

⑫

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

⑰ Anmeldenummer: 84105508.0

⑤① Int. Cl.<sup>4</sup>: **C 07 H 13/12, A 61 K 31/70**

⑱ Anmeldetag: 15.05.84

⑳ Priorität: 21.05.83 DE 3318594

⑦① Anmelder: **HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT,**  
**Postfach 80 03 20, D-6230 Frankfurt am Main 80 (DE)**

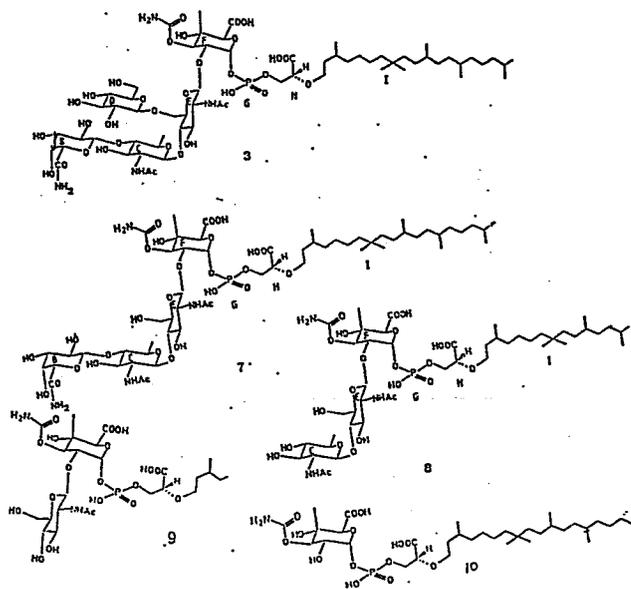
④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung: 09.01.85  
**Patentblatt 85/2**

⑦② Erfinder: **Welzel, Peter, Prof. Dr., Hustadtring 81,**  
**D-4630 Bochum (DE)**  
Erfinder: **Kunisch, Franz, Alsenstrasse 10,**  
**D-4630 Bochum (DE)**  
Erfinder: **Stein, Hermann, Dr., Hoochstrasse 33,**  
**D-4390 Gladbeck (DE)**  
Erfinder: **Hiltmann geb. Ponty, Aranka,**  
**Wehlaustrasse 46, D-4630 Bochum (DE)**  
Erfinder: **Kruggel, Frithjof, Gustavstrasse 16,**  
**D-4630 Bochum (DE)**

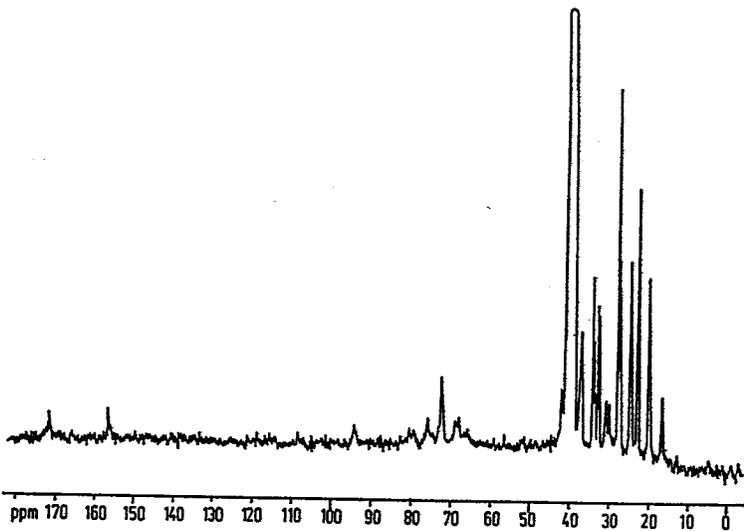
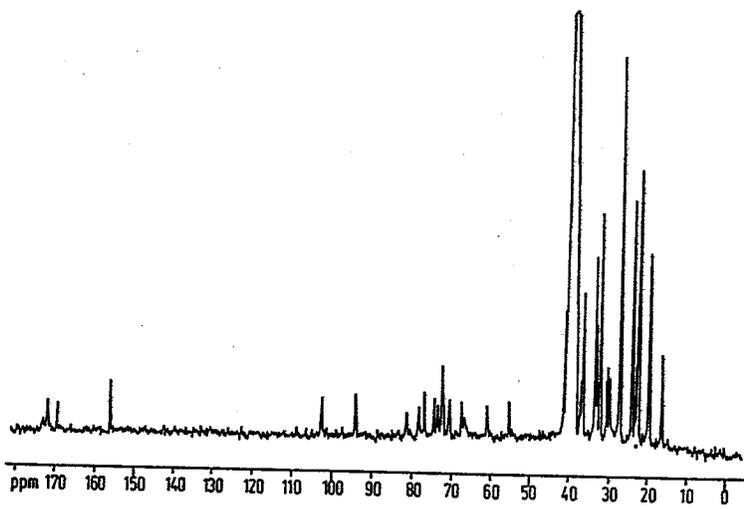
⑧④ Benannte Vertragsstaaten: **CH DE FR GB IT LI**

⑤④ **Moenomycin A-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Antibiotika.**

⑤⑦ Das aus Moenomycin A durch Hydrierung und Ozonolyse bzw. Oxydation gewonnene Antibiotikum (3) wird durch sukzessive Abspaltung von Zuckerbausteinen in eine antibiotisch aktive Verbindung der Formel (7) und weiter in antibiotisch aktive Verbindungen der Formeln (8, 9 und 10) umgewandelt. Verbindung (8) kann auch direkt aus (3) gewonnen werden.



(Fortsetzung nächste Seite)



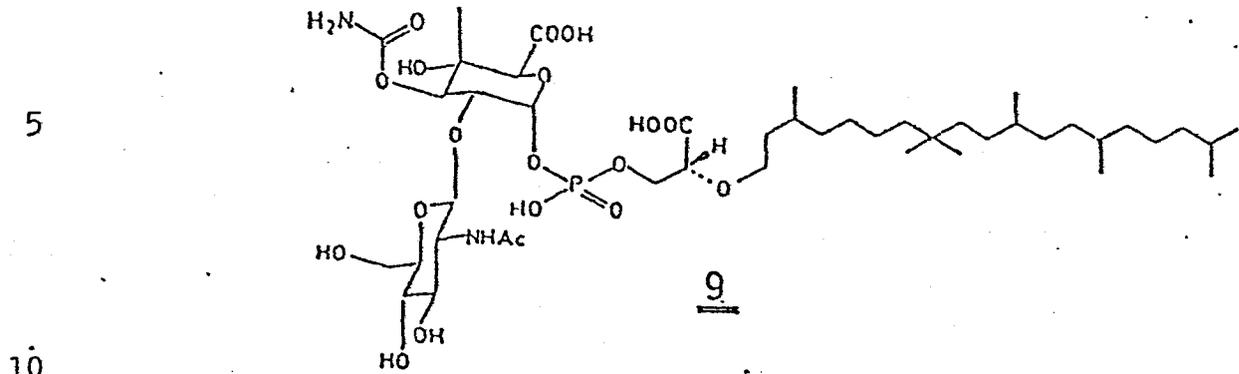
Moenomycin A-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und  
ihre Verwendung als Antibiotika

