

22.173

323064



1980A.

323064

una PATENTE DE INVENCION
por veinte años en España

PROPIETARIA: THE UPJOHN COMPANY, Sociedad de nacionalidad norteamericana, con residencia en los E.U.A.

.

OBJETO: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS COMPUESTOS DE LINCOMICINA".

.

INVENTORES: ROBERT DAVID BIRKENMEYER, de nacionalidad norteamericana, con residencia en los E.U.A.

FRED KAGAN, de nacionalidad norteamericana con residencia en E.U.A.

= = = = =

323064

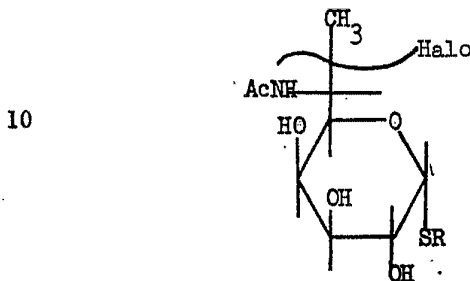
-2-



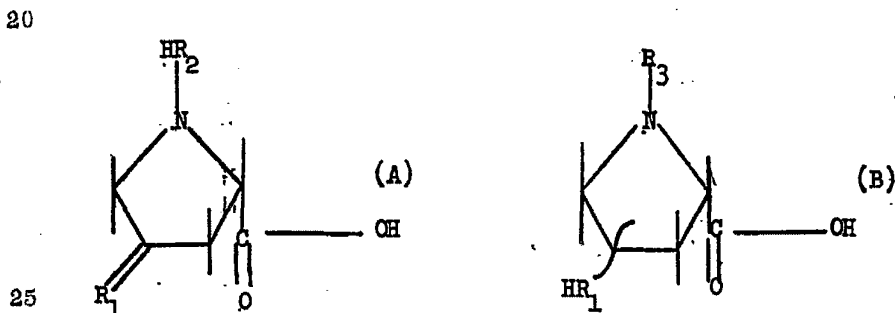
1980A

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

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, ventajosa-
 mente 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 aci-
 lo de un ácido L-2-pirrolidinocarboxílico 4-sustituído de la fórmula





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 car-
 bono, cicloalquilideno de desde 3 a no más de 8 átomos de carbono,
 y aralquilideno de no más de 12 átomos de carbono, ventajosamente
 5 de no más de 8 átomos de carbono; y R_3 es hidrógeno o HR_2 .

Ejemplos de alquilo de no más de 20 átomos de carbono --
 (R , HR_1 , y HR_2) son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexi-
 lo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo,
 tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, no-
 10 nadecilo, y eicosilo y sus formas isómeras. Ejemplos de cicloal-
 quilo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ci-
 cloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclopropilo, 2,3-dimetilciclobuti-
 lo, 4-metilciclobutilo, y 3-ciclopropilpropilo. Ejemplos de aral-
 quilo son bencilo, fenetilo, α -fenilpropilo, y α -naftilmetilo. --
 15 Ejemplos de grupos alquilideno, cicloalquilideno, y aralquilideno
 (R_1 y R_2) incluyen metilideno, etilideno, propilideno, butilideno, -
 pentilideno, hexilideno, heptilideno, octilideno, nonilideno, de-
 cilideno, undecilideno, dodecilideno, tridecilideno, tetradecilide-
 no, pentadecilideno, hexadecilideno, heptadecilideno, octadecilide-
 20 no, nonadecilideno, eicosilideno, y sus formas isómeras, ciclopro-
 pilideno, ciclobutilideno, ciclopropilideno, ciclohexilideno, ciclo
 heptilideno, ciclooctilideno, 2-ciclopropiletilideno, 3-ciclopen-
 tilpropilideno, bencilideno, 2-feniletilideno, 3-fenilpropilideno,
 y α -naftilmetileno.

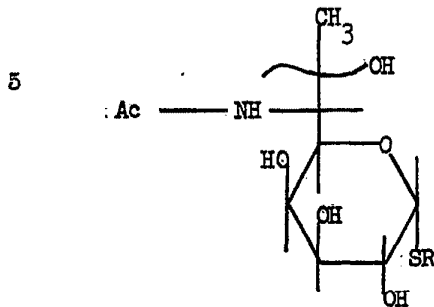
323064



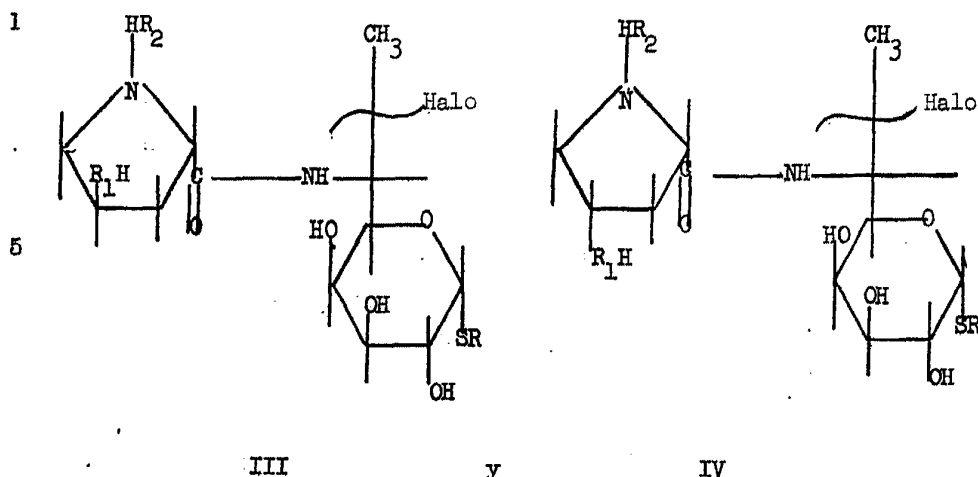
1980A

-4-

1 Los nuevos compuestos de la invención, Fórmula I, como - -
 también otros compuestos relacionados, pueden prepararse reemplazan
 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 reactivo Rydon y calentando. En el - - -
 proceso, Ac y R pueden ser cualquier radical que no sea reactivo con
 reactivo Rydon, pero para la preparación de compuestos de la -
 invención, Ac y R son como se indica anteriormente. Por ejemplo, -
 15 cuando un compuesto de Fórmula IIA (Ac en Fórmula II es aquél del -
 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-
 20 to de Fórmula IB como una mezcla de los epímeros cis y trans de - -
 acuerdo con las fórmulas



10

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

15 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 -
 20 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 $R_4R_5C_2$ 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,
 25 butirofenona, 3-metil-4-fenil-2-butanona, 2-metil-5-fenil-3-pentano

323064

-6-

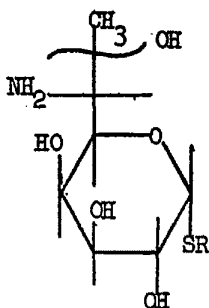
14 F



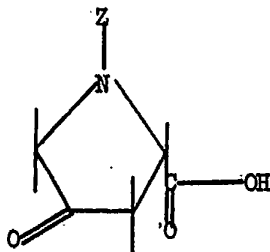
1980A

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.

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-pitro-
 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



323064

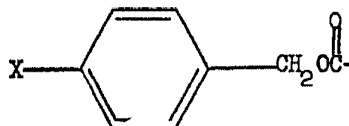
-7-



1980A

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

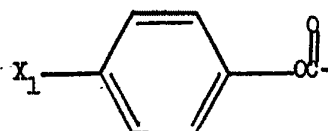
10



en donde X es hidrógeno, nitro, metoxi, cloro, o bromo, por ejemplo
carbобензоxi, p-nitrocarbобензоxi, p-bromo-, y p-clorocarbобензоxi;

15

y grupos feniloxicarbonilo de la fórmula



20

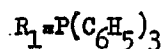
en donde X₁ es hidrógeno, alilo, o alquilo de no más de 4 átomos de
carbono, tal como feniloxicarbonilo, p-toliloxicarbonilo, p-etilfe-
niloxicarbonilo, y p-alilfeniloxicarbonilo y semejantes.

