



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 22.04.1966 (P. 114 201)

Pierwszeństwo: 20.10.1965 Stany
Zjednoczone
Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 15.03.1973

Opis patentowy opublikowano: 20. 11. 1975

Kl. 12p,2

MKP C07d 27/04

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Robert David Birkenmeyer, Fred Kagan

Uprawniony z patentu: The Upjohn Company, Kalamazoo (Stany Zjednoczone Ameryki)

Sposób wytwarzania 7-chlorowco-7-dezoksylinkomycyny i jej analogów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania 7-chlorowco-7-dezoksylinkomycyny i jej analogów.

Nowym związkom odpowiada wzór 1, w którym R oznacza grupę alkilową o nie więcej niż 20 atomach węgla, korzystnie nie więcej niż 8 atomach węgla, cykloalkilową o 3—8 atomach węgla oraz aralkilową o nie więcej niż 12 atomach węgla, korzystnie nie więcej niż 8 atomach węgla, a Ac oznacza podstawiony w pozycji 4 rodnik acylowy kwasu L-2-pyrolidynokarboksylowego o wzorze 2 i 3, w których R₁ i R₂ oznaczają grupę alkilidenową o nie więcej niż 20 atomach węgla, korzystnie o nie więcej niż 8 atomach węgla, cykloalkilidenową o 3—8 atomach węgla lub aralkilidenową o nie więcej niż 12 atomach węgla, korzystnie nie więcej niż 8 atomach węgla, a R₃ oznacza atom wodoru lub grupę HR₂.

Przykładami grup alkilowych o nie więcej niż 20 atomach węgla (R, HR i HR₂) są grupy: metylowa, etylowa, propylowa, butylowa, pentylowa, heksylowa, heptylowa, oktylowa, nonylowa, decylowa, undecylowa, dodecylowa, tridecylowa, tetradecylowa, pentadecylowa, heksadecylowa, heptadecylowa, oktadecylowa, nonadecylowa i ekozyłowa oraz ich izomery.

Przykładami grup cykloalkilowych są grupy: cyklopropylowa, cyklobutylowa, cyklopentylowa, cykloheksylowa, cykloheptyłowa, cyklooktyłowa, 2-metylocyklopentylowa, 2,3-dwumetylocyklobutyl-

2

lowa, 4-metylocyklobutylowa i 3-cyklopentylpropylowa. Przykładami grup aralkilowych są grupy: benzylowa, fenetylowa, α -fenylopropylowa i α -naftylometylowa. Przykłady grup alkilidenowych i cykloalkilidenowych i grup aralkilidenowych (R₁ i R₂) są grupy takie jak: metylenowa, etylidenowa, propylidenowa, butylidenowa, pentylidenowa, heksylidenowa, heptylidenowa, oktylidenowa, nonylidenowa, decylidenowa, undecylidenowa, dodecylidenowa, tridecylidenowa, tetradecylidenowa, pentadecylidenowa, heksadecylidenowa, heptadecylidenowa, oktadecylidenowa, nonadecylidenowa, ekozyliidenowa i ich izomeryczne odmiany, cyklopropylidenowa, cyklobutylidenowa, cykloheksylidenowa, cykloheptylidenowa, cyklooktylidenowa, 2-cyklopropyloetylidenowa, 3-cyklopentylpropylidenowa, benzylidenowa, 2-fenylloetylidenowa, 3-fenyllopropylidenowa i α -naftylometylenowa.

Według wynalazku nowe związki o wzorze 1 wytwarza się zastępując grupę 7-hydroksylową w związku o wzorze 4 chlorem.

W tym celu związek o wzorze 4, w którym R oznacza grupę alkilową a Ac oznacza grupę acylową poddaje się reakcji z odczynnikiem Rydon'a. Reakcję prowadzi się korzystnie przez zmieszanie związku o wzorze 4 z odczynnikiem Rydon'a i ogrzewaniu tej mieszaniny. We wzorze 4 podstawnikami Ac i R mogą być wyżej wymienione rodniki, nie reagujące z odczynnikiem Rydon'a.

Na przykład, jeżeli jako produkt wyjściowy sto-

suje się związek o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2, otrzymuje się związek o wzorze 1, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2. Jeżeli ten związek albo związek wyjściowy o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2, uwodarnia się w obecności katalizatora aktywnego dla nasycenia podwójnego wiązania etylenowego, otrzymuje się związek o wzorze 1 w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 3 jako mieszaninę cis i trans epimerów o wzorach 5 i 6, które jeśli potrzeba rozdziela się metodą przeciwwprądową lub chromatograficznie.

Jeżeli R_3 we wzorze 3, we wzorze 1 w przypadku, gdy Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 3, i we wzorze 4 w przypadku, gdy Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 3, oznacza wodor, to można go zastąpić przez grupę HR_2 na drodze alkilacji, korzystnie przez reakcję związku o wzorze 3, związku o wzorze 1, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 3 albo związku o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 3, w których R_3 oznacza wodor, z oksoswiązkiem (aldehydem lub ketonem) i uwodornienie otrzymanego związku w obecności katalizatora aktywnego dla nasycenia podwójnego wiązania etylenowego. Jako katalizator można stosować albo platynę albo pallad. Odpowiednie związki okso posiadają wzór R_4R_5CO , w którym $R_4R_5C=$ ma to samo znaczenie co R_2 .

Przykładami odpowiednich związków okso są: aldehyd mrówkowy, aldehyd octowy, aldehyd propionowy, aldehyd masłowy, aceton, izobutyloketon, aldehyd benzoowy, aldehyd fenylacetowy, aldehyd hydrocynamonowy, acetofenon, keton etylowofenylowy, 3-metylo-4-fenyl-2-metylo-5-fenyl-3-pentanon, aldehyd 3-cyklopentanopropionowy, aldehyd cykloheksanoctowy, aldehyd cykloheptanokarboksylowy, aldehyd 2,2-dwumetylocyklopropyloctowy, keton 2,2-dwumetylocyklopropylometylowy, keton cyklopentylometylowy, keton cyklobutylometylowy, cyklobutanon, cykloheksanon, 4-metylocykloheksanon i tym podobne.

Produkty wyjściowe o wzorze 4 wytwarza się przez acylowanie związku o wzorze 7, w którym R ma wyżej podane znaczenie, kwasem L-2-pyrolidynokarboksylowym podstawionym w pozycji 4 o wzorze 2 lub 3. Reakcję acylowania przeprowadza się w znany fachowcom sposób stosowany do acylowania aminocukrów. Kwas wyjściowy o wzorze 2 otrzymuje się przez reakcję związku 4-keto- o wzorze 8, w którym Z oznacza ochronną grupę hydrokarbyloksykarbonylową, którą można usunąć drogą wodorolizy, trytylową np. trójfenylometylową, dwufenyl(p-metoksyfenyl)ometylową, bis-(p-metoksyfenyl)fenylometylową, benzylową lub p-nitrobenzylową z odczynnikiem Wittiga, na przykład alkilidenotrójfenylofosforanu [zob. Wittig i inni, Ber., 87, 1348 (1954); Trippett Quarterly Reviews, XVII, Nr 4, str. 406 (1963)].

Przykładami grup hydrokarbyloksykarbonylowych (Z) są grupy trzecziorzędowa-butoksykarbonylowa; grupy benzyloksykarbonylowe o wzorze 9, w którym X oznacza wodor, grupę nitrową, me-

toksyloową, chlor, brom, na przykład grupę karbo-benzoksylową, p-nitrokarbo-benzoksylową, p-bromo- i p-chlorokarbo-benzoksylową; oraz grupy fenyl-ksykarbonylową o wzorze 10, w którym X_1 oznacza wodor, grupę alilową lub alkilową o nie więcej niż 4 atomach węgla, takie jak fenylksykarbonylowa, p-toliloksykarbonylowa, p-etylofenyl-ksykarbonylowa, p-alilofenylksykarbonylowa i tym podobne.

W procesie tym kwas 4-keto-L-2-pyrolidynokarboksylowy o wzorze 8 dodaje się do świeżo przygotowanego odczynnika Wittiga. Stosowany odczynnik Wittiga można ogólnie określić wzorem: $R_1 = P(C_6H_5)_3$, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie. Odczynnik Wittiga otrzymuje się przez reakcję halogenku alkilo-, cykloalkilo-, lub aralkilotrójfenylofosfoniowego z zasadą taką jak amidek sodowy, wodorek sodu lub potasu, sól sodowa lub potasowa sulfotlenku dwumetylu i tym podobna. Przykładowo przez usunięcie chlorowodoru z halogenku alkilotrójfenylofosfoniowego otrzymuje się alkilidenotrójfenylofosforan.

Wytwarzanie tego związku fosfonowego omówione jest szczegółowo przez Trippetta w Quart. Rev. XVII, Nr 4 str. 406 (1963). Najczęściej reakcję przeprowadza się w organicznym rozpuszczalniku, takim jak benzen, toluen, eter, sulfotlenek dwumetylu, czterohydrofuran, lub tym podobne, w temperaturze zawartej między $10^\circ C$ a temperaturą skraplania mieszaniny reakcyjnej. Otrzymany produkt w postaci 4-alkilideno-, 4-cykloalkilideno- lub 4-aralkilideno-L-proliny o wzorze 11 z grupą ochronną w pozycji 1, odzyskuje się z mieszaniny reakcyjnej w znany sposób, najczęściej przez ekstrakcję z wodnego roztworu mieszaniny reakcyjnej. Surowy produkt oczyszcza się w znany sposób, na przykład: przez krystalizację, chromatografię lub przez przekrystalizowanie łatwo uzyskiwanych pochodnych, takich jak sole aminowe aminokwasu, na przykład sól dwucykloheksyloaminowa i tym podobne i uwalnianie aminokwasów z tych związków. Przez uwodornienie kwasu o wzorze 11 w obecności katalizatora, na przykład platyny, wpływającego na nasycenie podwójnego wiązania, lecz nie powodującego wodorolizy, otrzymuje się związek o wzorze 12. W reakcji stosuje się platynę osadzoną na nośniku, np. na węglu lub żywicy anionitowej typu Dowex-1, sieciowaną żywicę polistyrenotrójmetylobenzyloamoniową o cyklu wodorotlenowym.

Ewentualnie związki wyjściowe o wzorze 4 można acylować kwasami o wzorach 8, 11 lub 12 w celu utworzenia odpowiednich związków o wzorze 2 w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 8 lub o wzorze 11, albo o wzorze 12. Następnie związek o wzorze 2, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 8, można przeprowadzić w związek o wzorze 2, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 11, działając odczynnikami Wittiga, a następnie uwodornić do związku o wzorze 2, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 12, sposobami opisanymi powyżej. Uwodornienie zarówno kwasu o wzorze 11, jak również acylowego związku o

Liinkomycynę C, etylo-6,8-dwudezoksy-7-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pirolidynolkarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd o wzorze 13, w którym R oznacza grupę etylową, R₁H oznacza grupę propylową, a R₃ oznacza grupę metylową, uzyskuje się, gdy proces zgodnie z opisem patentowym St. Zjedn. Am. nr 3.086.912 prowadzi się w obecności etioniny. Liinkomycyna D, metylo-6,8-dwudezoksy-6-(trans-4-propylo-L-2-pirolidynolkarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd o wzorze 13, w którym R oznacza grupę metylową R₁H oznacza grupę propylową, a R₃ oznacza wodor, otrzymuje się na drodze fermentacji, prowadzonej według opisu patentowego

Na przykład, linkomycynę przez traktowanie acetonem w obecności kwasu p-toluenosulfonowego przeprowadza się w 3,4-O-izopropylidenolinkomycynę, z której przez utlenienie tlenkiem chromowym otrzymuje się 7-keto-3,4-O-izopropylidenolinkomycynę (metylo-6,8-dwudezoksy-3,4-O-izopropylideno-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pirolidynolkarboksamid)-1-hio-D-glicero- α -D-galakto-oktonopirano-7-ulozyd, który przez działanie borowodorciem sodowym przeprowadza się w 7-epilinkomycynę (metylo-6,8-dwudezoksy-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pirolidynolkarboksamid)-1-

-tio-L-treo- α -D-galakto-oktopiranozyd). Każdy z produktów wyjściowych wzoru 4, posiadający układ D-erytro można przeprowadzić tym sposobem w odpowiedni układ D-treo.

