



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN



(21) Patentansøgning nr.: 0763/86

(51) Int.Cl.⁴ C 07 H 17/08

(22) Indleveringsdag: 19 feb 1986

(24) Løbedag: 09 maj 1979

(41) Alm. tilgængelig: 19 feb 1986

(44) Fremlagt: 17 okt 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(62) Stiansøgning nr.: 1907/79

(30) Prioritet: 10 maj 1978 JP 53/55876 12 apr 1979 JP 54/44590

(71) Ansøger: *TOYO JOZO KABUSHIKI KAISHA; 632-1, Mifuku; Ohito-cho; Tagata-gun; Shizuoka-ken, JP

(72) Opfinder: Tatsuro *Fujiwara; JP, Tetsuo *Matsuda; JP, Toshiyuki *Watanabe; JP, Osamu *Okegawa; JP, Satoshi *Omura; JP, Hi-deo *Sakakibara; JP, Susumu *Watanabe; JP

(74) Fuldmægtig: Patentbureauet Magnus Jensens Eftf.

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af 3"-acylerede macrolidantibiotika

(56) Fremdragne publikationer

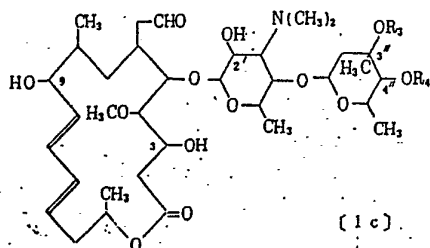
hvor R_3 betegner alkanoyl med 2-4 carbonatomer, og R_4 betegner alkanoyl med 4-5 carbonatomer eller salte deraf ved en række omsætninger.

Det omhandlede antibiotikum er effektivt mod både følsomme og resistente stammer.

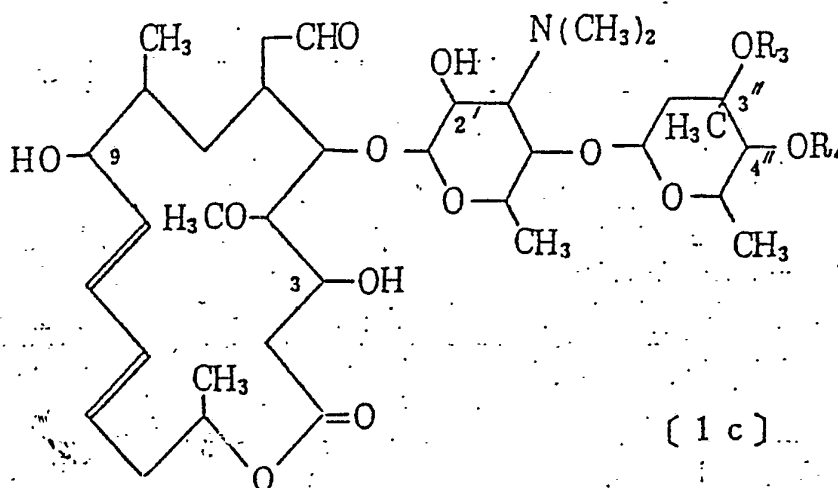
(57) Sammendrag:

763-86

Man fremstiller et hidtil ukendt 3"-acyleret macrolid-antibiotikum med formelen 1c



Opfindelsen angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte 3"-acylerede macrolidantibiotika med formelen 1c



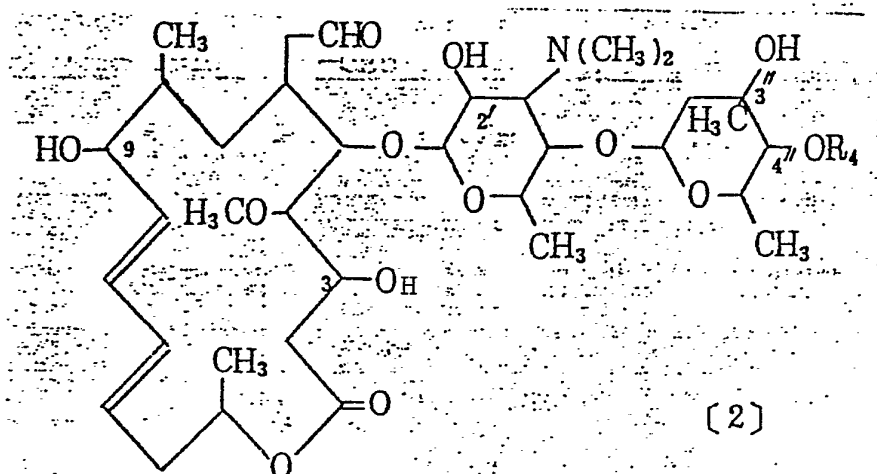
hvor R_3 betegner alkanoyl med 2-4 carbonatomer, og R_4 betegner alkanoyl med 4-5 carbonatomer, eller syreadditions-salte deraf.

De omhandlede salte er fysiologisk acceptable salte. Foretrukne eksempler på sådanne salte er uorganiske salte såsom hydrochlorid, sulfat og phosphat eller organiske salte såsom acetat, propionat, tartrat, citrat, succinat, malat, aspartat og glutamat.