Aus Moenomycin A der Struktur 1 (Angewandte Chemie 93, 130, 1981), wird gemäß US 3 432 597 durch katalytische Hydrierung Dekahydromoenomycin A der Formel 2 erhalten, das nach der deutschen Patentanmeldung P 32 21 732.3 (HOE 82/F 122) 5 durch Ozonisierung unter Abspaltung des Chromophorbau- steins A in die antibiotisch aktive Verbindung 3 umge- wandelt wird, die noch die im Moenomycin ursprünglich enthaltenen Zuckerbausteine D-Galacturonsäure (B), N- Acetyl-D-Glucosamin (C), D-Glucose (D), N-Acetyl-D-Chino- 10 vosamin (E) und Moenuronsäure (F) enthält.

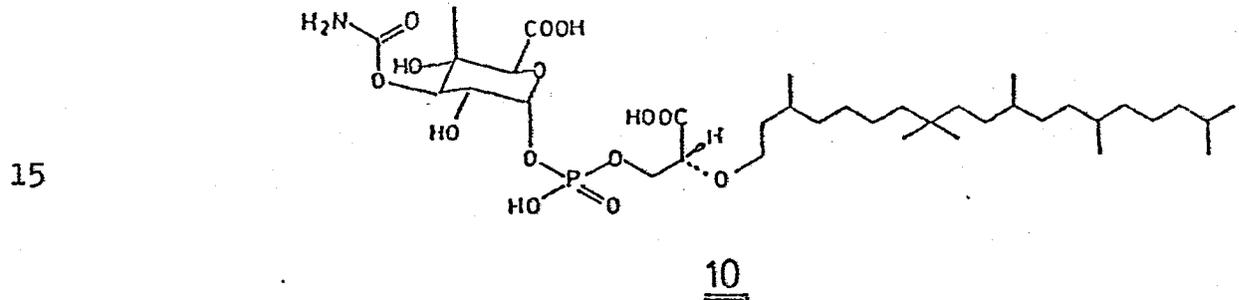
In der deutschen Patentanmeldung P 33 01 430.2 (HOE 83/F 006) wurde beschrieben, daß auch die sukzessive Abspaltung der Zuckerbausteine D und B von der Verbindung 3 jeweils zu 15 neuen antibiotisch aktiven Verbindungen (7 und 8) führt. Zur Abspaltung des Zuckerbausteins D-Glucose (d) aus 3 wird zunächst durch Umsetzung von 3 mit Benzaldehyd in Gegenwart von wasserfreiem Zinkchlorid das Dibenzyliden- Derivat 5 und daraus anschließend mit NaJO<sub>4</sub> in Essigsäure 20 unter Abspaltung von D das Monobenzyliden-Derivate 6 her- gestellt, das weiterhin durch katalytische Hydrierung, zweckmäßig mit Palladiumkohle, unter Abspaltung des Ben- zylrestes in die glucosefreie Verbindung 7 überführt wird. Die anschließende Abspaltung des Zuckerbausteins D-Galac- 25 turonsäure (B) erfolgt in analoger Weise aus 7 in Essig- säure, wobei 8 erhalten wird.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß auch die weitere Abspaltung des Zuckerbausteins N-Acetyl-D-Chinovo- 30 amin (C) aus 8 mit NaJO<sub>4</sub> in Essigsäure unter Bildung von 9 sowie die anschließende Abspaltung des Zuckerbausteins N-Acetyl-D-Glukosamin (E) unter Bildung von 10 jeweils zu neuen antibiotisch aktiven Verbindungen (9 und 10) führt.

Gegenstand der Erfindung ist daher eine Verbindung der Formel 9

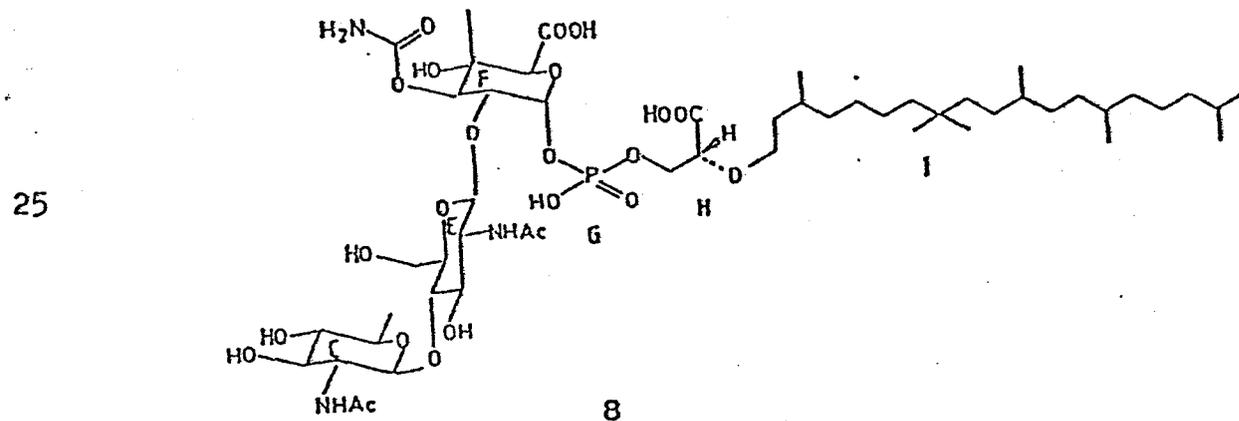


und eine Verbindung der Formel 10



Gegenstand der Erfindung ist ebenso ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel 9, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 8

