

10 MAY 1964

303758

P- 27.527

A 79040

Case D.N. 3433-A PBW(SDG)



303758

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

d e

PATENTE D E INVENCION

formulada el 4 de Septiembre de 1964, con el núm. 303.758

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de STERLING DRUG INC., entidad norteamericana, establecida en 1450 Broadway, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

" UN PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR UN COMPUESTO ORGANICO "

Esta invención se refiere a tioxantenos y xantenos sustituidos, y a su preparación.

Esta invención reside en la idea de una composición que tiene una configuración molecular en la que está unido hidroximetilo o formilo al átomo de carbono 4 de un tioxanteno, un S-óxido o-dióxido de tioxanteno, un xanteno, y derivados 9-ona o 9-ol de ellos que tienen unido al átomo de carbono 1 de ellos un sub-sustituyente (amino-secundario o terciario-inferior)-(policarbono-alcohilo-inferior) amino, y a un procedimiento oxidativo enzimático que emplea como productos interme

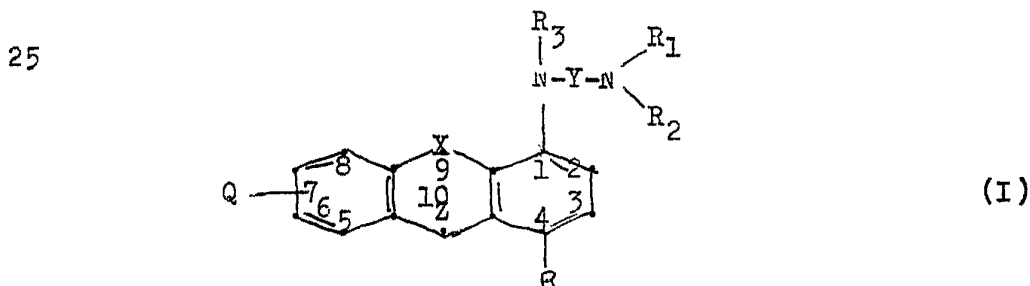


dios los correspondientes compuestos de 4-metilo.

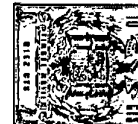
Los correspondientes compuestos de 4-metilo son muy conocidos como agentes esquistosomicidas. Ilustrativos de estos compuestos son 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metil-
5 tioxanten-9-ona ("Miracil D") y 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metilxanten-9-ona ("Miracil A"). Se ha encontrado que la actividad esquistosomicida de estos compuestos ilustrativos es retenida y a veces mejorada variando el sustituyente básico de cadena lateral en la posición 1, por adición de otros
10 sustituyentes de anillo, por sustitución del grupo 9-ona o 9-ceto ($>C=O$) por 9-ol ($>CHOH$) o por metileno ($>CH_2$), o por conversión del S-10 del tioxanteno en su derivado óxido o dióxido. Por otro lado, todos los intentos para reemplazar el grupo 4-metilo por otros sustituyentes han dado como re-
15 sultado una pérdida completa de efecto esquistosomicida.

Hemos encontrado ahora que compuestos de este tipo en los que el 4-metilo es reemplazado por 4-hidroximetilo o 4-formilo son agentes esquistosomicidas altamente activos, siendo los compuestos 4-hidroximetilo más activos y menos tó-
20 xicos que sus precursores 4-metilo, y teniendo los compuestos 4-formilo actividad comparable a la de los precursores.

Las realizaciones del aspecto de composición de nuestra invención están representadas por la fórmula I



en donde X es carbonilo ($>C=O$), hidroximetileno ($>CHOH$) o
30 metileno ($>CH_2$), Z es -O-, -S-, $\geq SO$ ó $\geq SO_2$ y Q es hidrógeno



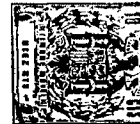
o de uno a dos sustituyentes en posiciones 5,6,7 y 8 del anillo tricíclico seleccionado entre halo, alcoholilo inferior o alcoxi inferior, R es hidroximetilo ($-\text{CH}_2\text{OH}$) o formilo ($-\text{CHO}$), Y es alcoholileno inferior que tiene de dos a cuatro átomos de carbono y que tiene sus dos enlaces de conexión sobre átomos diferentes de carbono, R_3 es hidrógeno o alcoholilo inferior, R_1 es hidrógeno, alcoholilo inferior o 2-hidroxi-alcoholilo inferior y R_2 es alcoholilo inferior o 2-hidroxi-alcoholilo inferior, y donde R_1 y R_2 tomados con N, es decir, NR_1R_2 , comprenden radicales N-heteromonocíclicos saturados que tienen cinco a seis átomos en anillo, ilustrados por piperidino, hexametilenoimino, pirrolidino, morfolino, piperacino y derivados alcoholilados inferiores de ellos.

También están comprendidos en nuestra invención los derivados 5,6,7,8-tetrahidro de la fórmula I.

Los términos "alcoholilo inferior" y "alcoxi inferior" tal y como se emplean aquí, por ejemplo como significados para Q en la fórmula I o para R_1 , R_2 , ó R_3 (cuando son alcoholilo inferior), significan radicales alcoholilo y alcoxi que tienen de uno a seis átomos de carbono, ilustrados por metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, 2-butilo, isobutilo, n-amilo y n-hexilo, para alcoholilo inferior, y por metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, 2-butoxi y n-hexoxi, para alcoxi inferior.

El término "halo" tal y como se usa aquí, por ejemplo como uno de los significados para Q en la fórmula I, significa cloro, bromo, iodo o fluoro, siendo preferido cloro a causa de las ventajas de coste y fácil disponibilidad de los productos intermedios de cloro.

El término "2-hidroxi-alcoholilo inferior" tal y como



10

se emplea aquí, por ejemplo como significados para R_1 y R_2 en la fórmula I, son radicales hidroxi-alcohilo que tienen de dos a seis átomos de carbono, y que tienen el grupo hidroxi unido al átomo de carbono que es un átomo de carbono se -
 5 parado del átomo de nitrógeno de la cadena lateral, ilustrados por 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 2-hidroximetilpropilo, 2-hidroxibutilo, 2-hidroximetilpropilo, 2-hidroximetilpropilo, 2-hidroximetilpropilo y 2-hidroxihexilo.

El término "alcohileno inferior", tal y como se em
 10 plea aquí, por ejemplo, como está representado por Y en la fórmula I, son radicales alcohileno que tienen de dos a cuatro átomos de carbono y que tienen sus enlaces de conexión en átomos diferentes de carbono, ilustrados por $-CH_2CH_2-$, $-CH(CH_3)CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)-$, $-CH(CH_3)CH(CH_3)-$, $-CH(C_2H_5)CH_2-$,
 15 $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CHCH_3$ y $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$.

Cuando NR_1R_2 de la fórmula I comprende radicales N-heteromonocíclicos alcohilados inferiores, pueden unirse radicales alcohilo inferior a cualquier átomo de anillo disponible, y pueden variar en número desde uno hasta tres preferiblemente, por ejemplo 2-metilpiperidino, 3-etilpiperidino, 4-metilpiperidino, 2,6-dimetilpiperidino, 2,4-dimetilpiperidino, 2,4,6-trimetilpiperidino, 3-n-propilpiperidino, 2,2-dimetilpiperidino, 2-metilpirrolidino, 2,5-dimetilpirrolidino, 2,3-dimetilmorfolino, 2-etilmorfolino, 2-metilhexametilenoimino, 2,7-dimetilhexametilenoimino, 4-metilpiperacino, 3-etilpiperacino, y 2,4,6-trimetilpiperacino.
 20
 25

Nuestra invención en este aspecto del procedimiento comprende someter un compuesto de fórmula I, donde Q, X, Z, Y, R_3 y NR_1R_2 tienen los significados dados para la fórmula I pero donde R es metilo, a la acción fermentativa-enzimática-
 30

303758



ca de un microorganismo capaz de efectuar la oxidación del grupo 4-metilo a 4-hidroximetilo y/o 4-formilo, siendo dicho microorganismo de un orden seleccionado entre el grupo que consta de Moniliales, Mucorales y Sphaeriales.

