



Int. Cl.: CO7D;A61K

431912

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BRISTOL-MYERS COMPANY

RESIDENCIA: 345 Park Avenue, NEW YORK, New York,

Estados Unidos.

ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO MEJORADO PARA LA

PREPARACION DE UN AGENTE ANTIBAC-

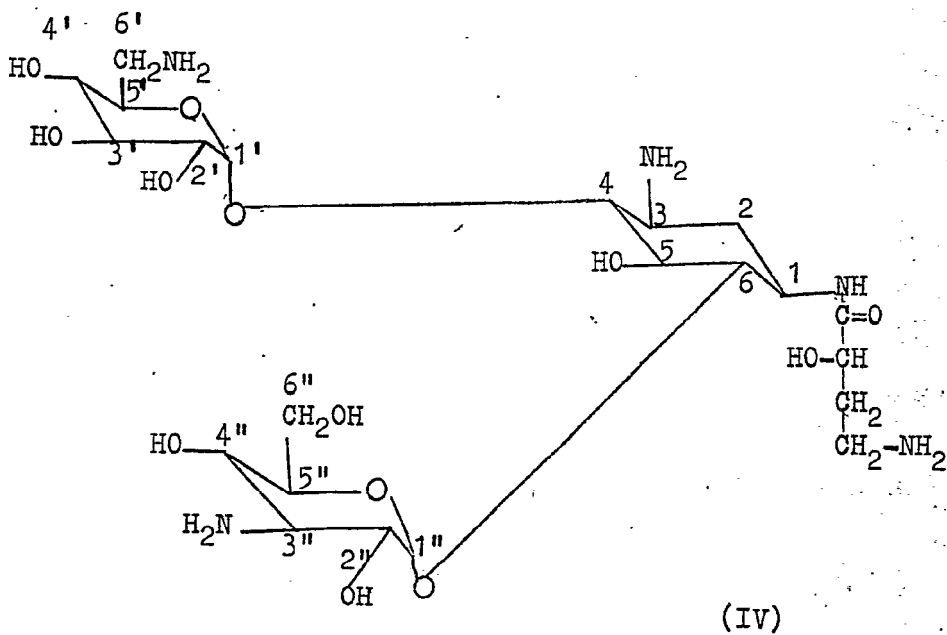
TERIANO.

Prioridad: Patente s. estadounidenses nº 415.589 del 14-11-73
y nº 472.780 del 23-5-74

l.a.

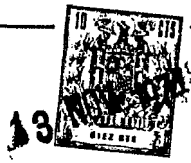


1 Esta invención se refiere a un nuevo y esencialmente
más eficiente procedimiento para la preparación de 1-[L-(-)-
5 γ-amino-α-hidroxi-butiril]-kanamicina A (IV), que responde a
la fórmula:



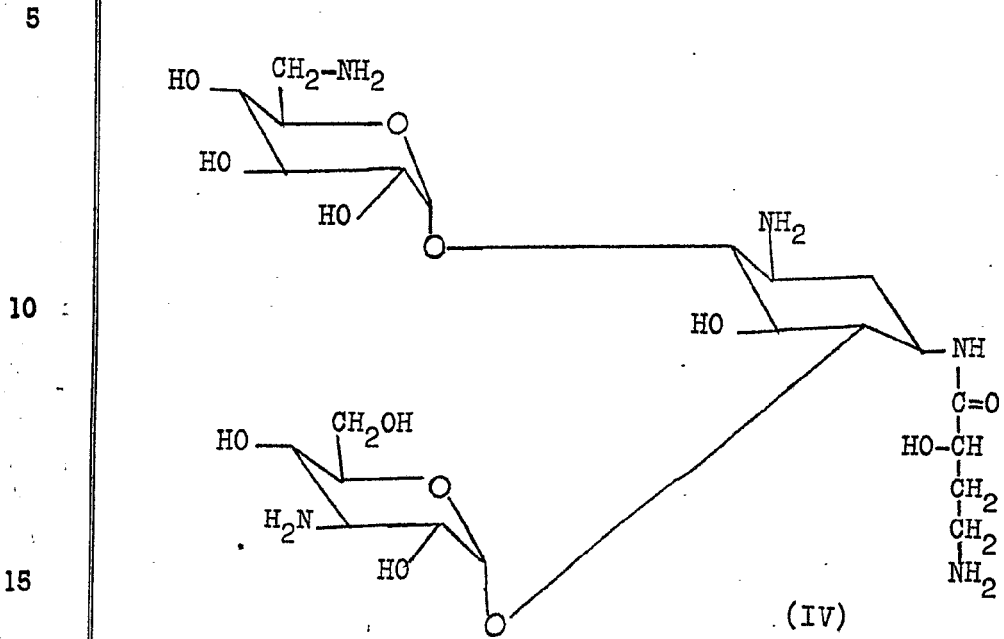
20 La kanamicina A contiene cuatro funciones amina prima-
ria en las posiciones 1, 3, 6' y 3'' de la molécula. Se ha es-
tablecido que la función 6'-amina es la más reactiva y la fun-
ción 1-amina es la segunda más reactiva cuando se tratan con
un agente electrofílico. Las posiciones 3 y 3'' son menos reac-
tivas que cualquiera de las funciones 1-amina o 6'-amina pe-
ro reaccionan para dar bajos porcentajes de materiales acila-
dos indeseables.

25 Por consiguiente, el objeto de esta invención es des-
cubrir un procedimiento más satisfactorio que el empleado an-
teriormente por nuestros colaboradores en las solicitudes de
patentes estadounidenses núms. de serie 221.378 y 330.377,
estando este procedimiento dirigido más selectivamente a la
30



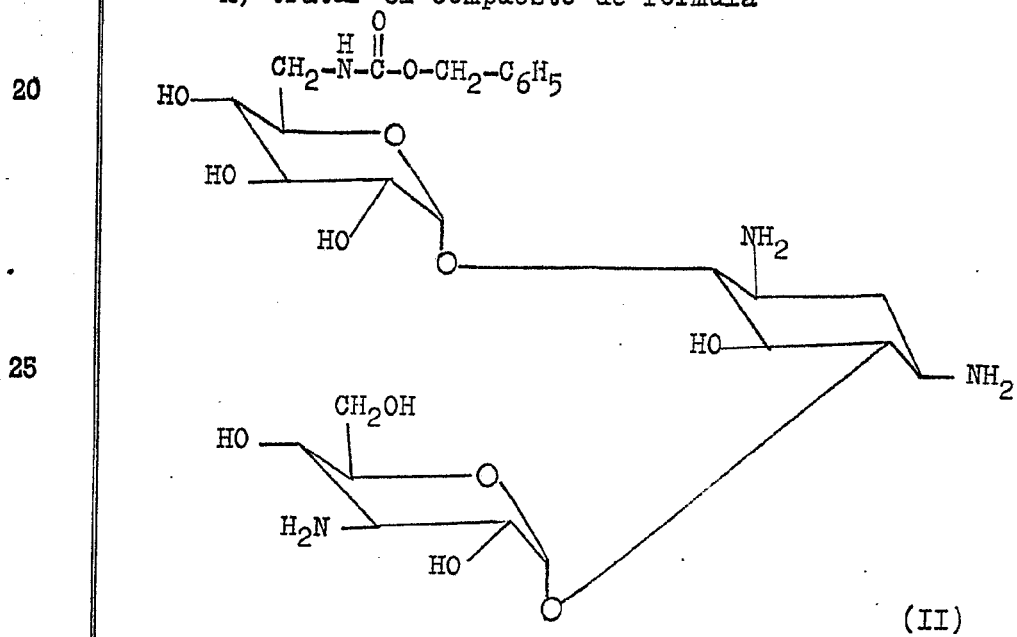
1 acilación de la función 1-amina que de las otras funciones
amina que se encuentran en la molécula.

El objetivo de esta invención se ha conseguido median-
te el procedimiento de preparación del compuesto de fórmula:



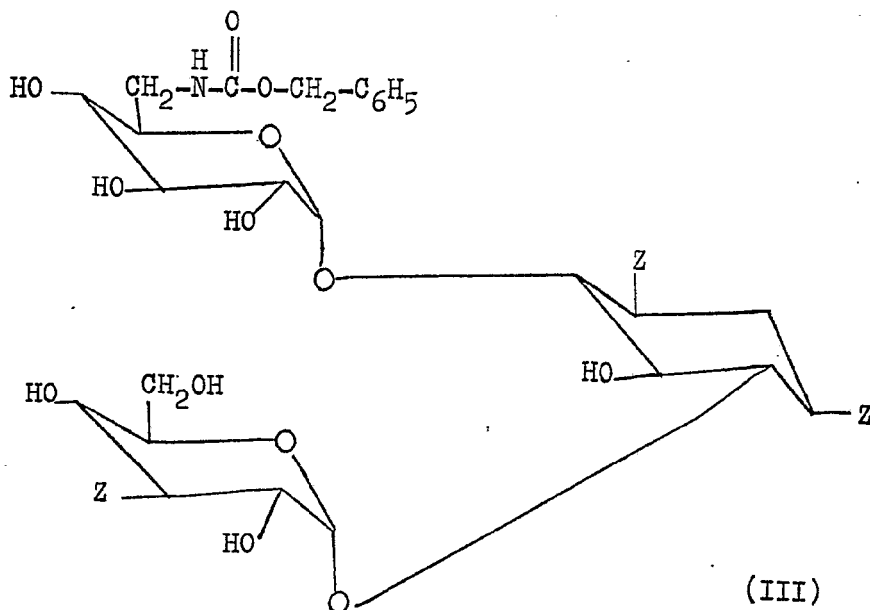
cuyo procedimiento comprende las etapas consecutivas de:

A) tratar el compuesto de fórmula

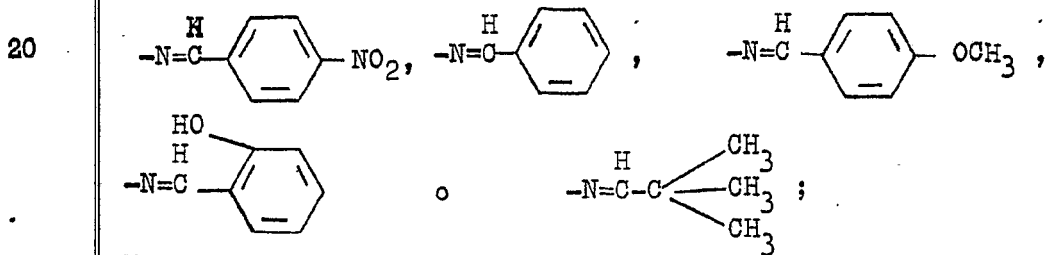




1 con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por ben-
 5 zaldehído, salicilaldehído, p-nitrobenzaldehído, p-metoxiben-
 10 zaldehído y pivaldehído, en una relación de un mol de compues-
 15 to II por cada tres moles como mínimo de aldehído para produ-
 cir el compuesto de fórmula

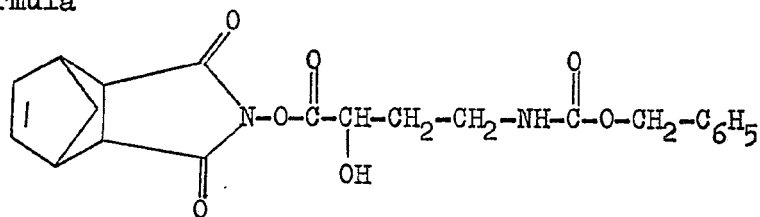


donde Z es un radical de fórmula:



y

25 B) tratar el compuesto III in situ con el compuesto de
 fórmula



(XX)

30



1 en una relación de un mol de compuesto III por cada 0,5 moles como mínimo de compuesto XX y después hidrogenar el residuo in situ para producir un compuesto de fórmula IV.

5 En particular, la Etapa A se efectúa preferiblemente en un disolvente miscible con agua tal como un disolvente alcohólico, v.g. etanol absoluto, metanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, sec-butanol, terc-butanol; un disolvente etéreo, v.g. tetrahidrofurano, dioxano u otros disolventes polares apróticos o próticos como, por ejemplo, dimetilformamida y acetona o mezclas de los mismos o mezclas de estos disolventes con agua, a una temperatura comprendida aproximadamente entre 5°C y la de reflujo, durante un periodo de unos 10 30 minutos a unas 5 horas.

15 La Etapa B se efectúa preferiblemente con una relación de compuesto III a compuesto XX de 1:1 aproximadamente, dentro de un intervalo de temperaturas de unos -10°C a unos +35°C pero todavía mejor en un intervalo de +5°C a unos 25°C, durante el periodo de tiempo necesario para completar la acilación pero por lo menos durante 1 a 3 horas; después se separa el disolvente orgánico antes de la hidrogenación. La hidrogenación in situ se realiza con hidrógeno en presencia de 20 un catalizador metálico seleccionado entre el grupo formado por paladio, platino, níquel Raney, rodio, rutenio y níquel pero todavía mejor paladio y en el mejor de los casos paladio sobre carbón activo, en agua o en un sistema formado por agua y un disolvente miscible con agua, seleccionado entre el grupo formado por agua y dioxano, tetrahidrofurano, éter dime- 25 tílico de etilenglicol, éter dimetílico de propilenglicol y similares, pero preferiblemente agua a un pH de 3-5 y todavía mejor a un pH de 4. 30

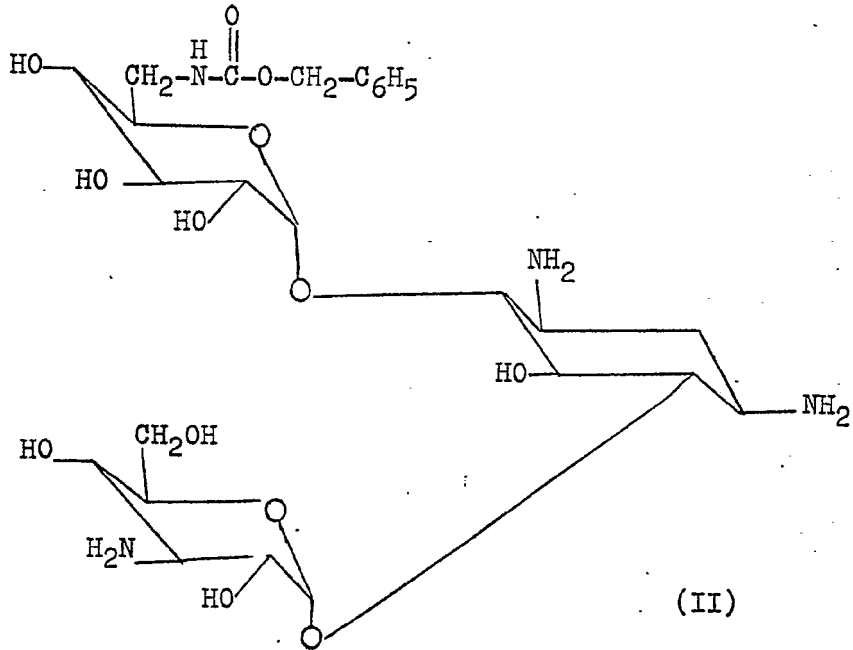


1

Una realización más preferida es el procedimiento anterior para la preparación del compuesto IV que comprende las siguientes etapas consecutivas:

A) tratar el compuesto de fórmula:

5



10

15

(II)

con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por benzaldehído, salicilaldehído, p-nitrobenzaldehído y p-metoxibenzaldehído, en una relación de un mol de compuesto II a tres moles como mínimo de aldehído, en etanol absoluto, metanol, n-propanol, sec-butanol, terc-butanol, cloruro de metileno, tetrahidrofurano, dioxano, dimetilformamida o acetona, o una mezcla de estos con agua, a una temperatura de 5° a 40°C, durante un periodo de tiempo de unos 30 minutos a unas 5 horas, para producir el compuesto de fórmula:

20

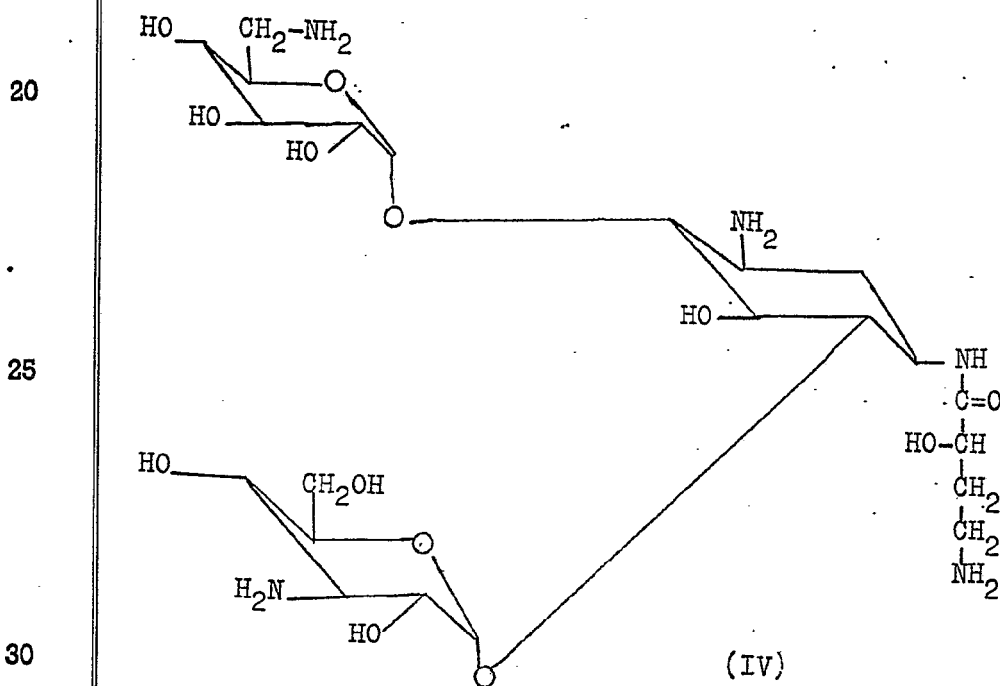
25

30



1 en una relación de un mol de compuesto III por cada aproxi-
madamente 0,5 a 1,0 moles de compuesto XX, en un intervalo
de temperaturas de +5°C a 35°C, durante 1 a 3 horas, en un
5 sistema disolvente como los descritos en la Etapa A; después
separar el disolvente orgánico e hidrogenar el residuo in
situ con hidrógeno en presencia de un catalizador metálico,
preferiblemente seleccionado entre el grupo formado por pala-
dio, platino, níquel Raney, rodio, rutenio y níquel pero de
preferencia paladio y todavía mejor paladio en carbón activo,
10 en agua o en un sistema formado por agua y un disolvente mis-
cible con agua, preferiblemente seleccionado entre el grupo
formado por agua y dioxano, tetrahidrofurano, éter dimetíli-
co de etilenglicol y éter dimetílico de propilenglicol, pero
preferiblemente agua a un pH de 3-5 y todavía mejor a un pH
15 de 4, para producir el compuesto de fórmula IV.

