



(11) FREMLÆGGESESSKRIFT 141170

DANMARK

(51) Int. Cl.³ C 07 H 17/08



(21) Ansøgning nr. 3273/75 (22) Indleveret den 18. jul. 1975

(23) Løbedag 18. jul. 1975

(44) Ansøgningen fremlagt og
fremlæggesesskriftet offentliggjort den 28. jan. 1980

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(30) Prioritet begæret fra den
27. aug. 1974, 97485/74, JP

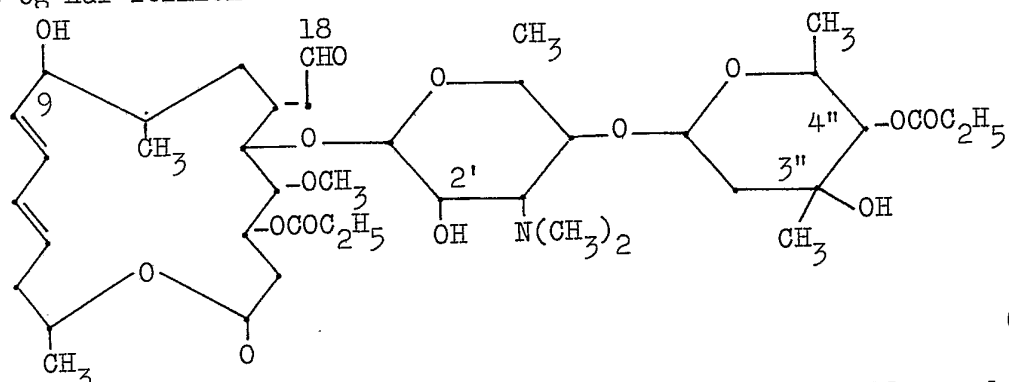
-
- (71) MELJI SEIKA KAISHA LTD., No. 8, 2-chome, Kyobashi, Chuo-ku, Tokyo, JP.
- (72) Opfinder: Shigeharu Inouye, No. 16-2, Tsutsujigaoka, Midori-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken, JP: Shoji Omoto, No. 4-3-14-407, Kami Osaki, Shinagawa-ku, Tokyo, JP: Katsuyoshi Iwamatsu, No. 1490-6, Kami Tsuchidana, Ayase-machi, Kohza-gun, Kanagawa-ken, JP: Takashi Tsuruoka, No. 2-88, Tode-cho, Saiwai-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken, JP: Taro Niida, No. 127, Naka Kibogaoka, Asahi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken, JP: Toyoaki Kawasaki, No. 1-10-15, Momoi, Suginami-ku, Tokyo, JP.

(74) Fuldmægtig under sagens behandling:
Dansk Patent Kontor ApS.

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af 9,3",4"-trialkanoyl SF-837 M₁-derivater.

Opfindelsen angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af 9,3",4"-trialkanoyl SF-837 M₁-derivater, der er hidtil ukendte og nyttige forbindelser. De omhandlede 9,3",4"-trialkanoylderivater af SF-837 M₁ er nyttige ved terapeutisk behandling af infektioner, der skyldes gram-negative og gram-positive bakterier, og de er på fordelagtig måde fri for den ubehagelige bitre smag, som stamforbindelsen, antibiotikumet SF-837 og de kendte 9-alkanoylderivater deraf er i besiddelse af.

Antibiotikumet SF-837 er et kendt nyttigt, makrolid antibiotikum (se f.eks. USA-patent nr. 3.761.588 og "Journal of Antibiotic", vol.24, nr. 7, side 460-475 (juli 1971)) og er en forbindelse, der indeholder tre hydroxylgrupper i 9-, 2'- og 3"-stillingen i molekylet og har formlen



SF-837 M_1 er kendt som et metabolisk produkt, der fremstilles ved at give SF-837 oralt til rotter og isoleres fra rotternes urin eller fås fra en "fordøjet" opløsning af SF-837 med et leverhomogenat. SF-837 M_1 er et pulverprodukt med et smeltepunkt på 123-125°C og $[\alpha]_D^{22} -56^\circ$ (c=1, ethanol). SF-837 M_1 er blevet identificeret som 4"-depropionyl-SF-837 (se "Chemical and Pharmaceutical Bulletin", vol. 20, nr. 11, side 2366-2371 (1972), og "Journal of Antibiotic", vol.24, nr. 8, side 535 (1971)), og indeholder fire hydroxylgrupper i 9-, 2'-, 3"- og 4"-stillingen i molekylet. 9-hydroxyl- og 2'-hydroxylgruppen i SF-837-molekylet er relativt reaktionsdygtige, medens den tertiære 3"-hydroxylgruppe deri er mindre reaktiv for acylering (eller forestering) med en alkansyre. 9,2'-Di-acetyl-SF-837 er beskrevet i ovennævnte USA-patent nr. 3.761.588, og 9-mono-acetyl-SF-837 er beskrevet i USA-patent nr. 3.792.035. SF-837 såvel som 9,2'-di-acetyl-SF-837 og 9-mono-acetyl-SF-837 er ganske vist nyttige som midler til terapeutisk behandling af bakterielle infektioner, men disse forbindelser lider af den ulempe, at de har en ubehagelig langvarig smag ved oral indgift og derfor ikke er egnet til at blive formuleret til flydende præparater, som er bestemt til at blive givet oralt til børn, som ofte er ude af stand til at nedsvælge et tablet- eller kapselpræparat, eller til personer, som ikke kan lide lægemidlets bitre smag.

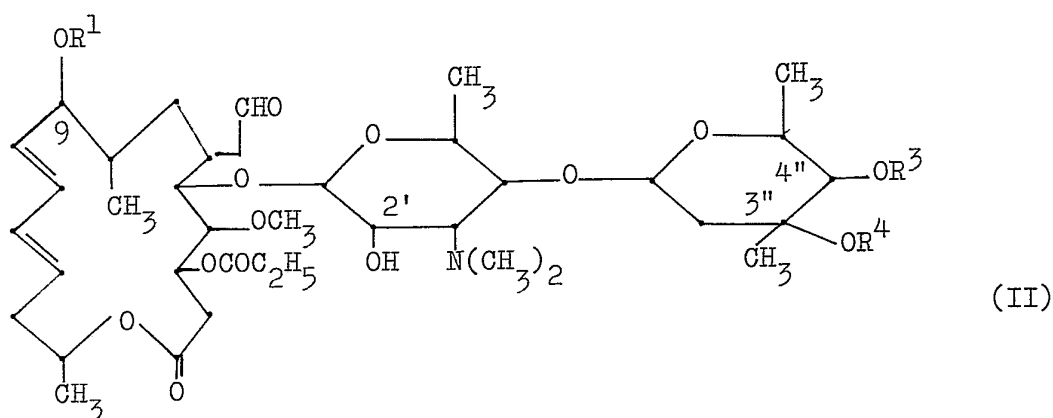
Ved de til grund for opfindelsen liggende undersøgelser har man studeret reaktiviteten hos de tre hydroxylgrupper, dvs. 9-, 2'- og 3"-hydroxylgruppen i SF-837 og 4"-hydroxylgruppen i SF-837 M_1 med hensyn

til acylering. Det har nu vist sig, at 9- og 2'-hydroxylgruppen i SF-837 kan acyleres ved at omsætte SF-837 med et alkansyreanhydrid ved stuetemperatur, og at 4"-hydroxylgruppen i SF-837 M₁ ligeledes kan acyleres ved at omsætte med et alkansyreanhydrid ved stuetemperatur. Det har nu overraskende vist sig, at når SF-837 eller et 4"-alkanoyl-SF-837 M₁ (dvs. 4"-alkanoyl-4"-depropionyl-SF-837) omsættes med et overskud af et alkansyreanhydrid med 2-5 carbonatomer ved en forhøjet temperatur på 50°C til 120°C i nærværelse af en organisk base, såsom pyridin, picolin eller triethylamin, så acyleres 9- og 2'-hydroxylgruppen deri med nævnte alkansyreanhydrid, men 4"-alkanoylgruppen i 4"-alkanoyl-SF-837 M₁ forskydes til 3"-hydroxylgruppen fra 4"-stillingen, medens 4"-stillingen samtidig acyleres med det nævnte anvendte alkansyreanhydrid, hvorved der dannes et 9,2',4"-trialkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ ud fra SF-837 og et 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ ud fra 4"-alkanoyl-SF-837 M₁. Det har også vist sig, at det således fremstillede 9,2',4"-trialkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ eller 9,2',3",4"-tetraalkanoyl SF-837 M₁ kan yderligere acyleres ved omsætning med en yderligere mængde alkansyreanhydrid ved en temperatur på 50-120°C i en længere reaktionstid eller ved en højere temperatur på 110-120°C, således at endog aldehydgruppen i 18"-stilling i SF-837 eller SF-837 M₁ molekylet acyleres med nævnte alkansyreanhydrid, hvorved fås det tilsvarende 9,18,2',4"-tetraalkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ eller det tilsvarende 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁. Desuden har det vist sig, at 9,2',4"-trialkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ henholdsvis kan omdannes til det tilsvarende 9,4"-dialkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og det tilsvarende 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁ ved at blive underkastet en partiel og selektiv hydrolyse i vandigt acetone eller i en vandig alkanol, såsom en alkanol med 1-4 carbonatomer, f.eks. methanol, ethanol, propanol eller butanol, der indeholder vand, til udførelse af selektiv fjernelse af 2'-alkanoylgruppen. 9,18,2',4"-Tetraalkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ kan ligeledes omdannes til henholdsvis det tilsvarende 9,4"-dialkanoyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og det tilsvarende 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁ ved at blive underkastet en partiel og selektiv hydrolyse på samme måde som nævnt ovenfor til udførelse af selektiv fjernelse af 2'- og 18"-alkanoylgruppen derfra.