De hidtil ukendte forbindelser 1c har forøget antibakteriel aktivitet mod følsomme og resistente stammer i sammenligning med kendte 16-leddede macrolidantibiotika såsom antibiotika af leucomyngruppen indbefattet josamycin, antibiotika af SF-837-gruppen, antibiotika af YL-704-gruppen og antibiotika af espinomyngruppen. Især er de hidtil ukendte forbindelser effektive mod de stammer, som er resistente over for andre macrolidantibiotika såsom oleanomycin, erythromycin, carbomycin og spiramycin. Desuden kan en deacylering i 4"-stillingen, som er en af grundene til inaktivering af 16-leddede macrolidantibiotika, ikke let forekomme, og derfor bevarer et højt blodniveau. Til- lige er den stærke og vedvarende bitre smag, som normalt optræder hos macrolidantibiotika, reduceret, og det er derfor muligt at give det virksomme stof i form af sirup til børn, som ikke kan indtage tabletter eller kapsler. De omhandlede antibiotika 1c forventes at blive et udmærket

middel til bekæmpelse af infektioner.

Nomenklaturen for forbindelserne 1c bestemmes af nomenklaturen på udgangsmaterialerne, der kendes som antibiotika med formelen 2

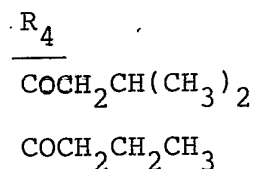


hvor R_4 har samme betydning som ovenfor, og de omfatter følgende antibiotika:

Antibiotika

Leucomycin A_1

A_5



5

10

Det nævnte antibiotika med formelen 2 har 4 hydroxylgrupper i stillingerne 3, 9, 2' og 3''. Af disse grupper acyleres hydroxylgrupperne i stillingerne 3, 9 og 2' let, og der er derfor blevet rapporteret mange acylerede derivater deraf. Imidlertid er hydroxylgruppen i stillingen 3'' blevet angivet som inaktiv.

15

Det har vist sig i forbindelse med opfindelsen, at hydroxylgruppen i andre stillinger end i 3''-stillingen, nemlig hydroxylgruppen i stillingen 3 og/eller 9 kan beskyttes ved hjælp af beskyttelsesgrupper, som let kan fjernes uden frembringelse af en 3''-deacylering efter forudgående acylering af hydroxylgruppen i stillingen 3''.

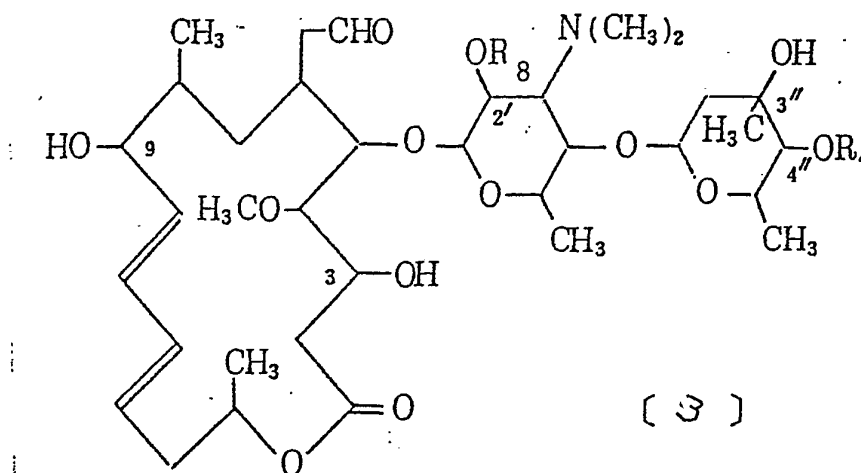
Gennem den foreliggende opfindelse fremstilles de hidtil ukendte antibiotika med formelen 1c.

De omhandlede antibiotika har højere blodniveau ved indgift og har højere aktivitet mod følsomme og resistente stammer end de tilsvarende stamantibiotika.

De omhandlede forbindelser har en mindre bitter smag end de tilsvarende stamantibiotika.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af forbindelsen 1c eller syreadditionssalte deraf er ejendommeligt ved det i kravets kendetegnende del anførte.

Den i kravet nævnte forbindelse 4 svarer til det 2'-acylerede antibiotikum med formelen 3, hvori 3- og 9-hydroxygrupperne er beskyttede:



hvor R_8 betegner alkanoyl med 2-4 carbonatomer, og R_4 har samme betydning som ovenfor.

Beskyttelsesgruppen er en gruppe, som selektivt let kan fjernes uden ødelæggelse af den kemiske struktur efter 3''-acylering, nemlig halogeneret acetyl såsom chloracetyl, dichloracetyl, trichloracetyl eller trifluoracetyl eller en silylgruppe. Blandt disse beskyttelsesgrupper er indføringen af den chlorerede acetylgruppe anført i fremlagt japansk patentansøgning nr. 50-96584.