5 No todas las especies y géneros de organismos dentro de estos órdenes son eficaces en el procedimiento, pero puede determinarse fácilmente si un organismo específico dado es eficaz siguiendo el procedimiento general de selección descrito en el párrafo siguiente. Un microorganismo particularmente preferido es el Aspergillus sclerotiorum.

10

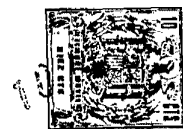
Procedimiento General de Selección

Un procedimiento general de selección ilustrativo utilizado para evaluar la capacidad de microorganismos para transformar 1-(R₁R₂N-Y-NR₃)-4-metiltioxantenos, -4-metilxantenos y los derivados arriba indicados se describe como sigue: Los microorganismos que han de ser seleccionados se inoculan sobre cultivos inclinados de agar de Sabouraud u otros medios de base de agar adecuados para desarrollo. Los cultivos inclinados inoculados se colocan después en un incubador a 25°C y se dejan desarrollar durante una semana. Después de una semana de desarrollo se separa el cultivo inclinado y se le añaden 15 ml. de agua destilada estéril, y se desunen del agar las esporas y el desarrollado vegetativo con una aguja estéril. Esta suspensión se transfiere después a un frasco que contiene 100 ml. de un medio de dextrosa de soja de composición:

15

20

25



	Harina de soja	5 g.
	Dextrosa	20 g.
	NaCl	5 g.
	K ₂ HPO ₄	5 g.
5	Levadura	5 g.
	Agua del grifo	1 l.
	pH hasta	6.4

autoclave a 1'05 kgs. por cm. cuadrado durante 15 min. y el frasco se coloca en un agitador rotatorio colocado en un incubador a 25°C y agitado a aproximadamente 260 r.p.m. durante veinticuatro horas. Después de este período inicial de tiempo (siembra de primera etapa), se añaden 5 ml. del producto desarrollado sumergido a frascos duplicados (250 ml.) que contienen el medio de dextrosa de soja arriba indicado. Estos frascos se colocan en el agitador y se dejan desarrollar de cuarenta y ocho a setenta y dos horas a 25°C, después de lo cual 5 mg. de substrato (un 4-metiltioxanteno o 4-metilxanteno) disueltos en cantidad mínima de agua, agua-etanol, dimetilformamida, acetona o CH₃OH se añaden a uno de los dos frascos. El otro frasco recibe solamente el disolvente y sirve de control. Estos frascos se agitan después bajo las mismas condiciones durante veinticuatro horas adicionales antes de separarlos del agitador. Se anotan las características de desarrollo y el pH, y se añade a la totalidad del caldo de cada frasco dos volúmenes de dicloruro de metileno. Los frascos se agitan después a 200 r.p.m. durante dos intervalos de un minuto. El extracto más pesado de dicloruro de metileno se saca después por sifón y el disolvente se separa por calefacción en un baño María a aproximadamente 60°C. Después se di-

283758



suelve cada residuo en 1 ml. de dicloruro de metileno para aplicación a un plato de capa delgada para análisis cromatográfico (descrito abajo).

La naturaleza del material producido puede ser detectada por cromatografía de capa delgada, y aislados el 4-formil- ó 4-hidroximetiltioxanteno ó -xanteno y los productos intermedios correspondientes 4-metiltioxanteno o -xanteno (si no se han convertido completamente) por cromatografía de columna sobre adsorbentes convencionales, tales como gel de sílice o alúmina.

Las muestras de selección fueron todas cromatografiadas sobre platos de capa delgada de gel de sílice (T.L.C.) usando un sistema adecuado, constante uno preferido de nueve volúmenes de acetato de etilo y un volumen de trietilamina. El compuesto de 4-hidroximetilo aparece en forma de una mancha menos móvil (más polar) que el compuesto intermedio de 4-metilo en dicho sistema cromatográfico preferido. El compuesto de 4-formilo aparece en forma de una mancha entre los compuestos de 4-metilo y 4-hidroximetilo. El gel de sílice que contiene las manchas más polares se separa y se eluye cada mancha con metanol absoluto, y los eluatos se someten al análisis espectral ultravioleta (UV).

fermentaciones en gran escala y procedimientos para aislar cantidades suficientes de compuestos cristalinos de 4-hidroximetilo y 4-formilo para análisis elementales y estudios esquistosomicidas en ejemplos específicos, ilustrarán además más adelante aspectos de nuestra invención, sin limitarla a ellos sin embargo.

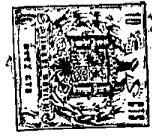
El procedimiento general de separación descrito arriba y las fermentaciones discontinuas dadas abajo en los

303758



ejemplos específicos son ilustrativos y pueden ser variados de diferentes maneras: usando otros microorganismos cuya acción encimática fermentativa es capaz de efectuar la oxidación de dichos 4-metiltioxantenos o 4-metilxantenos a los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y/o 4-formilo; usando otras fuentes de nitrógeno en lugar de harina de soja, por ejemplo harina de maíz, harina de avena, hidrolizados de proteína de leche, hidrolizados de otras proteínas, líquido de maceración de maíz, extracto de carne, etc.; usando otras fuentes de carbono en lugar de dextrosa, por ejemplo sacaro-
sa, glucosa, maltosa, almidón, melazas, etc; variando el tiempo de adición del substrato después de la adición del medio desde 0 a 72 horas; variando el pH inicial desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 7'5, preferiblemente entre 5'5 y 6'5; variando la cantidad de substrato; variando la velocidad de agitación; y usando otras modificaciones conocidas en la técnica fermentativa.

nuestros compuestos de la fórmula I son útiles en la forma de base libre o en la forma de sus sales por adición de ácido, y ambas formas están dentro del alcance de la invención, y, de hecho, se considera que son una y la misma invención. Las sales por adición de ácido son simplemente una forma más conveniente para el uso; y, en la práctica, el uso de la forma sal es parte inherente del uso en la forma base. Los ácidos que pueden ser utilizados para preparar las sales por adición de ácido, son preferiblemente aquéllos que producen, cuando se combinan con la base libre, sales quimioterapéuticamente aceptables, esto es, sales cuyos aniones son relativamente inocuos para el organismo animal en dosis quimioterapéuticas de las sales, de modo que las propiedades beneficio

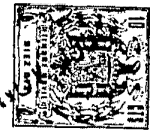


sas inherentes a la base libre no sean viciadas por efectos secundarios imputables a los aniones; en otras palabras, estos últimos no afectan en esencia a las propiedades quimioterapéuticas inherentes a los cationes. Al practicar nuestra invención, hemos encontrado conveniente emplear la sal clorhidrato. Sin embargo, otras sales apropiadas quimioterapéuticamente aceptables dentro del objeto de la invención son las derivadas de ácidos minerales tales como ácido bromhídrico, ácido iodhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfámico, y ácido sulfúrico; y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido químicico, ácido 3-hidroxi-2-naftoico, ácido pamoico (ácido 2,2'-dihidroxi-1,1'-dinaftilmetano-3,3'-dicarboxílico), ácido napónico (ácido 1,5-naftaleno-disulfónico), que dan el bromhidrato, iodhidrato, nitrato, fosfato, sulfamato, sulfato, acetato, citrato, tartrato, lactato, metanosulfonato, etanosulfonato y quinato, 3-hidroxi-2-naftoato, pamoato y naponato, respectivamente.