20



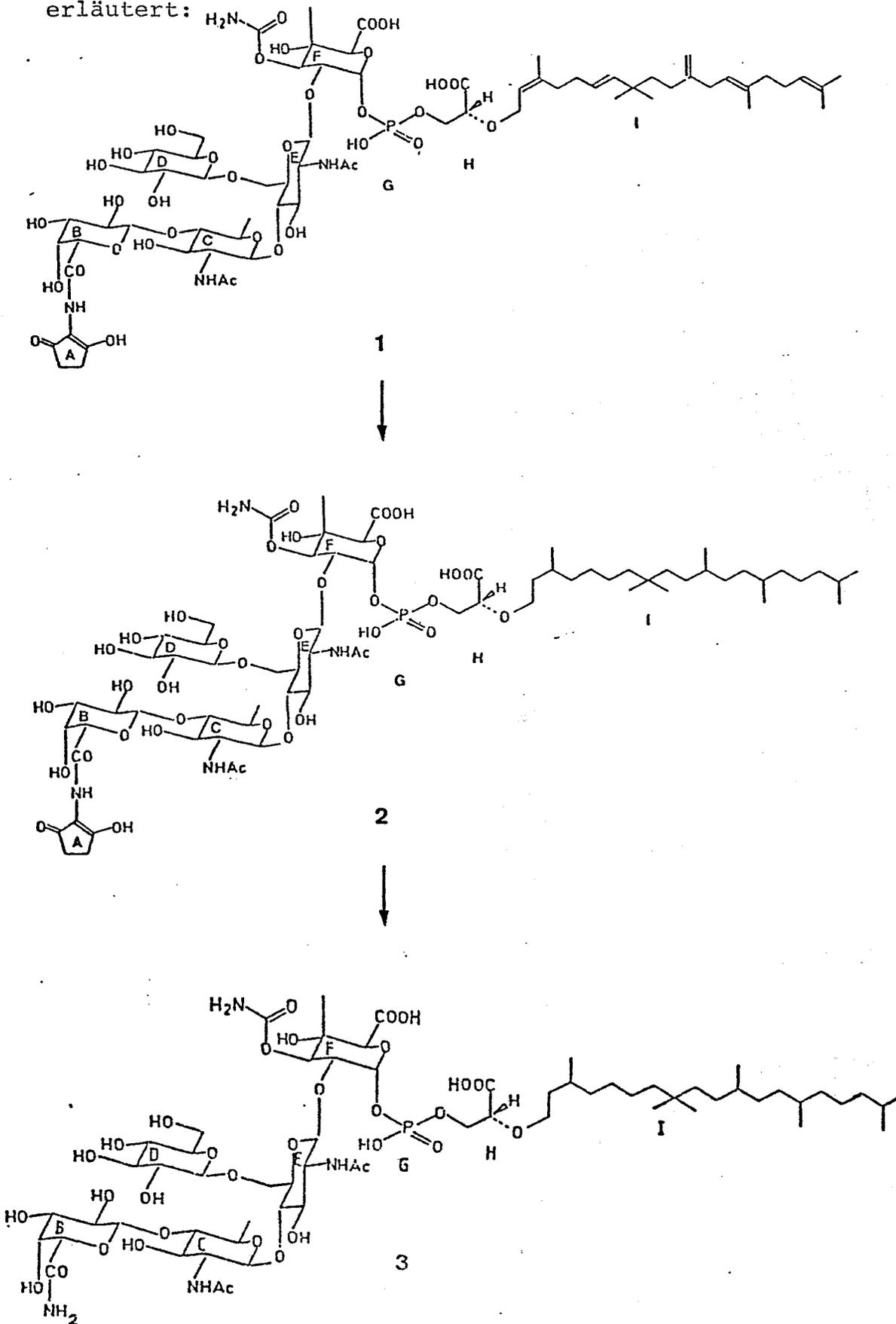
30 einer  $\text{NaJO}_4$ -Spaltung unterwirft.

Gegenstand der Erfindung ist ebenso ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung 10 dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 9 einer  $\text{NaJO}_4$ -Spaltung unterwirft.

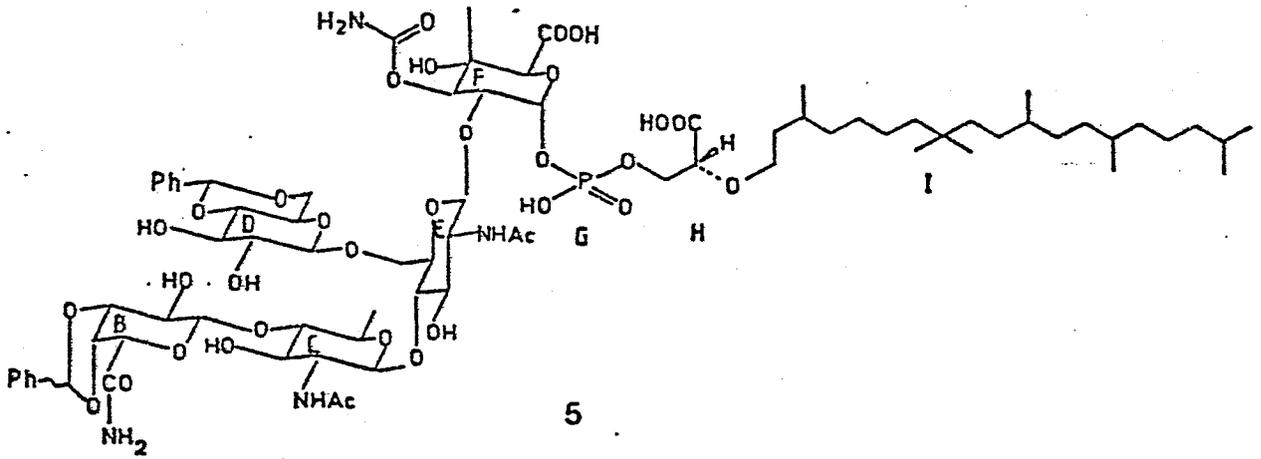
35

Gegenstand der Erfindung sind weiterhin die Verwendung der Verbindung der Formel 9 als Antibiotikum und die Verwendung der Verbindung der Formel 10 als Antibiotikum.

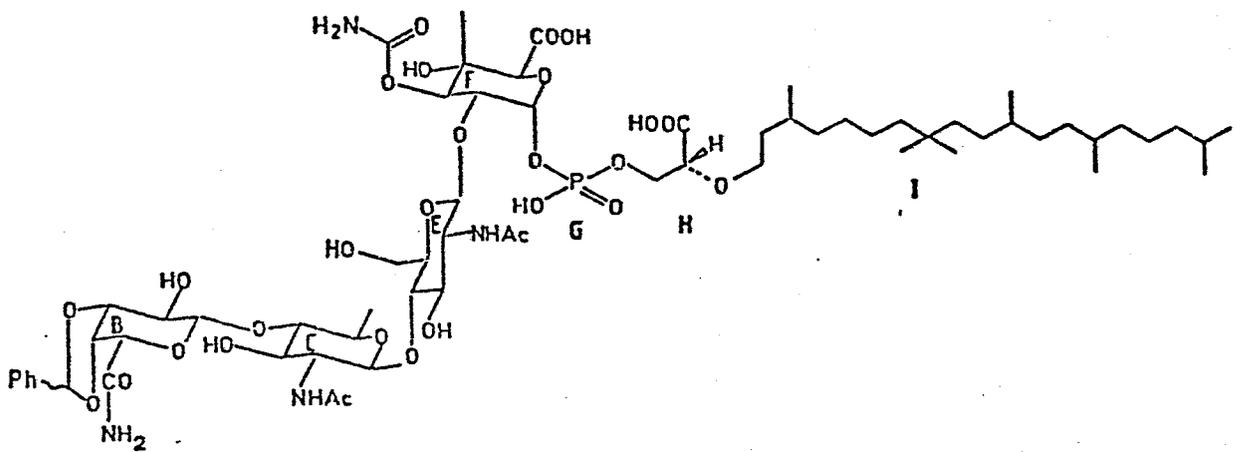
Die Reaktionsfolgen werden durch folgendes Formelschema erläutert:



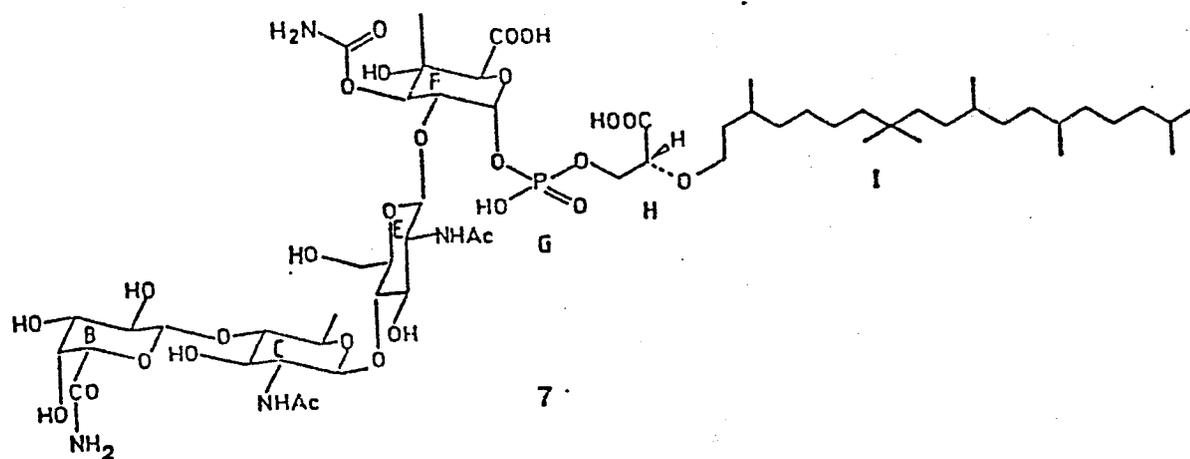
3  
↓



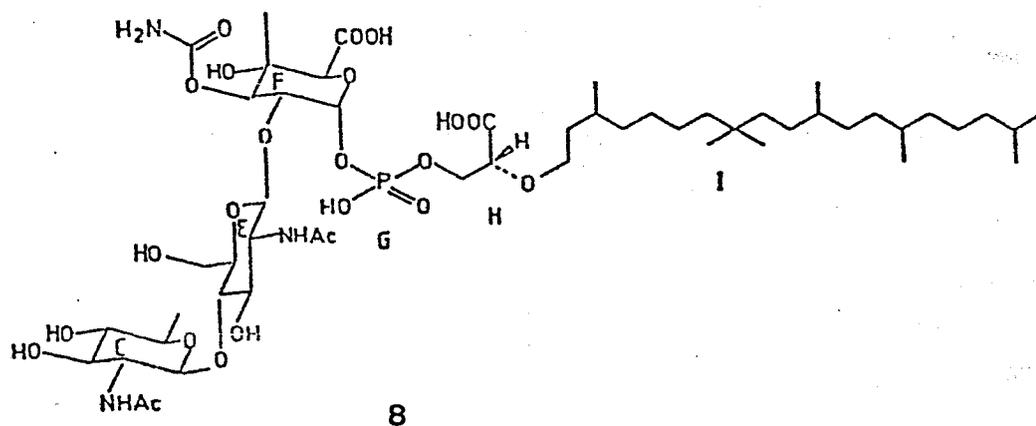
↓

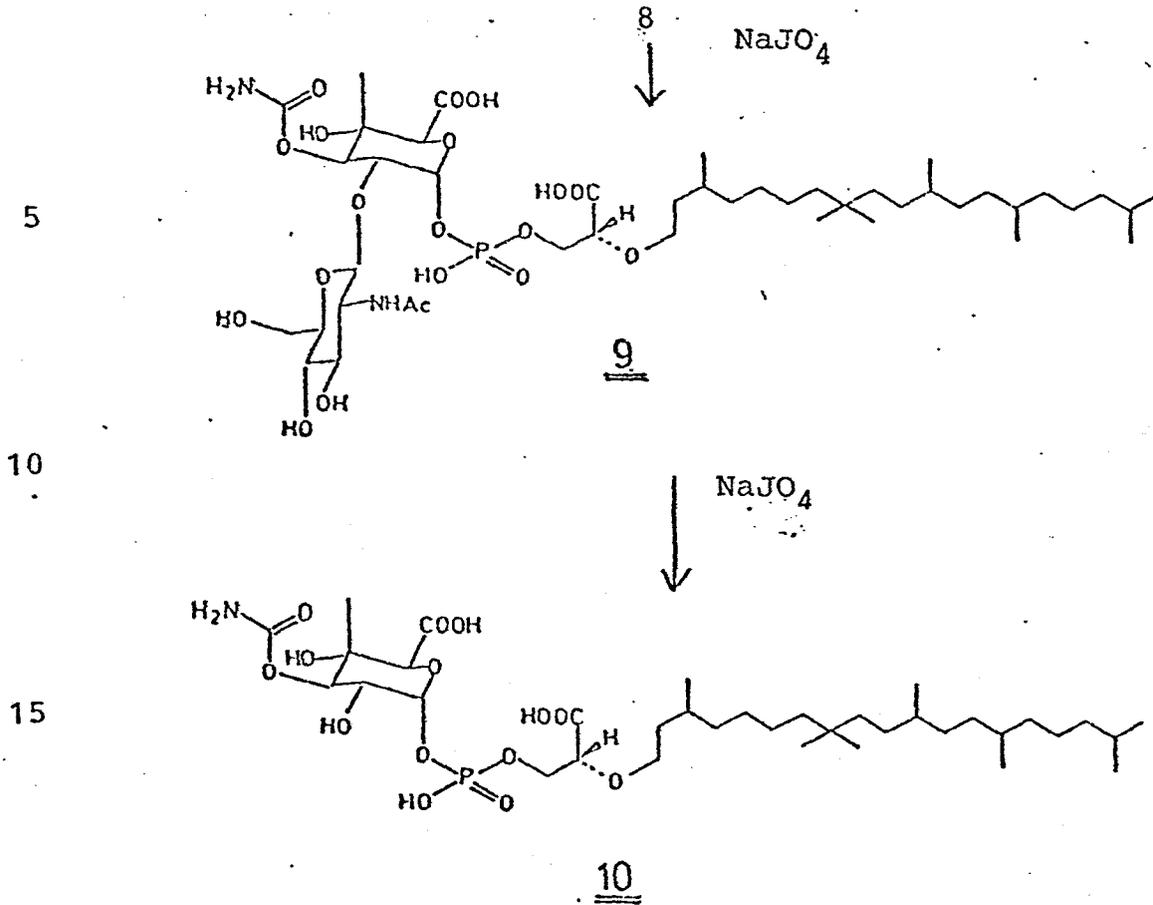


6  
↓



↓





20

Die bereits in P 33 01 430.2 beschriebenen Verbindungen 7 und 8 sowie die erfindungsgemäßen Verbindungen 9 und 10 besitzen gegenüber Moenomycin A verbesserte Stabilität und sind antibiotisch aktiv, wie sich aus folgender Tabelle ergibt:

25

Tabelle 1: Antimikrobielle Aktivität (minimale Hemmkonzentration in µg/ml)

30

Testkeim	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>
Staph. aureus SG 511	3,1	6,2	12,5	-
" 503	3,1	12,5	12,5	-
Strept. pyogenes 77 A	0,8	1,6	1,6	3,1

35

Die in der Beschreibung erwähnten Stufen werden durch folgende Beispiele erläutert:

Beispiel 1

Variante a)

5 14,6 g Moenomycin A (1) und 4,5 g Pd/C (10 % Pd; 4,2 mmol)  
wurden in 350 ml Methanol bei 45°C unter Wasserstoff  
(180 bar) 96 h gerührt. Nach Abdekantieren vom Katalysa-  
tor wurde dreimal mit Methanol gewaschen und nach Verei-  
nigen der Lösungen bei 35°C im Vakuum zur Trockne einge-  
10engt. Ausbeute an Dekahydromoenomycin (2) 14 g (96 %).

Variante b)

13,09 g Moenomycin A (1, verunreinigt mit Deslipidomoeno-  
15 mycin) und 3,53 g PtO<sub>2</sub> wurden in 1,3 l Methanol unter Zu-  
gabe von 43 ml Essigsäure bei Raumtemperatur und Normal-  
druck unter Wasserstoff 48 h gerührt. Nach Abdekantieren  
vom Katalysator wurde viermal mit Methanol gewaschen und  
auf 220 g HP-20 aufgegeben. Die Elution erfolgte mit 2 l  
20 Wasser, 1 l Methanol/Wasser 25/75, 1 l Methanol/Wasser  
50/50 und 3 l Methanol. Die Methanol-Fraktion wurde zur  
Trockne eingeengt und lieferte 8,04 g (61 %) Dekahydro-  
moenomycin (2).

Zu 11,67 g (7,4 mmol) 2 in 300 ml Wasser wurden unter Argon 26,6 g (80,8 mmol)  $K_3Fe(CN)_6$  in 30 ml Wasser und 16,72 g (121 mmol)  $K_2CO_3$  in 30 ml Wasser unter Rühren bei 0°C zugegeben. Innerhalb von 0,5 h wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 1,5 h gerührt. Die Salze wurden durch reversed-phase-Chromatographie (220 g HP-20, Laufmittel: 1,5 l Wasser und 2,2 l Methanol) entfernt. Einengen der Methanol-Lösung ergab 9,7 g 3 (88 %).

Beispiel 3

- 10 Zu einer Lösung von 1,34 g (9,9 mmol) wasserfreiem Zinkchlorid in 3 ml (28 mmol) Benzaldehyd wurden 1,06 g (0,72 mmol) 3, gelöst in 3 ml trockenem DMSO, bei 90°C unter Argon zugegeben und 52 h bei 90 - 95°C gerührt. Die dunkelbraune Reaktionslösung wurde durch reversed-phase-
- 15 Chromatographie (70 g HP-20, Laufmittel 200 ml Wasser, 150 ml Methanol/Wasser 1:1, 200 ml Methanol/Wasser 6:4, 100 ml Methanol/Wasser 7:3 und ca. 1000 ml Methanol) vorgereinigt.
- 20 1416 mg des lyophilisierten, dunkelgelben Methanol-Eluats wurden auf 5 g Kieselgel aufgezogen und mit dem Laufmittel Chloroform/Methanol/Wasser 10:6:1 an 280 g Kieselgel "Merck" (Säule Typ C) getrennt (Fraktionsvolumen ca. 12 ml).
- 25 Die 5 enthaltenden Fraktionen 37 - 66 wurden erneut unter den gleichen Bedingungen getrennt. Die Gesamtausbeute an 5 betrug 92 mg (8 %).

Beispiel 4

200 mg (0,12 mmol) 5 wurden innerhalb von 45 min zu 1200  $\mu$ l einer Lösung von 200 mg (0,93 mmol)  $\text{NaJO}_4$ , 260 mg Natriumacetat  $\cdot$  3  $\text{H}_2\text{O}$  und ca. 2,4 ml 50 % Essigsäure zugegeben  
5 und 5 h bei 38 - 40°C unter Lichtausschluß gerührt. Während der Reaktion bildete sich ein orangefarbener Niederschlag. Zur Abtrennung der Salze wurde die Reaktionsmischung auf eine HP-20 reversed-phase Säule aufgetragen und zuerst mit 70 ml Wasser, dann mit ca. 400 ml Methanol eluiert.  
10 Nach Lyophilisieren wurden 170 mg (85 %) eines unpolaren Produktes ( $R_f$ -Wert 0,33 für Chloroform/Methanol/Wasser 18:11:2,7) erhalten.

95 mg (0,063 mmol) dieses Oxidationsproduktes wurden zu  
15 240  $\mu$ l einer Lösung aus 470  $\mu$ l (6,2 mmol) N,N-Dimethylhydrazin, 1,4 ml Isopropylalkohol und ca. 2,8 ml 2n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (pH-Wert der Lösung: 4,0) zugegeben und 2,5 g bei Raumtemperatur und 1 h bei 80 - 90°C gerührt. Der Reaktionsansatz wurde mit 5 ml Wasser versetzt und lyophilisiert.  
20 Nach Aufziehen auf ca. 0,5 g Kieselgel "Merck" wurde mit dem Laufmittel Chloroform/Methanol/Wasser 10:6:1 an 60 g Kieselgel (Säule Typ B) getrennt. Es wurden 35 mg (43 %) 6 erhalten ( $R_f$ -Wert 0,3 für Chloroform/Methanol/Wasser 18:11:2,7).

25

Beispiel 5

180 mg (0,126 mmol) 6 wurden in 0,5 ml Methanol und 4 ml Essigsäure gelöst und bei Raumtemperatur nach Zugabe von 200 mg Pd/C (10 %) 44 h unter Wasserstoff hydriert. Die  
30 Reaktion verlief dünnschichtchromatographisch (Chloroform/Methanol/Wasser 18:11:2,7) nahezu einheitlich. Nach mehrmaligem Waschen des Katalysators mit Methanol wurde eingengt und lyophilisiert. Es wurden 186,4 mg (100 %) des Produktes 7 ( $R_f$ -Wert 0,1 für Chloroform/Methanol/Wasser  
35 18:11:2,7) erhalten.