Indføring af silylgruppen kan ske ved silylering af et antibiotikum med formelen 2 eller dets 2'-acylderivat med formelen 3 ved passende silyleringsreagenser såsom trisubstitueret halogensilan eller hexasubstitueret silazan. Et eksempel på trisubstitueret halogensilan er lavmoleky-

lært trialkylhalogensilan såsom trimethylchlorsilan. Et eksempel på hexasubstitueret silazan er lavmolekylært hexaalkylsilazan såsom hexamethylsilazan. Ethvert silyleringsreagens kan benyttes, hvis den indførte silylgruppe ikke kan fjernes ved hjælp af vand.

Ovenstående silyleringsreaktion udføres normalt i et indifferent organisk opløsningsmiddel såsom dichlormethan, chloroform eller methyloisobutylketon ved stuetemperatur eller lavere. Mængden af silyleringsreagens kan være 1-1,8 mol ækvivalenter. Ved silyleringsreaktionen ved hjælp af trisubstitueret halogensilan benytter man fortrinsvis en tertiær organisk amin som dehydrohalogeneringsreagens. Nævnes kan f.eks. pyridin, quinolin, N-metylmorpholin eller dimethylanilin.

Den silylerede forbindelse kan isoleres ved, at man holder reaktionsblandingen i vand og ekstraherer med et passende organisk opløsningsmiddel, som ikke er blandbart med vand. Silylgruppen i forbindelsen er stabil over for vand og kan ikke fjernes i nærværelse af vand.

Som forklaret ovenfor anvendes ved beskyttelsen af hydroxylgruppen i 2'-stillingen i et antibiotikum 2, såsom leucomycin A₁ eller A₅, en alkanoylgruppe med 2-4 carbonatomer såsom fortrinsvis acetyl. 2'-acetyleringen kan udføres ved den fremgangsmåde, som er beskrevet i japansk patentpublikation nr. 53-7434.

Ovenstående forbindelse 4 3"-acyleres ved hjælp af et alifatisk carboxylsyrehalogenid med 2-4 carbonatomer. Reaktionen udføres i nærværelse af en tertiær organisk amin i et indifferent organisk opløsningsmiddel ved opvarmning. Eksempler på indifferente organiske opløsningsmidler er acetone, methylethylketon, ethylacetat, dimethoxyethan, tetrahydrofuran, dioxan, benzen og toluen. Eksempler på tertiære organiske aminer er pyridin, picolin og collidin. En anden organisk amin såsom triethylamin, dimethylanilin, tribenzylamin, N-methylpiperidin, N-metylmorpholin, quinolin eller isoquinolin kan også benyttes. Eksempler på aliphatiske carboxylsyrehalogeni-

der er acetylchlorid, propionylchlorid, butyrylchlorid eller isobutyrylchlorid. Temperaturen kan være 50-120°C. Reaktionstiden varierer i afhængighed af reaktionstemperaturen, og da reaktionens fremadskriden kan kontrolleres ved tyndtlagschromatografi på silicagel, kan afslutningen bestemmes i området 1-150 timer.

I ovenstående acyleringsreaktion acyleres 3"-hydroxylgruppen, og såfremt R₅ er silyl, fremstilles der som biprodukt en forbindelse med

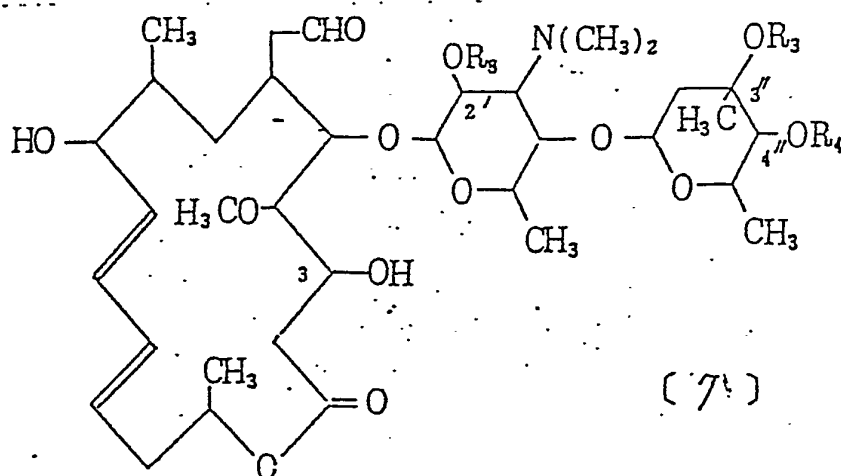
17 18 17 18
10 (-CH=CHOR₃) i stillingerne 17 og 18 i stedet for (-CH₂-CHO).

Den således opnåede blanding af forbindelsen svarende til forbindelsen 5 nævnt i kravet og forbindelsen 6 nævnt i kravet kan isoleres på den måde, at reaktionsblandingen indstilles ved hjælp af alkali til en pH-værdi på 8-10 i vand til udfældning efterfulgt af filtrering, og når reaktionsopløsningsmidlet er et med vand ikke blandbart organisk opløsningsmiddel, hældes reaktionsblandingen i vand, hvorpå man indstiller pH-værdien til 8-10 og ekstraherer med et med vand ikke blandbart organisk opløsningsmiddel. Yderligere rensning kan ske ved chromatografi under anvendelse af silicagel, aktivt aluminiumoxid eller adsorptionsharpiks og eluering med f.eks. en blanding af benzen og acetone.

