

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

120 035

Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 20.12.78 (P. 212007)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 20.10.80

Opis patentowy opublikowano: 15.11.1983

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Int. Cl.³ C07H 15/08

Twórcy wynalazku: Leonard Falkowski, Barbara Stefańska, Elżbieta Bylec, Jerzy Golik, Jan Zieliński, Edward Borowski

Uprawniony z patentu: Politechnika Gdańska, Gdańsk (Polska)

Sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorach ogólnych 1, 2 i 3, w których R oznacza resztę makrolidu polienowego, zaś R' oznacza alkil o 1 do 4 atomach węgla.

Dotychczas z opisu patentowego St. Zjedn. Am. Nr 3.780.173 i publikacji T. Bruzseser et al, Experimentia 28, 1515 (1972) i T. Bruzseser et al, J. Pharmaceut. Sci., 64462 (1965) znane są estry alkilowe antybiotyków z grupy makrolidów polienowych, jak amfoterycyny B, nystatyny i pimarycyny. Wykazują one aktywność przeciwgrzybową rzędu wyjściowych antybiotyków i niższą od nich toksyczność, a z kwasami tworzą sole dobrze dyspergujące w wodzie. Szerokie badania biologiczne przeprowadzono z estrem metylowym amfoterycyny B — B. P. Boner et al, J. Antibiot. 25, 261 (1972), B. P. Boner et al, J. Antibiot. 28, 132 (1975) oraz B. P. Boner et al, Antimicrob. Agents Chemother., 7, 724 (1975).

Znany z opisu patentowego St. Zjedn. Am. No 3.780.173 sposób otrzymywania estrów alkilowych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych polega na reakcji antybiotyku w zawiesinie lub roztworze w rozpuszczalniku organicznym z dwuazoalkanami.

Niedogodnością opisanego sposobu jest to, że

2

wybuchowe i toksyczne własności dwuazoalkanów czynią pracę z nimi, zwłaszcza w skali technologicznej, niebezpieczną. Komplikuje to w istotny sposób technologię otrzymywania tych związków, dodatkowo utrudnioną powstawaniem niekorzystnych produktów ubocznych.

Sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza resztę makrolidu polienowego, według wynalazku polega na tym, że na N-podstawioną pochodną antybiotyku z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 4, w którym R ma podane wyżej znaczenie, w rozpuszczalniku organicznym lub mieszaninie rozpuszczalników organicznych, w temperaturze pokojowej i przy ciągłym mieszaniu działa się siarczanem dwumetylu w obecności środka zobojętniającego, całość pozostawia do przereagowania, a następnie uzyskany produkt wydziela się z mieszaniny po reakcyjnej eterem etylowym, rozpuszcza w butanolu i warstwę organiczną przemycza wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem i eterem etylowym ewentualnie z domieszką heksanu wytrąca końcowy produkt, który oczyszcza się znanymi sposobami.

Jako N-podstawioną pochodną antybiotyków z grupy makrolidów polienowych stosuje się N-/N', N'-dwumetyloamino/-metyleno-pochodną polifungi-

ny, nystatyny, kandycydyny, amfoterycyny B, rimocydyny.

Jako rozpuszczalniki organiczne stosuje się N,N-dwumetyloacetamid, N,N-dwumetyloformamid, alkohole alifatyczne o długości łańcucha C_1-C_5 lub ich mieszaninę.

Jako środek zobojętniający stosuje się wodorowęglan sodu.

Sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorach ogólnych 2 i 3, w których R oznacza resztę makrolidu polienowego, zaś R' oznacza alkil o 1 do 4 atomach węgla, według wynalazku polega na tym, że na N-podstawioną pochodną antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorach 5 lub 6, w których R i R' ma podanej wyżej znaczenie, w rozpuszczalniku organicznym lub mieszaninie rozpuszczalników organicznych, w temperaturze pokojowej i przy ciągłym mieszaniu działa się siarczanem dwumetylu w obecności środka zobojętniającego, całość pozostawia do przereagowania, a następnie uzyskany produkt wydziela się z mieszaniny poreakcyjnej eterem etylowym, rozpuszcza w butanolu i warstwę organiczną przemycwa wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem i eterem etylowym ewentualnie z dodatkiem heksanu wytrąca końcowy produkt, który oczyszcza się znanymi sposobami.

