem. Soc. 98 : 22 (ottobre 1976) pagg. 7065-7066.

Il procedimento di preparazione della 3 iodiorifamicina S descritto consiste nel fare reagire una mole di rifamicina SV con una mole di iodio allo stato solido in presenza di piridina e ad una temperatura di 25°C .

Il prodotto di reazione viene poi trattato con una soluzione acquosa di ferricianuro di potassio e purificato per passaggio attraverso una colonna cromatografica contenente silice gel.

La resa in 3 iodiorifamicina S purificato è del 37%.

Nello stesso articolo è descritto il procedimento di preparazione della 3 bromorifamicina S che consiste nel fare reagire una mole di rifamicina SV con 1,8 moli di perbromuro di piridina, in etanolo, a bassa temperatura.

Il prodotto di reazione viene purificato per cromatografia attraverso una colonna di gel di silice.

La resa in 3 bromorifamicina S purificata è del 30%.

La 3 iodio e la 3 bromorifamicina S vengono trasformate nelle rispettive 3 iodio e 3 bromorifamicine SV per trattamento in soluzione di metanolo acquoso al 66%, con acido ascorbico.

I 3 alogenoderivati della Rifamicina S o SV sono intermedi utili per la sintesi di derivati della Rifamicina S ed SV dotati di attività microbiologica. Tuttavia le basse rese nei 3 alogenoderivati, realizzabili con i procedimenti noti non ne permettono una pratica utilizzazione industriale.

Oggetto della presente invenzione è un procedimento perfezionato per la preparazione della 3 iodio e della 3 bromo rifamicina S che consiste nel fare reagire la rifamicina S con almeno 2 equivalenti di un alogeno scelto dal gruppo che comprende iodio e bromo per mole di rifamicina S, in presenza di almeno una mole di piridina per ogni equivalente di alogeno ed in presenza di un solvente inerte polare ed idrofilo ad una temperatura non superiore alla temperatura ambiente.

10 Il procedimento in oggetto della presente invenzione permette di ottenere la 3 iodio e la 3 bromo rifamicina S con rese molto elevate, nell'ordine dell'85-96% e anche superiori e con un grado di purezza così elevato da permettere il diretto impiego come intermedi per la preparazione 15 di derivati senza richiedere ulteriori purificazioni.

È tuttavia possibile sottoporre la 3 iodio e la 3 bromo rifamicina S ottenuta con il procedimento oggetto della presente invenzione ad un processo di purificazione come per esempio la cromatografia su colonna di gel di silice, 20 come descritto nella tecnica nota o la cristallizzazione da opportuno solvente.

Le quantità di alogeno da utilizzare nella esecuzione della presente invenzione possono variare a seconda del tipo di alogeno utilizzato, della temperatura e del solvente. Si è 25 constatato infatti che nel caso dello iodio si ottengono risultati soddisfacenti usando da 2 a 6 equivalenti di alogeno per mole di rifamicina S. I migliori risultati vengono ottenuti impiegando 4 equivalenti di iodio. Nel caso del bromo, risultati soddisfacenti vengono ottenuti impiegando da 2 a 4 30 equivalenti di bromo per mole di rifamicina S. I migliori risultati vengono ottenuti impiegando 3 equivalenti di bromo.

La quantità preferita di piridina riferita ad un equivalente di alogeno è, nel caso del bromo, di una mole o un 35 leggero eccesso rispetto a tale quantità.

Nel caso dello iodio la quantità preferita di piridina è compresa fra 1 mole e 10 moli. Si è infatti constatato che un tale eccesso di piridina, nel caso dello iodio non è dannosa al buon andamento della reazione.

40 La temperatura preferita di reazione, è connessa al tipo di alogeno utilizzato, ai rapporti ponderali dei reagenti, al tipo e alla quantità di solvente utilizzati.

Nel caso dello iodio la temperatura preferita è nell'intorno della temperatura ambiente mentre nel caso del bromo essa è compresa nell'intervallo fra -10 e $+15^{\circ}\text{C}$ con una ulteriore preferenza per temperature intorno a 0°C .

I solventi utilizzabili per l'esecuzione del procedimento secondo la presente invenzione sono solventi inerti, polari ed idrofili. Esempi di tali solventi sono: metanolo, etanolo, 50 diossano, acetone, nitrile, dimetilformamide, tetraidrofurano, dimetilsolfossido, miscele di tali solventi con acqua e, nel caso dello iodio, piridina e piridina acquosa.