Fjernelsen af beskyttelsesgrupperne i stillingerne 3,9 og 2" i forbindelsen 5 og 3,9,18 og 2" i blandingen af forbindelsen svarende til forbindelsen 5 og forbindelsen 6 afhænger af beskyttelsesgruppen i stillingerne 3 og 9.

I det tilfælde, hvor R₅ er en chloreret acetylgruppe, fjernes beskyttelsesgruppen i stillingen 3 og 9 ved behandling med ammoniak i methanol. Reaktionens fremadskriden kan kontrolleres ved tyndtlagschromatografi på silicagel, og reaktionen kan afsluttes, når en plet af forbindelsen 5 ikke detekteres.

En forbindelse med formlen 7



hvor R_3 , R_4 og R_8 har samme betydning som ovenfor, og som fås ved afdestillation af ammoniak og alkohol fra reaktionsblandingen, opvarmes i methanol, som kan indeholde vand, til fjernelse af 2'-acetylgruppen. Opvarmningen kan foretages ved tilbagesvaling i methanol. Det stof, som fås ved afdestillation af methanolet, kan renses til fremstilling af forbindelsen 1c.

I metode (a) og (b) i kravet kan som base nævnes tertiær organisk amin, alkalimetalscarbonat eller basisk harpiks, opvarmning kan ske ved tilbagesvaling af det organiske opløsningsmiddel, og afslutningen af reaktionen kan kontrolleres ved tyndtlagschromatografi på silicagel.

Isolation af forbindelserne 1c fra reaktionsblandingen udføres ved kendte adskillelses- og rensningsmetoder i forbindelse med macrolidantibiotika såsom inddampning, ekstraktion, vaskning, overført ekstraktion og rekrySTALLISATION samt chromatografi under anvendelse af silicagel, aktivt aluminiumoxid, adsorptionsharpiks eller ionbytterharpiks.

Antimikrobielle spektre for forbindelserne 1c fremgår af tabellen nedenfor. Disse data viser, at forbindelserne 1c udviser forøget antimikrobiel aktivitet ikke blot mod følsomme stammer men også mod resistente stammer, set i sammenligning med kendte antibiotika.

Da leucomycin- A_5 -derivaterne er bedre end leucomycin- A_5 -stamantibiotikumet, må man antage, at dette også gælder for leucomycin- A_1 -derivaterne i forhold til leucomycin- A_1 -stamantibiotikumet

Minimal inhiberende koncentration (M I C) µg/ml

stof Organisme	3"-O-acetyl LM ^{**} A ₅	3"-O-propionyl LM A ₅	3"-O-butyryl LM A ₅	3"-O-acetyl LM A ₁	LM A ₅
Staph. aureus 6538P	1.6	0.8	0.8	1.6	1.6
Staph. aureus MS353	1.6	1.6	1.6	0.8	1.6
Staph. aureus MS353 C36	0.4	0.8	0.4	-	1.6
Strept. faecalis 1501	0.8	0.8	0.8	0.8	1.6
Staph. aureus MS353AO	> 100	> 100	> 100	100	> 100
Staph. aureus 0116	6.3	12.5	50	12.5	> 100
Staph. aureus 0119	100	> 100	100	-	> 100
Strept. pyogenes 1022	0.4	0.4	0.8	0.8	> 100

* Stammer, som er resistente over for erythromycin, oleandomycin og 16-leddede macrolider, af kliniske isolater (macrolidresistente A-gruppetammer), størrelse af podning 10⁶/ml, væskefortyndingsmetoden.

** LM = leucomycin

*

*

*

*

Nedenstående eksempler illustrerer fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Rf-værdierne i eksemplerne måles, hvis ikke andet angives, ved følgende tyndtlagschromatografi:

5 Bærer: silicagel 60 (varenummer 5721, Merck Co.)

Fremkalder:

A: N-hexan - benzen - acetone - ethylacetat - methanol
(90: 80: 25: 60:30)

10 B: benzen - acetone (3:1)

Eksempel 1

3"-O-butyrylleucomycin A₅:

15 Til 2'-O-acetylleucomycin A₅ (5 g) opløst i tørt dichlormethan (25 ml) sættes tørt pyridin (1,64 ml), og man tilsætter dråbevis dichloracetylchlorid (1,77 ml) under isafkøling og omrører i løbet af 1 time. Der sættes koldt vand til reaktionsblandingen, og man ekstraherer med dichlormethan (25 ml). Efter tørring af dichlormethanlaget ved hjælp af vandfrit magnesiumsulfat tørrer man i vakuum og får kvantitativt 2'-O-acetyl-3, 9-di-(O-dichloracetyl)-leucomycin A₅.