Jako N-podstawione pochodne antybiotyków z grupy makrolidów polienowych stosuje się N-/penten-2-on-3-ylo-2/- i N-/1-karboalkoksy/-propen-1-ylo-2/- pochodną polifunginy, nystatyny, kandycydyny, amfoterycyny B, rimocydyny.

Jako rozpuszczalniki organiczne stosuje się N,N-dwumetyloacetamid, N,N-dwumetyloformamid, alkohole alifatyczne o długości łańcucha C_1-C_5 lub ich mieszaninę.

Jako środek zobojętniający stosuje się wodorowęglan sodu.

Opisane wyżej nowe estry metylowe N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych wykazują wysoką aktywność przeciwwgrzybową, co ilustruje załączona do opisu tabela.

Estry metylowe N-/N',N'-dwumetyloamino/-metyleno-podstawionych makrolidów polienowych tworzą z kwasami sole bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie.

Uzyskane estry metylowe N-podstawionych pochodnych można przeprowadzić w estry wyjściowych antybiotyków przez usunięcie podstawnika grupy aminowej działaniem wodnego roztworu węglanu amonu, buforu o pH 4-5 lub aminą alifatyczną, a następnie wyizolowanie uzyskanego produktu z mieszaniny poreakcyjnej znanymi sposobami.

Estry metylowe N-podstawionych pochodnych można otrzymać również z wyjściowego antybiotyku, przeprowadzając go najpierw w N-podstawioną pochodną działaniem acetalu alkilowego N,N-dwumetyloformamidu lub aktywnego karbonylu, a następnie proponowanym sposobem w ester metylowy.

Okazuje się, że usuwanie podstawników na grupie aminowej nie jest konieczne dla otrzymania aktywnych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych ponieważ otrzymane estry metylowe z odpowiednimi podstawnikami na grupie aminowej wykazują także wysoką aktywność przeciwwgrzybową.

Estry metylowe N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych są związkami nowymi, z których po usunięciu podstawnika na grupie aminowej dochodzi się do znanych estrów metylowych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych.

Ponadto zastąpienie dwuazometanu siarczanem dwumetylu czyni proces estryfikacji bezpiecznym.

Nowe związki jako estry wykazują mniejszą toksyczność w stosunku do wyjściowych antybiotyków [D. Bonner, W. Mechliński, C. Schaffner, „Polyene macrolide derivatives III. Biological properties of polyene macrolide esters salts”, Vo 25 261 (1972)] i dlatego mogą być stosowane w leczeniu.

Zaletą sposobu według wynalazku jest duża jego uniwersalność, prostota technologii oraz dobre wydajności.

Przykład I. 0,65 g N-/penten-2-on-3-ylo-2/-polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 820$ przy 304 nm rozpuszcza się w 35 ccm metanolu, dodaje 0,55 g wodorowęglanu sodu i 0,6 ccm siarczanu dwumetylu, całość mieszając w temperaturze pokojowej przez 18 godzin. Następnie odwirowuje się osad, roztwór zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 5 ccm, dodaje 30 ccm butanolu i ekstrahuje dwukrotnie wodą. Roztwór butanolu zagęszcza się w destylacji azeotropowej z wodą pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskany produkt wytrąca się mieszaniną eteru etylowego i heksanu w stosunku 1:1, przemycwa dwukrotnie eterem etylowym, heksanem i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem.

