

379692



MEMORIA DESCRIPTIVA

para
una Patente de Invención
por veinte años en España,

a favor de
THE UPJOHN COMPANY
(sociedad EE.UU.)

residente en
Kalamazoo, Michigan (EE.UU.)
301, Henrietta Street

por:

"PROCESO PARA PRODUCIR LINCOMICINA "

- - - - -

INVENTORES: Alexander Demetrios Argoudelis, de nacionalidad griega, Brian Bannister, de nacionalidad inglesa, y Herman Hoeksema, Fred Kagan y Barney John Magerlein, de nacionalidad norteamericana.

- - - - -

PRIORIDAD: Solicitud Patente EE. Serial nº 387.776 del 5 de Agosto de 1.964.

PRIORIDAD: Solicitud Patente EE. Serial nº 463.934 del 14 de Junio de 1.965.

- - - - -

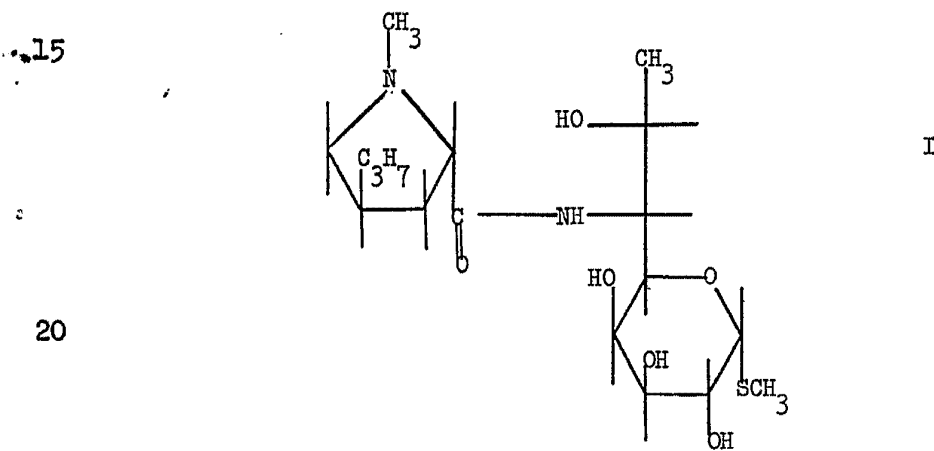


-2-
316092

2062A

Esta invención se refiere a un método para producir lincomicina y análogos e isómeros de la misma y a nuevos compuestos producidos por el mismo.

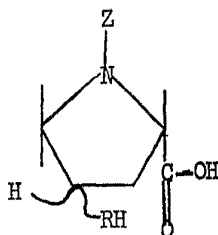
5 La lincomicina es un antibiótico obtenido como un producto de elaboración de una actinomiceta productora de lincomicina. - Los métodos para la producción, recuperación y purificación de la lincomicina están descritos en la Patente E.U.A. 3,086,912. La estructura de la lincomicina ha sido dilucidada, parcialmente como - un resultado de esta invención, como el metil 6-(trans-4-propil-1-metil-L-prolilamino)-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopi-
10 ranósido que tiene la siguiente fórmula estructural:



25 Se ha encontrado ahora que la lincomicina e isómeros y análogos de la misma pueden sintetizarse por acilación con una L-prolina 4-sustituída de la fórmula:



-3-
316092

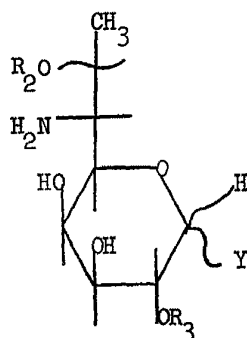


II

5

en donde Z es un grupo hidrocarbilo carbonilo protector que se puede separar por hidrogenolisis o tritil(trifenilmetilo), difenil-(p-metoxifenil)metilo, bis-(p-metoxifenil)fenil-metilo, bencilo, o p-nitrobencilo, y R es alquilideno, aralquilideno, o cicloalquilideno como se señala más adelante, un compuesto 6-amino-6,8-dideoxi-D-eritro- o L-treo-D-galacto-octopiranososa de la fórmula:

10



III

15

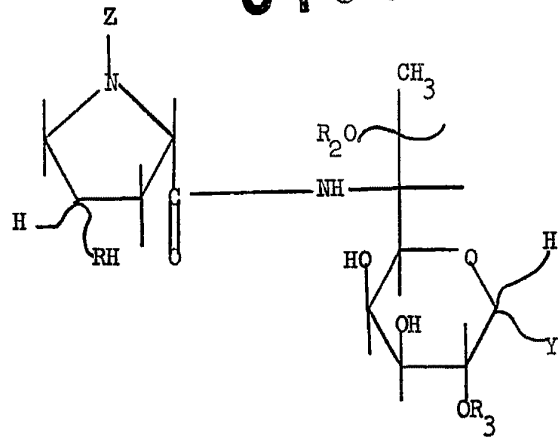
en donde R_2 y R_3 son hidrógeno o alquilo de no más de 12 átomos de carbono y en donde Y es hidrógeno, S-alquilo de no más de 12 átomos de carbono y $-SCH_2CH_2OR_4$ en donde R_4 es hidrógeno o alquilo de no más de 12 átomos de carbono, para formar compuestos de la fórmula:

20

-4-
316092



5

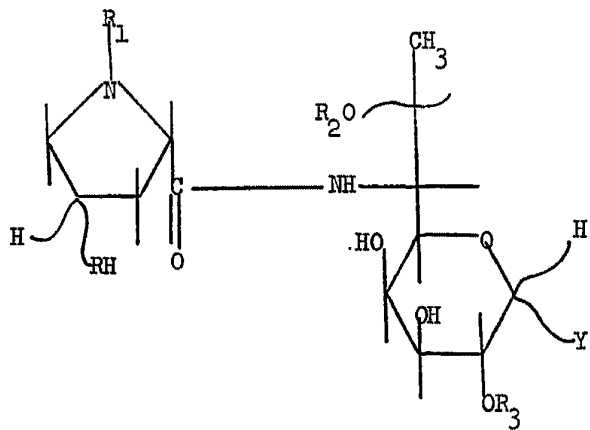


IV

10

en donde Z, Y, R, R₂, y R₃ son como se indica anteriormente; separando el radical Z por hidrogenolisis; y, si se desea, alquilando el compuesto resultante (Fórmula V en donde R₁ es hidrógeno) para producir el compuesto de la fórmula:

15



V

20

en donde R₁ es alquilo de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilo de tres a no más de 8 átomos de carbono, o aralquilo de no más de 12 átomos de carbono e Y, R, R₂ y R₃ son como se indica anteriormente.

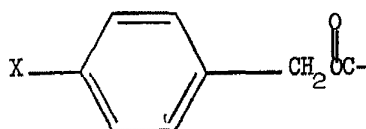
25

Ejemplos de alquilo de no más de 20 átomos de carbono son



316092

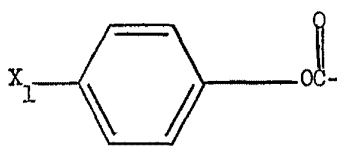
metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, -
nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo,
5 hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicosilo y sus formas isómeras. Ejemplos de cicloalquilo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 4-metilciclobutilo, y 3-ciclopentilpropilo. Ejemplos de aralquilo son bencilo, fenetilo, -
α-fenilpropilo, y α-naftilmetilo. Ejemplos de grupos hidrocarbilo-
10 oxicarbonilo son butoxicarbonilo terciario; grupos benciloxicarbonilo de la fórmula:



15

en donde X es hidrógeno, nitro, metoxi, cloro o bromo, por ejemplo, carbobenzoxi (benciloxicarbonilo), p-nitrocarbobenzoxi (p-nitrobenciloxicarbonilo), p-bromo-, y p-clorocarbobenzoxi (p-bromo-, y p-clorobenciloxicarbonilo); y grupos feniloxicarbonilo de la fórmula:

20

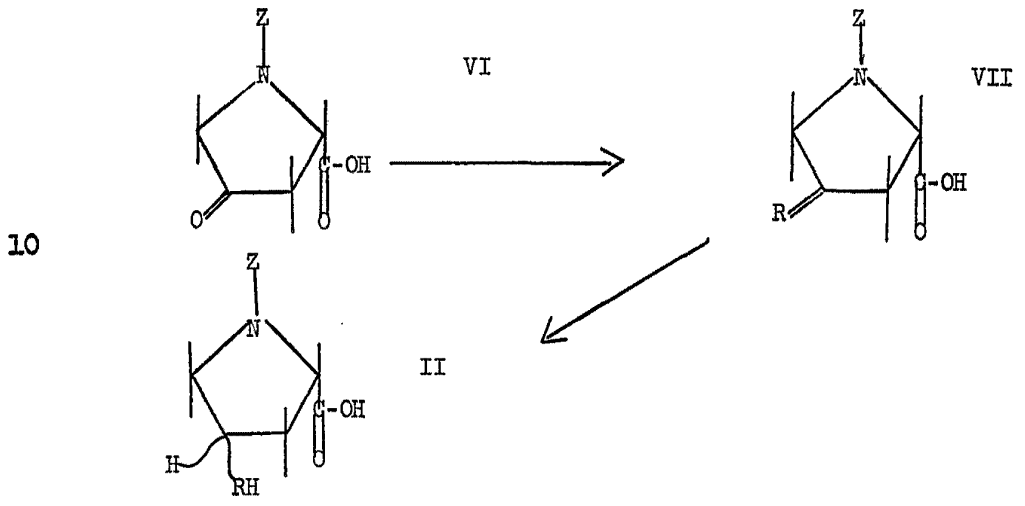




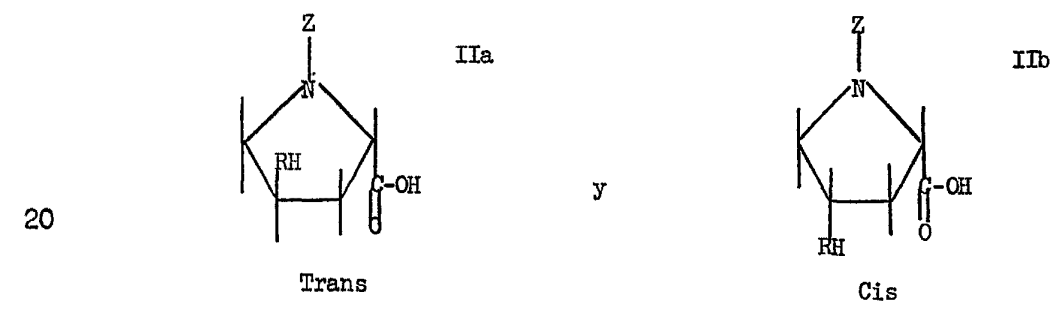
-6-
316092

en donde X₁ es hidrógeno, alilo o alquilo de no más de 4 átomos de carbono, tal como feniloxycarbonilo, p-toliloxycarbonilo, p-etilfeniloxycarbonilo y aliloxycarbonilo y semejantes.

5 Los compuestos de partida de Fórmula II se preparan en el siguiente orden:



El producto resultante es una mezcla de los cis y trans isómeros.



La serie anterior se lleva a cabo tratando 1-hidrocarbilo-oxycarbonil-4-ceto-L-prolina (VI), o de otra manera 4-ceto-L-prolina protegida con un reactivo Wittig, generalmente un alquilideno-trifenilfosforano [ver por ejemplo, Wittig et al., Ber., 87, 1348 - -



2062A

⁻⁷⁻
316092

(1954); Trippett, Quarterly Reviews, XVII, No.4, p. 406 (1963)], e -
hidrogenando la 4-alkilideno-1-hidrocarbiloxicarbonil-L-prolina -
(VII) obtenida, en presencia de un catalizador de platino para obte-
ner la correspondiente 4-alkil-1-hidrocarbiloxicarbonilprolina (II).

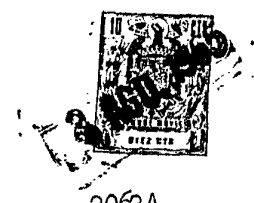
5

Para llevar a cabo el proceso, la 1-hidrocarbiloxicarbonil-
4-ceto-L-prolina (VI), se agrega a un reactivo Wittig, recientemente
preparado. Los reactivos Wittig usados aquí pueden representarse ge-
neralmente por la fórmula siguiente:



10

en donde R= es alkilideno de no más de 12 átomos de carbono, ciclo-
alkilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralkilideno de
no más de 12 átomos de carbono. Grupos adecuados alkilideno, ciclo
alkilideno, y aralkilideno incluyen metileno, etilideno, propilide
no, butilideno, pentilideno, hexilideno, heptilideno, octilideno, no
15 nilideno, decilideno, undecilideno, y dodecilideno y sus formas isó-
meras, ciclopropilideno, ciclobutilideno, ciclopentilideno, ciclohe-
xilideno, cicloheptilideno, ciclooctilideno, 2-ciclopropiletilideno,
3-ciclohexilpropilideno, bencilideno, 2-feniletlideno, 3-fenilpropil-
ideno, y α -naftilmetileno. Estos reactivos Wittig se preparan hacien
20 do reaccionar un haluro de alkilcicloalquilo o aralkiltrifenilfosfo
nio con una base tal como sodamida, o hidruro de sodio o potasio, o me
talato de sodio o potasio de dimetilsulfóxido y semejantes. Por ejem
plo, la eliminación de haluro de hidrógeno del haluro de alkiltrife--
nilfosfonio, produce alkilidenotrifenilfosforano. [La preparación -
25 de fosforanos se comenta en detalles por Trippett, Quart. Rev. XVII, -



316092

No.4, p. 406 (1963)]. La reacción se lleva a cabo generalmente en un solvente orgánico, tal como benceno, tolueno, éter, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano y semejantes, a temperaturas entre 10°C y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción. El producto -
5 así obtenido, una 4-alkilideno-, 4-cicloalkilideno-, ó 4-arakilideno-1-hidrocarbiloxicarbonil-L-prolina (VII), se recupera de la mezcla de reacción de una manera convencional, generalmente por extracción de soluciones acuosas de la mezcla de reacción. El producto impuro puede purificarse por medios convencionales, tales como -
10 recristalización, cromatografía o formación y recristalización de derivados fácilmente formados, tales como sales aminadas del aminoácido, por ejemplo, la sal dicitclohexilamina, y semejantes, y liberando los aminoácidos de tales compuestos.

La 4-alkilideno-, 4-cicloalkilideno, ó 4-arakilideno-1-hidrocarbiloxicarbonil-L-prolina (VII) así obtenida, es entonces
15 hidrogenada en presencia de platino, que generalmente se deposita en un vehículo, por ejemplo carbón o una resina de intercambio aniónico como Dowex-1, una resina de trimetilbencilamonio poliestireno de ligaduras cruzadas. Se obtiene una mezcla de los epímeros cis-
20 y trans de la 1-hidrocarbiloxicarbonil-4-sustituída-L-prolina (IIa y IIb).

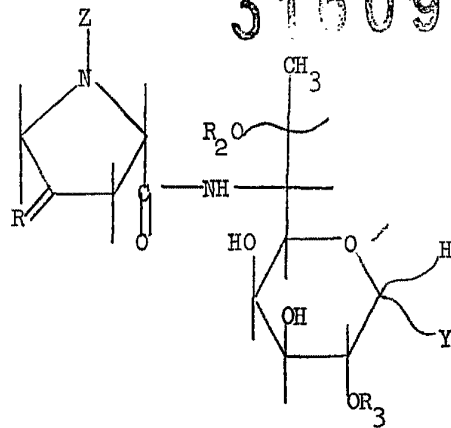
Alternativamente, el proceso puede llevarse a cabo por acilación del compuesto III con el compuesto VII para formar un compuesto de fórmula:



173, 2062A

-9-
316092

5



IVa

5

y luego hidrogenando el grupo alquilideno con un catalizador de pla-
 10 tino o de paladio. Con un catalizador de platino como se señala an-
 teriormente el radical Z se protege, pero con un catalizador de paladio,
 por ejemplo, paladio en carbón, se obtiene la hidrogenolisis del gru-
 po Z conjuntamente con la saturación del grupo alquilideno.

Los compuestos de partida de Fórmula III pueden obtenerse
 15 de varias maneras. Se obtiene metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro-
 --α-D-galacto-octopiranosido, también designado como metil α-tiolin-
 cosaminida o MFL, sometiendo lincomicina a hidrazinólisis y se obtie-
 ne 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro-α-D-galacto-octopiranosido, -
 también conocido como etil α-tiolincosaminida o EFL, por hidrazinoli-
 20 sis de lincomicina C, un antibiótico obtenido cuando la fermentación
 de lincomicina en Patente E.U.A. 3,086,912 se lleva a cabo en presen-
 cia de etionina.

La hidrazinólisis se efectúa ventajosamente calentando el
 antibiótico bajo reflujo con un exceso de hidrazina, digamos durante
 25 20 horas o más. El 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro-α-D-galacto-

316092

octopiranosido deseado puede aislarse por destilación del exceso de hidrazina y cristalización de un solvente polar tal como etanol.

Otros 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos pueden prepararse de acuerdo con la siguiente serie representativa:

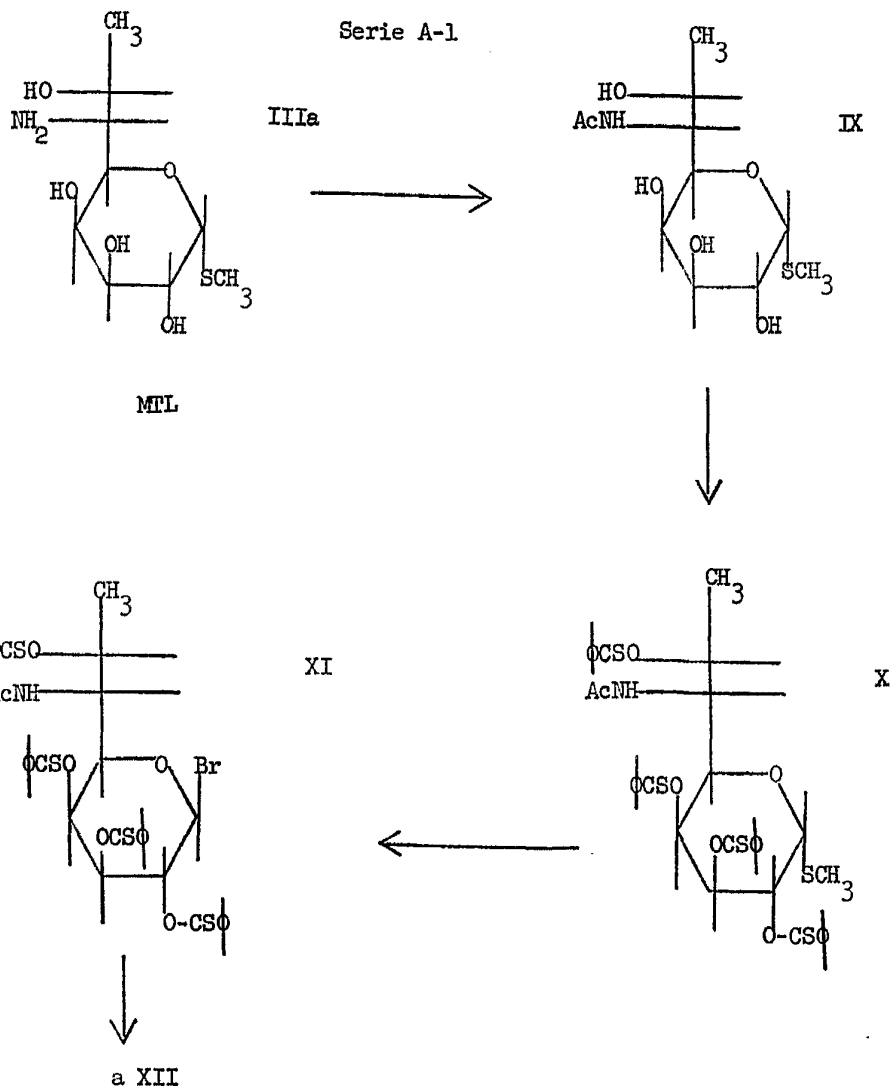
5

10

15

20

25



10 3 AGO 1966

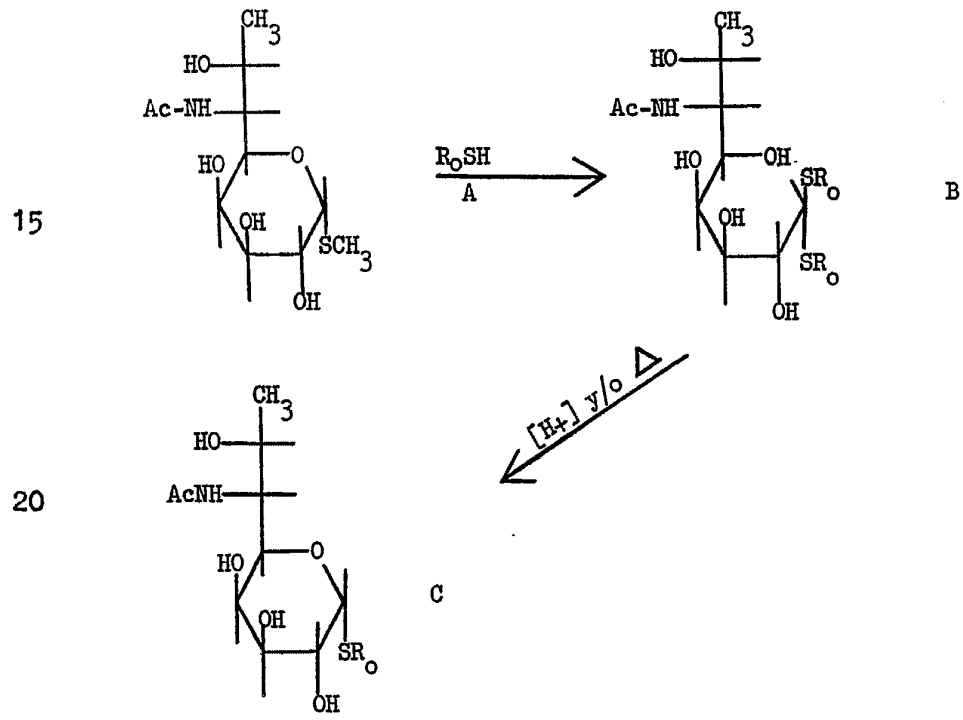
-12 316092

2062A

tiobenzoilo resultante (X) se broma para formar el compuesto XI -
 que por tratamiento con una base es convertido en compuesto XII. El
 tratamiento del compuesto XII con un álcali débil (carbonato-bicarb_o
 nato acuoso) dá compuesto XIII el cual por alquilación con un haluro
 5 de alquilo dá compuesto XIV. La hidrólisis de los grupos benzoilo y
 tiobenzoilo y la hidrazinólisis del grupo N-acilo dá compuesto IIIb.
 De una manera semejante, compuestos en los cuales Y es 2-hidroxi_et_ilo
 ó 2-alcoxi_et_ilo pueden prepararse haciendo reaccionar compuesto XIII
 con etileno clorhidrina o un haluro de 2-alcoxi_et_ilo.

10

Serie A-2

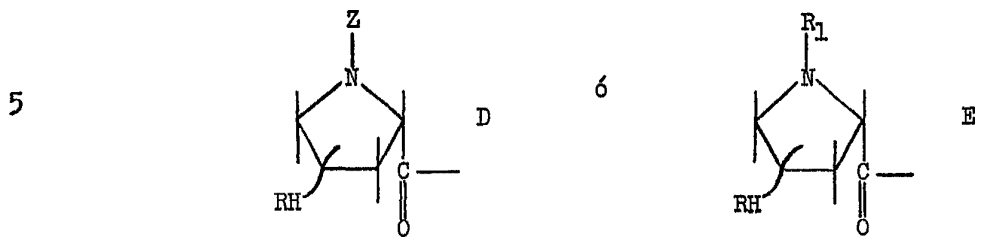


13 AGO 1966

-13- 316092

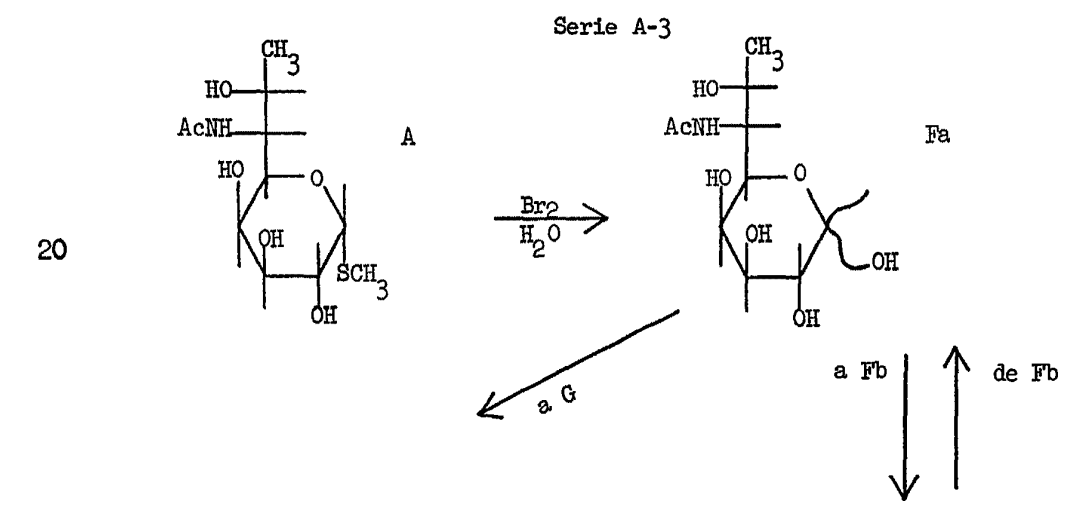
2062A

Ac puede ser alcanilo o aralcanilo como se indica anteriormente o un acilo de la fórmula:



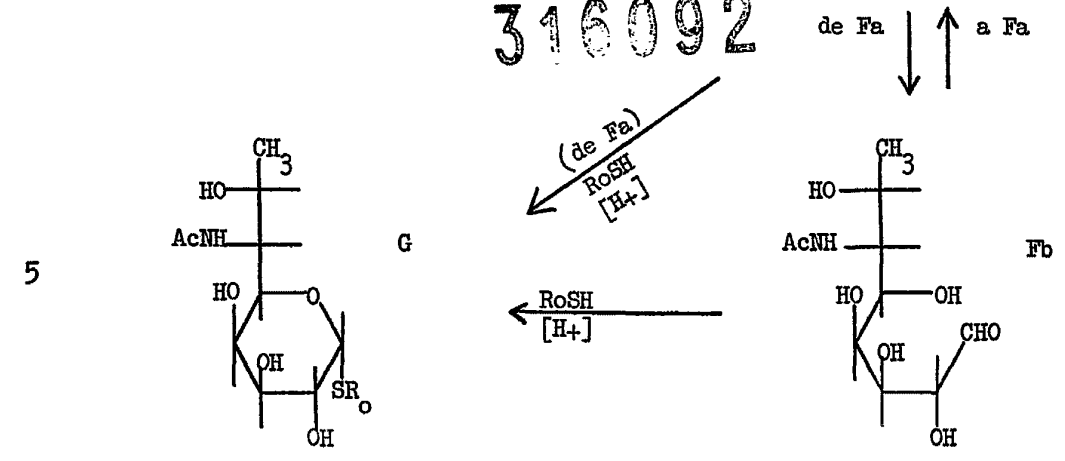
10 en donde R, R₁ y Z son como se indica anteriormente. R₀ puede ser alquilo de 2 a no más de 12 átomos de carbono, o -CH₂CH₂OR₄ en donde R₄ es como se indica anteriormente. El glucósido A de partida, que puede ser ventajosamente lincomicina, se somete a mercaptala--ción con un mercaptan de fórmula R₀SH para formar el ditioacetal B que a su vez es ciclizado por calor y/o ácido para formar el tioglucósido C.