Las sales por adición de ácido se preparan preferiblemente haciendo reaccionar la base libre y el ácido en un disolvente orgánico, por ejemplo etanol, en cuyo caso la sal se separa directamente o puede ser obtenida por concentración de la disolución.

Aunque son preferidas las sales quimioterapéuticamente aceptables, todas las sales por adición de ácido están dentro del objeto de nuestra invención. Todas las sales por adición de ácido son útiles como fuentes de la forma de base libre aun cuando la sal particular no se desee per se como producto final, como por ejemplo cuando la sal se forma

303758



10
para fines de purificación o identificación, o cuando se usa como un producto intermedio en la preparación de sal quimio-terapéuticamente aceptable por procedimientos de intercambio iónico.

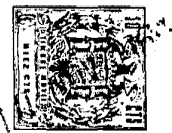
5 Abarcados también por nuestra invención son los ésteres simples de nuestros compuestos de 4-hidroximetilo, por ejemplo alcanatoatos inferiores (por ej. acetato, propionato, butirato, etc.), benzoatos (por ej. benzoato, 3,5-dinitrobenzoato, etc.), carbanilato, etc., así como también los
10 derivados convencionales que caracterizan aldehído de nuestros compuestos de 4-formilo, por ejemplo semicarbazona, tío semicarbazona, etc., siendo dichos ésteres y derivados de aldehído útiles para caracterizar e identificar además nuestros compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo.

15 Las estructuras moleculares de los compuestos de nuestra invención están establecidas por sus espectros de resonancia magnética nuclear, infrarrojo y ultravioleta, y corroboradas por la correspondencia de los valores calculados y encontrados para los análisis elementales.

20 Los ejemplos siguientes ilustrarán además la invención sin, sin embargo, limitarla a ellos.

Ejemplo 1

25 La conversión de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metil-tioxanten-9-ona en los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo se realizó como sigue: la 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metiltioxanten-9-ona en forma de su clorhidrato fué sometida primero a la acción fermentativa del Aspergillus sclerotiorum (SWRI A₂₄, disponible en el
30 Sterling-Winthrop Research Institute, Rensselaer, Nueva York)



utilizando el procedimiento general de selección descrito
arriba. Se produjeron así dos productos más polares con pér-
dida simultánea de material de partida, como se puso en evi-
dencia por cromatografía de capa delgada. Después de estudios
5 preliminares en matraces que indicaron que las fermentaciones
a niveles de sustrato de 0'2 a 0'1 g/l eran factibles, se
realizaron fermentaciones de 10 litros en vasijas de fermen-
tación agitadas de 14 litros, que contenían 10 litros de me-
dio estéril de dextrosa de soja compuesto de los siguientes
10 ingredientes (peso por volumen):

	Harina de soja	2'0%
	Dextrosa	2'0%
	Levadura de cerveza	0'5%
	NaCl	0'5%
15	K ₂ HPO ₄	0'5%
	Agua de grifo (pH ajustado a 6'4 con HCl 10N antes de so- meter a autoclave)	

Cuatro fermentadores se inocularon con un 10% de
un cultivo de setenta y dos horas de edad de Aspergillus
20 sclerotiorum (SWRI A₂₄) incubado a 26°C en 100 ml. de dicho
medio estéril de dextrosa de soja contenido en matraces de
500 ml. Estos matraces fueron aireados sobre un agitador
que giraba a 260 r.p.m. Los fermentadores inoculados fueron
agitados a 450 r.p.m. y aireados a un nivel de 4 litros de
25 aire por minuto y a una temperatura de 31°C durante cuaren-
ta y ocho horas. Al cabo de este tiempo se añadieron a cada
fermentador 3 g. de clorhidrato de 1-(2-dietilaminoetilami-
no)-4-metiltioxanten-9-ona disueltos en 200 ml. de agua ti-
bia estéril. A medida que se requería, era añadido automáti-
30 camente un agente anti-espuma, por ejemplo UCON-LB 625



(Union Carbide Chemicals). Se tomaron y se ensayaron periódicamente partes alícuotas de los tanques, transfiriendo una porción del extracto seco a un plato de capa delgada de gel de sílice, utilizando acetato de etilo con 1% de hidróxido de amonio como disolvente de desarrollo; en otros experimentos se utilizó trietilamina al 10% en lugar del hidróxido de amonio. Cuando la cromatografía reveló que todo o casi todo el material de partida había desaparecido, fueron terminadas las fermentaciones. El caldo total de fermentación fué acidulado con ácido clorhídrico y extraído dos veces con porciones de 20 litros de diclorometano. La concentración de los extractos bajo presión reducida y la cromatografía subsiguiente sobre columna de gel de sílice (4 x 28 cm.), usando cantidades crecientes de acetato de etilo en n-hexano seguidas de cantidades crecientes de metanol en acetato de etilo, produjo, en forma de microcristales amarillo-naranja, 0'8 g. de clorhidrato de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanteno-9-ona, p.f. 173'0-176'0 °C (corr) con descomposición.

Análisis Calculado para $C_{20}H_{24}N_2O_2S \cdot HCl$: C, 61'13;
H, 6'41; N, 7'13

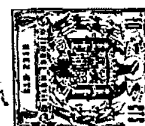
Encontrado: C, 60'97; H, 6'43; N, 7'16

El espectro de resonancia magnética nuclear (NMR) del producto de 4-hidroximetilo de arriba (en forma de base libre) mostró ser carente de la señal de metilo ($\delta_{CDCl_3} = 2'75$, con referencia exterior de tetrametilsilano como $\delta_{CDCl_3} = 0$) presente en el precursor de 4-metilo (en forma de base libre) mientras que una nueva señal ($\delta_{CDCl_3} = 5'10$) manifestó la presencia de los dos protones de metileno del grupo 4-hidroximetilo. Cuando se comparó su espectro infra-



rrojo (IR) con el del producto intermedio de 4-metilo mostró un crecimiento de intensidad de la banda en la región OH/NH próxima a 3μ , que confirmaba la introducción de un grupo OH. Su espectro ultravioleta (UV) (en etanol de 95%) mostró bandas de absorción similares a las del correspondiente compuesto de 4-metilo, mostrando la presencia del mismo núcleo aromático en los dos compuestos.