Una realización más preferida es el procedimiento para
la preparación del compuesto de fórmula:

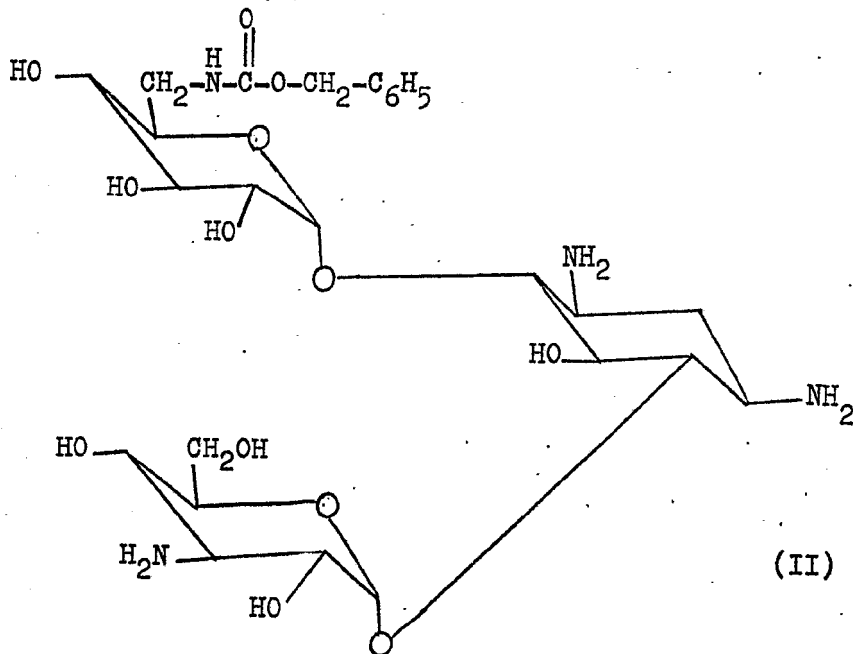




1
5
10
15
20
25
30

que comprende las etapas consecutivas de:

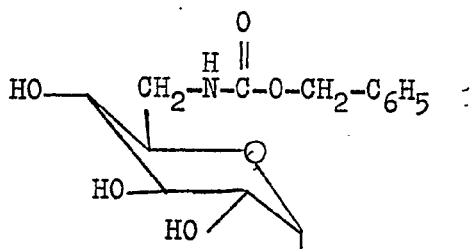
A) tratar el compuesto de fórmula:



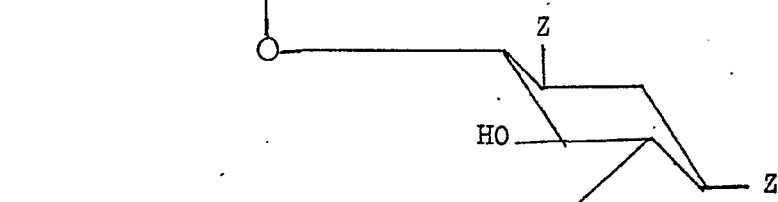
con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por benzaldehído, salicilaldehído y p-nitrobenzaldehído, en una relación de un mol de compuesto II a unos tres moles de aldehído, en etanol absoluto, metanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, sec-butanol, tero-butanol, tetrahidrofurano, cloruro de metileno, dioxano, dimetilformamida o acetona, o una mezcla de éstos con agua, a unos 5 a 40°C, durante un periodo de tiempo de unos 30 minutos a unas 5 horas, para producir el compuesto de fórmula:



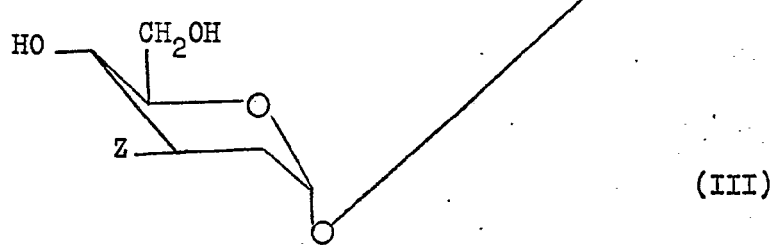
1



5



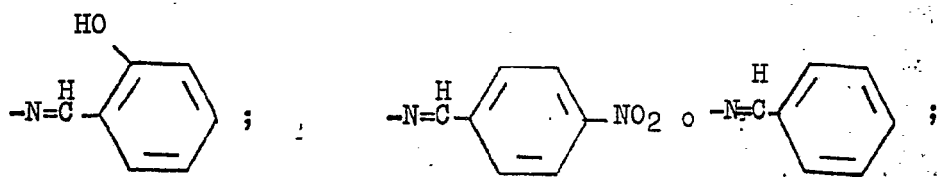
10



(III)

donde Z es un radical de fórmula

15

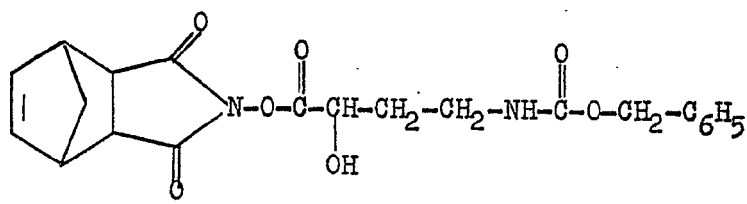


y

20

B) tratar el compuesto III in situ o después de aislarlo con el compuesto de fórmula:

25



XX

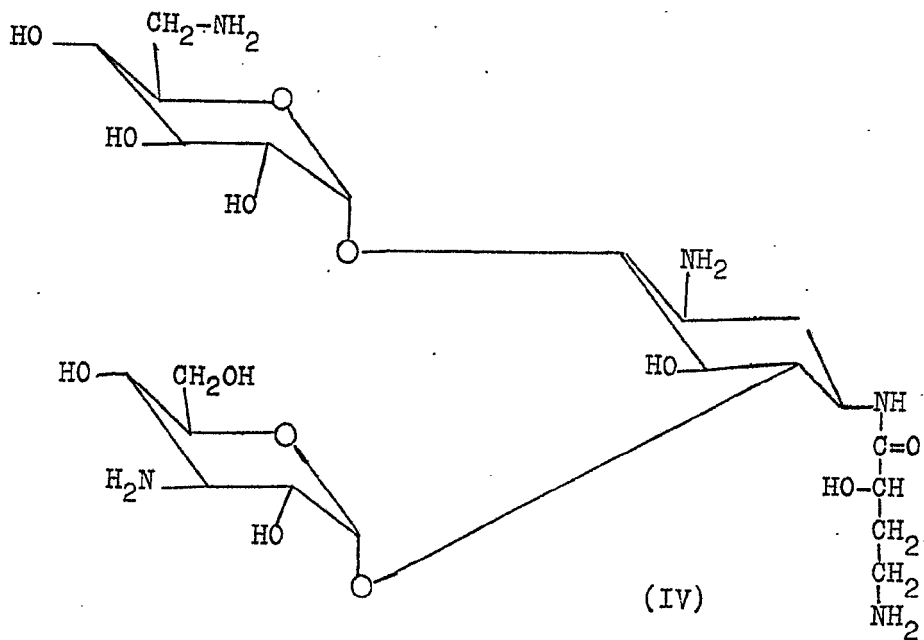
30

en una relación de un mol de compuesto III por cada aproximadamente 0,5 a 0,85 moles de compuesto XX, a una temperatura de +15 a +30°C, durante 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A; después separar el disolvente



1 orgánico e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno, en
presencia de un catalizador metálico, preferiblemente selec-
cionado entre el grupo formado por paladio, platino, níquel
Raney, rodio, rutenio y níquel, pero preferiblemente paladio
5 y todavía mejor paladio en carbón activo, en agua o en un sis-
tema formado por agua y un disolvente miscible con agua, pre-
feriblemente seleccionado entre el grupo formado por agua y
dioxano, tetrahidrofurano, éter dimetílico de etilenglicol y
éter dimetílico de propilenglicol, pero preferiblemente agua
10 a un pH de 4 aproximadamente, para producir el compuesto de
fórmula IV.

Una realización más preferida de esta invención es el
procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula:

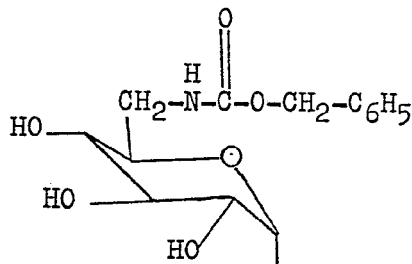


que comprende las etapas consecutivas de:

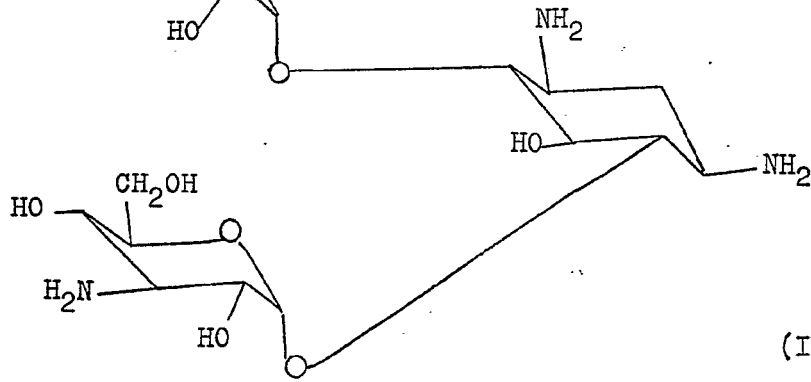
A) tratar el compuesto de fórmula:



1



5

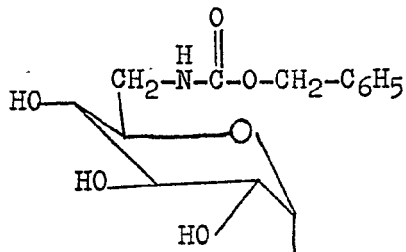


10

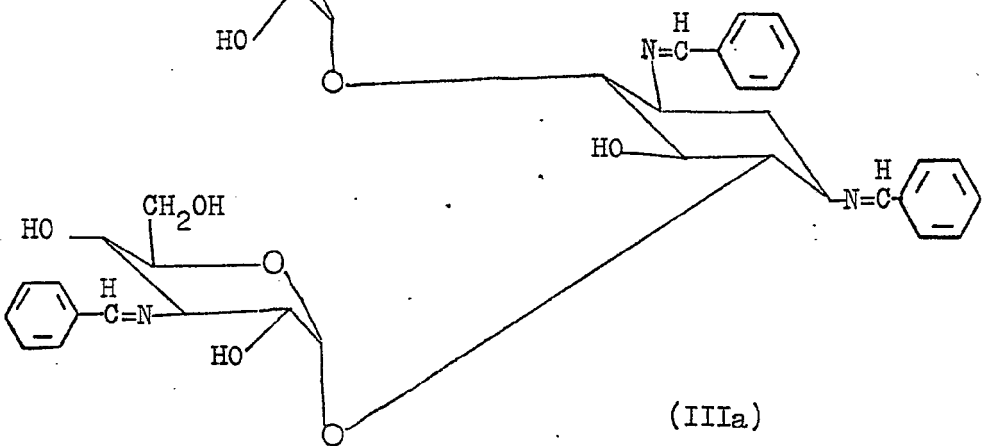
(II)

con benzaldehído en una relación de un mol de compuesto II por cada tres moles de benzaldehído, en una mezcla aproximadamente 1:1 de agua y tetrahidrofurano, entre 20° y 30°C aproximadamente, a un pH alrededor de 10, durante unas 2 a 4 horas, para producir el compuesto de fórmula:

15



20



25

(IIIa)

y

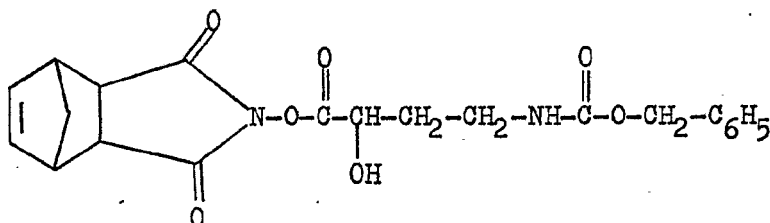
30

B) tratar el compuesto IIIa in situ o después de ais-



1 larlo con el compuesto de fórmula:

5



XX

10

en una relación de un mol de compuesto IIIa por cada 0,6 a 0,75 moles de compuesto XX, a una temperatura comprendida aproximadamente entre 20 y 30°C, durante un periodo de tiempo de 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A, una mezcla de cloruro de metileno, metanol y agua o una mezcla de dimetilformamida, acetona y agua; después separar el disolvente orgánico a vacío, ajustar el pH a 4 con hidróxido amónico e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno a la presión atmosférica, en presencia de paladio en carbón para producir el compuesto de fórmula IV.

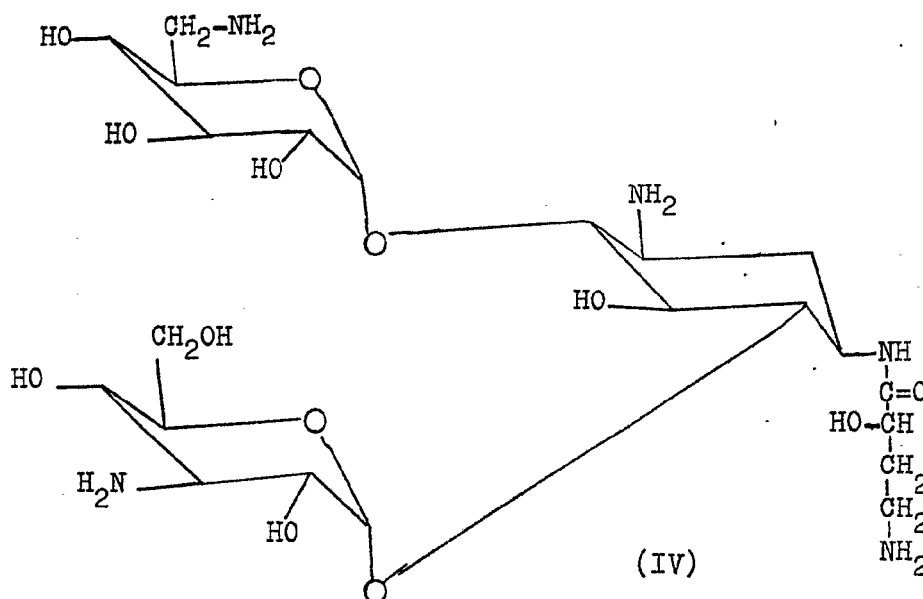
15

La realización más preferida de esta invención es el procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula:

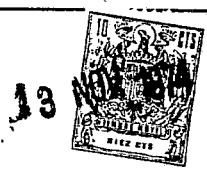
20

25

30

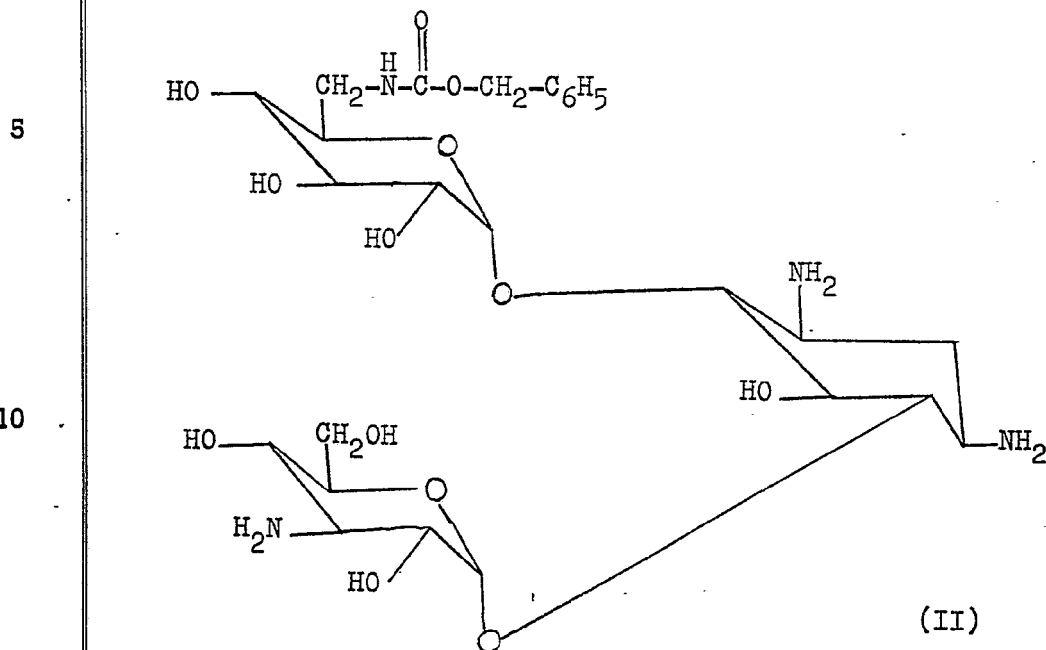


(IV)

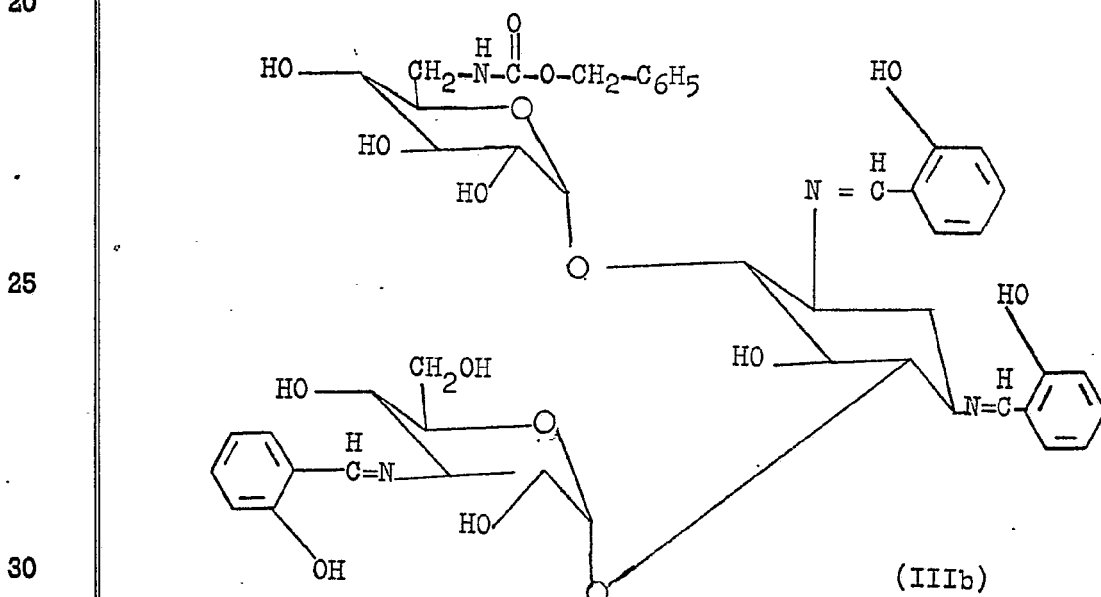


1 que comprende las etapas consecutivas de:

A) tratar el compuesto de fórmula:

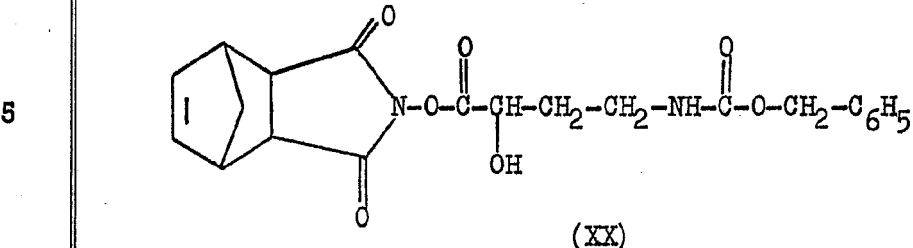


15 con salicilaldehído en una relación de un mol de compuesto II por cada tres moles de salicilaldehído, en una mezcla aproximadamente 1:1 de agua y tetrahidrofurano, a unos 20-30°C, a un pH de 8 aproximadamente, durante unas 2 a 4 horas, para producir el compuesto de fórmula:





1 B) tratar el compuesto IIIb in situ o después de aislarlo con el compuesto de fórmula:



10 en una relación de un mol de compuesto IIIb por cada aproximadamente 0,6 a 0,75 moles de compuesto XX, a una temperatura comprendida aproximadamente entre 20° y 30°C, durante un periodo de tiempo de 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A o una mezcla de dimetilformamida, acetona y agua; después separar el disolvente orgánico a vacío, ajustar el pH a 4 con hidróxido amónico e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno a la presión atmosférica, en presencia de paladio sobre carbón para producir el compuesto de fórmula IV.

