

416605

P.- 54.858
PD-1474



Int. Cl: C07D 407/08 // (A61K 31:71)

F.C. - 20-1-76

C08L

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION por VEINTE años

a nombre de PARKE, DAVIS & COMPANY

entidad norteamericana

establecida en Detroit, Michigan 48232, Estados
Unidos de América.

por: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS
DE POLIAMINA".
(Clase Internacional C07c).

416695



El presente invento se refiere a nuevos compuestos químicos. Más particularmente, se refiere a la 5-0-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, a 5-0-(5-amino-5-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, a sus sales de adición de ácido, y a los métodos para la producción de los compuestos anteriores.

En la Patente de EE.UU. N° 3.541.078 existe una descripción de un producto químico que en aquel tiempo se denominóambutirosina (así como sus componentes individualesambutirosina A yambutirosina B). En el momento presente, estas sustancias son denominadas más comúnmentebutirosina (ybutirosina A ybutirosina B los componentes individuales) y esta última terminología es empleada a veces en esta Memoria. En la forma de base libre la butirosina A tiene la estructura química N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-5-0-D-xilofuranosil-2-desoxiestreptamina. En la forma de base libre la butirosina B tiene la estructura química N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-5-0-D-ribofuranosil-2-desoxiestreptamina. La butirosina A y la butirosina B son conocidas tanto en

416695



las formas de bases libres como en las formas de sales de adición de ácido.

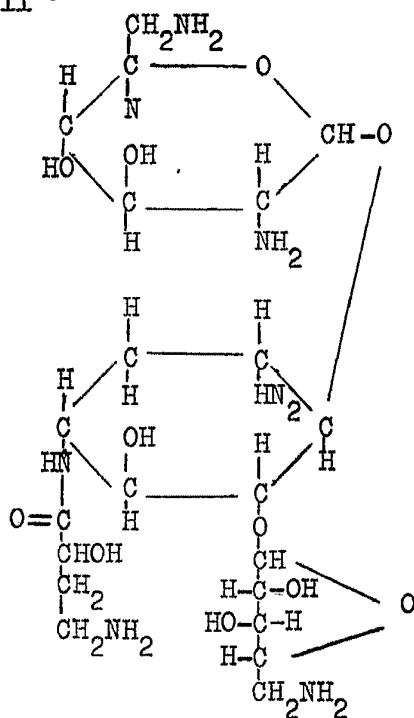
Los productos del presente invento pueden ser denominados mediante la nomenclatura química sistemática dada en el primer párrafo anterior. Alternativamente, también han sido denominados como aminodesoxibutirosina (y aminodesoxibutirosina A y aminodesoxibutirosina B los componentes individuales).

La 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxitiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, también conocida como aminodesoxibutirosina A, en forma de base libre anhidra tiene la fórmula empírica C₂₁H₄₂N₆O₁₁ y la fórmula estructural siguiente:

15

20

25



410695



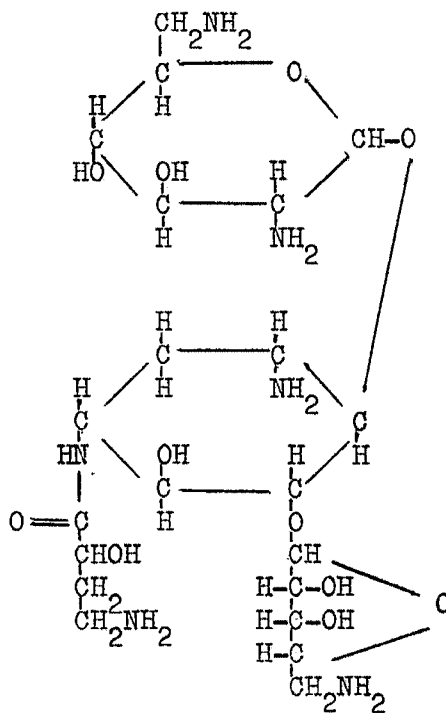
La 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-ribofurano-
 sil)-N¹-(4-amino-2-hidroxitiril)-4-O-(2,6-diamino-
 -2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina,
 también conocida como aminodesoxibutirosina B, en la
 5 forma de base libre anhidra tiene la fórmula empírica
 C₂₁H₄₂N₆O₁₁ y la fórmula estructural siguiente:

10

15

20

25



416695



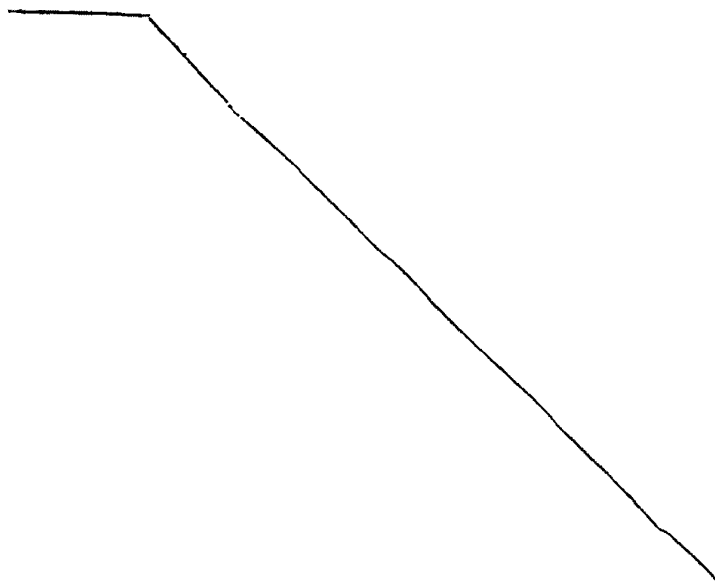
Por lo tanto, la aminodesoxibutiroxina A y la aminodesoxibutirosina B son isómeros que difieren en la configuración en un átomo de carbono en el resto de pentosa.

5 De acuerdo con el invento, la aminodesoxi-
butiroxina puede producirse haciendo reaccionar el de-
rivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoro acetilo) de
la aminodesoxibutirosina con una base en un medio acuo-
so, y aislando el producto en forma de base libre o co-
10 mo sal de adición de ácido. Si el material de partida
es el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroaceti-
lo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-ami-
no-2-hidroxitiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-
-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina que tiene la fó-
15 mula

15

20

25



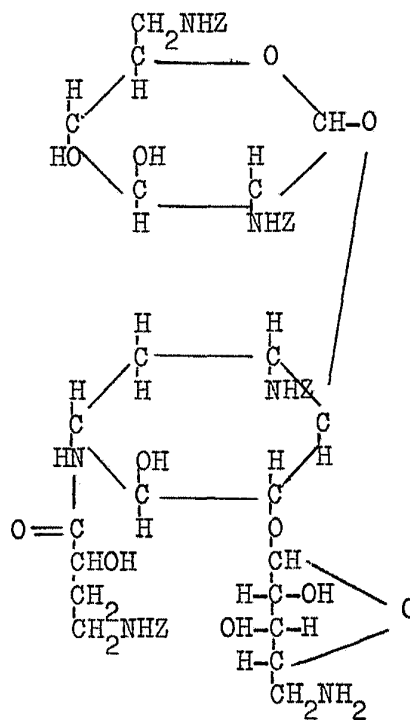
410695



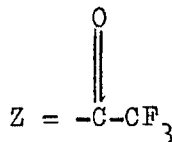
5

10

15



20



25

el producto es la aminodesoxibutirosina A. Si el material de partida es el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxibutiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestrep-tamina que tiene la fórmula

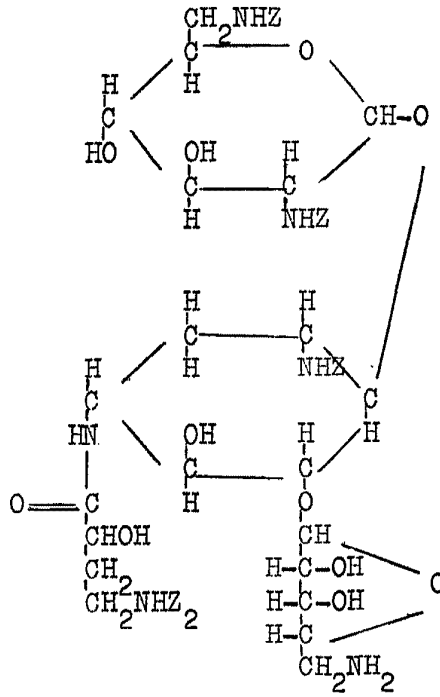
416695



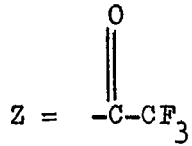
5

10

15



20



25

el producto es la aminodesoxibutirosina B. Si el material de partida es una mezcla de los dos materiales de partida específicos, el producto es una mezcla de aminodesoxibutirosina A y aminodesoxibutirosina B. En cualquier caso, el material de partida puede añadirse