Der er således overraskende tilvejebragt en fremgangsmåde, ved hvilken man ud fra et udgangsprodukt, der indeholder en 4"-acetyl- eller propionyloxy-gruppe, kan fremstille et produkt, der nu har denne gruppe i 3"-stillingen og eventuelt har en helt anden acyloxygruppe i 4"-stillingen, idet man ved gennemacylering af udgangsproduktet overfører den til den 4"-stillede hydroxygruppe bundne acylgruppe til den 3"-stillede hydroxygruppe og efterfølgende uden påvirkning af de 3"- og 4"-stillede alkanoylgrupper frigør den 2'-stillede hydroxygruppe ved hydrolyse. Man kan altså overraskende selektivt indføre en alkanoylgruppe i en af en alkanoylgruppe allerede optaget 4"-stilling i et SF-837 M₁-derivat.

På denne måde er det lykkedes at syntetisere følgende hidtil ukendte acylderivater (estere) af SF-837: 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, 9,3"-diacetyl-4"-propionyl-SF-837 M₁, 9-propionyl-4"-acetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, 9,3",4"-tripropionyl-SF-837 M₁, 9-acetyl-4"-isobutyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, 9-acetyl-3",4"-dipropionyl-SF-837 M₁ og 9-acetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁, hvis fysiske data fremgår af udførelseseksemplerne. Det har vist sig, at disse hidtil ukendte forbindelser, nemlig disse 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁-derivater praktisk taget ikke viser nogen bitter smag ved oral indgift af dem, men udøver forbedret terapeutisk virkning ved behandling af bakterielle infektioner i forhold til det oprindelige SF-837 og har en nedsat akut toksicitet ved oral indgift til mus.

Opfindelsen angår derfor en fremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁-derivater med formlen



hvor R^1 og R^4 hver er en acetyl- eller propionylgruppe, og R^3 er en acetyl-, propionyl-, n-butyryl-, isobutyryl- eller isovalerylgruppe.

Eksempler på forbindelser med formlen (II) er nævnt nedenfor.

(1) 9,4"-Diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 og R^3 hver er acetyl, og R^4 er propionyl. Stoffet har i det væsentlige ikke nogen bitter smag og er et farveløst krystallinsk produkt med et smeltepunkt på 228-230°C (under dekomponering). $[\alpha]_D^{22} -60,0^{\circ}$ (c = 1, chloroform). Denne forbindelse kan også benævnes 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-4"-depropionyl-SF-837.

(2) 9,3"-Diacetyl-4"-propionyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 og R^4 hver er acetyl, og R^3 er propionyl. Stoffet har praktisk taget ingen bitter smag og er et farveløst krystallinsk produkt med et smeltepunkt på 198°-203°C (under dekomponering). Denne forbindelse kan også benævnes 9,3"-diacetyl-SF-837.

(3) 9-Acetyl-4"-isobutyryl-3"-propionyl-SF-837 M_1 , som er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 er acetyl, R^3 er isobutyryl, og R^4 er propionyl. Stoffet har i det væsentlige ikke nogen bitter smag og er et farveløst amorf produkt med et smeltepunkt på 140-145°C (fugtig). Forbindelsen kan også benævnes 9-acetyl-4"-isobutyryl-4"-depropionyl-3"-propionyl-SF-837.

(4) 9-Acetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 er acetyl, R^3 er isovaleryl, og R^4 er propionyl. Stoffet har i det væsentlige ikke nogen bitter smag og er et farveløst amorf produkt med et smeltepunkt på 135-140°C. Denne forbindelse kan også benævnes 9-acetyl-4"-isovaleryl-4"-depropionyl-3"-propionyl-SF-837.

(5) 9,3"-Dipropionyl-4"-acetyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 og R^4 hver er propionyl, og R^3 er acetyl. Stoffet viser i det væsentlige ikke nogen bitter smag og er et farveløst krystallinsk produkt med et smeltepunkt på 205-208°C (under dekomponering). Denne forbindelse kan også benævnes 9,3"-dipropionyl-4"-acetyl-4"-depropionyl-SF-837.

(6) 9-Acetyl-3",4"-dipropionyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 er acetyl, og R^3 og R^4 er propionyl. Stoffet har i det væsentlige ikke nogen bitter smag og er en farveløs krystallinsk forbindelse med et smeltepunkt på 222-224°C. Denne forbindelse kan også kaldes 9-acetyl-3"-propionyl-SF-837.

(7) 9,3",4"-Tripropionyl-SF-837 M_1 , der er en forbindelse med formlen (II), hvori R^1 , R^3 og R^4 hver er propionyl. Stoffet er en farveløs amorf forbindelse med et smeltepunkt på 150-160°C (fugtig). Når det krystalliseres, giver det et farveløst krystallinsk produkt med et smeltepunkt på 195-197°C (under let farvning). Denne forbindelse kan også kaldes 9,3"-dipropionyl-SF-837.

Det har vist sig, at 9,3",4"-trialkanoylderivaterne af SF-837 M_1 med formlen (II) udøver en høj antibakteriel virkning overfor gram-negative og gram-positive bakterier i mindst lige så høj grad som stamforbindelsen SF-837 selv og kan anvendes som antibakterielle midler på samme måde som SF-837, 9,2'-diacetyl-SF-837 eller 9-monoacetyl-SF-837 til terapeutiske formål med den fordel, at forbindelserne med formlen (II) kan indgives oralt i form af flydende præparater uden at give en anstødelig bitter smag. Desuden har det vist sig, at 9,3",4"-trialkanoylderivaterne af SF-837 M_1 med formlen (II) giver en højere kurativ effekt end det oprindelige SF-837, når det gives oralt til mus, der intraperitonealt er inficeret med *Staphylococcus aureus*.

De antibakterielle spektre for 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 1), 9,3"-diacetyl-4"-propionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 2), 9-acetyl-4"-isobutyryl-3"-propionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 3), 9-acetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 4), 9,3"-dipropionyl-4"-acetyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 5), 9-acetyl-3",4"-dipropionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 6) og 9,3",4"-tripropionyl-SF-837 M_1 (forkortet som forbindelse nr. 7) er vist i tabel 1 nedenfor sammen med de antibakterielle spektre for det oprindelige SF-837, 9,2'-diacetyl-SF-837 og 9-monoacetyl-SF-837 til sammenligningsformål. De minimale inhiberende koncentrationer (mcg/ml) af disse forbindelser overfor forskellige mikroorganismer blev bestemt ifølge en standardseriefortyndingsmetode under anvendelse af infusionsmedium som inkuberingsmedium, og bedømmelsen af væksten

af forsøgsorganismerne blev foretaget efter 24 timers inkubation ved 37°C.