En otro experimento siguiendo el anterior procedimiento fueron aislados ambos compuestos, de 4-hidroximetilo y de 4-formilo. Como antes, se utilizaron cuatro tanques de 10 litros. se añadieron a cada tanque cinco g. de clorhidrato de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metiltioxanten-9-ona y veinticuatro horas más tarde fueron combinados los licores de fermentación de los tanques y extraídos con dos porciones de 80 litros de dicloruro de metileno, pero omitiendo la acidulación del caldo total de fermentación. Los extractos combinados fueron concentrados bajo presión reducida; se añadieron 500 ml. de metanol y se filtró la mezcla; y el filtrado fué concentrado bajo presión reducida para separar el disolvente. El concentrado fué mezclado con 125 g. de gel de sílice y secado por aire. Unos 300 ml. de n-hexano fueron completamente mezclados con este material., se separó el n-hexano por decantación y se secó por aire el material. El material fué colocado en una columna de 1100 g. de gel de sílice (7 x 38 cm.) y desarrollado con un eluyente que constaba de 40% de acetato de etilo, 57'5% de n-hexano y 2'5% de trietilamina; se recogieron fracciones de 500 ml. Las fracciones 11-23 contenían algo del compuesto de 4-metilo de partida y el compuesto de 4-formilo (indicado por T.L.C.), y fueron combinados para purificación en otra co-



lumna de 300 g. de gel de sílice (3'5 x 44 cm.). Esta columna
fué desarrollada con un eluyente de 60% de acetato de etilo,
37'5% de n-hexano y 2'5% de trietilamina, recogándose frac-
ciones de 500 ml. Las fracciones 3-7, que contenían el com-
5 puesto de 4-formilo, fueron combinadas y llevadas a sequedad,
y el sólido que quedó fué recristalizado a partir de n-hexa-
no-acetato de etilo, para dar 1'18 g. de 1-(2-dietilamino-
etilamino)tioxanten-9-ona-4-carboxaldehído, p.f. 119'4-120'6°C.
(corr.)

10 Análisis. Calculado para $C_{20}H_{22}N_2O_2S$: C, 67'77;
H, 6'26; N, 7'90; S, 9'05
Encontrado: C, 67'46; H, 6'40; N, 7'74;
S, 8'62

El espectro de resonancia magnética nuclear (NMR)
15 del producto de 4-formilo de arriba mostró estar carente de
la señal de metilo ($\int_{ppm}^{CDCl_3} = 2'75$ con referencia exterior
de tetrametilsilano como $\int_{ppm}^{CDCl_3} = 0$) presente en el precur-
sor de 4-metilo, mientras que una nueva señal ($\int_{ppm}^{CDCl_3} = 11'1$)
manifestó la presencia del protón unido al grupo 4-carbonilo.
20 Su espectro (KBr) infrarrojo (IR), cuando se comparó con el
del producto intermedio de 4-metilo, mostró una nueva banda
próxima a 6μ que es característica de la frecuencia de $C=O$.

Las fracciones 36-79 de la columna original fueron
combinadas y colocadas en una columna de gel de sílice de
25 1000 g. (7 x 36 cm.) para purificación cromatográfica. El
eluyente utilizado constaba de 40% de acetato de etilo,
57'5% de n-hexano y 2'5% de trietilamina; se recogieron frac-
ciones de un litro. Después de que se hubo obtenido un T.L.C.
en cada fracción, las fracciones 5-21 fueron combinadas y eva-
30 poradas hasta cerca de sequedad. Fué añadido n-hexano y el só



Ejemplo 2

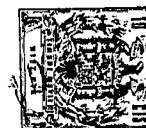
Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo I con la modificación indicada abajo, fué convertido 4-metil-1- $\bar{2}$ -(2-metilpiperidino)-etilamino $\bar{7}$ tioxanten-9-ona (18 g. en forma de su clorhidrato) en sus correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo. Con el fin de obtener una cantidad suficiente del compuesto de 4-hidroximetilo para evaluación biológica, se realizaron tres fermentaciones de 10 litros a niveles de substrato de 0'6 g. por litro. Un total de 3 g. del compuesto de 4-hidroximetilo obtenido a partir de los extractos concentrados fué cromatografiado sobre columna de gel de sílice (4'5 x 48 cm.), usando como eluyente 70% de acetato de etilo, 29'5% de hexano y 0'5% de hidróxido de amonio, y recogién dose fracciones de 400 ml. Las fracciones 36-50 fueron combinadas y llevadas a sequedad. El sólido resultante fué lavado en agua destilada y extraído con dicloruro de metileno; y el extracto fué filtrado y evaporado hasta sequedad, produciendo 0'63 g. de 4-hidroximetil-1- $\bar{2}$ -(2-metilpiperidino)-etilamino $\bar{7}$ tioxanteno-9-ona, p.f. 121'8-125'0 °C (corr).

Análisis. Calculado, para $C_{22}H_{26}N_2O_2S$: C, 69'08;
H, 6'85; N, 7'33.

Encontrado: C, 69'25; H, 6'92; N, 7'21.

Como en el Ejemplo 1, la estructura de este compuesto fué confirmada por sus análisis espectrales NMR, IR y UV, manifestando su señal NMR de $\int_{ppm}^{CDCl_3} = 5'18$ la presencia de los dos protones de metileno del grupo 4-hidroximetilo. Carecía también de la señal de metilo ($\int_{ppm}^{CDCl_3} = 2'67$) del producto intermedio de 4-metilo.

3-3758



Las fracciones 10-28 de la oxidación fermentativa anterior fueron combinadas y llevadas a sequedad; el sólido fué lavado con agua destilada y extraído con dicloruro de metileno; y el extracto fué filtrado y evaporado hasta sequedad, produciendo aproximadamente 0'16 g. de 1-(2-(2-metil-piperidino)-etilamino)-tioxanteno-9-ona-4-carboxaldehído, p.f. 131-134°C. Como en el Ejemplo 1, sus espectros NMR e IR confirmaron la estructura asignada, manifestando su señal NMR de $\int_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3} = 10'25$ la presencia del único protón del sustituyente 4-CHO.

Ejemplo 3

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 2, fué convertido 4-metil-1-(2-piperidinoetilamino)tioxanteno-9-ona (en forma de su clorhidrato, 6'0 g.) en 4-hidroximetil-1-(2-piperidinoetilamino)tioxanteno-9-ona (1'16 g.), p.f. 143'5-146'0 °C (corr.) y 1-(2-piperidinoetilamino)tioxanteno-9-ona-4-carboxaldehído (98 mg.), p.f. 140°C (recristalizado a partir de acetato de etilo). Los espectros IR y NMR de estos compuestos confirmaron sus estructuras, careciendo ambos espectros NMR de la señal de 4-metilo ($\int_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3} = 2'72$) del precursor de 4-metilo, y conteniendo, respectivamente, nuevas señales de $\int_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3} = 5'18$ (para los dos protones de metileno del grupo CH_2OH) y $\int_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3} = 10'28$ (para el protón de formilo). El compuesto de 4-hidroximetilo fué sometido a análisis.

Análisis Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$: C, 68'45;
H, 6'57; N, 7'60.

Encontrado: C, 68'66; H, 6'68; N, 7'20.

303758



Ejemplo 4

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 6-cloro-1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metil
5 tioxanten-9-ona (4 g. en forma de su clorhidrato) en 6-cloro-
1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona y
6-cloro-1-(2-dietilaminoetilamino)tioxanten-9-ona-4-carboxal
dehído. Se aislaron 0'40 g. del compuesto de 4-hidroximetilo,
p.f. 114'8-116'8 °C (corr.).

10 Análisis. Calculado para $C_{20}H_{23}ClN_2O_2S$: C, 61'45;
H, 5'93; N, 7'17.

Encontrado: C, 61'29; H, 5'90; N, 6'79

Sus análisis espectrales IR, NMR y UV confirmaron
su estructura, teniendo su espectro NMR una señal de $\int_{ppm}^{CDCl_3} =$
15 = 5'10 (para los dos protones de metileno del grupo CH_2OH).