15 Para los fines de esta descripción, el término alquilo(inferior) es un resto alquilo, de cadena lineal o ramificada, de 1 a 6 átomos de carbono. Alcanol(inferior) es un alcohol saturado, de cadena lineal o ramificada, de 1 a 6 átomos de carbono conteniendo una función OH.

20 Otro objeto de esta invención es una modificación del procedimiento anteriormente descrito empleando un proceso todavía más in situ pero que da los mismos altos rendimientos de compuesto de fórmula IV y con menos gastos.

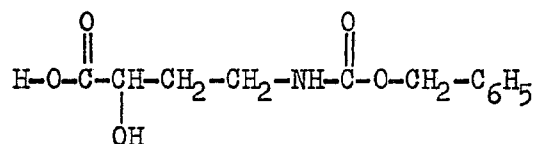
25 Por ejemplo, el compuesto de fórmula XX puede ser preparado in situ y hacerse reaccionar con el compuesto de fórmula III en una etapa conveniente. Así, el compuesto de fórmula

30



1 mula IV puede ser preparado como se ha descrito antes pero,
en la Etapa B , la reacción consiste en tratar el compuesto
III obtenido en la Etapa A como se ha descrito antes, ya sea
in situ o después de aislarlo, con los compuestos de fórmula:

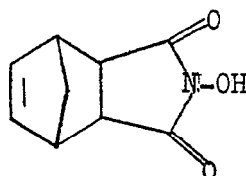
5



(VI)

10

y



(XIX)

15

20

25

seguido de la adición de dicitclohexil-carbo-di-imida, en una
relación de un mol de compuesto III por cada aproximadamente
0,5 a 1,0 moles de cada uno de los compuestos VI y dicitclo-
hexil-carbo-di-imida y alrededor de 0,005 a 0,25 moles del
compuesto XIX, en un intervalo de temperaturas comprendido en-
tre -10°C y $+35^{\circ}\text{C}$ aproximadamente pero de preferencia entre
 $+5^{\circ}\text{C}$ y unos 25°C , durante 10 horas como mínimo, en un siste-
ma disolvente como el descrito en la Etapa A; después separar
el disolvente orgánico e hidrogenar el residuo in situ como
se ha descrito anteriormente, para producir el compuesto de
fórmula IV.

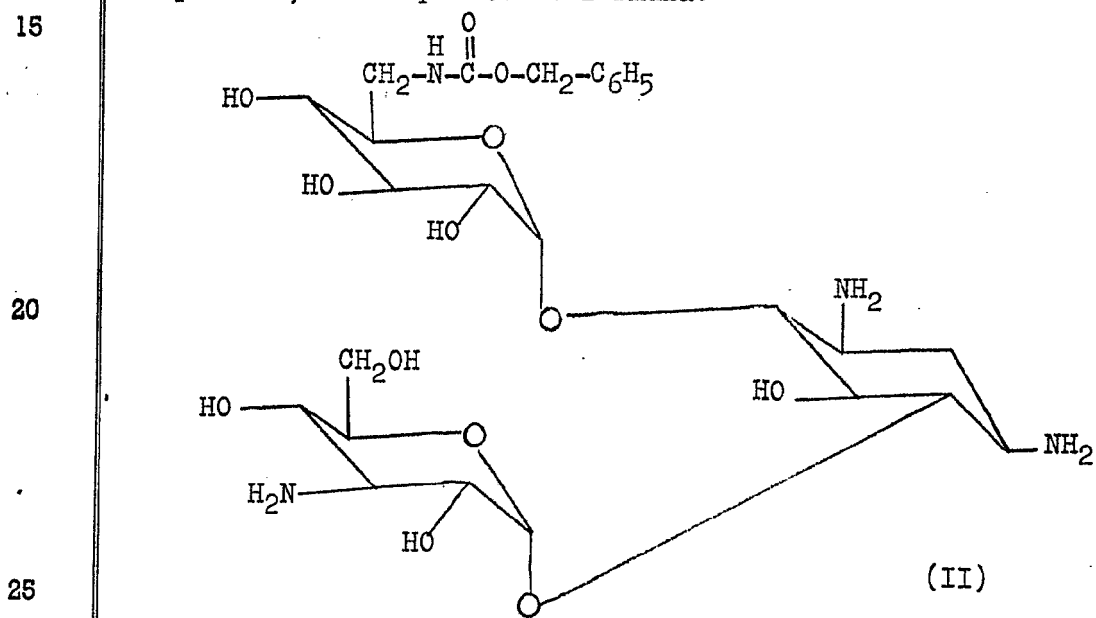
30

Una realización preferida de la modificación anterior
implica el uso de una relación de un mol de compuesto III
por cada aproximadamente 0,5 a 0,85 moles de cada uno de los
compuestos VI y dicitclohexil-carbo-di-imida y alrededor de
0,05 a 0,425 moles de compuesto XIX, a una temperatura de



1 +5° a 25°C, durante 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A o, alternativamente, una relación de un mol de compuesto III por cada aproximadamente 0,5
5 a 0,8 moles de cada uno de los compuestos VI y dicitclohexil-carbo-di-imida y alrededor de 0,05 a 0,425 moles de compuesto XIX, a una temperatura de +15° a +30°C, durante 15 a 25 horas. Las condiciones más preferidas son una relación de un mol de compuesto III por cada aproximadamente 0,6 a 0,75 moles de los compuestos VI y dicitclohexil-carbo-di-imida y alrededor de 0,06 a 0,375 moles de compuesto XIX, a una temperatura de 20 a +30°C, durante 15 a 25 horas.

También se incluye como parte de esta invención un procedimiento nuevo y mejorado para la preparación del material de partida, el compuesto de fórmula:



30 Este procedimiento consiste en tratar la kanamicina A en forma de base libre con N-benciloxycarboniloxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida, en una relación aproximadamente de 0,5 a 1,5 moles de N-benciloxycarboniloxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida por mol de kanamicina A, o especialmente en una



1 relación de 1:1 aproximadamente, seguido de purificación, por ejemplo mediante extracción con un disolvente orgánico tal como n-butanol y cromatografía de la fase acuosa.

5 La reacción anterior se lleva a cabo preferiblemente en un sistema formado por agua y un disolvente orgánico miscible con agua tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano-agua y más preferiblemente a una concentración de aproximadamente 40 a 60 % de tetrahidrofurano, a temperaturas comprendidas entre alrededor de 0°C y 25°C o todavía mejor entre alrededor de 5°C y 10°C, durante 6 horas como máximo pero, preferiblemente, durante unas 4 horas.

10 El compuesto IV, 1-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butiril]-kanamicina A (BB-K8), posee excelente actividad antibacteriana que parece superior a la de la propia kanamicina A. Más adelante se incluyen dos tablas que muestran las concentraciones mínimas de inhibición (CMI) de la kanamicina A y del compuesto IV (BB-K8) contra una variedad de bacterias gram-positivas y gram-negativas, obtenidas por el método de dilución en agar de Steers (Tabla I) y por el método de dilución al doble (Tabla II). En el estudio de la Tabla I se utilizó un medio de agar Mueller-Hinton y en el estudio de la Tabla II se empleó caldo de infusión de corazón.