25

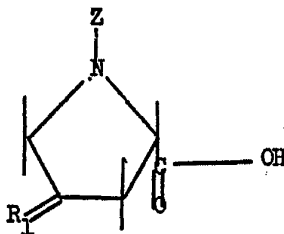
Para llevar a cabo este proceso el ácido 4-oxo-L-2-pirro-
lidinocarboxílico (Fórmula C) se agrega a un agente Wittig reciente
mente preparado. Los reactivos Wittig usados aquí pueden represen-



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 alquiltrifenilfosfonio, 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-alkuili-
15 deno-, 4-cicloalquilideno-, ó 4-aralquilideno-l-protegido-L-prolina
que tiene la fórmula siguiente



20

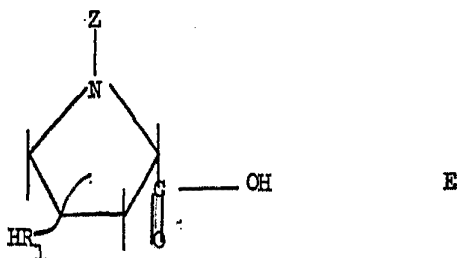
se recupera de la mezcla de reacción de una manera convencional, -
generalmente por extracción de soluciones acuosas de la mezcla de-

25



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 diciclohe-
 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 trimetilbencilamónico con ligaduras cruzadas en el ci-
 clo hidróxido. Si se desea, los compuestos de partida de Fórmula II
 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 -

323064

-10-

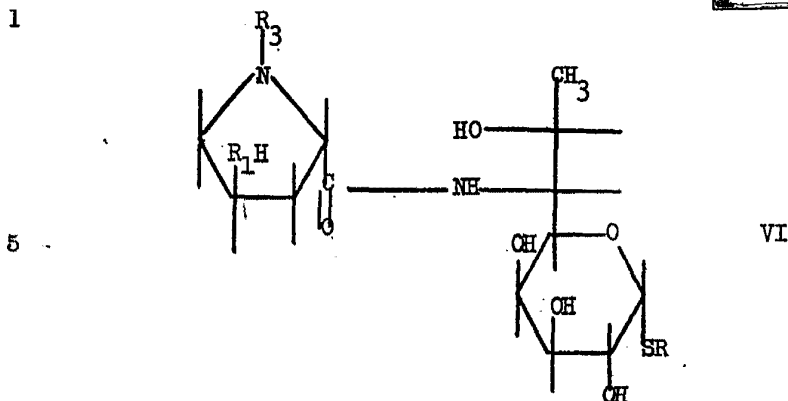


1980A

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 hidrogenólisis 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 o Fórmula E con bromuro de
15 hidrógeno en ácido acético para separar el grupo Z y luego reempla-
zando el hidrógeno-N por un grupo HR_2 por el procedimiento indicado
anteriormente. Los compuestos de Fórmula IID y IIE son convertidos
en los compuestos de Fórmula IIB, por el mismo proceso.

20 Algunos de los compuestos de partida de Fórmula II se ob-
tienen biosintéticamente. La lincomicina, metil 6,8-didecxi-6-(trans-
1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-ga-
lacto-octopiránósido, 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



10 en donde R y R₃ son metilo y R₁H es propilo. La lincomicina B, -
 metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-etil-L-2-pirrolidincarboxami-
 do)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido (Fórmula VI en donde
 R y R₃ son metilo y -R₁H es etilo) también es un producto de elabo-
 ración del mismo microorganismo cuando se cultiva de acuerdo con -
 15 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- α -D-galacto-octopiranosido (Fórmula VI
 en donde R es etilo, -R₁H es propilo y R₃ 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-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-
 galacto-octopiranosido (Fórmula VI en donde R es metilo, -R₁H es -
 propilo, y R₃ es hidrógeno) se obtiene cuando la fermentación de -
 Patente E.U.A. 3,086,912 se lleva a cabo en presencia de α -MIL -
 25 agregada, metil 6-amino-6,8-dideoxi-D-eritro-1-tio- α -D-galacto-octo-
 piranosido, un compuesto obtenido por la hidrazinólisis de lincomi-

323064

-12-



1 cina. El metil 6,8-dideoxi-6-(trans-4-etil-L-2-pirrolidincarboxami-
do)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido (Fórmula VI en donde -
R es metilo, -R₁H es etilo y R₃ es hidrógeno) es también producido-
cuando se agrega α -MPL 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- α -D-galacto-octopiranosido
(Fórmula VI en donde R es etilo, -R₁H es propilo y R₃ es hidrógeno)
se produce cuando la fermentación de Patente E.U.A. 3,086,912 se lle-
va a cabo en presencia de α -ETL agregado, etil 6-amino-6,8-dideoxi--
D-eritro- α -tio-D-galacto-octopiranosido, un compuesto obtenido por la

10 hidrazinólisis de lincomicina C. El etil 6,8-dideoxi-6-(trans-4-etil-
L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido
(Fórmula VI en donde R es etilo, -R₁H es etilo, y R₃ es hidrógeno)
es también obtenido cuando se agrega α -ETL a la fermentación de Pa-
tente E.U.A. 3,086,912. Los productos N-desmetilados, descritos

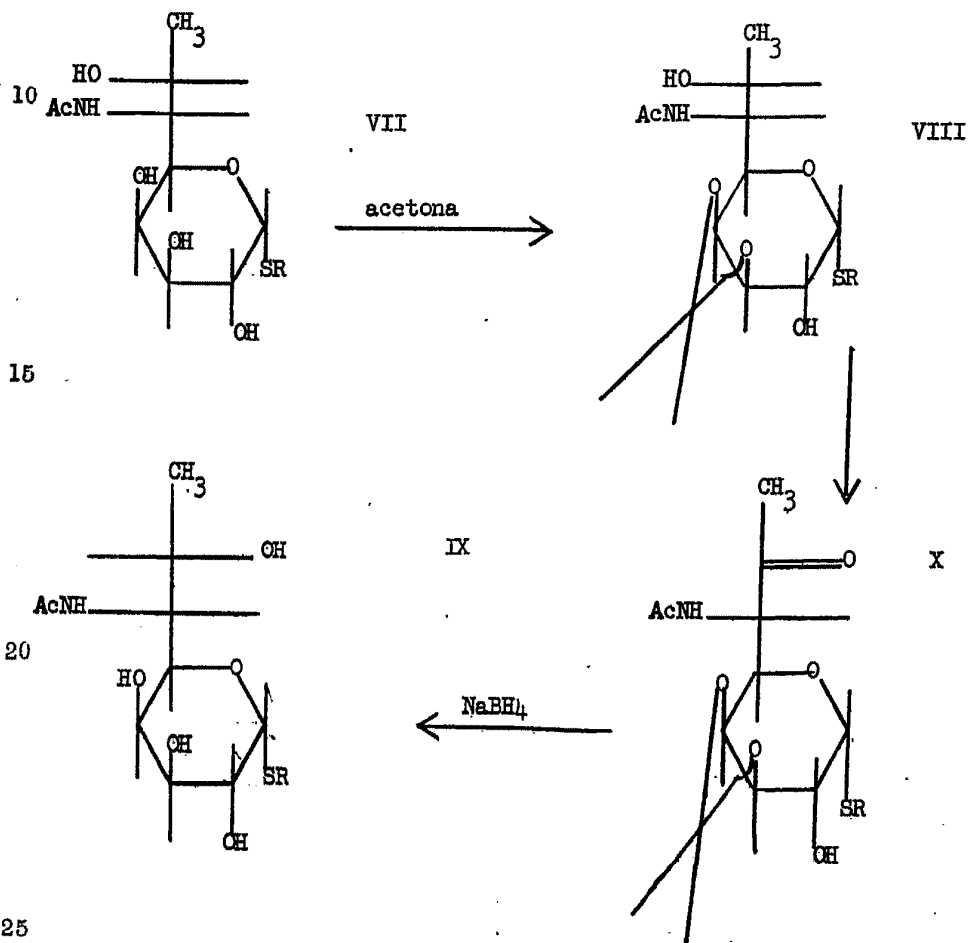
15 anteriormente, que se obtienen cuando se agregan α -MPL y α -ETL al -
proceso de fermentación de Patente E.U.A. 3,086,912, son ejemplos -
del compuesto de partida IIB en donde R₃ es hidrógeno, en el cual por
el procedimiento descrito anteriormente, pueden reemplazarse los hi-
drógenos-N cuando se desea para que R₃ sea igual a HR₂, por ejemplo,