15



316092 3 DEC 1965

316092



Ac y R₀ son como se indica en la Serie A-2. El compuesto de partida A, es disuelto en agua como sal soluble, por ejemplo, el clorhidrato, y se agrega bromo con enfriamiento, ventajosamente entre unos -10 y -20° C. Un procedimiento satisfactorio es el enfriar la solución acuosa hasta aproximadamente 0° C y agregar el bromo gota a gota. La cantidad estequiométrica de bromo es 1 mol por cada molécula del compuesto de partida, aunque puede ser usado más o menos. Ventajosamente se usa un ligero exceso, digamos de 5 a 20% de exceso de bromo. El tioglucósido es entonces convertido en un azúcar, F, en el que la forma piranosica Fa está en equilibrio con la forma aldosa Fb. Este azúcar puede aislarse si se desea pero generalmente esto no es ni necesario ni deseable. En presencia de ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico u otro ácido no oxidante fuerte tal como ácido p-toluenosulfónico, y resinas de intercambio aniónico del tipo del ácido sulfónico, el mercaptan - R₀SH reacciona con el azúcar F para formar el tioglucósido G. Se ob-



-15-

2062A

316092

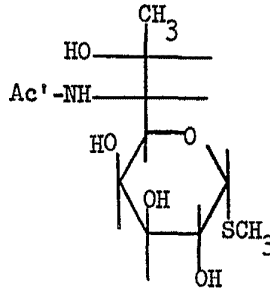
tiene una eficaz conversión introduciendo el mercaptan, R_0SH , en la solución acuosa resultante de la bromación y tratamiento del sistema resultante, el que será ordinariamente un sistema de dos fases - porque debido a la insolubilidad del mercaptan con gas cloruro de hidrógeno o ácido clorhídrico concentrado ventajosamente con enfriamiento hasta una temperatura entre unos -10 y $+20^{\circ}C$. Un procedimiento satisfactorio es enfriar la mezcla de reacción hasta $0^{\circ}C$ y hacer burbujear en ella gas cloruro de hidrógeno. Es ventajoso, especialmente con los mercaptanos de cadena larga, el solubilizar parcialmente los mismos por el agregado de tetrahidrofurano a la mezcla de reacción. Se usa ventajosamente de 15 a 20 partes de tetrahidrofurano por cada parte de agua. La temperatura de la reacción puede dejarse aumentar ventajosamente no más de aproximadamente $55^{\circ}C$, durante el agregado del gas cloruro de hidrógeno. Después de enfriar hasta aproximadamente $25^{\circ}C$, se elimina el tetrahidrofurano bajo vacío. La mezcla de reacción puede procesarse de la manera usual, lo cual incluye extracción con solvente a un pH ácido, extracción por solvente a un pH básico, extracciones fraccionadas líquido-líquido, tales como distribución en contra corriente o cromatografía de partición, cristalización y semejantes. Al mismo tiempo puede formarse algo de ditioacetal de Fórmula B (Serie A-2) que después de separación puede ciclizarse como se describe anteriormente para formar más cantidad del tioglucósido G deseado.

Los β -epímeros de más arriba pueden prepararse por la siguiente serie representativa:

316092

Serie B

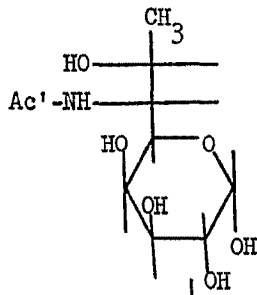
5



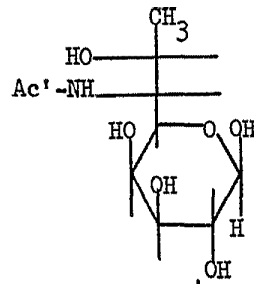
IX

metil N-acil- α -
tiolincosaminida

10



XV α

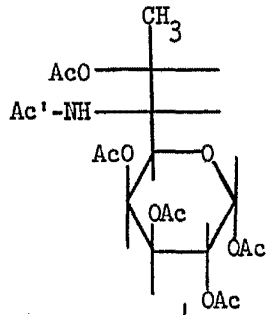


XV β

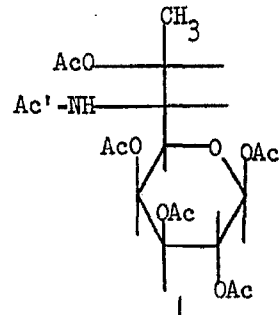
15



20



XVI α



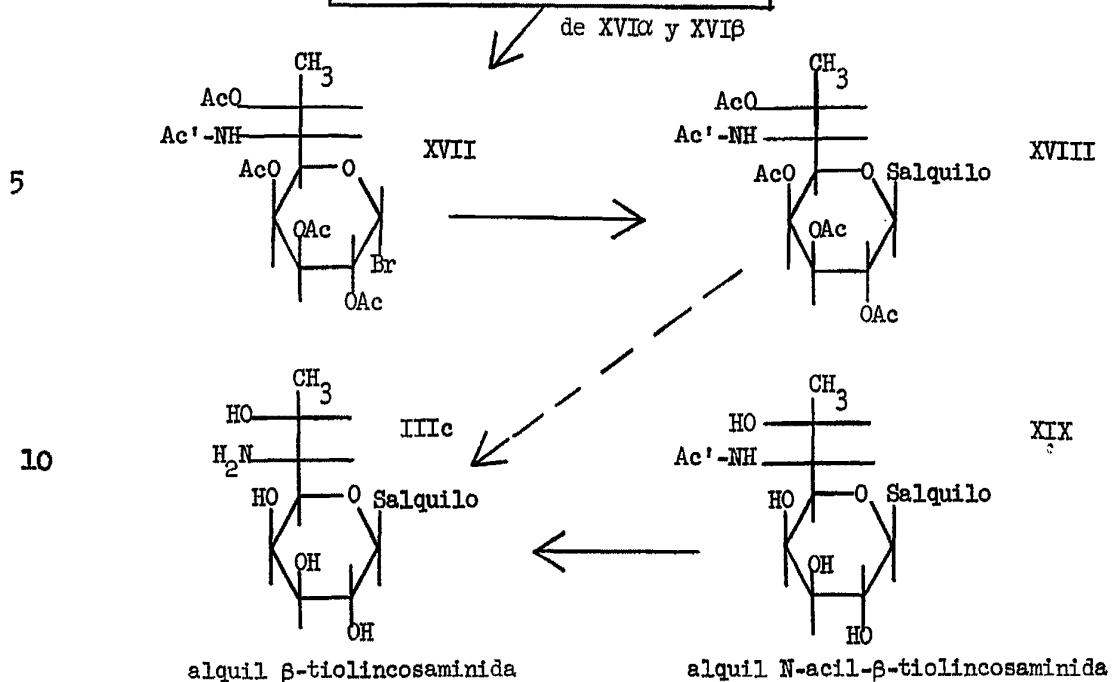
XVI β

25

A XVII

316092 -17-

2062A



15

Ac y Ac₁ pueden ser alcancilo o aralcancilo de no más de 12 átomos de carbono como se indica anteriormente.

20

El proceso se lleva a cabo de la manera siguiente: tratando metil N-acil- α -tiolincosaminida (IX) con cloruro mercúrico - en una solución acuosa caliente para obtener una mezcla de 6-acil-amino-6,8-dideoxi-D-eritro- α -D-galacto-octopiranososa o N-acil- α -lin-cosamina (XVI α) y N-acil- β -lincosamina (XVI β); acilando esta mezcla con un agente acilante seleccionado de haluros de acilo y anhídri-dos de ácido para obtener una mezcla de N-acil-1,2,3,4,7-penta-O--acil- α - y β -lincosamina (XVII α y XVII β); tratando compuesto XVII α o - compuesto XVII β o una mezcla de compuestos XVII α y XVII β con bromuro de hidrógeno en ácido acético para obtener 6-acilamino-2,3,4,7-te-

25

316092

tra-O-acil-1 α -bromo-1,6,8-trideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranososa
o N-acil-2,3,4,7-tetra-O-acil-1 α -bromo-1-deoxilincosamina (XVII); -
tratando compuesto XVII sucesivamente con tiourea, una mezcla de -
carbonato de potasio y bisulfito de sodio en agua, y un yoduro de -
alquilo para obtener alquil N-acil-2,3,4,7-tetra-O-acil- β -tiolincosaminida (XVIII);
tratando compuesto XVIII con gas amoníaco seco en metanol para obtener alquil N-acil- β -tiolincosaminida (XIX). La hidrazinólisis del compuesto XIX o del compuesto XVIII dá la alquil- β -tiolincosaminida (IIIc). De una manera semejante compuestos en los cuales Y (fórmula III) es 2-hidroxietiltio ó 2-alcoxietiltio pueden prepararse haciendo reaccionar compuesto XVII con etilenoclorhidrina o un haluro de 2-alcoxietilo.

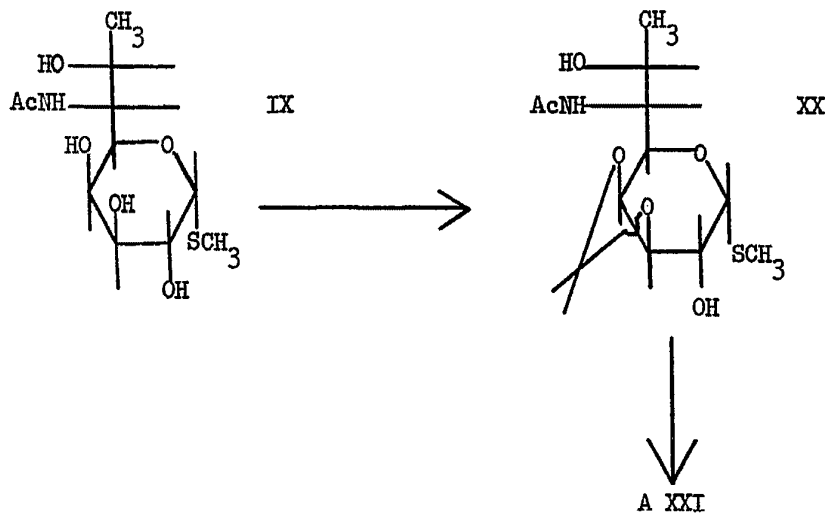
Compuestos de Fórmula III en donde Y es hidrógeno pueden obtenerse por la siguiente serie representativa:

15

Serie C

20

25





3 ACO 1965

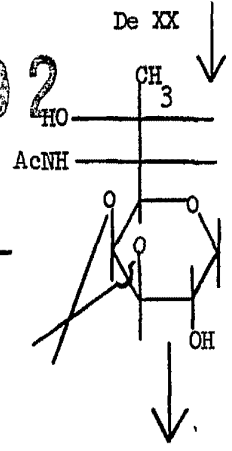
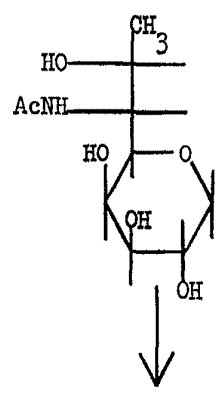
2062A

-19-

316092
XXII

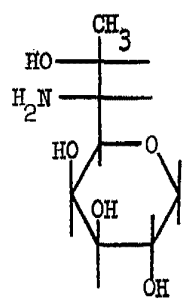
De XX

5

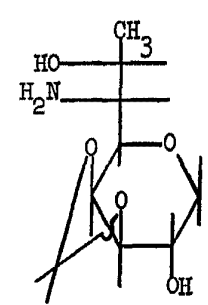


XXI

10



XXIII



XXIV

15

20

25

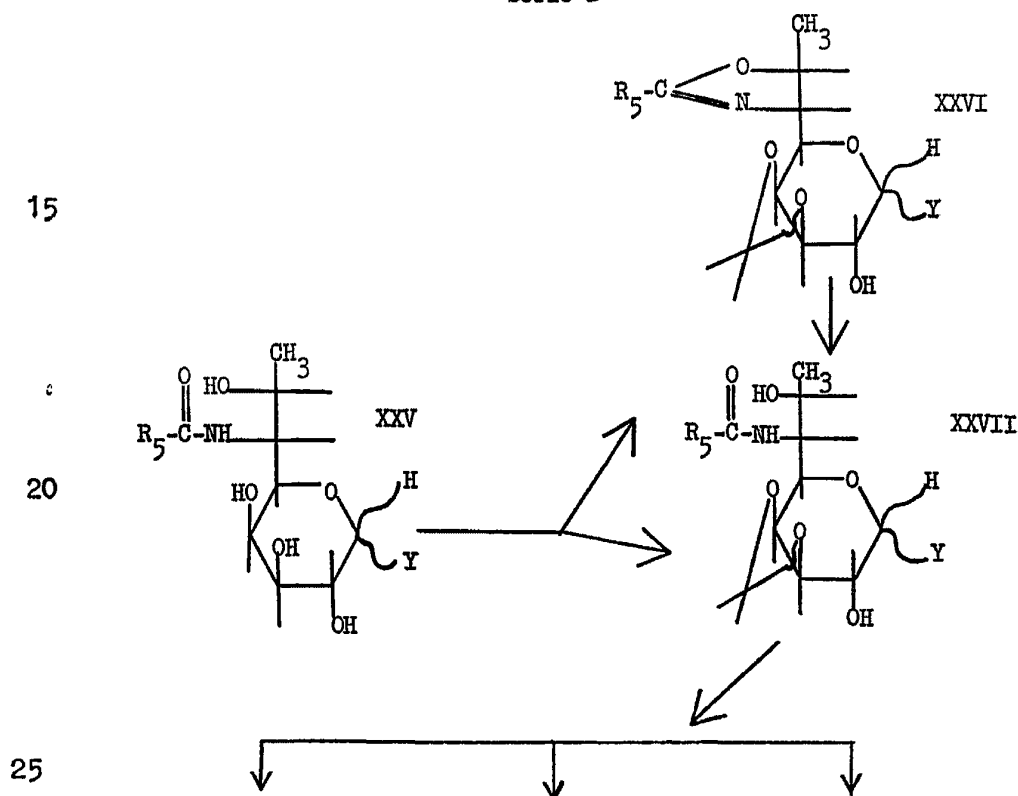
El proceso se lleva a cabo de la manera siguiente: metil N-acil- α -tiolincosaminida (IX) (o metil N-acil- β -tiolincosaminida) se trata con acetona en presencia de ácido sulfúrico para formar la metil N-acil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida (XX) que puede desulfurarse con níquel Raney en etanol a 6-acilamino-3,4-O-isopropilideno-1,6,8-trideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranososa, o N-acil-3,4-O-isopropilideno-1-deoxilincosamina (XXI). La desulfuración se consigue ventajosamente calentando bajo reflujo en etanol con níquel Raney poco comprimido durante un período de 2 a 24 horas. Luego, el catalizador se separa por filtración y el filtrado se evapora para dar un residuo que puede purificarse por medios convencionales tales como recristalización de solventes orgánicos. El grupo isopropilideno puede separarse por hidrólisis ácida suave, por ejem



5 plo con ácido acético acuoso al 80% o un ácido mineral diluído tal como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, para dar N-acil-1-deoxilincosamina (XXII) y el N-acilo por hidrazinolisis para dar 1-deoxilincosamina (XIII). Alternativamente la hidrazinolisis puede efectuarse primero para dar 3,4-O-isopropilideno-1-deoxilincosamina - (XXIV). Sin embargo, ventajosamente, el grupo isopropilideno se separa primeramente.

10 Compuestos de partida D-eritro-D-galacto-de Fórmula III en donde R₂ y/o R₃ es alquilo de no más de 12 átomos de carbono - pueden obtenerse por medio de la siguiente serie representativa:

Serie D

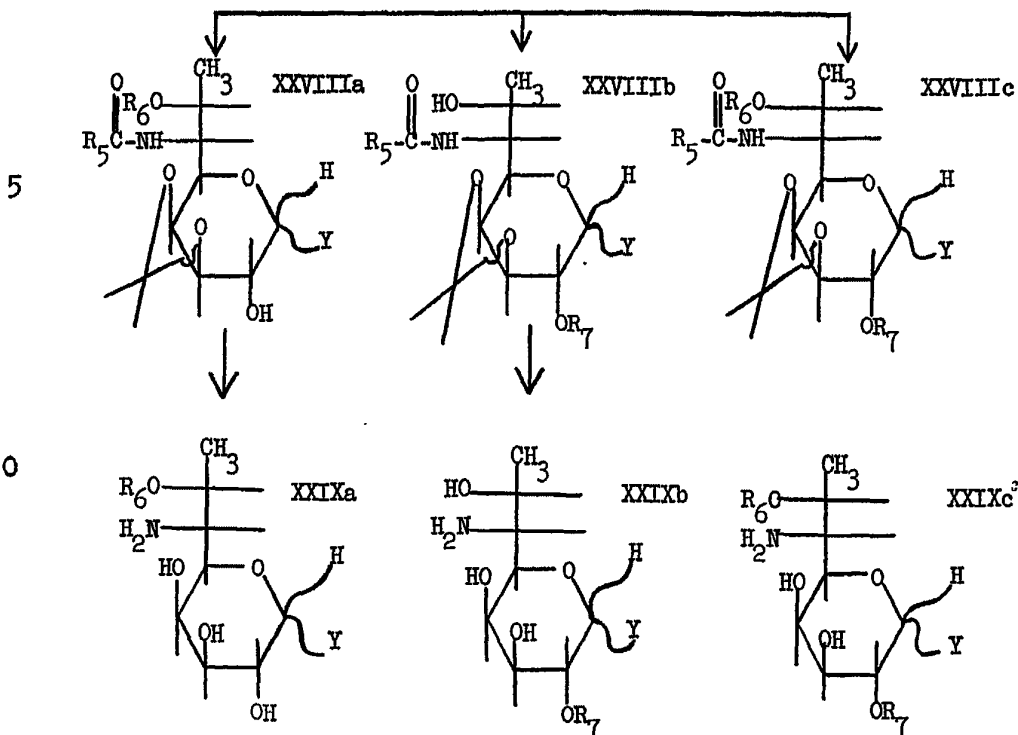


316092 -21-



2062A

De XXVII



15 $R_5-C(=O)-$ puede ser alcanilo o aralcanilo de no más de 12 átomos de carbono como se indica anteriormente. R_6 y R_7 pueden ser alquilo diferentes si los compuestos XXVIIIa y/o XXVIIIb son alquilados con un agente de alquilación diferente del usado para alquilar compuesto XXVII. R_6 y R_7 en compuesto XXVIIIc pueden ser así alquilo diferentes.

20

25 El proceso se efectúa de la manera siguiente: tratando un compuesto 6-acilamino-6,8-dideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranososa de fórmula XXV con acetona seca en presencia de un catalizador ácido, por ejemplo, ácido sulfúrico, para dar una mezcla de compuesto XXVII y su derivado oxazolina XXVI; hidrolizando compuesto XXVI en agua caliente para convertirlo en compuesto XXVII; metilando com



puesto XXVII con un haluro de alquilo, por ejemplo, cloruros de al-
 quilo, bromuros de alquilo, o yoduros de alquilo de no más de 12 -
 átomos de carbono, en presencia de una base, y separando los tres -
 productos así obtenidos (compuesto XXVIIIa, compuesto XXVIIIb, y -
 5 compuesto XXVIIIc); e hidrolizando los compuestos XXVIII bajo con-
 diciones suaves de hidrólisis, por ejemplo, con ácido acético acu-
 so al 80% o un ácido mineral diluído, tal como, ácido clorhídrico
 o ácido sulfúrico, para eliminar la mitad isopropilideno y tratan-
 do con hidracina para eliminar el grupo N-acilo para dar los com-
 10 puestos XXIX. Cuando Y es 2-hidroxietiltio en la serie anterior o
 cuando se utiliza 2-hidroxietil 6-amino-6,8-dideoxi-7-O-metil-1-tio-
 D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, también conocido como 2-hidro-
 xietil α -tiocelastosaminida, obtenido por la hidrazinólisis de ce-
 lesticetina, un antibiótico producido de acuerdo con Patente E.U.A.
 15 2,928,844, el grupo 2-hidroxi también será alquilado para dar un -
 grupo 2-alcoxietiltio en el cual el grupo alcoxi contendrá no más -
 de 12 átomos de carbono, según el haluro de alquilo usado para al-
 quilar. Cuando se desea, el grupo 2-hidroxitio puede preservarse -
 protegiéndolo con un grupo tritilo. Así los compuestos XXV o XXVII
 20 en donde Y es 2-hidroxietiltio, pueden hacerse reaccionar con cloru-
 ro de tritilo (trifenilmetilcloruro) clorodifenil-(p-metoxifenil)me-
 tano, o cloro-bis-(p-metoxifenil)fenilmetano, para convertir Y en -
 un 2-tritiloxietiltio y separar el grupo tritilo por hidrólisis mo-
 derada, por ejemplo con ácido acético acuoso al 80%, después de la
 25 alquilación. El grupo 2-hidroxi puede alquilarse con un grupo alqui



2062A

-23-
316092

lo diferente.

Al llevarse a cabo el proceso, el compuesto 6-acilamino-6, 8-dideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranososa de fórmula XXV se suspende en acetona seca. Se agrega un catalizador ácido, tal como ácido sul-
5 fúrico, ácido p-toluenosulfónico, ácido o-toluenosulfónico, ácido - p-etilbencenosulfónico, o semejantes, a la suspensión, siendo preferi- do el ácido sulfúrico. La acetona generalmente se usa en gran exce- so, tal como un volumen de 20 a 200 veces la cantidad del compuesto XXV. El catalizador ácido se usa en una cantidad entre 0.25 y 5% -
10 en peso con respecto a la acetona. La reacción puede llevarse a ca- bo entre 10° C y la temperatura de reflujo de la solución, pero ge- neralmente se lleva a cabo a temperatura ambiente. El tiempo de re- acción es entre 15 minutos y 6 horas, según la temperatura, después del cual la mezcla de reacción se neutraliza para terminar la reac-
15 ción. Las sales inorgánicas precipitadas por la neutralización se- separan por filtración, y el filtrado se evapora para dar una mezcla conteniendo sólidos cristalinos. Esta mezcla se separa con agua en una fracción soluble en agua y otra insoluble en agua; el material - soluble en agua es compuesto XXVII; la fracción insoluble es su de-
20 rivado oxazolina (XXVI).

El derivado oxazolina insoluble en agua (XXVI) puede con- vertirse en el compuesto XXVII calentando con agua. Después que se completa esta hidrólisis, el producto se obtiene por evaporación de la solución hasta que se produce la cristalización.

25 La alquilación del compuesto XXVII se lleva a cabo con un



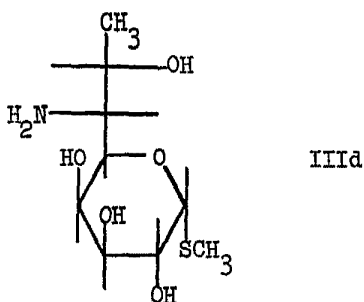
haluro de alquilo, preferentemente un cloruro, bromuro o yoduro de alquilo, en presencia de una base fuerte. Como agentes alquilantes pueden ser usados el yoduro de metilo, bromuro de metilo, yoduro de etilo, bromuro de etilo, y cloruros, bromuros y yoduros de propilo, butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo y cualquiera de los cloruros, bromuros o yoduros de alquilo de cadena ramificada hasta de 12 átomos de carbono. Como una base, pueden utilizarse alcóxidos, tales como metóxido de sodio, metóxido de potasio, isopropóxido de potasio, butóxido de potasio terciario, butóxido de sodio terciario y sodamida y semejantes. La alquilación puede realizarse a una temperatura entre 0° y 50° C, usando solventes inertes tales como benceno, tolueno, dioxano, tetrahidrofurano, y semejantes. Después que se completa la reacción (generalmente entre 1/2 hora y 3 horas) la mezcla de reacción se filtra para separar los sólidos, tales como cloruro, bromuro o yoduro de sodio o potasio, y el filtrado se evapora al vacío hasta un residuo en forma de jarabe. Los tres productos en el mismo, es decir, compuesto XXVIIIa, compuesto XXVIIIb, y compuesto XXVIIIc, se separan por métodos convencionales, por ejemplo, por cromatografía, o por distribución en contra corriente. La separación de los grupos N-acilo e isopropilideno se efectúa como se describe más arriba en la serie C. Debe entenderse que 2-0-, y 7-0-, y 2,7-di-0-alquilatos de acuerdo con las fórmulas XXIXa, XXIXb, y XXIXc pueden ser usados en las series A, B, y C para dar los 2-0, 7-0, y 2,7-di-0-alquilatos de compuestos producidos en esas



316092

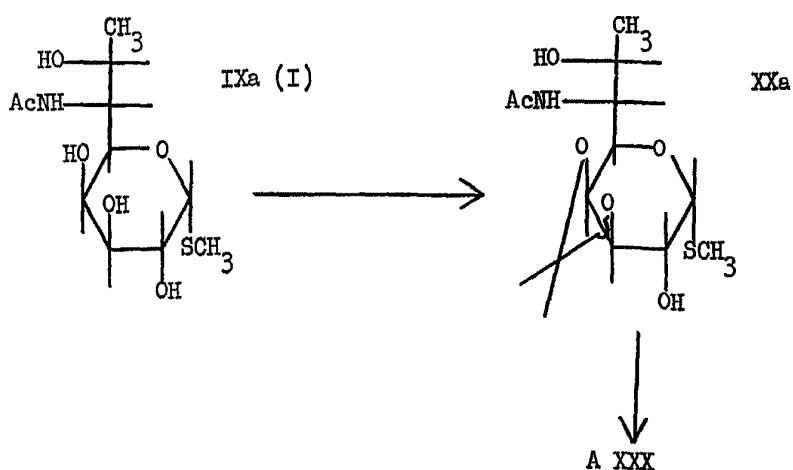
series.