Ejemplo 5

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metilxanten-
20 9-ona en sus correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo
y 4-formilo. Se utilizó un fermentador de 10 litros. Se añaa-
dieron al fermentador cuatro gramos del compuesto de 4-meti-
lo en forma de su clorhidrato y se terminó la fermentación
veinticuatro horas más tarde. El caldo fué extraído con di-
25 cloruro de metileno, el extracto fué concentrado para sepa-
rar el disolvente, el concentrado (200 ml. aproximadamente)
fué añadido a 50 g. de gel de sílice y la mezcla fué coloca-
da sobre una columna de 300 g. de gel de sílice (3'5 x 44 cm.).
La columna fué desarrollada con éter etílico que contenía 2%
30 de trietilamina y 1% de metanol, recogién dose fracciones de



200 ml. Al examinar por T.L.C. se encontró que las fracciones 4-7 contenían el compuesto de 4-formilo y se encontró que las fracciones 8-20 contenían el derivado de 4-hidroximetilo. Las fracciones 8-20 fueron combinadas, concentradas en vacío y el sólido que quedó fué recristalizado a partir de acetato de etilo, para producir 1'41 g. de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetilxanten-9-ona, p.f. 131'0-132'8°C. (corr.).

Análisis Calculado para: $C_{20}H_{24}N_2O_3$: C, 70'56; H, 7'10; N, 8'23.

10 Encontrado: C, 70'72; H, 7'21; N, 8'22.

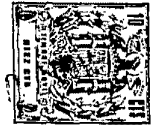
Su estructura fué confirmada por sus análisis espectrales NMR, IR y UV, teniendo una señal NMR de $\int_{ppm}^{CDCl_3} = 5'2$ (para los dos protones de metileno del grupo CH_2OH).

15 Ejemplo 6

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 6-cloro-4-metil-1- $\bar{\angle}$ 2-(2-metilpiperidino)etilamino $\bar{\angle}$ -tioxanten-9-ona (2'2 g. en forma de su clorhidrato) en los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo. Se aislaron 0'26 g. de 6-cloro-4-hidroximetil-1- $\bar{\angle}$ 2-(2-metilpiperidino)etilamino $\bar{\angle}$ tioxanten-9-ona, p.f. 141-145°C. Sus datos espectrales NMR, IR y UV confirmaron su estructura, teniendo una señal NMR de $\int_{ppm}^{CDCl_3} = 5'11$ (para los dos protones de metileno del grupo CH_2OH).

25 Ejemplo 7

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 10,10-dióxido de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metiltioxanten-9-ona (1'5 g. en forma de su clorhidrato) en los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y



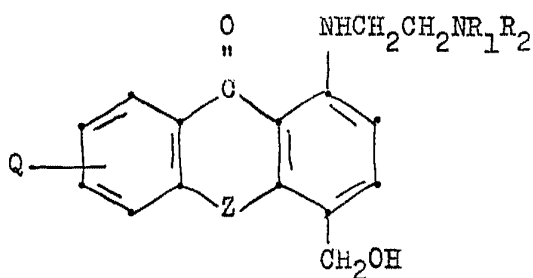
4-formilo. Se aislaron 0'37 g. de 10,10-dióxido de 1-(2-dietil-
aminoetilamino)-4-hidroxi metiltioxanten-9-ona, p.f. 124-125'5e
C. Sus datos espectrales NMR, IR y UV confirmaron su estructu-
ra, teniendo una señal NMR de $\int_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3} = 5'5$ (para los dos pro-
5 tones de metileno del grupo CH_2OH).

Siguiendo el procedimiento de selección descrito
arriba utilizando Aspergillus sclerotiorum (SWRI A₂₄), las
4-hidroxi metiltioxanten-9-onas y 4-hidroxi metilxanten-9-onas
de la Tabla B, así como los correspondientes compuestos de
10 4-formilo, fueron preparados a partir de las correspondientes
4-metiltioxanten-9-onas y 4-metilxanten-9-onas, usadas en for-
ma de sus clorhidratos.

303758



Tabla B



10

Ejemplo	Q	Z	$\frac{NR_1R_2}{N}$
8	6-Cl	S	$\begin{matrix} C_2H_5 \\ N \backslash \\ CH_2CH_2OH \end{matrix}$
9	H	SO	$N(C_2H_5)_2$
10	7-Br	O	$N(C_2H_5)_2$
11	H	O	$NC_5H_{10}^a$
12	H	S	$\begin{matrix} H \\ N \backslash \\ CH_2C(CH_3)_2OH \end{matrix}$
13	H	O	$NC_6H_{12}^b$
15 14	6-Cl	S	$\begin{matrix} C_2H_5 \\ N \backslash \\ CH_2C(CH_3)_2OH \end{matrix}$

a) NC_5H_{10} = piperidino

b) NC_6H_{12} = 2-metilpiperidino

20

Siguiendo el procedimiento descrito en los Ejemplos 1, 2 y 5 utilizando el apropiado 1-($R_1R_2N-Y-NR_3$)-4-metiltioxaneno o -4-metilxanteno, pueden ser preparados los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo de la Tabla C, así como los correspondientes derivados de 4-carboxaldehido.

25

303758

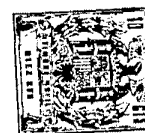
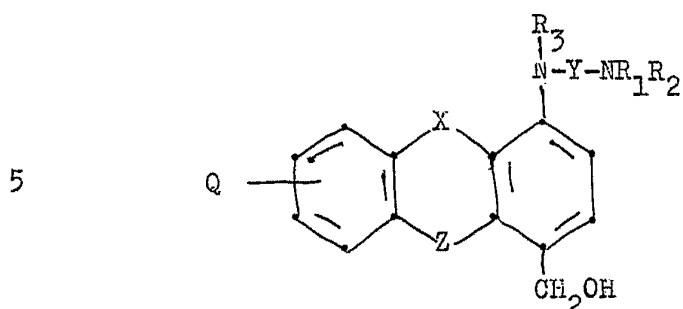


Tabla C



	<u>Ejemplo</u>	<u>X</u>	<u>Z</u>	<u>R₃</u>	<u>Y</u>	<u>NR₁R₂</u>	<u>Q</u>
	15	CHOH	S	H	CH ₂ CH ₂	n(C ₂ H ₅) ₂	H
10	16	CH ₂	S	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
	17	C=O	SO	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
	18	CH ₂	SO ₂	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
	19	C=O	O	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) CH ₂ CH ₂ OH	H
15	20	CHOH	O	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
	21	CH ₂	O	H	CH ₂ CH ₂	n(C ₂ H ₅) ₂	H
	22	C=O	O	H	(CH ₂) ₃	nC ₅ H ₁₀ ^a	6-Cl
	23	C=O	O	H	(CH ₂) ₄	nC ₄ H ₈ ^b	7-CH ₃
	24	C=O	O	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₄ H ₉ -n) ₂	8-OCH ₃
20	25	C=O	O	H	CH(CH ₃)CH ₂	N(CH ₃) ₂	5-Cl
	26	C=O	S	CH ₃	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
	27	C=O	S	H	CH ₂ CH(CH ₃)	N(CH ₃) ₂	H
	28	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	nC ₄ H ₈ ^b	H
	29	C=O	S	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₄	n(C ₂ H ₅) ₂	5-CH ₃
25	30	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₆ H ₁₃ -n) ₂	7-Cl
	31	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	nC ₄ H ₈ ^c	7-Br
	32	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	nC ₆ H ₁₂ ^d	7-OC ₂ H ₅
	33	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	nC ₆ H ₁₂ ^e	8-CH ₃
	34	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	nC ₇ H ₁₄ ^f	6,7-(OCH ₃) ₂
30	35	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	5,6,7-(CH ₃) ₃