Otrzymano 0,5 g estru metylowego N-/penten-2-on-3-ylo-2/-polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 700$ przy 304 nm, co stanowi 78% wydajności teoretycznej.

Przykład II. 0,7 g N-/1-karboetoksy/-propen-1-ylo-2/-polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 680$ przy 304 nm rozpuszcza się w mieszaninie 6 ml N,N-dwumetyloacetamidu i 0,5 ml metanolu, dodaje 0,6 g wodorowęglanu sodu oraz 0,65 ml siarczanu dwumetylu. Uzyskany produkt wytrąca się z mieszaniny poreakcyjnej kolejno 300 ml eteru i 200 ml heksanu, odwirowuje i rozpuszcza w 30 ml butanolu. Dalszy tok postępowania jak w przykładzie I.

Otrzymano 0,55 g estru metylowego N-/1-karboetoksy/-propen-1-ylo-2/-polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 580$ przy 304 nm, co stanowi 75% wydajności.

Przykład III. 0,5 g nystatyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 500$ przy 304 nm rozpuszcza się w 4 ml N,N-dwumetyloformamidu i dodaje 0,08 ml dwumetyloacetanu N,N-dwumetyloformamidu. Po godzinie dodaje się 0,6 g wodorowęglanu sodu i przy intensywnym mieszaniu 0,6 ml siarczanu dwumetylu. Po 12 godzinach mieszania w temperaturze pokojowej uzyskany produkt wytrąca się 200 ml eteru etylo-

wego, a odwirowany osad rozpuszcza w 10 ml butanolu. Dalszy tok postępowania jak w przykładzie I.

Otrzymano 0,3 g estru metylowego N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenonystatyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 500$ przy 304 nm, co stanowi 60% wydajności teoretycznej.

Przykład IV. 0,15 g N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenokandycydyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 735$ przy 380 nm rozpuszcza się w 10 ml N,N-dwumetyloformamidu i dodaje 0,2 g wodorowęglanu sodu, wkrapla 0,2 ml siarczuanu dwumetylu i miesza 15 godzin w temperaturze pokojowej. Odwirowuje się osad wodorowęglanu sodu, a z roztworu wytrąca osad mieszaniną 100 ml eteru etylowego i heksanu w stosunku 1:1, który rozpuszcza się w 40 ml butanolu nasyconego wodą, przemywa dwukrotnie 2 ml wody, zaś roztwór butanолоwy zagęszcza w destylacji azeotropowej z wodą pod zmniejszonym ciśnieniem. Następnie 100 ml mieszaniny eteru etylowego i heksanu w stosunku 2:1 wytrąca się ester metylowy N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenokandycydyny, przemywa eterem etylowym i heksanem oraz suszy pod zmniejszonym ciśnieniem.

Otrzymano 0,9 g produktu o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 720$ przy 380 nm, co stanowi 45% wydajności teoretycznej.

Przykład V. 0,3 g N-/1-karboetoksy/-propen-1-ylo-2/-amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1400$ przy 383 nm rozpuszcza się w 3 ml N,N-dwumetyloformamidu, dodaje 0,1 g wodorowęglanu sodu i 0,05 ml siarczuanu dwumetylu. Całość miesza się 16 godzin w temperaturze pokojowej, a następnie dodaje 100 ml butanolu i 50 ml wody. Warstwę butanолоwą przemywa się dwukrotnie wodą i zagęszcza w destylacji azeotropowej z wodą pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskany produkt wytrąca się z mieszaniny poreakcyjnej 100 ml eteru etylowego, odwirowuje i przemywa kolejno eterem etylowym, heksanem oraz suszy pod zmniejszonym ciśnieniem.

Otrzymano 0,22 g estru metylowego N-/1-karboetoksy/-propen-1-ylo-2/-amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1100$ przy 383 nm, co stanowi 70% wydajności teoretycznej.