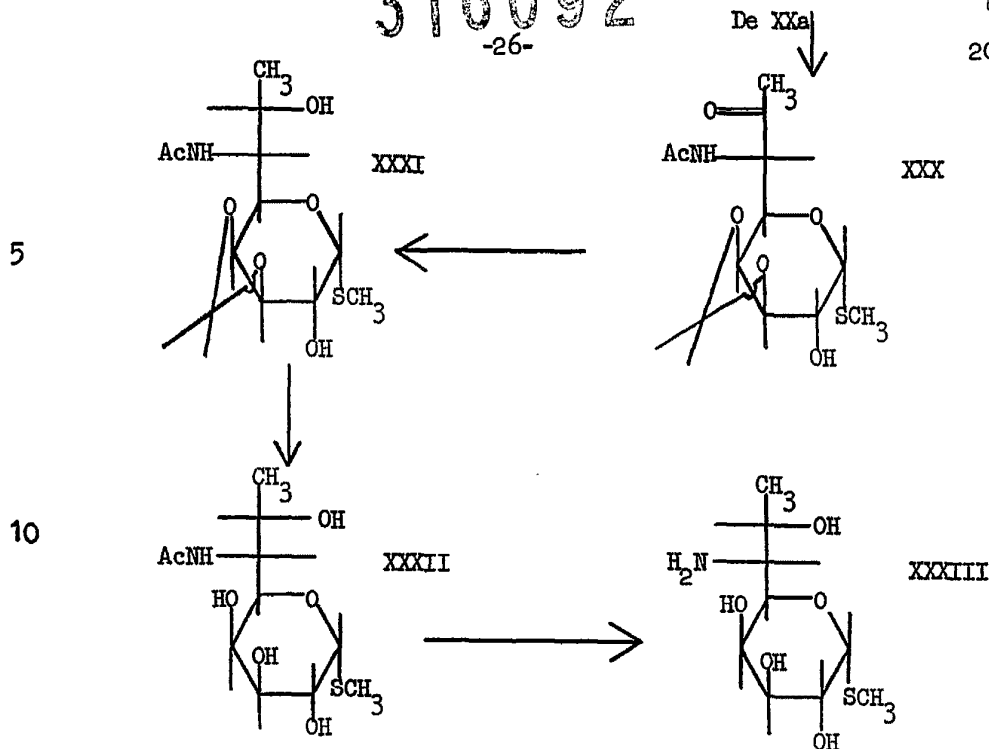
Los 7-0-epímeros de los compuestos III, por ejemplo, los compuestos 6-amino-6,8-dideoxi-L-treo-D-galacto-octopiranososa pueden obtenerse usando el compuesto de partida epi MTL (metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosido) que tiene la fórmula:



La epi-MTL puede prepararse por la siguiente serie representativa:

Serie E





Ac puede ser alcanóilo o aralcanóilo de no más de 12 átomos de carbono como se indica anteriormente o trans-4-propil-1-metil-L-prolilo - en cuyo caso IX es lincomicina (I) y XXXII es epilincomicina [6-(trans-4-propil-1-metil-L-prolilamino-6,8-dideoxi-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosido)].

Alternativamente la serie anterior puede aplicarse a cualquiera de los compuestos 6-amino-6,8-dideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranosos de Fórmula III (o sus N-acilatos) señalados anteriormente.

Para llevar a cabo el proceso, el compuesto de partida es un derivado N-acilo de un compuesto de 6-amino-6,8-dideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranosos de Fórmula III que es ventajosamente lincomicina. Así en un procedimiento ilustrativo lincomicina (I) se hace reaccionar con una acetona para formar el 3,4-O-isopropilideno deri-



vado XXa por el procedimiento descrito más arriba en las series C y D. Como el compuesto de partida es lincomicina, la formación de oxazolina XXVI se reduce al mínimo. La 3,4-O-isopropilideno-lincomicina, XXa, es entonces oxidada con ácido crómico para formar el 7-dehidro derivado, XXX, que a su vez se reduce con borohidruro a una mezcla de 3,4-O-isopropilideno-lincomicina y 3,4-O-isopropilideno-epilincomicina (XXXI). Los dos epímeros pueden separarse por extracción fraccionada líquido-líquido, por ejemplo, distribución en contracorriente o cromatografía de partición, o por absorción o cromatografía gradual, o la mezcla puede convertirse en una mezcla de lincomicina (I) y epilincomicina (XXXII) y los dos epímeros se separan entonces por procedimientos semejantes. Puede efectuarse la separación del grupo 3,4-O-isopropilideno por hidrólisis suave como se describe más arriba en serie C, para dar epilincomicina (XXXII) que a su vez puede ser desacilada con hidracina como se describe más arriba para formar la metil epi- α -tiolincosaminida deseada (metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosido) o puede efectuarse primero la hidrozínolisis y la separación del grupo isopropilideno al final como se describe en serie C.

La separación del grupo protector Z en compuestos de fórmula IV se efectúa por hidrogenólisis usando un catalizador de paladio. El paladio se deposita generalmente en un vehículo, por ejemplo carbón. Cualquiera de los métodos convencionales de hidrogenólisis puede ser utilizado.

El nitrógeno de la prolina en compuestos de fórmula V en-



donde R_1 es hidrógeno puede ser alquilado con un haluro de alquilo, por ejemplo, un yoduro de alquilo. Se utilizan condiciones más suaves que aquellas indicadas anteriormente para la alquilación de las posiciones 2-0 y 7-0. Así la N-alquilación puede efectuarse sin una base fuerte y a la temperatura ambiente o cuando más con calentamiento suave, es decir, a no más de 50° C o aproximado. La alquilación se efectúa ventajosamente haciendo reaccionar el compuesto con una oxo (un aldehído o una cetona) e hidrogenando el aducto resultante. La hidrogenación puede efectuarse con paladio o platino como catalizador o cualquier catalizador para hidrogenación eficaz para saturar un doble enlace olefínico. Compuestos oxo adecuados tienen la fórmula: R_8R_9CO en donde $R_8R_9C=$ es alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, o aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono. Son ejemplos, formaldehído, acetaldehído, propionaldehído, butiraldehído, acetona, isobutil metil cetona, benzaldehído, fenilacetaldehído, hidrocinamaldehído, acetofenona, propiofenona, butirofenona, 3-metil-4-fenil-2-butanona, 2-metil-5-fenil-3-pentanona, 3-ciclopentanopropionaldehído, ciclohexanoacetaldehído, cicloheptanocarboxaldehído, 2,2-dimetilciclopropilacetaldehído, 2,2-dimetilciclopropil metil cetona, -ciclopentil metil cetona, ciclobutil metil cetona, ciclobutanona, ciclohexanona, 4-metilciclohexanona y semejantes.

Los epímeros cis y trans pueden separarse por cromatografía de partición o gradual. La separación puede efectuarse más ventajosamente en la etapa representada por Fórmulas IV ó V. Los epímeros res



316092

pectivos también pueden formarse partiendo de las formas trans o cis de las L-prolinas-4-sustituídas (Fórmulas IIa y IIb).

5 Varias sales por adición de ácido de la forma base libre de los compuestos de fórmula V en donde R₁ es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, o aralquilo como se indica anteriormente, pueden prepararse neutralizando la base libre con el ácido apropiado hasta por debajo de aproximadamente pH 7.0, y ventajosamente hasta aproximadamente pH 2 a pH 6. Acidos adecuados para este propósito incluyen ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, tiociánico, fluosilícico, 10 hexafluoroarsénico, hexafluorofosfórico, acético, succínico, cítrico, láctico, maléico, fumárico, pamóico, cólico, palmítico, mícico, canfórico, glutárico, glicólico, ftálico, tartárico, láurico, esteárico, salicílico, 3-fenilsalicílico, 5-fenilsalicílico, 3-metilglutárico, ortosulfobenzóico, ciclohexanosulfámico, ciclopentanopropiónico, 15 1,2-ciclohexanodicarboxílico, 4-ciclohexenocarboxílico, octadecenilsuccínico, octenilsuccínico, metanosulfónico, bencenosulfónico, heliántico, de Reinecke, dimetilditiocarbámico, ciclohexilsulfámico, hexadecilsulfámico, octadecilsulfámico, sórbico, monocloroacético, undecilénico, 4'-hidroxiazobenceno-4-sulfónico, octildecilsulfúrico, 20 pícrico, benzóico, cinnámico, y semejantes.

Las sales por adición de ácido pueden usarse para los mismos propósitos que la base libre o puede emplearse para mejorar la misma. Por ejemplo, la base libre puede convertirse en una sal insoluble, tal como el picrato, que puede someterse a procedimientos 25 de purificación, por ejemplo, extracciones y lavado con solvente, -



5 cromatografía, extracciones fraccionadas líquido-líquido, y cristalización y luego usarse para regenerar la forma de base libre por tratamiento con álcali o para preparar una sal diferente por metátesis. O la base libre puede convertirse en una sal soluble en agua, tal como el clorhidrato o sulfato, y la solución acuosa de la sal -
 5 extraerse con varios solventes no miscibles en agua antes de regenerar la forma de base libre por tratamiento de la solución ácida así extraída o convertirse en otra sal por metátesis.

10 Los compuestos de fórmula V en donde R_1 es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, o aralquilo como se indica anteriormente, pueden usarse como un amortiguador o como un antiácido. Los compuestos de fórmulas IV y V reaccionan con isocianatos para formar uretanos y pueden usarse para modificar las resinas de poliuretano. Los compuestos de cadena larga, es decir, en donde R_1 es alquilo de 8 ó más
 15 átomos de carbono, tienen propiedades tensioactivas de superficie y pueden usarse como agentes humectantes y emulsificantes. La sal por adición de ácido tiociánico cuando se condensa con formaldehído forma materiales resinosos útiles como inhibidores de la corrosión de acuerdo con las Patentes E.U.A. 2,425,320 y 2,606,155. Las bases li-
 20 bres también constituyen buenos vehículos para ácidos tóxicos. Por ejemplo, las sales por adición de ácido fluosilícico son útiles como agentes contra la polilla de acuerdo con las Patentes E.U.A. - - 1,915,334 y 2,075,359 y las sales por adición de ácido hexafluoro--
 25 arsénico y de ácido hexafluorofosfórico, son útiles como parasitici-
 das de acuerdo con las Patentes E.U.A. 3,122,536 y 3,122,552.

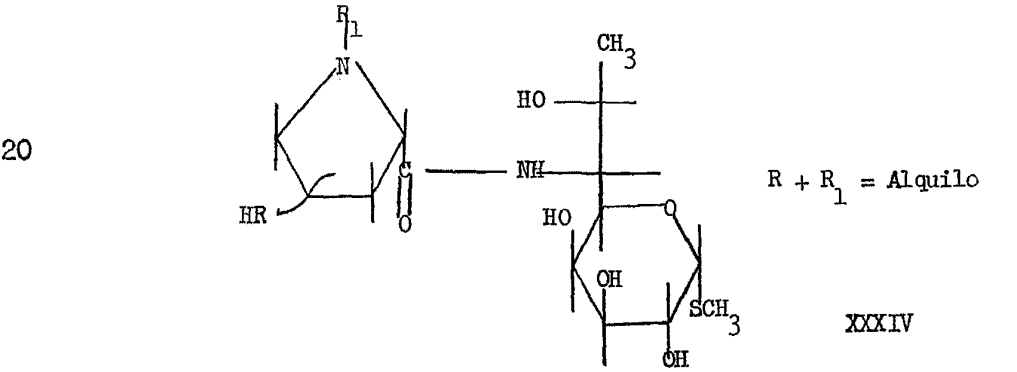


316092

Los análogos cercanos a lincomicina, es decir, en donde RH- es trans-alquilo de no más de 6 átomos de carbono; R₁ es metilo o etilo; e Y es α -alquiltio de no más de 6 átomos de carbono, -
 5 pueden usarse para los mismos propósitos que la lincomicina. Los otros análogos e isómeros tienen propiedades antibacterianas similares, pero en un grado menor, y pueden usarse para los mismos propósitos que la lincomicina cuando no se objetan cantidades mayores.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos del proceso y -
 10 productos de la presente invención, pero no deben ser interpretados como los únicos. Las partes y porcentajes se expresan en peso y las relaciones entre solventes se expresan en volumen, mientras no se especifique de otra manera.

Ejemplo 1 Metil 6-(cis- y trans-4-alquil-1-alquil-L-prolil-amino)-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido (Metil N(cis- y trans-4-alquil-1-alquil-L-prolil- α -tiolincoseminidas)





-32-

316092

2062A

A-1. 4-butilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal dicitclohexilamina de la misma

5 Se calentó hidruro de sodio (19 g) como una suspensión -
al 53% en aceite mineral con 350 ml. de dimetilsulfóxido a una tem-
peratura de 70-75° C hasta que se completó la reacción (unos 30 mi-
nutos). Después de enfriar a 32° C, se agregaron 16.2 g de bromu-
ro de butiltrifenilfosfonio y la mezcla de reacción resultante se-
revolvió durante una hora para asegurar reacción completa. Se agre-
gó una solución de 26 g de 4-ceto-1-carbobenzoxi-L-prolina en 100 ml
10 de dimetilsulfóxido, y la mezcla resultante se calentó a 70° C duran-
te 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 25° C y se agregó -
1 litro de bicarbonato de potasio acuoso al 2.5%. Esta mezcla se-
lavó dos veces con porciones de 700 ml de éter y el éter se descar-
tó después de extraer nuevamente con 150 ml de bicarbonato de pota-
sio acuoso al 2.5%. Las soluciones de bicarbonato se mezclaron y
15 acidificaron con ácido clorhídrico 4N. La mezcla acidificada se -
extrajo con cuatro porciones de 500 ml de éter. Los extractos eté-
reos combinados se lavaron sucesivamente con 250 ml de agua, tres-
porciones de 250 ml de bisulfito de sodio acuoso saturado, y 250 ml
20 de agua, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. La evapora-
ción del solvente bajo vacío dió 24 g de un residuo oleoso que era
4-butilideno-1-carbobenzóxi-L-prolina.

25 Este residuo se disolvió en 31 ml de acetonitrilo y se -
trató con 18 ml de dicitclohexilamina y se refrigeró. Los cristala-
les se recogieron, se lavaron con acetonitrilo y se secaron al va-



316092

cío dando 21 g (46.8%) de la sal dicitclohexilamina cristalina que funde a 136-140° C. Después de dos recrystalizaciones de acetonitrilo, se obtuvo una muestra analítica que fundió a 142-144° C y tenía una rotación de $[\alpha]_D - 4^{\circ}$ (c = 0.99, CHCl₃).

5 Análisis calculado para C₂₉H₄₄N₂O₄: C, 71.86; H, 9.15; N, 5.78.

Hallado: C, 71.69; H, 9.30; N, 5.74.

10 Diez gramos de la sal dicitclohexilamina de 4-butilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina se agitaron con éter y exceso de hidróxido de potasio acuoso al 5% hasta que no quedó residuo sólido. Las capas se separaron y cada una se lavó nuevamente. La capa alcalina acuosa se mezcló con los nuevos lavados de la capa etérea y se acidificó con ácido clorhídrico 4N. La mezcla se extrajo repetidas veces con éter y los extractos etéreos se mezclaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se evaporaron al vacío para dar 6.3 g (93%)
15 de 4-butilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite.

A-2. 4-Pentilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal dicitclohexilamina de la misma.

20 Siguiendo el procedimiento de Parte A-1 sustituyendo el bromuro de butiltrifenilfosfonio por bromuro de pentiltrifenilfosfonio, se obtuvieron 4-pentilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal dicitclohexilamina de la misma. El ácido libre era un aceite pero la sal dicitclohexilamina después de recrystalización de acetonitrilo tenía un punto de fusión de 124-128° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D - 6^{\circ}$ (c, 0.762, CHCl₃), y el análisis siguiente:



316092

Análisis calculado para $C_{30}H_{46}N_2O_4$: C, 72.25; H, 9.30; N, 5.62.

Hallado: C, 72.38; H, 9.52; N, 5.97.

A-3. 4-Hexilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal diciclohexilamina de la misma.

5 Siguiendo el procedimiento de Parte A-1, sustituyendo el bromuro de butiltrifenilfosfonio por bromuro de hexiltrifenilfosfonio, se obtuvieron 4-hexilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal diciclohexilamina de la misma. El ácido libre era un aceite, pero la sal diciclohexilamina después de recristalización de acetonitrilo tenía un punto de fusión de 109-111° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D -7^\circ$ (c, 0.941, $CHCl_3$) y el análisis siguiente:

10 Análisis calculado para $C_{31}H_{48}N_2O_4$: C, 72.62; H, 9.44; N, 5.46.

Hallado: C, 72.70; H, 9.43; N, 5.71.

15 A-4. 4-Octilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal diciclohexilamina de la misma.

20 Siguiendo el procedimiento de Parte A-1 sustituyendo el bromuro de butiltrifenilfosfonio por bromuro de octiltrifenilfosfonio, se obtuvieron 4-octilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y la sal diciclohexilamina de la misma. El ácido libre era un aceite pero la sal diciclohexilamina después de recristalización de acetonitrilo tenía un punto de fusión de 113-118° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D -11^\circ$ (c, 1.020, $CHCl_3$), y el análisis siguiente:

Análisis calculado para: $C_{33}H_{52}N_2O_4$: C, 73.29; H, 9.69; N, 5.18.

Hallado: C, 73.32; H, 10.06; N, 5.28.



-35- 316092

2062A

B-1. 4-Butil-1-carbobenzoxi-L-prolina

5 El aceite de Parte A-1 se hidrogenó en 200 ml de metanol sobre 2.1 g de platino al 10% en catalizador Dowex-1 bajo 40 lbs. de presión de hidrógeno. El catalizador se separó por filtración y el filtrado se evaporó para dar 6.3 g de 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite. El producto contenía aproximadamente dos partes de cis-4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por cada parte de trans-4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina.

B-2. 4-Pentil-1-carbobenzoxi-L-prolina.

10 La hidrogenación de ácido libre oleoso de Parte A-2 por el procedimiento de Parte B-1 dió 4-pentil-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite.

B-3. 4-Hexil-1-carbobenzoxi-L-prolina.

15 La hidrogenación del ácido libre oleoso de Parte A-3 por el procedimiento de Parte B-1 dió 4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite.

B-4. 4-Octil-1-carbobenzoxi-L-prolina

20 La hidrogenación del ácido libre oleoso de Parte A-4 por el procedimiento de Parte B-1 dió 4-octil-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite.

C. Metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido (Metil α -tiolincosaminida)

25 Una solución de 40 g de lincomicina (Patente E.U.A. 3,086, 912) en 20 ml de hidrato de hidracina (98-100%) se reflujo durante 21 horas; se separó entonces el exceso del hidrato de hidracina al



vacío bajo nitrógeno a la temperatura de un baño de vapor, dejando un residuo. El residuo, una masa pastosa de cristales, se enfrió, se agregó acetonitrilo y la mezcla se revolvió hasta que se suspendieron los cristales. Los cristales se recolectaron en un filtro, se lavaron con acetonitrilo y con éter. El rendimiento de metil- α -tiolincosaminida cristalina blanca después de secar al vacío a temperatura ambiente fue de 21 g (84%). La recristalización se llevó a cabo disolviendo metil α -tiolincosaminida en dimetilformamida caliente y agregando un volumen igual de etilen glicol dimetil éter.

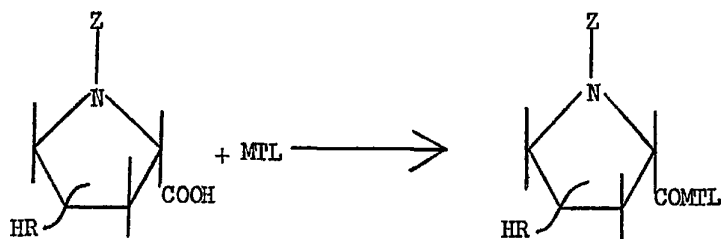
La metil α -tiolincosaminida tiene un punto de fusión de 225-228° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 276^\circ$ (c = .768, agua) y un pKa' de 7.45.

Análisis calculado para $C_9H_{19}NO_5S$: C, 42.7; H, 7.56; N, 5.53; S, 12.66.

Hallado: C, 42.6; H, 7.49; N, 5.75; S, 12.38.

D. Metil N-(4-alkil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida

20





316092

D-1. Metil N-(4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida

5 A una solución de 6.3 g de 4-butil-1-carbobenzoxi-L-proli
na (el aceite de Parte A) en 175 ml de acetonitrilo destilado, en---
friado a 0° se agregaron 3.46 ml de trietilamina seguidos por 3.34 ml
de cloroformato de isobutilo. La mezcla se revolvió a 0° C ($\pm 3^\circ$) du
rante 15 minutos. Se agregó una solución de 6.2 g de metil α -tiolin-
cosaminida (MLL) de Parte B en 85 ml de agua, y la mezcla de reacción
se revolvió a 0° C durante 0.5 horas y a 25° durante 1 hora. El pró
10 ducto de reacción entonces se filtró y se secó dando 4.57 g (37.7%)
de metil N-(4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida. El
licor madre se concentró bajo vacío y se recuperaron 4.25 g adiciona
les (35.2%) del producto. La recristalización de acetonitrilo produ
jo cristales de metil N-(4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolinc
15 saminida que funde a 194-196° C. Una segunda recristalización de -
acetonitrilo dió una muestra analítica, punto de fusión 197.5-200° C,
[α]_D + 111° (c = 0.98, MeOH).

Análisis calculado para C₂₆H₄₀N₂O₈S 57.75; H, 7.46; N, 5.13; S, 5.93.

Hallado: C 57.58; H, 7.16; N, 5.50; S, 6.07.

20 D-2 Metil N-(4-pentil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosami-
nida

25 Siguiendo el procedimiento de Parte D-1, sustituyendo la -
4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por 4-pentil-1-carbobenzoxi-L-proli
na (el aceite de Parte B-2), se obtiene metil N-(4-pentil-1-carboben
zoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de -



316092

191-193° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D + 108^\circ$ (c = 0.722, MeOH) y el análisis siguiente:

Análisis calculado para $C_{27}H_{42}N_2O_8S$: C, 58.46; H, 7.63; N, 5.05.

Hallado: C, 58.32; H, 7.52; N, 4.95.

5

D-3. Metil N-(4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida

Siguiendo el procedimiento de Parte D-1, sustituyendo la 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por 4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolina (el aceite de Parte B-3), se obtiene metil N-(4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 176-180° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D + 103^\circ$ (c = 0.951, metanol), y el análisis siguiente:

10

Análisis calculado para $C_{28}H_{44}N_2O_8S$: C, 59.13; H, 7.80; N, 4.93;

S, 5.64.

15

Hallado: C, 59.16; H, 7.46; N, 5.09;

S, 5.96.

D-4. Metil N-(4-octil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida

Siguiendo el procedimiento de Parte D-1, sustituyendo la 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por 4-octil-1-carbobenzoxi-L-prolina (el aceite de Parte B-4), se obtiene metil N-(4-octil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida, que tiene un punto de fusión de 181-202° C, una rotación óptica de $[\alpha] + 99^\circ$ (c = 1.083, metanol), y el análisis siguiente:

20

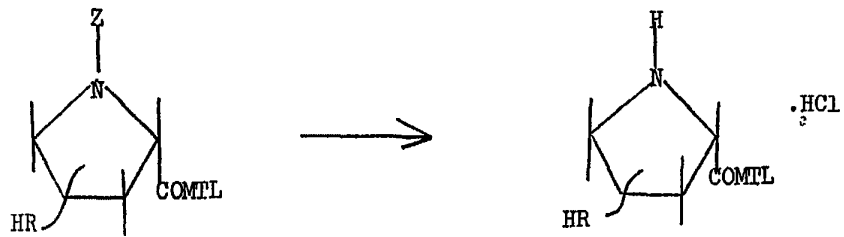


Análisis calculado para $C_{30}H_{48}N_2O_8S$: C, 60.38; H, 8.11; N, 4.70; S, 5.37.

Hallado: C, 60.35; H, 8.08; N, 4.73.

E. Clorhidrato de metil N-(4-alquil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

5



10

E-1. Clorhidrato de metil N-(4-butil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

Una solución de 7.8 g de metil N-(4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida de Parte D en 200 ml de metanol se agitó sobre 2 g de paladio al 10% en carbón bajo 40 libras de presión de hidrógeno durante 17 horas. El catalizador se separó por filtración y la solución se concentró bajo vacío. El residuo se disolvió en una mezcla de 20 ml de acetona y 20 ml de agua y se acidificó con ácido clorhídrico 6N. Por dilución con 4 volúmenes de acetona precipitó clorhidrato de metil N-(4-butil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que se recolectó por filtración y se secó. Los cristales, secados a 55° C bajo vacío, pesaban 4.7 g y fundían a 188-194° C. La muestra analítica obtenida por recristalización de acetona fundió a 197-199° C y dió $[\alpha]_D + 150^\circ$ (agua c = 0.89).

15

20

25



Análisis calculado para $C_{18}H_{34}N_2O_6 \cdot S \cdot HCl$: C, 48.80; H, 7.96; N, 6.32; S, 7.24

Hallado (corregido para 5.54% de agua): C, 48.58; H, 8.19; N, 6.04; S, 7.36.

5 Este material posee el 8% de la actividad antibacteriana - de lincomicina por el ensayo con S. lutea.

E-2. Clorhidrato de metil N-(4-pentil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

10 La hidrogenolisis de metil N-(4-pentil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida por el procedimiento de Parte E-1 dió clorhidrato de metil N-(4-pentil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 212-214° C, una rotación óptica de $[\alpha]_D + 141^\circ$ (c = 0.968, H₂O), y el análisis siguiente:

Análisis calculado para: $C_{19}H_{37}N_2O_6 \cdot SCl$:

15 C, 49.93; H, 8.16; N, 6.13; S, 7.02.

Hallado: C, 50.22; H, 7.96; N, 6.09; S, 7.18 (Corregido para 5.43% H₂O).

E-3. Clorhidrato de metil N-(4-hexil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

20 La hidrogenolisis de metil N-(4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida por el procedimiento de Parte E-1, dió clorhidrato de metil N-(4-hexil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 197-209° C (descomposición) y una rotación óptica de $[\alpha]_D + 134$ (c = 0.875, H₂O).



Análisis calculado para: $C_{20}H_{39}N_2O_6S \cdot HCl$: C, 50.99; H, 8.35; N, 5.95.

Hallado: C, 50.32; H, 8.07; N, 6.81

(corregido para 5.62% agua).

5 E-4. Clorhidrato de metil N-(4-octil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

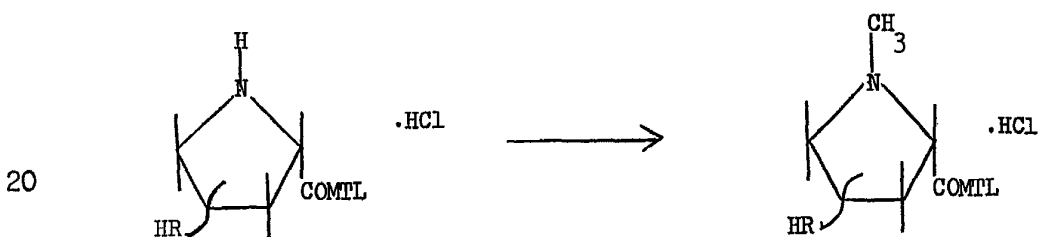
La hidrogenolisis de Metil N-(4-octil-L-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida por el procedimiento de Parte E-1 dió clorhidrato de metil N-(4-octil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 181-200^o C (descomposición), una rotación óptica de $[\alpha]_D + 128$ (c = 0.850, H₂O), y el análisis siguiente:

10 Análisis calculado para $C_{22}H_{42}N_2O_6S \cdot HCl$: C, 52.94; H, 8.68; N, 5.61; S, 6.43.

Hallado: C, 52.62; H, 8.36; N, 5.61;

S, 6.36.

15 F. Clorhidrato de metil N-(4-alkil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida



F-1. Clorhidrato de metil N-(4-butil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

25 Una solución de 2.0 g de clorhidrato de metil N-(4-butil-L-



316092

prolil)- α -tiolincosaminida de Parte E y 2.0 ml de formalina al 37% en 150 ml de metanol se agitó sobre 500 mg de paladio al 10% en carbón bajo 40 libras de presión de hidrógeno durante 3.5 horas. Separando el catalizador por filtración y el solvente por destilación -
5 al vacío se obtuvo clorhidrato de metil N-(4-butil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida parcialmente cristalino que se encontró, por cromatografía en capa delgada sobre sílica gel usando una mezcla de acetato de etilo, acetona, agua (8:4:1) para elución y solución de $KMnO_4$ - para detección, consistía principalmente de dos materiales, los epímeros cis y trans de clorhidrato de metil N-(4-butil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida en una proporción de aproximadamente 3 a 2.