3-3758



<u>Ejemplo</u>	<u>X</u>	<u>Z</u>	<u>R₃</u>	<u>Y</u>	<u>NR₁R₂</u>	<u>Q</u>
36	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	NHC ₂ H ₅	H
37	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	NHCH ₂ CH ₂ OH	H
5 38	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N ^{C₂H₅} CH ₂ CH ₂ OH	H
39	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N ^{C₂H₅} CH ₂ C(CH ₃) ₂ OH	H
40	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N(CH ₃) ₂	H
41	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₄ H ₉ -n)	H
10 42	C=O	O	H	CH ₂ CH ₂	n(CH ₃) ₂	H
43	C=O	O	H	CH ₂ CH ₂	N(C ₄ H ₉ -n)	H
44	C=O	O	CH ₃	CH ₂ CH ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	H
45	C=O	S	H	CH ₂ CH ₂	N(CH ₂ CH ₂ OH) ₂	H
46	C=O	S	H	(CH ₂) ₃	N(C ₂ H ₅) ₂	H

15

a) NC₅H₁₀ = piperidino.

b) NC₄H₈ = pirrolidino.

c) NC₄H₈O = morfolino.

d) NC₆H₁₂ = hexametilenoimino.

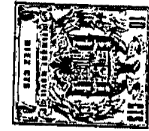
20 e) NC₆H₁₂ = 2,5-dimetilpirrolidino.

f) NC₇H₁₄ = 2,6-dimetilpiperidino.

Ejemplo 47

25 Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 4-metil-1- $\bar{\text{L}}$ -2-(2-metilpiperidino)etilamino $\bar{\text{X}}$ xanten-9-ona (5 g. en forma de su clorhidrato) en 4-hidroximetil-1- $\bar{\text{L}}$ -2-(2-metilpiperidino)etilamino $\bar{\text{X}}$ xanten-9-ona y 1- $\bar{\text{L}}$ -2-(2-metilpiperidino)etilamino $\bar{\text{X}}$ xanten-9-ona-4-carboxal

30 dehido. Se aislaron 2'18 g. del compuesto de 4-hidroximeti-



lo, p.f. 134'0-136'2°C. (corr.).

Análisis Calculado para $C_{22}H_{26}N_2O_3$: C, 72'11; H,
7'15; N, 7'65.

Encontrado: C, 72'02; H, 7'32; N, 7'61.

5 Los análisis espectrales RMN, IR y UV confirmaron su estructura.

El producto intermedio 4-metil-1- $\bar{2}$ -(2-metilpiperidino)-etilamino \bar{x} anten-9-ona fué preparado como sigue: Una mezcla que contenía 6'2 g. de 1-cloro-4-metilxanten-9-ona,
10 12 g. de 2-(2-metilpiperidino)-etilamina y 12 ml. de piridina fué sometida a reflujo durante dieciocho horas y el disolvente fué destilado bajo presión reducida. El residuo fué tratado con ácido acético diluído y la mezcla fué filtrada. El filtrado fué hecho alcalino con disolución acuosa de hidróxido de sodio al 35%, y fué cristalizado lentamente. La
15 mezcla fué extraída con cloroformo, y el extracto secado sobre sulfato de magnesio anhidro. El cloroformo fué destilado, el aceite que quedó fué disuelto en 50 ml. de etanol absoluto, la disolución resultante tratada con 3'7 ml. de cloruro de hidrógeno etanólico 7'1 N y colocada en un refrigerador. fué re-
20 cogido el precipitado resultante, lavado con etanol absoluto y secado durante cuatro horas a 80°C en vacío (20 mm.) para producir 6'2 g. de clorhidrato de 4-metil-1- $\bar{2}$ -(2-metilpiperidino)etilamino \bar{x} anten-9-ona, p.f. 229'0-232'0 °C. (corr.).

25 Análisis Calculado para $C_{22}H_{26}N_2O_2 \cdot HCl$: Cl, 9'16;
N, 7'24.

Encontrado: Cl, 8'98; N, 7'40.

Ejemplo 48

30 Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo



1, fué convertido 6-cloro-1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metil-
xanten-9-ona (3 g. en forma del clorhidrato) en los correspon-
dientes compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo. Después de
tres recristalizaciones a partir de acetato de etilo- n-hexa-
5 no, se obtuvieron 0'350, g. de 6-cloro-1-(2-dietilaminoetil -
amino)-4-hidroximetilxanten-9-ona, p.f. 130'0-132'8°C. (corr.).

Análisis Calculado para $C_{20}H_{23}ClN_2O_3$: C, 64'08; H,
6'18; Cl, 9'46,

Encontrado: C, 64'01; H, 6'40; Cl, 9'49.

10

Ejemplo 49

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1,
fué convertido 1-(2-etilaminoetilamino)-4-metiltioxanten-9-ona
(10 g. en forma de su clorhidrato) en los correspondientes com-
15 puestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo. Después de una recris-
talización a partir de acetato de etilo, se obtuvieron 0'91 g.
de 1-(2-etilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona,
p.f. 150'0-151'6°C. (corr.) con descomposición.

Análisis Calculado para $C_{18}H_{20}N_2O_2S$: C, 65'83; H,
6'14; S, 9'72.

20

Encontrado: C, 65'89; H, 6'05; S, 9'62.

Ejemplo 50

Fué preparado 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroxime-
25 tiltioxanten-9-ol en dos operaciones a partir de 1-(2-dietil-
aminoetilamino)-tioxanten-9-ona-4-carboxaldehído como sigue:
1 g. de 1-(2-dietilaminoetilamino)tioxanten-9-ona-4-carboxal-
dehído fué disuelto en 175 ml. de metanol anhidro tibio bajo
una atmósfera de nitrógeno. Se añadieron a la disolución 0'2
30 g. de borohidruro de sodio, después de lo cual comenzó la evo



lución de hidrógeno gaseoso inmediatamente y el color de la disolución cambió de amarillo a naranja. Cinco minutos después fué tomada una muestra y, al examinar por T.L.C., se determinó que la reducción había tenido lugar, para producir

5 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona.

Después de una hora adicional, no tuvo lugar ninguna reacción posterior. A la mezcla de reacción se añadieron después 0'4 g. de borohidruro de sodio; sin embargo, no ocurrió ningún cambio más como se determinó por examen por T.L.C. Lo mismo

10 ocurrió después de que fué añadida una cantidad adicional de 0'4 g. de borohidruro de sodio, y calentada la mezcla de reacción en un baño de vapor durante cinco minutos. Se añadieron después a la mezcla de reacción 2 g. aproximadamente de amalgama de sodio y fué agitada la mezcla durante cinco ho-

15 ras. A la mezcla de reacción se añadieron 200 ml. de agua de hielo y el precipitado gomoso que se separó fué recogido y disuelto en dicloruro de metileno. La disolución fué lavada con agua, el dicloruro de metileno evaporado, y el residuo recogido en acetato de etilo. Cuando no se obtuvo ningún pro-

20 ducto de la disolución de acetato de etilo, las anteriores aguas madres acuoso fué colocado en un refrigerador durante toda la noche, después de lo cual se separó un sólido blanco. El sólido fué recogido, lavado con agua y recristalizado a partir de acetato de etilo para producir 0'289 g. del pro-

25 ducto, 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ol, p.f. 132'0-133'0 °C. (corr.) con descomposición.