Beispiel 6

Zu 165 mg (0,12 mmol) in 0,6 ml Wasser gelöstem 7 wurden  
300 µl einer Lösung bestehend aus 200 mg (0,93 mmol)  
NaJO<sub>4</sub>, 260 mg Natriumacetat · 3 H<sub>2</sub>O und 2,4 ml 50 % Essig-  
5 säure zugegeben und bei 25°C 2 h gerührt. Nach 2 h, 6 h,  
19 h, 21 h, 25 h und 30 h wurden jeweils 150 µl, 190 µl,  
150 µl, 100 µl, 200 µl und 300 µl der NaJO<sub>4</sub> enthaltenden  
Lösung zugegeben und die Temperatur nach 10,5 h auf 30°C  
und nach 25 h auf 40°C erhöht. Nach 44 h Reaktionsdauer  
10 wurden Natriummetaperjodat und Natriumacetat über eine  
HP-20 reversed-phase Säule abgetrennt. Die Elution mit  
ca. 500 ml Methanol ergab nach Einengen 122 mg (74 %)   
Produktgemisch.

15 Zu der Suspension von 122 mg dieses Produktgemisches in  
700 µl Isopropylalkohol wurden 260 µl einer Lösung be-  
stehend aus 470 µl N,N-Dimethylhydrazin, 1,4 ml Isopropyl-  
alkohol und 2,5 ml 2n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH-Wert der Lösung: 4,0 - 4,5)  
zugegeben und 1 h bei 50°C und 1 h bei 80 - 85°C gerührt.  
20 Nach Aufziehen auf 1 g Kieselgel wurde ein 60 g Kieselgel  
"Merck" (Säule, Typ B) mit dem Laufmittel Chloroform/  
Methanol/Wasser 18:11:2,7 getrennt und 66 mg (45 %) der  
Substanz 8 (R<sub>F</sub>-Wert 0,21 für Chloroform/Methanol/Wasser  
18:11:2,7) erhalten.

25

Beispiel 7

1,0 g (0,7 mmol) 3 wurde portionsweise fest zu einer Lösung  
von 1,0 g (4,7 mmol) NaJO<sub>4</sub>, 1,3 g Natriumacetat · 3 H<sub>2</sub>O in  
12 ml 50 % Essigsäure zugesetzt. Unter Lichtausschluß wurde  
30 2 h bei 40°C gerührt. Anschließend wurde der bräunlich ge-  
färbte Reaktionseinsatz durch reversed-phase-Chromato-  
graphie (40 g HP-20; Laufmittel: 600 ml Wasser und 600 ml  
Methanol) gereinigt. Nach Einengung und Lyophilisieren  
wurden aus der Methanollösung 830 mg Oxidationsprodukte  
35 erhalten. 687 mg dieses Gemisches wurden portionsweise  
zu 3 ml einer Lösung von 940 µl N,N-Dimethylhydrazin und

2,8 ml 2-Propanol in 6,4 ml 2n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH: 4,5) zugegeben. Es wurde 3 h bei 85°C gerührt. Nach Abkühlen wurde durch reversed-phase-Chromatographie (40 g HP-20; Laufmittel: 600 ml Wasser, 600 ml Methanol) gereinigt. Die Methanol-  
5 lösung wurde eingedampft und lyophilisiert. Zweimalige Säulenchromatographie an Kieselgel "Merck" (Säule B, Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 10:6:1) ergab 311 mg (47 %) 8.

10 Beispiel 8

2,35 g (2,0 mmol) 8 wurde portionsweise fest zu einer Lösung von 1,84 g (8,6 mmol) NaJO<sub>4</sub>, 2,41 g (17,7 mmol) NaOAc·3 H<sub>2</sub>O in 21 ml 50 % Essigsäure zugesetzt. Unter  
15 Lichtausschluß wurde zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch reversed-phase-Chromatographie (50 g HP-20; erst 700 ml Wasser, dann 1,5 l Methanol) wurden die anorganischen Salze abgetrennt. Einengen und Lyophilisieren der Methanollösung lieferte 1,76 g hellgelbes Oxidations-  
20 produkt.

1,76 g dieser Substanz wurden portionsweise zu 6 ml einer Lösung von 940 µl N,N-Dimethylhydrazin und 2.8 ml 2-Propanol in 6,4 ml 2n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH 4,5) gegeben. Man rührte 3 h  
25 bei 80 - 85°C und trug nach Abkühlen die dunkelbraune Lösung auf eine HP-20-Säule auf. Man eluierte die Salze mit 600 ml Wasser, die Produkte mit 1,2 l Methanol. Einengen und Lyophilisieren dieser Phase ergab 1.48 g Rohprodukt.

30 Präparative Schichtchromatographie an 75 g Kieselgel (Woelm 63 - 100 µ, Laufmittel Chloroform/Methanol/Wasser 10 : 6 : 1) lieferte 1,02 g (52 %) 9.

35 Zwei Nachtrennungen an Kieselgel-Säulen mit demselben Laufmittel erbrachte aus 210 mg Produkt 69,8 mg analytisch reine Substanz.

<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum: Figur 1

Beispiel 9

940 mg (0,96 mmol) 9 wurden zwei Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur mit einer Lösung aus 974 mg (4,6 mmol) NaJO<sub>4</sub>, 1,28 g NaOAc·3 H<sub>2</sub>O in 11 ml 50 % Essigsäure gerührt. Aufarbeitung über eine reversed-phase-Säule (25 g HP-20, Laufmittel 400 ml Wasser, dann 1,5 l Methanol) ergab nach Einengen und Lyophilisieren der Methanollösung 648 mg gelbe Substanz.

10

620 mg dieses Produkts wurden mit 4 ml einer Lösung aus 940 µl N,N-Dimethylhydrazin und 2,8 ml 2-Propanol in 6,4 ml 2n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH 4,5) erst eine Stunde bei Raumtemperatur, dann zwei Stunden bei 80 - 85° C gerührt. Nach Abkühlen und Auftragen auf eine HP-20-Säule (25 g) wurden die Salze mit 300 ml Wasser, die Produkte mit 1,5 l Methanol eluiert. Aus der Methanolphase wurden nach Lyophilisieren 0,54 g hellbraunes Produkt erhalten.

20 Präparative Schichtchromatographie an Kieselgel (Merck B-Säule, Laufmittel Chloroform/Methanol/Wasser 10 : 6 : 1) ergab 138 mg 10 (19 %) neben 296 mg 9 (31 %).

