



32275

322754

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

p o r

" PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS COMPUESTOS DE LINCOMICINA "

---

PRIORIDAD: Solicitud patente U.S.A. Serial nº 431.184 del 8 - 2 - 1965, y  
" " U.S.A. Serial nº 511.288 del 1 -12 - 1965.

---

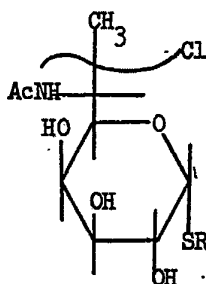
INVENTORES: D. Robert David Birkenmeyer, y  
D. Fred Kagan;  
ambos de nacionalidad norteamericana.

---

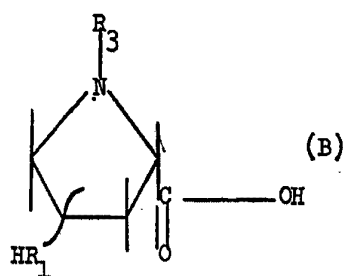
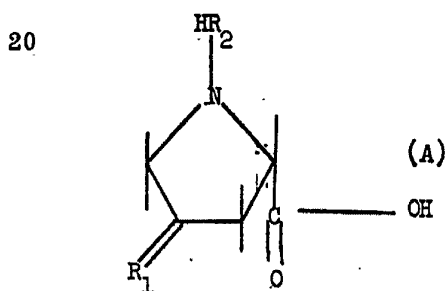


1 Esta invención se refiere a nuevos compuestos y a procesos para la preparación de los mismos, y se refiere particularmente a 7-cloro-7-deoxilincomicina, y 7-cloro-7-deoxiepilincomicina, y a sus análogos e isómeros y a procesos por medio de los cuales se producen esos compuestos y semejantes.

5 Los nuevos compuestos de la invención pueden representarse por la siguiente fórmula estructural:



15 en donde R es alquilo de no más de 20 átomos de carbono, ventajosamente no más de 8 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilo de no más de 12 átomos de carbono, ventajosamente no más de 8 átomos de carbono; y Ac es el radical acilo de un ácido L-2-pirrolidinocarboxílico 4-sustituído de la fórmula



25

322754

-3-



1980B

1 en donde  $R_1$  y  $R_2$  son alquilideno de no más de 20 átomos de carbono (incluyendo metileno), ventajosamente de no más de 8 átomos de carbono, cicloalquilideno de desde 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono, ventajosamente de no más de 8 átomos de carbono; y  $R_3$  es hidrógeno o  $HR_2$ .

5 Ejemplos de alquilo de no más de 20 átomos de carbono -- ( $R$ ,  $HR_1$ , y  $HR_2$ ) son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicosilo y sus formas isómeras. Ejemplos de cicloal-

10 quilo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 2-metilciclobutilo, y 3-ciclopentilpropilo. Ejemplos de aralquilo son bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y 1-naftilmetilo. --

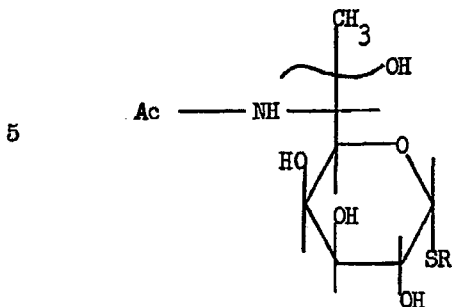
15 Ejemplos de grupos alquilideno, cicloalquilideno, y aralquilideno ( $R_1$  y  $R_2$ ) incluyen metileno, etilideno, propilideno, butilideno, pentilideno, hexilideno, heptilideno, octilideno, nonilideno, decilideno, undecilideno, dodecilideno, tridecilideno, tetradecilideno, pentadecilideno, hexadecilideno, heptadecilideno, octadecilideno, nonadecilideno, eicosilideno, y sus formas isómeras, ciclopropilideno, ciclobutilideno, ciclopentilideno, ciclohexilideno, cicloheptilideno, ciclooctilideno, 2-ciclopropiletilideno, 3-ciclopentilpropilideno, bencilideno, 2-feniletilideno, 3-fenilpropilideno, y 1-naftilmetileno.

20

25



1 Los nuevos compuestos de la invención, Fórmula I, como - -  
 también otros compuestos relacionados, pueden prepararse reemplazando  
 do por cloro, el 7-hidroxi de un compuesto de la fórmula



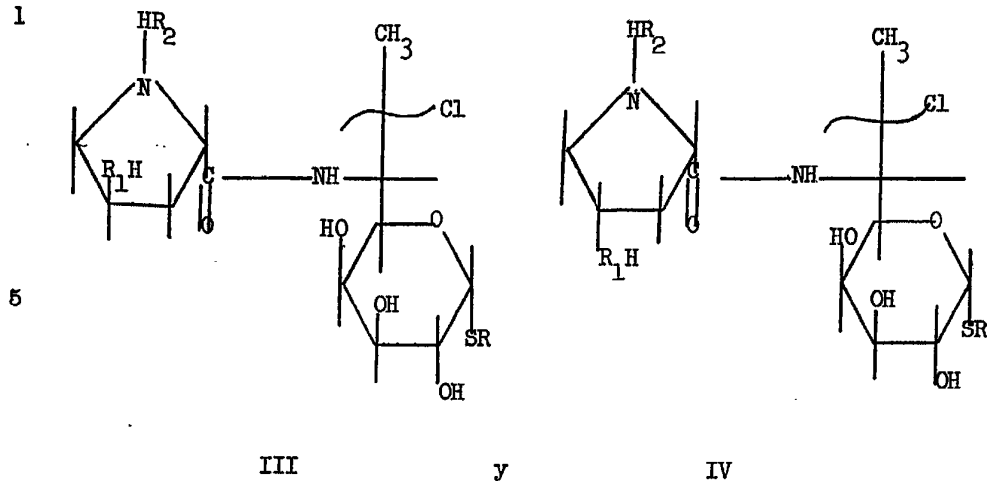
10 El reemplazo se efectúa ventajosamente mezclando el compuesto de -  
 partida de Fórmula II con cloruro de tionilo y calentando. En el  
 proceso, Ac y R pueden ser cualquier radical que no sea reactivo con  
 cloruro de tionilo, pero para la preparación de compuestos de la -  
 invención, Ac y R son como se indica anteriormente. Por ejemplo, -  
 cuando un compuesto de Fórmula IIA (Ac en Fórmula II es aquél del -  
 15 ácido de Fórmula A) se usa como el compuesto de partida, se obtiene  
 un nuevo compuesto de Fórmula IA. Cuando este compuesto o el com-  
 puesto de partida (Fórmula IIA) se hidrogena con un catalizador efec-  
 tivo para saturar un doble enlace olefínico, se obtiene un compues-  
 to de Fórmula IB como una mezcla de los epímeros cis y trans de - -  
 20 acuerdo con las fórmulas

322754-8



1980B

-5-



10 los que, si se desea, pueden separarse por distribución en contra corriente o cromatografía.

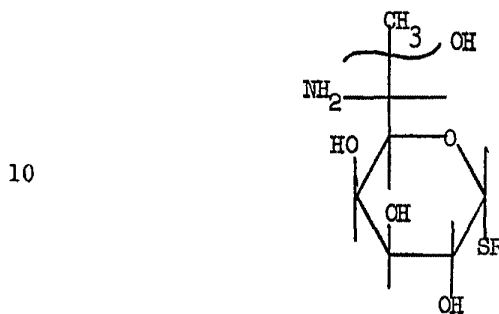
Cuando  $R_3$  de Fórmulas B, IB, y IIB es hidrógeno, puede ser reemplazado por alquilación adecuada o procedimiento semejante. Este reemplazo se realiza ventajosamente haciendo reaccionar el compuesto de acuerdo con Fórmula B, IB, ó IIB, en donde  $R_3$  es hidrógeno, con un oxo compuesto (un aldehído o una cetona) e hidrogenando el aducto resultante con un catalizador efectivo para saturar un doble enlace olefínico. Pueden utilizarse como catalizadores ya sea platino o paladio. Los compuestos oxo adecuados tienen la fórmula  $R_4R_5CO$  en donde  $R_4R_5C=$  es lo mismo que  $R_2$  indicado anteriormente. Ejemplos de oxo compuestos adecuados son formaldehído, acetaldehído, propionaldehído, butiraldehído, acetona, isobutil metil cetona, benzaldehído, fenilacetaldehído, hidrocinnamaldehído, acetofenona, propiofenona, butirofenona, 3-metil-4-fenil-2-butanona, 2-metil-5-fenil-3-pentano

25

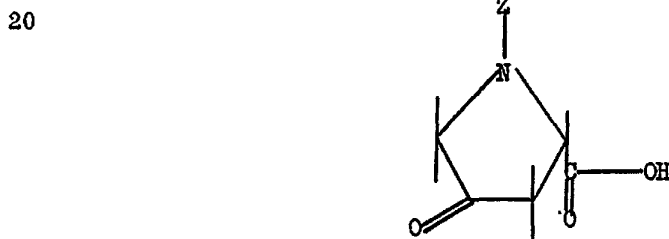


1 na, 3-ciclopentanopropionaldehído, ciclohexanoacetaldehído, ciclo-  
 heptanocarboxaldehído, 2,2-dimetilciclopropilacetaldehído, 2,2-di-  
 metilciclopropil metil cetona, ciclopentil metil cetona, ciclobu-  
 5 til metil cetona, ciclobutanona, ciclohexanona, 4-metilciclohexano  
 na y semejantes.

5 Los compuestos de partida de Fórmula II se preparan por-  
 acilación de un compuesto de la fórmula



15 en donde R es como se indica anteriormente, con un ácido L-2-pirro-  
 lidincarboxílico 4-sustituído de Fórmula A o B. Esta acilación y  
 acilaciones semejantes que se mencionan en ésta, pueden efectuarse por  
 procedimientos ya bien conocidos en la materia para la acilación -  
 de amino azúcares. El ácido de partida de Fórmula A puede prepararse  
 20 se haciendo reaccionar un 4-oxo-compuesto de la fórmula



25

322754

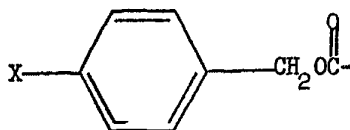
-7-



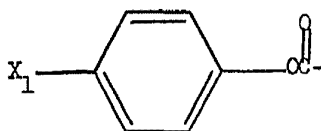
1980B

1 en donde Z es un grupo hidrocarbilo-carbonilo protector que se puede separar por hidrogenolisis, tritilo, es decir, trifenilmetilo, - difenil(p-metoxifenil)metilo, bis-(p-metoxifenil)fenilmetilo, bencilo, o p-nitrobencilo, con un agente Wittig, por ejemplo, un alquili  
 5 denotrifetilfosforano [ver por ejemplo, Wittig, et al, Berg. 87, 1348 (1954); Trippett, Quarterly Reviews, XVII, No.4, pág. 406 (1963)].- Ejemplos de grupos hidrocarbilo-carbonilo (Z) son butoxicarbonilo terciario; grupos benciloxicarbonilo de la fórmula

10



en donde X es hidrógeno, nitro, metoxi, cloro, o bromo, por ejemplo carbobenzoxi, p-nitrocarbobenzoxi, p-bromo-, y p-clorocarbobenzoxi;  
 15 y grupos feniloxicarbonilo de la fórmula

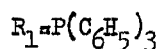


20 en donde X<sub>1</sub> es hidrógeno, alilo, o alquilo de no más de 4 átomos de carbono, tal como feniloxicarbonilo, p-toliloxicarbonilo, p-etilfeniloxicarbonilo, y p-alilfeniloxicarbonilo y semejantes.

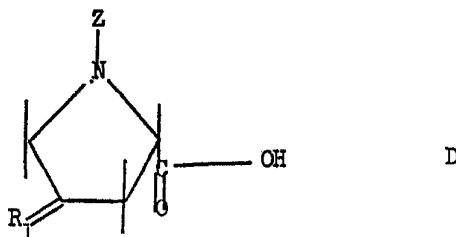
Para llevar a cabo este proceso el ácido 4-oxo-L-2-pirrolidinocarboxílico (Fórmula C) se agrega a un agente Wittig recientemente  
 25 mente preparado. Los reactivos Wittig usados aquí pueden represen-



1 tarse generalmente por la fórmula siguiente:



en donde  $R_1$  es como se indica anteriormente. Estos reactivos Wittig  
 se preparan haciendo reaccionar un haluro de alquil, cicloalquil, -  
 5 o aralquiltrifenilfosfonio con una base tal como sodamida, o hidru-  
 ro de sodio o potasio, o el metalato de sodio o potasio de dimetil  
 sulfóxido y semejantes. Por ejemplo, la eliminación de haluro de -  
 hidrógeno, del haluro de alquiltrifenilfosfonic, produce alquiliden  
 trifenilfosforano. [La preparación de fosforanos se discute en de-  
 10 talle en Trippett, Quart. Rev. XVII, No.4, pág. 406 (1963)]. La -  
 reacción generalmente se lleva a cabo en un solvente orgánico, tal  
 como benceno, tolueno, éter, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, y  
 semejantes, a temperaturas entre  $10^{\circ}$  C y la temperatura de reflujo  
 de la mezcla de reacción. El producto así obtenido, una 4-alquili-  
 15 deno-, 4-cicloalquilideno-, ó 4-aralquilideno-1-protégido-L-prolina  
 que tiene la fórmula siguiente



se recupera de la mezcla de reacción de una manera convencional, -  
 generalmente por extracción de soluciones acuosas de la mezcla de-

25

322754

-9-

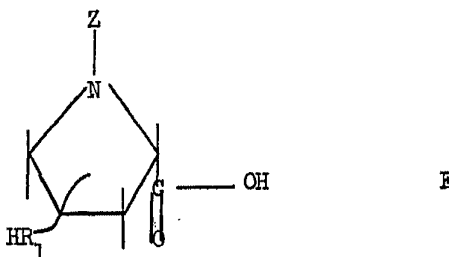
- 8 FEB



1980B

1 reacción. El producto impuro puede purificarse por medios convencio-  
 nales, tales como recristalización, cromatografía, o formación de de-  
 rivados fácilmente formados y recristalización de los mismos, tales  
 como sales aminadas de amino ácido, por ejemplo, la sal dicitclohe-  
 5 xilamina, y semejantes, y liberando los amino ácidos de tales com-  
 puestos. Por hidrogenación de un ácido de Fórmula D en presencia de  
 un catalizador, por ejemplo, platino, que es efectivo para saturar -  
 un doble enlace, pero que no es eficaz para realizar una hidrogenoli-  
 sis, se obtiene un compuesto de la fórmula siguiente:

10



15

Es adecuado el platino depositado en un vehículo, por ejemplo, car-  
 bón, o una resina de intercambio aniónico como Dowex-1, una resina -  
 de poliestireno trimetilbencilamonio con ligaduras cruzadas en el ci-  
 clo hidróxido. Si se desea, los compuestos de partida de Fórmula V  
 20 pueden acilarse con ácidos de fórmula C, D, o E para formar compues-  
 tos IIC, IID, y IIE, respectivamente. El compuesto IIC puede ser -  
 convertido en el compuesto IID por tratamiento con un reactivo Wittig  
 y el compuesto IID ser hidrogenado a compuesto IIE por los procedi-  
 mientos indicados anteriormente. La hidrogenación, tanto del ácido  
 25 D como del acilato IID, da una mezcla de epímeros cis y trans, los -



1           cuales, si se desea, pueden separarse por distribución en contra--  
          corriente o cromatografía. Los ácidos de partida de Fórmula B en-  
          los cuales  $R_3$  es hidrógeno, se obtienen cuando un ácido de Fórmula  
          D o E es sometido a hidrogenolisis sobre un catalizador paladio, -  
5           por ejemplo, paladio en carbón. De la misma manera, los compuestos  
          de Fórmula IID y IIE pueden convertirse en los compuestos de Fórmu-  
          la IIB en los cuales  $R_3$  es hidrógeno por el mismo proceso. Los -  
          ácidos de partida de Fórmula B en los cuales  $R_3$  es hidrógeno como  
          también los compuestos de Fórmula IIB en los cuales  $R_3$  es hidróge-  
10          no pueden convertirse respectivamente en los compuestos de Fórmu--  
          las B y IIB en los cuales  $R_3$  es  $HR_2$  por los procedimientos indica-  
          dos anteriormente. Los ácidos de partida de Fórmula A se obtienen  
          por tratamiento de un ácido de Fórmula D con bromuro de hidrógeno -  
          en ácido acético para separar el grupo Z y luego reemplazando el -  
15          hidrógeno-N por un grupo  $HR_2$  por el procedimiento indicado anterior-  
          mente. Los compuestos de Fórmula IID y IIE son convertidos en los  
          compuestos de Fórmula IIA y IIB, respectivamente, por el mismo pro-  
          ceso.

          Algunos de los compuestos de partida de Fórmula II se ob-  
20          tienen biosintéticamente. La lincomicina, metil 6,8-dideoxi-6-(trans-  
          1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-ga-  
          lacto-octopiranósido, se obtiene como un producto de elaboración -  
          de una actinomiceta productora de lincomicina de acuerdo con Paten-  
          te E.U.A. 3,086,912. Tiene la siguiente fórmula estructural:

25

322754

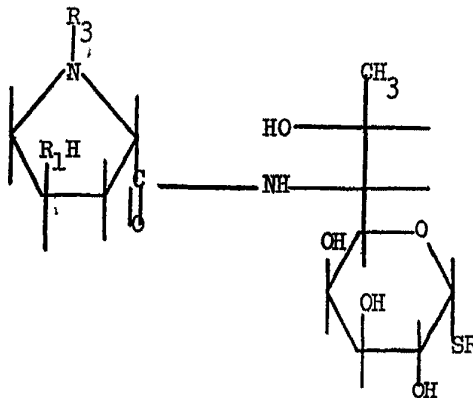
-11-



1980B

1

5



VI

10 en donde R y R<sub>3</sub> son metilo y R<sub>1</sub>H es propilo. La lincomicina B, -  
 metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-etil-L-2-pirrolidincaro-  
 xamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranósido (Fórmula VI en donde  
 R y R<sub>3</sub> son metilo y -R<sub>1</sub>H es etilo) también es un producto de elabo-  
 15 ración del mismo microorganismo cuando se cultiva de acuerdo con -  
 el procedimiento indicado en Patente E.U.A. 3,086,912. La lincomi-  
 cina C, etil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidin-  
 carboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranósido (Fórmula VI  
 en donde R es etilo, -R<sub>1</sub>H es propilo y R<sub>3</sub> es metilo) se obtiene -  
 cuando el proceso de Patente E.U.A. 3,086,912 se lleva a cabo en -  
 20 presencia de etionina agregada. La lincomicina D, metil 6,8-dideo-  
 xi-6-(trans-4-propil-L-2-pirrolidincaro-  
 xamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranósido (Fórmula VI en donde R es metilo, -R<sub>1</sub>H es -  
 propilo, y R<sub>3</sub> es hidrógeno) se obtiene cuando la fermentación de -  
 25 Patente E.U.A. 3,086,912 se lleva a cabo en presencia de  $\alpha$ -MIL -  
 agregada, metil 6-amino-6,8-dideoxi-D-eritro-1-tio- $\alpha$ -D-galacto-oc-  
 piranósido, un compuesto obtenido por la hidrazinólisis de lincomi



1       cina. El metil 6,8-dideoxi-6-(trans-4-etil-L-2-pirrolidincarboxami-  
       do)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido (Fórmula VI en donde -  
       R es metilo,  $-R_1H$  es etilo y  $R_3$  es hidrógeno) es también producido -  
       cuando se agrega  $\alpha$ -MFL a la fermentación de Patente E.U.A. 3,086,912.  
 5       De la misma manera, lincomicina K, etil 6,8-dideoxi-6-(trans-4-propil-  
       L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido  
       (Fórmula VI en donde R es etilo,  $-R_1H$  es propilo y  $R_3$  es hidrógeno)  
       se produce cuando la fermentación de Patente E.U.A. 3,086,912 se lle-  
       va a cabo en presencia de  $\alpha$ -EFL agregado, etil 6-amino-6,8-dideoxi-  
 10       1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, un compuesto obtenido por  
       la hidrazinolisis de lincomicina C. El etil 6,8-dideoxi-6-(trans-4-  
       etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopira-  
       nósido (Fórmula VI en donde R es etilo,  $-R_1H$  es etilo, y  $R_3$  es hidró-  
       geno) es también obtenido cuando se agrega  $\alpha$ -EFL a la fermentación -  
 15       de Patente E.U.A. 3,086,912. Los productos N-desmetilados, descritos  
       anteriormente, que se obtienen cuando se agregan  $\alpha$ -MFL y  $\alpha$ -EFL al -  
       proceso de fermentación de Patente E.U.A. 3,086,912, son ejemplos del  
       compuesto IIB en donde  $R_3$  es hidrógeno. En el procedimiento descrito  
       anteriormente el reemplazo de los hidrógenos-N produce compuestos de  
 20       Fórmula IIB en donde  $R_3$  es igual a  $HR_2$ , por ejemplo, metil 6,8-dideo-  
       xi-6-(trans-1-etil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro-  
        $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, etil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-etil-  
       L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido,  
       etil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-etil-4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-  
 25       tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, y metil 6,8-dideoxi-6-(trans-

322754

-13-

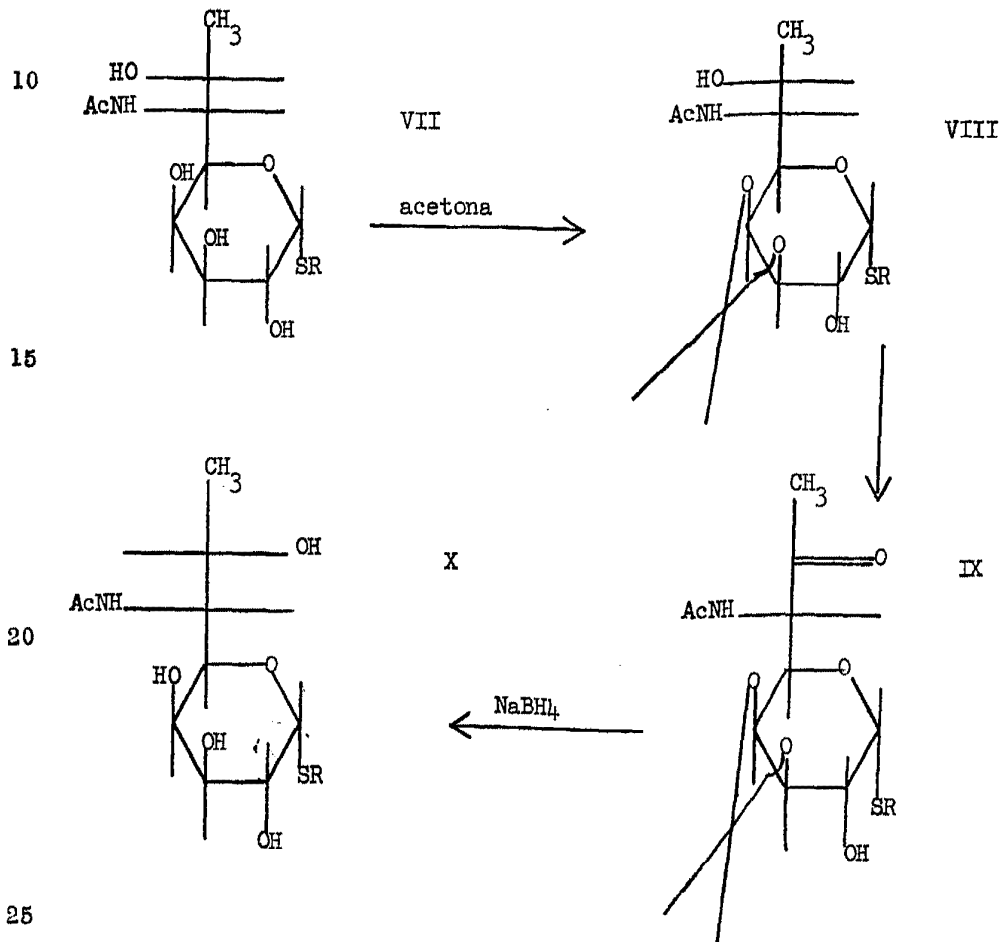


-8

1980B

1 1-etil-4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro-α-D-galacto-  
octopiranosido.

Lincomicina o cualquiera de los compuestos de partida de -  
Fórmula II que tienen la configuración D-eritro pueden convertirse -  
5 en la configuración L-treo por oxidación del 7-hidroxi grupo en un -  
7-oxo grupo y reducción de este último a un grupo 7-hidroxi. Un pro-  
cedimiento adecuado para este propósito se ilustra en la siguiente -  
secuencia:





1                    Por ejemplo, la lincomicina por tratamiento con acetona -  
 en presencia de ácido p-toluensulfónico se convierte en 3,4-O-isopro-  
 pilidenlincomicina la cual por oxidación con óxido crómico da 7-de-  
 hidro-3,4-O-isopropilidenlincomicina, metil 6,8-dideoxi-3,4-O-iso--  
 5                    propilideno-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio  
 D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-octanpiranos-7-ulósido, el cual por tratamien-  
 to con borohidruro de sodio se convierte en 7-epilincomicina, metil  
 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-  
 tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopiranos-7-ulósido. Cualquiera de los compuestos  
 10                    de partida de Fórmula II que tienen una configuración D-eritro, pue-  
 den convertirse en la correspondiente configuración L-treo por este  
 procedimiento.

                  Puesto que las lincomicinas producidas biosintéticamente,  
 así como los amino azúcares derivados de las mismas, son ya sea -  
 15                    metil o etil tioglucósidos, es a veces deseable convertirlos en glu-  
 cósidos superiores o inferiores. Es también a veces deseable con-  
 vertir cualquiera de los compuestos de Fórmulas I, II, ó V en glucó-  
 sidos superiores o inferiores. Esto puede ser llevado a cabo eficaz-  
 mente por reacción del compuesto a ser convertido con un mercaptan-  
 20                    de la fórmula  $R_6SH$  en donde  $R_6$  es un grupo alquilo de no más de 20  
 átomos de carbono, pero uno diferente de R y ciclizando el dimercap-  
 tal resultante. Por ejemplo, compuestos de Fórmula I y II por re-  
 acción con un mercaptan de Fórmula  $R_6SH$  produce ditioacetales de la  
 fórmula

25

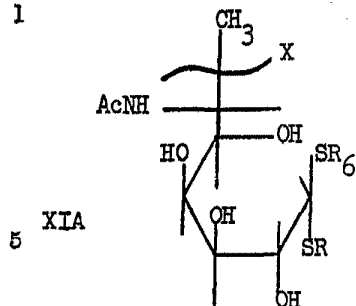
322754

-15-

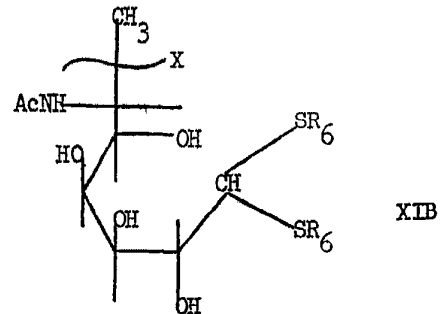


1980B

1

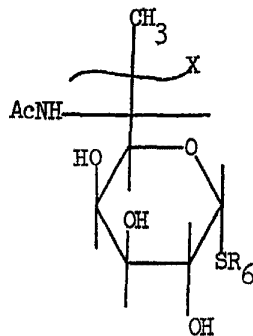


ó



en donde X es hidroxilo o cloro, que por tratamiento con ácido o por  
 10 calentamiento, ya sea en presencia o no de ácido, son reciclizados a  
 un compuesto de la fórmula siguiente:

15



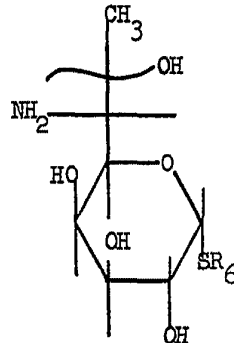
XII

20

El proceso puede aplicarse directamente a cualquiera de los produc-  
 tos de partida de Fórmula II, por ejemplo, IIA, IIB, IIC, IID y IIE.  
 Los productos resultantes pueden someterse a hidrazinolisis para --  
 formar compuestos de la fórmula siguiente:



1



XIII

5

10

que pueden ser N-acilados como se describe anteriormente con ácidos de Fórmula A, B, C, D, y E para proporcionar compuestos de acuerdo con Fórmula XII en donde X es hidroxilo. El proceso también puede aplicarse a compuestos de partida de Fórmula V. Por ejemplo,  $\alpha$ -MEL por tratamiento con etil mercaptan seguido por ciclización como se describe anteriormente es convertido en  $\alpha$ -EML.