Análisis Calculado para $C_{20}H_{26}N_2O_2S$: N, 7'81; S, 8'94

Encontrado: N, 7'89; S, 9'03.

Ejemplo 51

3758



ximetiltioxanten-9-ona para producir su correspondiente 10-
óxido fué realizada como sigue: A una disolución que conte-
nía 6 g. de 1-(2-dietilaminoetil-amino)-4-hidroximetiltioxan
ten-9-ona en una cantidad mínima de ácido acético acuoso al
5 5% se añadieron 30 ml. de peróxido de hidrógeno al 30%. La
mezcla de reacción se dejó reposar en una habitación fría
durante todo el fin de semana, y después a temperatura am-
biente durante doce horas; fué hecha básica con hidróxido
de amonio, y extraída tres veces con porciones de 200 ml.
10 de dicloruro de metileno. Los extractos fueron combinados y
llevados hasta sequedad. El residuo fué mezclado con 25 g.
de gel de sílice y colocado en una columna de gel de síli-
ce de 250 g. La columna fué desarrollada con éter más 1%
de trietilamina y cantidades crecientes de metanol desde
15 0'5% hasta 5%. Las últimas fracciones (19-24) eluidas con
5% de metanol, 1% de trietilamina y 94% de éter, fueron com-
binadas y fué separado el disolvente para producir 0'56 g.
del producto, 10-óxido de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hi-
droximetiltioxanten-9-ona, p.f. 119'0-121'0°C. (corr.) con
20 descomposición.

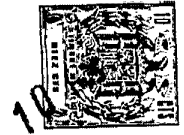
Análisis Calculado para $C_{20}H_{24}N_2O_3S$: C, 64'49; H,
6'49; N, 7'52.

Encontrado: C, 64'54; H, 6'19; N, 7'77.

Su estructura fué confirmada por análisis espectra
25 les RMN, IR y UV.

Ejemplo 52

A una disolución de 10 g. de 1-(2-dietilaminoetil-
amino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona en 25 ml. de dimetilfor
30 mamida se añadieron 5'5 g. de ácido pamoico en 25 ml. de di-



metilformamida. La disolución fué filtrada y el filtrado fué
colocado en un baño de hielo durante dos horas aproximadamen
te. fué recogido el precipitado cristalino y recristalizado
a partir de dimetilformamida para producir 3'0 g. de pamoato
5 de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona,
p.f. 212'5-214'0 °C. (corr.) con descomposición.

Análisis. Calculado para $(C_{20}H_{24}N_2O_2S) \cdot C_{23}H_{16}O_6$:
S, 5'82;

Base, 64'6.

10

Encontrado: S, 5'79;

base, 64'7.

Ejemplo 53

A una disolución de 5 g. de 1-(2-dietilaminoetil-
15 amino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona en 15 ml. de dimetilfor
mamida, fué añadida una disolución que contenía 2'65 g. de
ácido 3-hidroxi-2-naftoico en 15 ml. de dimetilformamida.
La disolución caliente fué filtrada y el filtrado fué colo-
cado en un congelador durante dos horas. El precipitado cris
20 talino amarillo fué recogido y recristalizado a partir de di
metilformamida para producir 5'2 g. de 3-hidroxi-2-naftoato
de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona,
p.f. 220'5-222'0°C. (corr.) con descomposición.

Análisis. Calculado para $C_{20}H_{24}N_2O_2S \cdot C_{11}H_8O_3$: S, 5'89;
25 base, 65'5.

Encontrado: S, 6'06;

Base, 66'2.

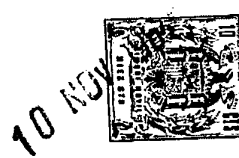
Ejemplo 54

30

A una disolución que contenía 1 g. de 1-(2-dietil-

303758

Ejemplo 56



Una mezcla de 1 g. de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona y 2 ml. de isocianato de fenilo
5 fué calentada para efectuar la disolución. Al enfriar se separó un sólido cristalino. fué añadido n-hexano para separar el isocianato de fenilo en exceso. El sólido fué recogido y recristalizado dos veces a partir de acetona para producir
10 1 g. de carbanilato de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona, p.f. 165'0-165'6°C. (corr.) con descomposición.

Análisis Calculado para $C_{27}H_{29}N_3O_3S$: N, 8'84; S, 6'74;
Encontrado: N, 8'72; S, 6'72.

Ejemplo 57

15

Una tiosemicarbazona de un compuesto de formilo fué preparada como sigue: Una mezcla que contenía 1-(2-dietilaminoetilamino)-9-oxo-4-tioxantenocarboxaldehido, 90 ml. de etanol, 2'7 g. de semitiocarbácida, 90 ml. de agua y 6 ml. de
20 ácido acético, fué calentada a 70°C durante tres horas en un baño de agua, enfriada, neutralizada con hidróxido de amonio y después hecha básica con disolución de hidróxido de sodio acuoso al 10%. El precipitado resultante fué recogido y recristalizado una vez a partir de etanol y una vez a partir
25 de piridina para producir 4'0 g. de tiosemicarbazona de 1-(2-dietilaminoetilamino)-9-oxo-4-tioxantenocarboxaldehido, p.f. 209'2-211'0°C. (corr.) con descomposición.

Análisis Calculado para $C_{21}H_{25}N_5OS_2$: N, 16'38; S, 15'00.
Encontrado: N, 16'12; S, 14'99.

30

Ejemplo 58



Una semicarbazona de uno de nuestros compuestos de 4-formilo fué preparada como sigue: A una disolución que contenía 5 g. de 1-(2-dietilaminoetilamino)9-oxo-tioxanten-4-carboxaldehido en 100 ml. de etanol, fué añadida una disolución que contenía 2'5 g. de clorhidrato de semicarbacida, 3'8 g. de acetato de sodio y 50 ml. de agua. La mezcla de reacción fué calentada en un baño de vapor durante dos horas, filtrada y después dejada enfriar. El filtrado fué hecho básico con disolución acuosa de hidróxido de sodio al 10%. El precipitado resultante fué recogido y cristalizado a partir de dimetilformamida-metanol para producir 4'7 g. de semicarbazona de 1-(2-dietilaminoetilamino)9-oxo-tioxanteno-4-carboxaldehido, p.f. 274'0-275'0°C. (corr.) con descomposición.

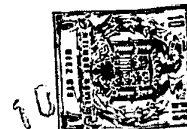
Análisis Calculado para $C_{21}H_{25}N_5O_2S$: N, 17'02; S, 7'79.
Encontrado: N, 17'15; S, 7'93.

Ejemplo 59

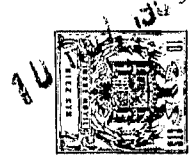
Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, fué convertido 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-metil-5,6,7,8-tetrahidrotioxanten-9-ona (14 g. en forma de su clorhidrato) en los correspondientes compuestos de 4-hidroximetilo y 4-formilo. Después de una recristalización a partir de acetato de etilo, se obtuvieron 2'3 g. de 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetil-5,6,7,8-tetrahidrotioxanten-9-ona, p.f. 125'6-127'2°C. (corr.).

Análisis Calculado para $C_{20}H_{28}N_2O_2S$: N, 7'77; S, 8'90.
Encontrado: N, 7'73; S, 9'23.