20 cuando se desea producir metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-etil-4-propil-
L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido,
o etil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-
1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, o etil 6,8-dideoxi-6-(trans-
1-etil-4-etil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-



- 1 octopiranosido, o metil 6,8-dideoxi-6-(trans-1-etil-4-etil-L-2-pirro-
lidincarboxamido)-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 conversión del 7-hidroxi grupo en un
7-oxo grupo y retorno nuevamente a un grupo 7-hidroxi. Un procedi-
miento adecuado para este propósito se ilustra en la siguiente secu-
encia:



323064

-14-



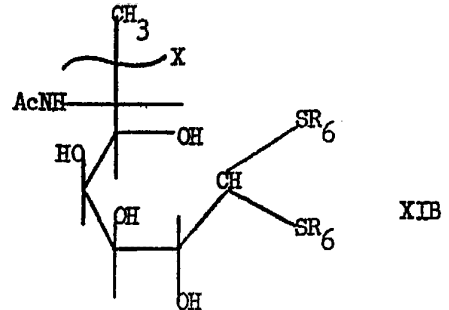
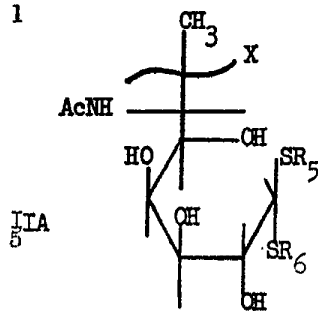
1966

1980A

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-oxo-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- α -D-galacto-octanopiranos-7-ulosido, el cual por tratamien-
to con borchidruro de sodio se convierte en 7-epilincomicina, metil
6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-
tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosido. Cualquiera de los compuestos
10 de partida de Fórmula II que tienen una configuración D-eritro, pue-
den convertirse en la correspondiente configuración D-treo por este
procedimiento.

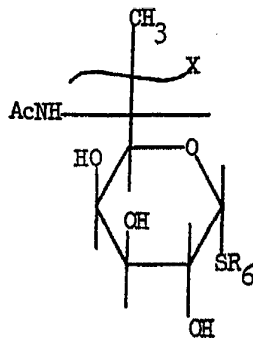
Puesto que las lincomicinas producidas biosintéticamente,
así como los amino azúcares derivados de las mismas, son ya sea -
15 metil o etil tioglucósidos, es a veces deseable convertirlos en glu-
cósidos superiores o inferiores. Es también a veces deseable con-
vertir cualquiera de los compuestos de 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_GSH en donde R_G es un grupo alquilo de no más de 20
átomos de carbono, pero uno diferente de R, por ejemplo, compuestos
de Fórmula I y II por reacción con un mercaptan de Fórmula R_GSH pro-
duce ditioacetales de la fórmula

25



en donde X es hidróxi o halógeno, que por tratamiento con ácido y/o por calentamiento, son reciclizados para dar un compuesto de la fórmula siguiente:

15



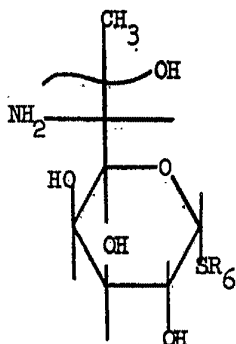
XII

20 El proceso puede aplicarse directamente a cualquiera de los productos 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:

25



1



XIII

5

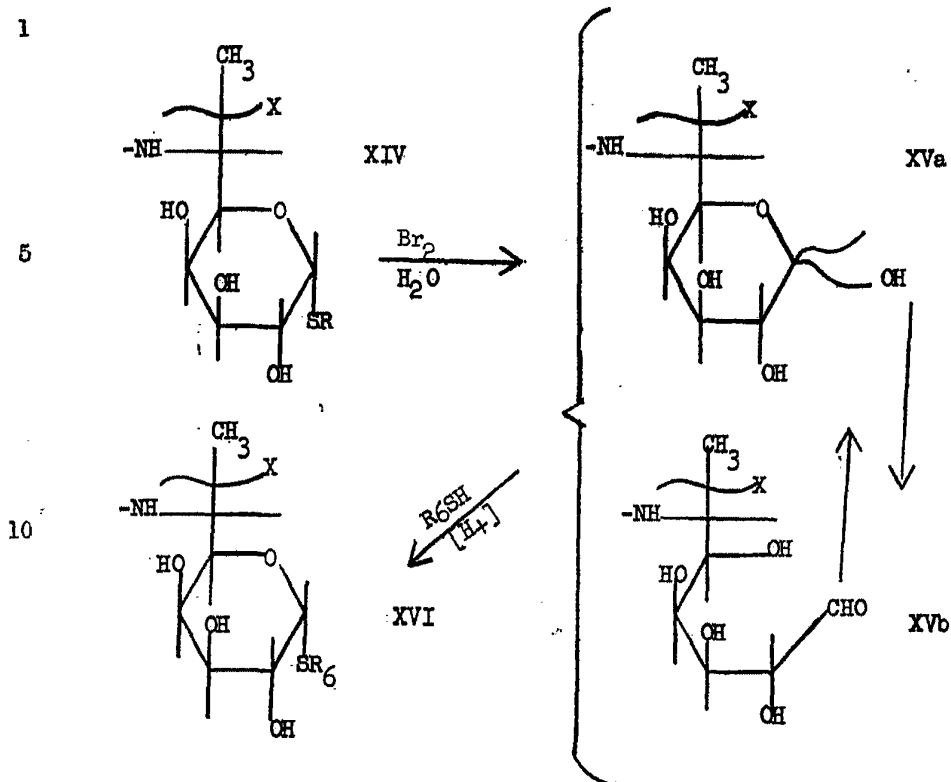
10

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 hidroxil. El proceso también puede aplicarse a compuestos de partida de Fórmula V. Por ejemplo, α -MHL por tratamiento con etil mercaptan seguido por reciclización como se describe anteriormente es convertido en α -EHL.

15

20

Un proceso alternativo para preparar compuestos de Fórmula XI o Fórmula XIII es bromar el material de partida y luego hacerlo reaccionar con un mercaptan de acuerdo con la siguiente secuencia.



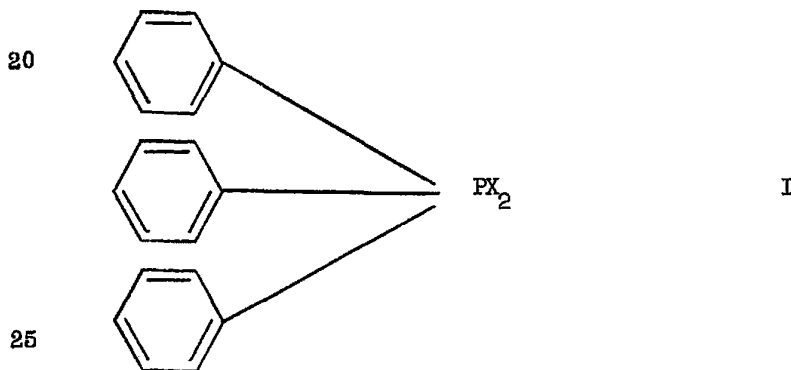
El compuesto de partida, XIV, se disuelve en agua como una sal soluble, por ejemplo, el clorhidrato, y se agrega bromo con enfriamiento ventajosamente entre -10 y 20° C. Es suficiente si la solución acuosa se enfría hasta aproximadamente 0° C y se agrega el bromo gota a gota. La cantidad estequiométrica 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



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_6SH reacciona con el azúcar XV para formar el tioglucósido XVI.-
 Concomitantemente puede formarse algún diacetal de Fórmula XI que
 luego de separación puede ser ciclizado como se describe anterior
 mente para formar más del tioglucósido XVI deseado.

10 El mecanismo por el cual el reactivo Rydon efectúa la -
 sustitución del 7-hidroxi por halógeno no es completamente conoci
 do. Se cree sin embargo, que el mecanismo es tal, que no se pro-
 duce un cambio en la configuración. Por lo tanto, un 7-hidroxi--
 compuesto de la configuración D-eritro daría un 7-halo compuesto
 de L-treo configuración.