Ponieważ linkomycyny wytworzone przez biosyntezę, jak również cukry aminowe z nich pochodzące są tioglikozydami metylu albo etylu, to niekiedy pożądanym jest przeprowadzenie ich w niższe lub wyższe glikozydy. Czasami jest też pożądanym przeprowadzenie któregośkolwiek ze związków o wzorze 1, 4 lub 7 w wyższe lub niższe glikozydy. Można to osiągnąć skutecznie przez reakcję tego związku, poddawanego przemianom z merkaptanem o wzorze R_6SH , w którym R_6 oznacza grupę alkilową o nie więcej niż 20 atomach węgla, lecz odmienną od R, na przykład, ze związków o wzorach 1 i 4, działając merkaptanem o wzorze R_6SH , otrzymuje się dwuacetały o wzorach 18 lub 19, w których to wzorach X oznacza grupę hydroksylową lub chlorowec, które po traktowaniu kwasem i/lub ogrzewaniu ulegają cyklizacji dając związki o wzorze 20.

Sposób ten można stosować bezpośrednio do każdego z wyjściowych produktów o wzorze 4, na przykład do związku o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik kwasu o wzorze 2, 3, 8, 11 i 12. Otrzymane produkty, poddane hydrazynolizie dają związki o wzorze 21, które można N-acylować w sposób wyżej opisany kwasami o wzorach 2, 3, 8, 11 i 12, uzyskując związki o wzorze 20, w którym X oznacza grupę hydroksylową. Sposób można stosować również do produktów wyjściowych o wzorze 7. Na przykład, α -MTL po poddaniu traktowaniu merkaptanem etylowym, a następnie cyklizacji w sposób opisany wyżej, przeprowadza się w α -ETL.

Alternatywnym sposobem wytwarzania związków o wzorach 18 lub 19 jest bromowanie produktu wyjściowego, a następnie reakcją z merkaptanem zgodnie ze schematem 2. Produkt wyjściowy o wzorze 22 rozpuszcza się w wodzie w postaci rozpuszczalnej soli, na przykład chlorowodoru i wprowadza się brom chłodząc, korzystnie do temperatury od -10 do $20^\circ C$. Korzystnie wodny roztwór chłodzi się do temperatury $0^\circ C$ i wkrapla brom. Brom stosuje się w ilości stechiometrycznej, a mianowicie 1 mol bromu na mol produktu wyjściowego; jakikolwiek można stosować ilości większe lub mniejsze. Korzystny jest lekki nadmiar bromu, wynoszący 5–20%. Początkowo brom zastępuje grupę RS— i powstały produkt pośredni hydrolizuje do cukru, w którym piranoza o wzorze 23 jest w równowadze z aldozą o wzorze 24. W obecności kwasu, na przykład kwasu solnego, lub innego silnego nieutleniającego kwasu, takiego jak kwas p-toluenosulfonowy i żywice anionitowe typu kwasu sulfonowego, merkaptan o wzorze R_6SH reaguje z cukrem o wzorze 23 lub 24, przy czym powstaje tioglikozyd o wzorze 25. Równocześnie może powstawać dwuacetal o wzorze 18 lub o wzorze 19, który po oddzieleniu można cyklizować, jak opisano wyżej, do bardziej pożądanego związku, a mianowicie tioglikozydu o wzorze 25.

Mechanizm działania odczynnika Ryden'a, w wy-

niku którego występuje zastąpienie grupy 7-hydroksy- chlorowcem, nie jest w pełni zrozumiały. Przypuszczalnie jednakże mechanizm ten powoduje zmianę w konfiguracji. I tak ze związku o konfiguracji D-erytro powstaje związek 7-chlorowec o konfiguracji L-treo.

Odczynniki Ryden'a o wzorach 26, 27 i 38 wytwarza się przez dodanie chlorowca do trójfenylofosfiny lub trójfenylofosforynu lub przez dodanie halogenku alkilu do trójfenylofosforynu. W wzorach 26, 27 i 38 X oznacza chlorowec, na przykład chlor, brom i jod (Ryden i inni, J. Chem. Soc. 2224 (1935); ibid, 2281 (1954); ibid, 3043 (1956). Odczynnik Ryden'a można wytwarzać in situ przez dodanie chlorowca lub halogenku metylu do roztworu trójfenylofosfiny albo trójfenylofosforynu w rozpuszczalniku obojętnym, takim jak acetonitryl lub dwumetyloformamid, lub można go po wytworzeniu wyodrębnić. W każdym przypadku reakcja z linkomycyną lub jej analogiem następuje przez wprowadzenie w zetknięcie z odczynnikiem Ryden'a w obojętnym rozpuszczalniku na przykład w acetonitrylu lub w dwumetyloformamidzie, aż do uzyskania pożądanego zastąpienia grupy 7-hydroksylowej chlorowcem. Reakcja przebiega w normalnej temperaturze, jakikolwiek można stosować lekkie podgrzanie, jeżeli jest to pożądanym. Korzystną temperaturą reakcji jest temperatura około $20^\circ C$ – $55^\circ C$. Produkt odzyskuje się z mieszaniny reakcyjnej w znany sposób, np. odsączenie, ekstrahowanie za pomocą rozpuszczalnika itp. Korzystnie mieszaninę reakcyjną traktuje się alkoholem metylowym w celu rozłożenia nadmiaru odczynnika Ryden'a odsącza w celu usunięcia osadu substancji nierozpuszczalnych takich, jak tlenek trójfenylofosfiny powstający w czasie reakcji, a następnie odzyskuje się produkt końcowy. Alkohol metylowy można dodawać przed, albo po filtracji. Korzystnie po obróbce i przesączeniu mieszaninę reakcyjną odparowuje się do sucha i oczyszcza przez ekstrahowanie rozpuszczalnikiem lub/l chromatograficznie.

Związki o wzorze 1, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2 i 3, związki o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik acylowy o wzorze 2 i 3 oraz związki o wzorze 7 występują albo w postaci protonowanej lub nieprotonowanej w zależności od wartości pH otoczenia. Jeżeli zamierza się otrzymać związek w postaci protonowej, to przeprowadza się go w sól addycyjną kwasu, w przypadku zaś występowania związku jako wolnej zasady, wówczas ma on postać nieprotonową. Wolne zasady można przeprowadzać w stałe sole addycyjne kwasów przez zobojętnianie wolnej zasady odpowiednim kwasem do wartości pH poniżej 7,0, korzystnie do wartości pH około 2–6. Odpowiednimi kwasami do tego celu są kwas solny, kwas siarkowy, kwas fosforowy, kwas tio-cyjanowy, kwas fluorokrzemowy, kwas sześciofluoroarsenowy, kwas sześciofluorofosforowy, kwas octowy, kwas bursztynowy, kwas cytrynowy, kwas mlekowy, kwas maleinowy, kwas fumarowy, kwas pamowy, kwas choleinowy, kwas palmitynowy, kwas śluzowy, kwas kamforowy, kwas glutanowy, kwas glikolowy, kwas ftalowy, kwas winowy, kwas

laurynowy, kwas stearynowy, kwas salicylowy, kwas 3-fenylosalicylowy, kwas 5-fenylosalicylowy, kwas 3-metyloglutarynowy, kwas ortosulfobenzoowy, kwas cykloheksanosulfonowy, kwas cyklopentanopropionowy, kwas 1,2-cykloheksanodwukarboksylowy, kwas 4-cykloheksanokarboksylowy, kwas oktaadecenylbursztynowy, kwas oktanylobursztynowy, kwas metanosulfonowy, kwas benzenosulfonowy, kwas heliantynowy, kwas Reinecka, kwas dwumetylodwutiolokarbaminowy, kwas cykloheksylosulfanylowy, kwas heksadecylosulfanylowy, kwas oktaadecylosulfanylowy, kwas sorbinowy, kwas monochlorooctowy, kwas undecyloowy, kwas 4'-hydroksyazobenzeno-4-sulfonowy, kwas oktylo-decylosiarkowy, kwas pikrynowy, kwas benzoowy, kwas cynamonowy i tym podobne kwasy.

Sole addycyjne kwasów można stosować do tych samych celów co wolną zasadę. Ponadto, dla oczyszczenia wolnej zasady przeprowadza się ją np. w niezropuszczalną sól, taką jak pikrynian, którą oczyszcza się na przykład przez ekstrahowanie rozpuszczalnikami, i przemywanie, chromatografię, frakcjonowaną ekstrakcję cieczy — cieczą oraz krystalizowanie, a następnie odzyskuje z niej wolną zasadę traktując alkaliami lub dla wytworzenia innej soli poddaje reakcji podwójnej wymiany. Można też wolną zasadę przeprowadzić w sól rozpuszczalną w wodzie, taką jak chlorowodorek lub siarczan i wodny roztwór soli ekstrahować różnymi nie mieszającymi się z wodą rozpuszczalnikami, a następnie regenerować wolną zasadę lub przeprowadzić ją w inną sól przez reakcję podwójnej wymiany.

Wolne zasady o wzorze 1, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2 i 3, wolne zasady o wzorze 4, w którym Ac oznacza rodnik acylowy kwasu o wzorze 2 i 3, oraz wolną zasadę o wzorze 7 można stosować jako bufony lub antykwasy to jest środki zobojętniające kwasy. Związki o wzorze 1, 4, 7 reagują z izocyjanianami, dając uretany, które mogą być stosowane do modyfikowania żywic poliuretanowych. Związki o długim łańcuchu na przykład te, w których grupa HR_2 oznacza grupę alkilową o więcej niż 8 atomach węgla, posiadają właściwości powierzchniowo-czynne i można je stosować jako czynniki zwilżające i emulgujące. Sól addycyjna kwasu tiocyjanowego w reakcji kondensacji z aldehydem mrówkowym daje substancje żywiczne użyteczne jako inhibitory wytrawiania (opisy patentowe St. Zjedn. Am. nr nr 2425320 i 2606155). Wolne zasady stanowią również dobre nośniki kwasów trujących, np. sole addycyjne kwasu fluorokrzemowego stosuje się jako czynniki zabezpieczające przeciw molom (opisy patentowe St. Zjedn. Am. nr nr 1,915,334 i 2,075,359), a sole addycyjne kwasu sześciofluorokrzemowego i kwasu sześciofluorofosforowego stosowane są jako środki pasożytoobójcze (opisy patentowe St. Zjedn. Am. nr nr 3,122,536 i 3,122,552).