TABLA I (CMI mg/ml)

25	Organismo	Kanamicina A (6-8198)	Compuesto IV (BB-K8), lote nº 4
	Alk. faecalis A-9423	16	8
	" " A-20648	>125	>125
	Ent. cloacae A-0656	4	4
	" species A-20364	>125	2
30	" hafniae 1 A-20674	1	1



TABLA I (CMI mg/ml) (continuación)

	Organismo	Kanamicina A (6-8198)	Compuesto IV (BB-K8), lo- te nº 4
1			
5	<i>E. coli</i> A-0636	2	1
	" " A-20664	16	4
	" " A-20665	> 125	1
	" " A-20507	32	2
	" " A-20520	> 125	4
	" " A-20365	> 125	1
10	" " A-20684	2	2
	" " A-20682	> 125	2
	" " A-20683	> 125	8
	" " A-20681	> 125	2
	" " A-15119	4	4
15	<i>K. pneumoniae</i> A-0967	4	4
	" species A-20328	> 125	2
	" " A-20330	32	32
	" " A-20634	> 125	4
20	" <i>pneumoniae</i> A-20680	> 125	4
	" " A-0077	1	1
	<i>Pr. mirabilis</i> A-9900	2	2
	" <i>morganii</i> A-15153	2	2
	" <i>vulgaris</i> A-9555	2	1
25	" <i>rettgeri</i> A-9636	0,25	0,25
	" <i>mirabilis</i> A-20645	4	4
	<i>Alk. faecalis</i> A-9423	16	8
	" " A-20648	> 125	> 125
	<i>Ent. cloacae</i> A-0656	4	4
30	" species A-20364	> 125	2



TABLA I (CMI mg/ml) (continuación)

1
5
10
15
20
25
30

Organismo	Kanamicina A (6-8198)	Compuesto IV (BB-K8), lo- te nº 4
Ent. hafniae 1 A-20674	1	1
E. coli A-0636	2	1
" " A-20664	16	4
" " A-20665	> 125	1
" " A-20507	32	2
" " A-20520	> 125	4
" " A-20365	> 125	1
" " A-20684	2	2
" " A-20682	> 125	2
" " A-20683	> 125	8
" " A-20681	> 125	2
" " A-15119	4	4
K. pneumoniae A-0967	4	4
" species A-20328	> 125	2
" " A-20330	32	32
" " A-20634	> 125	4
" pneumoniae A-20680	> 125	4
" " A-0077	1	1
Pr. mirabilis A-9900	2	2
Pr. morgani A-15153	2	2
" vulgaris A-9555	2	1
" rettgeri A-9636	0,25	0,25
" mirabilis A-20645	4	4
Pr. mirabilis A-20454	2	2
Providencia stuartii A-20615	2	1



1

TABLA I (continuación)

	Organismo	Kanamicina A (6-8198)	Compuesto IV (BB-K8), lo- te nº 4
	<i>Providencia alkalifaciens</i>		
5	A-20676	1	1
	<i>Ps. aeruginosa</i>		
	A-20229	32	2
	" "		
	A-0943A	125	16
	" "		
	A-20653	>125	32
	" species		
	A-20601	125, 63	16
	" "		
10	A-20621	>125	>125
	" <i>maltophilia</i>		
	A-20620	32	>125
	<i>Sal. enteritidis</i>		
	A-0531	1	0,5
	" <i>derby</i>		
	A-20087	>125	1
	<i>Ser. marcescens</i>		
	A-20019	2	4
15	" "		
	A-9933	4	8
	" "		
	A-20460	>125	4, 2
	" "		
	A-20459	4	16
	<i>Shig. flexneri</i>		
	A-9684	4	4
	<i>Aeromonas</i> sp.		
	A-20670	2	2
20	<i>Arizona</i> sp.		
	A-20671	2	1
	<i>Citrobacter</i> sp.		
	A-20673	4	4
	<i>Edwardsiella</i> sp.		
	A-20678	4	4
	<i>Staph. aureus</i>		
	A-9606	1	1
	" "		
	A-4749	0,5	1
25	" "		
	A-9537	2	1
	" "		
	A-20610	>125	2
	" "		
	A-20240	>125	8
	" "		
	A-15197	1	2

30



1

TABLA I (continuación)

Organismo	Karamicina A (6-8198)	Compuesto IV (BB-K8), lote n° 4
Medio de Mueller-Hinton + 4 % de sangre de cordero		
Str. faecalis A-9854	63	63
" " A-9575	125	>125
Str. pyogenes A-20200	32, 16	32
" " A-9604	125	125
" " A-15040	125	125
" " A-20065	125	125
D. pneumoniae A-9585	63, 32	63
" " A-20159	125	>125

5

10

TABLA II (CMI mg/ml)

15

Organismo	Kanamicina A (6-8196)	Compuesto IV (BB-K8), lote n° 4
D. pneumoniae A-0585 ± suero al 5 %	63	63
Str. pyrogenes A-9604 ± suero al 5 %	125	125
Staph. aureus Smith A-9537	0,5	0,5
Staph. aureus A-9497	0,5	0,5
Staph. aureus A-20239	125	4
Staph. aureus A-20240	125	4
Enter. cloacae A-0656	2	2
Enter. species A-20364	125	2
K. pneumoniae A-9867	2	4
E. coli K-12 ML1410 A-20361	2	4
E. coli K-12 ML1630 A-20363	125	2
E. coli K-12 A-9632	2	1
E. coli A-20664	32	8

20

25

30



1

TABLA II (continuación)

Organismo		Kanamicina A (6-8196)	Compuesto IV (BB-K8), lote n ^o 4
E. coli	A-20665	125	8
5 Pr. mirabilis	A-9900	2	16
Pr. morgani	A-15153	4	16
Pr. vulgaris	A-9436	1	2
Ps. aeruginosa	A-20227	4	1
Ps. species	A-20499	63	4
10 Ps. aeruginosa	A-20653	125	4
Ps. species	A-20621	125	125
Ser. marcescens	A-20019	2	4
Ser. marcescens	A-20141	16	16

15

Los datos de la CMI anteriores indican que el compuesto IV (BB-K8) es superior a la kanamicina A en actividad, especialmente contra los organismos resistentes a la kanamicina A.

20

Los datos de la CMI también concuerdan bien con los resultados in vivo para los tres organismos contra los que se ensayaron la kanamicina A y el compuesto IV.

25

El compuesto IV y la kanamicina A resultaron igualmente eficaces en las infecciones de ratones causadas por variedades sensibles a la kanamicina A de E. coli A-15119 y Staph. aureus A-9537. Aunque los valores DC_{50} (dosis curativa en el 50 % de los ratones letalmente infectados) para el Staph. aureus A-9537 sugieren que el compuesto IV es ligeramente menos activo que la kanamicina A, esta pequeña diferencia probablemente no es significativa porque los niveles de dosis eran muy diferentes (dilución 5X).

30

Contra la variedad de E. coli A-20520 resistente a la



1 kanamicina, la kanamicina A, como era de esperar, no era muy
eficaz in vivo, mientras que el compuesto IV presentaba una
marcada acción protectora. El compuesto IV resultó aproxima-
damente diez veces más activo contra esta variedad de E. coli
5 cuando se administró en un régimen de 4 tratamientos en lu-
gar de un régimen de 2 tratamientos.

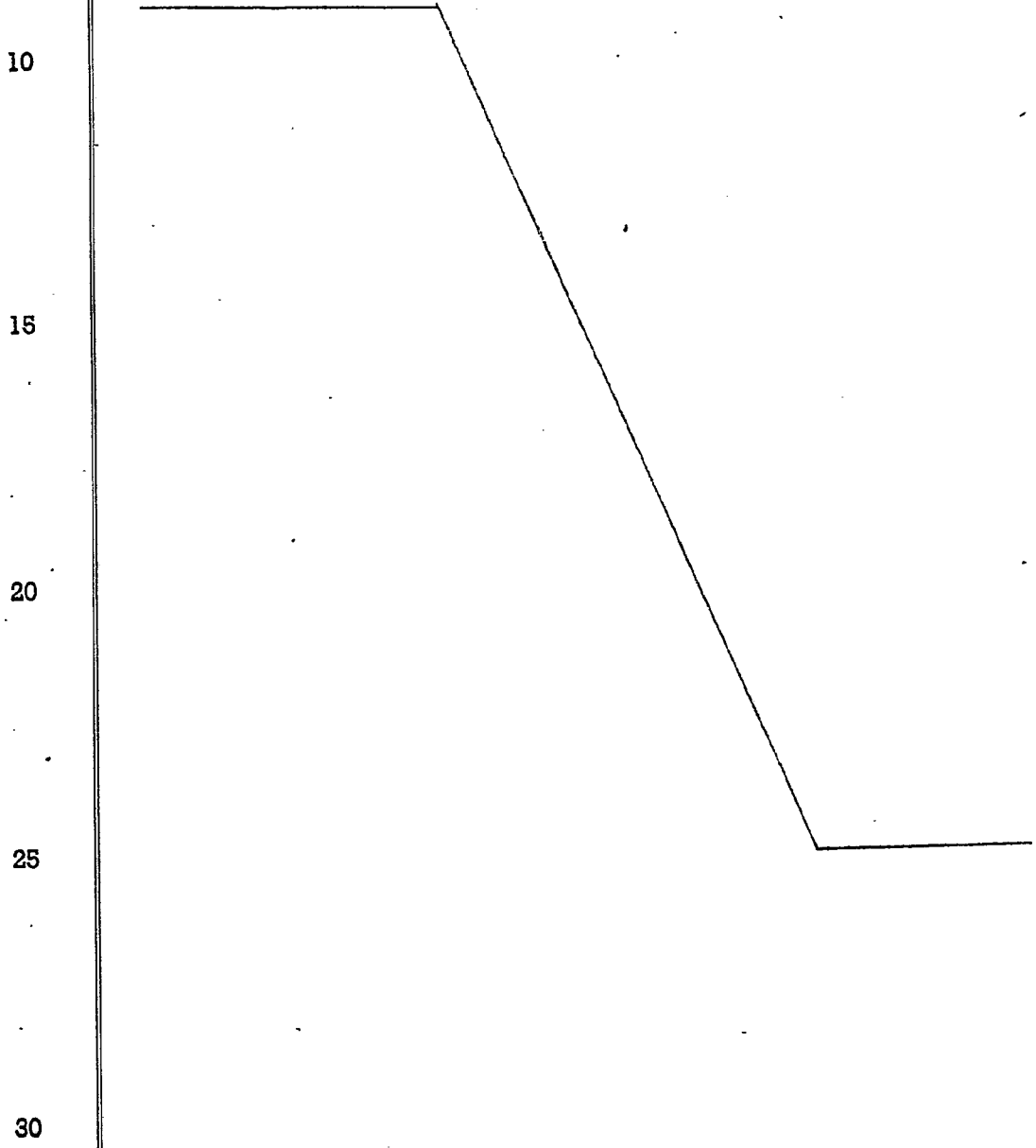


TABLA III

Comparación de las actividades in vitro e in vivo del compuesto IV y la kanamicina A

Compuestos	Número del ensayo	Staphylococcus aureus A-9537		Escherichia coli A-15119		Escherichia coli A-20920	
		CMI	DC ₅₀ ^b	CMI	DC ₅₀	CMI	DC ₅₀
Compuesto IV	1	1	2,0 x 2	2	2 x 2	2	66 x 2
"	2	- ^c	-	-	-	-	5 x 4
Kanamicina A	1	2	0,5 x 2	4	4 x 2	125	200 x 2
"	2	-	-	-	-	-	200 x 4

^a CMI = concentración mínima de inhibición (µg/ml). Los ensayos se realizaron en la forma descrita por Chisholm y colaboradores (Antimicrob. Agents and Chemotherapy - 1969, pág. 244, 1970), empleando agar de Mueller-Hinton como medio de ensayo.