15 Los reactivos Rydon están formados por el agregado de -
 halógeno a la trifenilfosfina o trifenilfosfito o el agregado de-
 haluro de alquilo al trifenilfosfito pudiendo representarse por
 la fórmula:



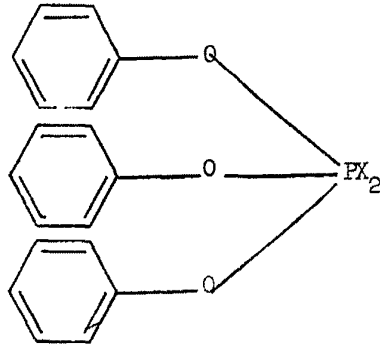
323064

-19-



1980A

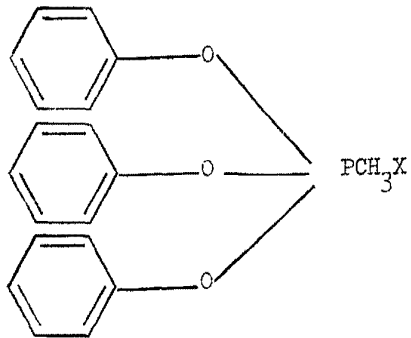
1



II

5

10



III

15

en donde X es halógeno, por ejemplo, cloro, bromo y yodo. Rydon et al., J. Chem. Soc. 2224 (1953); Ibid, 2281 (1954); Ibid, 3043 (1956).

20

El reactivo Rydon puede ser formado insitu por el agregado de halógeno o haluro de metilo a una solución de la trifenilfosfina o trifenilfosfito en un solvente inerte tal como acetonitrato o dimetilformamida, o puede aislarse como una entidad separada. En cualquiera de los casos la reacción con la lincomicina o compuestos relacionados se efectúa poniendo en contacto el reactivo Rydon en un solvente inerte, por ejemplo, acetonitrilo o dimetilformamida, hasta que se obtenga la sustitución del 7-hidroxi deseada.

25

323064

-20-



1980A

1 La reacción tiene lugar a la temperatura ordinaria, aunque si se de
sea puede llevarse a cabo un ligero calentamiento. La temperatura -
se mantiene ventajosamente entre unos 20° y unos 55° C. El producto
puede recuperarse de la mezcla de reacción por técnicas bien conoci-
5 das tales como filtración, extracción con solvente, etc. La mezcla
de reacción se calienta ventajosamente con metanol para destruir cual
quier exceso de reactivo Rydon, se filtra para eliminar cualquier só
lido tal como óxido de trifenilfosfina, formado en la reacción, y lue
go tratado para recuperar el producto, El metanol puede ser agrega-
10 do ya sea antes o después de la filtración. Ventajosamente se evapo
ra la mezcla de reacción tratada y filtrada hasta sequedad y se puri
fica por extracción con solvente y/o cromatografía.

15

20

25



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, tiociánico, fluosilícico, hexa--
fluoroarsénico, 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, octildecilsulfúrico,
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 -

323064

-22-



1980A

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 un antiácido. 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 tiociánico 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 - -

323064

-23-



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 su-
periores a la lincomicina y pueden utilizarse para los mismos fines
que la lincomicina. Los otros análogos e isómeros tienen propieda-
des antibacterianas similares pero en un menor grado y pueden utili-
zarse para el mismo propósito que la lincomicina cuando no son obje-
tables cantidades mayores.

10 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-
que de otra manera.

15 Ejemplo 1

A. 7-bromo-7-deoxilincomicina y su Clorhidrato

Se preparó una solución de reactivo Rydon revolviendo una
solución seca de 52.6 g (0.2 M) de trifenilfosfina y 800 ml de ace-
tonitrilo a 30° bajo nitrógeno y 10 ml. (0.19 M) de bromo se agregó
20 durante un período de 20 minutos. Después de revolver durante 10 -
minutos más, se agregaron 8.2 g de lincomicina y se revolvió la re-
acción a 30° durante 18 horas. Entonces se hizo presente un sólido
blanco. La reacción se filtró y el sólido se descartó. Se agregó
metanol (100 ml) al filtrado y los solventes se evaporaron bajo va-

25

323064

-24-



1980A

- 1 cío. El residuo viscoso se disolvió en 100 ml de metanol, se dilu
yó con 1800 ml de agua y se extrajo seis veces con porciones de --
200 ml de éter. Los extractos etéreos se descartaron, la fase --
acuosa se hizo alcalina (pH 11) con KOH acuoso y luego se extrajo
5 cuatro veces con porciones de 200 ml de cloruro de metileno. Los
extractos se secaron y evaporaron dejando 11 g de un sólido amari-
llo que fue cromatografiado sobre 1 Kg de Silica gel, usando meta-
nol:cloroformo 1:9 (v/v) como el sistema solvente. Después de la
primer parte de 1200 ml, se recolectaron 22 fracciones de 56 ml. -
10 Las últimas seis (fracciones 17-22) se mezclaron y evaporaron hasta
sequedad dando 2.8 g de 7-bromo-7-deoxilincomicina. Esta fue con-
vertida en el bromhidrato disolviéndola en agua, agregando HBr has-
ta pH 1, filtrando y liofilizando el filtrado. El bromhidrato te-
nía un $\alpha_D + 114^\circ$ (c, 0.9314, H₂O) y el siguiente análisis:
15 Análisis calculado para C₁₈H₃₄Br₂N₂O₅S:
C, 39.28; H, 6.23; N, 5.09; S, 5.83; Br, 29.04.
Hallado: C, 39.64; H, 6.19; N, 5.07; S, 6.04; Br, 28.59.
En lugar del bromuro, puede sustituirse por otros haló-
genos. El cloro, por ejemplo, da 7-cloro-7-deoxilincomicina que -
20 es idéntica al producto obtenido por cloración de la lincomicina -
con cloruro de tionilo. En lugar de trifenilfosfina puede reempla-
zarse por trifenilfosfito. También en este caso un haluro de me-
tilo puede usarse en lugar del halógeno. En lugar de la lincomici-
na puede utilizarse otras lincomicinas y análogos de las mismas. Así
25 cuando se sustituye la lincomicina por la lincomicina C, se obtiene

323064

-25-



1980A

1 La 7-bromo-7-deoxilincomicina C.

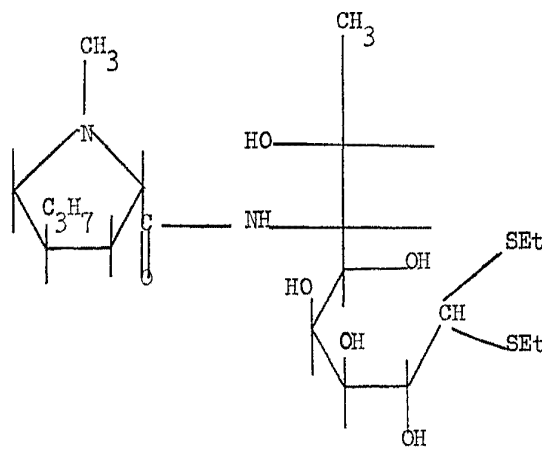
B. Preparación de Lincomicina C

La lincomicina C se obtiene haciendo reaccionar lincomi-
cina con etanotiol (etil mercaptan) para formar un dietil ditioace-
5 tal seguido por calentamiento en presencia de ácido p-toluenosulfó-
nico o por fusión. El procedimiento siguiente es ilustrativo.

El. 6,8-dideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidin-carboxa-
mido)-D-eritro-D-galacto-aldehido-octosa dietil ditioacetal.

10

15



XVII

20

25

323064



1980A

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
de revolver magnéticamente a temperatura ambiente durante 5 horas, -
5 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-L-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



1 Análisis calculado para: $C_{21}H_{42}O_6N_6S_2$:

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 silica gel - - - - -
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 recrystalizaron
15 disolviendo en agua y agregando acetona para dar cristales de clorhi-
drato 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

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

323064

-28-



1980.A

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

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

¹Yeastolac es un hidrolizado protéico de células de levadura.