416695



a la mezcla de reacción como tal o puede formarse in situ ; como por ejemplo, mediante hidrogenación del compuesto o compuestos 5-azido correspondiente(s) en presencia de un catalizador de paladio sobre carbono.

5 Algunos ejemplos de bases adecuadas para empleo en la reacción son los hidróxidos de metal alcalino, tales como hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, e hidróxidos de metal alcalino-térreo tales como el hidróxido de bario y el hidróxido de magnesio. Una base pre-

10 ferida es el hidróxido de sodio u otro hidróxido de metal alcalino. Una concentración preferida de base está comprendida entre 0,1 N y 4,0 N. Algunos disolventes adecuados son agua y alcoholes inferiores acuosos. La reacción transcurre fácilmente a temperatura ambiente

15 y por lo tanto el tiempo y temperatura de reacción no son particularmente críticos. En general, la reacción se efectúa a una temperatura comprendida entre aproximadamente 0 y 50°C durante un tiempo comprendido entre 15 minutos y 8 horas, siendo empleados los tiempos

20 de reacción más cortos a las temperaturas más elevadas y con las concentraciones de base más elevadas. Las temperaturas por encima de 50°C son indeseables. Empleando como base, hidróxido de sodio acuoso 0,25 N a 0,75 N, la reacción de hidrólisis es esencialmente

25 completa dentro de 3 horas a temperatura ambiente. El

476695



5 producto se aisla directamente en forma de base libre o, siguiendo el tratamiento con un ácido, en forma de una sal de adición de ácido. Un modo preferido para aislar el producto es verter una solución del producto en forma de base libre en una columna que contiene una resina de intercambio catiónico débilmente ácida en la forma de ácido libre y recuperar el producto en forma de base libre por elución de la columna con amoníaco acuoso.

10 Los materiales de partida requeridos para empleo en el procedimiento anterior pueden prepararse por cualquiera de cierto número de métodos a partir de butirosina, ya sea butirosina A o butirosina B, o una mezcla de butirosina A y butirosina B. De acuerdo con uno de tales métodos, la butirosina se hace reaccionar con trifluoroacetato de etilo y luego con anhídrido trifluoroacético para producir la N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetyl)butirosina. Este último compuesto es convertido en el éster de 5-(p-toluen sulfonato) o el éster de 5-(2,4,6-trimetilbencenosulfonato) por reacción con el cloruro de arilsulfonilo correspondiente, y el éster así producido se hace reaccionar con azida de sodio para reemplazar el grupo éster sulfonato por el grupo azido. La hidrogenación catalítica del grupo azido produce luego el material de

15

20

25

416695



partida empleado en el procedimiento del invento.

Las bases libres del invento forman sales de adición de ácido con cualquiera de entre una amplia variedad de ácidos orgánicos e inorgánicos. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se forman con ácidos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, carbónico, acético, succínico, cítrico, maleico, málico, y pamoico. Las bases libres y sus formas de sales de adición de ácido son interconvertibles mediante ajuste del pH. Dichos compuestos difieren en propiedades de solubilidad pero de otro modo son equivalentes para los fines del invento.

Los compuestos del invento pueden existir en forma anhidra así como también en las formas solvatadas, incluyendo las hidratadas. En general, las formas hidratadas y las formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables son equivalentes a la forma anhidra o no solvatada para los fines del invento.

Los compuestos del invento, en forma de isómeros individuales así como de mezclas, y tanto en las formas de bases libres como en las formas de sales de adición de ácido, son agentes antibacterianos que tienen un amplio espectro de actividad antibacteriana.