Przykład VI. 0,5 g N-/penten-2-on-3-ylo-2/-amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1400$ przy 383 nm rozpuszcza się w 25 ml N,N-dwumetyloacetamidu, dodaje 0,5 g wodorowęglanu sodu i 0,5 ml siarczuanu dwumetylu. Po 16 godzinach mieszania w temperaturze pokojowej izoluje się uzyskany produkt jak w przykładzie V.

Otrzymano 0,4 g estru metylowego N-/penten-2-on-3-ylo-2/-amfoterycyny B o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1000$ przy 383 nm, co stanowi 80% wydajności teoretycznej.

Przykład VII. 0,8 g polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 600$ przy 304 nm rozpuszcza się w 10 ml N,N-dwumetyloacetamidu i dodaje 1 ml acetyloacetanu, pozostawiając przez noc w temperaturze pokojowej. Następnie nadmiar acetyloacetanu oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, doda-

je 0,9 ml siarczuanu dwumetylu, 0,8 g wodorowęglanu sodu oraz 2 ml metanolu i całość miesza. Po 4 godzinach oddziela się wodorowęglan sodu, odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem metanol i uzyskany produkt wytrąca z mieszaniny poreakcyjnej eterem etylowym.

Następnie rozpuszcza się go w 10 ml butanolu, dwukrotnie przemywa wodorotlenkiem amonu o pH = 8, wodą, roztworem buforu octanowego o pH = 4 i dwukrotnie wodą. Roztwór butanолоwy zagęszcza się pod zmniejszonym ciśnieniem i 200 ml eteru etylowego wytrąca osad estru metylowego polifunginy, który przemywa się trzykrotnie eterem etylowym i heksanem oraz suszy pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano 0,55 g produktu o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 560$ przy 304 nm oraz $IC_{50} = 0,4$ mcg/ccm, co stanowi 70% wydajności teoretycznej.

Przykład VIII. 0,5 g rimocydyny rozpuszcza się w 5 ml N,N-dwumetyloacetamidu i dodaje 0,5 ml acetyloacetanu. Po 24 godzinach odparowuje się nadmiar acetyloacetanu pod zmniejszonym ciśnieniem, dodaje 0,5 ml siarczuanu dwumetylu, 0,5 g wodorowęglanu sodu oraz 5 ml metanolu i całość miesza. Po 4 godzinach mieszania na mieszkadle magnetycznym odsącza się osad wodorowęglanu sodu, odparowuje metanol i 200 ml eteru etylowego wytrąca uzyskany produkt.

Następnie rozpuszcza się go w 10 ml butanolu, przemywa buforem octanowym o pH = 3,8 i dwukrotnie wodą. Roztwór butanолоwy zagęszcza się pod zmniejszonym ciśnieniem i 200 ml eteru etylowego wytrąca ester metylowy rimocydyny.

Otrzymano 0,25 g estru metylowego rimocydyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1000$ przy 304 nm, co stanowi 50% wydajności teoretycznej.

Przykład IX. 0,6 g N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenopolifunginy rozpuszcza się w 5 ml N,N-dwumetyloacetamidu, dodaje 0,6 g wodorowęglanu sodu, 5 ml metanolu, 0,6 ml siarczuanu dwumetylu i całość miesza. Po 4 godzinach odwirowuje się osad wodorowęglanu sodu, odparowuje metanol pod zmniejszonym ciśnieniem, zaś produkt wytrąca 200 ml eteru etylowego, rozpuszcza w butanolu, dwukrotnie przemywa chlorkiem wapnia i wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem, a eterem etylowym wytrąca się ester metylowy N-podstawiczej polifunginy, który trzykrotnie przemywa się eterem etylowym.

Otrzymano 0,3 g estru metylowego N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenopolifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 650$ przy 304 nm, $IC_{50} = 0,5$ mcg/ccm i $EH_{50} = 150$ mcg/ccm, co stanowi 50% wydajności teoretycznej.