¹¹N-Z-amina B es digerido enzimático de caseína Sheffield.

El pH del medio de siembra antes de la esterilización fue
10 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 ¹	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

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

25

323064

-29-



1980.A

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

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

PURIFICACION

 El fermentado total (235 litros) de una fermentación de -
10 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 revolviéron durante 45 minutos con
12.5 kg de carbón activado y 2.5 kg de tierra de diatomeas. La mez-
15 cla 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 ve-
ces con porciones de 100 litros de acetona acuosa al 90%. Los eluí--
20 dos 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 prepara-
25 ción oleosa (7.14 g) conteniendo lincomicina y lincomicina C en canti

323064

-30-

14



1980A

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

323064

-31-



1980A

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 recrystallizaron 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.

15 D. Método alternativo para preparación de lincomicina C

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

323064

-32-



1980A

1 acuoso para llevar la fase acuosa hasta pH 11. La fase alcalina se
extrajo bien con cloroformo. Los extractos clorofórmicos 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--
5 fiaron 4.8 g de este sólido sobre 800 g de sílica gel por el procedi--
miento 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--
10 lido se recristalizó de acetona para dar 0.5 g de material idéntico
al dietil diticacetal 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
15 recristalización de acetona acuosa, se obtuvieron 0.5 g de clorhi--
drato de lincomicina C, idéntico a aquel de Parte C,
E. Otros alquil 7-halo-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-
L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio- α -D-galacto-octopiranosidos.

 Sustituyendo el etanotiol en Parte B1 y Parte D de este --
20 ejemplo por otros alquil mercaptanes, por ejemplo, propil, butil, -
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
25 pentil, ciclohexil, cicloheptil, ciclooctil, 2-metilciclopentil, - -

323064

-33-



1980 A

1 2,3-dimetilciclobutil, 2-metilciclobutil y 3-ciclopentilpropil mer-
captanes; o por aralquil mercaptanes, por ejemplo, bencil, fenetil,
3-fenilpropil, y α -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- α -D-galac-
to-octopiranosidos, los cuales por tratamiento con el procedimiento
de Parte A se convierten en los correspondientes alquil, cicloalquil,
y aralquil 7-halo-6,7,8-trideoxi-6-(trans-1-metil-4-propil-L-2-pi-
rrolidincarboxamido)-1-tio- α -D-galacto-octanopiranosidos.

10 Los compuestos así obtenidos (ambos el 6,8-dideoxi y el 7-halo-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.

También cuando se sustituye la lincomicina por metil 6,8-
dideoxi-6-(trans-1-metil ó 1-etil-1-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-
1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, se obtiene el correspon--
diente 7-bromo-7-deoxi-compuesto, metil 7-bromo-6,7,8-trideoxi-6-
20 (trans-1-metil y 1-etil-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio- α -
D-galacto-octopiranosidos, que tienen el mismo espectro antibacteria
no que la lincomicina y actividad igual o mayor.

Por sustitución de los epímeros cis, se obtienen metil-7-
bromo-6,7,8-trideoxi-6-(cis-1-metil y 1-etil-4-butil-L-2-pirrolidin
25 carboxamido)-1-tio- α -D-galacto-octopiranosidos que tiene el mismo es-
pectro antibacteriano.

323064

-34-



1980A

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-1-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-1-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-1-carbobenzoxi-L-prolina.

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

323064

-35-



1980A

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 recristalizaciones de acetonitrilo, se obtuvo
5 una muestra analítica que fundía a 142-144° C y tenía una rotación de $[\alpha]_D - 4^\circ$ (c = 0.99, CHCl₃).

Análisis calculado para: C₂₉H₄₄N₂O₄:

C, 71.86; H, 9.15; N, 5.78.

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

10 Diez gramos de la sal dicitclohexilamina de 4-butiliden-1-carbobenzoxi-L-prolina se agitó con éter y exceso de hidróxido de potasio 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 acidificó con ácido clorhídrico 4N. La mezcla se extrajo repetidas veces con éter y los extractos etéreos se mezclaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y evaporaron al vacío para dar 6.3 g (93%) de - -
15 4-butilideno-1-carbobenzoxi-L-prolina en forma de un aceite.

C. 4-butil-1-carbobenzoxi-L-prolina

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

323064

-36-



1980A

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 otro bromuro de trifenilfosfonio sustituido en donde el 4-sustituyente es metilo, etilo, propilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y eicicilo y sus formas isómeras; ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-ciclopropiletilo, y 3-ciclopentilpropilo; bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y α -naftilmetilo, se obtienen los correspondientes 4-alkilideno-, 4-cicloalkilideno-, y 4-arakilideno-1-carbobenzoxi-L-prolinas, y las correspondientes 4-alkil-, 4-cicloalkil, y 4-arakil-1-carbobenzoxi-L-prolinas. Por ejemplo, cuando se sustituye el bromuro de butiltrifenilfosfonio por bromuros de etilo-, propilo-, isobutilo-, pentilo-, hexiltrifenilfosfonio se obtiene 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.

25



1 D. Metil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro-α-D-galacto-
 octopiranosido (α-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
 10 pendieron los cristales. Los cristales se recolectaron en un filtro,
 se lavaron con acetonitrilo y con éter. El rendimiento de α-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 α-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-α-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-L-2-pirrolidin-
 25 carboxamido)-1-tio-D-eritro-α-D-galacto-octopiranosidos en donde al--
 quilo es etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, -
 nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadeci-

323064

-38-



1980A

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-
 5 tilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 2-metilciclobutilo, y 3-ci-
 clopentilpropilo; y aralquilo es bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y
 α -naftilmetilo, se obtienen los correspondientes alquil, cicloalquil,
 y aralquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranó-
 sidos. 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- α -D-galacto-octopiranósidos, se
 obtienen, etil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopi-
 ranósido, propil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octo-
 piranósido, butil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-oc-
 topiranósido, pentil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-
 15 octanopiranósido, y hexil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-ga-
lacto-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-halo resultantes por los pasos
 20 sucesivos de este ejemplo hasta los productos finales del ejemplo.

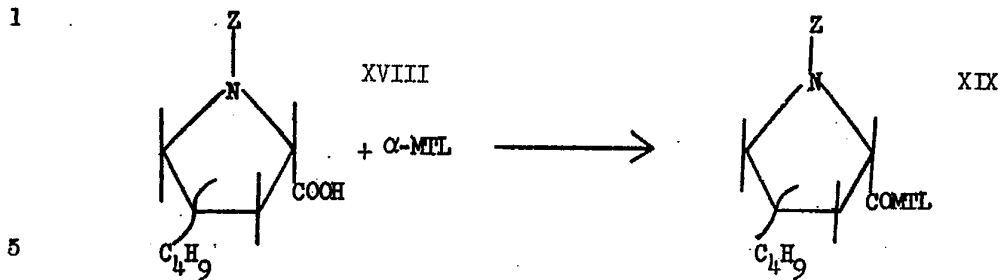
E. Metil 6,8-deoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirro-
lidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósido base libre.

323064

-39



1980 A



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°)
durante 15 minutos. Se agregó una solución de 6.2 g de α -MTL 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-deoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarbo-
xamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido base libre. El -
licor madre se concentró bajo vacío y se recuperaron 4.25 g (35.2%)
adicionales de producto. La recrystalización de acetonitrilo pro-
dujo cristales de metil 6,8-deoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-
pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido -
base libre que funde a 194-196° C. Una segunda recrystalización -
de acetonitrilo dió una muestra analítica, punto de fusión 195.5-200° C,
[α]_D + 111° (c, 0.98, MeOH).

10

15

20

25

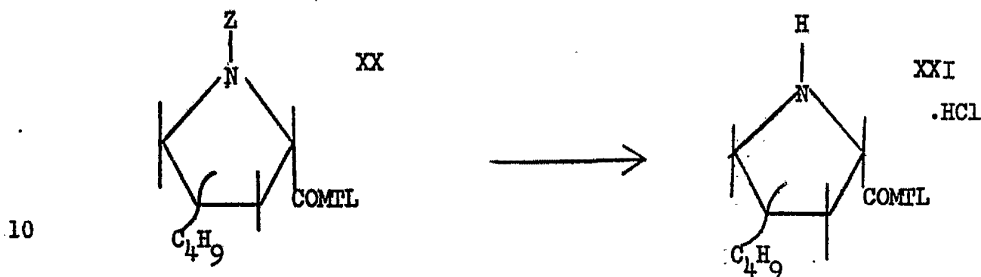


1 Análisis calculado para: $C_{26}N_4O_8S$:

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-deoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidin-
carboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido.