Bliskie analogi linkomycyn, na przykład związki, w których grupa $-R_1H$ oznacza grupę cis- lub transalkilową o nie więcej niż 8 atomach węgla, R_3 oznacza grupę metylową lub etylową, R oznacza grupę alkilową o nie więcej niż 8 ato-

mach węgla, posiadają właściwości bakteriobójcze, przy czym właściwości niektórych związków są zbliżone lub przewyższają właściwości linkomycyny i mogą być stosowane do tych samych celów, co linkomycyna. Inne analogi i izomery wykazują podobne właściwości bakteriobójcze, lecz w mniejszym stopniu i mogą być używane dla tych samych celów co linkomycyna, gdy nie ma zastrzeżeń co do większych dawek.

Niżej podane przykłady wyjaśniają sposób według wynalazku, nie ograniczając jego zakresu. Części i procenty są częściami i procentami wagowymi z ilości rozpuszczalnika podane są objętościowo, o ile nie określono inaczej.

Przykład I. 7-bromo-7-dezoksylinkomycyna i jej chlorowodorek.

Roztwór odczynnika Ryden'a przygotowuje się przez mieszanie suchego roztworu 52,6 g (0,2 m) trójfenylofosfiny i 800 ml acetonitrylu w temperaturze 30°C w środowisku azotu i po 20 minutach dodaje się 10 ml (0,19 m) bromu. Po dalszym mieszanii w ciągu 10 minut dodaje się 8,2 g linkomycyny i miesza w temperaturze 30°C przez 18 godzin. Wytrąca się biały osad. Mieszaninę filtruje się, a osad odrzuca. Do przesączu dodaje się 100 ml alkoholu metylowego, a następnie odparowuje rozpuszczalnik pod próżnią. Kleistą pozostałość rozpuszcza się w 100 ml alkoholu metylowego, rozcieńcza 1800 ml wody i sześciokrotnie ekstrahuje 200 ml porcjami eteru. Wyciągi eterowe odrzuca się wodną fazę doprowadza się do wartości pH = 11 działając wodnym roztworem KOH, a następnie czterokrotnie ekstrahuje się 200 ml porcjami chlorku metylu. Wyciągi suszy się i odparowuje, otrzymując 11 g żółtego osadu, który oczyszcza się chromatograficznie nad 1 kg żelu krzemowego stosując jako rozpuszczalnik alkohol metylowy i chloroform w stosunku objętościowym 1:9. Następnie zbiera się 1200 ml przedgonu i łączy się 22 frakcje po 56 ml. 6 ostatnich frakcji (17—22) umieszcza się w zbiorniku i odparowuje do sucha uzyskując 2,8 g 7-bromo-7-dezoksylinkomycyny. Produkt ten przeprowadza się w bromowodorek przez rozpuszczenie w wodzie, dodania HBr do wartości pH = 1, odfiltrowanie i liofilizację. Bromowodorek posiadał $\alpha_D + 114^\circ$ (C, 0,9314, H_2O). Otrzymuje się następujące wyniki analizy: obliczono dla $C_{18}H_{34}Br_2N_2O_5S$; C 39,28; H 6,23; N 5,09; S 5,83; Br 29,04; Znaleziono: C 39,64; H 6,19; N 5,07; S 6,04; Br 28,59.

W miejsce bromu można podstawić inne chlorowce na przykład: w przypadku chloru uzyskuje się 7-chloro-7-dezoksylinkomycynę, która jest identyczna z produktem otrzymanym przez chlorowanie linkomycyny chlorkiem tionylu. Zamiast trójfenylofosfiny można stosować fosforan trójfenyloowy. Również w tym przypadku można użyć halogenku metylu zamiast chlorowca. W miejsce linkomycyny można stosować inne linkomycyny lub jej analogi. W ten sposób stosując jako linkomycynę linkomycynę C otrzymuje się 7-bromo-7-dezoksylinkomycynę C.

Linkomycynę C wytwarza się przez reakcję linkomycyny z merkaptanem etylowym, otrzymując dwutioacetal dwuetylowy, który następnie ogrze-

wa się w obecności kwasu p-toluenosulfonowego lub stapia.

6,8-dwudezoksy-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-D-erytro-D-galakto - aldehydoktozo-dwuetylozioacetal o wzorze 28. Do jednolitrowej trójzajznej kolby wlewa się kwas solny (150 cm³), merkaptan etylowy (50 cm³, uprzednio ochłodzony do temperatury 0°), a następnie chlorowodorek linkomycyny (15,0 g). Po 5 godzinnym mieszanym mieszanym magnetycznym w temperaturze pokojowej, mieszaninę rozcieńcza się równą ilością lodowatej wody, a roztwór ekstrahuje technicznym heksanem (Skellysolve B). Wyciągi te odrzuca się. Większość kwasu neutralizuje się przez ostrożne dodawanie stałego wodorotlenku potasu (100 g), utrzymując temperaturę dobrze wymieszanej mieszaniny reakcyjnej w granicach 20—30°C, chłodząc ją suchym lodem acetonowym. Stały chlorek potasu odfiltruje się, a osad dokładnie przemywa chloroformem. Do przesączu dodaje się dodatkowo około 150 cm³ chloroformu i mieszaninę miesza mieszanym magnetycznym, a następnie doprowadza wartość pH do 10 przez dodanie wodnego roztworu wodorotlenku sodu (2 N). Osad chloroformowy oddziela się wodny osad dokładnie ekstrahuje chloroformem, połączone ekstrakty dwukrotnie przemywa wodą i suszy nad bezwodnym siarczanem sodu.

Po usunięciu rozpuszczalnika w temperaturze 30°C, w próżni, otrzymuje się pół-stały osad, z którego po przekrystalizowaniu z acetonu uzyskuje się 5,41 g — 6,8-dwudezoksy-6-(trans-1-metylo-4-propylo-pirolidynokarboksyamido)-D-erytro-D-galakto - aldehydoktozo-dwuetylodwutioacetal w postaci bezbarwnych spłaszczonych igieł o temperaturze topnienia 130—132°C. Z zagęszczonych roztworów macierzystych uzyskuje się dodatkową substancję o temperaturze topnienia 129—131°C (1,50 g). Całkowita wydajność 6,91 g (42,4%). Analiza: obliczono dla C₂₁H₄₂O₆N₂S₂; C 52,25; H 8,77; N 5,81; S 13,29%. Znalezione: C 52,38; H 8,71; N 5,93; S 13,46%.

Cyklizacja w linkomycynę C

Jedną część każdego poprzednio otrzymanego dwuacetalu dwuetylowego i jednowodzianu kwasu p-toluenosulfonowego ogrzewa się pod kolumną zwrotną w 25 częściach acetonitrylu, aż do uzyskania istotnej aktywności antibakteryjnej. Mieszaninę reagującą chłodzi się, odparowuje do sucha i oczyszcza chromatograficznie na żelu krzemowym, stosując mieszaninę rozpuszczalnikową octan etylowy, aceton i wodę w stosunku 8:5:1. Frakcje 102 do 131 wykazują działanie antibakteryjne. Z tych frakcji, frakcje 105—125 umieszcza się w naczyniu, odparowuje do sucha i przekrystalizowuje z acetonu, zakwasza kwasem solnym i przekrystalizowuje, rozpuszczając w wodzie i dodając aceton w celu uzyskania kryształów chlorowodoru linkomycyny C; temperatura topnienia wynosi 149—153°C.

Otrzymany dwuacetal dwuetylowy podgrzewa się do temperatury 260°C przez około 3 minuty,

(stwierdza się zapach merkaptanu etylowego). Z produktu po chromatograficznym oczyszczeniu, w sposób poprzednio opisany, uzyskuje się linkomycynę C.

Wytwarzanie linkomycyny C przez fermentację

Chlorowodorek linkomycyny C przygotowuje się w sposób następujący: Skos glebowy grzybka *Streptomyces linkolnensis* var. *linkolnensis*, NRRL 2936 używa się dla zaszczerpienia serii 500 ml kolb Erlenmeyera, z których każda zawiera 100 ml pożywki siewnej składającej się z następujących substancji: yeastolac 1/10g, jednowodzian glukozy 10 g, N-Z-amina B¹¹/5g, woda wodociągowa 1 l.

1) Yeastolac jest produktem hydrolizy komórek drożdży.

11) N-Z-amina B jest enzymatyczną trawioną kazeiną Shaffielda.

Wartość pH presterylizacji pożywki siewnej wynosi 7,3. Posiew rozrasta się przez 2 dni w temperaturze 28°C na obrotowej wstrząsarce Gump'a, o 250 obr./min.

5% szczepionki posiewu opisanego powyżej, dodaje się do każdej z 30—500 ml kolb Erlenmeyera, z których każda zawiera: jednowodzian glukozy 15 g, kochmal 40 g, melasa 20 g, płyn peptonowy Wilsona Nr 159¹) — 10 g, płyn, w którym moczono kukurydzą — 20 g, węglan wapnia 8 g, smalec — 0,5 ml, woda wodociągowa (q.s) — 1 litr jako środowisko fermentacji. 1) płyn peptonowy Wilsona nr 159 jest preparatem proteinowym pochodzenia zwierzęcego enzymatycznie hydrolizowanym.

W czasie szczepienia dodaje się DL-etioniny do ostatecznego stężenia 2 mg/ml.

Zawartość kolb zbiera się po 4 dniach fermentacji w temperaturze 28°C na wstrząsarce Gump'a o 250 obr./min. Próba w analizie *S. lutea* poniżej opisanej daje wynik 200 mg/ml. Całkowita ilość osadu pofermentacyjnego wynosi około 20 g/litr.

Oczyszczanie

Cały zacier (235 litrów) z fermentacji DL-etioninowej przefiltruje się, dodając środek pomocniczy. Placek z grzybem przemywa się wodą i odrzuca. Przefiltrowany zacier i popłuczyny wodne (275 litrów) miesza się w ciągu 45 minut z 12,5 kg węgla aktywnego i 2,5 kg ziemi okrzemkowej. Mieszaninę filtruje się i przesącz odrzuca. Placek z węgla przemywa się 60 litrami wody, wodę wylewa, a placek przemywa 70 litrami 20% wodnego roztworu acetonu z popłuczyny 20% wodnego roztworu acetonu odrzuca. Następnie placek płucze się dwukrotnie 100 litrowymi porcjami 90% wodnego roztworu acetonu. Płyn płuczący łączy się (215 litrów) i roztwór zagęszcza do objętości 18 litrów. Wartość pH koncentratu doprowadza się do wielkości 10,0 za pomocą 50% wodnego roztworu wodorotlenku sodu i trzykrotnie ekstrahuje porcjami po 20 litrów chlorku metylenu. Wyciągi chlorku metylenu łączy się (60 litrów) i zateża do uzyskania oleistego preparatu (7,14 g), zawie-

rającego linkomycynę i linkomycynę C, w równych ilościach i obie w postaci wolnych zasad. Preparat ten rozpuszcza się w 200 ml chloroku metylenu. Roztwór filtruje się, a następnie zateża do sucha w próżni. Pozostałość rozpuszcza się w 100 ml 1 N metanoleowego chlorowodoru. Roztwór metanoleowy miesza się następnie z 3,2 litrami eteru. Wytrącony bezbarwny, zanieczyszczony chlorowodorek linkomycyny i chlorowodorek linkomycyny C oddziela się przez filtrację i suszy; wydajność — 7,14 g; próba na Sarcina lutea wykazuje wartość 940 mcg/mg. Próba na Sarcina lutea przeprowadza się na agarze zbuforowanym do wartości pH 6—8 buforem fosforanowym o wartości pH = 7,0 (0,1 M). 0,08 ml roztworu zawierającego badaną substancję umieszcza się na krążku próbnym o pojemności 12,7 ml, który następnie umieszcza się na płytce agaru obsianego mikroorganizmem kontrolnym. Chromatografia cienkowarstwowa wykazuje obecność zarówno chlorowodoru linkomycyny, jak i linkomycyny C, w przybliżeniu w jednakowych ilościach.