Separación de la forma cis y trans por cromatografía

El clorhidrato de metil N-(4-butil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida de Parte F-1 se disolvió en una mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) y se agregó 1.5 ml de trietilamina. A esta solución se agregaron 7 g de sílica gel y el solvente se evaporó bajo vacío dejando el antibiótico depositado sobre el sílica gel que fue tamizado sobre la parte superior de una columna cromatográfica de -
15 200 gramos de sílica gel preparada con una mezcla solvente constituida por acetato de etilo, acetona, agua en una proporción de 8:4:1. - La columna se desarrolló con el mismo solvente y se recolectaron porciones de 20 ml. La cromatografía en capa delgada de cada fracción, como se describe anteriormente mostró que las fracciones 31-38, - - 310 gm, eran el epímero trans esencialmente puro y que las fracciones
20 49-74, 32 mg, eran el epímero cis esencialmente puro. Las fracciones
25



-43-

316092

2062A

39-48 consistían de una mezcla de epímeros que pudieron separarse -
posteriormente por cromatografía repetida. Cada epímero se disol-
vió en unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluído y el clorhidra-
to precipitó por agregado de acetona. De esta manera, se obtuvie-
5 ron 50 mg de Clorhidrato de metil N-(trans-4-butyl-1-metil-L-prolil)-
 α -tiolincosaminida, punto de fusión 135-137 $^{\circ}$, y aproximadamente 150 mg
de clorhidrato de metil N-(Cis-4-butyl-1-metil-L-prolil)- α -tiolin-
cosaminida que se ablanda a 105 $^{\circ}$ C fundiendo posteriormente a 175-
185 $^{\circ}$ C.

10 El epímero trans recristalizado del mismo solvente fundió
a 139-141 $^{\circ}$ C y tenía el análisis siguiente:

Calculado para $C_{19}H_{36}N_2O_6S.HCl$: C, 49.93; H, 8.16; N, 6.13; S, 7.02

Hallado: (Corregido para 4.07% H_2O):

C, 48.81; H, 8.54; N, 6.49; S, 6.67.

15 De la misma manera la recristalización del epímero cis dió
un producto que se ablanda a 108 $^{\circ}$ C y funde posteriormente a aproxi-
madamente 189 $^{\circ}$ C (solvatado) que tenía el análisis siguiente:

Hallado (corregido para 4.95% de agua):

C, 50.27; H, 9.00; N, 6.05; S, 6.65.

20 El epímero trans fue aproximadamente 2.2 veces más activo
que la lincomicina por el ensayo de S. lutea, aproximadamente 2 ve-
ces más activo por el ensayo de dilución en caldo y 2.5 veces más -
activo en ratones infectados con S. aureus.

25 El epímero cis fue aproximadamente 1/2 a 1/3 más activo -
que el epímero trans, siendo aproximadamente igual a la lincomicina.



316092

F-2. Clorhidrato de metil N-(pentil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida.

5 La metilación reductora de clorhidrato de metil N-(4-pentil-L-prolil)- α -tiolincosaminida por el procedimiento de Parte F-1 dió clorhidrato de metil N-(4-pentil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida como una mezcla de los isómeros cis y trans, que por cromatografía de partición por el procedimiento de Parte F-1 dió clorhidrato de metil N-(trans-4-pentil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 188-191^o C, y clorhidrato de metil N-(cis-4-pentil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 189-193^o C (que se aglomera a 135^o C). El isómero trans dió una valoración de aproximadamente 2 a 4 veces la actividad antibacteriana de la lincomicina, el isómero cis de aproximadamente 1 a 2 veces.

15 F-3. Clorhidrato de metil N-(4-hexil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida.

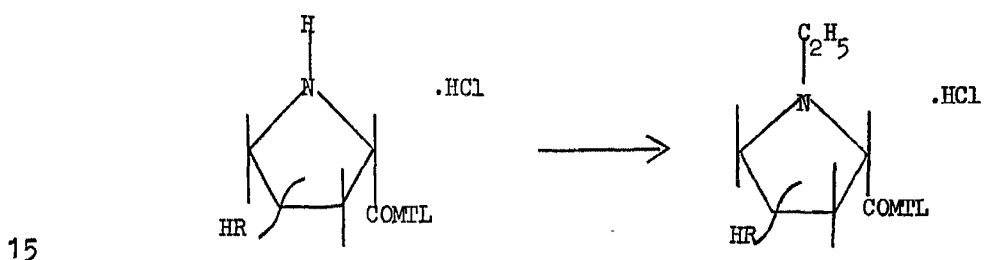
La metilación reductora de clorhidrato de metil N-(4-hexil-L-prolil)- α -tiolincosaminida y separación cromatográfica de los isómeros por el procedimiento de Parte F-1 dió clorhidrato de metil N-(trans-4-hexil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 93-104^o C (descomposición) y clorhidrato de metil N-(cis-4-hexil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 92-102^o C (descomposición). El isómero trans tenía una valoración de aproximadamente 2 a 4 veces la actividad antibacteriana de la lincomicina, y el isómero cis de aproximadamente 1 a 2 veces.



F-4. Clorhidrato de metil N-(4-octil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

La metilación reductora de clorhidrato de metil N-(4-octil-L-prolil)- α -tiolincosaminida y separación cromatográfica de los isómeros por el procedimiento de Parte F-1 dio clorhidrato de metil N-(trans-4-octil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 97-100° C (descomposición) y clorhidrato de metil N-(cis-4-octil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminida.

G. Clorhidrato de metil N-(4-alquil-1-etil-L-prolil)- α -tiolincosaminida.



G-1. Clorhidrato de metil N-(4-butil-1-etil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

Una mezcla de 2.0 g de clorhidrato de metil N-(4-butil-L-prolil)- α -tiolincosaminida, 1.5 ml de acetaldehído, y 150 mg de paladio al 10% en carbón en 150 ml de metanol se agitó bajo 35 lbs. de presión de hidrógeno durante 5.5 horas. Se separó el catalizador por filtración para dar un residuo constituido principalmente por los epímeros cis y trans de clorhidrato de metil N-(4-butil-1-etil-L-prolil)- α -tiolincosaminida.



Separación de epímeros

Como se describe en Parte F-1, la mezcla de epímeros de -
 Parte G-1, (2 g) se cromatografió sobre 200 g de silica gel usando
 para elución un sistema solvente de acetato de etilo, acetona, agua
 5 (8:4:1). Las fracciones 33-42 que por cromatografía en capa delgada
 se encontró era el epímero trans puro, se mezclaron, y las fraccio-
 nes 49-64 que eran el epímero cis esencialmente puro, también se -
 mezclaron. Las fracciones 43-48 fueron una mezcla de los epímeros
 que pueden ser purificados por recromatografía. Cada epímero se di-
 10 solvió en unas pocas gotas del ácido clorhídrico diluído y el clor-
 hidrato cristalino precipitó por dilución con un gran volumen de -
 éter.

La fracción epímero trans impura de 415 mg dió 340 mg - -
 (15.4%) de clorhidrato de metil N-(trans-4-butil-1-etil-L-prolil)- α -
 15 tiolincosaminida cristalino, punto de fusión 144-151^o C. La recrís-
 talización de acetona diluída elevó el punto de fusión a 148-151^o C.

La fracción epímero cis de 645 mg dió 300 mg (14.1%) de -
 clorhidrato de metil N-(cis-4-butil-1-etil-L-prolil)- α -tiolincosami-
 nida cristalino, punto de fusión 135-139^o C. Cuando se recrístali-
 20 zó de acetona diluída, el punto de fusión fue 134-138^o C.

El epímero trans mostró aproximadamente 1-1.2 veces la ac-
 tividad de la lincomicina por el ensayo de S. lutea, 2-4 veces la -
 actividad de la lincomicina contra organismos Grampositivos y 8 ve-
 ces o más la actividad de lincomicina contra organismos Gramnegati-
 25 vos. En ratones contra S. aureus, el epímero trans fue unas 2 veces

316092



más activo que lincomicina. El epímero cis fue aproximadamente -
1/2 más activo que el epímero trans.

G-2. Clorhidrato de metil N-(4-pentil-1-etil-L-prolil)- α -
tiolincosaminida.

5 La etilación reductora y separación por el procedimiento
de Parte G-1 dió los epímeros cis y trans como las bases libres y
clorhidratos. El clorhidrato trans solvatado (cristalizado de ace-
tona acuosa) tenía un punto de fusión de 90-95° C (descomposición).

10 G-3. Clorhidrato de metil N-(4-hexil-1-etil-L-prolil)- α -tio-
lincosaminida.

La etilación reductora y separación por el procedimiento
de Parte G-1 dió los epímeros cis y trans como las bases libres y
los clorhidratos. El clorhidrato trans tenía un punto de fusión -
de 102-121° C (descomposición) y el clorhidrato cis un punto de fu-
sion de 93-106° C (descomposición).

15 G-4. Clorhidrato de metil N-(4-octil-1-etil-L-prolil)- α -tio-
lincosaminida.

La etilación reductora y separación por el procedimiento
de Parte G-1 dió los epímeros cis y trans como las bases libres y
20 los clorhidratos. Los clorhidratos eran sólidos pero no cristali-
nos.

Sustituyendo el bromuro de alquiltrifenil fosfonio de -
Parte A en el ejemplo anterior, por otros bromuros sustituidos de
trifenilfosfonio en donde el sustituyente es metilo, etilo, propi-
25 lo, heptilo, nonilo, decilo, undecilo, y dodecilo, y las formas -

316092



isómeras de los mismos, así como las formas isómeras de butilo, pen-
 tilo, y hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexi-
 lo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-ciclopropiletilo, 3-ciclohexilpro-
 pilo, bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y 1-naftilmetilo, se obtie-
 5 nen las correspondientes metil N-(cis- y trans-4-alquil-, 4-cicloal-
 quil-, y 4-aralquil-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminidas, -
 las correspondientes metil N-(cis y trans-4-alquil-, 4-cicloalquil-,
 y 4-aralquil-L-prolil)- α -tiolincosaminidas; las correspondientes me-
 til N-(cis- y trans-4-alquil-, 4-cicloalquil-, y 4-aralquil-1-metil-L-
 10 propil)- α -tiolincosaminidas y las correspondientes metil N-(cis y -
trans-4-alquil-, 4-cicloalquil-, y 4-aralquil-1-etil-L-prolil)- α -tio-
 lincosaminidas. Por ejemplo, cuando se usan bromuro de propiltrife-
 nilfosfonio y formalina, se obtienen lincomicina y alolincomicina -
 (el epímero cis) ambos activos antibióticos. Por sustitución de -
 15 formalina o acetaldehído por otros oxo compuestos de la fórmula -
 R_8R_9CO , por ejemplo, propionaldehído, acetona, butiraldehído, isobu-
 til metil cetona, benzaldehído, fenilacetaldehído, hidrocinnamalde-
 hído, acetofenona, propiofenona, butirofenona, 3-metil-4-fenil-2-bu-
 tanona, 2-metil-5-fenil-3-pentanona, 3-ciclopentanopropionaldehído,
 20 ciclohexanoacetaldehído, cicloheptanocarboxaldehído, 2,2-dimetilci-
 clopropanoacetaldehído, 2,2-dimetilciclopropil metil cetona, ciclo-
 pentilmetil cetona, ciclobutil metil cetona, ciclobutanona, ciclohe-
 xanona, y 4-metilciclohexanona, se obtienen las correspondientes me-
 til N-(cis y trans-4-alquil-, 4-cicloalquil-, y 4-aralquil-1- R_8R_9CH -
 25 L-prolil)- α -tiolincosaminidas en donde R_8R_9CH - es propilo, isopropi-



-49-

316092

2062A

lo, butilo, 4-metil-2-pentilo, bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, -
1-feniletilo, 1-fenilpropilo, 1-fenilbutilo, 3-metil-4-fenil-2-bu-
tilo, 2-metil-5-fenil-3-pentilo, 3-ciclopentilpropilo, 2-ciclohexil-
etilo, cicloheptilmetilo, 2-(2,2-dimetilciclopropil)etilo, 1-(2,2-
5 dimetilciclopropil)etilo, 1-ciclopentiletilo, 1-ciclobutiletilo, -
ciclobutilo, ciclohexilo, y 4-metilciclohexilo. Por ejemplo, cuan-
do se usan bromuro de etiltrifenilfosfonio y acetaldehido, se ob-
tienen los metil 6-(trans-4-etil-L-prolilamino)-6,8-dideoxi-1-tio-
D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, metil 6-(trans-4-etil-1-etil-
10 L-prolilamino)-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosí-
do y las formas cis de los mismos, todos antibióticamente activos.

Sustituyendo la metil α -tiolincosaminida por otras α -tio-
lincosaminidas o por β -tiolincosaminidas o generalmente por otros-
compuestos 6,8-dideoxi-6-amino-D-eritro- y L-treo-D-galacto-octopi-
15 ranosa de Fórmula III, de los cuales se dan ejemplos más adelante,
se obtienen las correspondientes amidas de fórmulas IV y V.

Ejemplo 2 - Preparación de alolincomicina

A. 4-Propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina

Se calentó hidruro de sodio (3.8 g) con 75 ml de dimetil
20 sulfóxido a una temperatura de 70-75° C hasta que se completó la -
reacción. Después de enfriar a 20° C, se agregaron 30.8 g de bro-
muro de propiltrifenilfosfonio, y la solución roja resultante se -
revolvió durante 30 minutos para asegurar la reacción completa. -
Se agregó una solución de 5.2 g de 4-ceto-1-carbobenzoxi-L-prolina
25 en 15 ml de dimetil sulfóxido durante un período de 15 minutos, y



la mezcla resultante se revolvió durante 20 minutos a 26° C y luego a 70° C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se -
 agregaron 100 ml de bicarbonato de potasio acuoso al 5% y 100 ml -
 de agua, y se filtró. El filtrado se lavó dos veces con porcio--
 nes de 150 ml de éter y el éter se descartó después de nueva ex--
 tracción con bicarbonato. Las soluciones de bicarbonato se mezcla
 ron, se diluyeron con 200 ml de agua, y se acidificaron con ácido
 clorhídrico 4N. La mezcla acidificada se extrajo con tres porcio--
 nes de 200 ml de éter. Los extractos etéreos mezclados se lavaron
 con tres porciones de 50 ml de bisulfito de sodio, acuoso saturado,
 luego con agua y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. La -
 evaporación del solvente dió 5.7 g de un residuo sólido que era -
 4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina.

Este residuo se disolvió en 18 ml de acetonitrilo y se -
 trató con 2.8 ml de dicitclohexilamina. La sal dicitclohexilamina -
 cristalina, 5.2 g (55% de rendimiento), fundió a 154-157° C. Des-
 pués de tres recristalizaciones de acetonitrilo, se obtuvo una -
 muestra analítica que fundió a 164-166° C y tenía una rotación de
 $[\alpha]_D - 8^\circ$ (c = 0.3898, CHCl₃).

Análisis calculado para C₂₈H₄₂N₂O₄: C, 71.45; H, 9.00; N, 5.95.

Hallado: C, 71.77; H, 9.39; N, 5.1.

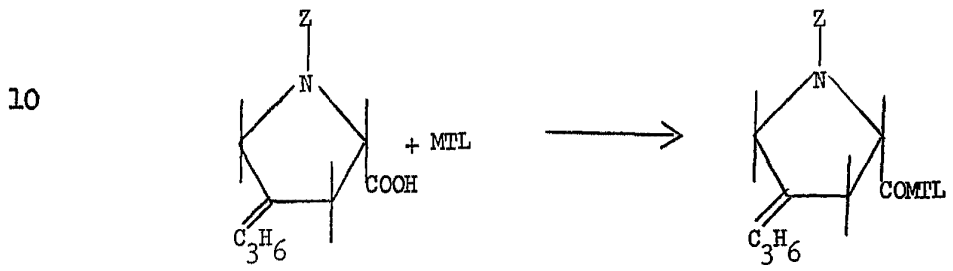
Se agitaron ocho gramos (17 mmols) de la sal dicitclohe-
 xilamina de 4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina con exceso de
 solución de hidróxido de sodio 1.5 N y éter hasta que se completó
 la solución. Las capas se separaron y cada una se lavó nuevamen-



316092

te. La capa alcalina acuosa se mezcló con el nuevo lavado de la capa etérea y se acidificó con ácido clorhídrico 4N. La mezcla se extrajo con éter y los extractos etéreos se mezclaron y evaporaron para dar 4.8 g (97.8%) de 4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina bajo la forma de un aceite.

B. Metil N-(4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida



A una solución de 2.25 g de 4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina de Parte A y 1.40 ml de trietilamina en 80 ml de acetonitrilo destilado enfriado a 0°, se agregó 1.08 ml de isobutil clorofornato en 1 ml de acetonitrilo. La mezcla se revolvió a 0° ($\pm 5^\circ$) durante 15 minutos. Se agregó rápidamente una solución de 2.92 g de metil α -tiolincosaminida (MTL) en 100 ml de agua. La solución resultante se revolvió a 0° durante una hora, se separó del baño de enfriamiento y se revolvió continuamente durante otra hora. El acetonitrilo se separó por destilación al vacío, dejando un residuo parcialmente cristalino. La mezcla se enfrió a 10° y se filtró y se secó el producto a 55° bajo vacío para dar 2.3 g de metil N-(4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida cristalina,

punto de fusión 178-186° C. Dos recristalizaciones de acetato de etilo húmedo dieron una muestra analítica, punto de fusión, 180-187° C $[\alpha]_D + 137^\circ$ (MeOH, c = 0.92).

Análisis calculado para: $C_{25}H_{36}N_2O_8S$:

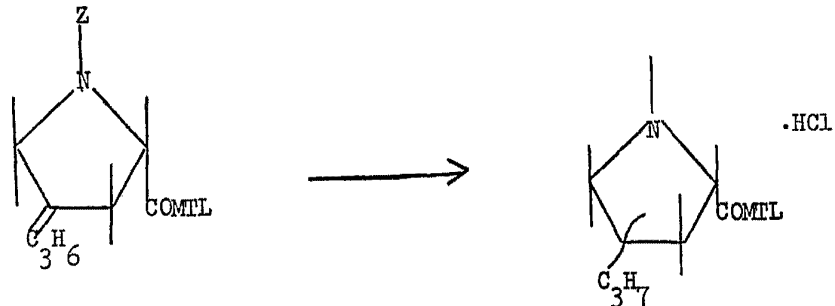
5

C, 57.23; H, 6.92; N, 5.32; S, 6.11.

Hallado: C, 57.24; H, 7.22; N, 5.18; S, 6.16.

C. Clorhidrato de metil 4-(4-propil-L-prolil)- α -tiolincosaminida

10



15

Una solución de 100 mg de metil N-(4-propilideno-1-carbo-benzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida de Parte C en 50 ml de metanol se agitó sobre 100 mg de platino al 7% en Dowex-1 bajo 40 libras de presión de hidrógeno durante 3 horas. Se agregaron entonces 100 mg de paladio al 10% en carbón y la mezcla de reacción se agitó bajo 40 libras de presión durante otras 3 horas. El catalizador se separó por filtración y el solvente se separó bajo vacío. El residuo se disolvió en 0.1 ml de ácido clorhídrico 0.5 N. Por dilución con 15.0 ml de acetona precipitó clorhidrato de metil N-(4-propil-L-prolil)- α -tiolincosaminida que se recolectó por filtración. Los cristales secados a 55° C bajo vacío, pesaban 20 mg y fundían a 181-188° C.

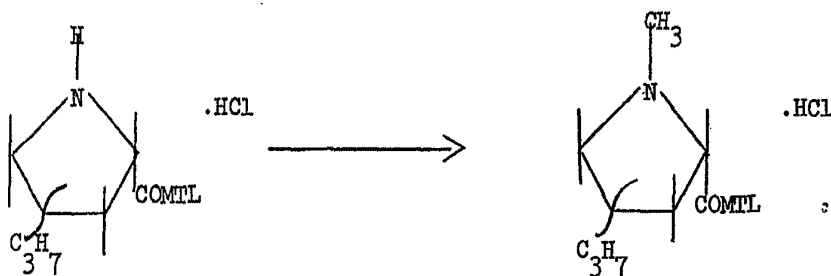
25



El producto contenía aproximadamente 4 partes del isómero cis por -
cada parte del isómero trans.

D. Clorhidrato de metil N-(4-propil-1-metil-L-prolil)- α -tio--
lincosaminida.

5



10

Una solución de 100 mg de clorhidrato de metil N-(4-propil-
L-prolil)- α -tiosarcosinida de Parte C y 0.2 ml de formalina en - -
50 ml de metanol, se agitó sobre 100 mg de paladio al 10% en carbón
bajo 40 libras de presión de hidrógeno durante 5 horas. El catali-
zador se separó por filtración y el solvente se separó al vacío. El
residuo mostró dos manchas en cromatografía en capa delgada, siendo
una de clorhidrato de lincomicina, siendo la otra de clorhidrato de
alolincomicina.

15

E. Separación de las formas cis y trans por cromatografía

20

Un gramo de clorhidrato de metil N-(4-propil-1-metil-L-pro-
lil)- α -tiosarcosinida de Parte D se disuelve en 15-20 ml de cloru-
ro de metileno conteniendo 0.5 ml de trietilamina y se agregaron 2 g
de silica gel para cromatografía. El solvente se evaporó bajo vacío
dejando el antibiótico depositado sobre el silica gel libre. Se sus-
penden 100 gramos de silica gel con acetona acuosa al 80% y se vier-

25



ten en una columna cromatográfica. El solvente se drena hacia abajo hasta el nivel del gel. La muestra de compuesto depositada sobre sílica gel, se espolvorea sobre la parte superior de la columna, seguido por una capa de arena. La columna se eluye con acetona acuosa al 80% y se recolectan fracciones de 20 ml. Una muestra de cada una se evapora hasta sequedad y se valora por cromatografía en capa delgada sobre sílica gel, usando acetona acuosa al 80% como el solvente de elución. El antibiótico se detecta rociando con solución de permanganato alcalino. Las fracciones conteniendo los productos deseados son mezcladas, evaporadas hasta sequedad, y el antibiótico cristalizó como el clorhidrato disolviendo en exceso de ácido clorhídrico diluído y diluyendo con acetona. El isómero trans se eluye primero seguido por una mezcla de los isómeros cis y trans y finalmente por el isómero cis, puro. La mezcla puede recromatografiarse como anteriormente. El isómero cis, clorhidrato de alolincomicina tenía un punto de fusión de 147-150° C, un $[\alpha]_D + 110$ (H₂O), y el siguiente análisis elemental:

Calculado para C₁₈H₃₄N₂O₆·S.HCl: C, 48.80; H, 7.96; N, 6.32.
 Hallado: (Corregido para 9.47% H₂O):
 C, 49.15; H, 7.80; N, 6.39.

Sustituyendo el bromuro de propiltrifenilfosfonio de Parte A en el ejemplo anterior por otros bromuros sustituidos de trifenilfosfonio, en donde el sustituyente es butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo y las formas isómeras de los mismos, así como también metilo, etilo e isopropilo,



ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-ciclopropiletilo, 3-ciclohexilpropilo, bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y α -naftilmetilo, se obtienen las correspondientes metil N-(cis y trans-4-alquilideno, cicloalquilideno-, y -aralquilideno-1-carbobenzoxi-L-prolil)- α -tiolincosaminida, las correspondientes metil N-(cis y trans-4-alquil, cicloalquil-, y aralquil-L-prolil)- α -tiolincosaminidas, y las correspondientes N-(cis y trans-4-alquil-, cicloalquil-, y aralquil-1-metil-L-prolil)- α -tiolincosaminidas. Sustituyendo la formalina de Parte D por otras cetalonas de la fórmula R_8R_9CO , por ejemplo, acetaldehido, propionaldehido, acetona, butiraldehido, isobutil metil cetona (4-metil-2-pentanona), benzaldehido, fenilacetaldehido, hidrocinnamaldehido, acetofenona, propiofenona, butirofenona, 3-metil-4-pentil-2-butanona, 2-metil-5-fenil-3-pentanona, 3-ciclopentanopropionaldehido, ciclohexanoacetaldehido, cicloheptanocaboxaldehido, 2,2-dimetilciclopropanoacetaldehido, 2,2-dimetilciclopropil metil cetona, ciclopentil metil cetona, ciclobutil metil cetona, ciclobutanona, ciclohexanona, y 4-metilciclohexanona, se obtienen las correspondientes metil N-(cis y trans-4-alquil-, 4-cicloalquil-, y 4-aralquil-1- R_8R_9CH -L-prolil)- α -tiolincosaminidas en donde R_8R_9CH - es etilo, propilo, isopropilo, butilo, 4-metil-2-pentilo, bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, 1-feniletilo, 1-fenilpropilo, 1-fenilbutilo, 3-metil-4-fenil-2-butilo, 2-metil-5-fenil-3-pentilo, 3-ciclopentilpropilo, 2-ciclohexiletilo, cicloheptilmetilo, 2-(2,2-dimetilciclopropil)etilo, 1-(2,2-dimetilciclopropil)etilo, 1-ciclopentiletilo, 1-ciclobutiletilo, ciclobuti

3 AGO 1964



-56-

316092

2062A

lo, ciclohexilo, y 4-metilciclohexilo.

Sustituyendo la metil α -tiolincosaminida por otras α -tiolincosaminidas o por β -tiolincosaminidas o generalmente por otros compuestos 6,8-dideoxi-6-amino-D-eritro-D-galacto-octopiranososa de Fórmula III, ejemplos de los cuales se dan aquí más adelante, se obtienen las correspondientes amidas de Fórmula IV y V.

Ejemplo 3 - Etil α -tiolincosaminida

Se disolvió clorhidrato de lincomicina C (2 g) en 50 ml de agua. El pH de la solución se ajustó a 9.5 por el agregado de una resina de intercambio aniónico en la forma hidróxido. (Una resina de intercambio aniónico obtenida por clorometilación, por el procedimiento dado en páginas 88 y 97 de Kunin, Resinas de Intercambio Iónico, 2da. Edición [1958], John Wiley and Sons, Inc., de poliestireno de ligaduras cruzadas, si se desea, con divinilbenceno, preparado por el procedimiento dado en la página 84 de Kunin, supra, y cuaternando con trimetilamina o dimetiletanolamina por el procedimiento dado en página 97 de Kunin, supra.) La solución alcalina fue entonces secada por congelación hasta un residuo que se disolvió en 50 ml de hidrato de hidracina (98-100%) y se refluxó durante 24 horas. La solución entonces se concentró hasta sequedad al vacío y el residuo se trituró tres veces con porciones de 10 ml de acetonitrilo. El material insoluble se recolectó y se secó; rendimiento 900 mg. Una solución de 600 mg del material insoluble en 4 ml de dimetilformamida (se usó calor para promover la solución) fue entonces clarificada por filtración y el filtrado

3 AGO 1969



-57- 316092

2062A

se mantuvo a temperatura ambiente durante 4 horas. La etil α -tiolin
cosaminida cristalina que precipitó se aisló por filtración, se lavó
con éter y se secó; rendimiento 500 mg.