15 Una solución de 7.8 g de metil 6,8-deoxi-6-(1-carboben-
 zoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-
 octopiranosido base libre de Parte E en 200 ml de metanol se agitó
 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-deoxi-6-(4-butil-L-2-pirroli-
 dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -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).

323064

-41-



1980A

1 Análisis calculado para: $C_{18}H_{34}N_2O_6 \cdot S \cdot HCl$:

C, 48.80; H, 7.96; N, 6.32; S, 7.24

Hallado: (corregido para 5.54% de agua)

C, 48.58; H, 8.19; N, 6.04; S, 7.36

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

Sustituyendo el α -MPL por otro alquilo o por cicloalquil o aralquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -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 α -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- α -D-galacto-octopiranosidos y alquil, cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos. -
10 Por ejemplo, sustituyendo el α -MPL por etil, propil, butil, pentil y hexil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos, se obtienen etil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, propil 6,8-
15 dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-
20
25

323064

-42-

14



1980A

1 eritro- α -D-galacto-octopiranosido, butil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octanopiranosido, pentil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, hexil

5 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, etil 6,8-dideoxi-6-(4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, propil 6,8-dideoxi-6-(4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, butil 6,8-dideoxi-6-(4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, pentil 6,8-dideoxi-6-(4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido.

Sustituyendo la 4-butyl-1-carbobenzoxi-L-prolina por otras

15 4-alkyl-1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde el 4-alkyl, 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, por 4-cicloalkyl-1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde

20 4-cicloalkyl es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, 2-metilciclopropilo, 2,3-dimetilciclopropilo, 2-metilciclobutilo, y 3-ciclopropilpropilo; y por 4-arakyl-1-carbobenzoxi-L-prolinas en donde 4-arakyl es bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, y α -naftilmetilo, se obtienen los correspondientes

25 alkyl, cicloalkyl, y aralkyl 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-alkyl-

323064

-43-



1980A

1 quil, 4-cicloalquil, y 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-
D-eritro- α -D-galacto-octopiranósido, y los correspondientes alquil,
cicloalquil, y aralquil-6-(4-alquil-4-cicloalquil y 4-aralquil-L-2-
pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos.

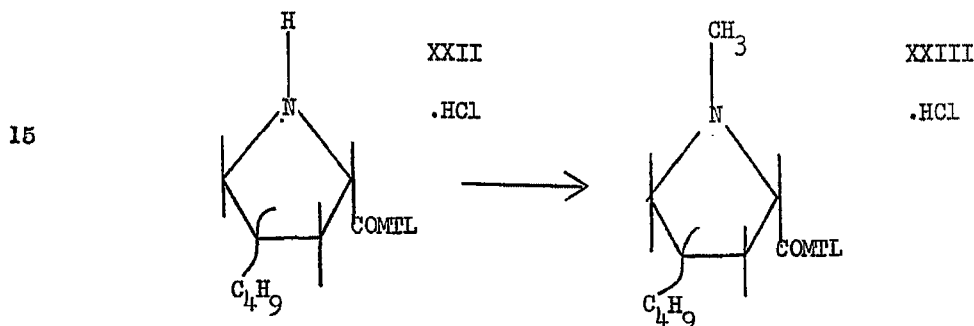
5 Por ejemplo, sustituyendo la 4-butiril-1-carbobenzoxi-L-prolina por -
4-metil-, 4-etil-, 4-propil-, 4-pentil-, y 4-hexil-1-carbobenzoxi-
L-prolinas, se obtienen, metil, etil, propil, butil, pentil, y he-
xil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-metil-L-2-pirrolidincarboxami-
do)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil, etil, propil,
10 butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-etil-L-2-pi-
rrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos, me-
til, etil, propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carboben-
zoxi-4-propil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-
octopiranósidos; metil, etil, propil, butil, pentil y hexil 6,8-di-
15 deoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-pentil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-
eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil, etil, propil, butil, pen-
til, y hexil 6,8-dideoxi-6-(1-carbobenzoxi-4-hexil-L-2-pirrolidincar-
boxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil, etil, -
propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-metil-L-2-pirrolidin
20 carboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil, etil,
propil, butil, pentil y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-etil-L-2-pirrolidin--
carboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil, etil,
propil, butil, pentil, y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-propil-L-2-pirroli-
dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósidos; metil,
25 etil, propil, butil, pentil y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-pentil-L-2-pi-



1 rrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos; y
 metil, etil, propil, butil, pentil y hexil 6,8-dideoxi-6-(4-hexil-L-
 2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosidos.

5 Si se desea, los compuestos 1-carbobenzoxi preparados de
 acuerdo con Parte E pueden halogenarse por el procedimiento de Par-
 te A y el 7-halo compuesto resultante procesarse por pasos sucesi-
 vos del ejemplo para separar el 1-carbobenzoxi grupo y para sustituir
 el nitrógeno de la prolina para dar los productos finales del ejem-
 plo.

10 Gl. Metil, 6,8-deoxi-6-(1-metil-4-butil-L-2-pirrolidin-carboxami-
 do)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido.



20 Una solución de 2.0 g de clorhidrato de metil 6,8-deoxi-
 6-(4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -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 -

323064

-46-



1980 A

1 separados posteriormente por cromatografía repetida. Cada epímero se
disolvió en unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluído y se preci-
pitó el clorhidrato por el agregado de acetona. De esta manera se -
obtuvieron 50 mg de clorhidrato de metil 6,8-deoxi-6-(trans-1-metil-
5 4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octo-
piranósido, punto de fusión 135-137 $^{\circ}$, y unos 150 mg de clorhidrato -
de metil 6,8-deoxi-6-(cis-1-metil-4-butil-L-2-pirrolidincarboxamido)
1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranósido, que ablanda a 105 $^{\circ}$ C con
posterior fusión a 175-185 $^{\circ}$ C.

10 El trans epímero recristalizado del mismo solvente fundió
a 139-141 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C y posteriormente a aproxima-
damente 189 $^{\circ}$ 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



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

HL Clorhidrato de metil 6,8-deoxi-6-(1-etil-4-butil-L-2-pirroli
5 dincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -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- α -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-deoxi-6-(1-etil-4-butil-L-2--
pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido.

H2. Separación de epímeros

15 Como se describe en Parte G2, la mezcla de epímeros de --
Parte HL (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
rificarse 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 -

323064

-48-



1 (15.4%) de clorhidrato de metil 6,8-deoxi-6-(trans-1-etil-4-butyl-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido cristalino, punto de fusión 144-151^o C. Por recristalización de acetona diluída el punto de fusión aumentó a 148-151^o C.

5 La fracción de 645 mg de epímero cis dió 300 mg. (14.1%) de clorhidrato de metil 6,8-deoxi-6-(cis-1-etil-4-butyl-L-2-pirrolidin carboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-galacto-octopiranosido cristalino, - punto de fusión 135-139^o C. Por recristalización de acetona diluída, dió cristales, punto de fusión 134-138^o 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
15 veces más activo que la lincomicina. El epímero cis fue aproximadamente 1/2 más activo que el epímero trans.