Zanieczyszczony chlorowodorek linkomycyny C (7,0 g) rozpuszcza się w 20 ml wody i 20 ml alkoholu butylowego, doprowadza wartość pH do 4,2, działając 1N HCl, a następnie roztwór rozdziela na przeciwwąadowym aparacie rozdzielającym na 1000 frakcji. Analiza metodą chromatografii cienkowarstwowej wykazuje, że frakcje 135 do 190 zawierają linkomycynę C. Frakcje te łączy się, a roztwór zagęszcza, a następnie suszy ze stanu zamrożenia uzyskując 2,44 g chlorowodoru linkomycyny C wykazującego w próbie Sarcina lutea wartość 1400 mcg/mg. 500 mg tego preparatu rozpuszcza się w 2 ml wody. 1 ml alkoholu metylowego i 100 ml acetonu a następnie roztwór filtruje. Przesącz miesza się z eterem aż do momentu wytrącenia się kryształów. Mieszaninę utrzymuje się w temperaturze pokojowej przez okres 1 godziny. Krystaliczny chlorowodorek linkomycyny C (sześciiany) oddziela się od roztworu przez dekantację. Kryształy krystalizuje się z 1 ml wody, 1 ml alkoholu metylowego, 80 ml acetonu i 20 ml eteru; wydajność 250 mg krystalicznego chlorowodoru linkomycyny C (sześciiany). Ciecz zniad osadu pozostawiono na 4 godziny w temperaturze 5°C. Kryształy chlorowodoru (igły), filtruje się i suszy; wydajność 150 mg krystalicznego chlorowodoru linkomycyny C (igły) o temperaturze topnienia 151—157°C.

Linkomycynę można otrzymać także w inny sposób. Chlorowodorek linkomycyny (8,85 mg—0,02 mole) rozpuszcza się w 20 ml wody, chłodzi do temperatury 0°C i miesza, dodając kroplami, w ciągu 1 minuty, brom (3,52 g—0,022 mola). Następnie dodaje się merkaptan etylowy (25 ml) i miesza przez 2 godziny w temperaturze 25°C. Kłarowny, bezbarwny dwufazowy układ (merkaptan etylowy jest stosunkowo trudnorozpuszczalny w wodzie) chłodzi się w kąpeli lodowej i wprowadza do niego za pomocą bełkotki przez około 5 minut gazowy chlorowodorek. Dolna wodna faza zabarwia się na czerwono. Mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się następnie 3-krotnie 100 ml porcjami heksanu technicznego („Skellysolve B”) i do-

daje wodny roztwór wodorotlenku sodu dla doprowadzenia fazy wodnej do wartości pH = 11. Fazę zasadową ekstrahuje się dokładnie chloroformem. Wyciągi chloroformowe przemycza się nasyconym roztworem chloroku sodu, suszy i odparowuje w próżni uzyskując 6,2 g białego osadu. 4,8 g tego osadu chromatografuje się 800 g żelu krzemowego sposobem opisanym w przykładzie II, stosując jako rozpuszczalnik układ alkohol metylowy — chloroform w stosunku 1:7. Po odpędzeniu 800 ml przedgonu zbiera się 80 frakcji po 25 ml każda. Frakcje 40—58 łączy się i odparowuje do sucha, a pozostały osad przekrystalizowuje z acetonu uzyskując 0,5 g substancji identycznej z dwuetylodwuioacetalem otrzymanym według poprzedniego opisu. Frakcje 65—75 łączy się, odparowuje do sucha i rozpuszcza w mieszaninie 5 ml alkoholu metylowego i 400 ml eteru dwuetylu. Dodaje się gazowy chlorowodorek i zbiera wytrącony biały osad. Po krystalizacji z wodnego roztworu acetonu otrzymuje się 0,5 g chlorowodoru linkomycyny C, identycznego z otrzymanym według poprzedniego opisu.

Inne alkilo 7-chlorowco-6,7,8-trójdeoks-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pyrolidynokarboksyamido)-1-tio- α -D-galaktooktopiranozydy otrzymuje się przez zastąpienie merkaptanu etylowego z poprzedniej części opisu merkaptanami alkilowymi takimi jak na przykład merkaptanem propylowym, butylowym, pentylowym, heksylowym, heptylowym, oktylowym, nonylowym, decylowym, undecylowym, dodecylowym, tridecylowym, tetradecylowym, pentadecylowym, heksadecylowym, heptadecylowym, oktadecylowym, monadecylowym i eikozylowym lub ich izomerycznymi odmianami, merkaptanami cykloalkilowymi, na przykład merkaptanem cyklopropylowym, cyklobutylo-
wym, cyklopentylowym, cykloheksylowym, cykloheptylowym, cyklooktylowym, 2-metylocyklopentylowym, 2,3-dwumetylocyklobutylo-
wym, 2-metylocyklobutylo-
wym i 3-cyklopentylpropylowym lub merkaptanami i aralkidowymi na przykład: merkaptanem benzylowym, fenetylowym, 3-fenetylopropylowym i α -naftylometylowym, otrzymuje się odpowiednie alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe 6,8-dwudezoks-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pyrolidynokarboksyamido)-1-tio- α -D-galakto-oktopiranozydy, które w sposób poprzednio opisany przeprowadza się w odpowiednie alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe 7-chlorowco-6,7,8-trójdeoks-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pyrolidynokarboksyamido)-1-tio- α -D-galakto-oktopiranozydy zarówno związki 6,8-dwudezoks, jak i 7-chlorowco-6,7,8-trójdeoks, w których grupa alkilowa jest grupa propylowa, butylowa, pentylowa i heksylowa są szczególnie skutecznymi środkami antybakteryjnymi i posiadają to samo widmo, co linkomycyna i równą lub większą aktywność.

W przypadku, gdy linkomycynę zastąpi się 6,8-dwudezoks-6-(trans-1-metylo- lub 1-etylo-4-butyl-L-2-pyrolidynokarboksyamido)-1-tio- α -D-galakto-oktopiranozydem metylu, otrzymuje się odpowiedni związek 7-bromo-7-dezoks, 7-bromo-6,7,8-trójdeoks-6-(trans-1-metylo-1-etylo-4-

butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio- α -D-galakto-oktopiranozyd metylu o tych samych własnościach antybakteryjnych, co linkomycyna i równej lub większej aktywności.

Przez zastąpienie cis epimerów otrzymuje się 7-bromo-6,7,8-trójdeoksyo-6-(cis-1-metylo i 1-etylo-4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-prolina)-1-tio- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, wykazujące te same własności antybakteryjne.

Cis i trans-epimery stosowane jako materiały wyjściowe.

4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-prolina i jej sól cykloheksyloaminowej.

Wodorek sodu (19 g) jako 53% zawieszynę w oleju mineralnym ogrzewa się z 350 ml dwumetylosulfotlenku w temperaturze 70–75°C, aż do zakończenia reakcji (około 30 minut). Po ochłodzeniu do temperatury 32°C dodaje się 16,2 g bromku butylotrójfenylofosfoniowego i miesza przez 1 godzinę do całkowitego zakończenia reakcji. Dodaje się roztwór 26 g 4-keto-1-karbobenzoksy-L-proliny w 100 ml dwumetylosulfotlenku i uzyskaną mieszaninę ogrzewa w temperaturze 70°C przez 3 godziny. Mieszaninę reakcyjną chłodzi się do temperatury 25°C i dodaje 1 litr 2,5% wodnego roztworu kwaśnego węglanu potasu. Mieszaninę przemywa się dwukrotnie 700 ml porcjami eteru, eter usuwa się i ponownie ekstrahuje 150 ml 2,5% wodnego roztworu kwaśnego węglanu potasu. Roztwory kwaśnego węglanu łączy się i zakwasza kwasem solnym. Zakwaszoną mieszaninę ekstrahuje się czterema 500 ml porcjami eteru, połączone wyciągi eterowe przemywa 250 ml wody, trzema porcjami po 250 ml nasyconego wodnego roztworu kwaśnego siarczanu sodu i 250 ml wody i suszy nad bezwodnym siarczanem sodu. Po odparowaniu rozpuszczalnika w próżni otrzymuje się 24 g olejistej 4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny.

Pozostałość rozpuszcza się w 31 ml acetonitrylu, traktuje 18 ml dwucykloheksyloaminy i zamraża. Kryształy przemywa się acetonitrylem i suszy w próżni uzyskując 21 g (46,8%) krystalicznej soli dwucykloheksyloaminowej o temperaturze topnienia 136–140°C. Po dwukrotnym przekrystalizowaniu z acetonitrylu otrzymuje się próbkę analityczną o temperaturze topnienia 142–144°C; skręcalność $[\alpha]_D^{25} = 4^\circ$ ($C = 0,99$, CHCl_3). Analiza: obliczono dla $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_4$ C 71,86; H 9,15; N 5,78; znaleziono: C 71,69; H 9,30; N 5,74.

Dziesięć gramów soli dwucykloheksyloaminowej 4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny wytrząsa się z eterem i nadmianem 5% wodnego roztworu wodorotlenku potasu aż do całkowitego zaniku osadu. Warstwy oddziela się i każdą z nich płucze. Wodną warstwę alkaliczną łączy się z popłuczynami z warstwy eterowej i zakwasza 4N-kwasem solnym. Mieszaninę ponownie ekstrahuje się eterem, a wyciągi eterowe łączy, suszy nad siarczanem sodu i odparowuje w próżni uzyskując 6,3 g (93%) 4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny w postaci oleju.

4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-prolina.

Poprzednio uzyskany olej uwodarnia się w 200 ml alkoholu metylowego nad 2,1 g 10% kataliza-

tora platynowego na Dowex-1, wprowadzając wodór pod ciśnieniem (18,2 kg). Katalizator odfiltrówuje się, a przesącz odparowuje uzyskując 6,3 g 4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny w postaci oleju. Produkt zawiera około 2 części cis-4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny na każdą część trans-4-butylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny.

Jeżeli jest to pożądane, uwodornienie grupy 4-ylidenowej można przeprowadzić w późniejszym etapie lub nawet w ostatnim etapie procesu.

Przez zastąpienie bromku butylotrójfenylofosfoniowego otrzymanego według poprzedniego opisu innym podstawionym bromkiem trójfenylofosfoniowym, w którym podstawnikiem w pozycji 4 jest grupa metylowa, etylowa, propylowa, pentylowa, heksylowa, heptylowa, oktylowa, nonylowa, decylowa, undecylowa, dodecylowa, tridecylowa, tetradecylowa, pentadecylowa, heksadecylowa, heptadecylowa, oktadecylowa, nonadecylowa i eikozylowa oraz ich odmiany izomeryczne; grupa cyklopropylowa, cyklobutylowa, cyklopentylowa, cykloheksylowa, cykloheptylowa, cyklooktylowa, 2-cyklopropyloetylowa i 3-cyklopentylpropylowa, benzylowa, fenetylowa, 3-fenylpropylowa i α -nafitylometylowa, otrzymuje się odpowiednio 4-alkylideno-, 4-cykloalkylideno-, 4-aralkylideno-1-karbobenzoksy-L-proliny i odpowiednio 4-alkilo-, 4-cykloalkilo-, i 4-aralkilo-1-karbobenzoksy-L-proliny.