5 La etil α -tiolincosaminida tiene las siguientes caracterís-
ticas físicas y químicas: Punto de fusión: 191-195° C; Rotación óp-
tica: $[\alpha]_D^{25} + 258^\circ$ (c, 0.76 en agua); y Titulación: $pK_a' = 7.17$, y -
el siguiente análisis elemental:

Calculado para $C_{10}H_{21}NO_5S$:

C, 44.93; H, 7.92; N, 5.24; S, 11.99; O, 29.92.

10 Hallado: C, 44.09; H, 7.91; N, 5.24; S, 11.32.

El clorhidrato de lincomicina C se preparó de la siguiente
manera:

FERMENTACION

15 Un cultivo madre del suelo de Streptomyces lincolnensis var.
lincolnensis, NRRL 2936, se usó para inocular una serie de frascos -
Erlenmeyer de 500 ml, conteniendo cada uno 100 ml de medio de siembra
compuesto por los siguientes ingredientes:

20	Yestolac*	10 g
	Glucosa monohidratada	10 g
	N-Z-amina B**	5 g
	Agua corriente, c.s.p.	1 litro

*Yestolac es un hidrolisado de proteína de células de levadura.

**N-Z-amina B es un digerido enzimático de caseína Sheffield.

25 El pH del medio de siembra antes de la esterilización era
7.3. La siembra se desarrolló durante 2 días a 28° C en un agitador



rotatorio Gump operando a 250 rpm.

Se agregó un inóculo del 5% de la siembra descrita anteriormente (5 ml) a cada uno de 30 frascos Erlenmeyer de 500 ml con teniendo cada uno 100 ml del siguiente medio de fermentación:

5	Glucosa monohidratada	15 g
	Almidón	40 g
	Melazas	20 g
	Licor de Peptona Wilson No.159*	10 g
	Licor de Macerado de Maíz	20 g
10	Carbonato de calcio	8 g
	Aceite de manteca de cerdo	0.5 ml
	Agua corriente, c.s.p.	1 litro

*El Licor de Peptona Wilson No.159 es una preparación de hidrolizado enzimático de proteínas de origen animal.

15 Al momento de la inoculación se agregó, DL-etionina a una concentración final de 2 mg/ml.

Los frascos de agitación se recolectaron después de 4 días de fermentación a 28° C en un agitador rotatorio Gump a 250 rpm. - La valoración de los mismos fue de 200 mcg/ml por el ensayo S. lutea, descrito aquí más adelante. Los sólidos del fermentado total fueron 20 gm/litro.

20

PURIFICACION

El fermentado total (235 litros) a partir de una fermentación de DL-etionina se filtró a pH de recolección usando un coadyuvante de filtración según se requiera. El conglomerado miceliano

25



se lavó con agua y el conglomerado entonces se descartó. El fermentado filtrado y las aguas de lavado (275 litros) se revolviéron durante 45 minutos con 12.5 kg de carbón activado y 2.5 kg de tierra de diatomeas. La mezcla se filtró y el filtrado se descartó. El conglomerado de carbón se lavó con 60 litros de agua y el agua de lavado se descartó. El conglomerado se lavó con 70 litros de acetona acuosa al 20% y el lavado de acetona acuosa al 20% se descartó. El conglomerado fue entonces eluído dos veces con porciones de 100 litros de acetona acuosa al 90%. Los eluídos se mezclaron (215 litros) y la solución se concentró (18 litros). Este concentrado se ajustó a pH 10.0 con una solución de hidróxido de sodio acuoso al 50% y se extrajo tres veces con porciones de 20 litros de cloruro de metileno. Los extractos de cloruro de metileno se mezclaron (60 litros) y luego se concentraron para dar una preparación oleosa (7.14 g) conteniendo lincomicina y lincomicina C en cantidades iguales y ambas bajo la forma de base libre. Esta preparación entonces se disolvió en 200 ml de cloruro de metileno. La solución se clarificó por filtración y luego se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se disolvió en 100 ml de cloruro de hidrógeno metanólico 1 N. La solución metanólica entonces se mezcló con 3.2 litros de éter mientras se revolvía. El precipitado incoloro resultante, clorhidrato de lincomicina impuro y clorhidrato de lincomicina C impuro se aisló por filtración y se secó; rendimiento 7.14 g con una valoración de 940 mcg/mg contra Sarcina lutea. (La valoración contra Sarcina lutea se conduce sobre agar amortiguado a pH 6-8 con solu--



316092

5 ción amortiguadora de fosfato pH 7.0 [0.1M]. Se coloca un volumen unitario [0.08 ml] de solución conteniendo el material para ensayar sobre un disco de ensayo de 12.7 ml que se coloca entonces en una placa de agar sembrada con el microorganismo de ensayo). La cromatografía en capa delgada mostró la presencia tanto de clorhidrato de lincomicina como de clorhidrato de lincomicina C en cantidades aproximadamente iguales.

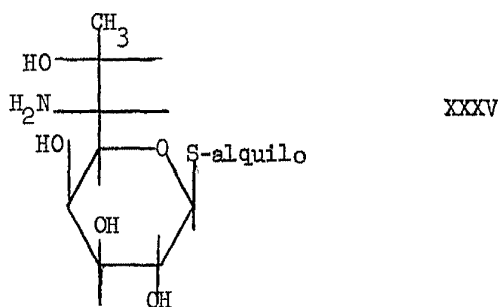
10 El clorhidrato de lincomicina C impuro (7.0 g) se disolvió en 20 ml de agua y 20 ml de butanol, se ajustó el pH a 4.2 con HCl 1N, y la solución se distribuyó en un aparato de distribución en contra corriente para 1000 transferencias. El análisis por cromatografía en capa delgada mostró que las fracciones de los tubos 135 a 190 contenían lincomicina C. Estas fracciones se mezclaron y la solución se concentró hasta un producto acuoso y se secó por congelación para dar 2.44 g de clorhidrato de lincomicina C con una valoración de - - 1400 mcg/mg contra Sarcina lutea. Se disolvieron 500 mg de esta - preparación en 2 ml de agua, 1 ml de metanol y 100 ml de acetona. - La solución se clarificó por filtración. El filtrado se mezcló con éter hasta que aparecieron cristales. La mezcla se dejó en reposo a 202 temperatura ambiente durante 1 hora. Se separó clorhidrato de lincomicina C cristalino (cubos) de la solución de material sobrenadante por decantación. Estos cristales se recrystalizaron de 1 ml de agua, 1 ml de metanol, 80 ml de acetona y 20 ml de éter; rendimiento 250 mg de clorhidrato de lincomicina C cristalina (cubos). El sobrenadante 25 (obtenido como se describe anteriormente) se dejó en reposo a 5° C



durante 4 horas. El clorhidrato de lincomicina C cristalino (agujas) que precipitó se filtró y se secó; rendimiento 150 mg de clorhidrato de lincomicina C cristalino (agujas) punto de fusión 151-157° C.

5 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, sustituyendo la metil α -tiolincosaminida por etil α -tiolincosaminida, se obtienen - compuestos de fórmulas IV y V en donde R, R₁ y Z son como se ha indicado e Y es -SCH₂CH₃ en la configuración α . Por ejemplo cuando se utiliza bromuro de alquiltrifenilfosfonio y formalina o acetaldehído, se obtienen etil 6-(trans-L-prolilamino-sustituído)-6,8-dideoxi-1-tio-
10 D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos y las formas cis de los mismos todos antibióticamente activos, en los cuales los sustituyentes son 4-alkilo, 4-alkil-1-metilo, y 4-alkil-1-etilo, en donde alkilo - puede ser etilo, propilo, butilo, pentilo, y hexilo o sus formas isó-
meras.

15 Ejemplo 4 Alquil β -tiolincosaminidas



20

A. Metil N-acetil- α -tiolincosaminida

Cinco gramos de metil α -tiolincosaminida (aproximadamente 0.02 mol) se suspendieron mientras se revolvía en 50 ml de metanol y se trataron con 4.04 g (aproximadamente 0.04 mol) de anhídrido -
25



-62- 316092

2062A

acético. El material de partida se disolvió casi completamente, y luego la mezcla se hizo sólida. Después de 18 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C), el sólido se filtró, se lavó con metanol y se secó en un horno de vacío a 50° C y 15 mm de presión; 5 rendimiento, 4.58 g (79%) de producto cristalino que funde a - - - 242-245° C. Este producto se recrystalizó de metanol absoluto para dar agujas incoloras de metil N-acetil- α -tiolincosaminida que tiene un punto de fusión de 243-245° C y una rotación de $[\alpha]_D^{25} + 265^\circ$ - (c, 07374, agua).

10 Análisis calculado para $C_{11}H_{21}NO_6S$:

C, 44.72; H, 7.17; N, 4.74; S, 10.85.

Hallado: C, 44.87; H, 7.10; N, 4.65; S, 10.99.

B. Mezcla de 6-acetamido-6,8-dideoxi-D-eritro- α - y β -D-galacto-octopiranosas(N-acetil- α - y β -lincosaminas)

15 Una solución de 50 g de metil N-acetil- α -tiolincosaminida de Parte A en 1500 ml de agua a 40° C, se revolvió magnéticamente y se trató con una solución de 70 g de cloruro mercúrico en 1500 ml - de agua a 40° C; inmediatamente se formó un precipitado blanco. La reacción se continuó calentando ocasionalmente a 40° C durante un - 20 período de 3 días. La cromatografía en capa delgada mostró entonces la ausencia del material de partida. El precipitado de cloruro mercúrico mercaptida ($ClHgSMe$) se separó por filtración. El filtra- do incoloro, junto con los lavados acuosos del precipitado, se re- volvió magnéticamente a temperatura ambiente y se separó el exceso 25 de cloruro mercúrico por el agregado de piridina en pequeñas porcio

316092



nes hasta que la precipitación del complejo insoluble de cloruro -
mercúrico-piridina se completó. Después de guardar la mezcla en el
refrigerador a 0° C durante tres horas, el sólido se separó por fil-
tración, el precipitado se lavó bien con agua fría, y el filtrado y
5 los lavados mezclados se revolviéron con una pequeña cantidad de -
carbonato de plata hasta que la solución fue neutra al papel indica-
dor de pH. La solución se filtró entonces a través de un filtro -
"Millipore" (Millipore Filter Corporation, Bedford, Massachusetts),
el filtro se lavó perfectamente con agua, y los lavados se agrega-
10 ron al filtrado incoloro. Se precipitó exceso de ión plata saturan-
do la solución con sulfuro de hidrógeno y separando el sulfuro de -
plata por filtración. El sulfuro de plata se lavó con agua, los -
lavados se agregaron al filtrado y la solución fue liofilizada pa-
ra dar un sólido amorfo incoloro, que era una mezcla de 6-acetami-
15 do-6,8-dideoxi-D-eritro- α - y β -D-galacto-octopiranosas (N-acetil- α -
lincosamina y N-acetil- β -lincosamina).

C. N-acetil-1,2,3,4,7-penta-O-acetil- β -lincosamina

La mezcla impura de N-acetil- α -lincosamina y N-acetil- β -
lincosamina de parte B se suspendió en 400 ml de piridina y 200 ml
20 de anhídrido acético y se revolvió magnéticamente durante la noche
a temperatura ambiente. La solución incolora resultante se concen-
tró en un evaporador rotatorio a 40° C y 1 mm Hg de presión hasta
un jarabe amarillo pálido que se disolvió en una mezcla de agua y
cloroformo. La capa acuosa se extrajo con cloroformo y los extrac-
25 tos clorofórmicos se mezclaron, se lavaron con ácido sulfúrico di-

316092



luído (2 N), luego dos veces con agua, con bicarbonato de sodio acuoso saturado, con agua hasta reacción neutra, y finalmente se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El extracto clorofórmico resultante se evaporó entonces en un evaporador rotatorio a 35° C y 15 mm Hg de presión para dar un sólido incoloro que se disolvió en acetato de etilo caliente. A esta solución de acetato de etilo se agregaron hexanos Skellysolve B hasta que un sólido comenzó a cristalizar. El sólido se separó por filtración y se recrystalizó dos veces de acetato de etilo-hexanos Skellysolve B para dar N-acetil-1,2,3,4,7-penta-0-acetil-β-lincosamina (9.27 g) de punto de fusión 227-230°C y rotación $[\alpha]_D^{25} + 33^\circ$ (c, 0.832, cloroformo).

Análisis calculado para $C_{20}H_{29}NO_{12}$: C, 50.52; H, 6.15; N, 2.95.
Hallado: C, 50.40; H, 6.42; N, 3.04.

El filtrado de acetato de etilo-hexanos Skellysolve B de la primera cristalización se dejó en reposo a temperatura ambiente, con lo que se separaron agujas prismáticas incoloras de N-acetil-1,2,3,4,7-penta-0-acetil-α-lincosamina; punto de fusión 169-172° C. El fundido resolidificó por enfriamiento en forma de placas hexagonales que entonces fundieron a 237-238° C; después de la recrystalización de acetato de etilo-Skellysolve B, se obtuvieron placas hexagonales que funden a 240-240.5° C y tienen una rotación de $[\alpha]_D^{25} + 132^\circ$ (c, 0.9842, cloroformo).

Análisis calculado para $C_{20}H_{29}NO_{12}$: C, 50.52; H, 6.15; N, 2.95.
Hallado: C, 50.62; H, 6.08; N, 3.02.

Las N-acetil-1,2,3,4,7-penta-0-acetil-α- y β-lincosaminas

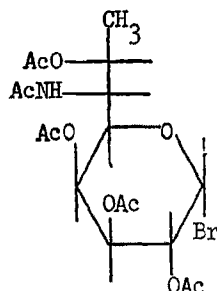
316092



5 pueden también separarse por distribución en contra corriente, usan
do un sistema de agua:acetona:metil etil cetona:ciclohexano en una
relación de volumen de 3:5:4:4. En 900 transferencias, aproximada-
mente 50% de cada uno de los 2 anómeros pudo aislarse en el estado
puro, siendo el coeficiente de partición del α -anómero, 0.75; para
el β -anómero, 0.66.

D. 6-Acetilamino-2,3,4,7-tetra-O-acetil-1-bromo-1,6,8-tride-
oxi-D-eritro- α -D-galacto-octopiranososa (N-Acetil-2,3,4,7--
tetra-O-acetil-1-bromo-1-deoxi- α -lincosamina)

10



XXXVI

15

Dos gramos de N-acetil-1,2,3,4,7-penta-O-acetil- β -lincos-
samina de parte C se revolvió magnéticamente con una solución de -
bromuro de hidrógeno anhidro en ácido acético en 5 ml de ácido acé-
tico (saturado a 0°) a temperatura ambiente (alrededor de 25° c) -
20 durante unas 3 horas. Todos los sólidos se disolvieron en una hora.
La solución viscosa, amarillo pálido, se diluyó con 50 ml de cloro-
formo, se vertió sobre hielo y se revolvió durante 10 minutos. La
capa clorofórmica se separó, la solución acuosa se extrajo perfec-
tamente con clororformo, y los extractos clorofórmicos mezclados -
25 se lavaron con agua hasta que el lavado acuoso fue neutro al papel



316092

rojo Congo, y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El cloroformo entonces se evaporó en un evaporador rotatorio a 35° C y 15 mm - Hg de presión para dar un sólido amorfo casi incoloro. Después de tres recristalizaciones del sólido de cloroformo-Skellysolve B, se

5 obtuvieron agujas prismáticas incoloras de N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-acetil-1 α -bromo-1-deoxilincosamina, que tenía un punto de fusión de 188-189° C y una rotación de $[\alpha]_D^{25} + 231^\circ$ (c, 0.8132, cloroformo)

Análisis calculado para: C₁₈H₂₆BrNO₁₀:

C, 43.56; H, 5.28; N, 2.82; Br, 16.10.

10 Hallado: C, 43.68; H, 5.39; N, 2.88; Br, 17.22.

E. Metil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-acetil- β -tiolincosaminida

Dos gramos de N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-acetil-1 α -bromo-1-deoxilincosamina de parte D se disolvieron en 25 ml de acetona que - había sido secada previamente sobre carbonato de potasio, y a esta -

15 solución se agregaron 350 mg de tiourea. Después de calentar brevemente en un baño de vapor hasta que los sólidos se disolvieron, la - mezcla de reacción incolora se dejó durante la noche a temperatura - ambiente. A ella se agregó entonces una solución de 680 mg de carbo-

20 nato de potasio y 860 mg de bisulfito de sodio en 10 ml de agua, seguido por 900 mg (0.40 ml) de yoduro de metilo. La mezcla se mantuvo en un frasco tapado que se agitó mecánicamente a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se extrajo entonces - perfectamente con cloroformo, los extractos combinados se lavaron -

25 dos veces con agua, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, y los solventes se eliminaron en un evaporador rotatorio a 40° C y 15 mm -



Hg de presión. De esta manera se obtuvo 1.38 g de sólido amorfo -
inoloro, que por cromatografía en capa delgada demostró ser un com-
puesto único. Este sólido se disolvió en acetato de etilo caliente
que fue luego diluído con hexanos Skellysolve B para dar 880 mg de
5 placas incoloras de punto de fusión 268-272° C. La recristaliza-
ción de los mismos solventes dió metil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-ace-
til- β -tiolincosaminida de punto de fusión 272-273° C y rotación -
[α]_D²⁵ + 31° (c, 06800, cloroformo).

Análisis calculado para C₁₉H₂₉NO₁₀S:

10

C, 49.22; H, 6.31; N, 3.02; S, 6.92.

Hallado: C, 49.15; H, 6.23; N, 3.00; S, 6.41.

F. Metil N-acetil- β -tiolincosaminida

15

Se saturaron 10 ml de metanol con gas amoníaco seco a una
temperatura entre 0 y 5° C. En esta solución saturada se agregó -
a temperatura ambiente, 1 g de metil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-ace-
til- β -tiolincosaminida. La mezcla se dejó en reposo a temperatura
ambiente durante tres horas y luego se llevó hasta sequedad en un
evaporador rotatorio a 40° C y 15 mm Hg de presión, y el sólido así
obtenido se recristalizó tres veces de etanol para dar metil N-ace-
20 til- β -tiolincosaminida.

G. Metil β -tiolincosaminida

25

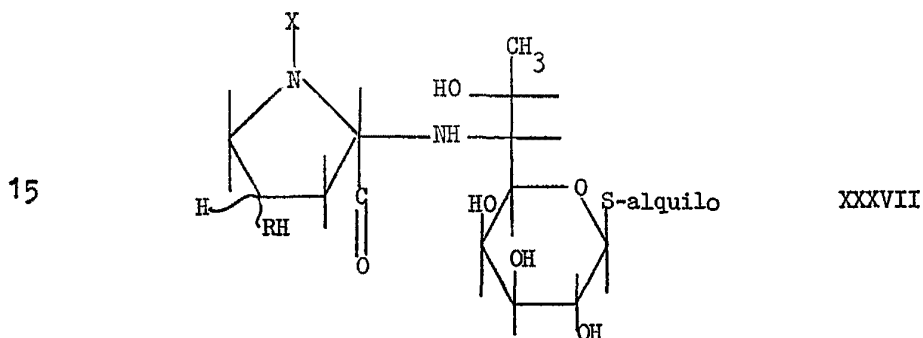
Una solución de 1 g de metil N-acetil- β -tiolincosaminida
en 10 ml de hidrato de hidrazina, se reflujo durante 24 horas. Se
eliminó entonces el exceso de hidrazina en una corriente de nitró-
geno seco sobre un baño de vapor. El residuo cristalino se recr_{is}



talizó de 5 ml de agua, los cristales se recolectaron, se lavaron con agua fría, y se secaron al vacío para dar metil β -tiolincosaminida.

5 Sustituyendo el yoduro de metilo de parte E por yoduros de etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo y las formas isómeras de los mismos, se obtienen las correspondientes alquil N-acetil-1,2,3,4,7-tetra-O-acetil- β -tiolincosaminida, alquil N-acetil- β -tiolincosaminidas, y alquil β -tiolincosaminidas.

10 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen compuestos de la fórmula



en donde $X = R_1$ o Z , como se indica anteriormente y R es como se indica anteriormente.

20 Sustituyendo el yoduro de metilo de parte E por yoduro de 2-hidroxietilo se obtienen, 2-hidroxietil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-acetil- β -tiolincosaminida, 2-hidroxietil N-acetil- β -tiolincosaminida, y 2-hidroxietil β -tiolincosaminida. Usando un yoduro de 2-alcoxietilo se obtienen los correspondientes 2-alcoxietil compuestos. El alquilo de alcoxi puede ser metilo, etilo, propilo, buti-

25



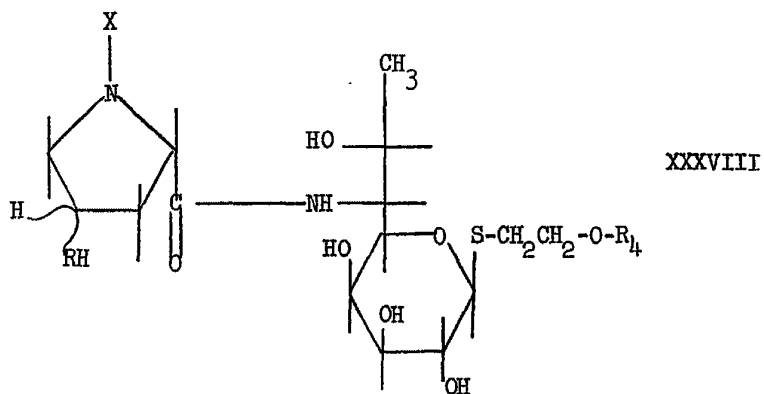
-69- 316092

2062A

lo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, o -
dodecilo o las formas isómeras de los mismos.

Siguiendo los procedimientos de Ejemplo 1, se obtienen -
compuestos de la fórmula:

5



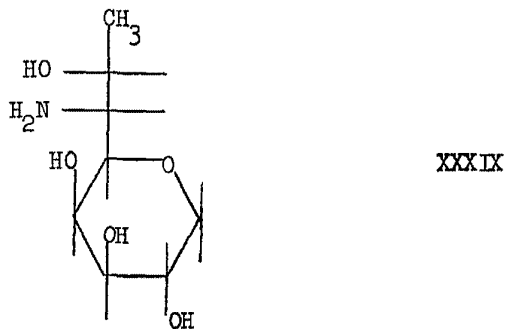
10

en donde $X = R_1$ o Z como se indica anteriormente y R es como se in
dica anteriormente, y en donde R_4 es hidrógeno o alquilo como se -
indica anteriormente.

15

Ejemplo 5 6-amino-1,6,8-trideoxi-D-eritro-D-galacto-octopirano
sa (1-deoxilincosamina)

20



25



316092

A. Metil N-acetil-3,4,-O-isopropilideno- β -tiolincosaminida

Una suspensión de 5.3 g de metil N-acetil- β -tiolincosaminida finamente pulverizada, se revolvió durante 30 minutos a la temperatura ambiente con 500 ml de acetona y 5 ml de ácido sulfúrico -
5 concentrado. Después de 30 minutos, se agregaron otros 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, y la solución se revolvió durante otra -
media hora a temperatura ambiente. Se agregó una suspensión de -
150 g de carbonato de bario en 100 ml de agua, y la mezcla se revolvió hasta reacción neutra. El sulfato de bario y exceso de carbona-
10 to se separaron por filtración, y el precipitado se lavó con acetona. El filtrado y los lavados se mezclaron y evaporaron hasta se-
quedad al vacío a 40°C. El residuo se trató con acetona:éter (10:1) y se separaron por filtración materiales insolubles. El filtrado -
se evaporó hasta sequedad y el residuo se disolvió en 100 ml de eta-
15 nol. Al separar el alcohol por calentamiento al vacío quedó un material gomoso que se disolvió en 20 ml de agua caliente conteniendo una pequeña cantidad de carbonato de sodio. Después de eliminar al-
go del material insoluble por filtración, el filtrado se enfrió. -
Los cristales que se formaron se recolectaron después de reposo en-
20 un refrigerador durante 4 horas, se lavaron con agua fría y se secaron al vacío para dar metil N-acetil-3,4,-O-isopropilideno- β -tiolin-
cosaminida.

B. N-acetil-3,4,-O-isopropilideno-1-deoxi-lincosamina

Cinco gramos de metil N-acetil-3,4,-O-isopropilideno- β -tio-
25 lincosaminida se calentaron bajo reflujo durante 7 horas con 35 ml-

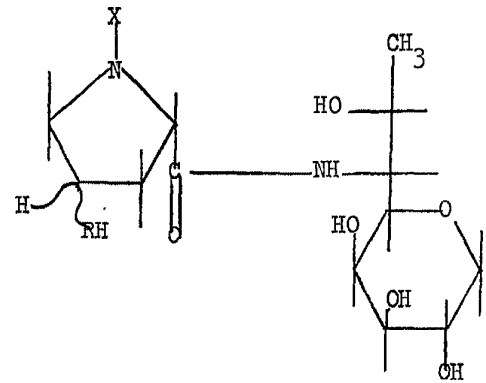


de níquel Raney poco comprimido en 150 ml de etanol. La mezcla entonces se filtró y el catalizador se lavó con un total de 400 ml de etanol hirviendo. El filtrado y lavados se mezclaron y evaporaron hasta sequedad, dejando un residuo parcialmente cristalino. Este residuo se purificó por distribución en contra corriente en un sistema de butanol:agua, para dar N-acetil-3,4,-O-isopropilideno-1-deoxilincosamina.

C. 1-Decxilincosamina

Un gramo de N-acetil-3,4-O-isopropilideno-1-deoxilincosamina en 5 ml de hidrato de hidrazina (98-100%) se calienta bajo reflujo durante 21 horas. El exceso de hidrato de hidrazina se destila al vacío. El residuo se revuelve con acetonitrilo y se evapora de nuevo. Se agregan 5 ml de agua y se ajusta el pH hasta 2 con ácido clorhídrico. Después de 3-5 horas a 26°, la solución se diluye con 10 ml de agua y se agrega exceso de carbonato de plata. La mezcla entonces se filtra y se liofiliza el filtrado. El residuo resultante se cristaliza de agua para dar 1-deoxilincosamina.

Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen compuestos de la fórmula:



XL

20

25



7 3 AG

316092

análisis elemental:

Análisis calculado para $C_{11}H_{23}NO_6S.N_2H_4$:

C, 40.11; H, 8.26; N, 12.76; S, 9.74.

Hallado: C, 40.15; H, 8.04; N, 11.69; S, 9.56.

5 B. 2-hidroxietil α -tiocelastosaminida hidrazina solvato

Se disolvió desalicetina (Ejemplo 1, Patente E.U.A. 2,851, 463) (10 g) en hidrato de hidrazina (100 cc) y se calentó bajo reflujajo en un baño de aceite a 165° C durante 18 horas. La solución casi, incolora se concentró hasta sequedad en un baño de vapor, primero a 15 mm y finalmente a menos de 1 mm, dando un residuo sólido que se trituroó con acetonitrilo, se filtró, y se lavó con el mismo solvente. Por cristalización de etanol dió agujas incoloras (2.64 g) de 2-hidroxietil α -tiocelastosaminida hidrazina solvato. Por recrystalización del mismo solvente dió cristales de 2-hidroxietil α -tiocelastosaminida hidrazina solvato que tenían un peso equivalente de 168 con dos grupos básicos teniendo pKas en la región de 7.5; una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} = + 248^\circ$ (c = 1, 95% etanol); y el siguiente análisis elemental:

10

15

Análisis calculado para $C_{11}H_{23}NO_6S.N_2H_4$:

C, 40.11; H, 8.26; N, 12.76; S, 9.74

Hallado: C, 40.27; H, 7.95; N, 11.63; S, 9.80.