20 Til ovenstående forbindelse (5 g) opløst i tørt dioxan (50 ml) sættes γ -collidin (7,87 ml), og man tilsætter dråbevis butyrylchlorid (6,62 ml) under afkøling, hvorefter man omrører ved 90°C i 80 timer. Reaktionsblandingen hældes i koldt vand (500 ml) og ekstraheres to gange med benzen (400 ml). Benzenlaget tørres ved tilsætning af vandfrit magnesiumsulfat, og man tørrer derefter i vakuum. Resten opløses i methanol (20 ml), og der tilsættes en ammoniakmættet methanolopløsning (20 ml), og man omrører ved stuetemperatur i 30 minutter. Reaktionsblandingen hældes i koldt vand (500 ml), og man ekstraherer to gange med benzen (400 ml), tørrer ved hjælp af vandfrit magnesiumsulfat og foretager en tørring i vakuum. Resten chromatograferes på silicagelsøjle ved gradient eluering med en blanding af benzen og acetone (15: 1, 35 7: 1 og 5:1). Hovedfraktionerne samles og tørres i vakuum,

hvorved man får rået 2'-O-acetyl-3"-O-butyrylleucomycin A₅
 (1,25 g). Dette stof opløses i methanol (20 ml), tilbage-
 svaes ved opvarmning i 20 timer og tørres i vakuum. Resten
 chromatograferes igen på silicagelsøjle under eluering med
 5 en blanding af benzen og acetone (6:1). Fraktioner, som ud-
 viser $R_{f_A} = 0,48$ tørres til opnåelse af produktet (870 mg).
 $R_{f_A} = 0,48$, $R_{f_B} = 0,15$
 Masse (m/e): 841 (M^+), 754 ($M^+ - 87$)
 NMR ($CDCl_3$), 100MHz: 1,42 (3"-CH₃), 2,57 (3'-N(CH₃)₂),
 10 3,55 (4-OCH₃), 9,84 (CHO) ppm.

Eksempel 2

3"-O-acetylleucomycin A₁:

Til 2'-O-acetylleucomycin A₁ (5 g) opløst i tørt di-
 chlormethan (25 ml) sættes tørt pyridin (1,64 ml), og man
 15 tilsætter dråbevis dichloracetylchlorid (1,77 ml) under is-
 afkøling og omrører i 1 time. Til reaktionsblandingen sættes
 koldt vand (25 ml), og man ekstraherer med dichlormethan
 (25 ml). Dichlormethanlaget tørres ved hjælp af vandfrit mag-
 nesiumsulfat, hvorefter man tørrer i vakuum til opnåelse af
 20 en kvantitativ mængde af 2'-O-acetyl-3,9-di-(O-dichloracetyl)-
 leucomycin-A₁.

Til ovenstående forbindelse (5 g) opløst i tørt ethyl-
 acetat (50 ml) sættes γ -collidin (9,4 ml) under isafkøling,
 og man tilsætter acetylchlorid (4,6 ml) og omrører 72 timer
 25 ved 70°C.

Reaktionsblandingen hældes i koldt vand (250 ml) og
 ekstraheres to gange med chloroform (150 ml). Chloroformlaget
 vaskes med fortyndet saltsyre (pH 2), vand og mættet vandig
 natriumbicarbonatopløsning i den nævnte rækkefølge, og man
 30 tørrer ved hjælp af vandfrit natriumsulfat og foretager der-
 efter en tørring i vakuum. Resten opløses i methanol (10 ml),
 og man tilsætter ammoniakmættet methanolopløsning (10 ml)
 og omrører derefter ved stuetemperatur i 30 minutter. Reak-
 tionsblandingen hældes i koldt vand (250 ml) og ekstraheres
 35 to gange med chloroform. Chloroformlaget afvandes med vand-
 frit magnesiumsulfat og tørres i vakuum. Resten chromogra-

feres på silicagelsøjle under fortynding med benzen og acetone (8:1), og eluatet inddampes til opnåelse af det rå pulver (1,4 g) af 2', 3"-di-O-acetylleucomycin A₁. Dette rå pulver opløses i methanol (20 ml), tilbagesvales 20
 5 timer og tørres i vakuum. Resten chromatograferes igen på silicagelsøjle under eluering med benzen og acetone (6:1). Eluatet med $Rf_A = 0,46$ tørres i vakuum til opnåelse af forbindelsen (716 mg).

$$Rf_A = 0,46$$

10 Masse (m/e): 827 (M^+), 768 (M^+-59), 726 (M^+-101).
 NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): 1,43 (3"-CH₃), 2,00 (3"-OAc), 9,89 (CHO) ppm.

Eksempel 3

3"-O-propionylleucomycin A₅

15 I eksempel 1 erstattes butyrylchlorid (6,62 ml) med propionylchlorid (4,72 ml) til opnåelse af 2'-O-acetyl-3"-O-propionylleucomycin A₅ (1,30 g).

Denne forbindelse opløses i methanol (20 ml), tilbagesvales i 16 timer og tørres derpå i vakuum. Resten opløses i en lille mængde benzen og chromatograferes på silicagelsøjle under eluering med benzen og acetone (6:1). Fraktioner med $Rf_A = 0,47$ tørres til opnåelse af forbindelsen (850 mg).

$$Rf_A = 0,47, Rf_B = 0,14$$

25 Masse (m/e): 827 (M^+), 754 (M^+-73), 740 (M^+-87)
 NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): 1,44 (3"-CH₃), 2,57 (3'-N(CH₃)₂), 3,56 (4-OCH₃), 9,86 (CHO) ppm.