416695



5 Como ejemplo, la actividad antibacteriana de un pro-
ducto que contiene una proporción principal (75 % o
más) de aminodesoxibutirosina A y una proporción se-
cundaria (25 % o menos) de aminodesoxibutirosina B
contra microorganismos representativos se da en la
10 tabla siguiente. En esta tabla, la actividad antibac-
teriana in vitro se expresa en términos de la concen-
tración inhibitoria mínima, medida como microgramos
de base libre por ml de medio, contra diversas espe-
cies de bacterias. Los datos citados en la tabla fue-
ron obtenidos empleando las cepas encontradas comunmen-
te de los organismos citados.

	Microorganismo	Concentración inhibitoria mínima
		<u>Microgramos de Base/ml</u>
15	Staphylococcus aureus	0,25
	Staphylococcus aureus	10,0
	Pseudomonas aeruginosa	1,5
	Escherichia coli	2,0
20	Shigella sonnei	> 2,5
	Mycobacterium tuberculosis	5,0

25 Empleando una mezcla similar de aminodeso-
xibutirosina A y aminodesoxibutirosina B, se demostró
un elevado orden de actividad antibacteriana in vivo

416695



5 en la infección aguda experimental en ratones. Los ra
tones fueron administrados con una exigencia de 100
dosis letales medias (100 DL₅₀) de Pseudomonas aeru-
ginosa administradas intraperitonealmente con coadyu
vante de mucina. Al mismo tiempo cada ratón fue admi
nistrado con una dosis única de aminodesoxibutirosi-
na por vía subcutánea. Las dosis fueron administra-
das en cantidades graduadas y el número de animales
muertos y supervivientes fue contado en un período
10 de 7 días. La dosis de aminodesoxibutirosina reque-
rida para proteger al 50% de los animales de la in-
fección fatal (DF₅₀) fue determinada como 19 mg/kg.
La correspondiente DF₅₀ para la butirosina era 45
mg/kg. Por lo tanto, los compuestos del invento son
15 valiosos por su actividad antibacteriana generalmen-
te y su actividad contra Pseudomonas aeruginosa en
particular. Dichos compuestos pueden ser administra-
dos ya sea oralmente, parenteralmente o bien tópicamente.

20 Debido a su amplio espectro antibacte-
riano, los compuestos del invento son también útiles
como agentes antibacterianos en aplicaciones in vitro
tales como la esterilización de instrumentos y super-
ficies de laboratorio, esterilización de productos far-
25 macéuticos, y mantienen las condiciones estériles du-

410695



rante las operaciones de fabricación de la industria farmacéutica. Para la esterilización de instrumentos y superficies de laboratorio y aplicaciones similares in vitro, los compuestos pueden emplearse en forma de una solución acuosa al 0,1-1,0%.

5

El invento se ilustra por el siguiente ejemplo.

Ejemplo:

Un material de partida adecuado es una mezcla que contiene una proporción principal (75% o más) del derivado N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-5-O-(5-azido-5-desoxi-D-xilofuranosil)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina y una proporción secundaria (25% o menos) del derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-5-O-(5-azido-5-desoxi-D-ribofuranosil)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina. Una mezcla de 2 g de este material de partida, 100 ml de metanol, 25 ml de agua y 200 mg de un catalizador de paladio sobre carbono al 20% se agita mientras se burbujea gas hidrógeno a través de la misma durante un período de 2 horas. La mezcla se filtra para separar el catalizador y el filtrado se evapora a presión reducida para dar un producto que consiste en

15

20

25

416695



una proporción principal (75% o más) del derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-
5 xibutiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina y una proporción secundaria (25% o menos) del derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-
10 xibutiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina. Este producto crudo se diluye hasta un volumen de 36 ml con agua y 6 ml de hidróxido de sodio acuoso 2 N, y se mantiene a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución resultante se vierte en una columna rellena con 30 ml de una resina de intercambio catiónico débilmente ácida en la forma de ácido libre. Puede emplearse una resina tal como la Amberlite IRC-50. La columna se lava con agua y el producto se separa luego
15 de la columna por elución con 200 ml de amoníaco acuoso 2 N. El eluato se evapora a presión reducida hasta un volumen pequeño de solución que luego se liofiliza para dar el producto en forma de un residuo sólido. Este producto consiste en una proporción principal (75% o más) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-
20 xibutiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina y una pro
25

416695



porción secundaria (25% o menos) de 5-O-(5-amino-5-
-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-buti-
ril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-
-2-desoxiestreptamina. La rotación específica es $[\alpha]_D^{25}$
5 (0,96% en agua) = + 25,7°. La cromatografía en capa
delgada sobre el gel de sílice empleando metanol-amoni-
co acuoso 2 N 1:1 muestra una mancha única por pulveri-
zación con ninhidrina; R_F aproximadamente 0,06.