Un proceso alternativo para preparar compuestos de Fórmula XII o Fórmula XIII es bromar el material de partida (Fórmulas I, II o V) y luego hacer reaccionar el producto con un mercaptan de acuerdo con la siguiente secuencia.

20

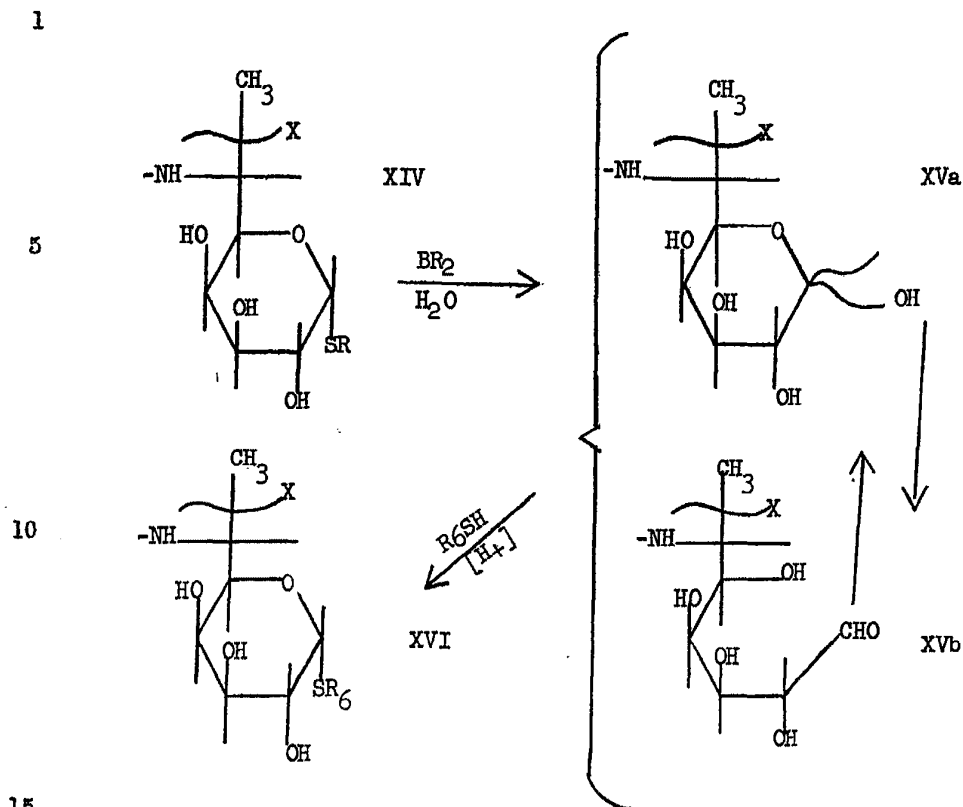
322754

-17-



1966

1980B



El compuesto de partida, XIV, se disuelve en agua como una sal soluble, por ejemplo, el clorhidrato, y se agrega bromo con enfriamiento ventajosamente entre  $-10$  y  $20^{\circ}$  C. Es suficiente si la solución acuosa se enfría hasta aproximadamente  $0^{\circ}$  C y se agrega el bromo gota a gota. La cantidad estequiométrica de bromo es 1 mol por cada mol de compuesto de partida, aunque puede utilizarse más o menos. Ventajosamente se utiliza un ligero exceso, es bromo, es decir de 5 a 20% de exceso. El bromo reemplaza inicialmente el grupo RS- y la sustancia intermedia resultante se hidroliza al azúcar en el cual

20

25



1 la forma piranosa XVa está en equilibrio con la forma aldosa XVb.  
En presencia de ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico u otro áci-  
do fuerte no oxidante tal como ácido p-toluenosulfónico y resinas  
de intercambio aniónico del tipo ácido sulfónico, el mercaptan --  
5 R<sub>6</sub>SH reacciona con el azúcar XV para formar el tioglucósido XVI.  
Concomitantemente puede formarse algún diacetal que luego de sepa-  
ración puede ser ciclizado como se describe anteriormente para for-  
mar más del tioglucósido XVI deseado.

El mecanismo por el cual el cloruro de tionilo efectúa  
10 la sustitución del 7-hidroxi por cloro no es completamente cono-  
cido. Se cree sin embargo, que el mecanismo es tal, que se produ-  
ce un cambio en la configuración. Si este es el caso, un 7-hidro-  
xi compuesto de la configuración D-eritro daría un 7-cloro compues-  
to de la configuración L-treo. Por ejemplo, la 7-cloro-7-deoxilin-  
15 comicina que es derivada de la lincomicina y tiene la configuración  
D-eritro, tendría la configuración L-treo. Se ha establecido en -  
forma de ensayo sin embargo, que el proceso pasa por una serie de  
intermediarios de acuerdo con la secuencia siguiente:

20

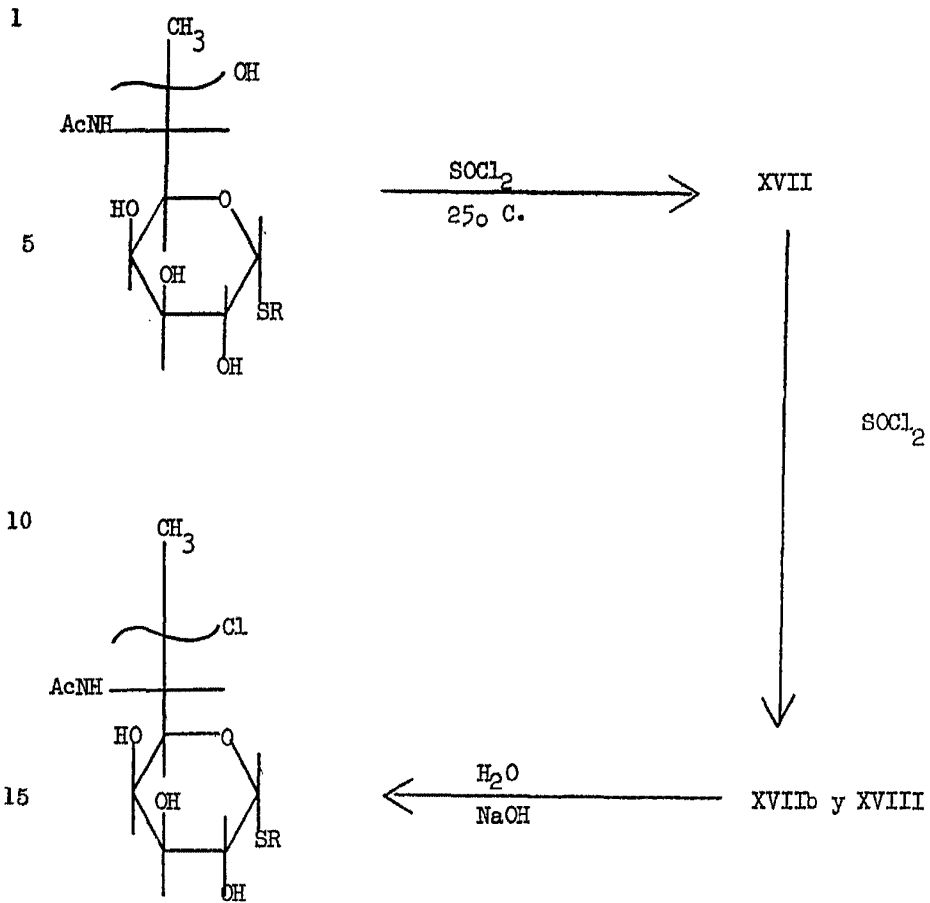
322754

-19-



1966

1980B

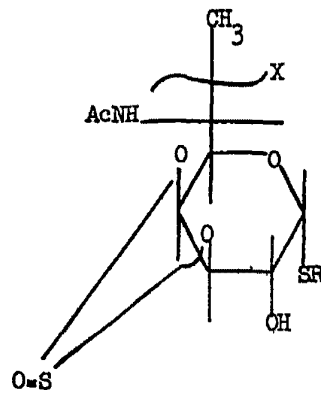


20 en donde Ac y R son como se indica anteriormente. El intermediario XVIIa es el sulfito 3,4-cíclico del material de partida II y tiene la fórmula siguiente:



1

5



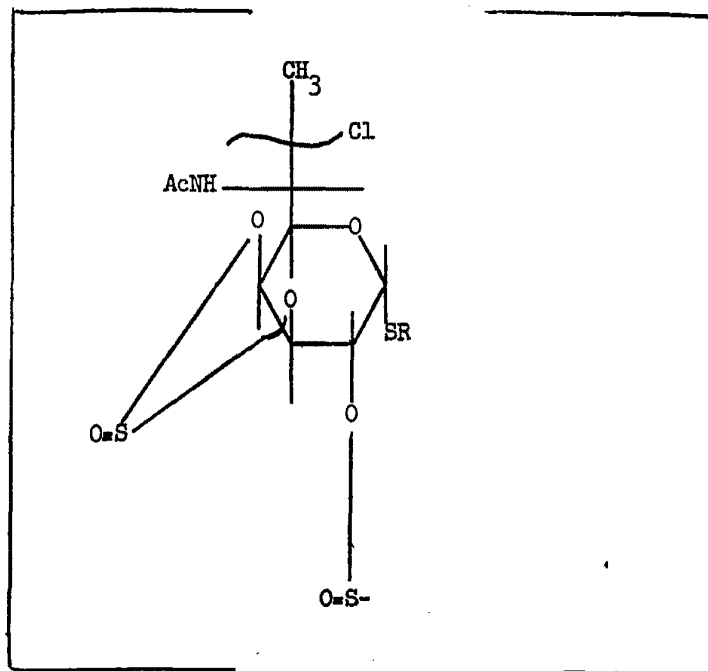
XVIIa

en donde X es hidroxilo. El intermediario XVIIb es el correspondiente sulfito 3,4-cíclico del 7-cloro compuesto (Fórmula I) y se representa por Fórmula XVIIa en donde X es cloro. El intermediario - - XVIII puede ser un bis-sulfito del sulfito 3,4-cíclico del 7-cloro compuesto que puede representarse por la fórmula siguiente:

15

20

25



XVIII

2

322754

-21-



1980B

1 Si se desea, cada uno de los tres productos intermedios,  
XV, 11, XVIIa, y XVIII pueden aislarse durante el curso de la reac-  
ción. Todo lo que se necesita sin embargo, para efectuar la susti-  
tución del 7-hidróxi por cloro es mezclar el compuesto de partida -  
5 de Fórmula II o V, ventajosamente en forma de una sal por adición -  
de ácido, por ejemplo, el clorhidrato, con cloruro de tionilo, ven-  
tajosamente en presencia de un solvente inerte, calentando suavemen-  
te, ventajosamente a temperatura de reflujo, hasta que se efectúa -  
la sustitución deseada del 7-hidróxi grupo por cloro. La reacción  
10 es llevada a cabo ventajosamente en una atmósfera inerte, por ejem-  
plo, bajo nitrógeno. El tetracloruro de carbono puede usarse efi-  
cazmente como el vehículo solvente, pero cualesquiera otros solven-  
tes inertes tales como cloroformo, cloruro de metileno, cloruro de  
etileno, éter, benceno, y semejantes, pueden ser usados. Un proce-  
15 dimiento satisfactorio es revolver la mezcla de reacción a la tem-  
peratura ambiente durante un considerable período de tiempo, diga-  
mos entre 1 a 18 horas o tanto como sea necesario para obtener una  
solución razonablemente clara y luego elevar la temperatura entre  
unos 50 y 100° C, por ejemplo, hasta la temperatura de reflujo - -  
20 (77° C para el tetracloruro de carbono). Después que se completa  
la reacción, generalmente después de calentar a reflujo durante -  
aproximadamente 1 a 5 horas, la mezcla de reacción se deja enfriar,  
ventajosamente bajo nitrógeno. Cualquier material que se separa por  
enfriamiento se recolecta y se seca. Se elimina el solvente por des-  
25 tilación al vacío a la temperatura del recipiente, ventajosamente -



1 menor de unos  $35^{\circ}$  C y el material que precipita se recoge y se seca  
y se trata con etanol para convertir cualquier sustancia intermedia  
sulfito residual en el producto deseado. El material recogido puede  
entonces purificarse posteriormente por extracción con solvente y/o  
5 recristalización y puede recuperarse ya sea como la base libre o una  
sal por adición de ácido.

Las proporciones de los reactivos pueden variar ampliamente.  
Sin embargo, desde el punto de vista estequiométrico, por lo me  
nos 3 mols de cloruro de tionilo se requieren para cada mol de com  
puesto de partida. Cualquier cantidad mayor puede usarse, pero ge  
10 neralmente no es necesario o deseable usar más de aproximadamente -  
10 veces en exceso. Ventajosamente, se utiliza un exceso de alrede  
dor de 2 a 3 veces. La cantidad de solvente no es de importancia -  
crítica y puede variar ampliamente de acuerdo con las prácticas en  
15 la materia. Generalmente será suficiente entre unos 15 a unos 30 -  
volúmenes de solvente por cada parte de compuesto sólido de partida.  
La proporción de solvente a cloruro de tionilo, sin embargo, es im  
portante debido a la solubilidad del producto en cloruro de tionilo.  
Si la relación de solvente a cloruro de tionilo (v/v) es elevada, el  
20 producto deseado precipita por enfriamiento de la mezcla de reacción  
y se simplifica el proceso del producto. Por ejemplo, con tetraclo  
ruro de carbono, una mezcla de producto precipita directamente por -  
enfriamiento de la mezcla de reacción si la proporción v/v de tetra  
cloruro de carbono a cloruro de tionilo se mantiene por encima de -  
25 aproximadamente 10 a 1.