I tak na przykład, jeżeli bromek butylo trójfenylo-fosfoniowy, zastąpi się bromkiem etylo-, propylo-, izobutylo-, pentylo-, lub heksylotrójfenylofosfoniowym, otrzyma się 4-etylideno-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-propylideno-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-izobutylideno-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-pentylideno-1-karbobenzoksy-L-prolinę i 4-heksylideno-1-karbobenzoksy-L-prolinę oraz cis i trans 4-etylo-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-propylo-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-izobutylo-1-karbobenzoksy-L-prolinę, 4-pentylo-1-karbobenzoksy-L-prolinę i 4-heksylo-1-karbobenzoksy-L-prolinę.

6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd metylu (α -MTL). Roztwór 40 g wolnej zasady linkomycyny, (opis patentowy Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 3.086.912) w 20 ml wodzianu hydrazyny (98–100%) podgrzewa się pod kolumną zwrotną przez 21 godzin. Nadmiar wodzianu hydrazyny usuwa się następnie w próżni w atmosferze azotu w temperaturze kąpieli parowej; wytrącony osad w postaci ciastowatej masy kryształów chłodzi się, dodaje acetonitryl a następnie mieszaninę miesza aż do uzyskania zawieszyny kryształów. Kryształy zbiera się na sączku, przemywa acetonitrylem i eterem. Po osuszeniu w próżni w temperaturze pokojowej uzyskuje się 21 g (84%) białej krystalicznej wolnej zasady α -MTL, którą ponownie krystalizuje się rozpuszczając ją w gorącym dwumetyloformamidzie, oraz dodając równoważną ilość eteru dwumetylowego i glikolu etylenowego.

Wolna zasada 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylu posiada temperaturę topnienia 225–228°C, skręcalność optyczną ($[\alpha]_D^{25} + 276^\circ$ ($c = 768$, woda) i $\text{pKa}' 7,45$.

Analiza: obliczono dla $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{S}$ C 42,7;

H 7,56; N 5,53; S 12,66; Znaleziono: C 42,6; H 7,49; N 5,75; S 12,38. Przez zastąpienie linkomycyny innymi alkilo, cykloalkilo lub aralkilo 6,8-dwudezoksy-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pyrrolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydami, w których alkilem jest grupa etylowa, propylowa, butylowa, pentylowa, heksylowa, heptylowa, oktylowa, nonylowa, decylowa, undecylowa, dodecylowa, tridecylowa, tetradecylowa, pentadecylowa, heksadecylowa, heptadecylowa, okto-decylowa, nonadecylowa i eikozylowa i ich odmiany izomeryczne; cykloalkilem jest grupa cyklopropylowa, cyklobutylowa, cykloheksylowa, cykloheptylowa, cyklooktylowa, 2-metylocyklopentylowa, 2,3-dwumetylo-cyklobutylowa, 2-metylocyklobutylowa i 3-cyklopentylpropylowa; aralkilem jest grupa benzylowa, fenetylowa, 3-fenylpropylowa i α -nafitylometylowa, otrzymuje się odpowiednio alkilo, cykloalkilo, aralkilo 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydy. I tak na przykład przez zastąpienie linkomycyny 6,8-dwudezoksy-6-(trans-1-metylo-4-propylo-L-2-pyrrolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydami etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu otrzymuje się 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozyd etylu, 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozyd propylu, 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozyd butylu, 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozyd pentylu oraz 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozyd heksylu.

Jeżeli jest to pożądane, sposób z pierwszej części przykładu można zastosować do związków z ostatniej części przykładu stosując chlorowodorek lub inną sól silnego kwasu, a do uzyskanych związków 7-chlorowco stosować proces odnoszący się do końcowych produktów tego przykładu.

Wolną zasadę 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylu otrzymuje się zgodnie ze schematem 3 podanym na rysunku.

Do roztworu 6,3 g 4-butyl-L-1-karbobenzoksy-L-proliny w 175 ml destylowanego acetonitrylu chłodzonego do temperatury 0°C dodaje 3,46 ml trójetyluaminy, a następnie 3,34 ml chloromrówczanu izobutylowego. Mieszaninę miesza się utrzymując temperaturę 0°C ($\pm 3^\circ$) przez 15 minut. Dodaje się roztwór 6,2 g wolnej zasady α -MTL w 85 ml wody i miesza mieszaninę reakcyjną w temperaturze 0°C przez pół godziny a następnie w temperaturze 25°C przez 1 godzinę. Uzyskany produkt filtruje się i suszy otrzymując 4,57 g (37,7%) wolnej zasady 6,8-dezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pyrrolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydu etylu. Płyn macierzysty zastępa się w próżni, przez co uzyskuje się dodatkowo 4,25 g (35,2%) produktu. Po przekrystalizowaniu z acetonitrylu, otrzymuje się kryształy wolnej zasady 6,8-dezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylu o temperaturze topnienia 194–196°C.

Po wtórnej krystalizacji z acetonitrylu uzyskuje się próbkę analityczną o temperaturze topnienia 195,5–200°C, ($\alpha_D^{20} + 111^\circ/\text{c} = 0,98$, MeOH).

Analiza: obliczono dla $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$; C 57,75; H 7,46; N 5,13; S 5,93; znaleziono: C 57,58; H 7,16; N 5,50; S 6,07.

Chlorowodorek 6,8-dezoksy-6-(4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydu metylu otrzymuje się zgodnie ze schematem 4 podanym na rysunku.

Roztwór 7,8 g wolnej zasady 6,8-dezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydu metylu w 200 ml alkoholu metylowego wytrząsa się nad 2 g 10% palladu na węglu pod ciśnieniem około 18,1 kg wodoru przez 17 godzin. Katalizator usuwa się przez filtrację, a roztwór zatęża w próżni. Pozostałość rozpuszcza się w mieszaninie 20 ml acetonu i 20 ml wody i zakwasza 6 N kwasem solnym. Przez rozcieńczenie 4 objętościami acetonu wytrąca się chlorowodorek 6,8-dezoksy-6-(4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D- α -D-galakto-oktopiranozydu metylu, który oddziela się przez filtrację i suszy. Kryształy suszy się w temperaturze 55°C w próżni otrzymując 4,7 g produktu posiadającego temperaturę topnienia 188–194°C. Próbką analityczną uzyskana przez przekrystalizowanie z acetonu posiada temperaturę topnienia 197–199°C; $K_D^{25} + 150^\circ$ woda, $c = 0,89$.

Analiza: obliczono dla $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{S} \cdot \text{HCl}$ — C 48,80; H 7,96; N 6,32; S 7,24. Znaleziono: (poprawka dla 5,54% wody) — C 48,58; H 8,19; N 6,04; S 7,36. Substancja ta wykazuje 8% aktywności antybakteryjnej linkomycyny przy próbie na S. lutes.

Przez zastąpienie α -MTL innymi 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktanopiranozydami alkilowymi cykloalkilowymi albo aralkilowymi, w których alkilem jest grupa etylowa, propylowa, butylowa, pentylowa, heksylowa, heptylowa, oktylowa, nonylowa, decylowa, undecylowa, dodecylowa, tridecylowa, tetradecylowa, pentadecylowa, heksadecylowa, heptadecylowa, okto-decylowa, nonadecylowa i eikozylowa oraz ich izomeryczne odmiany; cykloalkilem jest grupa cyklopropylowa, cyklobutylowa, cyklopentylowa, cykloheksylowa, cykloheptylowa, cyklooktylowa, 2-metylocyklopentylowa, 2,3-dwumetylocyklobutylowa, 2-metylocyklobutylowa i 3-cyklopentylpropylowa; aralkilem jest grupa benzylowa, fenetylowa, 3-fenylpropylowa i α -nafitylometylowa otrzymuje się odpowiednio 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe oraz 6,8-dwudezoksy-6-(4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe. I tak na przykład przez zastąpienie α -MTL, 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydem etylowym, propylowym, butylowym, pentylowym i heksylowym otrzymuje się 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butyl-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-e-

rytro- α -D-galakto-oktopiranozyd etylu, 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd etylu, 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd propylu, 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd butylu, 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd pentylu, 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd heksylu, 6,8-dwudezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd etylu, 6,8-dwudezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd propylu, 6,8-dwudezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd butylu, 6,8-dwudezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd pentylu i 6,8-dwudezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd heksylu. Przez zastąpienie 4-butylo-1-karbobenzoksy-L-proliny innymi 4-alkil-1-karbobenzoksy-L-prolinami, w których 4-alkilem jest grupa propylowa, butylowa, pentylowa, heksylowa, heptylowa, oktylowa, nonylowa, decylowa, undecylowa, dodecylowa, tridecylowa, tetradecylowa, pentadecylowa, heksadecylowa, heptadecylowa, oktadecylowa, nonadecylowa, eikozylowa oraz ich izomeryczne odmiany; 4-cykloalkil-1-karbobenzoksy-L-prolinami, w których 4-cykloalkilem jest grupa cyklopropylowa, cyklobutylova, cyklopentylowa, cykloheksylowa, cykloheptylowa, cyklooktylowa, 2-metylocyklopentylowa, 2,3-dwumetylocyklobutylova, 2-metylocyklobutylova, 3-cyklopentylpropylowa; oraz 4-aralkil-1-karbobenzoksy-L-prolinami, w których 4-alkilem jest grupa benzylowa, fenetylowa, 3-fenylpropylowa i α -naftylometylowa, uzyskuje się odpowiednio 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-alkil-), 4-cykloalkil- i 4-aralkil-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro-D-galakto-oktopiranozydy alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe oraz odpowiednio 6-(4-alkil-), 4-cykloalkil- i 4-aralkil-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy alkilowe, cykloalkilowe i aralkilowe.

I tak na przykład przez zastąpienie 4-butylo-1-karbobenzoksy-L-proliny przez 4-metylo-, 4-etylo-, 4-propylo-, 4-pentyl- i 4-heksyl-1-karbobenzoksy-L-proliny uzyskuje się 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-metylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-etylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-propylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-pentyl-)

-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(1-karbobenzoksy-4-heksyl-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(4-metylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(4-etylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(4-propylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu; 6,8-dwudezoksy-6-(4-pentyl-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu oraz 6,8-dwudezoksy-6-(4-heksyl-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy metylu, etylu, propylu, butylu, pentylu i heksylu.

Jeżeli jest to pożądane, związki 1-karbobenzoksy chlorowocuje się, a z uzyskanego związku 7-chlorowoc usuwa się grupę 1-karbobenzoksy i po wymianie azotu proliny uzyskuje się końcowy produkt.

6,8-dezoksy-6-(1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd metylu otrzymuje w sposób podany na schemacie 5.

Roztwór 2,0 g chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego i 2,0 ml 37% formaliny w 150 ml alkoholu metylowego wytrząsa się nad 500 mg 10% palladu na węglu pod ciśnieniem wodoru przez 3,5 godz. (18,2 kg). Po odfiltrowaniu katalizatora i oddestylowaniu pod próżnią rozpuszczalnika uzyskuje się częściowo krystaliczny chlorowodorek 6,8-dezoksy-6-(1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego, który, jak wykazuje chromatografia cienkowarstwowa na żelu krzemowym przy użyciu jako płynu wymywającego mieszaniny octanu etylu, acetonu i wody w stosunku 8:4:1 i roztworu $KMnO_4$ dla wykrywania, składa się głównie z dwóch substancji: cis i trans epimerów chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego w stosunku 3:2.