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 ele
20 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
25 de la fórmula R_4R_5CO , por ejemplo, propionaldehído, acetona, butiral



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- α -D--
galacto-octopiranosido, se obtienen los correspondientes, alquil, -
cicloalquil, y aralquil 6,8-dideoxi-6-(1-R₄R₅-CH-4-alquil, 4-ciclo-
alquil-, 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D--
galacto-octopiranosidos los cuales por tratamiento con cloruro de -
15 tionilo por procedimiento de Parte A dan los correspondientes alquil,
cicloalquil y aralquil 7-halo-6,7,8-trideoxi-6-(1-R₄R₅-CH-4-alquil,
4-cicloalquil-, y 4-aralquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio- α -D--
galacto-octopiranosidos en donde R₄R₅-CH- es propilo, isopropilo, -
butilo y 4-metil-2-pentilo; bencilo, fenetilo, 3-fenilpropilo, 1-fe-
20 niletilo, 1-fenilpropilo, 1-fenilbutilo, 3-metil-4-fenil-2-butilo,
y 2-metil-5-fenil-3-pentilo; 3-ciclopentilpropilo, 2-ciclohexiletio-
lo, cicloheptilmetilo, 2-(2,2-dimetilciclopropil)-etilo, 1-(2,2-di-
metilciclopropil)etilo, 1-ciclopentiletilo, 1-ciclobutiletilo, ci-
clobutilo, ciclohexilo, y 4-metilciclohexilo. Usando formaldehido
y acetaldehido u otros alcanales, por ejemplo propionaldehido, bu-
25 tiraldehido, valeraldehido o aldehido caproico con un alquil 6,8-di

323064

-50-

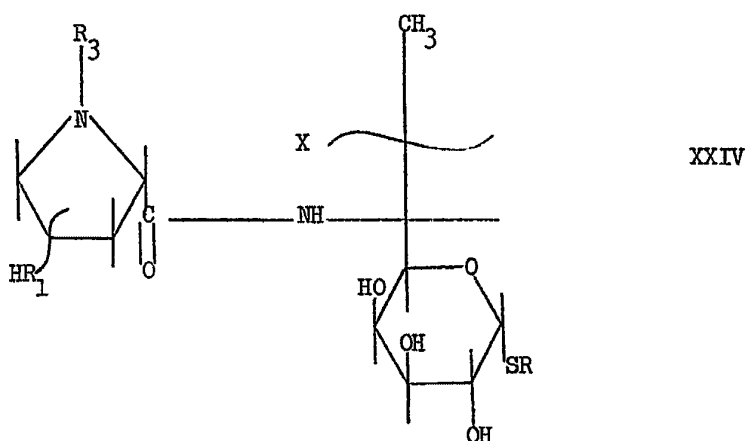


1980A

1 deoxi-6-(4-alquil-L-2-pirrolidincarboxamido)-1-tio-D-eritro- α -D-ga
lacto-octopirano \acute{s} ido en donde alquilo y 4-alquilo son metilo, etilo,
 propilo, butilo, pentilo, o hexilo, se obtienen compuestos de
 partida preferidos de la f3rmula

5

10



15

20

25

en donde X es hidroxilo y R, HR₁, y R₃ son alquilo de no m3s de seis
 3tomos de carbono, ventajosamente de no m3s de doce 3tomos de car-
 bono en el agregado; los cuales por tratamiento con reactivo Rydon
 por el procedimiento de Parte A dan compuestos de acuerdo con F3r-
 mula XXIV en donde X es hal3geno y R, HR₁, R₃ son alquilo como se
 indica anteriormente. Los 6,8-dideoxi compuestos de F3rmula XXIV
 como se caracterizaron anteriormente son activos antibacterianos -
 comparables con lincomicina. Los compuestos 7-halo-6,7,8-trideoxi
 de F3rmula XXIV como se caracterizan anteriormente, tienen el mis-
 mo espectro de actividad antibacteriana pero son sustancialmente -
 m3s activos. Los compuestos representativos de F3rmula XXIV en -
 donde X es bromo se enumeran en la tabla siguiente:



1

TABLA I
COMPUESTOS DE FORMULA XXIX EN DONDE X ES CLORO

	R	HR ₁	R ₂
	4A metilo	trans-etilo	metilo
	4B metilo	cis-etilo	metilo
5	4C (7-bromo-7-deoxi- lincomicina)	trans-propilo	metilo
	4D (7-bromo-7-deoxi- alolincomicina)	cis-propilo	metilo
	4E (7-bromo-7-deoxi- lincomicina E)	trans-propilo	etilo
	4F (7-bromo-7-deoxi- alolincomicina E)	cis-propilo	etilo
	4G etilo	trans-propilo	metilo
	4H etilo	cis-propilo	metilo
10	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
	4Q metilo	trans-pentilo	metilo
	4R metilo	cis-pentilo	metilo
15	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
	4AA butilo	trans-propilo	metilo
	4AB butilo	cis-propilo	metilo
20	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 cicl hexilo	trans-propilo	metilo
	4AJ ciclohexilo	cis-propilo	metilo
	4AK butilo	trans-pentilo	etilo
	4AL butilo	cis-pentilo	etilo
25	4AM pentilo	trans-pentilo	etilo
	4AN pentilo	cis-pentilo	etilo

323064



1986

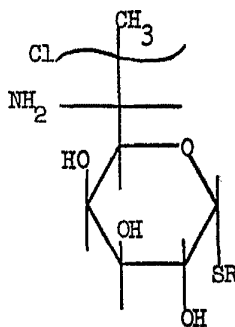
1980 A

-52-

- 1 Los intermedios para la preparación de los compuestos anteriores -
 corresponden a la tabla de arriba en donde (1) X es hidroxí; (2) -
 R_3 es hidrógeno; (3) X es hidroxí y R_3 es hidrógeno; (4) X es hidro
 xi y R_3 es carbobenzoxi; (5) X es bromo y R_3 es carbobenzoxi; - -
 5 (6) X es hidroxí, R_3 es carbobenzoxi, y HR_1 y H en la posición 4 -
 son reemplazados por el grupo ilideno, R_1 ; (7) X es bromo R_3 es -
 carbobenzoxi, y HR_1 y H en la posición 4 son reemplazados por el -
 grupo ilideno, R_1 ; (8) X es hidroxí, 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 bromo R_3 es hidrógeno, y HR_1 y H en la posición 4 son reemplazados
 por el grupo ilideno; R_1 ; (10) X es hidroxí, y HR_1 y H en la posi
 ción 4 son reemplazados por el grupo ilideno, R_1 ; y (11) X es bro
 mo y HR_1 y H en la posición 4 son reemplazados por el grupo ilide
 no R_1 .

- 15 Cuando la lincomicina de Parte A es reemplazada por alquil,
 cicloalquil, o aralquil 6-amino-6,8-dideoxi-1-tio-D-eritro- α -D-galac
 to-octopiranosido, se obtienen compuestos de la fórmula

20



XXV

25

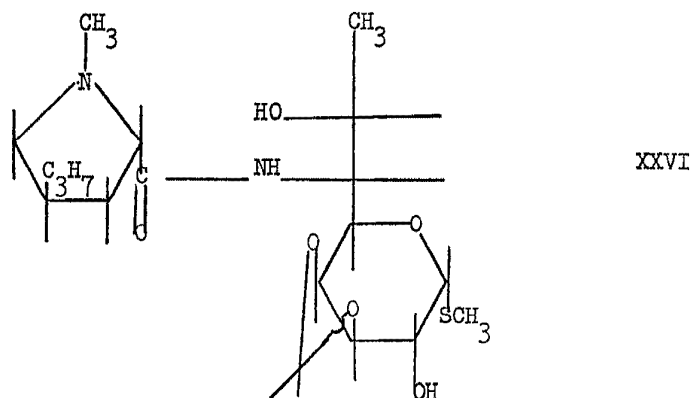
1 en donde R es etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, oc-
 2 tilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, -
 3 pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, y - -
 4 eicosilo o cualquiera de las formas isómeras de los mismos, ciclo--
 5 propilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ci--
 6 clooctilo, 2-metilciclopentilo, 2,3-dimetilciclobutilo, 2-metilci--
 7 clobutilo, y 3-ciclopentilpropilo; bencilo, fenetilo, 3-fenilpropi-
 8 lo, y α -naftilmetilo que pueden ser aciladas por los procedimien---
 9 tos de Ejemplo 4 para formar los correspondientes 7-halo-7-deoxilin
 10 comicina análogos, por ejemplo, los compuestos de fórmula XXIV como
 se dan e ilustran anteriormente, como también los intermedios de los
 mismos.