20

C. 2-Hidroxietil α -tiocelastosaminida

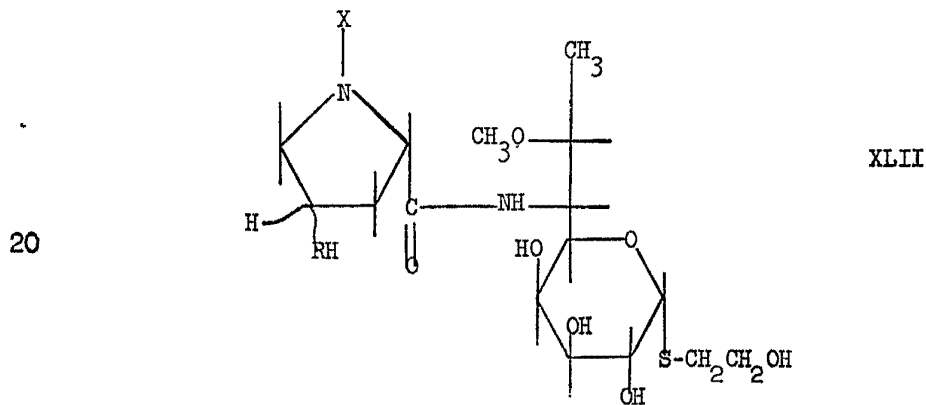
Una solución de 2 g de 2-hidroxietil α -tiocelastosaminida hidrazina solvato, preparada como parte A o parte B, en 30 ml de di-



metilformamida se concentró hasta un volumen de aproximadamente - -
 10 ml y luego se diluyó con 10 ml de dimetilformamida. Se agregó -
 éter hasta que resultó una turbidez, y se depositaron 500 mg de - -
 2-hidroxietil α -tiocelastosaminida. La 2-hidroxietil α -tiocelosto-
 5 saminida cristalina tenía una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 262^\circ$ - -
 (c = 1, en agua); un espectro de absorción infrarrojo a las frecuen-
 cias siguientes: 3400 (inflección), 3250, 1600, 1400, 1325, 1310,-
 1290, 1240, 1195, 1160, 1150 (inflección), 1110, 1100, 1075, 1045,
 1038, 1005, 980, 920, 895, 862, 825, 796, 740, 711, y 690 cm^{-1} ; un
 10 peso equivalente de 297 y un pKa de 7.2; y el siguiente análisis -
 elemental:

Análisis calculado para $C_{11}H_{23}NO_6S$: C, 44.43; H, 7.80; N, 4.71; S, 10.78
 Hallado: C, 44.20; H, 7.78; N, 4.97; S, 10.68

15 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen com-
 puestos de la fórmula:



25 en donde X = R₁ o Z como se indica anteriormente y R es según se in-
 dica anteriormente.



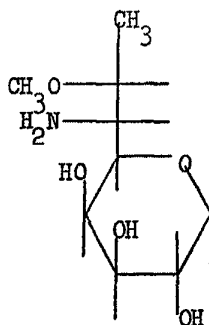
3 AGO

-75-

316092

2062A

Ejemplo 7 7-O-metil-1-deoxilincosamina



XLIII

5

A. 2-Hidroxietil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiocelestosaminida

10

A una solución de 14 g (0.047 mol) de 2-hidroxi-etil α -tiocelestosaminida en 150 ml de etanol se agregaron 14 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se revolvió durante 1/2 hora, se refrigeró durante la noche y se evaporó hasta sequedad al vacío. El residuo, 2-hidroxietil N-acetil- α -tiocelestosaminida, se suspendió con éter y se secó bajo presión reducida.

15

El material secado así obtenido se disolvió en 1500 ml de acetona y se agregaron 15 ml de ácido sulfúrico concentrado a la solución mientras se revolvió. La mezcla se revolvió durante unas 2 horas y luego se neutralizó agregando amoníaco seco. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó hasta sequedad, dejando 2-hidroxietil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiocelestosaminida bajo la forma de un aceite.

20

B-1. N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil-1-deoxilincosamina

25

El aceite de parte A se disolvió en 500 ml de etanol, se -



agregaron 150 ml de níquel Raney poco comprimido en etanol, y la mezcla se calentó bajo reflujo durante 10 horas. Luego la mezcla se filtró, se lavó el catalizador con 1 litro de etanol hirviendo y la mezcla de filtrados y lavados se evaporó hasta sequedad. Resultó un aceite que se distribuyó (500 transferencias) en el sistema 1-butanol:agua. Una fracción pico, $K = 0.82$, obtenida por evaporación de la mezcla de tubos 200-250, dió 4.6 g (33%) de N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil-1-deoxilincosamina que cristalizó por de secación; punto de fusión, $198-205^{\circ} \text{C}$; rotación $[\alpha]_D^{25} + 71^{\circ}$ (c = 1, etanol al 50%).

Análisis calculado para: $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_6$:

C, 55.43; H, 8.31; N, 4.62; Metoxilo, 10.63

Hallado: C, 55.03; H, 8.28; N, 4.70; Metoxilo, 10.43.

B-2.

Se disolvió metal de potasio (1.16 g) en 100 ml de alcohol butírico terciario. El solvente se separó tan completamente como fue posible por destilación (salvo que se especifique todas las destilaciones son a presión atmosférica) y finalmente por destilación al vacío a 15 mm Hg de presión. Al residuo sólido seco se agregaron 100 ml de benceno seco y el benceno se separó por destilación para dejar un polvo fino. Al butóxido terciario de potasio en polvo así obtenido, se agregaron 200 ml de benceno seco, y la mezcla se revolvió magnéticamente a temperatura ambiente hasta que resultó una solución opalescente. A esta solución se agregaron 5 g de N-acetil-3,4-O-isopropilideno-1-deoxilincosamina, preparados de acuerdo con



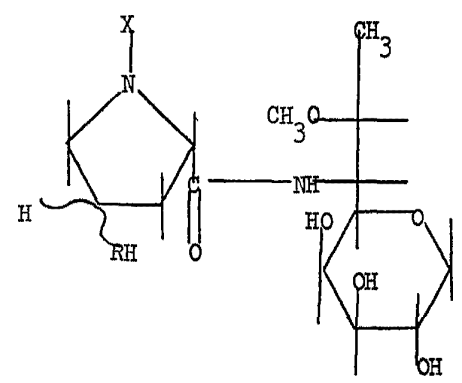
parte B de Ejemplo 5, y la mezcla entonces se revolvió durante la -
 noche a temperatura ambiente. A esta mezcla se agregaron 42.4 g -
 (18.6 ml) de yoduro de metilo y la mezcla se revolvió a temperatura
 ambiente durante 2 horas. La mezcla se filtró para separar el yodu
 5 ro de potasio y el filtrado se destiló al vacío a aproximadamente -
 35° C para dar un material de consistencia de jarabe incoloro, que
 fue sometido a distribución en contracorriente en un sistema de -
 acetato de etilo:etanol:agua en una proporción de 4:1:2. Las frac
 ciones conteniendo N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil-1-deoxi
 10 lincosaminá, como se determina por cromatografía en capa delgada,-
 se mezclaron, se evaporaron hasta sequedad y el residuo se crista
 lizó para dar N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil-1-deoxilincos
 samina pura.

C. 7-O-metil-1-deoxilincosamina

15 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 5, parte C, se con
 vierte N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil-1-deoxilincosamina -
 en 7-O-metil-1-deoxilincosamina.

Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen com
 puestos de la fórmula:

20



XLIV

25



en donde X = R₁ o Z como se indica anteriormente y R es según se indica anteriormente.

Ejemplo 8 2-Hidroxietil α -tiolincosaminida

5

A. Metil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-tionobenzoil- α -tiolincosaminida

10

Metil N-acetil- α -tiolincosaminida (IX), disuelta en piridina, seca, se trata con un exceso de cloruro de tiobenzoilo (180% exceso) a 0° C y la mezcla de reacción se deja en reposo durante la noche a temperatura ambiente con exclusión de humedad atmosférica. Después de eliminar tan completamente como sea posible el material volátil a 30° C bajo alto vacío, el producto de reacción se extrae con cloroformo, el extracto se lava con agua, ácido sulfúrico diluído (N), agua, bicarbonato de sodio acuoso saturado, con agua otra vez, y se seca sobre sulfato de sodio anhidro. Por eliminación del cloroformo al vacío se obtiene el producto, metil N-acetil-2,3,4,7-tetra-O-tionobenzoil- α -tiolincosaminida (X), que puede recristalizarse de acetona o acetato de etilo por el agregado de Skellysolve B (hexano técnico).

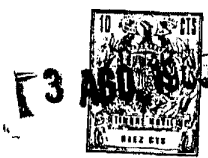
15

20

B. 2-hidroxietil N-acetil-2-O-benzoil-3,4,7-tri-O-tionobenzoil- α -tiolincosaminida

25

El tetratiónobenzoato (X) de parte A se disuelve en cloroformo libre de etanol (para dar una solución del 2 al 10%) y se trata con una solución de bromo (2 equivalentes moleculares) en cloroformo (una solución 1-2%, vol./vol.) revolviendo magnéticamente a temperatura ambiente con exclusión de humedad atmosférica.



Después de 2 horas el material volátil se elimina tan completamente como sea posible por evaporación a 30° C y 15 mm Hg de presión, se agrega más cloroformo (aproximadamente 100 ml por 2 g de material de partida) y se elimina como anteriormente. Al residuo se agrega
5 entonces acetona (aproximadamente 25 ml por 2 g de material de partida) y trietilamina (2 equivalentes molares), y la solución resultante se calienta bajo reflujo en un baño de vapor durante 1 hora, con exclusión de humedad atmosférica. [El producto de bromación inicial (XI), es así convertido en intermedio ciclizado (XII).] A
10 la solución enfriada entonces se agrega carbonato de potasio (5 equivalentes moleculares), bicarbonato de sodio (peso igual al del carbonato de potasio usado), y agua (aproximadamente 10 ml por g de carbonato de potasio), seguido por etileno yodohidrina (preferentemente alrededor de 6-10 equivalentes moleculares), y la mezcla tapada
15 se agita se agita mecánicamente durante 3 horas a la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrae con cloroformo y la solución cloroformica se lava con agua para separar sales inorgánicas, y se secan sobre sulfato de sodio anhidro. La eliminación del cloroformo a 30° C al vacío dá 2-hidroxi-etil N-acetil-2-O-benzoil-3,
20 4,7-trio-0-tionbenzoil- α -tiolincosaminida (XIV).

C. El compuesto acilado anterior (XIV) se calienta bajo reflujo con hidrato de hidrazina (20-30 veces el peso del éster) durante 12-36 horas y el exceso de hidrazina se separa por destilación bajo presión reducida. El residuo se tritura con acetonitrilo, y
25 el producto sólido que queda se recupera por filtración, se lava -

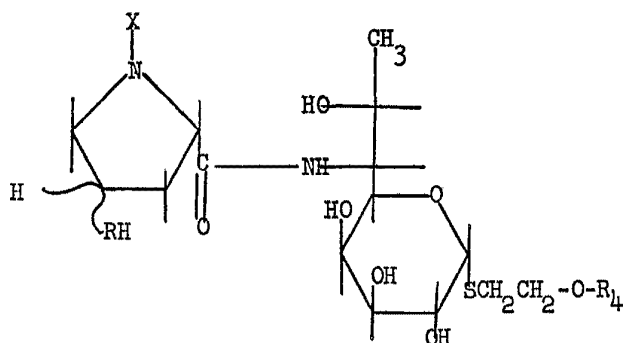


con acetonitrilo, y se recristaliza de etanol para dar 2-hidroxi-
 α -tiolincosaminida.

Usando el yoduro de 2-alcoxietilo se obtienen los corres-
pondientes compuestos 2-alquiloxi. El alquilo del alquiloxi -
5 puede ser metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo,
octilo, nonilo, decilo, undecilo, o dodecilo o las formas isómeras
de los mismos.

Si siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen com-
puestos de la fórmula:

10



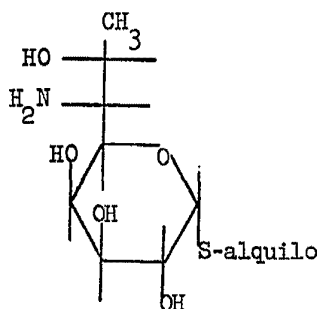
XLV

15

en donde $X = R_1$ o Z como se indica anteriormente y R y R_4 son como
se indica anteriormente.

Ejemplo 9 Alquil α -tiolincosaminidas

20



XLVI

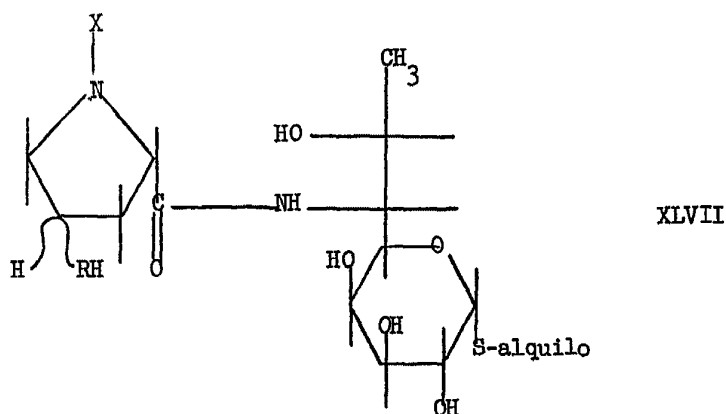
25

316092



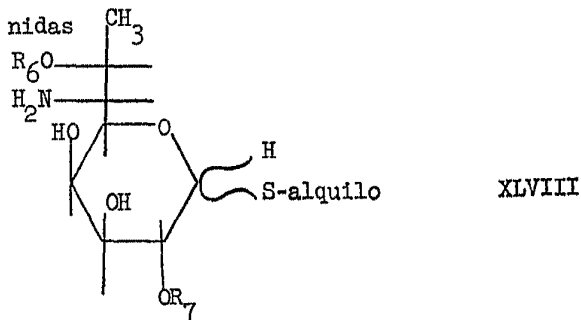
5 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 8 sustituyendo la etileno yodohidrina por yoduro de etilo, se obtiene etil α -tio--lincosaminida idéntica a aquella obtenida a partir de lincomicina C en Ejemplo 2. Sustituyendo por yoduro de propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, undecilo y dodecilo y las formas isómeras de los mismos, se obtienen las correspondientes alquil - α -tiolincosaminidas.

10 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen com-
puestos de la fórmula:



en donde $X = R_1$ o z como se indica anteriormente y R es como se indica anteriormente.

20 Ejemplo 10 2-O- y 7-O-alkilación de alquil α - y β -tiolincosami-





A. Metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida y la oxazolina derivada de la misma

5 Se pulverizaron finamente 16 gramos de metil N-acetil- α -tiolincosaminida y suspendieron en 1600 ml de acetona seca con rápida agitación magnética. A esta suspensión se agregaron 16 ml de ácido sulfúrico concentrado. El sólido suspendido comenzó a disolverse y la solución se completó dentro de 30 a 60 minutos. Después de reposar durante 3 horas a temperatura ambiente (24-26° C), la solución se enfrió durante la noche en un refrigerador a aproximadamente 5 a 10° C.

10 La solución amarillo pálido se neutralizó introduciendo, mientras se revolvía una corriente de gas amoníaco seco. Precipitó sulfato de amonio y se separó por filtración y se lavó con acetona. El lavado de acetona se agregó al filtrado incoloro que se evaporó en un evaporador rotatorio a 30° C y 15 mm Hg de presión, para dar una mezcla de jarabe y sólidos cristalinos. El jarabe se disolvió por rotación de la mezcla con 50 ml de agua, y el sólido cristalino se recolectó en un filtro y se lavó con agua enfriada con hielo. Por secado a 60° C y 15 mm Hg de presión, se obtuvieron 7.12 g de sólidos de punto de fusión 189-192° C. La recristalización de acetona-hexanos Skellysolve B, dió agujas incoloras de la oxazolina derivada de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida; punto de fusión, 191-192.5° C; rotación $[\alpha]_D^{25} + 126^\circ$ (c, 0.8508, etanol)



Análisis calculado para: C H NO S:
14 23 5

C, 52.95; H, 7.30; N, 4.41; S, 10.10; O, 25.20.

Hallado: C, 52.77; H, 7.34; N, 4.40; S, 10.12; O, 25.11.

5 Los licores madre acuosos se concentraron al vacío para dar un sólido que se recristalizó de acetona; consistía de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida de punto de fusión 178-180° C y rotación $[\alpha]_D^{25} + 189^\circ$ (c, 0.5137, agua).

10 B. Conversión de la oxazolina derivada de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno α -tiolincosaminida en metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida

15 Se preparó una solución de la oxazolina derivada de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida en 20 ml de agua - caliente y se calentó bajo reflujo durante 2 horas al cabo de las - cuales la cromatografía en capa delgada sobre sílica gel reveló la conversión del material de partida en metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida. El agua entonces se separó al vacío a 40° C, dejando un sólido cristalino incoloro que se recristalizó de un pequeño volumen de agua caliente para dar agujas incoloras de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida de punto de fusión 178-180° C y rotación $[\alpha]_D^{25} + 190^\circ$ (c, 1.223, agua).

20 C. Metilación de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida

Se disolvió metal potasio (1.16 g) en 100 ml de alcohol butílico terciario (previamente secado sobre metal sodio) mientras



se revolvió y bajo reflujo. El solvente se separó tan completamente como fue posible por destilación y finalmente por destilación al vacío a 15 mm Hg. Al residuo sólido seco, se agregaron 100 ml de benceno seco, que se separó por destilación para dejar un polvo fino. -
5 Este se trató otra vez con benceno que se separó por destilación para asegurar eliminación completa de alcohol butílico terciario.

Al butóxido terciario de potasio en polvo así obtenido, se agregaron 200 ml de benceno seco y la mezcla se revolvió magnética--
mente a la temperatura ambiente hasta que resultó una suspensión opa
10 lescente. A esta se agregaron 5 g de metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida y la mezcla se revolvió entonces durante la noche a temperatura ambiente al cabo de lo cual se disolvió todo el sólido.

A esta mezcla se agregaron 42.4 g (18.6 ml) de yoduro de -
15 metilo y la mezcla se revolvió a temperatura ambiente durante 1-1/2 horas; después de 1 hora, la mezcla dió una reacción neutra con papel para pH húmedo. La mezcla de reacción se filtró para separar el yoduro de potasio y el yoduro de potasio se lavó con benceno; el ben
ceno se agregó al filtrado. El filtrado y los lavados se destilaron
20 al vacío a 35° C para dar un jarabe incoloro que se sometió a distribución en contra corriente en el sistema acetato de etilo:etanol:agua en la proporción de 4:1:2. Después de 500 transferencias los tres componentes, como lo indicó la cromatografía en capa delgada, habían sido completamente separados. Los componentes principales -
25 fueron metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno-7-O-metil- α -tiolincosami



nida y metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno-2-O-metil- α -tiolincosaminida. Un componente menor fue metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno-2,7-di-O-metil- α -tiolincosaminida.

5 Al separar los solventes de los tubos combinados No.250-310 (K=1.30) inclusive, dió un material vídrioso que cristalizó de acetato de etilo:hexanos Skellysolve B para dar metil N-acetil-3,4-O-isopropilideno-2-O-metil- α -tiolincosaminida como prismas cortos incoloros de punto de fusión 176-177° C y rotación $[\alpha]_D^{25} + 176^\circ$ (c, 0.6220, cloroformo).

10 Análisis calculado para: $C_{15}H_{27}NO_6S$:

C, 51.57; H, 7.79; N, 4.01; S, 9.17; OMe, 8.88.

Hallado: C, 51.82; H, 8.10; N, 4.08; S, 8.94; OMe, 8.49.

15 La eliminación de solventes de los tubos mezclados No.330-384 (K=2.52) inclusive por destilación dió un producto vídrioso que cristalizó lentamente por reposo. La recrystalización de éter dió agrupaciones de agujas diminutas incoloras de metil N-acetil-7-O-metil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida.

20 De la misma manera, la evaporación de los solventes de los tubos combinados No. 410-450 (K=5.67) dió un producto vídrioso incoloro. La recrystalización de éter dió agujas gruesas incoloras de metil N-acetil-2,7-di-O-metil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida de punto de fusión 124.5-126° C y rotación $[\alpha]_D^{25} + 184^\circ$ (c, 0.8390, cloroformo).

25 Análisis calculado para $C_{16}H_{29}NO_6S$:

C, 52.88; H, 8.04; N, 3.85; S, 8.82; OCH₃, 17.08.



-86- 316092

2062A

Hallado: C, 53.02; H, 7.95; N, 4.05; S, 8.73; OCH_3 , 15.92.

C. Metil N-acetil-2-O-metil- α -tiolincosaminida

5 Una mezcla de 2 g de metil N-acetil-2-O-metil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida en 50 ml de ácido clorhídrico 0.25 N, se revolvió magnéticamente a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). El material de partida sólido se disolvió en unos minutos. Después de 1-3/4 horas, la cromatografía en capa delgada demostró la ausencia completa del material de partida.

10 La solución fuertemente ácida se revolvió con una resina de intercambio aniónico de poliestireno amonio cuaternario hasta que la solución sobrenadante incolora dió una reacción neutra con papel de pH. La filtración, el lavado de la resina con agua, y la separación del agua del filtrado y lavados mezclados, al vacío, dió 1.68 g (95%) de un residuo cristalino incoloro que se cristalizó de metanol-éter para dar agujas largas incoloras de aspecto de fieltro de metil N-acetil-2-O-metil- α -tiolincosaminida de punto de fusión 237-238° C. Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{S}$:

C, 46.56; H, 7.49; N, 4.53; S, 10.36.

Hallado: C, 46.72; H, 7.44; N, 4.37; S, 10.34.

20 D. Metil 2-O-metil- α -tiolincosaminida

25 La metil N-acetil-2-O-metil- α -tiolincosaminida así obtenida se calentó con 6 ml de hidrato de hidrazina bajo reflujo durante un período de 22 horas. Se separó el exceso del hidrato de hidrazina por destilación al vacío y el residuo se recrystalizó tres veces de etanol-agua para dar metil 2-O-metil- α -tiolincosaminida.



E. Metil 7-O-metil- α -tiolincosaminida

De la manera indicada en partes C y D, la metil N-acetil-7-O-metil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida se hidrolizó y luego se hidrazinolizó para dar metil 7-O-metil- α -tiolincosaminida.

5

F. Metil 2,7-di-O-metil- α -tiolincosaminida

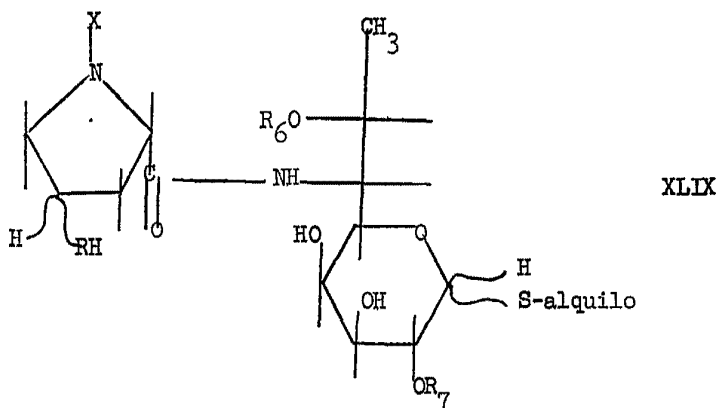
De la manera indicada en partes C y D, la metil N-acetil-2,7-di-O-metil-3,4-O-isopropilideno- α -tiolincosaminida se hidrolizó y hidrazinolizó para dar metil 2,7-di-O-metil- α -tiolincosaminida.

10

Sustituyendo la metil α -tiolincosaminida por metil β -tiolincosaminida o por las otras alquil α - o β -tiolincosaminida indicadas anteriormente, se obtienen las correspondientes alquil 2-O-, 7-O-, y 2,7-di-O-alquil α - y β -tiolincosaminidas.

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, se obtienen compuestos de la fórmula:

15



20

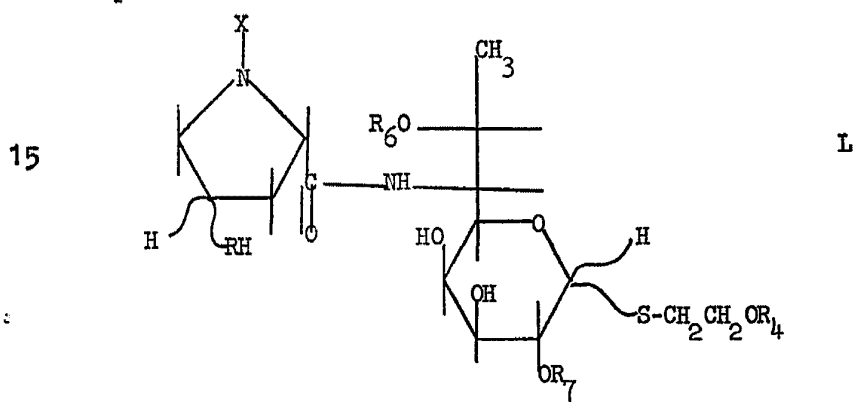
en donde $X = R_1$ o Z como se indica anteriormente, R es como se indica anteriormente, y uno de R_6 y R_7 es alquilo de no más de 12 átomos de carbono y el otro es hidrógeno o alquilo de no más de 12 átomos de carbono.

25



Sustituyendo la metil N-acetil- α -tiolincosaminida por 2-hi
 droxietil α - y β -tiolincosaminidas, se obtienen los correspondientes
 alcoxietyl N-acetil-2-O-, 7-O-, y 2,7-di-O-alkuil- α - y β -tiolincosami
 nidas. Por sustitución de metil N-acetil- α -tiolincosaminida por 2-tri
 5 tiloxietil N-acetil- α - y β -tiolincosaminidas, se obtienen los corres-
 pondientes 2-tritiloxietil N-acetil-2-O-, 7-O-, y 2,7-di-O-alkuil- α -
 y β -tiolincosaminidas. Separando el grupo tritilo por hidrólisis -
 con ácido acético acuoso al 80% y el N-acetilo por hidrazinólisis, -
 se obtienen las correspondiente 2-hidroxietil 2-O-, 7-O-, y 2,7-di-O-
 10 alkuil- α - y β -tiolincosaminidas.

Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1, se obtienen com--
 puestos de la fórmula:

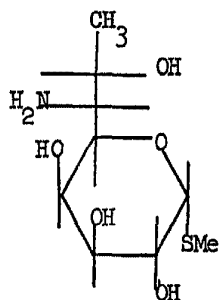


20 en donde X = R₁ o Z como se indica anteriormente, R y R₄ son como se
 indica anteriormente y por lo menos uno de R₆ y R₇ es alkuido de no
 más de 12 átomos de carbono y el otro es hidrógeno o alkuido de no
 más de 12 átomos de carbono.