322754

-23-



66

1980B

1 Los compuestos de Fórmulas IA, IB, IIA, IIB, y V existen tanto  
en las formas protonatadas como no protonatadas de acuerdo con el -  
pH del medio. Cuando se trata de la forma protonatada el compuesto  
se califica como una sal por adición de ácido y cuando se trata de-  
5 la forma no protonatada se lo califica como la base libre. Las bases  
libres pueden convertirse en las sales por adición de ácido estables  
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. Los ácidos adecuados para este propósito incluyen, -  
10 clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, tiocianico, fluosilícico, hexa--  
f luoroarsénico, hexafluorofosfórico, acético, succínico, cítrico,-  
láctico, maléico, fumárico, pamóico, cólico, palmítico, mícico, cam  
fórico, glutárico, glicólico, ftálico, tartárico, láurico, esteári-  
co, salicílico, 3-fenilsalicílico, 5-fenilsalicílico, 3-metilglutá-  
15 rico, ortosulfobenzóico, ciclohexanosulfámico, ciclopentanopropióni  
co, 1,2-ciclohexanodicarboxílico, 4-ciclohexanocarboxílico, octade-  
cenilsuccínico, octenilsuccínico, metanosulfónico, bencenosulfónico,  
heliántico, de Reinecke, dimetilditiocarbámico, ciclohexilsulfámico,  
hexadecilsulfámico, octadecilsulfámico, sórbico, monocloroacético,  
20 undecilénico, 4'-hidroxiazobenceno-4-sulfónico, octodocilsulfúrico,  
pícrico, benzóico, cinnámico, y ácidos semejantes.

Las sales por adición de ácido pueden usarse para los mis-  
mos propósitos que la base libre o pueden emplearse para mejorar -  
las mismas. Por ejemplo, la base libre puede ser convertida en una  
25 sal hidrosoluble, tal como el picrato la cual puede someterse a -

322754

-24-



1980B

1 procedimiento de purificación, por ejemplo, extracciones con sol--  
vente y lavados, cromatografía, extracciones fraccionadas líquido-  
líquido, y cristalización y luego usarse para regenerar la forma -  
de base libre por tratamiento con álcali o para hacer una sal dife-  
5 rente por metátesis. O la base libre puede ser convertida en sal  
hidrosoluble, tal como el clorhidrato o sulfato, y la solución - -  
acuosa de la sal 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 me-  
10 tátesis. Las bases libres de Fórmula IA, IB, IIA, IIB, y V, pueden  
ser usadas como soluciones amortiguadoras o como antiácidos. Los  
compuestos de Fórmulas I, II y V reaccionan con isocianatos para -  
formar uretanos y pueden ser usados para modificar resinas de poli-  
uretano. Los compuestos de cadena larga, por ejemplo, en donde  $HR_2$   
15 es alquilo de 8 ó más carbonos, tienen propiedades tensio activas -  
de superficie y pueden ser usados como agentes de humectación y emul-  
sificación. La sal por adición de ácido tiocianico cuando se con--  
densa con formaldehído, forma materiales resinosos útiles como inhi-  
bidores de la corrosión de acuerdo con Patentes E.U.A. 2,425,320 y  
20 2,606,155. Las bases libres también representan 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  
25 como parasiticidas de acuerdo con Patentes E.U.A. 3,122,536 y - -

322754

-25-



1980B

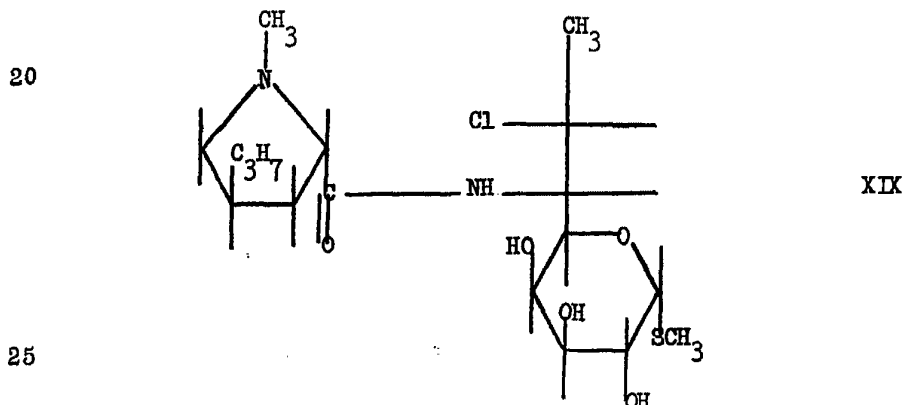
1 3,122,552.

Los análogos cercanos a la lincomicina, por ejemplo, en -  
 donde  $-R_1H$  es cis o trans alquilo de no más de 8 átomos de carbono;  
 $R_3$  es metilo o etilo; R es alquilo de no más de 8 átomos de carbono,  
 5 tienen propiedades antibacterianas, y algunas son comparables o supe-  
 riores a la lincomicina y pueden utilizarse para los mismos fines -  
 que la lincomicina. Los otros análogos e isómeros tienen propiedades  
 antibacterianas similares pero en un menor grado y pueden utilizarse  
 para el mismo propósito que la lincomicina cuando no son objetables  
 10 cantidades mayores.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos del proceso y pro-  
 ductos de la presente invención, pero no deben interpretarse como un  
 límite de la misma. Las partes y porcentaje se establecen en peso y  
 las relaciones entre solvente son en volumen, salvo que se especifi-  
 15 que de otra manera.

Ejemplo 1

7-cloro-7-deoxilincomicina[metil-7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-  
 metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-  
 octopiranosido.





1 A. La base libre.

Una suspensión de 221.0 g (0.5 mol) de clorhidrato de lin-  
comicina en 5 litros de tetracloruro de carbono se revolvió bien a -  
25° bajo nitrógeno. Se agregaron 900 ml. de cloruro de tionilo de -  
5 una vez y se continuó revolviendo durante dos horas. Durante este-  
período el sólido se disolvió y se obtuvo una solución clara. La -  
mezcla de reacción se calentó a reflujo durante dos horas, entonces  
se retiró la fuente de calor y se hizo burbujear nitrógeno en la so-  
lución ambar hasta que la temperatura del recipiente bajó hasta 25°. -  
10 Se eliminó alrededor de 4 litros de líquido por medio de destilación  
al vacío a la temperatura del recipiente de menos de 35°. El sólido  
amarillo que precipitó durante esta destilación se recolectó y se -  
secó. Este sólido se disolvió en unos 300 ml de metanol, se enfrió  
a 25°, se hizo alcalino (pH 11) con solución diluída acuosa de hi--  
15 dróxido de sodio (2N), se diluyó hasta aproximadamente 1200 ml con  
agua y se extrajo bien con éter. Los extractos etéreos se mezclaron,  
se lavaron con una pequeña cantidad de agua, se secaron sobre sulfa-  
to de magnesio anhidro y se filtraron. Por evaporación de una alí--  
cuota del extracto etéreo mezclado se obtiene 7-cloro-7-deoxilincomi-  
20 cina base libre como un sólido amorfo amarillo.

B. El clorhidrato

Por agregado de gas cloruro de hidrógeno al filtrado de -  
Parte A se produce la precipitación de clorhidrato de 7-cloro-7-deo-  
xilincomicina que se separa y recristaliza de etanol y acetato de eti-  
25 lo. Se obtuvo un rendimiento de 32% de clorhidrato de 7-cloro-7-deo-

322754

-27-



1980B

1 xilincomicina cristalino blanco, solvatado con aproximadamente una proporción molecular de agua.

Análisis calculado para  $C_{18}H_{33}ClN_2O_5 \cdot HCl \cdot H_2O$

C, 45.18; H, 7.37; Cl, 14.82; N, 5.86; S, 6.70;  $H_2O$ , 3.77

5 Hallado: C, 44.70; H, 7.65; Cl, 14.27; N, 5.78; S, 6.45;  $H_2O$ , 3.85.

$[\alpha]_D^{20} + 130^\circ$  (C-0.9858 g/100 ml)

Actividad: Aproximadamente 4 a 8 veces la de lincomicina.

Espectro antibacteriano: El mismo que lincomicina.

#### Ejemplo 2

10 7-cloro-7-deoxilincomicina base libre.

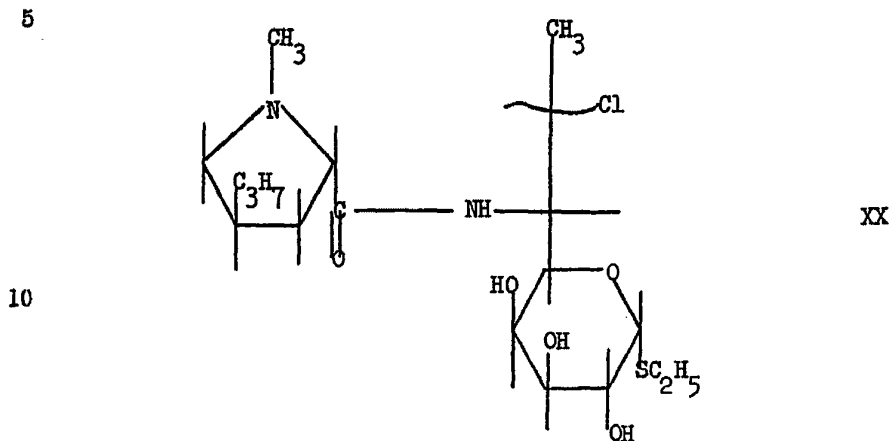
El proceso de Ejemplo 1, parte A, se repitió a excepción de que se usó cloruro de metileno en lugar de éter como solvente de extracción y los extractos combinados se filtraron y evaporaron hasta sequedad. Se obtuvo un 64% de rendimiento de 7-cloro-7-deoxilincomicina base libre como un sólido amorfo amarillo. Se adsorbieron 15 gramos de este sólido amorfo sobre 30 gramos de silica gel en cloruro de metileno, se secó, y tamizó sobre una columna de 3 pulgadas de diámetro de 1500 gramos de silica gel. La columna entonces se eluyó con una mezcla de metanol y cloroformo en las proporciones de 1 a 19, respectivamente, en porciones de 200 ml. después de una primera porción de 2 litros. Las fracciones 26, 27, y 28 se mezclaron y evaporaron hasta sequedad dando 1.04 gramos de 7-cloro-7-deoxilincomicina base libre esencialmente pura como un sólido amorfo que tiene un espectro antibacteriano del mismo alcance y magnitud que el del clorhidrato de 7-cloro-7-deoxilincomicina de Ejemplo 1.

20

25

1 Ejemplo 3

7-cloro-7-deoxilincamicina C [etil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galactooctopiranosido]



15 A. Sustitución de Cloro

Una suspensión de 1 gramo de clorhidrato de lincamicina C en 25 ml. de tetracloruro de carbono y 4.5 ml. de cloruro de tionilo se revolvió bajo nitrógeno durante 2 horas a 25° C. Se obtuvo una solución clara en unos 15 minutos. La mezcla de reacción entonces se calentó a reflujo durante 2 horas y se evaporó hasta sequedad bajo vacío para dar un sólido amarillo que fue secado bajo vacío a 40° C durante 18 horas. El producto fue entonces disuelto en unos 15 ml. de etanol caliente, se alcalinizó con hidróxido de sodio como en Ejemplo 1 y se diluyó hasta 300 ml. con agua. La solución acuosa se extrajo cinco veces con porciones de 100 ml. de éter. Los extractos etéreos se mezclaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se

20

25

322754

-8 FEB 1955



-29-

1980B

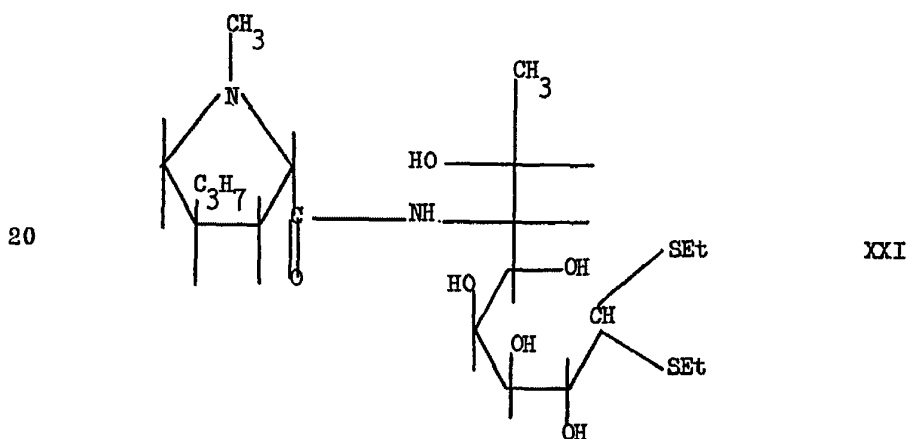
1 filtraron, saturaron con gas cloruro de hidrógeno, y se evaporaron  
 hasta un residuo pardo el cual al recristalizarse dos veces de una  
 mezcla de etanol y acetato de etilo (disuelto en una mínima canti-  
 5 dad de etanol y acetato de etilo agregado hasta turbidez) dió 200 mg  
 de clorhidrato de 7-cloro-7-deoxilincomicina C como cristales blan-  
 cos que tenían la misma actividad y espectro que el clorhidrato de  
 7-cloro-7-deoxilincomicina del Ejemplo 1.

B. Preparación de Lincomicina C

La lincomicina C se obtiene haciendo reaccionar lincomici-  
 na con etanotiol (etil mercaptan) para formar un dietil ditioacetal  
 10 y calentando la mezcla de reacción en presencia de ácido p-tolueno-  
 sulfónico o calentando hasta fusión. El procedimiento siguiente es  
 ilustrativo.

Bl. 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidin-carboxami-  
 do)-D-eritro-D-galacto-aldehido-octosa dietil ditioacetal.

15



25

322754

-30-



1980B

1 En un frasco de 1 litro con tres cuellos, se colocó ácido clorhídri-  
co concentrado (150 cc) y etanotiol (50 cc, previamente enfriado has-  
ta 0° C), seguido por clorhidrato de lincomicina (15.0 gm). Después  
5 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 perfectamente con Skellysolve B (hexano tec-  
nico), siendo descartados estos extractos.