Tabel 1

		Minimale inhiberende koncentrationer (mcg/m)							
Afprøvede mikroorganismen	Forbindelse nr. 1	Forbindelse nr. 2	Forbindelse nr. 3	Forbindelse nr. 4	Forbindelse nr. 5	Forbindelse nr. 6	Forbindelse nr. 7	9,2'-diacetyl-SF-837	
Staphylococcus aureus 209P	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	0,78	1,56	1,56
Staphylococcus aureus Terajima	3,12	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	1,56	1,56	1,56
Staphylococcus aureus Smith	0,39	0,39	0,39	1,56	0,78	0,39	0,78	0,19	0,78
Staphylococcus albus 1200A	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	0,78	0,78
Streptococcus faecalis ATCC 8043	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	1,56	3,12
Streptococcus hemolyticus Cook	0,19	0,19	0,19	0,39	0,39	0,19	0,19	0,09	0,19
Streptococcus hemolyticus D-90	0,78	0,78	0,78	0,19	0,78	0,78	1,56	1,56	1,56
Streptococcus pyogenes D-58	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,09	0,09	0,39
Diplococcus pneumoniae type I	0,09	0,09	0,09	0,39	0,09	0,09	0,19	0,04	0,04
Diplococcus pneumoniae type III	0,09	0,09	0,09	0,19	0,09	0,09	0,09	0,04	0,04
Bacillus Subtilis PCI 219	0,78	0,78	0,78	0,78	1,56	0,78	0,78	0,78	0,78
Bacillus subtilis ATCC 6633	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	3,12

Den kurative effekt af 9,3",4"-trialkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (II) ved en terapeutisk behandling af Staphylococcus aureus 209P-infektioner hos mus blev afprøvet på følgende måde: En vandig suspension af en patogen Staphylococcus aureus 209P i en vandig opløsning af 5% mave-mucin blev indsprøjtet intraperitonealt i mus i en dosis, der hver gang var 100 gange større end LD₅₀-mængden af nævnte stamme. Musene blev inddelt i grupper på hver 10 mus. En dosis på 100 mg/kg eller 200 mg/kg af forsøgsforbindelsen, suspenderet i en vandig opløsning af 2% gummi arabicum, blev så givet oralt til de inficerede mus umiddelbart efter podningen. De således behandlede mus blev derpå holdt på sædvanlig måde i 7 dage, og den 7. dag efter indgiften af forsøgsforbindelsen blev antallet af overlevende mus i hver gruppe talt. De opnåede forsøgsresultater er vist i tabel 2 nedenfor.

Tabel 2

Forsøgsforbindelse *)	<u>Antal overlevende mus i hver gruppe</u>	
	<u>Dosering:</u> <u>100 mg/kg</u>	<u>Dosering:</u> <u>200 mg/kg</u>
Forbindelse nr. 1	6/10	10/10
Forbindelse nr. 2	8/10	10/10
Forbindelse nr. 3	4/10	10/10
Forbindelse nr. 4	0/10	3/10
Forbindelse nr. 5	4/10	8/10
Forbindelse nr. 6	6/10	10/10
Forbindelse nr. 7	5/10	10/10
SF-837 (til sammenligning)	0/10	6/10
9,2'-diacetyl-SF-837 (til sammenligning)	0/10	6/10
9-monoacetyl-SF-837 (til sammenligning)	5/10	8/10

*) I tabel 2 er forbindelserne nr. 1 til 7 de samme som angivet i tabel 1 ovenfor. Som det ses klart af resultaterne i tabellerne ovenfor, er 9,3"-diacetyl-4"-propionyl-SF-837 M₁ (forbindelse nr. 2, der også kan benævnes 9,3"-diacetyl-SF-837) mest foretrukket blandt forbindelserne med formlen (II).

Ved bestemmelse af akut toksicitet ved oral indgift til grupper af mus, hver på 5 mus, viste det sig, at de omhandlede 9,3",4"-trialka-

noylderivater af SF-837 M₁ havde en LD₀-værdi på mere end 3.200 mg/kg, medens det oprindelige SF-837 (fri base) havde en LD₅₀-værdi på 3.200 mg/kg. Desuden har de omhandlede 9,3",4"-trialkanoylderivater af SF-837 M₁ ikke eller praktisk taget ikke den bitre smag, som sædvanligvis hæfter ved de makrolide antibiotika, således at de omhandlede forbindelser fordelagtigt er egnet til at blive formuleret som flydende præparater, der er bestemt til at blive givet oralt til børn. I betragtning af alle de ovennævnte mikrobiologiske og fysiologiske egenskaber hos de omhandlede 9,3",4"-trialkanoylderivater af SF-837 M₁ vil det være klart, at de har væsentligt forbedrede egenskaber som antibakterielle midler i forhold til det oprindelige SF-837. De omhandlede 9,3",4"-trialkanoylderivater af SF-837 M₁ kan formuleres til en vandig opløsning eller suspension ved konventionelle farmaceutiske metoder til oral indgift og også til injektion, og de kan naturligvis foreligge i forskellige andre formuleringer, såsom tabletter, kapsler, pulvere og granulater, sammen med kendte farmaceutisk acceptable bærere, såsom stivelse, lactose eller calciumcarbonat på samme måde som SF-837 selv.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af 9,3",4"-trialkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (II) er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del angivne.

9,2',3",4"-Tetraalkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (III) og 9,18,2',3",4"-pentaalkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (IV) er selv hidtil ukendte stoffer. Generelt kan de fremstilles ved at omsætte et tilsvarende alkansyreanhydrid med en forbindelse udvalgt blandt SF-837 (se "Journal of Antibiotics", vol. 24, side 460 (1971)), 9,2'-diacetyl-SF-837, 9-propionyl-SF-837, 9,2'-dipropionyl-SF-837 og 9,2',4"-triaceetyl-SF-837 M₁ (kendt fra "Journal of Antibiotics", vol. 24, henholdsvis side 457, 473 og 534 (1971)), hvor reaktionen til acylering af nævnte udgangsstof udføres ved en temperatur på 50-120°C i et organisk opløsningsmiddel i nærværelse af en organisk base af amintypen, udvalgt blandt pyridin, quinolin, α -picolin, diethylanilin, N-ethylmorpholin og triethylamin. Det har vist sig, at 9- og 2'-hydroxylgruppen i SF-837 såvel som 9-, 2'- og 4"-hydroxylgruppen i SF-837 M₁ er relativt meget reaktive for acylering med et alkansyreanhydrid, såsom eddikesyreanhydrid eller propionsyreanhydrid, at den tertiære 3"-hydroxylgruppe i SF-837 og i SF-837 M₁ er relativt mindre reaktiv for

acylering, og at når SF-837 acyleres ved omsætning med et alkansyreanhydrid, såsom eddikesyreanhydrid, ved en forhøjet temperatur på f.eks. 50-120°C i nærværelse af en egnet organisk base, såsom pyridin, under vandfrie betingelser, bliver 9- og 2'-hydroxylgruppen deri let acyleret med nævnte alkansyreanhydrid, og 4"-propionylgruppen i SF-837 forskydes til 3"-hydroxylgruppen, så denne omdannes til en 3"-propionyloxygruppe, medens 4"-stillingen acyleres med nævnte alkansyreanhydrid. Når 9,2'-diacetyl- eller 9,2'-dipropionyl-SF-837 eller 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M_1 acyleres med et alkansyreanhydrid på den samme måde som angivet ovenfor, finder forskydningen af 4"-propionylgruppen eller 4"-acetylgruppen til 3"-hydroxylgruppen sted samtidig med acyleringen af 4"-stillingen med nævnte alkansyreanhydrid.

Fremstillingen af de som mellemprodukter anvendte 9,18,2',3",4"-pentaalkanoylderivater af SF-837 M_1 med formlen (IV) kan ske på lignende måde ved at acylere SF-837, 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M_1 , 9,2'-diacetyl-SF-837, 9-propionyl-SF-837 eller 9,2'-dipropionyl-SF-837 med den almenformel (V) med et tilsvarende alkansyreanhydrid med formlen (VI) ved en temperatur på 50-120°C i et længere tidsrum eller ved en temperatur på 100-120°C og i nærværelse af en organisk base af amintypen som nævnt ovenfor. Således kan f.eks. 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M_1 og 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M_1 fremstilles ved at acylere SF-837 med eddikesyreanhydrid ved en temperatur på 50-120°C i nærværelse af en organisk base af en sådan art som pyridin, quinolin, α -picolin, diethylanilin, N-ethylmorpholin og triethylamin. 9,2',3"-Triacetyl-4"-propionyl-SF-837 M_1 (nemlig 9,2',3"-triacetyl-SF-837) og 9,2',3"-triacetyl-4",18-dipropionyl-SF-837 M_1 (nemlig 9,2',3"-triacetyl-18-propionyl-SF-837) kan fremstilles ved at acylere 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M_1 med propionsyreanhydrid ved en temperatur på 50-120°C i nærværelse af en organisk base af amin-typen som nævnt ovenfor.