Chromatograficznie oddzielanie postaci cis i trans przepró Chlorowodorek 6,8-dezoksy-6-(1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksamid)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego (poprzednio otrzymywanego) rozpuszcza się w mieszaninie alkoholu metylowego i chlorku metylenu (1:1) dodając 1,5 ml trójetyloaminy. Do tej mieszaniny dodaje się 7 g żelu krzemowego i odparowuje rozpuszczalnik w próżni, otrzymując osad antybiotyku na żelu. Żel ten odsiewa się na szczycie kolumny chromatograficznej, wypełnionej 200 g żelu krzemowego i mieszaniną rozpuszczalnika, układającą się z acetonu etylu, acetonu, wody w

proporcji 8:4:1. Wyplukując tym samym rozpuszczalnikiem zbiera się 20 ml frakcje. Chromatografia cienkowarstwowa każdej frakcji wykazuje, że frakcje 31 — 38, 310 mg są czystym transepimerem, a frakcje 49 — 74 — 32 mg, były czystym cis epimerem. Frakcje 39 — 48 składają się z mieszaniny epimerów, które można powtórnie rozdzielić chromatograficznie. Każdy epimer rozpuszcza się w kilku kroplach rozcieńczonego kwasu solnego i wytrąca osad chlorowodoru przez dodanie acetonu. W ten sposób otrzymuje się 50 mg chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(trans-1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidyno-karboksy-amido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego o temperaturze topnienia 135—137°C oraz około 150 mg chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-cis-1-metylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-galakto-oktopiranozydu metylowego o temperaturze mięknięcia 105°C z dalszym topnieniem przy 175—185°C. Trans epimer przekrystalizowany z tego samego rozpuszczalnika topi się w temperaturze 139—141° i posiada następujący skład: analiza: obliczono dla $C_{19}H_{36}N_2O_8 \cdot HCl$ — C 48,49 — 93; H 8,16; S 7,02. Znalezione: (poprawiono dla 4,07% H_2O) — C 48,81; H 8,54; N 6,49; S 6,67.

Z podobnie przekrystalizowanego epimeru cis otrzymuje się produkt o temperaturze mięknięcia 108°C i temperaturze topnienia 180°C, o następującym składzie: analiza: znaleziono (poprawiono dla 4,95% wody) — C 50,27; H 9,0; N — 6,05; S 6,65.

Trans epimer jest 2,2 razy bardziej aktywny niż linkomycyna przy próbie na *S. lutes*, około 2 razy bardziej aktywny przy próbie rozcieńczonych bulionem i około 2,5 razy aktywniejszy w działaniu na myszy zarażone *S. aureus*.

Cis epimer jest około 1/2 do 1/3 tak aktywny, jak trans epimer, czyli prawie równie aktywny, jak linkomycyna.

Chlorowodorek 6,8-dezoksy-6-(1-etylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd metylowy.

Mieszaninę 2,0 g chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(4-butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego (poprzednio otrzymanego) 1,5 ml acetaldehydu, 150 mg 10% palladu na węglu w 150 ml alkoholu metylowego wytrąca się pod ciśnieniem około 15,9 kg wodoru przez 5,5 godz. Katalizator odfiltruje się i otrzymuje osad, składający się głównie z cis i trans epimerów chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(1-etylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksy-amido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego.

Oddzielanie epimerów

W sposób poprzednio opisany mieszaninę otrzymanych epimerów (2 g) chromatografuje się na 200 g żelu krzemowego, używając dla wymywania układu rozpuszczalnika z octanu etylu, acetonu wody (8:4:1). Frakcje 33 — 42 są czystymi epimerami, które łączy się frakcje 49 — 64 są czystymi cis epimerami również się je łączy. Frakcje

43 — 48 są mieszaniną epimerów, które oczyszcza się przez powtórna chromatografię. Każdy epimer rozpuszcza się w kilku kroplach słabego kwasu solnego. Po rozcieńczeniu dużą ilością eteru otrzymuje się osad krystalicznego chlorowodoru.

Z 415 mg zamieszczzonej frakcji trans-epimeru otrzymuje się 340 mg (15,4%) krystalicznego chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(trans-1-etylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego o temperaturze topnienia 144—151°C. Po przekrystalizowaniu z rozcieńczonego acetonu temperatura topnienia wzrasta do wartości 148—151°C. Z 645 mg frakcji cis-epimeru uzyskuje się 300 mg (14,1%) krystalicznego chlorowodoru 6,8-dezoksy-6-(cis-1-etylo-4-butylo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydu metylowego o temperaturze topnienia 135—139°C. Po przekrystalizowaniu z rozcieńczonego acetonu uzyskuje się kryształy o temperaturze topnienia 134—138°C. Izomer transepimeru wykazuje aktywność 1—1,2 razy większą niż linkomycyna przy próbie na *S. lutea*, 2,4 razy większą niż linkomycyna w stosunku do organizmu barwiącego się metodą Grama i 8 lub więcej razy w stosunku do organizmu nie barwiącego się metodą Grama. U myszy zakażonej *S. aureus* trans-epimer wykazuje dwukrotnie większą aktywność niż linkomycyna. Cis-epimer jest w połowie tak aktywny jak trans-epimer.

Rozdzielanie cis i trans-izomerów nie jest konieczne, ponieważ 7-chloro pochodne mieszaných epimerów są w tym samym stopniu użyteczne. Pożądane jest jednak otrzymywanie trans-izomerów, gdyż jest to postać najbardziej aktywna. Stosując sposób według wynalazku można otrzymać produkty epimeryczne zawierające trans i cis-epimery w proporcji 3:1 do 1:5. Zastępując aldehyd mrówkowy i acetaldehyd z poprzednich części przykładu innymi oksozwiązkami o wzorze R_4R_5CO , takimi na przykład, jak aldehyd propionowy, aceton, aldehyd masłowy, keton izobutylo-metylowy, aldehyd benzoowy, aldehyd fenylowy, aldehyd hydriocynamonowy, acetofenon, propiofenon, butyrofenon, 3-metylo-4-fenyl-2-butanon, 2-metylo-5-fenyl-3-pentanon, aldehyd 3-cyklopentanopropionowy, aldehyd cykloheksanooctowy, aldehyd cykloheptanokarboksylowy, aldehyd 2,2-dwumetylo-cyklopropanooctowy, keton metylo 2,2-dwumetylocyklopropylowy, keton metylo-cyklopentylowy, keton metylocyklobutylowy, cyklobutanon, cykloheksanon i 4-metylocykloheksanon oraz stosując odpowiednie 6,8-dwudezoksy-6-(4-alkilo, 4-cykloalkilo lub 4-aralkilo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydy alkilowe, cykloalkilowe lub aralkilowe, otrzymuje się odpowiedni 6,8-dwudezoksy-6-(1- R_4R_5CH -4-alkilo, 4 cykloalkilo i 4-aralkilo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozyd alkilowy, cykloalkilowy i aralkilowy z których po potraktowaniu chlorkiem tionylu sposobem poprzednio opisanym otrzymuje się odpowiednio 7-chlorowoc-6,7,8-trójdeoks-6-(1- R_4R_5CH -4-alkilo, 4-cykloalkilo, 4-aralkilo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-galakto-oktopiranozydy alkilu, cykloalkilu i aralkilu, w których

R_4R_5CH oznacza grupę propylową, izopropylową, butylową i 4-metylo-2-pentylową, benzylową, fenetylową, 3-fenylpropylową, 1-fenyletylową, 1-fenylpropylową, 1-fenylbutylową, 3-metylo-4-fenyl-2-butylową i 2-metylo-5-fenyl-3-pentyl-3-pentylową, 3-cyklopentylpropylową, 2-cykloheksyletylową, cykloheptylo-metylową, 2-(2,2-dwumetylocyklopropyl)etylową, 1-(2,2-dwumetylocyklopropyl)etylową, 1-(2,2-dwumetylocyklopropyl)-etylową, 1-cyklopentyletylową, 1-cyklobutyletylową, cyklobutylową, cykloheksylową i 4-metylo-cykloheksylową. Stosując aldehyd mrówkowy, aldehyd octowy lub inne alkanale, na przykład aldehyd propionowy, aldehyd masłowy, aldehyd walerianowy lub aldehyd kapronowy z 6,8-dwudezoksy-6-(4-alkilo-L-2-pirolidynokarboksyamido)-1-tio-D-erytro- α -D-galakto-oktopiranozydem alkilu, gdzie alkilem i 4-alkilem są grupy metylowe, ety-

lowe, propylowe, butylowe, pentylowe lub heksylowe, uzyskuje się korzystne związki wyjściowe o wzorze 34, w którym X oznacza grupę hydroksylową, a R, HR_1 i R_3 oznaczają grupę alkilową o nie więcej niż sześciu atomach węgla, korzystnie o nie więcej niż 12 atomach węgla, w których po potraktowaniu odczynnikiem Rydon'a sposobem poprzednio opisanym otrzymuje się związki o wzorze 34, w którym X oznacza chlorowec, a R, HR_1 i R_3 oznaczają grupę alkilową taką jak powyżej. Związki 6,8-dwudezoksy o wzorze 31, jak określono powyżej, mają tę samą aktywność przeciwbakteryjną co linkomycyna. 7-halo-6,7,8-trójddezoksy związki o wzorze 31, jak opisano powyżej — posiadają te same cechy antybakteryjne, ale są bardziej aktywne. Najważniejsze związki o wzorze 34, w których X oznacza brom, podano w poniższej tabelicy:

Tablica I
związki o wzorze 34, w których X oznacza brom

	R	HR_1	R_3
4A	metyl	trans-etyl	metyl
4B	"	cis-etyl	metyl
4C	(7-bromo-7-dezoksylinkomycyna)	trans-propyl	"
4D	(7-bromo-7-dezoksyallolinkomycyna)	cis-propyl	"
4E	(7-bromo-7-dezoksylinkomycyna E)	trans-propyl	etyl
4F	(7-bromo-7-dezoksyallolinkomycyna E)	cis-propyl	etyl
4G	etyl	trans-propyl	metyl
4H	"	cis-propyl	"
4I	metyl	trans-butyl	"
4J	"	cis-butyl	"
4K	"	trans-propyl	etyl
4L	"	cis-propyl	"
4M	etyl	trans-propyl	"
4N	"	cis-propyl	"
4O	metyl	trans-butyl	etyl
4P	"	cis-butyl	"
4Q	"	trans-pentyl	metyl
4R	"	cis-pentyl	"
4S	etyl	trans-butyl	etyl
4T	"	cis-butyl	"
4U	metyl	trans-pentyl	"
4V	"	cis-pentyl	"
4W	etyl	trans-pentyl	metyl
4X	"	cis-pentyl	"
4Y	metyl	trans-heksyl	"
4Z	"	cis-heksyl	"
4AA	butyl	trans-propyl	"
4AB	"	cis-propyl	"
4AC	etyl	trans-pentyl	etyl
4AD	"	cis-pentyl	"
4AE	butyl	trans-butyl	"
4AF	"	cis-butyl	"
4AG	"	trans-pentyl	metyl
4AH	"	cis-pentyl	"
4AI	cykloheksyl	trans-propyl	"
4AJ	"	cis-propyl	"
4AK	butyl	trans-pentyl	etyl
4AL	"	cis-pentyl	"
4AM	pentyl	trans-pentyl	"
4AN	"	cis-pentyl	"