^b DC₅₀ = dosis curativa al 50 % (mg/kg/tratados x número de tratamientos). Los ratones se trataron subcutáneamente al cabo de 1 y 4 horas después de la infección cuando se administraron los dos tratamientos y al cabo de 0, 2, 4 y 6 horas después de la infección cuando se administraron cuatro tratamientos. Otros aspectos del ensayo se realizaron en la forma descrita por Price y colaboradores, (J. of Antibiotics 22:1, 1969).

^c - = no determinado.

TABLA III

Comparación de las actividades in vitro e in vivo del compue

Compuestos	Número del ensayo	Staphylococcus aureus A-9537		Escheric A-15
		CMI	DC ₅₀ ^b	CMI
Compuesto IV	1	1	2,0 x 2	2
"	2	- ^c	-	-
Kanamicina A	1	2	0,5 x 2	4
"	2	-	-	-

^a CMI = concentración mínima de inhibición (µg/ml). Los ensayos se hicieron de acuerdo con el método de Chisholm y colaboradores (Antimicrob. Agents and Chemotherapy) sobre agar de Mueller-Hinton como medio de ensayo.

^b DC₅₀ = dosis curativa al 50 % (mg/kg/tratados x número de tratamientos) al cabo de 1 y 4 horas después de la infección cutánea y al cabo de 0, 2, 4 y 6 horas después de la infección intraperitoneal. Otros aspectos del ensayo se realizaron en la forma descrita en (J. of Antibiotics 22:1, 1969).

^c - = no determinado.

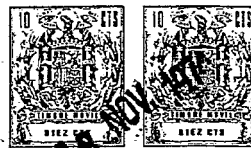


TABLA III

Estudios in vitro e in vivo del compuesto IV y la kanamicina A

<u>Staphylococcus aureus</u> A-9537		<u>Escherichia coli</u> A-15119		<u>Escherichia coli</u> A-20520	
<u>CMI</u>	<u>DC₅₀^b</u>	<u>CMI</u>	<u>DC₅₀</u>	<u>CMI</u>	<u>DC₅₀</u>
1	2,0 x 2	2	2 x 2	2	66 x 2
- ^c	-	-	-	-	5 x 4
2	0,5 x 2	4	4 x 2	125	200 x 2
-	-	-	-	-	200 x 4

inhibición ($\mu\text{g/ml}$). Los ensayos se realizaron en la forma descrita por Price y colaboradores (Antimicrob. Agents and Chemotherapy - 1969, pág. 244, 1970), empleando el medio de cultivo como medio de ensayo.

(mg/kg/tratados x número de tratamientos). Los ratones se trataron subcutáneamente 4 horas después de la infección cuando se administraron los dos tratamientos y 6 horas después de la infección cuando se administraron cuatro tratamientos. Los estudios del ensayo se realizaron en la forma descrita por Price y colaboradores, (1969).

13 NOV.



1 El compuesto IV es valioso como agente antibacteriano,
como suplemento nutritivo en piensos para animales, como agen
te terapéutico en el ganado aviar y en animales, incluido el
5 enfermedades infecciosas causadas por las bacterias Gram-positi-
tivas y Gram-negativas.

El compuesto IV, cuando se administra oralmente, es
útil como tratamiento auxiliar para la esterilización pre-
operatoria de la cavidad abdominal. Tanto la flora aerobia
10 como la anaerobia que es susceptible a esta droga es reducida
en el intestino grueso. Cuando va acompañada de una limpieza
mecánica adecuada, es útil para la preparación de la ciru-
gía del colon.

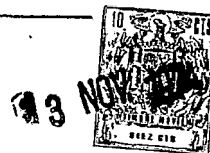
El compuesto IV es eficaz en el tratamiento de las in-
fecciones bacterianas sistémicas en el hombre cuando se admi-
nistra parenteralmente a una dosis de unos 250 mg a unos
15 3000 mg diarios, en dosis fraccionadas, tres o cuatro veces
al día. Generalmente el compuesto es eficaz cuando se admi-
nistra a una dosis de unos 5,0 a 7,5 mg/kg de peso corporal,
20 cada 12 horas.

DESCRIPCION DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

EJEMPLO 1

Anhídrido 5-norbornen-endo-2,3-dicarboxílico (XVIII)

La preparación se realiza por el procedimiento de O.
25 Diels y K. Alder, Ann. 460, 98 (1928). A una suspensión agi-
tada de 98,1 g (1 mol) de anhídrido maleico en 500 ml de ben-
ceno seco se añaden gota a gota 66,1 g (1 mol) de ciclopenta-
dieno, con enfriamiento. La mezcla se agita para dar un pre-
cipitado cristalino que se recoge por filtración y se recrís-
30 taliza en ligroína (esencialmente n-hexano - benceno 1:1) pa-



1 ra dar 116 g (71 %) del producto del título, p.f. 164-165°C
(bibl: p.f. 164-165°C).

EJEMPLO 2

N-Hidroxi-5-norbornen-endo-2,3-dicarboximida (HONB)

5

(XIX)

La preparación se realiza por el procedimiento de L. Bauer y S.V. Miarka, J. Org. Chem., 24, 1293 (1959). Se añaden 115 g (0,7 moles) del anhídrido de norborneno (XVIII) a una solución de hidroxilamina preparada añadiendo 47,5 g
10 (0,45 moles) de carbonato sódico a una solución de 60,5 g (0,87 moles) de hidrocioruro de hidroxilamina en 140 ml de agua. La mezcla se calienta a 60-70°C durante 1 hora y se mantiene en reposo durante la noche en un refrigerador. Los cristales se recogen por filtración, se lavan con 120 ml de HCl
15 5 N frío y se secan para dar 84,9 g (70 %) de XIX que funde a 172°C. Las aguas madres se acidulan a pH 2 y se extraen con CHCl₃ (70 ml x 10). Por evaporación de los extractos en CHCl₃, se obtiene una segunda masa de XIX (7,2 g, 6 %), p.f. 170-172°C.

20

EJEMPLO 3

Ester de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-γ-benciloxycarbonilamino-α-hidroxi-butírico (XX).

Se añaden 2,06 g (0,01 moles) de dicitclohexilcarbodiimida (DDC), a 10°C, a una solución agitada de 2,53 g (0,01
25 moles) de ácido L-γ-benciloxycarbonilamino-α-hidroxi-butírico y 1,79 g (0,01 moles) de XIX en 50 ml de tetrahidrofurano seco (THF). La mezcla se agita durante la noche a la temperatura ambiente. La dicitclohexilurea precipitada se separa por filtración y se lava con THF. El filtrado y las aguas de lavado se combinan y evaporan a vacío. El residuo oleoso (4,5 g
30



1 se pasa por una columna de gel de sílice y se eluye con ace-
tato de etilo para dar 4,0 g (96 %) del éster activo XX como
aceite incoloro. Espectro infrarrojo (IR; neto): 3300, 1820,
1780, 1735, 1720, 1695 cm^{-1} . Espectro de resonancia magnética
5 nuclear [RMN (CDCl_3 + 1 gota de D_2O)] : δ (en ppm) 1,63 (2H, q,
J = 9 Hz), 2,15 (2H, m), 3,40 (6H, m), 4,60 (1H, d-d, J = 7
y 5 Hz), 5,13 (2H, s), 6,20 (2H, ancho), 7,40 (5H, s).

EJEMPLO 4

N-Benciloxicarbonilo-5-norbornen-2,3-dicarboximida (XVII)

10 A una solución agitada de 2,64 g (0,066 moles) de hidró-
xido sódico en 50 ml de agua se añaden 3,58 g (0,02 moles) de
N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida XIX a 10°C . A la so-
lución se añaden gota a gota 6,82 g (0,04 moles) de cloruro
15 de benciloxicarbonilo durante un periodo de 40 minutos a
 $0-5^\circ\text{C}$ y la mezcla se agita durante 4 horas a la temperatura
ambiente. A la mezcla de reacción se añaden 20 ml de n-hexano
para dar un precipitado blanco que se recoge por filtración
y se seca al aire. El producto crudo se cristaliza en bence-
no - n-hexano para dar 5,1 g (81 %) de prismas incoloros
20 XVII, p.f. $121-122^\circ\text{C}$. IR (KBr): 1810, 1780, 1740, 1630 cm^{-1} .
RMN (acetona- d_6): δ (en ppm) 1,66 (2H, s ancho), 3,45 (4H,
m), 5,37 (2H, s), 6,12 (2H, t, J = 1,5 Hz), 7,48 (5H, s).

Análisis para $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_5$:

Calculado: C, 65,17; H, 4,83; N, 4,47

Encontrado: C, 65,50; H, 4,73; N, 4,44.