El producto, tal como se ha obtenido an-
10 teriormente en la forma de base libre, tiene la fórmu-
la empírica C₂₁H₄₂N₆O₁₁. Reacciona fácilmente con dióxido
de carbono por exposición al aire para formar la sal
del ácido dicarbónico, C₂₁H₄₂N₆O₁₁.2H₂CO₃. La sal del
ácido dicarbónico revierte en la forma de base libre
15 por calentamiento a 170°C. Una solución de 2,0 g de la
base libre en 100 ml de agua se valora con ácido sulfu-
rico 2 N a un pH de 6,5 y se liofiliza para dar un re-
siduo de la sal bisulfato, trihidratada; la rotación es-
pecífica es $[\alpha]_D^{24}$ (1% en agua) = + 23,8°. El secado
20 de este producto a 100°C a presión reducida da la sal
disulfato anhidra, C₂₁H₄₂N₆O₁₁.2H₂SO₄.

La base libre como se ha obtenido anterior-
mente, puede también ser identificada por conversión en
el derivado de N,N',N'',N''',N''''-penta(trifluoroaceti-
25 lo). Para este fin se añaden 2,0 ml de tiotrifluoroace-

4 16695



tato de S-etilo a una solución de 100 mg de la base libre anterior en 2 ml de metanol. La solución se mantiene a temperatura ambiente durante 16 horas y luego se evapora bajo presión reducida. El residuo
5 se disuelve en 100 ml de acetonitrilo y se añade 1 g de carbonato de calcio en polvo. Con refrigeración externa, la mezcla resultante se agita a 0-5°C y se añaden gota a gota 0,6 ml de anhídrido trifluoroacético. La mezcla se agita durante 3 horas a 0-5°C, se
10 mantiene durante dos días a 0°C, y se filtra. El filtrado se evapora bajo presión reducida y el residuo se disuelve en 8 ml de metanol y 2 ml de agua. La solución se agita a 0-5°C y se añade hidróxido de calcio hasta que se mantiene un pH de 5. La mezcla se
15 evapora a presión reducida y el residuo se disuelve en 12 ml de acetato de etilo. La solución de acetato de etilo se lava tres veces con porciones de 1 ml de agua, se seca y se evapora para dar un residuo de derivado de N,N',N'',N''',N''''-penta(trifluoroacetilo).
20 El espectro de absorción infrarroja muestra máximos característicos a 1710, 1660 y 1560 cm^{-1} . Por cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice empleando benceno-metanol 4:1, se revela una única mancha por pulverización con fosfomolibdato; R_f aproximadamente
25 0,23. El derivado de N,N',N'',N''',N''''-penta(trifluo

416695



roacetilo) puede purificarse adicionalmente disolviéndolo en acetato de etilo y reprecipitándolo con éter.

Mediante los procedimientos del primer párrafo de este ejemplo, pero empleando como material de partida el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de la N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-5-O-(5-azido-5-desoxi-D-xilofuranosil)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, el producto preparado por hidrogenación es el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina. Este producto se convierte en la 5-O-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina por reacción con hidróxido de sodio acuoso de la manera descrita.

Mediante los procedimientos del primer párrafo de este ejemplo, pero empleando como material de partida el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-5-O-(5-azido-5-desoxi-D-ribofuranosil)-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, el producto preparado por hidrogenación es el derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de 5-O-(5-amino-5-desoxi-



16695

5 -D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-4-O-
-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-deso-
xiestreptamina. Este se convierte en 5-O-(5-amino-5-
-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-
-4-O-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-deso
xiestreptamina por reacción con hidróxido de sodio acu-
so de la manera descrita.

10 Cada una de las bases libres de poliamina
anterior es convertida en la sal clorhidrato, sulfato,
fosfato, maleato y citrato por reacción con, respectiva-
mente, cloruro de hidrógeno, ácido sulfúrico, ácido fos-
fórico, ácido maleico y ácido cítrico.