Produkty pośrednie stosowane do wytwarzania powyższych związków wymienione są w tablicy 1 w pozycjach, gdzie (1) X oznacza grupę hydroksylową (2) R₃ oznacza wodór; (3) X oznacza grupę hydroksylową a R₃ oznacza wodór; (4) X oznacza grupę hydroksylową, a R₃ oznacza grupę karbobenzoksylową; (5) X oznacza brom, a R₃ oznacza grupę karbobenzoksylową, (6) X oznacza grupę hydroksylową, R₃ oznacza grupę karbobenzoksylową, a HR₁ i H w 4 pozycji są zastąpione grupą ylidenową, R₁; (7) X oznacza brom, a R₃ oznacza grupę karbobenzoksylową, a HR₁ i H w pozycji 4 są zastąpione grupą ylidenową, R₁; (8) X oznacza grupę hydroksylową, R₃ oznacza wodór, a HR₁ i H w pozycji 4 zastąpione są grupą ylidenową, R₁; (9) X oznacza brom, R₃ oznacza wodór, HR₁ i H w pozycji 4 jest zastąpiony grupą ylidenową, R₁; (10) X oznacza grupę hydroksylową, a HR₁ i H w pozycji 4 zastąpione są grupą ylidenową, R₁ i (11) X oznacza brom, a HR₁ i H w pozycji 4 zastąpione są grupą ylidenową R₁. Gdy linkomycynę otrzymaną w poprzedniej części zastąpi się 6-amino-6,8-dwudezoksy-1-tio-D-erytro-α-D-galakto-oktopiranozydem alkilu, cykloalkilu lub aralkilu, otrzymuje się związki o wzorze 35, w których R oznacza grupę etylową, propylową, butylową, pentylową, heksylową, heptylową, oktylową, nonylową, decylową, undecylową, dodecylową, trójdecylową, tetradecylową, pentadecylową, heksadecylową, heptadecylową, oktadecylową, nonadecylową i eikozylową lub którąkolwiek z ich izomerycznych odmian, cyklopropylową, cyklobutyłową, cyklopentylową, cykloheksylową, cykloheptyłową, cyklooktyłową, 2-metylocyklopentylową, 2,3-dwumetylocyklobutyłową, 2-metylocyklobutyłową i 3-cyklopentylpropylową, benzylową, fenetyłową, 3-fenylpropylową, α-naftylometyłową, które można alkilować sposobem opisanym w przykładzie IV, w celu utworzenia analogów 7-chlorowco-7-dezoksylinkomycyny, na przykład związków o wzorze 34, jak to poprzednio opisano, jak również ich produkty pośrednie. Przez podstawienie linkomycyny epilinkomycyny uzyskuje się 7-bromo-6,7,8-trójdezoksy-6-(trans-1-metylo-1-4-propylo-L-2-pirolidynokarboksyamido) - 1-tio-α-oktopiranozyd metylu (7-bromo-7-dezoksy-epilinkomycyna), który posiada te same cechy przeciwbakteryjne, co linkomycyna. Epilinkomycynę wytwarza się, jak w przykładzie II.

Przykład II. 3,4-0-izopropylidenolinkomycyna o wzorze 36

Roztwór 9,8 g linkomycyny w 150 ml acetonu dodaje się do roztworu 9,8 g jednowodzianu kwasu p-toluenosulfonowego w 100 ml acetonu, dokładnie mieszając i chroniąc przed wilgocią. Mieszaninę miesza się w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę, a następnie dodaje 100 ml bezwodnego eteru i kontynuuje mieszanie w kąpieli lodowej przez 1/2 godziny. Mieszaninę filtruje się, a osad suszy w temperaturze 50°C uzyskując 13,35 g (85,5%) p-toluenosulfonianu 3,4-0-izopropylidenolinkomycyny. Dodatkowe 1,15 g uzyskuje się (7,4%) z płynów macierzystych przez dodanie 350 ml bezwodnego eteru do płynu macierzystego

z poprzedniego procesu przefiltrowywanie i oziębia roztwór przez 1 godzinę. Otrzymano w ten sposób 14,5 g produktu zawieszającego się w 200 ml eteru i wytrząsa energicznie z 125 ml 5% roztworu kwaśnego węglanu potasu. Wodny osad ekstrahuje się dwoma porcjami 100 ml eteru, wyciągi eterowe przemycza 50 ml nasyconego roztworu chlorku sodu, a następnie przefiltrowuje przez bezwodny siarczan sodu.

Eter odparowuje się w próżni, uzyskując 7,9 g (73,1%) 3,4-0-izopropylidenolinkomycyny, którą rozpuszcza się w 25 ml octanu etylu i zateża do 10—15 ml. Koncentrat pozostawia się w temperaturze pokojowej na kilka godzin, a następnie zamraża przez kilkanaście godzin. Z roztworu odfiltruje się kryształy i przemycza lekko octanem etylu; uzyskuje się 4,55 g (42,2%) 3,4-0-izopropylidenolinkomycyny o temperaturze topnienia 126—128°C oraz skręcalności optycznej

(α)_D²⁵ 101—102°C (c = 1, chlorek metylenu).

7-dehydro-3,4-0-izopropylidenolinkomycyna.

Do roztworu 6 g (0,0135 mola) izopropylidenolinkomycyny w 75 ml pirydyny dodaje się 12 g (nadmiar) tlenku chromu. Roztwór ogrzewa się do temperatury około 20°C. Po jednej godzinie mieszanina dodaje się mieszaninę do roztworu, zawierającego po 250 ml eteru etylowego i octanu etylowego. Następnie mieszaninę filtruje się i odparowuje otrzymując 8,4 g syropu. Syrop ten rozdziela się w przeciwnie na 500 frakcji stosując układ: woda: octan etylu: alkohol etylowy: cykloheksan w stosunku 1:1:1:1. Frakcje 330—380, o K = 2,45 stanowią 7-dehydro-3,4-0-izopropylidenolinkomycynę. Analiza: obliczono dla C₃₁H₃₆N₂O₆S — C 56,72; H 8,16; N 6,30; S 7,21; znaleziono: C₅ 56,37; H 7,62; N 6,51; S 6,84.

3,4-0-izopropylideno-epilinkomycyna.

Do 1,6 g 7-dehydro-3,4-0-izopropylidenolinkomycyny oczyszczonej systemem Craiga, rozpuszczonej w 75 ml alkoholu metylowego dodaje się 400 mg borowodorku sodu. Po 1,5 godz. roztwór ten odparowuje się do sucha na wyparce obrotowej. Pozostałość dodaje do 25 ml wody i ekstrahuje trzykrotnie 25 ml porcjami chlorku metylenu. Wyciąg płucze się 15 ml wody, a następnie suszy nad chlorkiem magnezu i odparowuje do sucha. Pozostałość rozdziela się metodą rozdziału w przeciwnie na 500 frakcji, stosując układ rozpuszczający, woda: octan etylu: alkohol etylowy: cykloheksan w stosunku 1:1:1:1. Jedyny szczyt, jaki odpowiadał teoretycznemu, zaobserwowano przy K = 1,05. Frakcje 240—280 oddziela się w postaci syropu. Analiza: obliczono dla C₂₁H₃₈H₃O₆S — C 56,47; H 8,58; N 6,27; S 7,18; znaleziono: C 56,24; H 8,54; N 6,13; S 7,01. Chromatografia cienkowarstwowa wykazuje, że produkt ten składa się z dwóch substancji: 3,4-0-izopropylidenolinkomycyny i 3,4-0-izopropylidenoepilinkomycyny.

Epilinkomycyna

Otrzymany poprzednio syrop przechowuje się w temperaturze pokojowej przez 5 godzin w roz-

tworze, zawierającym 60 ml 0,25 kwasu solnego i 40 ml alkoholu etylowego. Następnie utrzymuje się temperaturę 0°C przez 4 dni, neutralizuje się kwaśnym węglanem sodu, odparowuje do objętości 25 ml, a następnie ekstrahuje chloroformem. Wyciąg przemywa się niewielką ilością wody, suszy nad siarczanem magnezu i odparowuje do uzyskania osadu. Cienkowarstwowa chromatografia osadu wykazuje dwie substancje, wykazujące aktywność na *S. lutes*. Osad chromatografuje się na kolumnie typu Florisil 14" × 3/4" (syntetyczny krzemian opisano w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 2.393.625), którą wypłukane stopniowo rozpuszczalnikami zawierającym od 100% Skellysolve B (techniczny heksan) do 100% acetonu. Całkowita obojętność wynosi 5000 ml. Otrzymuje się dwa związki: Frakcja I — rurki 53—65 (40 ml frakcja) epilinkomycyna. Próba 450 mcg/ml. Analiza: obliczono dla $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ — C 50,92; H 8,55; N 6,60; S 7,56. Znaleziono: C 50,19; H 7,91; N 6,05; S 6,42.

Frakcja II — rurki 73—104 — linkomycyna. Próba 950 mcg/mg.

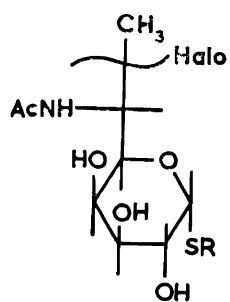
7-bromo-7-dezoksyepilinkomycyna

Stosując sposób, jak w przykładzie I, zastępując linkomycynę epilinkomycyną uzyskuje się 7-bromo-7-dezoksyepilinkomycynę o wzorze 37 jako wolną zasadę i jako chlorowoderek. Przez zastąpienie linkomycyny analogami linkomycyny o wzorze 4, w którym Z, R, R_1 , R_2 , R_3 grupy Ac mają wyżej podane znaczenie uzyskuje się odpowiednie analogi 7-chlorowco-7-dezoksyepilinkomycynę o wzorze 1, w którym Z, R, R_1 , R_2 i R_3 grupy Ac mają wyżej podane znaczenie. Wszystkie opisane powyżej, związki, posiadają odpowiednie pochodne formy 7-epi. Jeżeli przeprowadza się przemianę przez zastąpienie grupy 7-hydroksy przez odczynnik Rydon'a, wtedy epi-związki, po-

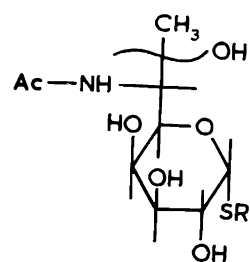
siadające układ L-treo, przeprowadza się w układ D-erytro. W każdym przypadku obie postacie D-erytro i L-treo otrzymuje się w zależności od tego, czy stosuje się normalnie linkomycyny (D-erytro), czy też epi-linkomycyny (L-treo). Mimo, że sposób według wynalazku omówiono w odniesieniu do wytwarzania określonych związków, sposób ten można zastosować do wytwarzania związku o wzorze 4, w którym Ac i R są rodnikami nie reagującymi z odczynnikiem Rydon'a. Jak z tego wynika podstawnik Ac może oznaczać wodór lub grupę acylową nie reagującą z odczynnikiem Rydon'a, a R może oznaczać grupę alkilową niezależnie od ilości atomów węgla lub rodnik taki, jak na przykład rodnik aralkilowy taki, jak benzyłowy, naftobenzyłowy i benzohydryłowy lub rodniki węglowodorowe, które nie wchodzi w reakcję z odczynnikiem Rydon'a.