Eksempel 4

3"-O-acetylleucomycin A₅

30 I eksempel 2 erstattes 2'-O-acetylleucomycin A₁ med 2'-O-acetylleucomycin A₅ til opnåelse af 2',3"-di-O-acetylleucomycin A₅ (1,4 g).

Denne forbindelse opløses i methanol (50 ml), tilbagesvales i 15 timer og tørres derpå i vakuum. Den således

opnåede rest chromatograferes på silicagelsøjle under eluering med benzen og acetone (3:1). Fraktioner med $R_{f_A} = 0,45$ indampes i vakuum til opnåelse af forbindelsen (710 mg).

$$R_{f_A} = 0,45, R_{f_B} = 0,10$$

- 5 Masse (m/e): 813 (M^+), 754 ($M^+ - 59$), 726 ($M^+ - 87$)
 NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): 1,43 ($3''\text{-CH}_3$), 2,02 ($3''\text{-OAc}$),
 9,88 (CHO) ppm.

Eksempel 5

3''-O-acetylleucomycin A_5

- 10 Til 2''-O-acetylleucomycin A_5 (65 g) opløst i tørt dichlormethan (300 ml) sættes tørt pyridin (44 ml) og trimethylchlorsilan (39 ml), og derpå omrører man 1 time ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen hældes i vand (2 l) og ekstraheres med chloroform (500 ml). Ekstrakten vaskes med 0,1 N HCl,
 15 vand og 3% vandig ammoniak i den nævnte rækkefølge, afvandes med vandfrit magnesiumsulfat og tørres i vakuum til opnåelse af det rå 2'-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-leucomycin A_5 (69 g).

- Ovenstående stof opløses i tørt ethylacetat (200 ml),
 20 og man tilsætter tribenzylamin (227 g) og derpå acetylchlorid (51 ml) under isafkøling, hvorefter man omrører ved 70°C i 40 timer. Reaktionsblandingen hældes i vand (2 l), indstilles til en pH-værdi på 9,5 ved tilsætning af vandig ammoniak og ekstraheres med chloroform (1 l). Ekstrakten vaskes med vand,
 25 afvandes ved tilsætning af vandfrit magnesiumsulfat og indampes i vakuum til opnåelse af 2', 3''-di-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-leucomycin A_5 , hvori der indeholdes en lille mængde 18, 2', 3''-triacetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-17-dehydroleucomycin A_5 og en stor mængde tribenzylamin.
 30 Der tilsættes ammoniakmættet methanoloopløsning (250 ml) under isafkøling, og man omrører i 1,5 timer ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen hældes i vand (2 l) og ekstraheres med chloroform (1 l). Ekstrakten vaskes med vand, afvandes med vandfrit magnesiumsulfat og tørres i vakuum. Resten

opløses i koldt methanol (600 ml), og man frafiltrerer den uopløselige tribenzylamin. Filtratet tilbagesvales ved opvarmning i 20 timer og tørres derpå i vakuum til opnåelse af det rå 3"-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-leucomycin A₅ (69 g).

Stoffet opløses i en blanding af eddikesyre, tetrahydrofuran og vand (3:1:1) (250 ml) og omrøres 1 time ved stuetemperatur. Til reaktionsblandingen sættes chloroform (1 l), og man vasker med 3% vandig ammoniak. Chloroformlaget afvandes med vandigt magnesiumsulfat og tørres i vakuum til opnåelse af det rå 3"-O-acetylleucomycin A₅ (64 g), som opløses i en lille mængde benzen og hældes på en silicagelsøjle. Der udføres gradvis eluering ved hjælp af benzen og acetone (10:1 - 8:1 - 6:1). Hver fraktion kontrolleres med tyndtlagschromatografi på silicagel, og fraktionerne med $R_{fA} = 0,45$ samles og tørres i vakuum til opnåelse af det rensede stof (45,5 g, udbytte: 70,0%).

$R_{fA} = 0,45$, $R_{fB} = 0,10$
 Masse (m/e): 813 (M^+), 754 (M^+-59), 726 (M^+-87)
 Styrke: 2850 γ /mg (sammenlignet med standardleucomycin).

Eksempel 6

3"-O-propionylleucomycin A₅:

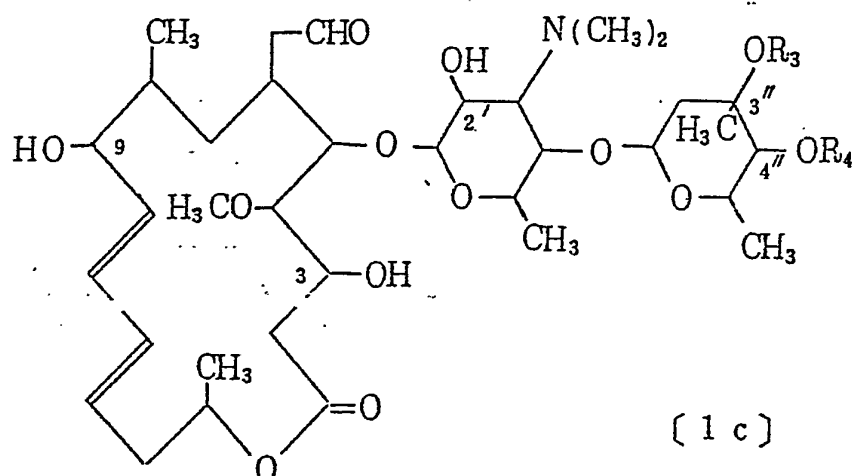
Til 2'-O-acetylleucomycin A₅ (65 g) opløst i tørt dichlormethan (300 ml) sættes tørt pyridin (44 ml) og trimethylchlorsilan (39 ml), og man omrører 1 time ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen hældes i vand (2 l) og ekstraheres med chloroform (500 ml). Ekstrakten vaskes med 0,1 N HCl, med vand og med 3% vandig ammoniak i den nævnte rækkefølge, afvandes med vandfrit magnesiumsulfat og tørres i vakuum til opnåelse af det rå 2'-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-leucomycin A₅ (70 g).

Til ovennævnte rå stof opløst i tørt dioxan (200 ml) sættes tribenzylamin (230 g), og man tilsætter propionylchlorid (65 ml) under isafkøling og omrører derpå ved 90°C i 24 timer. Reaktionsblandingen hældes i vand (2 l),

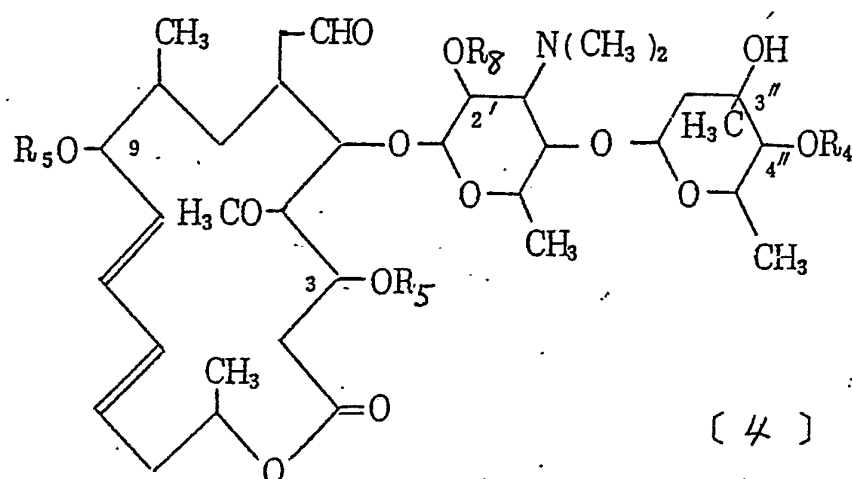
- og man indstiller til en pH-værdi på 9,5 ved tilsætning af vandig ammoniak og ekstraherer med chloroform (1 l). Ekstrakten afvandes med vandfrit magnesiumsulfat og tørres til opnåelse af 2'-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-3"-
- 5 O-propionylleucomycin A₅, hvori der findes en lille mængde 2'-O-acetyl-3,9-di-(O-trimethylsilyl)-18, 3'-di-O-propionyl-17-dehydroleucomycin A₅ og en stor mængde tribenzylamin. Der tilsættes ammoniakmættet methanolopløsning (250 ml) og omrøres ved stuetemperatur i 1,5 timer. Reaktionsblandin-
- 10 gen hældes i vand (2 l) og ekstraheres med chloroform (1 l). Ekstrakten vaskes med vand, afvandes med vandfrit magnesiumsulfat og tørres i vakuum. Resten opløses i koldt methanol, og den uopløselige tribenzylamin filtreres fra. Filtratet tilbagesvales 20 timer og tørres i vakuum til opnåelse af
- 15 rå 3,9-di-(O-trimethylsilyl)-3"-O-propionylleucomycin A₅. Dette stof opløses i en blanding af eddikesyre, tetrahydrofuran og vand (3:1:1) (250 ml) og omrøres 1 time ved stuetemperatur. Til reaktionsblandingen sættes chloroform (1 l), og man vasker med 3% vandig ammoniak. Chloroformlaget af-
- 20 vandes med vandigt magnesiumsulfat og tørres i vakuum til opnåelse af det rå 3"-O-propionylleucomycin A₅ (60 g), som opløses i en lille mængde benzen og hældes på en silicagel-søjle. Eluering udføres ved blandinger af benzen og acetone (15:1 - 10:1 - 8:1). Hver fraktion kontrolleres ved tyndt-
- 25 lagschromatografi på silicagel, og fraktionerne med $Rf_A = 0,57$ samles og tørres i vakuum til opnåelse af det rensede stof (52,5 g, udbytte: 79,4%).
- $Rf_A = 0,57$, $Rf_B = 0,14$
- Mærke (m/e): 827 (M^+), 754 (M^+-73), 740 (M^+-87)
- 30 Styrke: 2850 μ /mg (sammenlignet med standardleucomycin).