Materiales de Partida

15 Por conveniencia y claridad, los diver-
sos productos químicos intermedios denominados en esta
sección se identifican mediante la terminología "butiro-
xina", tal como se ha explicado en lo que antecede. Tal
como se emplea en esta sección, el término "butirosina"
20 se refiere ya sea a butirosina A, butirosina B, o una
mezcla de butirosina A y butirosina B. Las constantes
físicas específicas dadas son para los derivados que
corresponde a una proporción principal (75% o más) de
butirosina A y una proporción secundaria (25% o menos
25 de butirosina B.)

416695



Una solución de 8,83 g de butirosina en 100 ml de metanol y 40 ml de trifluoroacetato de etilo se calienta a reflujo durante 3 horas y se evapora bajo presión reducida. El residuo crudo (14,5 g) se disuelve en 200 ml de acetonitrilo y se añaden 33 g de carbonato de calcio en polvo. La mezcla resultante se agita a 0-5°C mientras que se añaden gota a gota en un período de 90 minutos 22 ml de anhídrido trifluoroacético. La mezcla se agita durante 30 minutos adicionales a 0-5°C y luego durante tres horas a temperatura ambiente. Se filtra y el filtrado se evapora bajo presión reducida. El residuo siruposo se disuelve en 100 ml de metanol y 25 ml de agua y la solución se agita a 0-5°C mientras que se añade hidróxido de calcio en porciones hasta que se mantiene un pH de 5-6. La mezcla se evapora a continuación bajo presión reducida y el residuo se reparte entre 300 ml de acetato de etilo y 25 ml de agua. La fase orgánica se separa, se lava tres veces con porciones de 30 ml de agua, se seca y se evapora para dar un residuo de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)butirosina. El espectro de absorción infrarroja muestra los máximos característicos a 1710, 1660, y 1560 cm^{-1} . La cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice con benceno-metanol 4:1 seguida por tratamiento con pulverización con fosfomolibdato

416695



muestra una mancha única (R_f aproximadamente 0,1).

Una solución agitada de 7,20 g de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)butirosina en 100 ml de piridina anhidra mantenida a -10 a -5°C en una atmósfera de nitrógeno es tratada con 2,20 g de cloruro de p-toluensulfonilo añadido en porciones durante un período de una hora. La mezcla se agita una hora adicional a -10°C y luego se deja reposar a 0°C durante 18 horas. Se evapora bajo presión reducida y el residuo se reparte entre 200 ml de acetato de etilo y 30 ml de agua. La fase orgánica se separa, se lava con varias porciones de ácido clorhídrico diluido y con cloruro de sodio acuoso saturado, se seca y se evapora. El residuo se disuelve en 8 ml de metanol y 16 ml de benceno y la solución se vierte en una columna que contiene 200 g de gel de sílice. La columna se eluye con benceno-metanol 5:1 y el eluato se recoge en fracciones de 10 ml. Aquellas fracciones que muestran una mancha única (por pulverización con fosfomolibdato) a R_f 0,29 por cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice con benceno-metanol 4:1 se combinan y evaporan bajo presión reducida, para dar un residuo del éster de 5-(p-toluenosulfonato) de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)butirosina. Este producto muestra un má

416695



ximo de absorción ultravioleta a 261 milimicras, $E_1^1 = 6,24$; y máximos de absorción infrarroja a 1710, 1660, 1550 y 1350 cm^{-1} . La rotación específica es $[\alpha]_D^{25}$ (0,94% en metanol) = + 18,5°.

5 De acuerdo con una ruta sintética di
ferente, se añaden gradualmente 2,00 g de cloruro de
2,4,6-trimetilbencenosulfonilo a una solución agita-
da de 8,33 g de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)
10 butirosina en 100 ml de piridina anhidra mantenida a
0-5°C y protegida de la humedad. La mezcla se deja
reposar a 0°C durante 16 horas, a 15°C durante 5 ho-
ras, y a temperatura ambiente durante 2 horas. Se
añaden 0,10 g adicionales de cloruro de 2,4,6-trime-
15 tilbencenosulfonilo y la mezcla se deja reposar a tem-
peratura ambiente durante 16 horas adicionales. Es
entonces cuando se evapora bajo presión reducida y el
residuo se reparte entre 250 ml de acetato de etilo y
20 ml de agua. La fase orgánica se separa, se lava con
20 ml de ácido clorhídrico 3 N frío y con cloruro de
20 sodio acuoso saturado, se seca y se evapora. El resi-
duo se disuelve en 8 ml de metanol y 16 ml de benceno
y la solución se vierte en una columna que contiene
200 g de gel de sílice. La columna se eluye con bence-
no-metanol 5:1 y el eluato se recoge en fracciones de
25 10 ml. Aquellas fracciones que muestran una mancha úni