Når SF-837 anvendes som begyndelsesmateriale, der skal acyleres med acyleringsmidlet med formlen (VI), skal dette acyleringsmiddel være eddikesyreanhydrid eller alternativt propionsyreanhydrid, og der dannes et 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivat af SF-837 M_1 med formlen (III), hvori 3"-alkanoylgruppen er propionylgruppen forskudt fra 4"-stillingen, medens 9-, 2'- og 3"-alkanoylgrupperne, der er til stede

deri, er identiske og er de samme som eddikesyre- eller propionsyre-resten i det anvendte acyleringsmiddel med formlen (VI). Hvis 9,2'-diacetyl-SF-837 eller 9,2'-dipropionyl-SF-837 anvendes som begyndelsesmateriale, der skal acyleres med acyleringsmidlet med formlen (VI), kan dette acyleringsmiddel være et sådant med formlen (VI), hvori R^3 er en acetyl-, propionyl-, n-butyryl-, isobutyryl- eller isovaleryl-gruppe, og der dannes et 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivat af SF-837 M_1 med formlen (III), hvori 3"-alkanoylgruppen er propionylgruppen forskudt fra 4"-stillingen, 9- og 2'-alkanoylgrupperne er de samme acetyl- eller propionylgrupper, og 4"-alkanoylgruppen er identisk med alkanoylgruppen i det anvendte acyleringsmiddel. Når 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M_1 anvendes som begyndelsesmateriale, der skal acyleres, kan det anvendte acyleringsmiddel være et sådant med formlen (VI), hvori R^3 er en acetyl-, propionyl-, n-butyryl-, isobutyryl- eller isovaleryl-gruppe, og der dannes et 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M_1 med formlen (III), hvori 9-, 2'- og 3"-alkanoylgrupperne er den samme acetylgruppe, og 4"-alkanoylgruppen er identisk med alkanoylgruppen i det anvendte acyleringsmiddel.

Acyleringen af begyndelsesmaterialet med formlen (V) med acyleringsmidlet med formlen (VI) kan bekvemt udføres i et organisk opløsningsmiddel, der er inaktivt overfor acyleringsreaktionen, og det er fortrinsvis et relativt højt kogende organisk opløsningsmiddel, såsom diglym (nemlig bis-(2-methoxy-ethyl)-ether), ethylenglycoldimethyl-ether og toluen. Naturligvis kan et lavere kogende organisk opløsningsmiddel, såsom benzen, anvendes som reaktionsopløsningsmiddel, hvis reaktionstrykket er højere. Et overskud af pyridin, der anvendes som ovennævnte organiske base af amintypen, kan lejlighedsvis også tjene som reaktionsopløsningsmiddel. På den anden side kan et overskud af alkansyreanhydridet, der anvendes som acyleringsmiddel, såsom eddikesyreanhydrid og propionsyreanhydrid, også anvendes som reaktionsopløsningsmiddel, forudsat at en tilstrækkelig mængde af den organiske base er til stede i reaktionssystemet. Alkansyreanhydridet med formlen (VI), der anvendes som acyleringsmiddel, kan være eddikesyreanhydrid, propionsyreanhydrid, n-butansyreanhydrid, isobutansyre- eller isovaleriansyreanhydrid. I stedet for disse syreanhydrider kan der anvendes et funktionelt ækvivalent reagens til syreanhydridet med formlen (VI), f.eks. en blanding af syrechloridet og et metalsalt af den tilsvarende syre.

Reaktionstemperaturen ved acyleringen kan i almindelighed være en forhøjet temperatur på 50-120°C. Når reaktionstemperaturen overstiger 100°C, må det forventes, at der dannes forøgede mængder af uønskede biprodukter. Når reaktionstemperaturen på den anden side er mindre end 50°C, er den reaktionstid, der kræves for at fuldføre acyleringen, ca. 7 dage. Det er derfor ønskeligt at udføre acyleringen ved en temperatur på 80-100°C og i en reaktionstid på 10-20 timer. Når begyndelsesmaterialet med formlen (V) acyleres med alkanosyreanhydridet med formlen (VI) ved en reaktionstemperatur på 65-85°C i en reaktionstid på 10-15 timer under anvendelse af acyleringsmidlet (VI) i en mængde på 1,5 til 2,0 ækvivalenter i forhold til begyndelsesmaterialet (V), dannes så godt som udelukkende et 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III), medens der så godt som ikke dannes et 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV). Når acyleringen udføres ved en temperatur på 85-95°C, dannes et 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ med formlen (III) som hovedprodukt, og et 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ med formlen (IV) dannes i mindre mængde. Når acyleringen udføres ved en relativt høj temperatur på f.eks. 110-120°C og i relativt lang tid, kan 18-aldehydgruppen i lactonringen i begyndelsesmaterialet (V) acyleres, og der fås en forøget mængde 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV).

9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III) eller 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV) eller en blanding deraf, der er blevet fremstillet på ovennævnte måde, kan så isoleres fra reaktionsblandingen ved derfra at skille overskuddet af ureageret acyleringsmiddel, ureageret begyndelsesmateriale og reaktionsopløsningsmidlet. Til dette formål er det bekvemt, at man blander reaktionsblandingen med samme volumen eller mere benzen, toluen eller ethylacetat sammen med vand og vandigt natriumhydrogencarbonat, omrører den resulterende blanding godt for at overføre acyleringsprodukterne til benzen-, toluen- eller ethylacetatlaget, fjerner dette benzen-, toluen- eller ethylacetatlag, der indeholder acyleringsprodukterne i opløsning, fra den vandige fase af blandingen og derpå vasker det med vandigt natriumhydrogencarbonat og med vand og til sidst koncentrerer til tørhed ved afdamning af det organiske opløsningsmiddel for at få udfældet acyleringsprodukterne af SF-837. På denne måde kan 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivatet af SF-837 M₁ (III) isoleres fra reaktionsblandingen. Hvis reaktionsblandingen indeholder 9,18,2',3",4"-pentaalkanoylderivat af

SF-837 M₁ (IV), kan en blanding af 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivat af SF-837 M₁ (III) og 9,18,2',3",4"-pentaalkanoylderivat af SF-837 M₁ (IV) isoleres ved ovennævnte procedure. Det isolerede 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivat af SF-837 M₁ (III) kan renses yderligere ved kromatografi på en silicagelsøjle med en blanding af benzen-acetone som udviklingsvæske eller ved omkrystallisation af isopropanol eller ved en kombination af disse rensningsprocedurer. Isoleringen af 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III) fra 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV) kan opnås ved at underkaste blandingen af disse stoffer en konventionel søjlekromatografi på silicagel med benzen-acetone som udviklingsvæske. Om ønsket er det imidlertid muligt at anvende blandingen af 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III) og 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV) som sådan som udgangsmateriale, der skal hydrolyseres partielt og selektivt ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, fordi begge disse stoffer (III) og (IV) giver det ønskede 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁ med formlen (II) efter selektiv fjernelse af 2'-alkanoylgruppen og 18-alkanoylgruppen derfra ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Den partielle og selektive hydrolyse af 9,2',3",4"-tetraalkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (III) og/eller 9,18,2',3",4"-pentaalkanoylderivaterne af SF-837 M₁ med formlen (IV) kan udføres ved, at 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III) og/eller 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ opløses i det vandige medium, der består af en vandig alkanol, fortrinsvis en alkanol med 1-4 carbonatomer indeholdende vand, f.eks. vandigt methanol, vandigt ethanol, vandigt propanol, vandigt butanol, eller vandigt acetone, hvorpå den resulterende opløsning opvarmes eller får lov at stå ved en temperatur på fra stuetemperatur til 100°C. Denne hydrolysereaktion afsluttes i løbet af 2-4 dage ved stuetemperatur, medens den kan afsluttes i løbet af 6-10 timer eller mindre ved forhøjet temperatur på fra 60°C op til kogepunktet for det anvendte opløsningsmiddel.

Når det drejer sig om selektiv hydrolyse af 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV), kan denne hydrolyse udføres enten ved først at lade en opløsning, der indeholder 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ i det vandige medium, nemlig vandigt acetone eller en vandig alkanol, henstå ved stuetemperatur til udførelse af den overvejende fjernelse af 2'-alkanoylgruppen, hvorpå man opvarmer den partielt hydro-

lyserede reaktionsblanding til en forhøjet temperatur på 60-100°C til udførelse af fjernelsen af 18-alkanoylgruppen; eller ved at opvarme opløsningen, der indeholder 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ fra begyndelsen af til en forhøjet temperatur på 60-100°C, fortrinsvis i nærværelse af en lille mængde (f.eks. 1-10 vægt-%) af en svag base, såsom et alkalimetahydrogencarbonat, f.eks. natriumcarbonat; og en tertiær amin, f.eks. triethylamin, pyridin, N-methylpiperazin eller N-methylmorpholin, til udførelse af den overvejende fjernelse af både 2'-alkanoylgruppen og 18-alkanoylgruppen på en gang. En blanding af 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837 M₁ (III) og 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837 M₁ (IV) kan hydrolyseres selektivt til det ønskede 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁ (II) ved at opvarme en opløsning af nævnte blanding i et vandigt medium ved en forhøjet temperatur på 60-100°C i nærværelse af en svag base, såsom en af de ovennævnte. Den vandige alkanol eller acetone kan passende indeholde 10-30 volumen-% vand. Isoleringen af det ønskede produkt (II) fra reaktionsblandingen kan bekvemt udføres ved at ekstrahere reaktionsblandingen med et organisk opløsningsmiddel, såsom benzen eller ethylacetat, vaske ekstrakten med vand og derpå koncentrere den ved afdampning af det organiske opløsningsmiddel for at afsætte det ønskede produkt.