I solventi preferiti nel caso dello iodio sono metanolo, etanolo e loro miscele con acqua; nel caso del bromo sono 55 diossano, metanolo, etanolo ed acetone, nitrile.

Al termine della reazione è opportuno eliminare l'alogeno libero; nel caso dello iodio è sufficiente portare a secco più volte la massa di reazione per cui si ha una sublimazione dello iodio. Nel caso del bromo è preferibile trattare la massa di reazione con riducenti al fine di trasformare il bromo elementare in ioni bromo facilmente eliminabili mediante lavaggi. Fra i riducenti che possono essere utilizzati per questo scopo ve ne sono alcuni (ad esempio tiolsolati alcalini in soluzioni acquose diluite) che riducono solamente il bromo, lasciando inalterate la 3 bromorifamicina S 60 formata; altri invece (ad esempio: acido ascorbico, anidride solforosa, ecc.) riducono anche la 3 bromorifamicina S a 3 bromorifamicina SV. In quest'ultimo caso è necessario

ripristinare la forma S mediante trattamento con opportuni ossidanti (es. Biossido di manganese, ferricianuro di potassio, cloruro ferrico, ossido d'argento, ecc.).

I seguenti esempi sono forniti a scopo illustrativo della presente invenzione. Le cromatografie su strato sottile (TLC) in essi riferite sono state eseguite su strati di gel di silice 60 F₂₅₄ di spessore 0,2 mm su lastre di alluminio (Merck). I valori di R_f forniti per i prodotti sono riferiti all'R_f della rifamicina S.

Esempio 1

Preparazione del 3 iodiorifamicina S

In 8 ml di piridina (99 m.moli) vengono disciolti a freddo e sotto agitazione, mg 508 (4 m.equivalenti) di iodio. Dopo 5 minuti si aggiungono mg 696 (1 m.mole) di rifamicina S. Dopo 40 minuti di agitazione a temperatura inferiore a 15°C si aggiungono 200 ml di cloroformio. Si lava la fase organica con acido cloridrico acquoso 0,1 N e poi con acqua. Si anidrifica la fase organica e si porta a secchezza. Si aggiunge ancora cloroformio e si riporta a secchezza. L'operazione viene ripetuta più volte per allontanare lo iodio. Il residuo, disciolto con cloroformio viene trattato con n-esano ottenendo un precipitato di 840 mg di prodotto grezzo contenente 700 mg di 3 iodio-rifamicina S (resa 85% del teorico). Il prodotto grezzo può essere direttamente utilizzato come intermedio per ulteriori reazioni.

Il prodotto viene purificato mediante soluzione in 3 ml di una miscela di cloroformio/metanolo 40/1 (v,v) contenente lo 0,1% (p/v) di acido ossalico e semina in una colonna cromatografica di gel di silice ($\varnothing = 2,5$ cm, h = 20 cm). Come eluente viene usata la stessa miscela solvente di cui sopra.

Le frazioni contenenti un prodotto arancio-bruno e che presentano per il TLC un R_f = 0,6 (cloroformio 40/metanolo 1), corrispondente alla 3 iodiorifamicina S vengono raccolte, lavate prima con soluzione acida poi con acqua e infine anidrificate e portate a secchezza.

Si ottengono mg 670 di 3 iodiorifamicina S pura (resa 81,5%).

Esempio 2

A 2 ml (25 m.moli) di piridina vengono addizionati, sotto agitazione, mg 508 (4 m.equivalenti) di iodio. Dopo 5 minuti si aggiungono 8 ml di etanolo, 696 mg di rifamicina S (1 m.mole) e infine 3 ml di acqua. Dopo 40 minuti di agitazione a temperatura ambiente si aggiungono 300 ml di cloroformio.

La soluzione in cloroformio viene trattata come descritto all'esempio 1 ottenendo mg 825 di prodotto grezzo contenenti mg 757 di 3 iodiorifamicina S (resa 92% del teorico).

La prova è stata ripetuta impiegando acetato di etile al posto del cloroformio ottenendo un risultato (resa e purezza) praticamente uguale a quello precedente.

Esempio 3

Si opera come all'esempio 2. Al termine della reazione, anziché cloroformio si aggiungono 10 ml di una miscela metanolo/acqua 70/30 (v/v) contenente g 0,700 di acido ascorbico. Si agita per circa 15 minuti, poi si concentra sotto vuoto a circa un terzo del volume iniziale. Si aggiungono 100 ml di acetato di etile e si lava più volte con acqua per eliminare la piridina.

Si essicca su solfato sodico anidro e si porta a secchezza ottenendo 840 mg di prodotto contenente mg 740 di 3 iodiorifamicina SV (resa 90%).