Przykład X. 0,5 g N-/N',N'-dwumetyloamino/-metylenopolifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 970$ przy 304 nm rozpuszcza się w 5 ml N,N-dwumetyloacetamidu, dodaje 0,5 g wodorowęglanu sodu, 5 ml metanolu, 0,5 ml siarczuanu dwumetylu i całość miesza. Po 20 godzinach reakcji odsącza się osad wodorowęglanu sodu, odparowuje metanol pod zmniejszonym ciśnieniem i 200 ml eteru etylowego wytrąca uzyskany produkt.

Surową pochodną rozpuszcza się w butanolu, przemywa wodorotlenkiem amonu o pH = 8 i dwukrotnie wodą, roztwór zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem, a pochodną wytrąca się 200 ml eteru etylowego.

Otrzymano 0,4 g estru metylowego N-(N',N'-dwumetyloamino/-metylenopolifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 680$ przy 304 nm, $IC_{50} = 0,5$ mcg/ccm i $EH_{50} = 120$ mcg/ccm, co stanowi 80% wydajności teoretycznej.

Tabela

Porównanie aktywności przeciwwgrzybowej estrów metylowych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych i estrów metylowych N-podstawionych pochodnych tych antybiotyków

Antybiotyk	Ester metylowy antyb.	Ester metylowy N-podstawionej pochodnej	IC_{50} (mcg/ccm)
Pimarycyna	—Me *	—	3,5
	—	NPA —Me **	4,5
	—	DMA —Me ***	5,0
Rimocydyna	—Me	—	2,5
	—	NPA —Me	1,5
	—	NPO —Me ****	3,0
Nystatyna	—Me	—	0,30
	—	NPA —Me	0,35
Polifungina	—Me	—	0,25
	—	NPA —Me	0,35
	—	DMA —Me	0,50
	—	NPO —Me	0,40
Amfoterycyna B	—Me	—	0,03
	—	NPA —Me	0,05
	—	DMA —Me	0,10
Aureofacyna	—Me	—	0,003
	—	NPA —Me	0,005
Kandycydyna	—Me	—	0,005
	—	DMA —Me	0,008

* — ester metylowy antybiotyku z grupy makrolidów polienowych

** — ester metylowy N-penten-2-on-3-ylo-2/pochodnej antybiotyku z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 5

*** — ester metylowy N-(N',N'-dwumetyloamino/-metyleno pochodnej antybiotyku z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 4

**** — ester metylowy N-[1-karboalkoksy/-propen-1-ylo-2]-pochodnej antybiotyku z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 6

IC_{50} — oznacza stężenie substancji hamujące w 50% wzrost *S. cerevisiae* w pożywce płynnej wg Sabourouda po 24 h w temperaturze 32°C.

Przykład XI. 1 g polifunginy rozpuszcza się w 10 ml N,N-dwumetyloacetamidu, dodaje 1 ml acetylocetanu etylu i pozostawia przez noc w temperaturze pokojowej. Po 20 godzinach odparowuje się nadmiar acetylocetanu etylu, dodaje 1 g wodorowęglanu sodu, 5 ml metanolu, 1 ml siarczanu dwumetylu i całość miesza. Po 4 godzinach reakcji odwirowuje się osad wodorowęglanu sodu i odparowuje metanol, zaś uzyskany produkt wytrąca się 200 ml eteru etylowego, rozpuszcza w 10 ml butanolu i przemywa wodorotlenkiem amonu o pH = 8 oraz dwukrotnie wodą.

Roztwór butanolowy przemywa się buforem octanowym o pH = 4,2 i dwukrotnie wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem, zaś ester wytrąca eterem etylowym. Otrzymano 0,51 g estru metylowego polifunginy o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 800$ przy 304 nm, $IC_{50} = 0,4$ mcg/ccm, co stanowi 51% wydajności teoretycznej.