Cuando se administraron oralmente los 4-hidroximetil-



tioxantenos y 4-hidroximetilxantenos de nuestra invención a hamsters infectados con Schistosoma mansoni, se encontró que liberaban completamente a los animales de la infección parasítica a niveles de dosis más bajos que los requeridos para los correspondientes compuestos de 4-metilo. Algunos de los compuestos, por ejemplo 1-(2-dietilaminoetilamino-4-hidroximetiltioxanten-9-ona, 1-[2-(2-metilpiperidino)etilamino]-4-hidroximetiltioxanten-9-ona, 1-(2-piperidinoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona, y 6-cloro-1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona, tienen valores ED_{50} por debajo de 10 mg. por kg. y por día, queriendo decir ED_{50} la dosis efectiva necesaria para liberar de la infección al 50% de los hamsters. También se encontró que estos compuestos de 4-hidroximetilo eran menos tóxicos que los correspondientes compuestos de 4-metilo. Esta disminución de toxicidad al ir de los compuestos de 4-metilo a los compuestos de 4-hidroximetilo se ilustra como sigue: Se encontró que el LD_{50} (en ratones) intravenoso (i.v.) del 1-(2-dietilaminoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona era 105 ± 9 mg./kg., comparado con LD_{50} i.v. de 48 ± 3 para el correspondiente compuesto de 4-metilo (sal de HCl); queriendo decir LD_{50} la dosis letal para el 50% de los ratones (10 ratones ensayados a cada uno de tres niveles de dosis); también se encontró que el AID_{50} i.v. (en ratones) del 1-(2-piperidinoetilamino)-4-hidroximetiltioxanten-9-ona era > 100 mg./kg., comparado con un LD_{50} i.v. de 52 ± 5 mg./kg. para el correspondiente compuesto de 4-metilo (sal de HCl), queriendo decir AID_{50} la dosis letal aproximada para el 50% de los ratones (3 ratones ensayados a cada uno de tres niveles de dosis). Como ejemplo ilustrativo de la actividad esquistosomicida de los compuestos de 4-formilo,



cuando se ensayó 1-(2-dietilaminoetilamino)tioxanten-9-ona-4-
 aldehido en hamsters como se ha indicado arriba, se encontró
 que tenía un ED₅₀ aproximadamente igual que el encontrado pa-
 ra su precursor de 4-metilo.

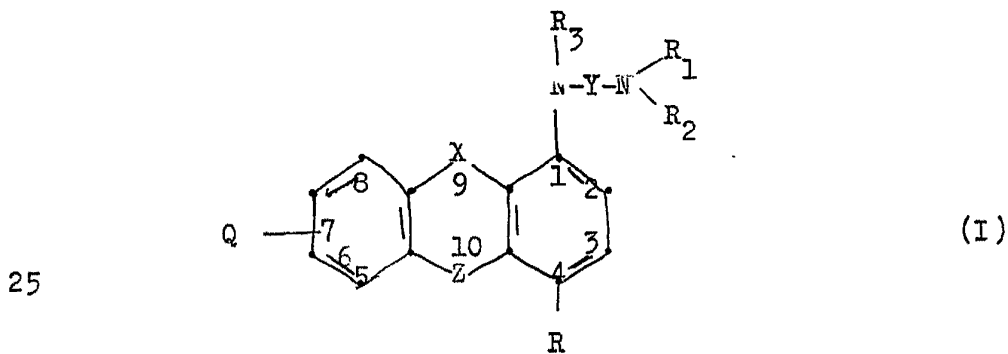
5 La presente solicitud que corresponde a la presen-
 tada en los Estados Unidos de América, con fecha 9 de Septiem-
 bre de 1963, bajo el n° 307.374, se acoge a los beneficios
 del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Indus-
 trial.

10

- N O T A -

15 Los puntos de invención propia y nueva que se pre-
 sentan para que sean objeto de la presente solicitud de Pa-
 tente de Invención en España, por VEINTE años, son los si -
 guientes:

1.- Un procedimiento para producir un compuesto
 20 orgánico de fórmula I



en donde X es >C=O , >CHOH ó >CH_2 , Z es -O- , -S- , >SO
 ó >SO_2 , Q es hidrógeno ó 1 a 3 sustituyentes en posiciones
 5, 6, 7 y 8 del anillo tricyclico seleccionados entre halo, al-
 cohilo inferior o alcoxi inferior, R es $\text{-CH}_2\text{OH}$ (o un éster

30



simple de él) o -CHO (o un derivado caracterizante de él), Y es alcohileno inferior que tiene de 2 a 4 átomos de carbono y que tiene sus dos enlaces de conexión en átomos de carbono diferentes, R_3 es hidrógeno o alcohol inferior, R_1 es hidrógeno, alcohol inferior o 2-hidroxi-alcohol inferior y R_2 es alcohol inferior o 2-hidroxi-alcohol inferior en donde R_1 y R_2 tomados con N son también piperidino, hexametilenoimino, pirrolidino, morfolino, piperacino o un derivado alcoholado inferior de él, o el derivado 5, 6, 7, 8-tetrahidro de él, así como una sal por adición de ácido de él, caracterizado por someter el correspondiente compuesto 4-metilo a la acción enzimática fermentadora de un microorganismo capaz de efectuar la oxidación del grupo 4-metilo a 4-hidroximetilo y a 4-formilo, siendo dicho organismo del orden Moniliales, Mucorales o Sferieles y, si se desea, obtener una sal por adición de ácido de un compuesto básico obtenido.

2.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 1 en el que, en dicha fórmula I, R es hidroximetilo, X es >C=O y Z es -S-, y el microorganismo usado es capaz de efectuar la oxidación del grupo 4-metilo a 4-hidroximetilo.

3.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 1 en el que, en dicha fórmula I, R es hidroximetilo, X es >C=O y Z es -O-, y el microorganismo es capaz de efectuar la oxidación del grupo 4-metilo a 4-hidroximetilo.

4.- Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de los puntos precedentes en el que el microorganismo usado pertenece al género *Aspergillus*.

303758

5.- Un procedimiento de acuerdo con el punto 4 en el que el microorganismo usado es *Aspergillus sclerotiorum*.

6.- Un procedimiento para preparar una composición



farmacéutica particularmente útil para tratar la esquistoso-
miasis caracterizado por mezclar con un vehículo farmacéuti-
co un compuesto de la fórmula I en donde X es $\geq C=O$, $\geq CHOH$
ó $\geq CH_2$, Z es $-O-$, $-S-$, $\geq SO$ ó $\geq SO_2$, Q es hidrógeno ó
5 1 a 3 sustituyentes en posiciones 5,6,7 y 8 del anillo trici-
clíco seleccionado entre halo, alcoholo inferior o alcoxi in-
ferior, R es $-CH_2OH$ (o un éster simple de él) o $-CHO$ (o un de-
rivado caracterizante de él), Y es un alcoholeno inferior que
10 tiene de 2 a 4 átomos de carbono y que tiene sus dos enlaces
de conexión en átomos de carbono diferentes, R_3 es hidrógeno
o alcoholo inferior, R_1 es hidrógeno, alcoholo inferior, ó
2-hidroxi alcoholo inferior y R_2 es alcoholo inferior ó 2-hi-
droxi alcoholo inferior en donde R_1 y R_2 tomados junto con N
son también piperidino, hexametileno imino, pirrolidino, mor-
15 folino, piperacino ó un derivado alcoholado inferior de él, o
un derivado 5,6,7,8-tetrahidro de él o una sal por adición de
ácido de él.

7.- Un procedimiento para producir un compuesto orgánico.

20 Tal y como se ha descrito en la memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

La presente Memoria consta de treinta y cinco hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 10 107. 1964

Arli
303758

PPR. *MM*