La mayor parte del ácido se neutralizó por el agregado cui-  
dadoso de hidróxido de potasio sólido (100 gm), manteniendo la tem-  
10 peratura de la mezcla de reacción bien revuelta entre 20 y 30° C en-  
friando en acetona-hielo seco. Se retiró el cloruro de potasio sólido  
por filtración, y se lavó el sólido bien con cloroformo. Se agre-  
gó más cloroformo al filtrado (alrededor de 150 cc) y la mezcla, agi-  
tada magnéticamente, se ajustó hasta pH 10 por el agregado de hidró-  
15 xido de sodio acuoso (2 N). La capa clorofórmica se separó, la capa  
acuosa se extrajo perfectamente con cloroformo, los extractos mezcla-  
dos se lavaron dos veces con agua y se secaron sobre sulfato de so-  
dio anhidro. Por la separación del solvente a 30° C al vacío dió un  
residuo semisólido, el cual por cristalización de acetona dió 5.41 gm  
20 de 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-1-2-pirrolidincarboxamido)-  
D-eritro-D-galacto-aldehido-octosa dietil ditioacetal como agujas -  
aplanadas incoloras, punto de fusión 130-132°. Por concentración de  
los líquidos madre se obtuvo material adicional (1.50 gm), punto de  
fusión 129-131°. (Rendimiento total, 6.91 gm, 42.4%).

25

322754

-31-



1980E

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

C, 52.25; H, 8.77; N, 5.81; S, 13.29%

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

B2. Ciclización de Lincomicina C

5 (a) Una parte del dietil ditioacetal de Parte B1 y otra de ácido p-toluenosulfónico monohidratado se refluja-  
ron en 25 partes de acetonitrilo hasta que se obtuvo una actividad antibacteriana apre-  
ciable. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó hasta sequedad  
y se cromatografió sobre sílica gel por el procedimiento de Ejemplo 2  
10 usando una mezcla de solvente de acetato de etilo, acetona y agua en  
la relación de 8:5:1, respectivamente. Las fracciones 102 hasta 131  
mostraron actividad antibacteriana. De estas fracciones, se mezcla-  
ron la 105 hasta la 125, se evaporaron hasta sequedad, se cristaliza-  
ron de acetona acidificada con ácido clorhídrico y se recrystaliza-  
15 ron disolviendo en agua y agregando acetona para dar cristales de -  
clorhidrato de lincomicina C, punto de fusión 149-153°.

(b) El dietil ditioacetal de Parte B1 se calentó hasta 260°  
durante unos 3 minutos y se notó el olor de etil mercaptan. El pro-  
ducto por cromatografía como en Parte B2 (a) dió lincomicina C.

20 C. Preparación de Lincomicina C por fermentación

El clorhidrato de lincomicina C se preparó de la manera si-  
guiente:

FERMENTACION

25 Un cultivo de suelo de Streptomyces Lincolnensis var. lin-  
colnensis, NRRL 2936, se usó para inocular una serie de frascos .. -

322754

-32-



1980B

1 Erlenmeyer de 500 ml. conteniendo cada uno 100 ml de medio de siembra compuesto por los siguientes ingredientes:

	Yeastolac <sup>1</sup>	10 g
	Glucosa monohidratada	10 g
5	N-Z-amina B <sup>11</sup>	5 g
	Agua corriente c.s.p.	1 litro

<sup>1</sup>Yeastolac es un hidrolizado protéico de células de levadura.

<sup>11</sup>N-Z-amina B es digerido enzimático de caseína Sheffield.

10 El pH del medio de siembra antes de la esterilización fue 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 al 5% de la siembra descrita anteriormente (5 ml) a cada uno de 30 frascos Erlenmeyer de 500 ml. conteniendo cada uno 100 ml. del siguiente medio de fermentación:

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

<sup>1</sup>Licor de Peptona Wilson No.159 es una preparación de proteínas de origen animal enzimáticamente hidrolizadas.

25

322754

-33-



1980B

1            En el momento de la inoculación, se agregó DL-etionina hasta una concentración final de 2 mg/ml.

5            Los frascos de agitación se recolectaron después de 4 días de fermentación a 28° C, en un agitador rotatorio Gump a 250 rpm. Tenían una valoración de 200 mcg/ml con el ensayo S. lutea descrito aquí posteriormente. Los sólidos del fermentado total fueron aproximadamente 20 gm/litro.

#### PURIFICACION

10           El fermentado total (235 litros) de una fermentación de DL-etionina se filtró a pH de recolección usando un coadyuvante de filtración como se requiere. El conglomerado miceliano se lavó con agua y el conglomerado entonces se descartó. El fermentado filtrado y agua de lavado (275 litros) se revolvieron 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 con carbón se lavó con 60 litros de agua y el agua 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 entonces se eluyó dos veces con porciones de 100 litros de acetona acuosa al 90%. Los eluidos se mezclaron (215 litros) y la solución se concentró (18 litros). Este concentrado se ajustó hasta pH 10.0 con una solución acuosa al 50% de hidróxido de sodio 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 canti-

15

20

25

322754

-34-



19803

1       dades iguales y ambas en 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  
5       metanólico 1N. La solución metanólica entonces se mezcló con 3.2 -  
litros de éter mientras se revolvió. El precipitado incoloro resul-  
tante, de clorhidrato de lincomicina y clorhidrato de lincomicina  
C impuros, se aisló por filtración y se secó; rendimiento 7.14 g -  
con una valoración de 940 mcg/mg contra Sarcina lutea. (La valora-  
10       ción contra Sarcina lutea se lleva a cabo sobre agar amortiguado a  
pH 6-8 con solución amortiguadora de fosfato pH 7.0 [0.1M]. Un vo-  
lumen unitario [0.08 ml] de solución conteniendo el material a ser  
ensayado se coloca en un disco de ensayo de 12.7 ml que entonces se  
coloca sobre una placa de agar sembrada con el microorganismo de en-  
15       sayo). La cromatografía en capa delgada mostró la presencia tanto  
de clorhidrato de lincomicina como clorhidrato de lincomicina C en  
cantidades aproximadamente iguales.

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 - -  
20       HCl 1N, y la solución se distribuyó en un aparato de distribución  
en contracorriente para 1000 transferencias. El análisis por cro-  
matografía en capa delgada mostró que las fracciones en tubos 135 a  
190 contenían lincomicina C. Estas fracciones se mezclaron, y la -  
solución se concentró hasta estado acuoso y se secó por congelación  
25       para dar 2.44 g de clorhidrato de lincomicina C con una valoración

322754

-35-



1980B

1 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 temperatura ambiente durante 1 hora. El clorhidrato de lincomicina C cristalino (cubos) se separó de la solución de material sobrenadante por decantación. Estos cristales se recristalizaron 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 (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.

D. Método alternativo para preparación de lincomicina C

15 El clorhidrato de lincomicina (8.85 g - 0.02 mols) se disolvió en 20 ml de agua, se enfrió a 0° y se revolvió mientras se agregaba bromo (3.52 g - 0.022 mols) gota a gota durante un período de 1 minuto. Se agregó etanotiol (25 ml) y la mezcla se revolvió a 25° durante 2 horas. El sistema de dos fases claro, incoloro (el etanotiol es relativamente insoluble en agua) se enfrió en un baño de hielo y se hizo burbujear gas cloruro de hidrógeno en él durante aproximadamente 5 minutos. La fase acuosa inferior se tornó roja. La mezcla de reacción se extrajo entonces tres veces con porciones de 100 ml de Skellysolve B y se agregó solución de hidróxido de sodio

25

322754

-36-



1980B

1 acuoso para llevar la fase acuosa hasta pH 11. La fase alcalina se  
extrajo bien con cloroformo. Los extractos cloroformicos se lava--  
ron con solución saturada de cloruro de sodio, se secaron, y evapo--  
raron bajo vacío para dar 6.2 g de un sólido blanco. Se cromatogra--  
fiaron 4.8 g de este sólido sobre 800 g de sílica gel por el proce--  
5 dimiento de Ejemplo 2 usando como sistema solvente metanol-clorofor--  
mo (1:7, respectivamente). Después de una primera parte, de 800 ml,  
se recolectaron 80 fracciones de 25 ml cada una. Las fracciones --  
40-58 se mezclaron y se evaporaron hasta sequedad y el residuo só--  
lido se recrystalizó de acetona para dar 0.5 g de material idéntico  
10 al dietil ditioacetal de Parte B1. Se combinaron las fracciones -  
65-75, se evaporaron hasta sequedad, y se disolvieron en una mezcla  
de 5 ml de metanol y 400 ml de éter dietílico. Se agregó gas cloru--  
ro de hidrógeno y el sólido blanco que precipitó se recolectó. Por  
recrystalización de acetona acuosa, se obtuvieron 0.5 g de clorhi--  
15 drato de lincomicina C, idéntico a aquel de Parte C,

E. Otros alquil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-  
L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos.

Sustituyendo el etanotiol en Parte B1 y Parte D de este --  
ejemplo por otros alquil mercaptanes, por ejemplo, propil, butil, -  
20 pentil, hexil, heptil, octil, nonil, decil, undecil, dodecil, tride--  
cil, tetradecil, pentadecil, hexadecil, heptadecil, octadecil, nonade--  
cil, y eicosil mercaptanes y las formas isómeras de los mismos; por  
cicloalquil mercaptanes, por ejemplo, ciclopropil, ciclobutil, ciclo  
pentil, ciclohexil, cicloheptil, ciclooctil, 2-metilciclopropil, - -

25

322754



1966

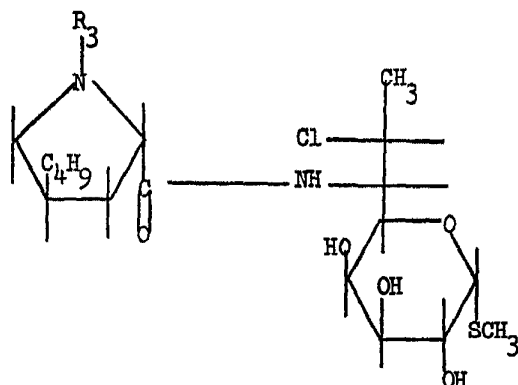
-37-

1980B

1 2,3-dimetilciclobutil, 2-metilciclobutil y 3-ciclopentilpropil mer-  
 captanes; o por aralquil mercaptanes, por ejemplo, bencil, fenetil,  
 3-fenilpropil, y 1-naftilmetil mercaptanes, se obtienen los corres-  
 pondientes alquil, cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(trans-1--  
 5 metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galac-  
 to-octopiranosidos, los cuales por tratamiento con el procedimiento  
 de Parte A se convierten en los correspondientes alquil, cicloalquil,  
 y aralquil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pi-  
 rrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octanopiranosidos. -  
 10 Los compuestos así obtenidos (ambos el 6,8-dideoxi y el 7-cloro-6,7,  
 8-trideoxi compuestos) en donde alquilo es propilo, butilo, pentilo,  
 y hexilo (obtenidos respectivamente cuando se usan propilo, butilo,  
 pentilo y hexilo mercaptanes) son especialmente eficaces antibacte-  
 rianos, teniendo el mismo espectro que la lincomicina y actividad -  
 15 igual o mayor.

Ejemplo 4

Metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-alquil-4-butil-L-2-pirrolidin  
 carboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos.



XXII

$R_3$  = metilo o etilo



1

Parte A.

Una suspensión de 116 mg. de metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-etil-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido base libre en 3 ml de tetracloruro de carbono y 0.7 -  
5 ml de cloruro de tionilo se revolvió a 25<sup>o</sup> C hasta que se obtuvo -  
una solución clara (unos 15 minutos) y se dejó en reposo a 25<sup>o</sup> C du-  
rante 2 horas. La mezcla de reacción se calentó entonces a reflujo  
durante 2 horas y luego se evaporó hasta sequedad bajo vacío hasta  
un sólido amarillo que se procesó como se describe en Ejemplo 3. El  
10 producto, sin embargo, no cristalizó de manera que los solventes de  
cristalización se evaporaron para dar 17 mg de clorhidrato de metil  
7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-etil-4-butil-L-2-pirrolidincarbo-  
xamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido como un sólido amor-  
fo castaño, con una valoración de 8 veces la actividad de la linco-  
15 micina contra bacterias grampositivas y de 16 a 64 veces la de la -  
lincomicina contra bacterias gram-negativas.

Por sustitución del epímero cis, se obtiene clorhidrato de  
metil-7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(cis-1-etil-4-butil-L-2-pirrolidincar-  
boxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido que tiene el mismo  
20 espectro antibacteriano.

Por sustitución de l-metil análogos, se obtienen clorhi-  
dratos de metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-(cis- y trans-1-metil-4-bu-  
til-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galacto-octopirano-  
sidos.

25

322754

-39-



1980B

1 Los epímeros cis y trans usados como materiales de parti-  
da en el ejemplo anterior se preparan de la manera siguiente:

B. 4-butilideno-l-carbobenzoxi-L-prolina y su sal ciclohexil  
amina.

5 Se calentó hidruro de sodio (19 g) como una suspensión al  
53% en aceite mineral con 350 ml de dimetil sulfóxido a una tempera-  
tura de 70-75° C hasta que la reacción fue completa (aproximadamen-  
te 30 minutos). Después de enfriar hasta 32° C, se agregaron 16.2 g  
de bromuro de butil trifenilfosfonio, y la mezcla de reacción resul-  
10 tante se revolvió durante una hora para asegurar completa reacción.  
Se agregó una solución de 26 g de 4-ceto-l-carbobenzoxi-L-prolina -  
en 100 ml de dimetil sulfóxido, y la mezcla resultante se calentó  
a 70° C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 25° C  
y se agregó 1 litro de bicarbonato de potasio acuoso al 2.5%. Esta  
15 mezcla se lavó dos veces con porciones de 700 ml de éter y el éter -  
se descartó después de volver a extraer con 150 ml de bicarbonato de  
potasio acuoso al 2.5%. Las soluciones de bicarbonato se mezclaron  
y se acidificaron con ácido clorhídrico 4N. La mezcla acidificada -  
se extrajo con cuatro porciones de 500 ml de éter. Los extractos -  
20 etéreos combinados se lavaron sucesivamente con 250 ml de agua, tres  
porciones de 250 ml de bisulfito de sodio acuoso saturado, y 250 ml  
de agua, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Por evapora-  
ción del solvente bajo vacío se obtuvieron 24 g de un residuo oleoso  
que era 4-butilideno-l-carbobenzoxi-L-prolina.