Przykład XII. 0,3 g rimocydyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 800$ przy 304 nm rozpuszcza się w 5 ml N,N-dwumetyloacetamidu i dodaje 0,5 ml acetylocetanu etylu. Po 20 godzinach odparowuje się nadmiar acetylocetanu etylu, dodaje 0,3 g wodorowęglanu sodu, 0,3 ml siarczanu dwumetylu oraz 3 ml metanolu i całość miesza. Po 4 godzinach reakcji oddziela się osad wodorowęglanu sodu, odparowuje metanol pod zmniejszonym ciśnieniem, zaś produkt wytrąca 200 ml eteru etylowego, rozpuszcza się w butanolu, przemywa kolejno wodorotlenkiem amonu o pH = 8 i wodą oraz zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem.

Wytrącony eterem etylowym ester odwirowuje się i dwukrotnie przemywa eterem etylowym. Otrzymano 0,17 g estru metylowego rimocydyny o $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 740$ przy 304 nm, co stanowi 57% wydajności teoretycznej.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza resztę makrolidu polienowego, **znamienny tym**, że na N-podstawioną pochodną antybiotyku z grupy makrolidów polienowych o wzorze ogólnym 4, w którym R ma podane wyżej znaczenie, w rozpuszczalniku organicznym lub mieszaninie rozpuszczalników organicznych, w temperaturze pokojowej i przy ciągłym mieszaniu działa się siarczanem dwumetylu w obecności środka zobojętniającego, całość pozostawia do przereagowania, a następnie uzyskany produkt wydziela się z mieszaniny poreakcyjnej eterem etylowym, rozpuszcza w butanolu i warstwę organiczną przemywa wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem i eterem etylowym ewentualnie z dodatkiem heksanu wytrąca końcowy produkt, który oczyszcza się znanymi sposobami.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako N-podstawioną pochodną antybiotyków z grupy makrolidów polienowych stosuje się N-(N',N'-

-dwumetyloamino/-metylenopochodną polifunginy, nystatyny, kandycydyny, amfoterycyny B, rimocydyny.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalniki organiczne stosuje się N,N-dwumetyloacetamid, N,N-dwumetyloformamid, alkohole alifatyczne o długości łańcucha C₁—C₅ lub ich mieszaninę.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako środek zobojętniający stosuje się wodorowęglan sodu.

5. Sposób otrzymywania nowych estrów metylowych N-podstawionych pochodnych antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorach ogólnych 2 i 3, w których R oznacza resztę makrolidu polienowego, zaś R' oznacza alkil o 1 do 4 atomach węgla, **znamienny tym**, że na N-podstawioną pochodną antybiotyków z grupy makrolidów polienowych o wzorach 5 lub 6, w których R i R' ma podane wyżej znaczenie, w rozpuszczalniku organicznym lub mieszaninie rozpuszczalników organicznych, w temperaturze pokojowej i przy ciągłym mieszanii działa się siarczanem dwumetylu

w obecności środka zobojętniającego, całość pozostawia do przereagowania, a następnie uzyskany produkt wydziela się z mieszaniny poreakcyjnej eterem etylowym, rozpuszcza w butanolu i warstwę organiczną przemycza wodą, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem i eterem etylowym ewentualnie z dodatkiem heksanu wytrąca produkt końcowy, który oczyszcza się znanymi sposobami.

6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako N-podstawione pochodne antybiotyków z grupy makrolidów polienowych stosuje się N-/penten-2-on-3-ylo-2/- i N-/1-karboalkoksy-/propen-1-ylo-2/- pochodne polifunginy, nystatyny, kandycydyny, amfoterycyny B, rimocydyny.

7. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalniki organiczne stosuje się N,N-dwumetyloacetamid, N,N-dwumetyloformamid, alkohole alifatyczne o długości łańcucha C₁—C₅ lub ich mieszaninę.

8. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako środek zobojętniający stosuje się wodorowęglan sodu.