Sustituyendo la lincomicina por epilincomicina, se obtienen
 metil 7-bromo-6,7,8-trideoxi-6-(*trans*-1-metil-4-propil-L-2-pirrolidin
 15 carboxamido)-1-tio- α -octopirranósido (7-bromo-7-deoxi-epilincomicina)
 que tiene el mismo espectro antibacteriano que la lincomicina. La -
 epilincomicina se prepara de acuerdo con el siguiente ejemplo:

Ejemplo 2

A. 3,4-O-isopropilindenlincomicina

20



323064

-54-



1980 A

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-isopropilidenlincomicina 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).

323064

-55-



14

1980A

1 B. 7-dehidro-3,4-0-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- isopropilidenolincomicina como la frac- - -
ción máxima de los tubos 330-380, K₂ 2.45.

Análisis calculado para: C₃₁H₃₆N₂O₆S:

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. 3,4-0-isopropilideno-epilíncomicina

A 1.6 g de 7-dehidro-3,4,-0-isopropilidenolincomicina pura
de Craig, en 75 ml de metanol se agregaron 400 mg de borohidruro de
sodio. Después de 1.5 horas esta solución se evaporó hasta sequedad
en un evaporador rotatorio. El residuo se agregó a 25 ml de agua 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 = 1.05, que --

323064
-56-323064



1980 A

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 de las cuales era 3,4-O-isopropilidenolincomicina, la otra, 3,4-O-isopropilideno-epilincomicina, que se movía en forma ligeramente más lenta.

10 D. Epilincomicina

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, luego se extrajo con cloroformo. El extracto se lavó con una pequeña cantidad de agua y se secó sobre sulfato de magnesio, luego se evaporó hasta un residuo. La cromatografía en capa delgada del residuo mostró dos sustancias, ambas eran activas contra S. lutea. El residuo se cromatografió en una columna de 14" x 3/4" de Florisil - (un silicato sintético del tipo descrito en Patente E.U.A. 2,393, 625) la cual se eluyó en forma gradual con solvente que varió continuamente desde 100% de Skellysolve B (hexano técnico) hasta 100% de acetona. El volumen total fue 5000 ml. Así se separaron los dos compuestos.

25

323064

-57-



1980A

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.

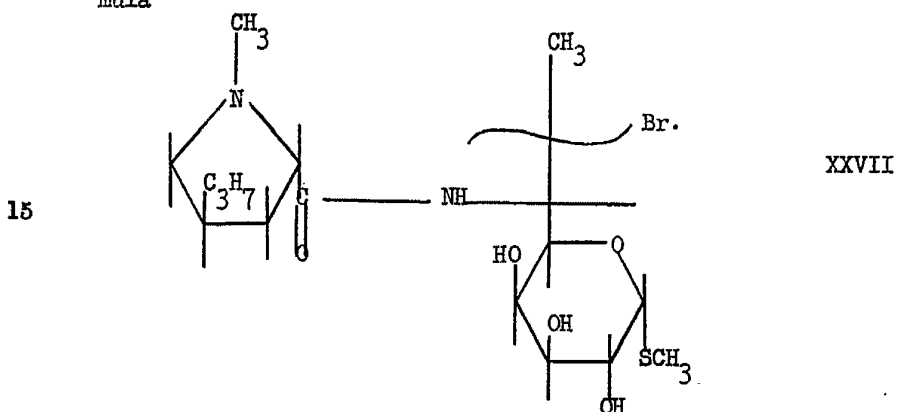
5 Hallado: C, 50.19; H, 7.91; N, 6.05; S, 6.42.

Fracción II: Tubos 73-104. Lincomicina.

Valoración 950 mcg/mg

E. 7-bromo-7-deoxiepilincomicina

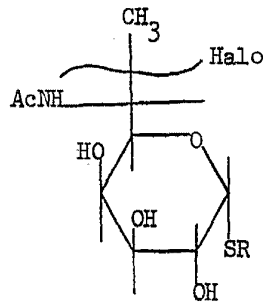
10 El procedimiento de Ejemplo 1, sustituyendo la lincomicina por epilincomicina, produce 7-bromo-7-deoxiepilincomicina de la fórmula



como la base libre y como el clorhidrato.

Sustituyendo lincomicina en este ejemplo por análogos de lincomicina de Fórmula II en donde Z, R, R₁, R₂, R₃ del grupo Ac - son como se dan e ilustran anteriormente, se obtienen los correspon

25 dientes 7-halo-7-deoxiepilincomicina análogos de la fórmula



XXVIII

en donde Z, R, R₁, R₂ y R₃ del grupo Ac. Todos los compuestos que han sido descritos anteriormente, por lo tanto tienen su contraparte en la configuración opuesta, que es la configuración derivada de la forma 7-epi. Si se efectúa una inversión por la sustitución del 7-hidroxi por reactivo Rydon, entonces los epi-compuestos que tienen la configuración L-treo, se convierten en la configuración D-eritro. En cualquier caso ambos la forma D-eritro y L-treo se obtienen dependiendo de que se usen las lincomicinas normales (D-eritro) o las epi lincomicinas (L-treo).

10

15

Mientras que los procesos de la invención han sido descritos respecto a la preparación de compuestos específicos, se debe entender que el proceso es ampliamente aplicable a compuestos de Fórmula II en donde Ac y R son radicales que no reaccionan con reactivo Rydon. Así en el proceso amplio de acuerdo con la invención, Ac puede ser hidrógeno o cualquier acilo que no reaccione con reactivo Rydon y R puede ser cualquier alquilo, sin tener en cuenta el número de carbonos, o cualquier otro radical, por ejemplo, aralquilo como ser bencilo, naftilmetilo, y benzidrilo, o radicales hidrocarbonados semejantes que no reaccionan con reactivo Rydon.

20

25



1 N O T A . -

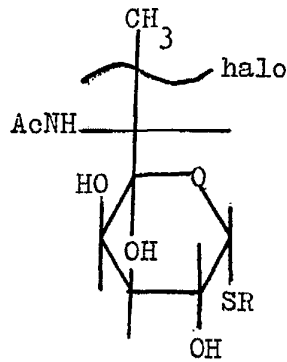
=====

La presente patente de invención comprende las
siguientes reivindicaciones:

5

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

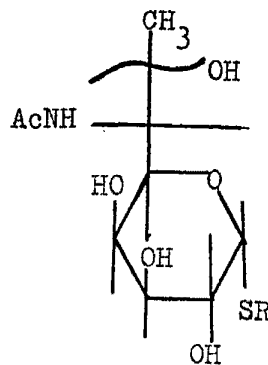
10



15

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

20



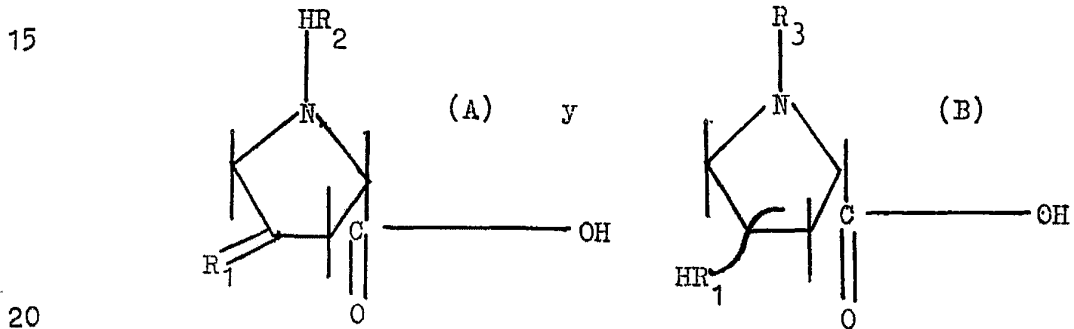
25



1 con reactivo Rydon a una temperatura eficaz para reemplazar
el 7-hidroxi grupo con halógeno, en donde R y Ac son radica
les que no reaccionan con reactivo Rydon.

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

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



en donde R_1 y R_2 son seleccionados del grupo constituido
por alquilideno de no más de 20 átomos de carbono, cicloal
quilideno de 3 a no más de 8 átomos de carbono, y aralki
lido de no más de 12 átomos de carbono; y R_3 es seleccio
25 nado del grupo constituido por hidrógeno y HR_2 .

-61-

323064

14



66

1 4.- Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos de lincomicina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva.

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

Madrid, a 14 FEB. 1966

CARLOS ROER