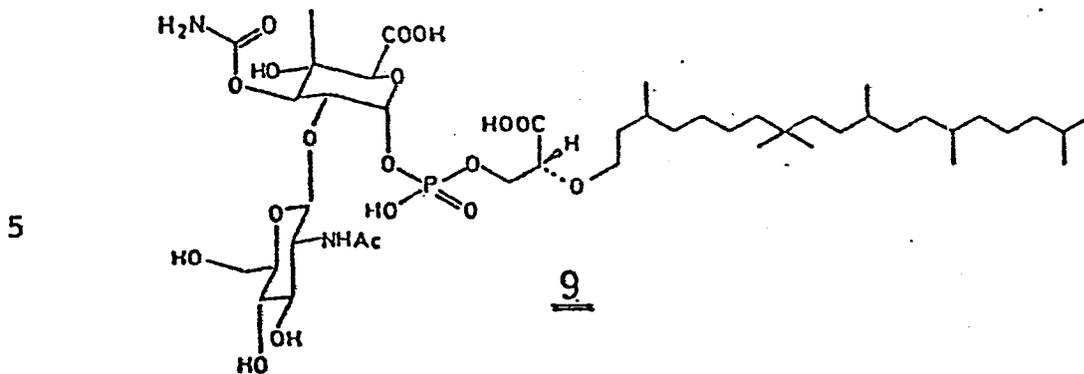
Zwei Nachtrennungen über B-Säulen mit dem Laufmittel Chloroform/Methanol/Wasser 17,5 : 7,5 : 1 erbrachten aus 138 mg 10 60,3 mg analytisch reine Substanz.

13

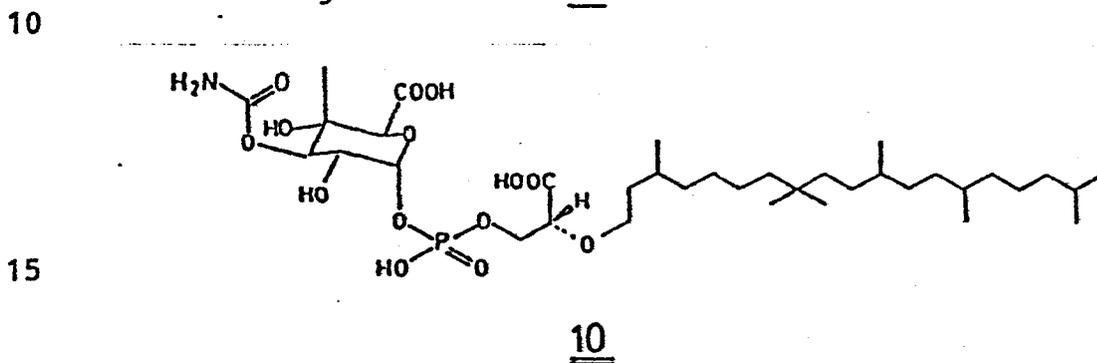
C-NMR-Spektrum: Figur 2

Patentansprüche:

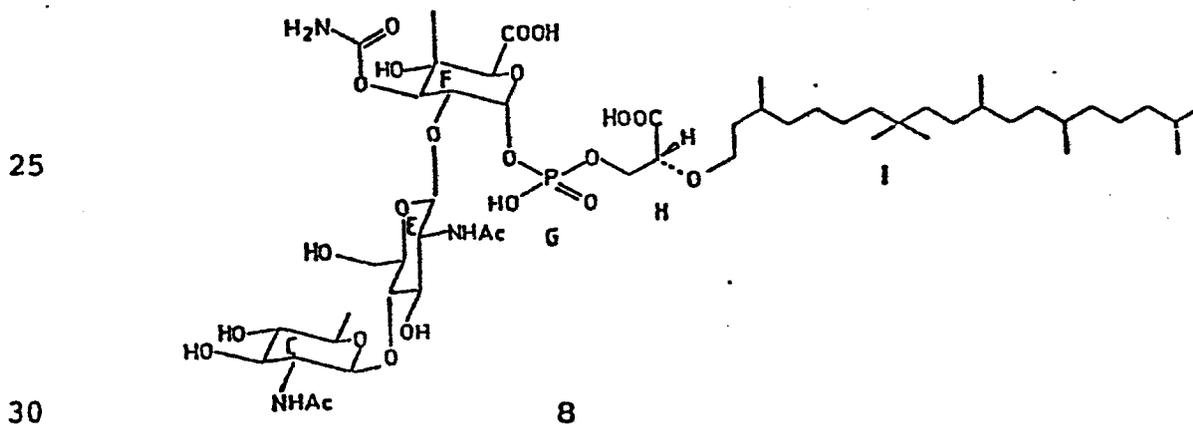
1. Verbindung der Formel 9



2. Verbindung der Formel 10



3. Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel 9 nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel 8



einer  $\text{NaJO}_4$ -Spaltung unterwirft.

4. Verfahren zur Herstellung der Verbindung 10 nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung

35

der Formel 9 nach Anspruch 1 einer  $\text{NaJO}_4$ -Spaltung unterwirft.

5. Verwendung der Verbindung der Formel 9 nach Anspruch 1 als Antibiotikum.
6. Verwendung der Verbindung der Formel 10 nach Anspruch 2 als Antibiotikum.