De følgende eksempler belyser fremgangsmåden ifølge opfindelsen nærmere.

Eksempel 1

(a) SF-837 (10 g) opløses i en blanding af 60 ml pyridin og 30 ml eddikesyreanhydrid, og den resulterende opløsning opvarmes ved 100°C i 10,5 timer og får så lov at henstå ved stuetemperatur i 1 dag for at fuldføre acyleringsreaktionen. En prøve udtages fra reaktionsblandingen, undersøges ved tyndtlagskromatografi på silicagelplade under anvendelse af en blanding af benzen-acetone (4:1) som udviklingsvæske (farvet med svovlsyre), og det konstateres, at acyleringsprodukterne af SF-837 indeholder 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ som hovedbestanddel og mindre mængder 9,2'-diacetyl-SF-837 og 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

Reaktionsblandingen koncentrerer til tørhed under reduceret tryk, og remanensen ekstraheres med benzen, og derpå vaskes den resulterende

benzenekstrakt med vand. Den således opnåede benzenekstrakt koncentrerer til tørhed, og remanensen optages i et lille volumen benzen. Den resulterende opløsning i benzen ledes gennem en søjle af silica-gel, der så udvikles med et blandet opløsningsmiddel af benzen-acetone (14:1). Eluatet opsamles i 10 ml fraktioner. Fraktionerne nr. 55 til 80 forenes og koncentrerer til tørhed, og der fås 2,5 g af et pulverprodukt af 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

Smeltepunkt	105-110°C
Molekylvægt (bestemt ved massespektro- metri)	981
N.M.R.-spektrum (i deuterokloro- form)	Intet signal for gruppen -CHO iagttages.

Dette produkt har så godt som ingen antibakteriel aktivitet.

(b) Fraktionerne nr. 90 til 135 af ovennævnte eluat forenes og koncentrerer til tørhed, og der fås 4,9 g af et pulver, der består af 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette pulver krystalliseres af isopropanol, og der fås rensset 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ med følgende egenskaber:

Smeltepunkt	218-222°C (under dekomponering og farvning)
Molekylvægt (bestemt ved massespektro- metri)	939
N.M.R.-spektrum (i deuterokloro- form)	Signal for gruppen -CHO ved 9,65

Dette produkt har en antibakteriel aktivitet, men den er lavere end aktiviteten af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(c) Fraktionerne nr. 81 til 89 fra ovennævnte eluat forenes og koncentrerer til tørhed, og der fås 1,0 g af et pulver, der indeholder en blanding af 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(d) 9,2',4"-Triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ (4,0 g) opnået ved ovennævnte procedure (b) opløses i 50 ml vandigt 90%'s methanol (dvs.

methanol indeholdende 10 volumen-% vand), og den resulterende opløsning opvarmes ved 60°C i 10 timer for at udføre partiel og selektiv hydrolyse af nævnte 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Den således opnåede reaktionsblanding blandes med 250 ml vand og 250 ml benzen, og det vandige lag af den resulterende blanding indstilles på pH 8 ved tilsætning af vandigt natriumhydrogencarbonat. Blandingen rystes så kraftigt og henstilles så i nogen tid. Benzenfasen skilles fra den vandige fase, vaskes med vand og koncentrerer så til tørhed, og der fås 3,6 g af et krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette produkt omkrystalliseres af isopropanol, og der fås et produkt med følgende egenskaber:

Smeltepunkt	228-230°C (under dekomponering)
Molekylvægt (bestemt ved massespektro- metri)	897
Specifik optisk drejning	[α] _D ²² -60,0° (1%, CHCl ₃)
N.M.R.-spektrum (i deuterokloro- form)	Signal for gruppen -CHO ved 9,67

(e) 3,0 g af blandingen af 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, opnået ved ovennævnte procedure (c), opløses i 300 ml vandigt 80%'s ethanol (nemlig ethanol indeholdende 20 volumen-% vand), og den resulterende opløsning opvarmes ved 80°C i 20 timer til partiel og selektiv hydrolyse. Den således opnåede reaktionsblanding indstilles så på pH 8,0 ved tilsætning af vandigt natriumhydrogencarbonat og ekstraheres derpå med benzen. Den resulterende ekstrakt i benzen vaskes med vand og koncentrerer til tørhed, og der fås 2,0 g af et krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette produkt omkrystalliseres af isopropanol, og der fås et produkt med samme egenskaber som nævnt ved procedure (d).

(f) 0,6 g 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, opnået ved ovennævnte procedure (a), opløses i 100 ml 90%'s vandigt methanol, og den resulterende opløsning får lov at henstå ved stuetemperatur i ca. 16 timer. En stor del af ovennævnte acylerede SF-837 M₁ omdannes herved til 9,18,4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, der har et smeltepunkt på 113-116°C og en molekylvægt på 939, målt ved

massespektrometri. Dette produkt har ingen antibakteriel aktivitet. Dette 9,18,4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ (0,5 g) opløses igen i 20 ml vandigt 80%'s ethanol, der indeholder 5 volumen-% triethylamin, og den resulterende opløsning opvarmes på vandbad i 6 timer under tilbagesvaling for at fjerne 18-acetylgruppen ved hydrolyse. Den således opnåede reaktionsblanding koncentrerer til tørhed under reduceret tryk, og der fås 0,45 g af et farveløst krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette produkt omkrystalliseres af isopropanol, og man får 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁, smeltepunkt 228 til 230°C (under dekomponering).

Eksempel 2

(a) 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M₁ (2 g) (der er kendt som 2',4",9-tri-0-acetyl-4"-depropionyl-SF-837 og beskrevet i "Journal of Antibiotics", vol. 24, side 534-535 (1971)) blandes med en blanding af 8 ml pyridin og 8 ml propionsyreanhydrid, og blandingen opvarmes ved 100°C i 50 timer. Reaktionsblandingen holdes i et stort rumfang isvand, som derpå ekstraheres tre gange med 100 ml portioner af benzen. De resulterende ekstrakter i benzen forenes, tørres over vandfrit natriumsulfat og koncentrerer.

Den koncentrerede opløsning kromatograferes på en søjle af silica-gel (3 x 20 cm) under anvendelse af en blanding af benzen-acetone (15:1) som udviklingsvæske. Eluatet fra søjlen opsamles i 10 g fraktioner. Fraktionerne nr. 25-33 forenes og koncentrerer, og der fås 800 mg af et pulverprodukt af 9,2',3"-triacetyl-4"-propionyl-SF-837 M₁ (nemlig 9,2',3"-triacetyl-SF-837).

Smeltepunkt 90-95°C (fugtig)

Molekylvægt
(bestemt ved
massespektro-
metri) 939

(b) Det rensede 9,2',3"-triacetyl-4"-propionyl-SF-837 M₁ (800 mg), opnået ved ovennævnte procedure (a), opløses i 30 ml vandigt 90%'s methanol (dvs. methanol indeholdende 10 volumen-% vand), og den resulterende opløsning får lov at henstå ved 40°C i ca. 16 timer til hydrolyse. Reaktionsblandingen koncentrerer under reduceret tryk, og den sirupsagtige remanens blandes med isopropanol, og der udfældes 600 mg af et krystallinsk produkt af 9,3"-diacetyl-4"-propionyl-SF-837 M₁ (dvs. 9,3"-diacetyl-SF-837). Dette produkt omkrystalliseres af iso-

propanol, og der fås et rent produkt med følgende egenskaber:

Smeltepunkt	198-203°C (under dekomponering)
Molekylvægt (bestemt ved massespektr metri)	897

(c) Fraktionerne nr. 6-22, opnået ved søjlekromatografien, der blev udført i ovennævnte procedure (a), forenes og koncentrerer, og der fås 850 mg af et pulver, der indeholder en blanding af 9,2',3"-triacetyl-18-propionyl-SF-837 og 9,2',3"-triacetyl-SF-837. Dette pulver opløses i 40 ml 80%'s vandigt ethanol, der indeholder 5 volumen-% triethylamin, og den resulterende opløsning opvarmes ved 65°C i 8 timer til partiel hydrolyse. Den således opnåede reaktionsblanding koncentrerer, og den sirupsagtige remanens blandes med 5 ml isopropanol, og der udfældes 400 mg af et pulver af 9,3"-diacetyl-SF-837 som et yderligere produkt. Smeltepunkt 198-203°C (dek.).