25

Este residuo se disolvió en 3l ml de acetonitrilo y se -

322754



1 trató con 18 ml de dicitclohexilamina y se refrigeró. Los cristales se  
 recolectaron, se lavaron con acetonitrilo y se secaron al vacío dando  
 21 g (46.8%) de la sal cristalina dicitclohexilamina que funde a 136-  
 140° C. Después de dos reocrystalizaciones de acetonitrilo, se obtuvo  
 5 una muestra analítica que fundía a 142-144° C y tenía una rotación de  
 [α]<sub>D</sub> - 4° (c = 0.99, CHCl<sub>3</sub>).

Análisis calculado para: C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>:

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-butílideno-1-  
 carbobenzoxi-L-prolina se agitó con éter y exceso de hidróxido de po-  
 tasio acuoso al 5% hasta que no quedó un sólido. Se separaron las  
 capas y se lavó cada una de nuevo. Se mezclaron las capas acuosas -  
 alcalinas con las aguas del nuevo lavado de la capa etérea y se aci-  
 15 dificó con ácido clorhídrico 4N. La mezcla se extrajo repetidas ve-  
 ces con éter y los extractos etéreos se mezclaron, se secaron sobre  
 sulfato de sodio, y evaporaron al vacío para dar 6.3 g (93%) de - -  
 4-butílideno-1-carbobenzoxi-L-prolina en forma de un aceite.

C. 4-butíli-1-carbobenzoxi-L-prolina

20 El aceite de Parte B se hidrogenó en 200 ml de me-  
 tanol sobre 2.1 g de catalizador platino al 10% en Dowex-1, bajo - -  
 40 libras de presión de hidrógeno. El catalizador se separó por fil-  
 tración y el filtrado se evaporó para dar 6.3 g de 4-butíli-1-carbo--  
 benzoxi-L-prolina como un aceite. El producto contenía aproximadamen-  
 25 te 2 partes de cis-4-butíli-1-carbobenzoxi-L-prolina por cada parte de:

322754

-41-



1980B

1 trans-4-butyl-1-carbobenzoxi-L-prolina.

Si se desea, se puede postponer la hidrogenación del grupo 4-ilideno para algún paso posterior, aún para el último paso del proceso.

5 Sustituyendo el bromuro de butiltrifenilfosfonio de Parte B por otros bromuros de trifenilfosfonio sustituidos en donde el sustituyente es metilo, etilo, propilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicosilo y sus formas isómeras; ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-ciclopropiletilo, y 3-ciclopropilpropilo; bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y 1-naftilmetilo, se obtienen las correspondientes 4-alquilideno-, 4-cicloalquilideno-, y 4-araalquilideno-1-carbobenzoxi-L-prolinas y las correspondientes 4-alquil-, 4-cicloalquil-, y 4-araalquil-1-carbobenzoxi-L-prolinas.

10 Por ejemplo, cuando se sustituye el bromuro de butiltrifenilfosfonio por bromuros de etilo-, propilo-, isobutilo-, pentilo-, y hexiltrifenilfosfonio se obtienen 4-etilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina, - - 4-propilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina, 4-isobutilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina, 4-pentilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina, y 4-hexilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina y cis y trans 4-etil-1-carbobenzoxi-L-prolina, 4-propil-1-carbobenzoxi-L-prolina, 4-isobutil-1-carbobenzoxi-L-prolina, 4-pentil-1-carbobenzoxi-L-prolina, y 4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolina.

15

20

25



1 D. Metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-  
 octopiranosido ( $\alpha$ -MIL).

Una solución de 40 g de lincomicina base libre (Patente -  
 E.U.A. 3,086,912) en 20 ml de hidrato de hidracina (98-100%) se re-  
 5 flujó durante 21 horas; se separó entonces el exceso de hidrato de  
 hidracina al vacío bajo nitrógeno a la temperatura del 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 sus-  
 pendieron los cristales. Los cristales se recolectaron en un filtro,  
 10 se lavaron con acetonitrilo y con éter. El rendimiento de  $\alpha$ -MIL ba-  
 se libre cristalino blanco, después de secar al vacío a la temperatu-  
 ra ambiente fue de 21 g (84%). La recristalización se llevó a cabo  
 disolviendo  $\alpha$ -MIL base libre en dimetilformamida caliente y agregan-  
 do un volumen igual de etilen glicol dimetil éter.

15 El metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-oc-  
 piranosido base libre tiene un punto de fusión de 225-228° C, una ro-  
 tación 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.

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

Sustituyendo la lincomicina por otros alquil o por cicloal-  
 quil o aralquil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-1-2-pirrolidin-  
 carboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos en donde al-  
 quilo es etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, -  
 25 nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadeci-

322754

-43-

-8 FEB



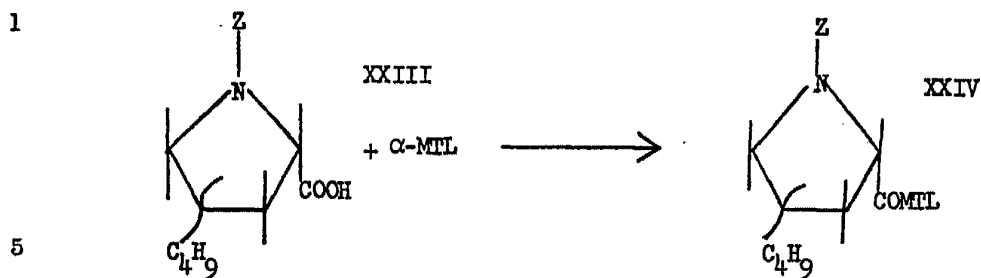
1980B

1 lo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicosilo y -  
las formas isómeras de los mismos; cicloalquilo es ciclopropilo, ci-  
clobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-me-  
tilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 2-metilciclobutilo, y 3-ci-  
5 clopentilpropilo; y aralquilo es bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y  
1-naftilmetilo, se obtienen los correspondientes alquil, cicloalquil,  
y aralquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranó-  
sido. Por ejemplo, sustituyendo la lincomicina por etil-, propil-,  
butil-, pentil-, y hexil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pi-  
10 rrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranósidos, se  
obtienen, etil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopi-  
ranósido, propil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octo-  
piranósido, butil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-oc-  
topiranósido, pentil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-  
15 octopiranósido, y hexil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galac  
to-octopiranósido.

Si se desea, el procedimiento de Parte A puede aplicarse a  
los compuestos de Parte D usando clorhidrato u otra sal de un ácido  
fuerte y procesando los compuestos 7-cloro resultantes por los pasos  
20 sucesivos de este ejemplo hasta los productos finales del ejemplo.

E. Metil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirro-  
lidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranósido base libre.

25



10

15

20

25

A una solución de 6.3 g de 4-butil-1-carbobenzoxi-L-proli-  
na (el aceite de Parte B) en 175 ml de acetonitrilo destilado enfri-  
ado a 0°, se agregaron 3.46 ml de trietilamina seguido por 3.34 ml  
de cloroformato de isobutilo. La mezcla se revolvió a 0° C ( $\pm 3^\circ$ )  
durante 15 minutos. Se agregó una solución de 6.2 g de  $\alpha$ -MPL de ba-  
se libre de Parte C en 85 ml de agua, y la mezcla de reacción se re-  
volvió a 0° C durante 0.5 hora, y a 25° C durante 1 hora. El pro-  
ducto de reacción entonces se filtró y se secó dando 4.57 g (37.7%)  
de metil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarro-  
xamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido base libre. El -  
licor madre se concentró bajo vacío y se recuperaron 4.25 g (35.2%)  
adicionales de producto. La recristalización de acetonitrilo pro-  
dujo cristales de metil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-  
pirrolidincarroboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido -  
base libre que funde a 194-196° C. Una segunda recristalización -  
de acetonitrilo dió una muestra analítica, punto de fusión 195.5-200° C,  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> + 111° (c, 0.98, MeOH).

322754

-45-



1966

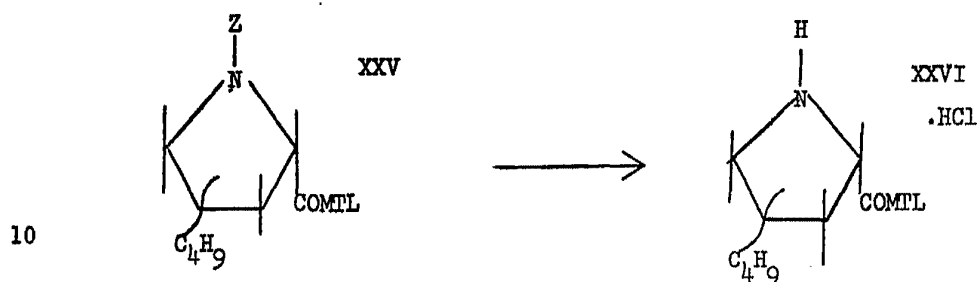
1980B

1 Análisis calculado para:  $C_{26}N_4O_8S$ :

C, 57.75; H, 7.46; N, 5.13; S, 5.93.

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

5 F. Clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidin-carboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido.



Una solución de 7.8 g de metil 6,8-dideoxi-6-(1-carboben-  
 zoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-  
 octopiranosido base libre de Parte E en 200 ml de metanol se agitó  
 15 sobre 2 g de paladio en carbón al 10% bajo 40 libras de presión de  
 hidrógeno durante 17 horas. Se separó el catalizador por filtración  
 y se concentró la solución 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 6 N. Por dilución con cuatro volúmenes de acetona  
 20 precipitó clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirroli-  
 dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido que se re-  
 cogió por filtración y se secó. Los cristales, secados a 55° C. ba-  
 jo vacío, pesaban 4.7 g y fundían a 188-194° C. La muestra analíti-  
 ca obtenida por recristalización de acetona fundió a 197-199° C y -  
 25 dió  $[\alpha]_D^{25} + 150^\circ$  (agua, c 0.89).

322754

-46-

-8



1980B

1 Análisis calculado para:  $C_{18}H_{34}N_2O_6S \cdot HCl$ :

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 S. lutea.

Sustituyendo el  $\alpha$ -MPL por otro alquilo o por cicloalquil o aralquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos en donde alquilo es etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicosilo y las formas isómeras de los mismos; cicloalquilo es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 2-metilciclobutilo, y 3-ciclopentilpropilo; y aralquilo es bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y 1-naftil-metilo, se obtienen los correspondientes alquil, cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido y alquil, cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos. -

10 Por ejemplo, sustituyendo el  $\alpha$ -MPL por etil, propil, butil, pentil, y hexil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, se obtienen etil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, propil 6,8-dideoxi-

15 6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro-

20

25

322754



1966

-47-

1980B

1  $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, butil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-  
butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopi-  
ranosido, pentil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirroli-  
dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, hexil 6,  
5 8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-  
tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, etil 6,8-dideoxi-6-(4-bu-  
til-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopira-  
nosido, propil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-  
tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, butil 6,8-dideoxi-6-(4-bu-  
10 til-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto octopira-  
nosido, pentil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-  
tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido, hexil 6,8-dideoxi-6-(4-bu-  
til-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopira-  
nosido.

15                   Sustituyendo la 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por otras  
4-alkuil-1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde el 4-alkuilo, es etilo,  
propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo,  
undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo,  
heptadecilo, octadecilo, nonadecilo y eicosilo y las formas isómeras  
20 de los mismos; por 4-cicloalkuil-1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde  
4-cicloalkuilo es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexi-  
lo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclo<sup>o</sup>pentilo, 2,3-dimetilciclo<sup>o</sup>  
butilo, 4-metilciclobutilo, y 3-ciclo<sup>o</sup>pentilpropilo; y por 4-arakuil-  
1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde 4-arakuilo es bencilo, fenetilo,  
25 3-fenilpropilo, y 1-naftilmetilo, se obtienen los correspondientes

322754

-48-



1 alquil, cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-alquil, 4-cicloalquil, y 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos, y los correspondientes alquil, cicloalquil, y aralquil-6-(4-alquil, 4-cicloalquil, 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos.

5 Por ejemplo, sustituyendo la 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina por 4-metil-, 4-etil-, 4-propil-, 4-pentil-, y 4-hexil-1-carbobenzoxi-L-prolinas, se obtienen, metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-metil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-pentil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-hexil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-metil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos.

10

15

20

25

322754

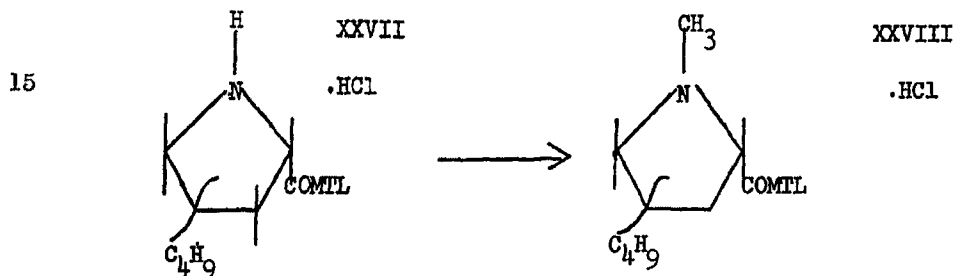
-49-



1 sidos; metil, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-  
 pentil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopi-  
 ranósidos; y metil, etil, propil, butil, pentil y hexil 6,8-dideoxi-  
 6-(4-hexil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-oc-  
 5 piranósidos.

Si se desea, los compuestos l-carbobenzoxi preparados de  
 acuerdo con Parte E pueden clorarse por el procedimiento de Parte A  
 y el 7-cloro compuesto resultante procesarse por pasos sucesivos del  
 ejemplo para separar el l-carbobenzoxi grupo y para sustituir el ni-  
 10 trógeno de la prolina para dar los productos finales del ejemplo.

Cl. Clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(1-metil-4-butil-L-2-pirro-  
 lidin-carboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido.