Zastrzeżenie patentowe

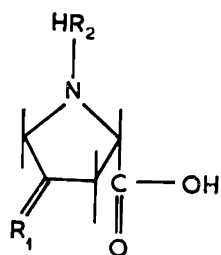
Sposób wytwarzania 7-chlorowco-7-dezoksylinkomycyny i jej analogów o wzorze 1, w którym R oznacza grupę alkilową o nie więcej niż 20 atomach węgla, korzystnie nie więcej niż 8 atomach węgla, cykloalkilową o 3—8 atomach węgla oraz aralkilową o nie więcej niż 12 atomach węgla, korzystnie nie więcej niż 8 atomach węgla, a Ac oznacza podstawiony w pozycji 4 rodnik acylowy kwasu L-2-pyrolidynokarboksylowego o wzorze 2 lub 3, w których R_1 i R_2 oznaczają grupę alkilidenową o nie więcej niż 20 atomach węgla, korzystnie o nie więcej niż 8 atomach węgla, cykloalkilidenową o 3—8 atomach węgla lub aralkilidenową o nie więcej niż 12 atomach węgla, korzystnie o nie więcej niż 8 atomach węgla, a R_3 oznacza wodór lub grupę HR_2 , **znamienny tym**, że związek o wzorze 4, w którym R i Ac mają wyżej podane znaczenie poddaje się reakcji z odczynnikiem Rydon'a w temperaturze 20—55°C.



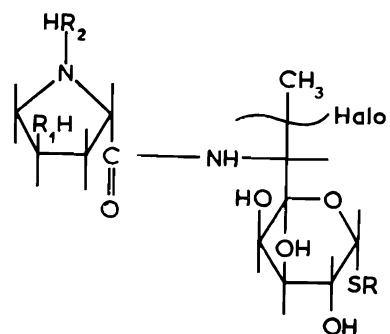
WZÓR 1



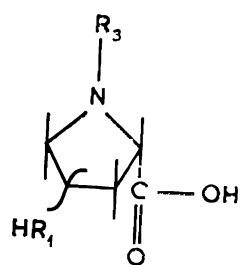
WZÓR 4



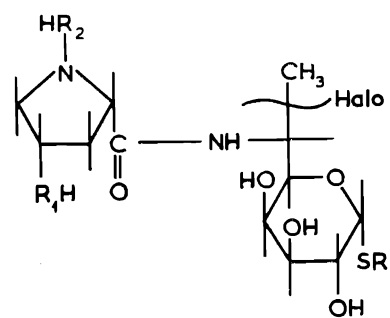
WZÓR 2



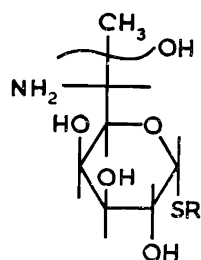
WZÓR 5



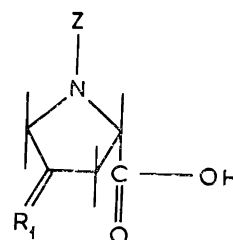
WZÓR 3



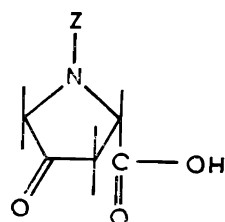
WZÓR 6



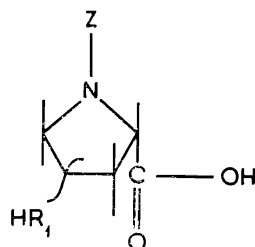
WZÓR 7



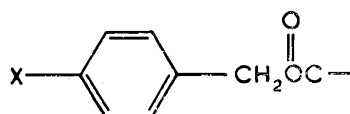
WZÓR 11



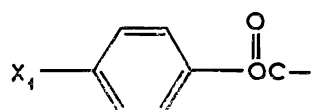
WZÓR 8



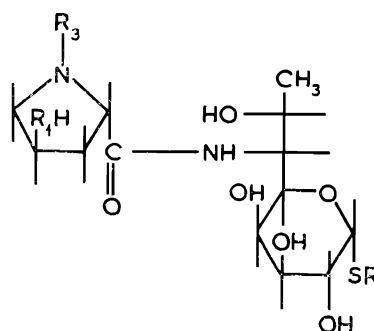
WZÓR 12



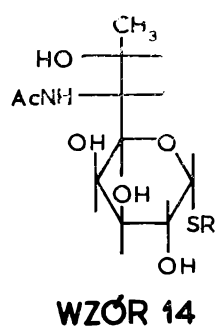
WZÓR 9



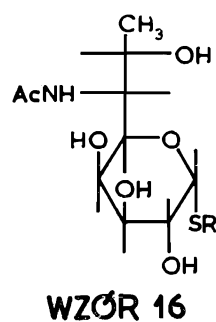
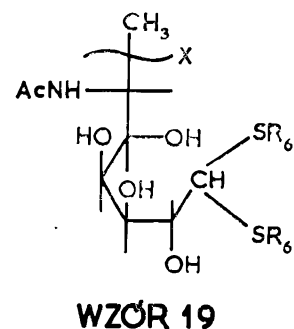
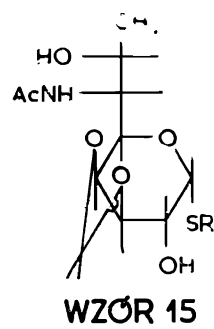
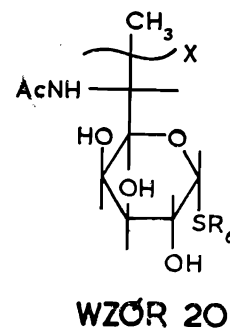
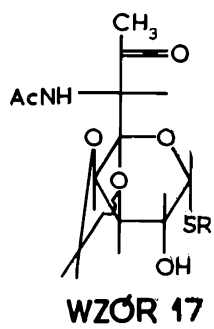
WZÓR 10



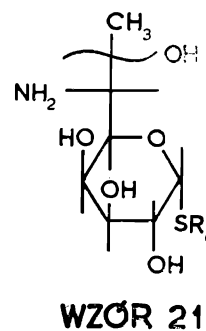
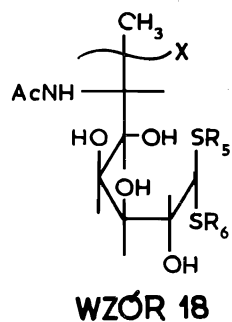
WZÓR 13

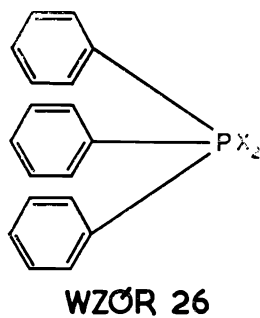
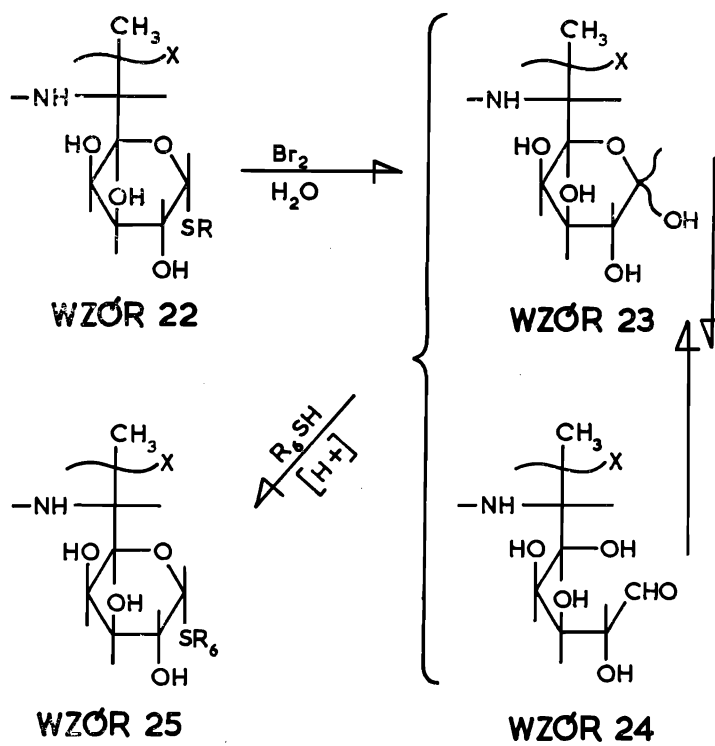


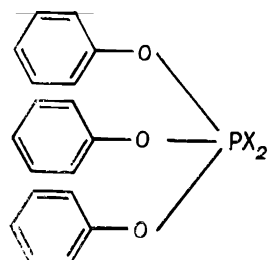
acetone

 NaBH_4 

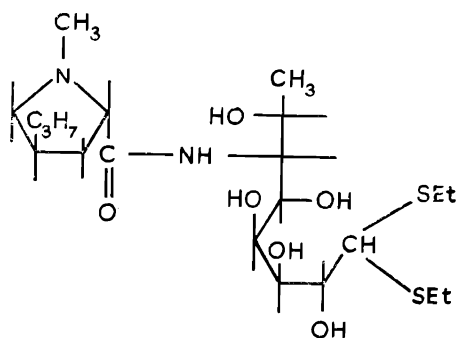
SCHEMAT 1



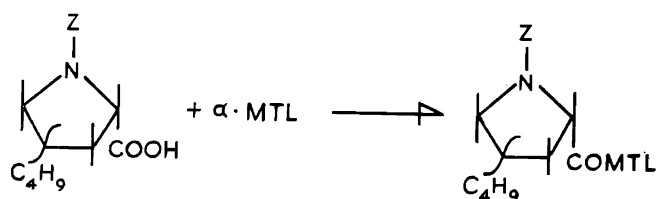




WZÓR 27



WZÓR 28

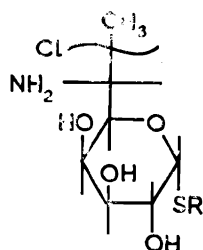


WZÓR 29

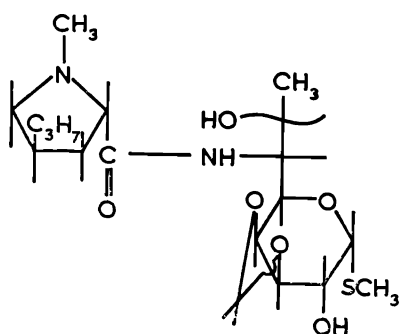
WZÓR 30

SCHEMAT 3

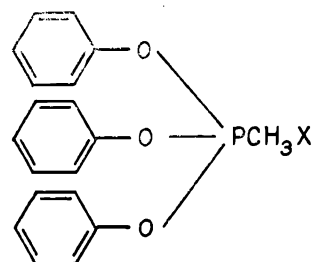




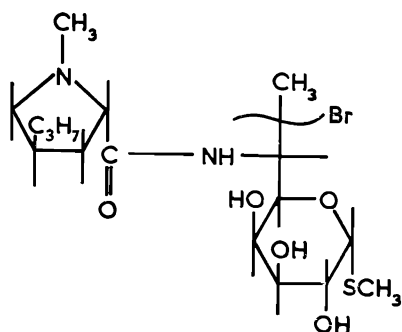
WZÓR 35



WZÓR 36



WZÓR 38



WZÓR 37



Errata

str. 12, łam 23, 9 wiersz od góry

Jest: klopropylo/etylową, /1-/2,2-dwumetylocyklopropylo/-

Powinno być: klopropylo/etylową,

str. 12, łam 23, 10 wiersz od góry

Jest: -etylową 1-cyklopentyetylową, 1-cyklobutyloety-

Powinno być: 1-cyklopentyloetylową, 1-cyklobutylcety-

str. 13, łam 26, 1 wiersz od góry

Jest: przefiltrowywanie

Powinno być: przefiltrowywania

str. 13, łam 26, 55 wiersz od góry

Jest: $C_{21}H_{38}H_3O_6S$

Powinno być: $C_{21}H_{38}H_2O_6S$