Eksempel 3

(a) 9,2'-Diacetyl-SF-837 (1,0 g) opløses i en blanding af 5 ml pyridin og 4 ml eddikesyreanhydrid, og den resulterende opløsning opvarmes ved 105-110°C i 60 timer til acetylering af 9,2'-diacetyl-SF-837. Reaktionsblandingen hældes i et stort rumfang isvand, som så ekstraheeres to gange med 100 ml-portioner af benzen. De forenede benzenekstrakter vaskes med en vandig opløsning af 5% kaliumhydrogensulfat, derpå med en mættet vandig opløsning af natriumhydrogencarbonat og til sidst med vand. Benzenopløsningen (de vaskede ekstrakter) koncentrerer til tørhed, og der fås 0,9 g af et farveløst pulver, der består af 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(b) Det rensede 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ (0,98 g), opnået ved ovennævnte procedure (a), opløses i 80 ml vandigt 80%'s ethanol, indeholdende 5 volumen-% triethylamin, og den resulterende opløsning opvarmes i 8 timer under tilbagesvaling til hydrolyse. Reaktionsblandingen koncentrerer til tørhed, og der fås 0,8 g af et krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Smeltepunkt 228-230°C (dek.).

Eksempel 4

(a) 9-Propionyl-SF-837 (20 g) opløses i en blanding af 80 ml pyridin og 40 ml eddikesyreanhydrid, og den resulterende opløsning opvarmes ved 100°C i 20 timer til acylering af 9-propionyl-SF-837. Den således opnåede reaktionsblanding hældes så i 200 ml vand, der indeholder 50 g is, hvilket så neutraliseres ved tilsætning af vandigt natriumcarbonat og ekstraheres tre gange med 100 ml-portioner af ethylacetat. De resulterende ekstrakter i ethylacetat forenes, tørres over vandfrit natriumsulfat og koncentrerer ved afdampning af opløsningsmidlet, og der fås 21 g af en sirupsagtig remanens, der indeholder 9-propionyl-2',4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og en mindre mængde 9-propionyl-18,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(b) Den sirupsagtige remanens, opnået ved ovennævnte procedure (a), hældes i 280 ml vandigt 90%'s methanol, og den resulterende opløsning opvarmes ved en temperatur på 65°C i 5 timer, blandes med 6 ml triethylamin og opvarmes så ved en temperatur på 65°C i yderligere 9 timer. Den således opnåede hydrolyse-reaktionsblanding koncentrerer til tørhed, og remanensen opløses i 30 ml isopropanol. Den resulterende opløsning får lov at køle af og henstå, og der udfældes et krystallinsk produkt. Dette produkt (12 g) isoleres ved filtrering og identificeres som 9-propionyl-4"-acetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette produkt omkrystalliseres af isopropanol, og der fås et produkt med et smeltepunkt på 205-208°C (dek.) og en molekylvægt på 911, bestemt ved massespektrometri.

Eksempel 5

9,2'-Diacetyl-SF-837 (1,0 g) opløses i en blanding af 50 ml pyridin og 10 ml isobutansyreanhydrid, og den resulterende opløsning opvarmes ved 100°C i 48 timer. Den således opnåede reaktionsblanding, der indeholder 9,2'-diacetyl-4"-isobutyryl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og en mindre mængde 9,2'-diacetyl-18,4"-di-isobutyryl-3"-propionyl-SF-837 M₁ forarbejdes derpå på samme måde som angivet i eksempel 4 (a) og (b), og der fås 0,25 g af et pulveragtigt produkt af 9-acetyl-4"-isobutyryl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Dette pulverprodukt har et smeltepunkt på 140-145°C (fugtig) og en molekylvægt på 925, bestemt ved massespektrometri.

Eksempel 6

9,2'-Diacetyl-SF-837 (1,0 g) opløses i 50 ml pyridin, til hvilket der derpå sættes 10 ml isovalerianesyreanhydrid. Blandingen opvarmes ved 100°C i 48 timer. Den således opnåede acyleringsreaktionsblanding, der indeholder 9,2'-diacetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og en mindre mængde 9,2'-diacetyl-18,4"-diisovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁, oparbejdes derpå som angivet i eksempel 4 (a) og (b), og der fås 0,2 g af et pulver af 9-acetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

Smeltepunkt	135-140°C
Molekylvægt (bestemt ved massespektro- metri)	939
N.M.R.-spektrum (i deuteriochlo- roform)	Signal for gruppen -CHO ved 9,67

Eksempel 7

(a) SF-837 (100 g) opløses i en blanding af 600 ml pyridin og 300 ml eddikesyreanhydrid, og den resulterende opløsning opvarmes ved 100°C i 23 timer til acetylering af SF-837. Den således opnåede reaktionsblanding hældes i 2,5 l is-vand, som derpå neutraliseres ved tilsætning af vandigt natriumhydrogencarbonat og derpå ekstraheres med 1 l benzen. Den således opnåede benzenekstrakt vaskes med en vandig opløsning af 10% kaliumhydrogensulfat, derpå med en mættet vandig opløsning af natriumhydrogencarbonat og til sidst med vand og tørres derefter over vandfrit natriumcarbonat, hvorpå koncentrerer under reduceret tryk. Der fås en sirupsagtig remanens (120 g), der indeholder 9,2',4"-triacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og en mindre mængde 9,18,2',4"-tetraacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(b) Remanensen opnået ved ovennævnte procedure (a) opløses i 500 ml vandigt 80%'s methanol, og den resulterende opløsning får lov at stå ved 60°C i 7 timer. Reaktionsopløsningen henstilles til udfældning af 41 g af et krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Smeltepunkt 228-230°C (dek.).

(c) Moderluden, fra hvilken nævnte krystallinske produkt er fjernet, koncentrerer derpå og blandes med 300 ml vandigt 80%'s ethanol og 20 ml triethylamin. Den således opnåede blanding opvarmes ved 65°C i 8 timer til partiel hydrolyse. Den således opnåede reaktionsblanding får lov at henstå i kulden, og der udfældes yderligere 39 g af et krystallinsk produkt af 9,4"-diacetyl-3"-propionyl-SF-837 M₁. Smeltepunkt 228-230°C (dek.).

Eksempel 8

(a) Isovalerianesyre (18,6 g) opløses i 100 ml methanol, der indeholder 9,2 g natriumhydroxid, og den resulterende opløsning koncentrerer til tørhed, og den faste remanens optages i benzen. Blandingen koncentrerer igen til tørhed, og remanensen blandes med 22 g isovalerylchlorid under køling. Efter 1 time blandes den opnåede blanding med 12 g 9,2'-diacetyl-SF-837 og opvarmes så ved 100°C i 56 timer. Den således opnåede acyleringsreaktionsblanding, der indeholder 9,2'-diacetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁ og en mindre mængde 9,2'-diacetyl-4",18-diisovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁, hældes i et stort rumfang isvand, som derpå neutraliseres ved tilsætning af natriumhydrogencarbonat og så ekstraheres med 250 ml benzen. Benzenekstrakten vaskes med vand og koncentrerer. Den resulterende koncentrerede opløsning ledes til en søjle af silicagel (4 x 28 cm) til kromatografi, og søjlen udvikles med benzen-acetone (volumenforhold 20:1). Eluatet fra silicagel-søjlen opsamles i 8 ml fraktioner. Fraktionerne nr. 43-53 forenes og koncentrerer til tørhed, og der fås 3,6 g af en remanens, der hovedsagelig indeholder 9,2'-diacetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁.

(b) 9,2'-Diacetyl-4"-isovaleryl-3"-propionyl-SF-837 M₁ (3,5 g), opnået ved ovennævnte procedure (a), opløses i 100 ml vandigt acetone (dvs. en blanding af acetone og vand i et volumenforhold på 7:3). Den resulterende opløsning opvarmes ved en temperatur på 50°C i ca. 16 timer under omrøring. Den således opnåede hydrolysereaktionsblanding koncentrerer så til tørhed under reduceret tryk, og der fås 3,0 g af et pulverprodukt af 9-acetyl-3"-propionyl-4"-isovaleryl-SF-837 M₁. Smeltepunkt 135-140°C.