20 Una solución de 2.0 g de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-  
 6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-oc-  
 topiranosido de Parte F y 2.0 ml de formalina al 37% en 150 ml de me-  
 tanol se agitó sobre 500 mg de paladio al 10% en carbón bajo 40 lbs  
 de presión de hidrógeno durante 3.5 horas. Por separación del cata-  
 25 lizador por filtración y del solvente por destilación al vacío se -

322754

-50-



1980B

1 obtuvo clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(1-metil-4-butil-L-2-pi-  
rrolidincaboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido par-  
cialmente cristalino el cual por TLC (cromatografía en capa delgada)  
sobre silica gel usando una mezcla de acetato de etilo, acetona, - -  
5 agua (8:4:1) para la elución y solución de  $KMnO_4$  para la detección,  
consistía principalmente de dos materiales, los cis y trans epimeros  
de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(1-metil-4-butil-L-2-pirrolid-  
incaboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido en una re-  
lación de aproximadamente 3 a 2.

10 G2. Separación de las formas cis y trans por cromatografía

Los clorhidratos de metil 6,8-dideoxi-6-(1-metil-4-butil-  
L-2-pirrolidincaboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosí-  
do de Parte G1 se disolvieron en una mezcla de metanol y cloruro de  
metileno (1:1) y se agregó 1.5 ml de trietilamina. A esta solución  
15 se agregaron 7 g de silica gel y el solvente se evaporó bajo vacío  
dejando el antibiótico depositado sobre la silica gel que fue tamiza-  
da sobre la parte superior de una columna cromatográfica de 200 gra-  
mos de silica gel preparada con una mezcla solvente constituida de -  
acetato de etilo, acetona, agua en una relación de 8:4:1. La columna  
20 se desarrolló por elución con el mismo solvente y se recolectaron por-  
ciones de 20 ml. La cromatografía en capa delgada de cada fracción  
mostró que las fracciones 31-38, 310 mg eran del trans epímero esen-  
cialmente puro, que las fracciones 49-74, 32 mg, eran del cis epíme-  
ro esencialmente puro, y que las fracciones 39-48 consistían de una  
25 mezcla de epimeros. Los últimos pudieron ser separados posteri-

322754

-51-

-8



1980B

1 ormente por cromatografía repetida. Cada epímero se disolvió en --  
unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluido y se precipitó el clor  
hidrato por el agregado de acetona. De esta manera se obtuvieron -  
50 mg de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-butil-  
5 L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosí-  
do, punto de fusión 135-137°, y unos 150 mg de clorhidrato de metil  
6,8-dideoxi-6-(cis-1-metil-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-  
D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosído, que ablanda a 105° C con poste-  
rior fusión a 175-185° C.

10 El trans epímero recristalizado del mismo solvente fundió  
a 139-141° C y tenía el siguiente análisis:

Análisis 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%  $H_2O$ );

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

De la misma manera la recristalización del cis epímero  
dió un producto que ablandaba a 108° C y posteriormente a aproxima-  
damente 189° C (solvatado) con el análisis siguiente:

Análisis Hallado: (Corregido para 4.95% de agua);

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

El trans epímero fue alrededor de 2.2 veces más activo -  
que la lincomicina por el ensayo S. lutea, aproximadamente 2 veces  
más activo por el ensayo de dilución en caldo, y 2.5 veces más ac-  
tivo en el ratón infectado con S. aureus.

25

322754

-52-



1980B

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

5 H1 Clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(1-etil-4-butil-L-2-pirroli  
dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido.

Una mezcla de 2.0 g de clorhidrato de metil 6,8-deoxi-6--  
(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octo-  
piranosido de Parte F, 1.5 ml de acetaldehído, 150 mg de paladio al  
10 10% en carbón y 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 compuesto principalmente por los cis y trans --  
epímeros de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(1-etil-4-butil-L-2--  
pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido.

H2. Separación de epímeros

15 Como se describe en Parte G2, la mezcla de epímeros de --  
Parte H1 (2 g) se cromatografió sobre 200 g de silica gel usando -  
para elución un sistema solvente de acetato de etilo, acetona, agua,  
(8:4:1). Las fracciones 33-42 por TLC (cromatografía en capa delga-  
da) fueron el trans-epímero puro y se mezclaron, las fracciones - -  
20 49-64 fueron el cis-epímero esencialmente puro y también se mezclaron.  
Las fracciones 43-48 fueron una mezcla de los epímeros la que pudo pu  
rificararse por una nueva cromatografía. Cada epímero se disolvió en  
pocas gotas de ácido clorhídrico diluído y el clorhidrato cristalino  
precipitó por dilución con un gran volumen de éter.

25 La fracción de 415 mg de epímero trans impuro dió 340 mg -

322754

-53-



1980B

- 1 (15.4%) de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-etil-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido cristalino, punto de fusión 144-151<sup>o</sup> C. Por recristalización de acetona diluída el punto de fusión aumentó a 148-151<sup>o</sup> C.
- 5 La fracción de 645 mg de epímero cis dió 300 mg. (14.1%) de clorhidrato de metil 6,8-dideoxi-6-(cis-1-etil-4-butil-L-2-pirrolidinocarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido cristalino, - punto de fusión 135-139<sup>o</sup> C. Por recristalización de acetona diluída, dió cristales, punto de fusión 134-138<sup>o</sup> C.
- 10 El isómero epímero trans mostró aproximadamente 1-1.2 veces la actividad de la lincomicina por ensayo de S. lutea, 2-4 veces la actividad de lincomicina contra organismos gram positivos y 8 veces o más la actividad de lincomicina contra organismos gram negativos.- En ratones contra S. aureus el epímero trans era aproximadamente dos veces más activo que la lincomicina. El epímero cis fue aproximadamente 1/2 más activo que el epímero trans.
- 15 La separación de los isómeros cis y trans no es un paso - necesario puesto que los derivados 7-cloro de los epímeros mezclados son útiles por sí mismos. Es preferible, sin embargo, conservar el vado el contenido del isómero trans puesto que este es la forma más activa. Al llevar a cabo el proceso con esto en mente, pueden ser - obtenidos fácilmente productos epímeros mezclados conteniendo una re lación de epímeros trans y cis de 3:1 a 1:5. Por sustitución del - formaldehído y acetaldehído de Partes G y H por otros compuestos oxo de la fórmula R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>CO, por ejemplo, propionaldehído, acetona, butiral
- 20
- 25



1 dehidro, isobutil metil cetona, benzaldehido, fenilacetaldehido, hi-  
 drocinamaldehido, acetofenona, propiofenona, butirofenona, 3-metil-  
 4-fenil-2-butanona, 2-metil-5-fenil-3-pentanona, 3-ciclopentanopro-  
 5 pionaldehido, ciclohexanoacetaldehido, cicloheptanocarboxaldehido,  
 2,2-dimetilciclopropanoacetaldehido, 2,2-dimetilciclopropil metil -  
 cetona, ciclopentil metil cetona, ciclobutil metil cetona, ciclobu-  
 tanona, ciclohexanona, y 4-metilciclohexanona, y usando el apropiado  
 alquil, cicloalquil, o aralquil 6,8-dideoxi-6-(4-alquil, 4-cicloal-  
 10 quil-, ó 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D--  
galacto-octopiranosido, se obtienen los correspondientes, alquil, -  
 cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(1-R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>CH-4-alquil, 4-ciclo--  
 alquil-, y 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-  
galacto-octopiranosidos los cuales por tratamiento con cloruro de -  
 ticonilo por procedimiento de Parte A dan los correspondientes alquil,  
 15 cicloalquil, y aralquil, 7-cloro-6,7-8-trideoxi-6-(1-R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>CH-4-alquil-,  
 4-cicloalquil-, y 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-L-treo-  
 $\alpha$ -D-galacto-octopiranosidos en donde R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>CH- es propilo, isopropilo,  
 butilo, y 4-metil-2-pentilo; bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, 1-fe-  
 nil-etilo, 1-fenilpropilo, 1-fenilbutilo, 3-metil-4-fenil-2-butilo,  
 20 y 2-metil-5-fenil-3-pentilo; 3-ciclopentilpropilo, 2-ciclohexiletilo,  
 cicloheptilmetilo, 2-(2,2-dimetilciclopropil)-etilo, 1-(2,2-dimetil-  
 ciclopropil)etilo, 1-ciclopentiletilo, 1-ciclobutiletilo, ciclobutilo,  
 ciclohexilo, y 4-metilciclohexilo. Usando formaldehido y acetaldehi-  
 do u otros alcanales, por ejemplo, propionaldehido, butiraldehido, -  
 25 valeraldehido, o caproaldehido con un alquil 6,8-dideoxi-6-(4-alquil-

322754

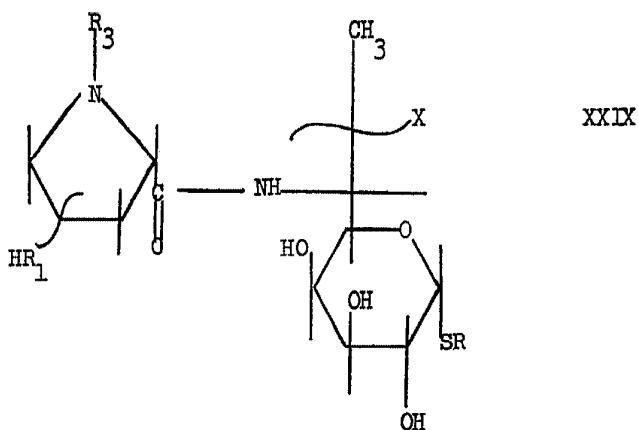
-55-



1980B

1 L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido en donde alquilo y 4-alquilo son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, o hexilo, se obtienen compuestos de partida preferidos de la fórmula

5



10

en donde X es hidroxilo; R, HR<sub>1</sub>, y R<sub>3</sub> son alquilo de no más de seis átomos de carbono, ventajosamente de no más de doce átomos de carbono en el agregado; y la configuración es D-eritro, los cuales por tratamiento con cloruro de tionilo por el procedimiento de Parte A dan compuestos de acuerdo con Fórmula XXIX en donde X es cloro; - R, HR<sub>1</sub>, y R<sub>3</sub> son alquilo como se indica anteriormente, y la configuración se cree es L-treo. Los 6,8-dideoxi compuestos de Fórmula XXIX como se caracterizaron anteriormente son activos antibacterianos comparables con lincomicina. Los compuestos 7-cloro-6,7,8-trideoxi de Fórmula XXIX como se caracterizan anteriormente, tienen el mismo espectro de actividad antibacteriana pero son sustancialmente más activos. Los compuestos representativos de Fórmula XXIX en donde X es cloro pero que se cree poseen la configuración L-treo se -

15

20

25



1 enumeran en la tabla siguiente:

TABLA I  
COMPUESTOS DE FORMULA XXIX EN DONDE X ES CLORO

	R	HR <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>
5	4A metilo	trans-etilo	metilo
	4B metilo	cis-etilo	metilo
	4C (7-cloro-7-deoxi- lincomicina)	trans-propilo	metilo
	4D (7-cloro-7-deoxi- alolincomicina)	cis-propilo	metilo
	4E (7-cloro-7-deoxi- lincomicina E)	trans-propilo	etilo
	4F (7-cloro-7-deoxi- alolincomicina E)	cis-propilo	etilo
10	4G etilo	trans-propilo	metilo
	4H etilo	cis-propilo	metilo
	4I metilo	trans-butilo	metilo
	4J metilo	cis-butilo	metilo
	4K metilo	trans-propilo	etilo
	4L metilo	cis-propilo	etilo
	4M etilo	trans-propilo	etilo
	4N etilo	cis-propilo	etilo
	4O metilo	trans-butilo	etilo
	4P metilo	cis-butilo	etilo
15	4Q metilo	trans-pentilo	metilo
	4R metilo	cis-pentilo	metilo
	4S etilo	trans-butilo	etilo
	4T etilo	cis-butilo	etilo
	4U metilo	trans-pentilo	etilo
	4V metilo	cis-pentilo	etilo
	4W etilo	trans-pentilo	metilo
	4X etilo	cis-pentilo	metilo
	4Y metilo	trans-hexilo	metilo
	4Z metilo	cis-hexilo	metilo
20	4AA butilo	trans-propilo	metilo
	4AB butilo	cis-propilo	metilo
	4AC etilo	trans-pentilo	etilo
	4AD etilo	cis-pentilo	etilo
	4AE butilo	trans-butilo	etilo
	4AF butilo	cis-butilo	etilo
	4AG butilo	trans-pentilo	metilo
	4AH butilo	cis-pentilo	metilo
	4AI ciclohexilo	trans-propilo	metilo
	4AJ ciclohexilo	cis-propilo	metilo
25	4AK butilo	trans-pentilo	etilo
	4AL butilo	cis-pentilo	etilo
	4AM pentilo	trans-pentilo	etilo
	4AN pentilo	cis-pentilo	etilo

322754

-57-

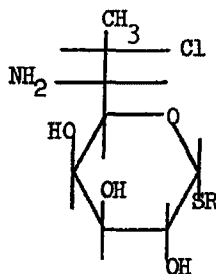


-8

1980B

1 Los intermedios para la preparación de los compuestos anteriores -  
 corresponden a la tabla de arriba en donde (1) X es hidroxil; (2) -  
 $R_3$  es hidrógeno; (3) X es hidroxil y  $R_3$  es hidrógeno; (4) X es hí-  
 droxil y  $R_3$  es carbobenzoxil; (5) X es cloro y  $R_3$  es carbobenzoxil; -  
 5 (6) X es hidroxil,  $R_3$  es carbobenzoxil, y  $HR_1$  y H en la posición 4 -  
 son reemplazados por el grupo ilideno,  $R_1$ ; (7) X es cloro,  $R_3$  es -  
 carbobenzoxil, y  $HR_1$  y H en la posición 4 son reemplazados por el -  
 grupo ilideno,  $R_1$ ; (8) X es hidroxil,  $R_3$  es hidrógeno, y  $HR_1$  y H en  
 la posición 4 son reemplazados por el grupo ilideno,  $R_1$ ; (9) X es  
 10 cloro,  $R_3$  es hidrógeno, y  $HR_1$  y H en la posición 4 son reemplaza-  
 dos por el grupo ilideno;  $R_1$ ; (10) X es hidroxil, y  $HR_1$  y H en la  
 posición 4 son reemplazados por el grupo ilideno,  $R_1$ ; y (11) X es  
 cloro y  $HR_1$  y H en la posición 4 son reemplazados por el grupo -  
 ilideno  $R_1$ ; entendiéndose que cuando X es hidrógeno su configura-  
 15 ción es D-eritro y que cuando X es cloro, la configuración se cree  
 sea L-treo.