25 Ejemplo 11 Metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octo
 piranósido



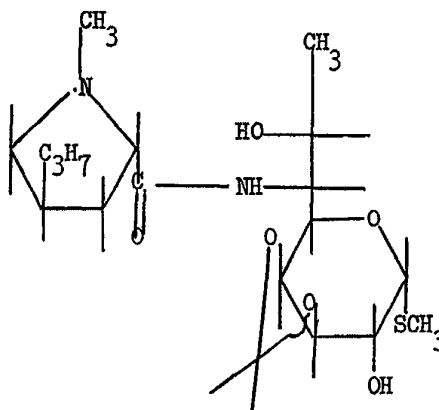
5



LI

A. 3,4-O-isopropilidenlincomicina

10



LII

15

Una solución de 9.8 g de lincomicina en 150 ml de acetona se agrega a una solución de 9.8 g de ácido p-toluenosulfónico monohidratado en 100 ml de acetona revolviendo bien y evitando la exposición a la humedad. La mezcla se revuelve a temperatura ambiente durante 1 hora, después de lo cual se agregan 100 ml de éter anhidro y se continúa revolviendo en un baño de hielo durante 0.5 horas. La mezcla se filtra y el sólido se seca al vacío a 50° C; -
 20 rendimiento 13.35 g (85.5%) de p-toluenosulfonato de 3,4-O-isopropilideno lincomicina. Puede recuperarse un adicional de 1.15 g -
 25 (7.4%) de los licores madre por el agregado de 350 ml de éter anhi



dro al licor madre de la operación de filtrado anterior y enfriando la solución durante 1 hora. Los 14.5 g así obtenidos se suspenden en 200 ml de éter y se agitan vigorosamente con 125 ml de solución de bicarbonato de potasio al 5%. La capa acuosa se extrae nuevamen

5 te con dos porciones de 100 ml de éter. Los extractos etéreos se lavan con 50 ml de solución saturada de cloruro de sodio y luego se filtran a través de sulfato de sodio anhidro. El éter se evapora

10 bajo vacío, dejando 7.9 g (73.1%) de 3,4-O-isopropilidenolincomicina, que se disuelve en 25 ml de acetato de etilo y se concentra has

ta aproximadamente 10 a 15 ml. El concentrado se deja en reposo a temperatura ambiente durante varias horas y luego se refrigera durante la noche. Los cristales así obtenidos se filtran de la solución y se lavan escasamente con acetato de etilo frío; rendimiento

15 4.55 g (42.2%) de 3,4-O-isopropilidenolincomicina que tiene un punto de fusión de 126-128° C, y una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 101-102^\circ$ (c, 1, cloruro de metileno).

B. 7-Dehidro-3,4-O-isopropilidenolincomicina

A una solución de 6 g (0.0135 mols) de 3,4-O-isopropilidenolincomicina en 75 ml de piridina se agregaron 12 g (exceso) de tri

20 óxido crómico (ácido crómico). La temperatura de la solución aumentó a aproximadamente 20° C. Después de una hora se agrega la mezcla a una solución conteniendo éter etílico y acetato de etilo, 250 ml -

de cada uno, se filtra y se evapora hasta 8.4 g de jarabe. Este jarabe se distribuyó en una distribución en contra corriente de 500---

25 transferencia usando el sistema agua:acetato de etilo:etanol:ciclohe



xano (1:1:1:1). Se aisló 7-dehidro-3,4-O-isopropilidenolincomicina de los tubos 330-380, K = 2.45.

Análisis calculado para $C_{31}H_{36}N_2O_6S$:

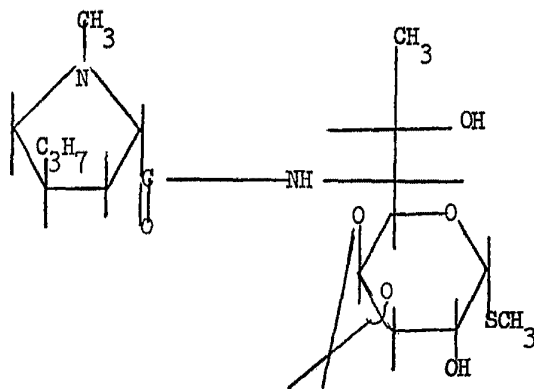
C, 56.72; H, 8.16; N, 6.30; S, 7.21.

5

Hallado: C, 56.37; H, 7.62; N, 6.51; S, 6.84.

C. 3,4-O-isopropilidenoepilincomicina

10



LII

15

A 1.6 g de 7-dehidro-3,4-O-isopropilidenolincomicina pura de Craig en 75 ml de metanol se agregaron 400 mg de borohidruro de sodio. Después de 1.5 horas esta solución se evaporó hasta sequedad en un evaporador rotatorio. El residuo se agregó a 25 ml de agua que se extrajo tres veces con porciones de 25 ml de cloruro de metileno. El extracto se lavó nuevamente con 15 ml de agua, se secó sobre cloruro de magnesio, y se evaporó hasta sequedad. El residuo, 1.4 g, se distribuyó en una distribución en contra corriente de 500 transferencias usando el sistema solvente agua:acetato de etilo:etanol:ciclohexano (1:1:1:1) y se observó un pico único que se ajustaba a la teoría a K = 1.05. El material en los tubos mezcla

25



316092

dos 240-280, se aisló como un jarabe.

Análisis calculado para $C_{21}H_{38}N_2O_6S$:

C, 56.47; H, 8.58; N, 6.27; S, 7.18.

Hallado: C, 56.24; H, 8.54; N, 6.13; S, 7.01.

5 La cromatografía en capa delgada demostró que este material consistía de dos sustancias, una de las cuales era 3,4-O-isopropilidenolincomicina. La otra, 3,4-O-isopropilidencopilincomicina se movía un poco más lentamente.

D. Epilincomicina

10 El jarabe de parte C se disolvió en una mezcla de 60 ml de ácido clorhídrico 0.25 N y 40 ml de etanol y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5 horas. La solución entonces se conservó a 0° C durante 4 días, se neutralizó con bicarbonato de sodio, se -
15 lavó con una pequeña cantidad de agua y se secó sobre sulfato de magnesio, luego se evaporó hasta un residuo. La cromatografía en capa delgada del residuo mostró dos sustancias, ambas fueron activas contra S. lutea. El residuo se cromatografió en una columna de 14" x 3/4" de Florisil (un silicato sintético del tipo descrito en patente E.U.A. 2,393,625) que se eluyó gradualmente con un volumen total
20 de 5,000 ml de solvente que varió continuamente desde 100% Skellysol B (hexano técnico) hasta 100% de acetona, recolectándose fracciones de 40 ml. Las fracciones 53-65 dieron epilincomicina, con una valoración de 450 mcg/mg.



-93-

316092

2062A

Análisis Calculado para: $C_{18}H_{34}N_2O_6S$:

C, 50.92; H, 8.55; N, 6.60; S, 7.56.

Hallado: C, 50.19; H, 7.91; N, 6.05; S, 6.42.

Las fracciones 73-10⁴ dieron lincomicina con una valoración de 950 mcg./mg.

5

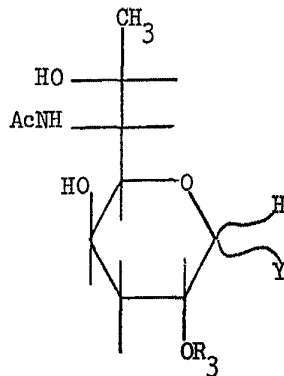
E. Metil epi- α -tiolincosaminida

Siguiendo el procedimiento de hidrazinólisis de Ejemplo 1 - parte B, la epilincomicina se convierte en metil epi- α -tiolincosaminida.

10

La lincomicina puede sustituirse por metil N-acetil- α -tiolincosaminida. El proceso también puede aplicarse a otros compuestos 6-acilamino-6,8-dideoxi-D-eritro-D-galacto-octopiranososa de la fórmula:

15



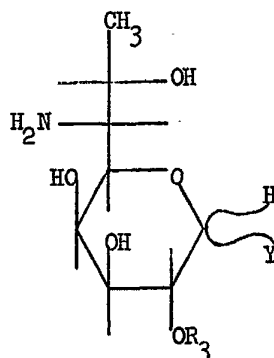
LIV

20

en donde Ac, Y y R₃ son como se indica anteriormente para formar los correspondientes epímeros:

316092

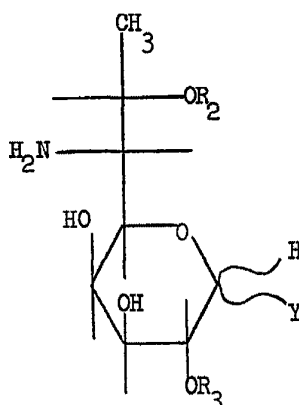
5



LV

que pueden alquilarse por el procedimiento indicado anteriormente pa
ra proporcionar compuestos de la fórmula:

10



LVI

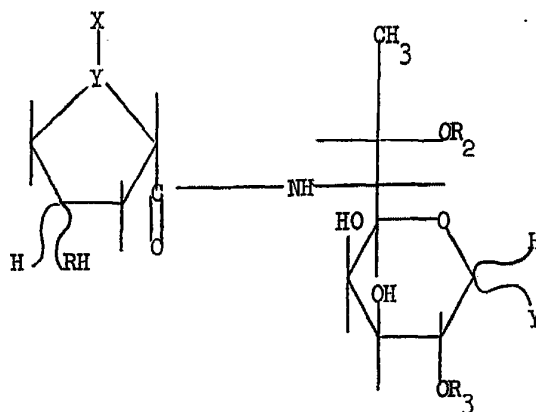
15

20

Así pueden obtenerse compuestos 6-amino-6,8-dideoxi-L-treo-D-galacto-;
6-amino-2-O-alkilo-6,8-dideoxi-L-treo-D-galacto-; 6-amino-7-O-alkil-
6,8-dideoxi-L-treo-D-galacto-; y 6-amino-2,7-di-O-alkil-6,8-dideoxi-
L-treo-D-galacto-octopiranososa que a su vez pueden tratarse por el pro
cedimiento de Ejemplo 1, parte C y siguientes, para dar compuestos de
la fórmula:



5



LVII

10

en donde $X = Z$ o R_1 como se indica anteriormente e Y, R, R_2 y R_3 son como se indica anteriormente.

15

Los intermedios de fórmula III pueden usarse como un amortiguador o como un antiácido. Ellos reaccionan con isocianatos para formar uretanos y pueden usarse para modificar resinas de poliuretano. La sal por adición de ácido tiocianico cuando se condensa con formaldehido forma materiales resinosos útiles como inhibidores de la corrosión de acuerdo con las Patentes E.U.A. 2,425,320 y 2,606,155. Las bases libres también constituyen buenos vehículos para ácidos tóxicos. Por ejemplo las sales por adición de ácido fluosilícico son útiles como agentes contra la polilla, de acuerdo con Patentes E.U.A. 1,915,334 y 2,075,359 y las sales por adición de ácido hexafluoroarsénico y ácido hexafluorofosfórico son útiles como parasiticidas de acuerdo con las patentes E.U.A. 3,122,536 y 3,122,552.

20

25

Varias sales por adición de ácido de la forma base libre de los intermedios de fórmula III pueden prepararse neutralizando la base libre con el ácido apropiado hasta un pH por debajo de 7.0, y -



5 ventajosamente de aproximadamente pH 2 a pH 6. Acidos adecuados -
para este propósito incluyen el ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfó-
rico, tiociánico, fluosilícico, hexafluoroarsénico, hexafluorofosfó-
rico, acético, succínico, cítrico, láctico, maléico, fumárico, pamó-
ico, cólico, palmítico, mícico, camfórico, glutárico, glicólico, -
ftálico, tartárico, láurico, esteárico, salicílico, 3-fenilsalicíli-
co, 5-fenilsalicílico, 3-metilglutárico, ortosulfobenzóico, ciclo--
hexanosulfámico, ciclopentanopropiónico, 1,2-ciclohexanodicarboxíli-
co, 4-ciclohexenocarboxílico, octadecenilsuccínico, octenilsuccíni-
co, metanosulfónico, benzenosulfónico, heliántico, de Reinecke, di-
10 metilditiocarbámico, ciclohexilsulfámico, hexadecilsulfámico, octa-
decilsulfámico, sórbico, monocloroacético, undecilénico, 4'-hidroxi-
azobenceno-4-sulfónico, octildecilsulfúrico, pícrico, benzóico, ci-
námico, y ácidos semejantes.

15 Las sales por adición de ácido pueden usarse para los mis-
mos propósitos que la base libre o pueden emplearse para mejorar la
misma. Por ejemplo, la base libre puede convertirse en una sal in-
soluble, tal como el picrato, que puede someterse a procedimientos
de purificación, por ejemplo, extracciones y lavados con solvente,
20 cromatografía, extracciones fraccionadas líquido-líquido, y crista-
lización y luego usarse para regenerar la forma de base libre - - -
por tratamiento con álcali o para hacer una sal diferente por metá-
tesis. O la base libre puede convertirse en una sal soluble en agua,
tal como el clorhidrato o sulfato y la solución acuosa de la sal -
25 extraerse con varios solventes no miscibles en agua antes de regene



316092

2062A

rar la forma de base libre por tratamiento de la solución ácida así extraída o convertirse en otra sal por metátesis.

Compuestos típicos preparados de acuerdo con Ejemplos 4, 8, y 9 incluyen ambas formas cis y trans de los siguientes compuestos; de acuerdo a cada una de las fórmulas XXXVII, XXXVIII, XLV, y XLVII.

TABLA I

	<u>RH</u>	<u>R₁</u>	<u>R₄</u>	<u>Alquilo</u>
	a)	CH ₃	H	CH ₃
10	b)	CH ₃	CH ₃	CH ₃
	c)	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₃
	d)	C ₂ H ₅	H	C ₂ H ₅
	e)	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
15	f)	n-C ₃ H ₇	H	C ₂ H ₅
	g)	n-C ₃ H ₇	CH ₃	C ₂ H ₅
	h)	n-C ₄ H ₉	H	CH ₃
	i	n-C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃
20	j)	n-C ₄ H ₉	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	k)	n-C ₄ H ₉	H	C ₂ H ₅
	l)	n-C ₄ H ₉	CH ₃	C ₂ H ₅
	m)	CH ₃	H	H
25	n)	CH ₃	CH ₃	H

316092

TABLA I (Continuación)

	<u>RH</u>	<u>R₁</u>	<u>R₄</u>	<u>Alquilo</u>
	o) CH ₃	CH ₃	CH ₃	
	p) C ₂ H ₅	H	H	
5	q) C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	
	r) n-C ₃ H ₇	H	H	
	s) n-C ₃ H ₇	CH ₃	H	
	t) n-C ₃ H ₇	CH ₃	CH ₃	
10	u) n-C ₄ H ₉	H	H	
	v) n-C ₄ H ₉	CH ₃	H	
	y) n-C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃	

Compuestos típicos preparados de acuerdo con Ejemplos 5, 6, y 7 incluyen ambas formas cis y trans de los compuestos siguientes de acuerdo con las fórmulas XL, XLII, y XLIV.

TABLA II

	<u>RH</u>	<u>R₁</u>
	a) CH ₃	H
20	b) CH ₃	CH ₃
	c) CH ₃	C ₂ H ₅
	d) C ₂ H ₅	H
	e) C ₂ H ₅	CH ₃



TABLA II (Continuación)

	<u>RH</u>	<u>R₁</u>
	f) C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	g) n-C ₃ H ₇	H
5	h) n-C ₃ H ₇	CH ₃
	i) n-C ₃ H ₇	C ₂ H ₅
	j) n-C ₄ H ₉	H
	k) n-C ₄ H ₉	CH ₃
10	l) n-C ₄ H ₉	C ₂ H ₅

Compuestos típicos de acuerdo con las fórmulas XLIX y L preparados de acuerdo con Ejemplo 10 incluyen cada uno de los compuestos que figuran en lista anteriormente, en los cuales el 2-O-hidrógeno (R₇), y el 7-O-hidrógeno (R₆), y los 2-O- y 7-O-hidrógenos (R₇ y R₆) son reemplazados por alquilo, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo y las formas isómeras de los mismos.

Compuestos típicos de acuerdo con la fórmula LVII incluyen cada uno de los compuestos anteriores en la configuración L-treo.

Ejemplo 12 Conversión de clorhidrato de lincomicina en el S-etil análogo de clorhidrato de lincomicina

Se disolvió clorhidrato de lincomicina (8.85 g, 0.02 mol) en 20 ml de agua, se enfrió hasta 0° y se revolvió mientras se agre



316092

gaba bromo (3.52 g, 0.022 mol) gota a gota durante un período de un minuto. Se agregó etanotiol (25 ml) y la mezcla se revolvió a 25° durante dos horas. El sistema de dos fases claro, incoloro (el etanotiol es relativamente insoluble en agua), se enfrió en un baño de hielo y se burbujeó gas cloruro de hidrógeno en él durante unos cinco minutos. La fase acuosa inferior se tornó roja. La mezcla de reacción fue entonces extraída tres veces con porciones de 100 ml de Skellysolve B (hexano técnico) y se agregó solución acuosa de hidróxido de sodio para llevar la fase acuosa a pH 11. La fase básica se extrajo bien con cloroformo. Los extractos clorofórmicos se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio, se secaron y se evaporaron bajo vacío para dar 6.2 g de un sólido blanco. De este sólido, 4.8 g se adsorbió en 15 g de sílica gel en cloruro de metileno, se secó y se tamizó sobre una columna de 2-1/2 pulgadas de diámetro de 800 g de sílica gel. La columna fue entonces eluída con una mezcla de metanol y cloroformo en las proporciones de 1 a 7. Después de una primera fracción de 800 ml, se recolectaron 80 fracciones de 25 ml. Las fracciones entre 40 a 58 se mezclaron, se evaporaron hasta sequedad, y el residuo se recrystalizó de acetona. Se obtuvo aproximadamente 0.5 g de 6,8-dideoxi-6-trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidinacarboxamido)-D-eritro-D-galacto-aldehído-octosa dietil ditioacetal de la fórmula siguiente:

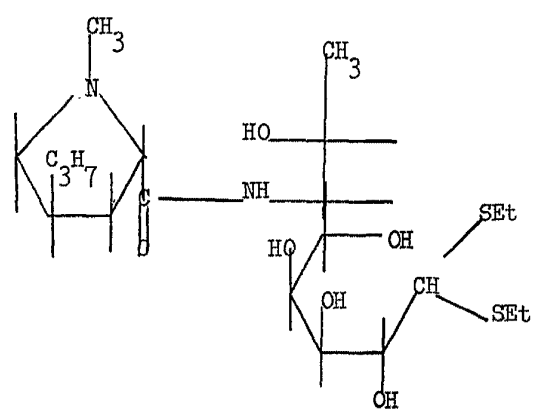


3 AGO

2062A

316092

-101-



5

Análisis calculado para C₂₁H₄₂N₂O₆S₂:

10

C, 52.25; H, 8.77; N, 5.80; S, 13.29.

Hallado: C, 52.16; H, 8.77; N, 5.84; S, 13.30.

De las fracciones 65 a la 75 se mezclaron, se evaporaron hasta sequedad y el residuo se convirtió en la sal clorhidrato y se recristalizó de acetona acuosa para dar aproximadamente 0.5 g -

15 del S-etil análogo del clorhidrato de lincomicina, clorhidrato de etil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidinocarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido; $[\alpha]_D^{25} + 147^\circ$ (c = 1.1206 en H₂O).

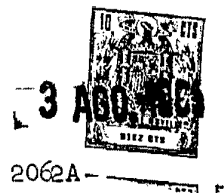
Análisis calculado para C₁₉H₃₆N₂O₆S.HCl:

20

C, 49.93; H, 8.16; Cl, 7.76; N, 6.13; S, 7.01.

Hallado: C, 49.53; H, 8.23; Cl, 7.39; N, 6.04; S, 6.88.

Este producto tenía una actividad antibacteriana de unas dos veces la lincomicina y fue idéntica al S-etil análogo de lincomicina (lincomicina C) preparado llevando a cabo la fermentación de



acuerdo con la Patente E.U.A. 3,086,912 en presencia de un agregado de etionina.

Ejemplo 13 Conversión del clorhidrato de lincomicina en el S-iso propil análogo del clorhidrato de lincomicina

5 Se disolvió clorhidrato de lincomicina (35.4 g, 0.08 mol) en 80 ml de agua, se enfrió hasta 0° C y se revolvió mientras se agregaba bromo (14.08 g, 0.088 mol) gota a gota durante un período de 5 minutos. Se agregó 2-propanotiol (80 ml) y 1400 ml de tetrahidrofurano y se hizo burbujear gas cloruro de hidrógeno en él, vigorosamente hasta que la temperatura de reacción llegó hasta 43° C. A esta temperatura las dos fases del sistema se hicieron homogéneas. El agregado del gas cloruro de hidrógeno se suspendió y la solución de reacción se revolvió sin calentar externamente o enfriando durante dos horas. El tetrahidrofurano se destiló bajo vacío y el residuo acuoso se procesó como se describe en Ejemplo 12 para dar el S-isopropil análogo de clorhidrato de lincomicina. Este compuesto exhibía aproximadamente la misma actividad antibacteriana que el clorhidrato de lincomicina y tenía una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 137^\circ$ (c = 0.6798, H₂O), y el siguiente análisis elemental:

20 Análisis calculado para C₂₀H₃₈N₂O₆S.HCl:

C, 50.99; H, 8.35; N, 5.95; S, 6.81; Cl, 7.53.
Hallado: C, 51.23; H, 8.39; N, 5.92; S, 7.02; Cl, 7.58.

Ejemplo 14

25 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 13 sustituyendo el etanotiol por butanotiol, se obtiene el S-butil análogo de clorhidra



to de lincomicina. Este producto tenía una actividad antibacteriana de aproximadamente 2 veces la de lincomicina, una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 130^\circ$ ($c = 0.4070$, H_2O), y el siguiente análisis elemental:

5 Análisis calculado para $C_{21}H_{40}N_2O_6S.HCl$:

C, 51.99; H, 8.52; N, 5.78, S, 6.61.

Hallado: C, 50.64; H, 8.33; N, 5.68; S, 6.41.

Ejemplo 15

10 Siguiendo el procedimiento de Ejemplo 13 substituyendo el etanotiol por ciclohexanotiol, se obtiene el S-ciclohexil análogo de clorhidrato de lincomicina. Este compuesto tenía una actividad antibacteriana aproximadamente dos veces la de lincomicina, una rotación óptica de $[\alpha]_D^{25} + 123^\circ$ ($c = 0.9952$, H_2O), y el siguiente análisis elemental:

15 Análisis calculado para $C_{23}H_{42}N_2O_6S.HCl$:

C, 54.04; H, 8.48; N, 5.48; S, 6.27, Cl, 6.94.

Hallado: C, 53.57; H, 8.74; N, 5.37; S, 6.25; Cl, 6.66.

20 Sustituyendo los alcanotioles de Ejemplos 12, 13, y 14 por otros alcanotioles, por ejemplo, propano-, pentano-, hexano-, heptano-, octano-, nonano-, decano-, undecano-, y dodecanotiol y sus formas isómeras, se obtienen los correspondientes alquil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidinocarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octanopiranosidos.

25 Por hidrazinolisis, o aplicando los pasos del procedimiento anterior al clorhidrato libre de azúcar que no lleva grupo acilo

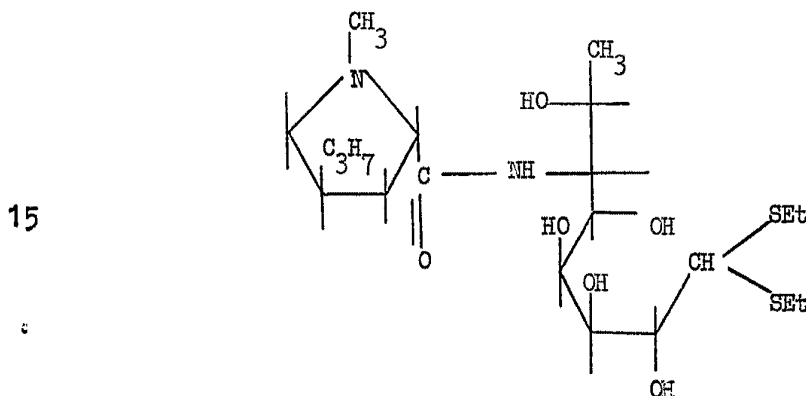


en el grupo amino en la posición 6, se obtienen los correspondientes alquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos.

5 La lincomicina C también se obtiene haciendo reaccionar - lincomicina con etanotiol (etil mercaptan) para formar un dietil ditioacetal y calentando este último en presencia de ácido p-tolueno-sulfónico o por calentamiento hasta fusión. El ejemplo siguiente - es ilustrativo.

Ejemplo 16

10 A. 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidinocarbo-xamido)-D-eritro-D-galacto-aldehído-octosa dietil ditioacetal



20 En un frasco de un litro, con tres cuellos, se colocaron ácido clorhídrico concentrado (150 cc) y etanotiol (50 cc, previamente enfriado hasta 0°), seguido por clorhidrato de lincomicina (15.0 gm). - Después de revolver magnéticamente a temperatura ambiente durante - 5 horas, la mezcla de reacción se diluyó con un volumen igual de - agua helada, y la solución se extrajo completamente con Skellysolve

316092

B (hexano técnico), descartándose estos extractos.

La mayor parte del ácido se neutralizó por el agregado -
cuidadoso de hidróxido de potasio sólido (100 gm), manteniendo la -
temperatura de la mezcla de reacción bien revuelta entre 20 y 30° C
5 por enfriamiento en acetona-Hielo Seco. El cloruro de potasio sólido se separó por filtración, y el sólido se lavó bien con cloroformo. Se agregó cloroformo adicional al filtrado (unos 150 cc) y la mezcla, revuelta magnéticamente, se ajustó hasta pH 10 por agregado de hidróxido de sodio acuoso (2 N). La capa clorofórmica se separó,
10 la capa acuosa se extrajo completamente con cloroformo, los extractos combinados se lavaron dos veces con agua, y secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Por separación del solvente a 30° C al vacío se obtuvo un residuo semi sólido que por cristalización de acetona -
dió 5.41 gm de 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidino
15 carboxamido)-D-eritro-D-galacto-aldehido-octosa dietil ditioacetal, como agujas incoloras aplanadas, punto de fusión 130-132°. Por concentración de los licores madre dió material adicional (1.50 gm), -
punto de fusión 129-131°. (Rendimiento total, 6.91 gm, 42.4%).

Análisis calculado para $C_{21}H_{42}N_2O_6S_2$:

20 C, 52.25; H, 8.77; N, 5.80; S, 13.29%.

Hallado: C, 52.38; H, 8.71; N, 5.93; S, 13.46%.

B. Ciclización a Lincomicina C

(a) Una parte del dietil ditioacetal de Parte A y otra de ácido p-toluenosulfónico monohidratado se refluja en 25 partes de acetoneitrilo hasta que se obtuvo una cantidad antibacteriana apreciable.
25



la mezcla de reacción se enfrió y se evaporó hasta sequedad y se cromatografió sobre sílica gel usando una mezcla sol-
vente de acetato de etilo, acetona y agua en la proporción
de 8:5:1, respectivamente. Las fracciones 102 a 131 muestra-
5 ron actividad antibacteriana. De estas fracciones, se mezcla-
ron las fracciones 105 a 125, se evaporaron hasta sequedad, se
cristalizaron de acetona, se acidificaron con ácido clorhídri-
co y se recrystalizaron disolviendo en agua y agregaron ace-
tona para dar cristales de clorhidrato de lincomicina C, pun-
10 to de fusión 149-153°.