0130327

1/2

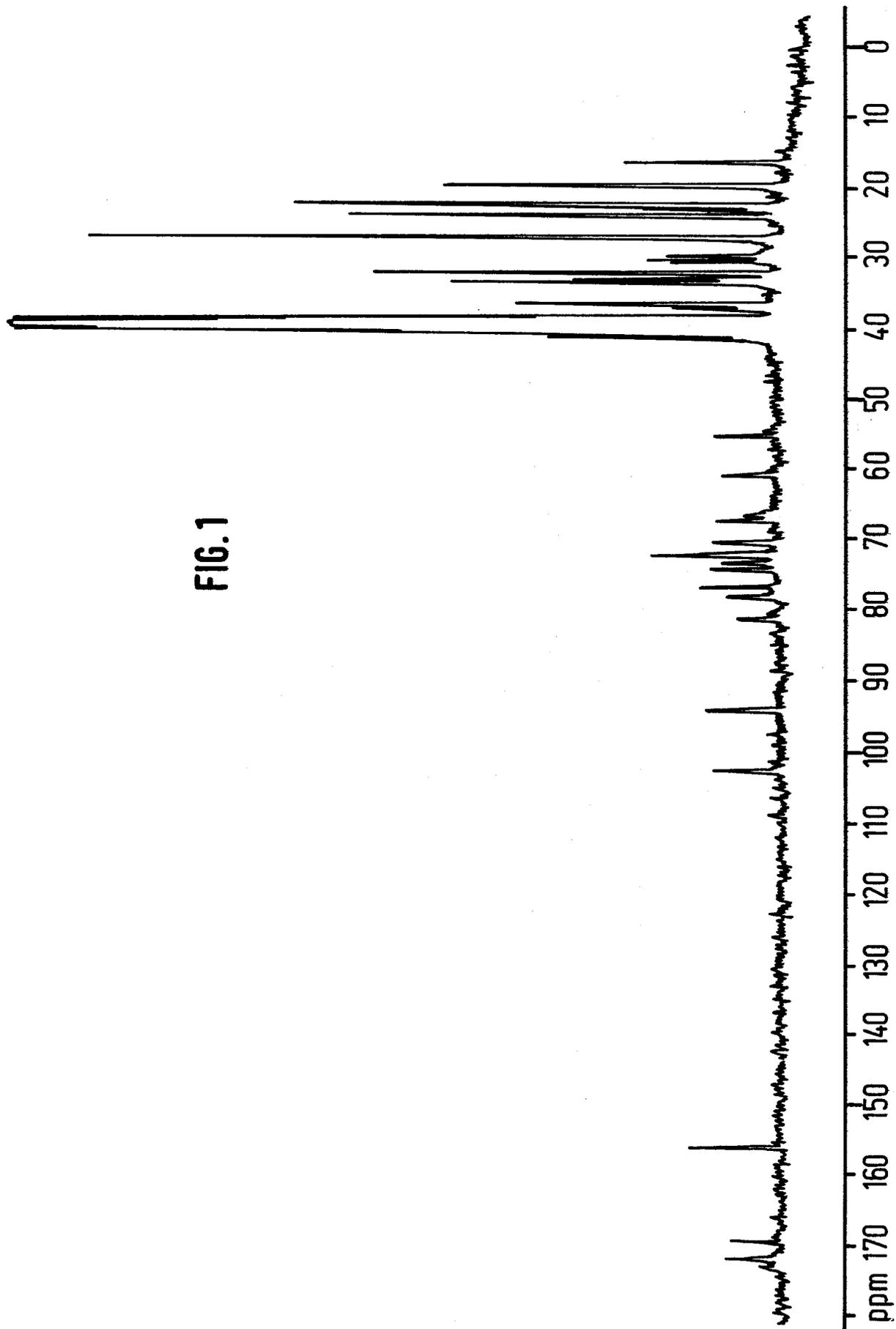


FIG. 1

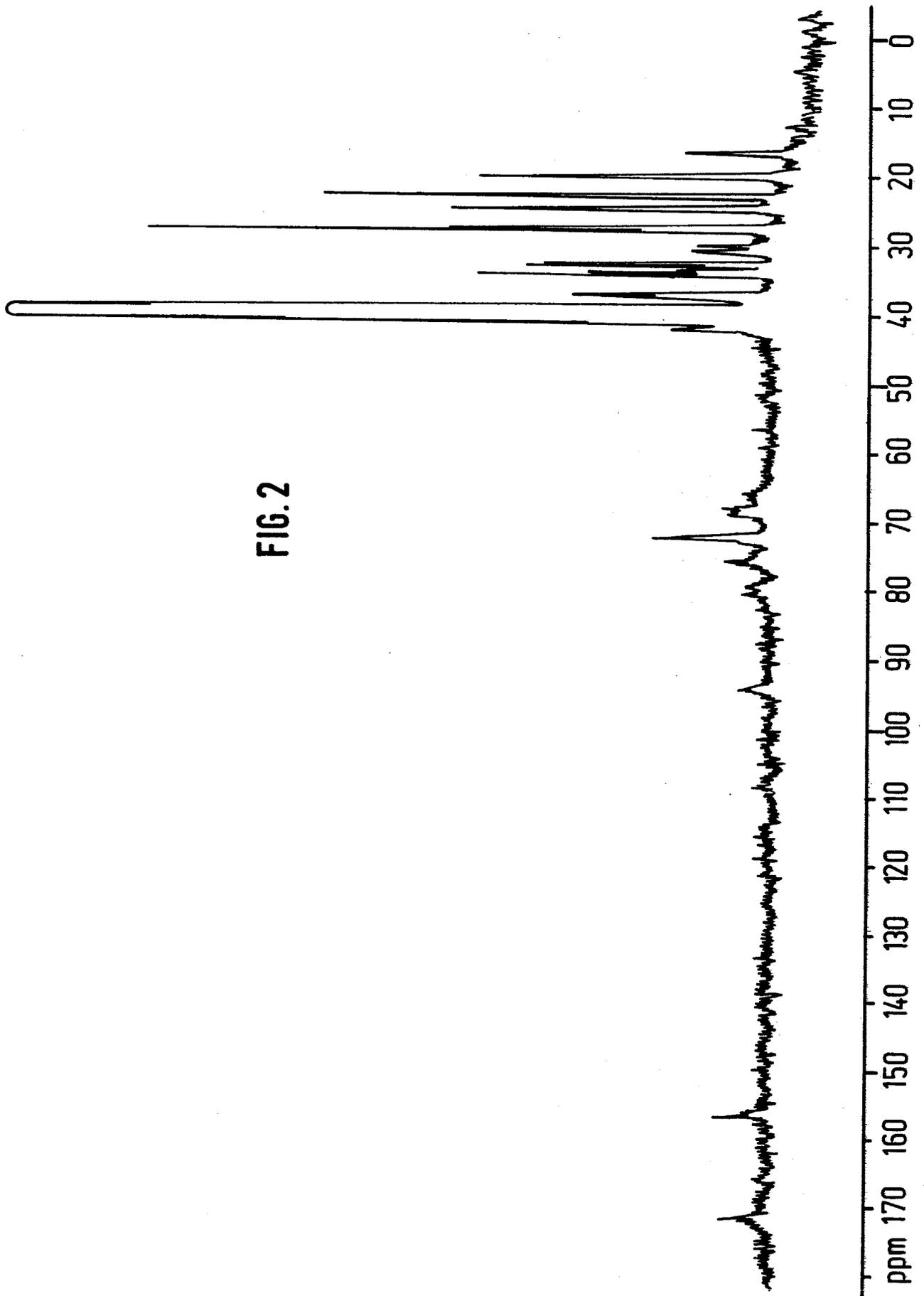


FIG. 2



EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 3)
Y	TETRAHEDRON, Band 39, Nr. 9, 1983, Seiten 1583-1591, Pergamon Press Ltd., GB; P. WELZEL et al.: "Moenomycin A: further structural studies and preparation of simple derivatives" * Seiten 1583-1589 *	1,5	C 07 H 13/12 A 61 K 31/70
P, Y	--- DE-A-3 221 732 (HOECHST) * Seiten 1-3 *	1,5	
P, Y	--- CARBOHYDRATE RESEARCH, Band 126, 1984, Seiten C1-C5, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, NL; P. WELZEL et al.: "Stepwise degradation of moenomycin A" * Seiten C1-C5 *	1-6	
	-----		RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 3)
			C 07 H 13/00 A 61 K 31/00
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 07-09-1984	Prüfer VERHULST W.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze		E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument ----- & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	