20 Cuando la lincomicina de Parte A de Ejemplo 4 es reem-  
 plazada por alquilo, cicloalquilo, o arálquil 6-amino-6,8-dideoxi-  
 1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galacto-octopiranosido base libre, se obtienen  
 25 compuestos de la fórmula:



XXX

25



322754

-59-



1980B

1 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 humedad. La mezcla se revuelve a la temperatura ambiente durante una hora, después de lo cual se agregan 100 ml de éter anhidro y se continúa revolviendo en un baño de hielo durante 0.5 hora. La mezcla se filtra y el sólido se seca al vacío a 50° C; rendimiento 13.35 g (85.5%) de p-toluenosulfonato de 3,4-O-isopropilidenlincomicina. Puede recuperarse un adicional de 1.15 g (7.4%) de los licores madre agregando 350 ml de éter anhidro al licor madre de la operación de filtración previa 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 nuevamente con dos porciones de 100 ml de éter. Los extractos etéreos son lavados con 50 ml de solución saturada de cloruro de sodio y luego filtrados a través de sulfato de sodio anhidro. El éter se evapora bajo vacío dejando 7.9 g (73.1%) de 3,4-O-isopropilidenolincomicina que se disuelve en 25 ml de éter acetato y se concentra a aproximadamente 10 a 15 ml. El concentrado se deja en reposo a la temperatura ambiente durante varias horas y luego se refrigera durante la noche. Se filtran los cristales de la solución y se lavan moderadamente con acetato de etilo frío; rendimiento 4.55 g (42.2%) de 3,4-O-isopropilidenlincomicina que tiene un punto de fusión de 126-128°C y una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{25}$  101-102° (c, 1, cloruro de metileno).

322754

-60-



1980B

## 1 B. 7-dehidro-3,4-O-isopropilidenolincomicina

A una solución de 6 g (0.0135 mols) de isopropilidenolincomicina en 75 ml de piridina se agregaron 12 g (exceso) de óxido -  
crómico. La solución se calienta a aproximadamente 20° C. Después  
5 de una hora la mezcla se agregó a una solución conteniendo 250 ml.  
tanto de éter etílico como de acetato de etilo. Esta luego se fil-  
tró y evaporó hasta un jarabe, 8.4 g. Este jarabe se distribuyó -  
en distribución en contra corriente de 500 transferencias, usando  
el sistema, agua:acetato de etilo:etanol:ciclohexano (1:1:1:1). -  
10 Se aisló 7-dehidro-3,4-O-isopropil-idenolincomicina como la frac-  
ción máxima de los tubos 330-380,  $K_r = 2.45$ .

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

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

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

## 15 C. 3,4-O-isopropilideno-epilíncomicina

A 1.6 g de 7-dehidro-3,4-O-isopropilidenolincomicina pura  
de Craig, en 75 ml de metanol se agregaron 400 mg de boro-hidru-  
ro 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 y  
20 se extrajo tres veces con 25 ml cada vez de cloruro de metileno. -  
El extracto fue lavado nuevamente con 15 ml de agua, luego secado -  
sobre cloruro de magnesio y evaporado hasta sequedad. El residuo,  
1.4 g se distribuyó en distribución en contra corriente de 500 trans-  
ferencias usando el sistema solvente, agua:acetato de etilo:etanol:  
25 ciclohexano (1:1:1:1), y se observó un único pico a  $K_r = 1.05$ , que --

32-2754



1 correspondía con lo teórico. El material en los tubos 240 a 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.

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

La cromatografía en capa delgada (TLC) mostró que este -  
material consistía de dos sustancias. Una era 3,4-O-isopropilideno  
lincomicina; la otra, 3,4-O-isopropilideno-epilincmicina, que se -  
movía en forma ligeramente más lenta.

10 D. Epilincmicina

El jarabe de Parte C se guardó a temperatura ambiente - -  
5 horas en una solución conteniendo 60 ml de ácido clorhídrico 0.25 N  
y 40 ml de etanol. Luego se conservó a 0° C durante 4 días. Después  
de la neutralización con bicarbonato de sodio, se evaporó hasta 25 ml,  
15 luego se extrajo con cloroformo. El extracto se lavó con una peque-  
ña cantidad de agua y se secó sobre sulfato de magnesio, luego se -  
evaporó hasta un residuo. La cromatografía en capa delgada del re-  
siduo mostró dos sustancias, ambas eran activas contra S. lutea. El  
residuo se cromatografió en una columna de 14" x 3/4" de Florisil -  
20 (un silicato sintético del tipo descrito en Patente E.U.A. 2,393,  
625) la cual se eluyó en forma gradual con solvente que varió conti-  
nuamente desde 100% de Skellysolve B (hexano técnico) hasta 100% de  
acetona. El volumen total fue 5000 ml. Así se separaron los dos -  
compuestos.

25



1 Fracción I: Tubos 53-65 (cortes de 40 ml) Epilincomicina.

Valoración 450 mcg/ml

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

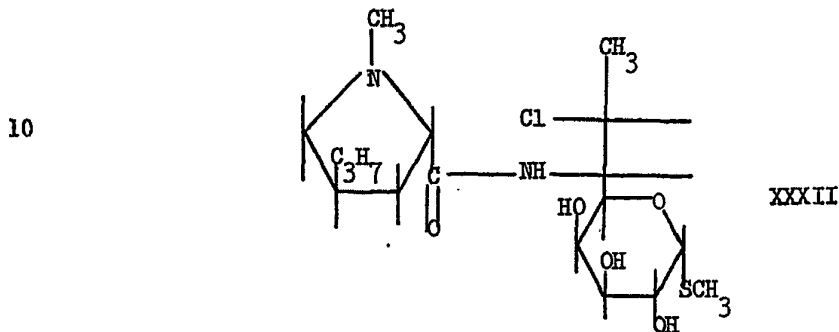
C, 50.92; H, 8.55; N, 6.60; S, 7.56.

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

5 Fracción II: Tubos 73-104. Lincomicina.

Valoración 950 mcg/mg

E. 7-epicloro-7-deoxilincomicina.HCl



15 El clorhidrato de 7-epilincomicina (0.85 g) se suspendió -  
 en 17 ml de tetracloruro de carbono. Se agregó cloruro de tionilo -  
 (4.5 ml) y la mezcla de reacción se revolvió a 25° durante 15 minu-  
 tos. El sólido se disolvió para dar una solución líquida incolora.  
 La reacción entonces se calentó a reflujo durante dos horas, se en-  
 frió a 25°, se evaporó bajo vacío hasta un residuo sólido amarillo.  
 20 Este producto impuro se disolvió en 10 ml de etanol, se alcalinizó  
 con hidróxido de sodio 0.1N, se diluyó hasta 500 ml con agua y se -  
 extrajo cuatro veces con porciones de 50 ml de cloroformo. Los ex-  
 tractos de cloroformo mezclados se volvieron a lavar dos veces con  
 porciones de 20 ml de solución de cloruro de sodio saturado, se fil-

25

322754



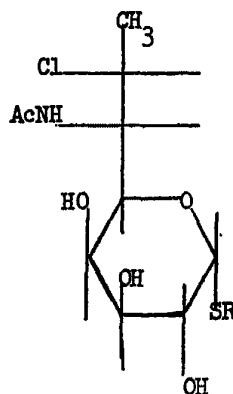
1980B

-63-

1 traron y se evaporaron bajo vacío. El residuo sólido se suspendió -  
 con 500 ml de éter, se filtró y se hizo pasar gas cloruro de hidró-  
 geno dentro del filtrado. El precipitado sólido se recolectó, se -  
 disolvió en 3 ml de etanol y se volvió a precipitar por el agregado  
 5 de éter.

El sólido se recolectó y se secó. Se obtuvo un 30% de -  
 rendimiento (270 mg) de 7-epicloro-7-deoxilincomicina con una valo-  
 ración de aproximadamente 2 a 3 veces la actividad de la lincomici-  
 na. La cromatografía en capa delgada (TLC) sobre silica gel (siste  
 10 ma MeOH:CHCl<sub>3</sub>, 1:6, v/v) mostró una mancha que tiene un RF de 0.44  
 cuando se compara con un RF de 0.52 de 7-cloro-7-deoxilincomicina.

Sustituyendo lincomicina en este ejemplo por análogos de  
 lincomicina de Fórmula II en donde Z, R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> del grupo Ac -  
 son como se dan e ilustran anteriormente, se obtienen los correspon  
 15 dientes 7-cloro-7-deoxiepincomicina análogos de la fórmula



XXXIII

20

25



1 en donde Z, R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> del grupo Ac son como se indica e ilustra  
anteriormente. Todos los compuestos que han sido descritos anterior-  
mente, por lo tanto tienen su contraparte en la configuración opues-  
ta, esto es, la configuración derivada de la forma 7-epi. Si se efec-  
5 túa una inversión por la sustitución del 7-hidroxi grupo por cloro,  
entonces los epi-compuestos que tienen la L-treo configuración, son  
invertidos a la D-eritro configuración. En todo caso ambas, la for-  
ma D-eritro y la L-treo se obtienen según se usen las lincomicinas -  
normales (D-eritro) o las epi-lincomicinas (L-treo).

10 Ejemplo 6

Clorhidrato de 7-cloro-7-deoxilincomicina

Clorhidrato de lincomicina (10 g - 0.0226 mol), 200 ml de  
tetracloruro de carbono, y 10 ml de SOCl<sub>2</sub> se revolvieron y calenta-  
ron a reflujo durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió has-  
15 ta 25° C y se filtró. El sólido amarillo se secó bajo vacío y luego  
se disolvió en unos 10 ml de etanol hirviendo. Se agregó acetato de  
etilo hasta turbidez y la solución se dejó enfriar. Los cristales -  
de clorhidrato de 7-cloro-7-deoxilincomicina así formados se recupe-  
raron en un rendimiento de aproximadamente 43%.

20 Mientras que los procesos de la invención han sido descri-  
tos respecto a la preparación de compuestos específicos, se debe en-  
tender que el proceso es ampliamente aplicable a compuestos de Fórmu-  
la II en donde Ac y R son radicales que no son reactivos con cloruro  
de tionilo. Así, en el proceso amplio de acuerdo con la invención,  
25 Ac puede ser hidrógeno o cualquier acilo que no sea reactivo con - -  
cloruro de tionilo y R puede ser cualquier alquilo, sin tener en  
cuenta el número de carbonos o cualquier otro radical, por ejemplo,  
aralquilo como ser bencilo, naftilmétilo y benzidriilo, o radicales  
30 hidrocarbonados semejantes que no son reactivos con cloruro de tio-  
nilo.

322754

- 65 -



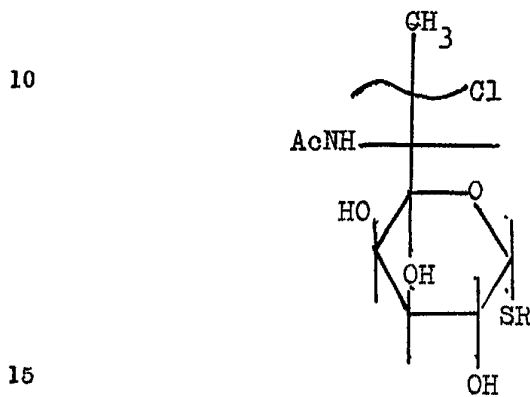
1980B

1 N O T A . -

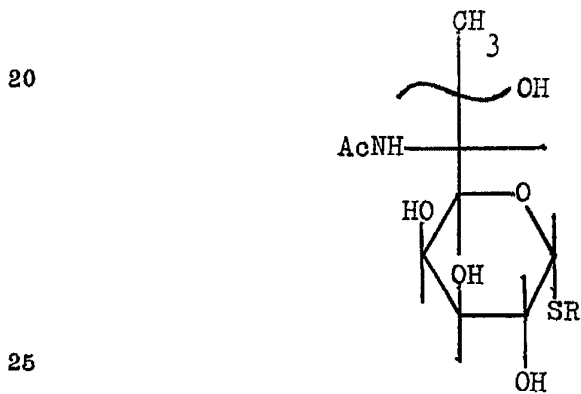
=====

La presente patente de invención comprende las siguientes reivindicaciones:

5 1.- Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos de lincomicina, de la fórmula



en donde R y Ac son como se indica más abajo, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de la fórmula



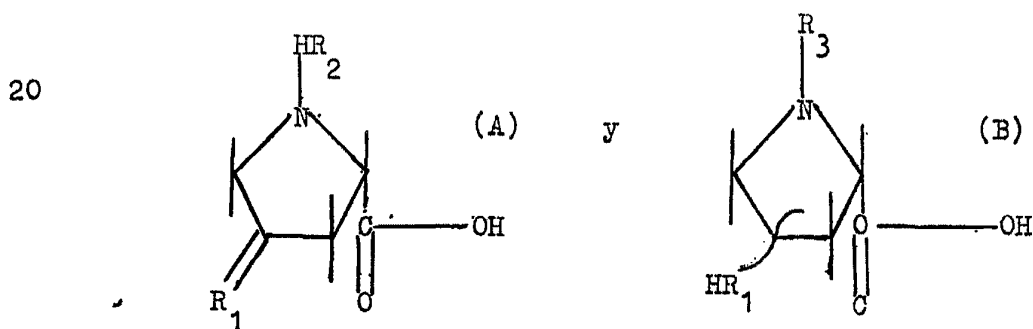


1 con cloruro de tionilo a una temperatura eficaz para reemplazar el 7-hidroxi grupo con cloro, en donde R y Ac son radicales que no son reactivos con cloruro de tionilo.

5 2.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R es alquilo y Ac es acilo no reactivo con cloruro de tionilo.

10 3.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R es alquilo y Ac es HX.H en donde HX es un ácido fuerte.

15 4.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R es alquilo de no más de 20 átomos de carbono y Ac es el radical acilo de un ácido 4-sustituído-L-2-pirrolidincarboxílico de la fórmula seleccionada del grupo constituido por



25 en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son seleccionados del grupo constituido

322754

- 8 FEB 1966



-67-

1 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  $R_3$  es seleccionado del grupo constituido por hidrógeno y  $HR_2$ .

5 5.- Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos de lincomicina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva.

10 Consta esta memoria de sesenta y siete hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 8 de Febrero de 1966.

CARLOS ROEB