Eksempel 9

(a) En blanding af 5 g 9,2'-diacetyl-SF-837, 100 ml pyridin og 40 ml

propionsyreanhydrid opvarmes ved 100°C i 16 timer. Reaktionsblandingen i form af en sort farvet opløsning hældes så i et stort rumfang isvand, og blandingens vandige fase indstilles på pH 8,0 ved tilsætning af vandigt natriumhydrogencarbonat. Blandingen ekstraheres så med benzen, og benzenekstrakten vaskes med vand og koncentrerer til tørhed. Remanensen optages i et lille rumfang benzen, og benzenopløsningen kromatograferes ved, at man leder den til en søjle af silicagel (4 x 20 cm) og udvikler med en blanding af benzen-acetone (10:1). Eluatet opsamles i 8 g-fraktioner, og fraktionerne nr. 35-44 forenes og koncentrerer til tørhed, og man får 1,1 g 9,2'-diacetyl-18,3"-di-propionyl-SF-837, der har følgende egenskaber:

Smeltepunkt	95-101°C (fugtig)
Molekylvægt (bestemt ved masse- spektrumanalyse)	1009
Kernemagnetisk resonansabsorption (i CDCl ₃)	Intet signal for CHO-gruppen iagttaget.
Antibakteriel aktivitet	Så godt som ingen iagttaget.

Fra fraktionerne nr. 47-58 af eluatet isoleres 1,0 g 9,2'-diacetyl-3"-propionyl-SF-837, som har følgende egenskaber:

Smeltepunkt	106-108°C
Molekylvægt (bestemt ved massespektrum- analyse)	953
Kernemagnetisk resonansabsorption (i CDCl ₃)	Signal for CHO-gruppen ved 9,67 iagttaget.
Antibakteriel aktivitet	Lavere end aktiviteten af 9-acetyl-3"-propionyl-SF-837.

(b) 9,2'-Diacetyl-3"-propionyl-SF-837 (0,5 g) opløses i 100 ml vandigt 90%'s methanol (en blanding af methanol og vand i et volumenforhold på 9:1), og opløsningen opvarmes ved 60°C i 8 timer for at udføre selektiv hydrolyse. Reaktionsblandingen blandes med et stort rumfang vand, neutraliseres med vandigt natriumhydrogencarbonat og ekstraheres med ethylacetat. Den resulterende ethylacetatekstrakt vaskes med vand

og koncentrerer til tørhed, og der fås 0,35 g 9-acetyl-3",4"-dipropionyl-SF-837 M₁ (nemlig 9-acetyl-3"-propionyl-SF-837), som har følgende egenskaber:

Smeltepunkt	222-224°C
Molekylvægt (bestemt ved massespektrum- analyse)	911
Kernemagnetisk resonans-absorp- tion (i CDCl ₃)	Signal for CHO-gruppen ved 9,68 iagttaget.

(c) Endvidere opløses 9,2'-diacetyl-18,3"-di-propionyl-SF-837 (1,0 g) i 40 ml vandigt 90%'s methanol, og opløsningen får lov at stå ved stuetemperatur i 2 dage. Reaktionsopløsningen koncentrerer så til tørhed, og man får 0,85 g af et pulveragtigt produkt af 9-acetyl-18,3"-dipropionyl-SF-837, der har følgende egenskaber:

Smeltepunkt	103-106°C
Molekylvægt (bestemt ved massespektrum- analyse)	967
Antibakteriel aktivitet	Ikke iagttaget.

Dette 9-acetyl-18,3"-dipropionyl-SF-837 opløses i 60 ml vandigt 80%'s ethanol, der indeholder 5% triethylamin, og opløsningen opvarmes ved 80°C i 10 timer. Reaktionsblandingen neutraliseres med vandigt natriumhydrogencarbonat og ekstraheres så med benzen. Benzenekstrakten vaskes med vand og koncentrerer til tørhed, og der fås 0,5 g af et krystallinsk produkt af 9-acetyl-3",4"-dipropionyl-SF-837 M₁ (nemlig 9-acetyl-3"-propionyl-SF-837) som yderligere materiale.

Eksempel 10

(a) SF-837 (3,0 g) opløses i en blanding af 50 ml pyridin og 15 ml propionsyreanhydrid, og den således opnåede blanding opvarmes ved 100°C i 16 timer. Reaktionsblandingen hældes i et stort rumfang is-vand, og der udfældes acyleringsprodukter af SF-837 (en blanding af 9,18,2',3"-tetrapropionyl-SF-837 og 9,2',3"-tripropionyl-SF-837), som isoleres ved filtrering og derpå vaskes med vand.

(b) De således opnåede acyleringsprodukter opløses straks i 100 ml vandigt 80%'s ethanol, og til den resulterende opløsning sættes 5,0 g pulveriseret natriumhydrogencarbonat. Blandingen opvarmes ved 80°C i 16 timer for at udføre hydrolyse-reaktion. Reaktionsblandingen ledes gennem en søjle af aktivt kul (50 cc) og ekstraheres så med benzen, og benzenekstrakten vaskes med vand og koncentrerer til tørhed. Der fås 0,9 g af et amorf produkt af 9,3",4"-tripropionyl-SF-837 M_1 (nemlig 9,3"-dipropionyl-SF-837), som har følgende egenskaber:

Smeltepunkt	150-160°C (fugtig)
Molekylvægt (bestemt ved massespektrum- analyse)	925
Kernemagnetisk resonansabsorp- tion (i $CDCl_3$)	Signal for gruppen -CHO ved 9,68.

Eksempel 11

(a) En blanding af SF-837 (180 mg) og propionsyreanhydrid (0,5 ml) i pyridin (5 ml) rystes i et forseglet rør ved 28°C i 5 dage. Reaktionsblandingen koncentrerer til tørhed, og remanensen opløses i chloroform. Efter vask med vand og tørring over natriumsulfat afdampes chloroformlaget, og der fås et hvidt pulver (210 mg). Det har en hovedplet ved Rf 0,6 og en mindre plet ved Rf 0,5 på silicagel-tyndtlagskromatogram, udviklet med benzen-acetone (5:1). Den første skilles fra den sidste ved hjælp af præparative silicagelplader under anvendelse af samme opløsningsmiddelsystem som nævnt ovenfor.

Hovedbåndet, der indeholder 9,2'-dipropionyl-SF-837, ekstraheres med methanol, og ekstrakterne inddampes, og der fås et hvidt pulver (95 mg). Krystallisation af carbontetrachlorid giver farveløse nåle af 9,2'-dipropionyl-SF-837 (60 mg).

Elementaranalyse.

Beregnet for $C_{47}H_{75}NO_{17}$ (molekylvægt 951): C 60,95, H 8,16, N 1,51%
Fundet: C 60,82, H 8,02, N 1,46%

(b) 9,2'-Dipropionyl-SF-837 (4 g) opløses i en blanding af 50 ml pyridin og 50 ml propionsyreanhydrid, og blandingen opvarmes ved 100°C i 16 timer.

Reaktionsblandingen hældes i et stort rumfang is-vand, hvorpå neutraliseres med natriumhydrogencarbonat.

Acyleringsprodukterne (en blanding af 9,18,2',3"-tetrapropionyl- og 9,2',3"-tripropionyl-SF-837) ekstraheres to gange med 150 ml portioner af benzen. Den således opnåede benzenopløsning inddampes under reduceret tryk.

(c) Den således opnåede remanens opløses så i 100 ml vandigt 80%'s ethanol, der indeholder 5 g natriumhydrogencarbonat.

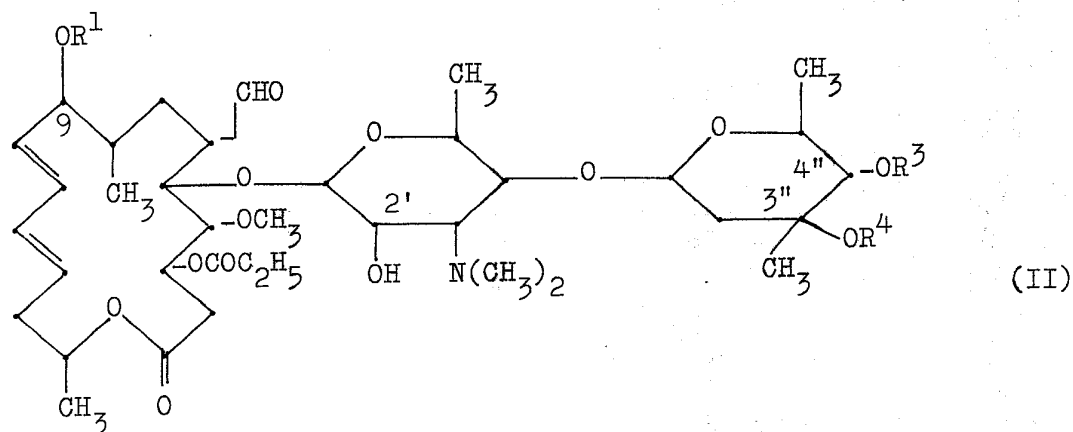
Blandingen opvarmes ved 80°C i 16 timer for at udføre hydrolyse, der fjerner 18- og 2'-acylgrupperne.