Il prodotto può già essere utilizzato per ulteriori reazioni.

Per la trasformazione nella corrispondente 3 iodiorifamicina S il prodotto viene disciolto in un solvente organico, ossidato mediante biossido di manganese e purificato come descritto negli esempi precedenti.

Esempio 4

Preparazione della 3 bromorifamicina S

A g 2,37 (30 m.moli) di piridina vengono aggiunti, a -5°C e sotto agitazione, g 2,39 (30 m.equivalenti) di bromo. Dopo 5 minuti si aggiungono 150 ml di etanolo e g 6,96 (10 m.moli) di rifamicina S. Dopo 15 minuti di agitazione a temperatura fra -10 e 0°C la reazione viene interrotta aggiungendo 300 ml di etile acetato e lavando la fase organica ripetutamente con soluzione 0,1 N di tiosolfato sodico fino a completa riduzione del bromo, quindi con soluzione acida diluita per eliminare la piridina ed infine con acqua. Si anidrifica la fase organica e si porta a secco.

La 3 bromorifamicina S viene disciolta in cloroformio e precipitata con n-esano.

Si ottengono g 7,82 di prodotto grezzo contenente g 7,410 di 3 bromorifamicina S (resa 95%).

Il prodotto greggio può essere direttamente utilizzato come intermedio per ulteriori reazioni.

Il prodotto è purificabile per cromatografia su colonna di gel di silice.

Un analogo risultato viene ottenuto impiegando come solvente il cloroformio al posto dell'acetato di etile.

Esempio 5

Si opera come all'esempio 4. La reazione viene interrotta aggiungendo g 5,28 (30 m.moli) di acido ascorbico sciolti in 100 ml di alcool metilico contenente il 30% di acqua (v/v). Si agita per 10 minuti e si concentra sotto vuoto fino ad un terzo del volume iniziale. Si diluisce con acetato di etile e si lava la fase organica con acido cloridrico acquoso 0,1 N e poi con acqua. Si anidrifica e si porta a secco, si scioglie il residuo in cloroformio e si aggiungono g 3,5 (40 m.moli) di biossido di manganese (preparato con il metodo di Rosenkrantz). Si agita per 15 minuti, si filtra il biossido, si lava la fase organica con acido cloridrico acquoso 0,1 N e poi con acqua.

Si anidrifica e si porta a secco.

Il residuo disciolto in cloroformio viene precipitato con n-esano.

Rese in 3 bromorifamicina S e sua purezza sono simili a quelle ottenute nell'esempio 4.

Esempio 6

Operando come all'esempio 5 ma impiegando metanolo come solvente di reazione anziché etanolo si è ottenuto una resa del 95%.

Esempio 7

Operando come all'esempio 5 ma impiegando diossano come solvente di reazione anziché metanolo si è ottenuto una resa dell'85-90%.

Esempio 8

Si opera come all'esempio 5. La reazione viene interrotta aggiungendo una soluzione satura in metanolo di anidride solforosa in quantità sufficiente a ridurre il bromo presente e nello stesso tempo a ridurre la 3 bromorifamicina S a 3 bromorifamicina SV. Si agita per 10 minuti.

Si procede come descritto all'esempio 5 ottenendo sostanzialmente gli stessi risultati.

Esempio 9

A 27,8 g (40 m.moli) di rifamicina sospese in 600 ml di etanolo vengono aggiunti sotto agitazione 9,6 g (60 m.equivalenti) di bromo e 4,90 g (60 m.moli) di piridina. La temperatura della reazione è tenuta a -10°C . I reattanti si dissolvono gradualmente e la sospensione si trasforma in una soluzione chiara. Dopo 30 minuti 20 g di acido ascorbico vengono aggiunti. Dopo la riduzione completa della 3 bromorifamicina S e del bromo in eccesso si aggiungono 2500

ml di acetato di etile e la soluzione è lavata diverse volte con acqua. La fase organica è poi trattata con 300 ml di una soluzione acquosa di cloruro ferrico di 20% (peso/peso). Dopo la riduzione completa della 3 bromorifamicina SV alla 3 bromorifamicina S, le fasi sono separate e l'acetato di etile viene lavata diverse volte fino a neutralità, poi amidrificata e portata a secco. Il residuo viene cristallizzato a 60 ml di una miscela di monometilero di glicolo e acqua (4/1).

10 Si ottengono 26,5 g di prodotto puro cristallizzato (resa 85,5%). La cristallizzazione può anche essere eseguita da una soluzione in acetato di etile.