P a t e n t k r a v

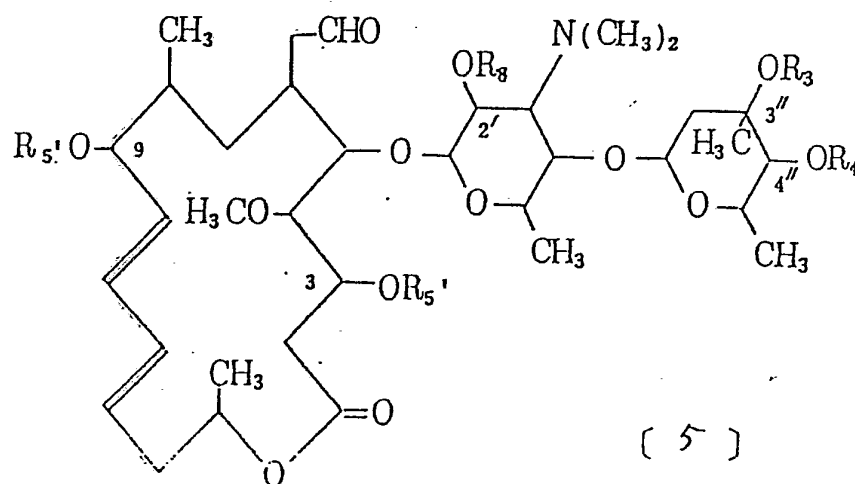
Analogifremgangsmåde til fremstilling af et 3"-acyleret
macrolidantibiotikum med formlen 1c



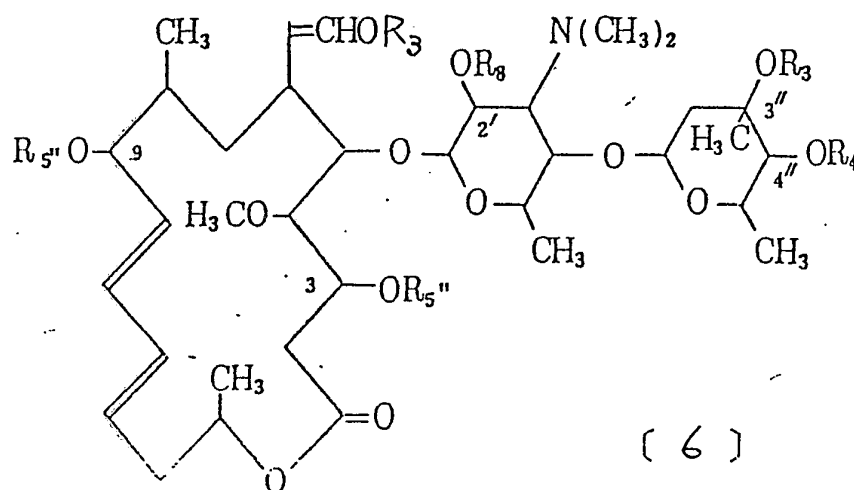
hvor R_3 betegner alkanoyl med 2-4 carbonatomer, og R_4 betegner alkanoyl med 4-5 carbonatomer, eller syreadditionssalte deraf, - k e n d e t e g n e t ved, at man acylerer en forbindelse med formlen 4



hvor R_5 betegner chloreret acetyl eller silyl, R_8 betegner alkanoyl med 2-4 carbonatomer, og R_4 har samme betydning som ovenfor, med et aliphatisk carboxylsyrehalogenid med 2-4 carbonatomer under opvarmning i nærværelse af en tertiær organisk amin i et indifferent organisk opløsningsmiddel til fremstilling af A) når $R_5 =$ chloreret acetyl, forbindelsen med formel 5,



hvor R_3 , R_4 og R_8 har samme betydning som ovenfor, og R_5' er chloreret acetyl eller B) når $R_5 =$ silyl, en blanding af en forbindelse svarende til formel 5, hvor R_3 , R_4 og R_8 har samme betydning som ovenfor, men hvor R_5 er silyl, og en forbindelse med formel 6



hvor R_3 , R_4 og R_8 har samme betydning som ovenfor, og R_5 er silyl, hvorefter, når R_5 betegner en chloreret acetylgruppe, forbindelsen med formlen 5 behandles med ammoniak i methanol til fjernelse af den chlorerede acetylgruppe, 5 hvorefter man fjerner 2'-acyl ved behandling med methanol under opvarmning, og når R_5 betegner silyl, blandingen behandles som følger:

(a) man fjerner silylgrupperne og acylgrupperne i stillingerne 18 og 2' ved opvarmning i vandig lavmolekylær alkanol, som kan indeholde en base, 10

(b) man fjerner silylgrupperne og acylgruppen i stillingen 18 ved behandling ved stuetemperatur i vandig lavmolekylær alkanol i nærværelse af en base og fjerner 2'-acylgruppen ved opvarmning i methanol, som kan indeholde vand, 15

(c) man fjerner acylgruppen i 18-stillingen ved behandling med methanol indeholdende ammoniak, hvorefter man fjerner silylgrupperne og 2'-acylgruppen ved opvarmning med vandig lavmolekylær alkohol, eller

(d) man fjerner acylgruppen i 18-stillingen ved behandling med methanol indeholdende ammoniak, hvorefter man fjerner 2'-acylgruppen ved opvarmning med methanol og fjerner silylgrupperne ved behandling med vandig syre. 20