(b) El dietil ditiacetil de Parte A se calen-
tó hasta 260° durante unos 3 minutos y se notó el olor de etil
mercaptan. El producto por cromatografía como en parte B (a)
dió lincomicina C.

15 Habiéndose ya descrito el invento según las
circunstancias y el texto anteriormente mencionado, hacemos
constar que tal invento se considera como una novedad absolu-
ta, y por lo tanto en las reivindicaciones que posteriormente
se reacionan, se reclama la propiedad del invento mencionado
20 con arreglo a las cláusulas y puntos que se indicarán en las
mismas, sin merma ni menoscabo de ninguna clase.

Por lo tanto recabamos la propiedad de la in-
vención sobre las reivindicaciones siguientes:



316092

N O T A.-

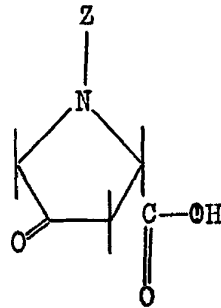
=====

La presente patente de invención, comprende las siguientes reivindicaciones:

5

1.- Proceso para producir lincomicina, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de la fórmula:

10



(A)

15

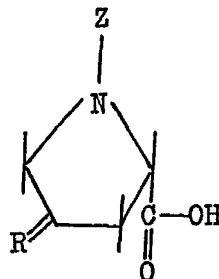
en donde Z es un grupo protector que puede separarse por hidrogenolisis con un reactivo Wittig de la fórmula



20

en donde R es un miembro del grupo constituido por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono para formar un compuesto de la fórmula

25

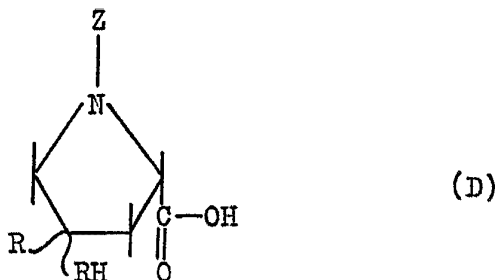


(C)

316092 

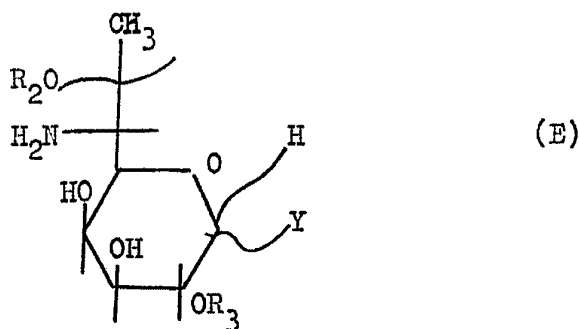
en donde Z y R son como se indica anteriormente; hidrogenar el compuesto de fórmula C sobre un catalizador de platino para saturar el grupo alquilideno para formar un compuesto de la fórmula

5



10 en donde Z y R son como se indica anteriormente; n-acilar con un compuesto de Fórmula D un compuesto de la fórmula

15

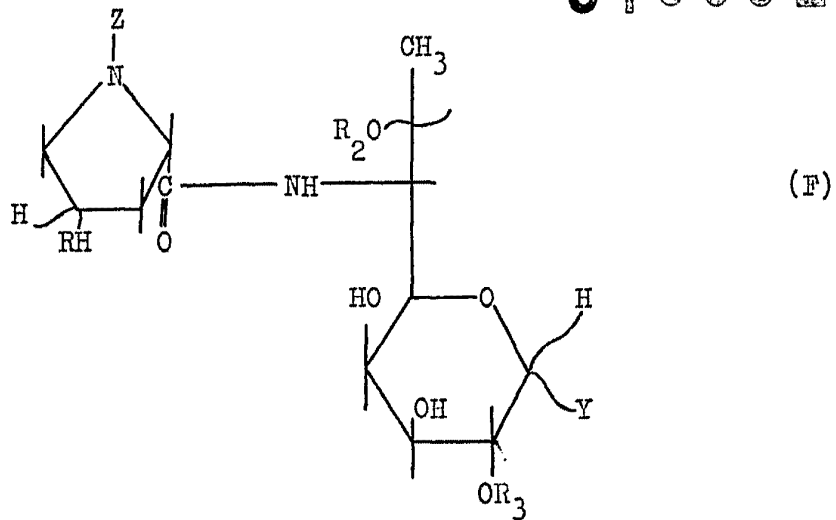


en donde R_2 y R_3 son miembros del grupo constituido por hidrógeno y alquilo de no más de 12 átomos de carbono, Y es un miembro del grupo constituido por hidrógeno, -S-alquilo de no más de 12 átomos de carbono, $-SCH_2CH_2OH$, y $-SCH_2CH_2OR_4$, en donde R_4 es alquilo de no más de 12 átomos de carbono, para formar un compuesto de la fórmula:



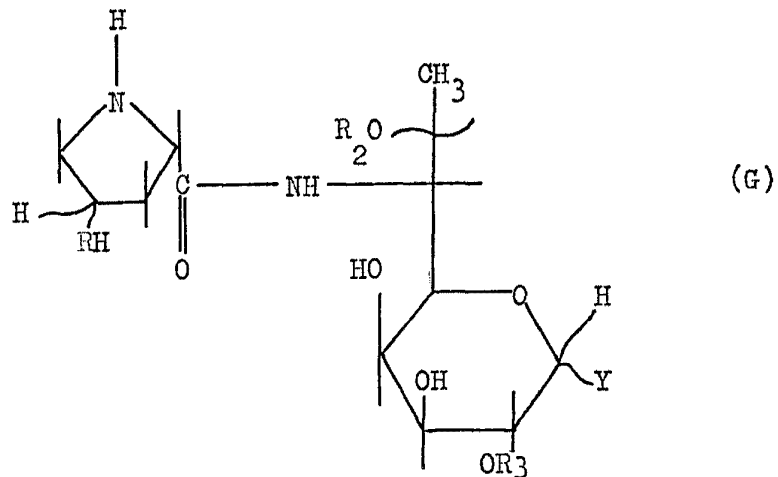
316092

5



10 en donde R, R₂, R₃, Y y Z son como se indica anteriormente;
hidrogenar el compuesto de fórmula F sobre un catalizador de
paladio para separar el grupo Z y para formar un compuesto de
fórmula

15



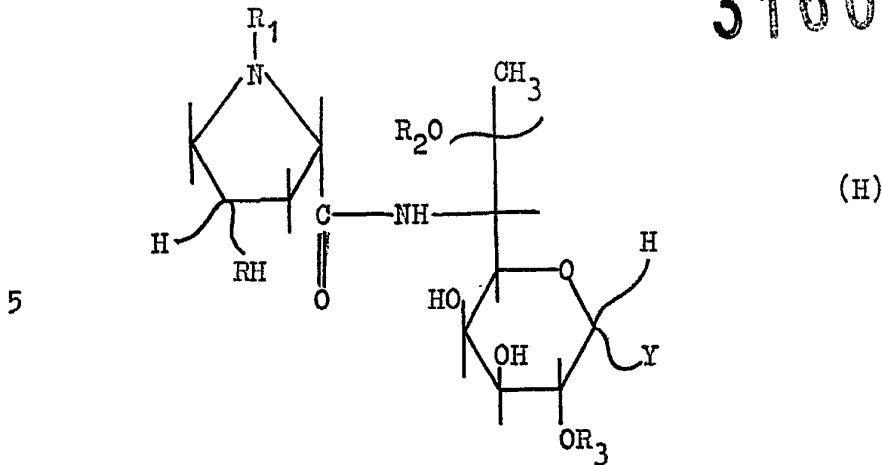
20

25

en donde R, R₂, R₃ e Y son como se indica anteriormente, y al-
quilar el compuesto de fórmula C para dar un compuesto de la fór-
mula

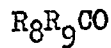


316092



10 en donde R, R₂, R₃, e Y son como se indica anteriormente y R₁ es un miembro del grupo constituido por alquilo de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilo de no más de 8 átomos de carbono y aralquilo de no más de 12 átomos de carbono.

15 2.- Procedo, según la reivindicación 1, caracterizado porque la alquilación se efectúa por reacción del compuesto de Fórmula G con un oxo compuesto de la fórmula



20 en donde R₈R₉C= es un miembro del grupo constituido por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono, y entonces hidrogenar en presencia de un catalizador efectivo para saturar un doble enlace olefínico.

25 3.- Proceso, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de la fórmula A con un reactivo Wittig de fórmula B para formar un compuesto de fórmula C; hidrogeno-



316092

nar el compuesto de fórmula C sobre un catalizador de platino para saturar el grupo alquilideno para formar un compuesto de fórmula D; N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula D para formar un compuesto de Fórmula F; e hidrogenar el compuesto de fórmula F sobre un catalizador paladio para separar el grupo Z y para formar un compuesto de fórmula G, en donde R, R₂, R₃, Y, y Z son como se indica en reclamación 1.

4.- Proceso, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula A con un reactivo Wittig de fórmula B para formar un compuesto de fórmula C; hidrogenar el compuesto de fórmula C sobre un catalizador de platino para saturar el grupo alquilideno para formar un compuesto de fórmula D; N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula D para formar un compuesto de fórmula F; en donde R, R₂, R₃, Y y Z son como se indica en la reclamación 1.

5.- Proceso, caracterizado porque consiste en hidrogenar con un catalizador de platino un compuesto de fórmula C para formar un compuesto de fórmula D; N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula D para formar un compuesto de fórmula F; hidrogenar el compuesto de fórmula F sobre un catalizador de paladio para separar el grupo Z y para formar un compuesto de fórmula G; y alquilar el compuesto de fórmula G para formar un compuesto de fórmula H, en donde R, R₁, R₂, R₃, Y y Z son como se indica en reclamación 1.

6.- Proceso, según la reivindicación 5, caracterizado porque la alquilación se efectúa haciendo reaccionar el com

3 AGO



5 puesto de fórmula G con un oxo compuesto de la fórmula R_8R_9CO en donde $R_8R_9C=$ es un miembro del grupo constituido por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono, y entonces hidrogenar en presencia de un catalizador efectivo para saturar un doble enlace olefínico.

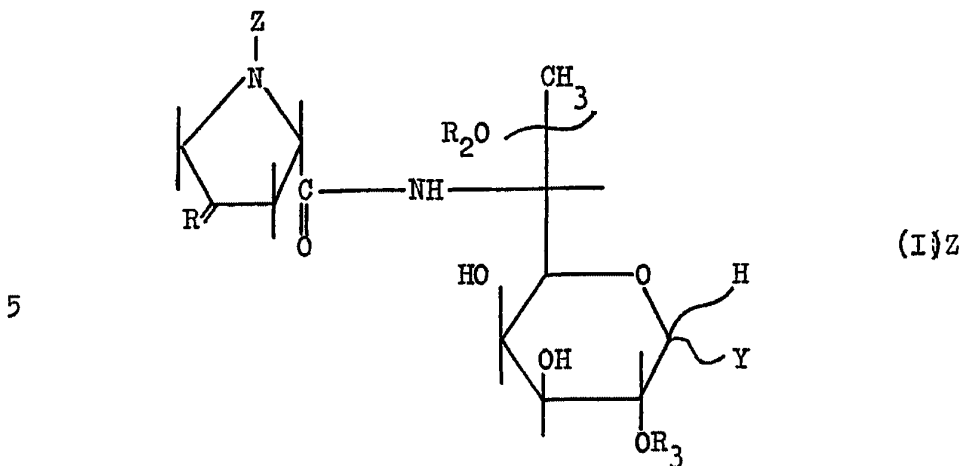
7.- Proceso, caracterizado porque consiste en hidrogenar sobre un catalizador de platino un compuesto de fórmula G para formar un compuesto de fórmula D; N-acilar un compuesto de fórmula E con el compuesto de fórmula D para formar un compuesto de fórmula F; e hidrogenar el compuesto de fórmula F sobre un catalizador de paladio para separar el grupo Z y para formar un compuesto de fórmula G, en donde R, R_2 , R_3 , Y, y Z son como se indica en reclamación 1.

15 8.- Proceso, caracterizado porque consiste en hidrogenar sobre un catalizador de platino un compuesto de fórmula C para formar un compuesto de fórmula D y N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula D para formar un compuesto de fórmula E, en donde R, R_2 , R_3 , Y, y Z son como se indica en reclamación 1.

20 9.- Proceso, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula A con un reactivo Wittig de fórmula B para formar un compuesto de fórmula C; N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula C
25 para formar un compuesto de fórmula



316092



10 hidrogenar el compuesto de fórmula I para saturar el doble enlace olefínico conectando el grupo alquilideno y para separar el grupo Z para formar un compuesto de fórmula G y alquilar el compuesto de fórmula G para formar un compuesto de fórmula H, en donde R, R₁, R₂, R₃, Y, y Z son como se indica en reclamación 1.

15 10.- Proceso, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula A con un reactivo Wittig de fórmula B para formar un compuesto de fórmula C; N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula C para formar un compuesto de fórmula I; hidrogenar el compuesto de fórmula I para saturar el doble enlace olefínico conectando el grupo alquilideno y para separar el grupo Z para formar un compuesto de fórmula G, en donde R, R₂, R₃, Y y Z son como se indica en reclamación 1.

25 11.- Proceso, caracterizado porque consiste en N-acilar un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula C para formar un compuesto de fórmula I; e hidrogenar el compues-

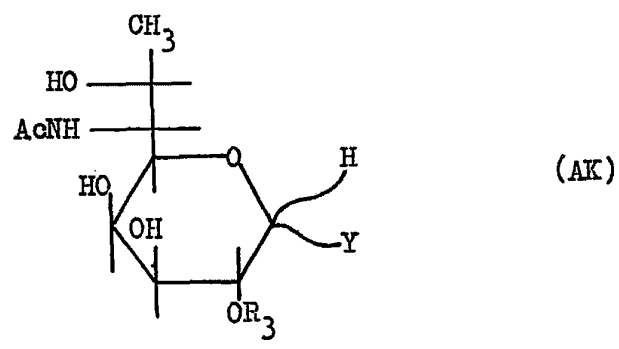
3 AGO 1950

to de fórmula I para saturar el doble enlace olefinico conectando el grupo alquilideno y para separar el grupo Z para formar un compuesto de fórmula G, en donde R, R₂, R₃, Y, y Z son como se indica en reclamación 1.

5

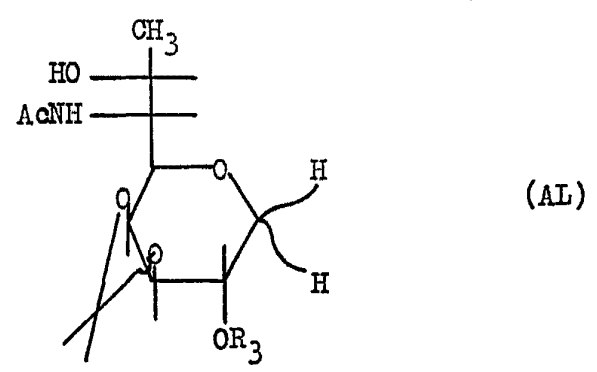
12.- Proceso, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar un compuesto de la fórmula:

10



con acetona para formar un compuesto de la fórmula:

15



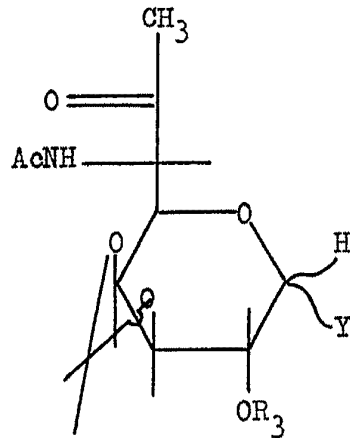
20

oxidar con ácido crómico el compuesto de la fórmula AL para formar un compuesto de la fórmula:



316092

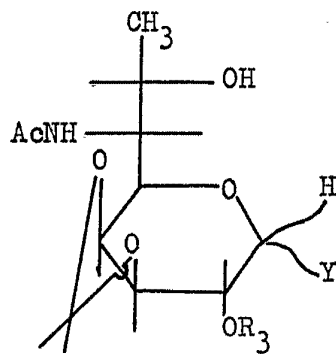
5



(AM)

10 convertir el compuesto obtenido en un compuesto de la fórmula:

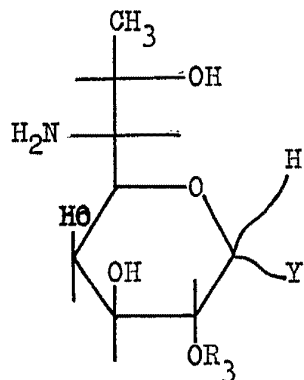
15



(AN)

20 por una reducción con borohidruro, y separar el grupo isopropi-
lideno por hidrólisis ácida, y el grupo Ac por hidrazinolisis
para formar un compuesto de la fórmula:

25



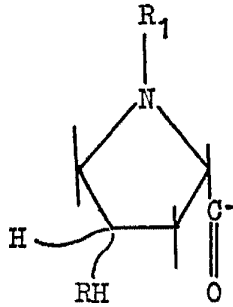
(AO)

316092



en donde R_3 es un miembro del grupo constituido por hidrógeno y alquilo de no más de 12 átomos de carbono; Ac es un miembro del grupo constituido por alcanilo y aralcanilo de no más de 12 átomos de carbono y acilo de la fórmula:

5



(AP)

10

en donde R es un miembro del grupo constituido por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono y R_1 es un miembro del grupo constituido por hidrógeno, alquilo de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilo de no más de 12 átomos de carbono; e Y es un miembro del grupo constituido por hidrógeno, -S-alquilo de no más de 12 átomos de carbono, -S-CH₂CH₂OH, y -S-CH₂CH₂-O alquilo en donde el alquilo es de no más de 12 átomos de carbono.

15

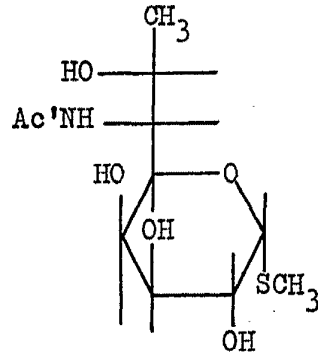
20

13.- Proceso, caracterizado porque consiste en desulfurar con cloruro mercurico un compuesto de la fórmula:



316092

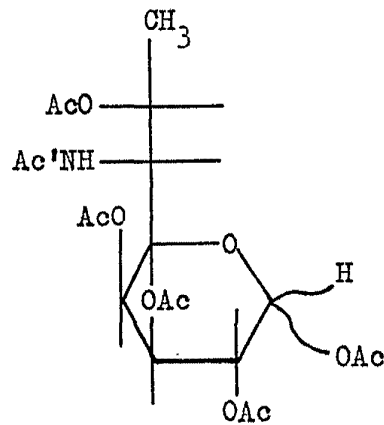
5



(AW)

y acilar el producto resultante para formar un compuesto de la fórmula:

10

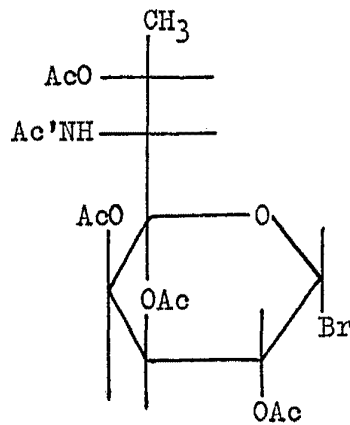


(AX)

15

bromar con HBr para formar un compuesto de la fórmula:

20



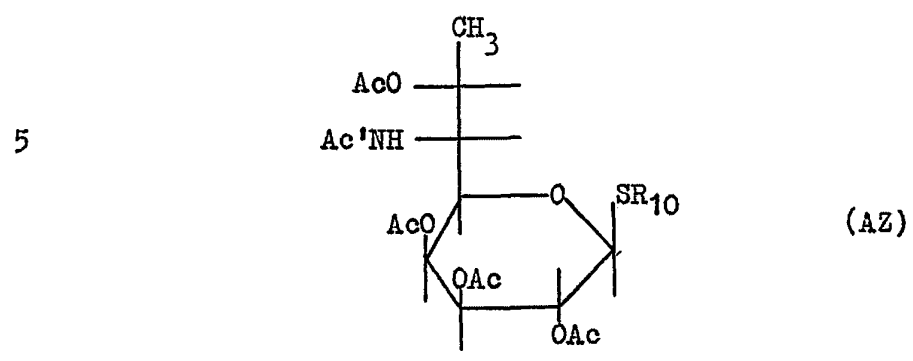
(AY)

25

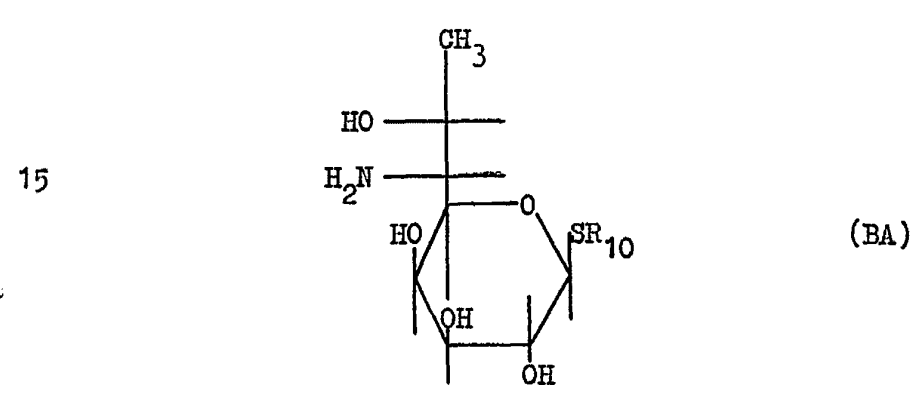
10
3 AGO 1965
REC 675

316092

tioalquilar con tiourea y un compuesto de la fórmula R_{10} -halógeno para formar un compuesto de la fórmula:



10 hidrolizar los grupos Ac e hidrazinolizar el grupo Ac' para formar un compuesto de la fórmula:



20 en donde Ac y Ac' son miembros del grupo constituido por alcanóilo y aralcanóilo de no más de 12 átomos de carbono y alquilo de no más de 12 átomos de carbono, y R_{10} es un miembro del grupo constituido por alquilo de no más de 12 átomos de carbono, $-CH_2CH_2OH$, y $-CH_2CH_2OR_4$ en donde R_4 es alquilo de no más de 12 átomos de carbono.

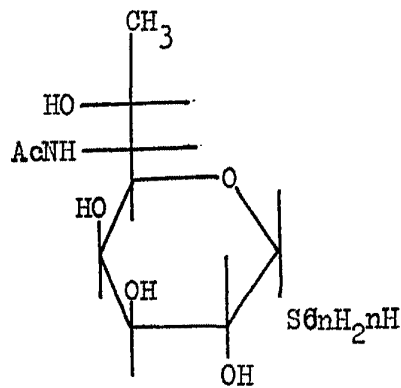
25



316092

14.- Proceso, caracterizado porque consiste en acilar un compuesto de la fórmula:

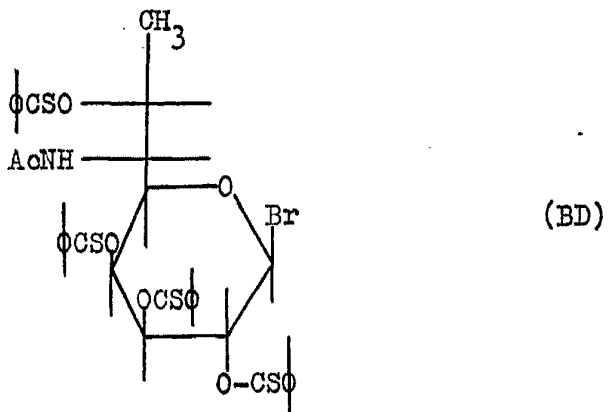
5



10

con haluro de tiobenzoylo para formar el tetracionbenzoato, bromar el tetracionbenzoato para formar un compuesto de la fórmula:

15

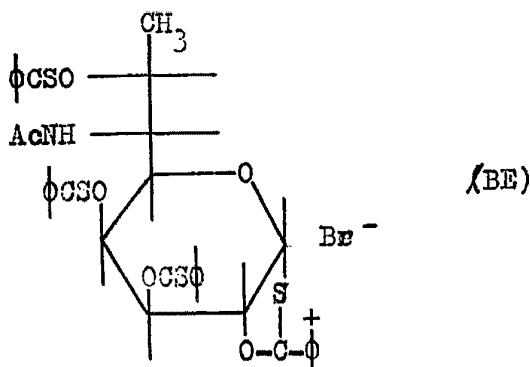


20

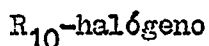
calentar el compuesto resultante en acetona en ausencia de agua para formar un compuesto de la fórmula:



5



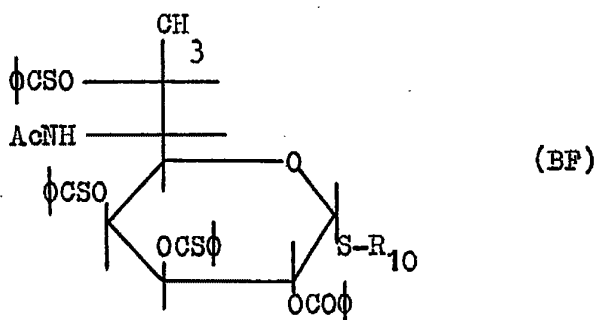
alquilar el compuesto resultante con un compuesto de la fórmula:



10

en presencia de base suave para formar un compuesto de la fórmula:

15



20

en donde Ac es un miembro del grupo constituido por alcanóilo y aralcanóilo de no más de 12 átomos de carbono, n es un número entero de 1 a 2, y R₁₀ es un miembro del grupo constituido por alquilo de no más de 12 átomos de carbono que es diferente del alquilo de partida -C_nH₂nH, -CH₂CH₂OH, y -CH₂CH₂OR₄ en donde R₄ es alquilo de no más de 12 átomos de carbono.

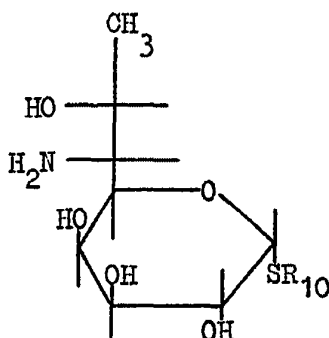
25



316092

15.- Proceso, según la reivindicación 14, caracterizado porque el compuesto de fórmula BF se somete a hidrazinolisis para formar un compuesto de fórmula:

5



(BG)

10

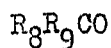
en donde R₁₀ es como se indica en la reivindicación 14.

16.- Proceso, caracterizado porque para preparar un compuesto de fórmula H, se alquila un compuesto de fórmula G en donde R, R₁, R₂, R₃ e Y son como se indica en la reivindicación 1:

15

17.- Proceso, según la reivindicación 16, caracterizada porque la alquilación se efectúa haciendo reaccionar el compuesto de fórmula G con un oxo compuesto de la fórmula

20



en donde R₈R₉C= es un miembro del grupo constituido por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloalquilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono y entonces hidrogenar en presencia de un catalizador efectivo para saturar un doble enlace olefínico.

25

316092



18.- Proceso para producir lincomicina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva, la cual consta de cinco veintidós hojas escritas y foliadas por una sola cara.

Madrid, a 3 AGO. 1965

CARLOS ROEB