Reaktionsblandingen ledes så gennem en søjle af aktiveret kul (50 ml) og ekstraheres derpå med benzen, og benzenekstrakten vaskes med vand og koncentrerer til tørhed. Den faste remanens omkrystalliseres af isopropanol, og man får et krystallinsk produkt af 9,3"-dipropionyl-SF-837 (2,3 g), som har følgende egenskaber:

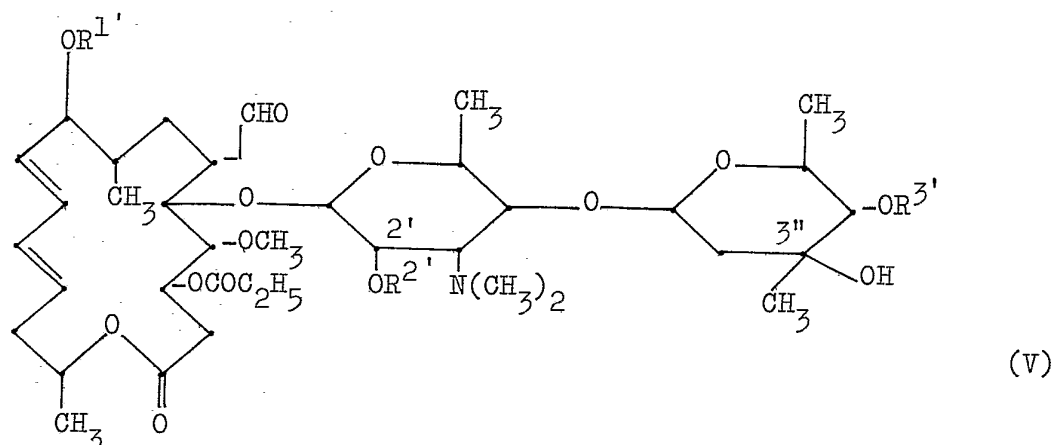
Smeltepunkt	192-195°C (let farvet)
Molekylvægt (bestemt ved massespektrum- analyse)	925

P A T E N T K R A V

Fremgangsmåde til fremstilling af 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837 M₁-derivater med formlen



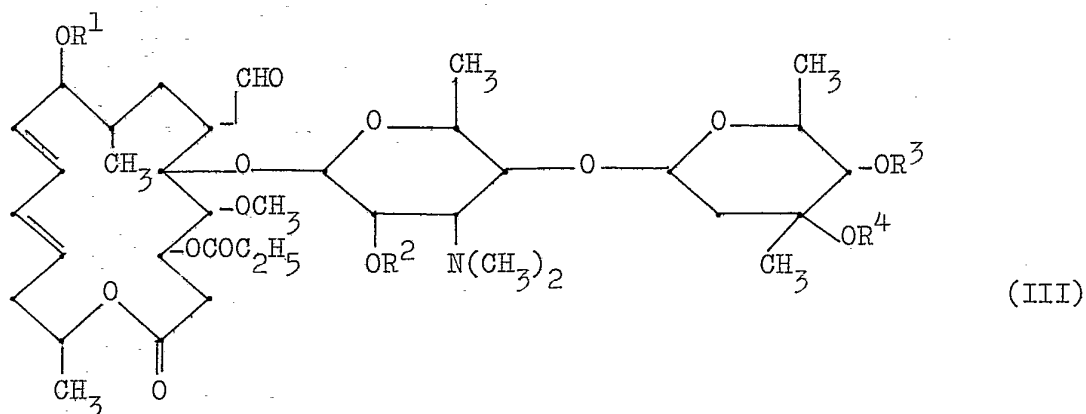
hvori R^1 og R^4 hver er en acetyl- eller propionylgruppe, og R^3 er en acetyl-, propionyl-, n-butyryl-, isobutyryl- eller isovalerylgruppe, k e n d e t e g n e t ved, at man acylerer en forbindelse udvalgt fra gruppen bestående af SF-837, 9,2',4"-triacetyl-SF-837 M_1 , 9,2'-diacetyl-SF-837, 9-propionyl-SF-837 og 9,2'-dipropionyl-SF-837 med formlen



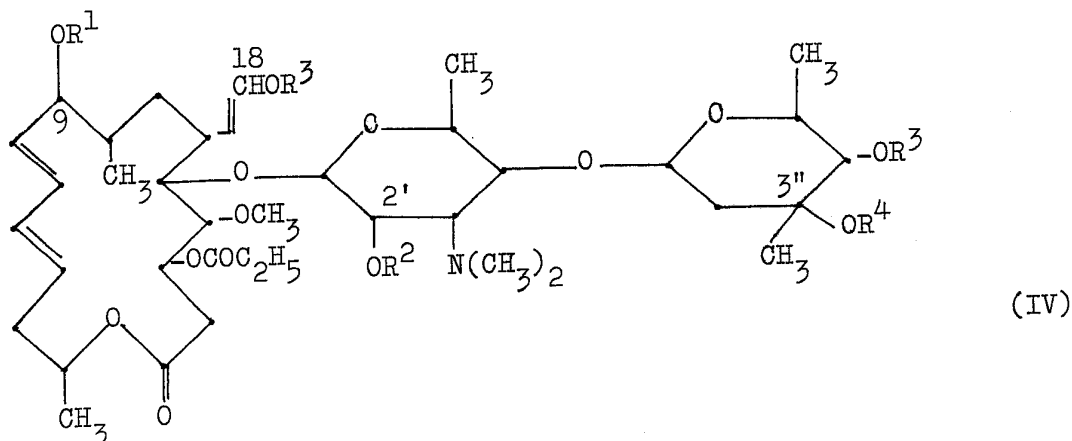
hvori $R^{1'}$ og $R^{2'}$ hver er et hydrogenatom og $R^{3'}$ propionyl, eller $R^{1'}$, $R^{2'}$ og $R^{3'}$ hver acetyl, eller $R^{1'}$ og $R^{2'}$ hver acetyl og $R^{3'}$ propionyl, eller $R^{1'}$ og $R^{3'}$ hver propionyl og $R^{2'}$ et hydrogenatom, eller $R^{1'}$, $R^{2'}$ og $R^{3'}$ hver propionyl, med et alkansyreanhydrid med formlen



hvori R^3 er en acetyl-, propionyl-, n-butyryl-, isobutyryl- eller isovalerylgruppe, idet dog R^3 kun kan være acetyl eller propionyl, såfremt $R^{1'}$ og $R^{2'}$ er hydrogen, ved en temperatur på 50 til 120°C og i nærværelse af en organisk base, udvalgt blandt pyridin, quinolin, α -picolin, diethylanilin, N-ethylmorpholin og triethylamin, i et tilstrækkeligt tidsrum til at danne et 9,2',3'',4"-tetraalkanoyl-SF-837 M_1 med formlen



hvor R^1 , R^2 og R^4 hver er acetyl eller propionyl, og R^3 har den ovenfor angivne betydning, idet gruppen R^4 er samme gruppe som den i det anvendte udgangsmateriale i 4"-stillingen tilstedeværende gruppe $R^{3'}$, eller et 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837M₁ med formlen



hvor R^1 , R^2 og R^4 hver er acetyl eller propionyl, og R^3 har den ovenfor angivne betydning, idet gruppen R^4 er samme gruppe som den i udgangsmaterialet i 4"-stillingen tilstedeværende gruppe $R^{3'}$, eller en blanding af disse stoffer under samtidig intermolekylær flytning af alkanoylgruppen fra 4"-stillingen til 3"-stillingen, og partielt og selektivt hydrolyserer 9,2',3",4"-tetraalkanoyl-SF-837M₁ med formelen (III) eller 9,18,2',3",4"-pentaalkanoyl-SF-837M₁ med formelen (IV) eller en blanding af disse stoffer i en vandig alkanol eller vandigt acetone til dannelsen af det ønskede 9,3",4"-trialkanoyl-SF-837M₁ med formelen (II).

Fremdragne publikationer:

Dansk patent nr. 117502

Norsk patent nr. 116467

Tysk fremlæggelsesskrift nr. 2121648

Tysk offentliggørelsesskrift nr. 2355790.