416695



ca (por pulverización con fosfomolibdato) a R_f 0,36 por cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice con benceno-metanol 4:1 se combinan y evaporan bajo presión reducida para dar un residuo de éster de 5-

5 - (2,4,6-trimetilbencenosulfonato) de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)butirosina. Se observan máximos de absorción ultravioleta a 285 milimicras, $E_1^1 = 16,1$; a 277 milimicras, $E_1^1 = 15,7$; y a 231 milimicras, $E_1^1 = 86,5$. El espectro de absorción infrarrojo muestra máximos característicos a 1710, 1655 y 1555 cm^{-1} .

10

Una mezcla de 2,83 g de éster de 5-

15 - (p-toluensulfonato) de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetil)butirosina y 1,5 g de azida de sodio en 75 ml de N,N-dimetil-formamida se calienta a 95-100°C durante 4 horas y luego se evapora a presión reducida. El residuo se reparte entre 150 ml de acetato de etilo y 20 ml de agua. La fase orgánica se separa, se lava dos veces con porciones de 10 ml de agua,

20 se seca y se evapora para dar el derivado de 5-azido. El mismo producto se obtiene empleando una cantidad equivalente de éster de 5-(2,4,6-trimetilbencenosulfonato) en lugar del éster de 5-(p-toluensulfonato). El derivado de 5-azido obtenido de esta manera y que

25 contiene una proporción principal (75% o más) del de

416695



5 derivado de N,N',N'',N'''-tetra(trifluoroacetilo) de
N¹-(4-amino-2-hidroxi-butiril)-5-0-(5-azido-desoxi-
-D-xilofuranosil)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-
-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina y una propor-
10 ción secundaria (25% o menos) del derivado de N,N',
N'',N'''-tetra (trifluoroacetilo) de N¹-(4-amino-2-
-hidroxibutiril)-5-0-(5-azido-5-desoxi-D-ribofura-
nosil)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopirano-
sil)-2-desoxiestreptamina, tiene una rotación espe-
15 cífica $[\alpha]_D^{25}$ (0,566% en metanol) = + 32,4°. El
espectro de absorción infrarroja muestra máximos
característicos a 2100, 1710, 1660 y 1555 cm⁻¹.
Por cromatografía en capa delgada sobre gel de sí-
lice con benceno-metanol 3:1 se revela una mancha úni-
ca (por pulverización con fosfomolibdato) a un R_f de
aproximadamente 0,30.

20

25

416695



REIVINDICACIONES

5 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1^a.- Procedimiento para la preparación de compuestos de poliamina, específicamente (a) 5-0-(5-amino-5-desoxi-D-xilofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxitiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina y sus sales de adición de ácido, o (b) 5-0-(5-amino-5-desoxi-D-ribofuranosil)-N¹-(4-amino-2-hidroxitiril)-4-0-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucopiranosil)-2-
15 -desoxiestreptamina y sus sales de adición de ácido; caracterizado porque el derivado de N,N',N'',N'''-tetra-(trifluoroacetilo) de uno de los compuestos anteriormente mencionados se hace reaccionar con una base en un medio acuoso, a una temperatura comprendida entre aproximadamente
20 te 0 y 50°C y durante un tiempo que va de 15 minutos a 8 horas, y el producto se aísla en forma de la base libre o en forma de una sal de adición de ácido.

25 2^a.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1^a, en el que la base es un hidróxido de metal alcalino.

3.9.75

m/e

416695

- 5 S



3ª.- Procedimiento para la preparación de com
puestos de poliamina.

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

5

Esta Memoria consta de veinticinco hojas escriti
tas a máquina por una sola cara.

Madrid, 25 SET. 1975

P.A.

Alberio de ~~Escobar~~ U

Por Poder

m/e

3.9.75
AMC.