EJEMPLO 5

6'-N-Benciloxicarbonilkanamicina A (II) (6'-Cbz-kanamicina A)

30 A una solución agitada de 4,84 g (0,01 moles) de kana-
micina A en forma de base libre en 50 ml de THF acuoso al
50 % se añaden 3,14 g (0,01 moles) de XVII en varias porcio-



1 nes, durante un periodo de 1 hora, a 7°C. La mezcla se con-
 tinúa agitando durante 4 horas y después se evapora a vacío
 para separar el disolvente orgánico. La solución acuosa re-
 sultante se diluye con 150 ml de agua y se extrae dos veces
 5 con 100 ml cada vez de butanol saturado de agua. La capa bu-
 tanólica se lava con 100 ml de agua y se evapora a vacío para
 dar 1,78 g de poli-Cbz-kanamicina A. La capa acuosa y las
 aguas de lavado se combinan y concentran a vacío hasta unos
 50 ml. La solución acuosa se pasa por una columna de resina
 10 cambiadora de ión CG-50 (NH₄⁺, 140 ml), que se desarrolla su-
 cesivamente con 200 ml de agua, 1,9 litros de NH₄OH 0,05 N,
 1,9 litros de NH₄OH 0,1 N y finalmente 1 litro de NH₄OH 0,3 N.
 El eluato se recoge en fracciones de 20 ml y se divide en las
 dos fracciones siguientes sobre la base del valor R_f de la
 15 cromatografía en capa fina [CCF (S-114; 6'-Cbz-kanamicina
 R_f 0,23, kanamicina R_f 0,07)]. Cada fracción se evapora a va-
 cío y el residuo se seca a vacío sobre pentóxido de fósforo.

Fracción	Tubo núm.	eluído con	Cantidad	Identidad
20 1	106-144	NH ₄ OH 0,1 N	3,44 g (56 %)	6'-Cbz-kanamicina (II)
2	203-212	NH ₄ OH 0,3 N	0,54 g (11 %)	kanamicina recuperada

La 6'-Cbz-kanamicina (II) así preparada es muy pura y homogénea por cromatografía en capa fina sobre una placa de gel de sílice, p.f. 217-219°C. Las propiedades físico-químicas concuerdan con las de una muestra auténtica.

EJEMPLO 6

1-N[L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril] kanamicina A (BB-K8, IV)
a través de la base de Schiff del benzaldehído

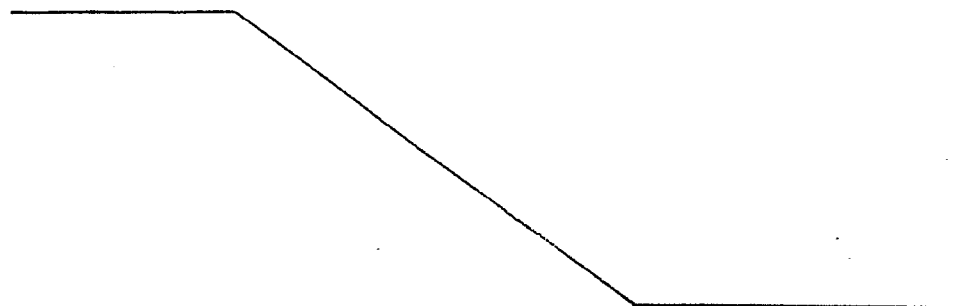
30 A una solución agitada de 6,19 g (0,01 moles) de 6'-



1 Cbz-kanamicina (II) en 50 ml de THF al 50 % se añaden 3 ml
(0,03 moles) de benzaldehído. La mezcla se agita durante 3 ho-
ras a la temperatura ambiente, se enfría a 5°C y después se
trata con una solución de 4 g (0,01 moles) de XX en 50 ml de
5 THF. La mezcla se agita durante 1 hora a 5°C, se ajusta a
pH 2 con HCl 6 N, se agita durante 1 hora más a la tempera-
tura ambiente y después se evapora a vacío para separar el di-
solvente orgánico. La solución acuosa resultante se lava con
20 ml de CH₂Cl₂, se ajusta a pH 4 con NH₄OH al 10 % y se hi-
10 drogona durante la noche con 1,25 g de paladio al 10 % en car-
bón, bajo la presión atmosférica y a la temperatura ambiente.
Se separa el catalizador por filtración y se lava con 20 ml
de agua. Se combinan el filtrado y las aguas de lavado, se
ajusta a pH 8 con NH₄OH al 10 % y se pasa por una columna de
15 CG-50 (NH₄⁺, 200 ml), que se eluye con 0,4 litros de agua,
1,2 litros de NH₄OH 0,1 N, 2,06 litros de NH₄OH 0,3 N, 0,92
litros de NH₄OH 0,5 N y finalmente 1,2 litros de NH₄OH 1,0 N.
El eluato se recoge en fracciones de 20 ml y se separa en las
siguientes fracciones sobre la base del valor Rf en cromato-
20 grafía en capa fina sobre placa de gel de sílice (S-110,
ninhidrina) y ensayo en disco empleando B. subtilis PGI 219
y P. aeruginosa A 9843. Cada fracción se evapora a vacío y se
liofiliza.

25

30





Fración	Tubo núm.	NH ₄ OH acuoso eluido	rendimiento, peso	bio-rendimiento	
1	90-99	0,3 N	1603 mg (33 %)	1490 mg (30 %)	*1 kanamicina recuperada
2	152-161	0,3 N	483 mg (8 %)		BB-K 29
3	162-169	0,3 N	376 mg (6 %)	196 mg (3 %)	*2 BB-K 29 + BB-K 8
4	170-197	0,3 N-0,5 N	1877 mg (30%)	1350 mg (23 %)	*2 BB-K 8 + BB-K 11
5	198-203	0,5 N	100 mg (2 %)		BB-K 11
6	238-257	1,0 N	146 mg (2 %)		compuesto diacilado

*1 analizado frente a B. subtilis FCI 219

*2 analizado frente a K. pneumoniae A 20680 que es sensible al BB-K 8 y altamente resistente a la kanamicina al BB-K 11 y al BB-K 29.

1

5

10

15

20

25

30

	<u>Fracción</u>	<u>Tubo núm.</u>	<u>NH₄OH acuoso eluído</u>	<u>rendimiento, peso</u>	<u>b.</u>
1	1	90-99	0,3 N	1603 mg (33 %)	1
	2	152-161	0,3 N	483 mg (8 %)	
	3	162-169	0,3 N	376 mg (6 %)	
5	4	170-197	0,3 N-0,5 N	1877 mg (30%)	1
	5	198-203	0,5 N	100 mg (2 %)	
	6	238-257	1,0 N	146 mg (2 %)	

10 *₁ analizado frente a B. subtilis PCI 219

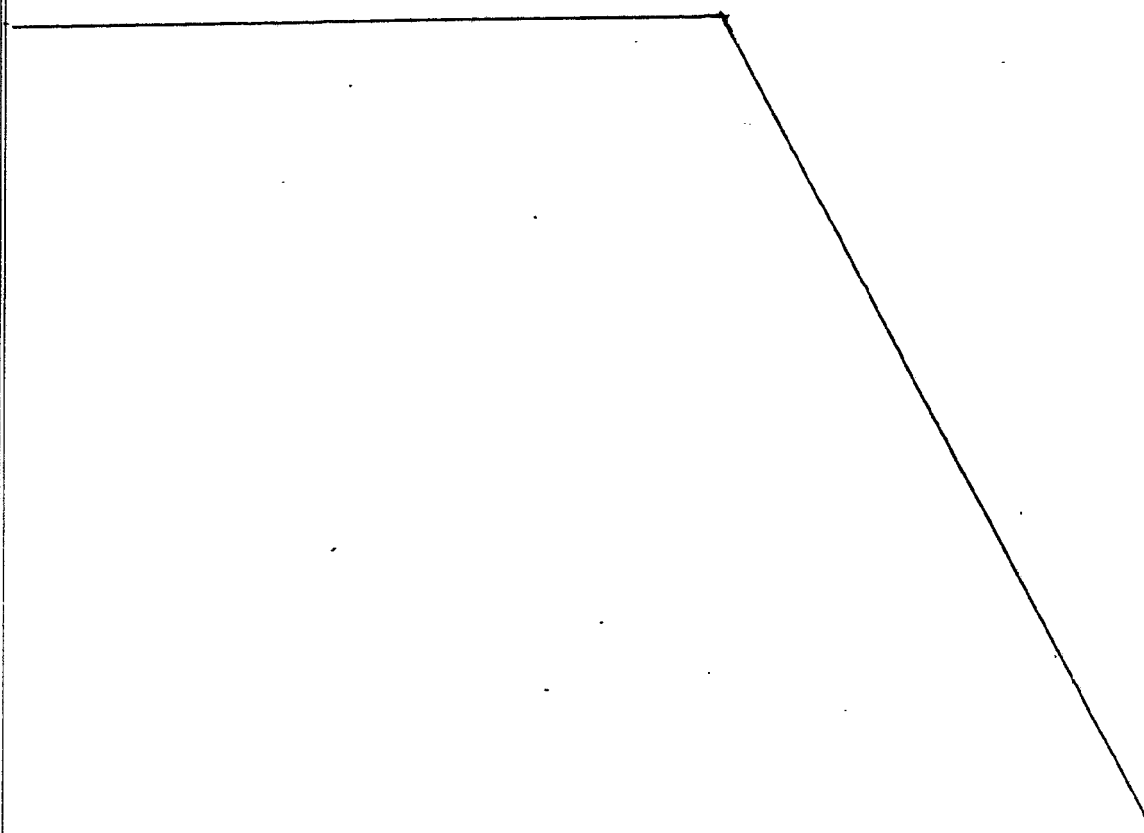
*₂ analizado frente a K. pneumoniae A 20680 que es sensible al BB-
al BB-K 11 y al BB-K 29.

15

20

25

30



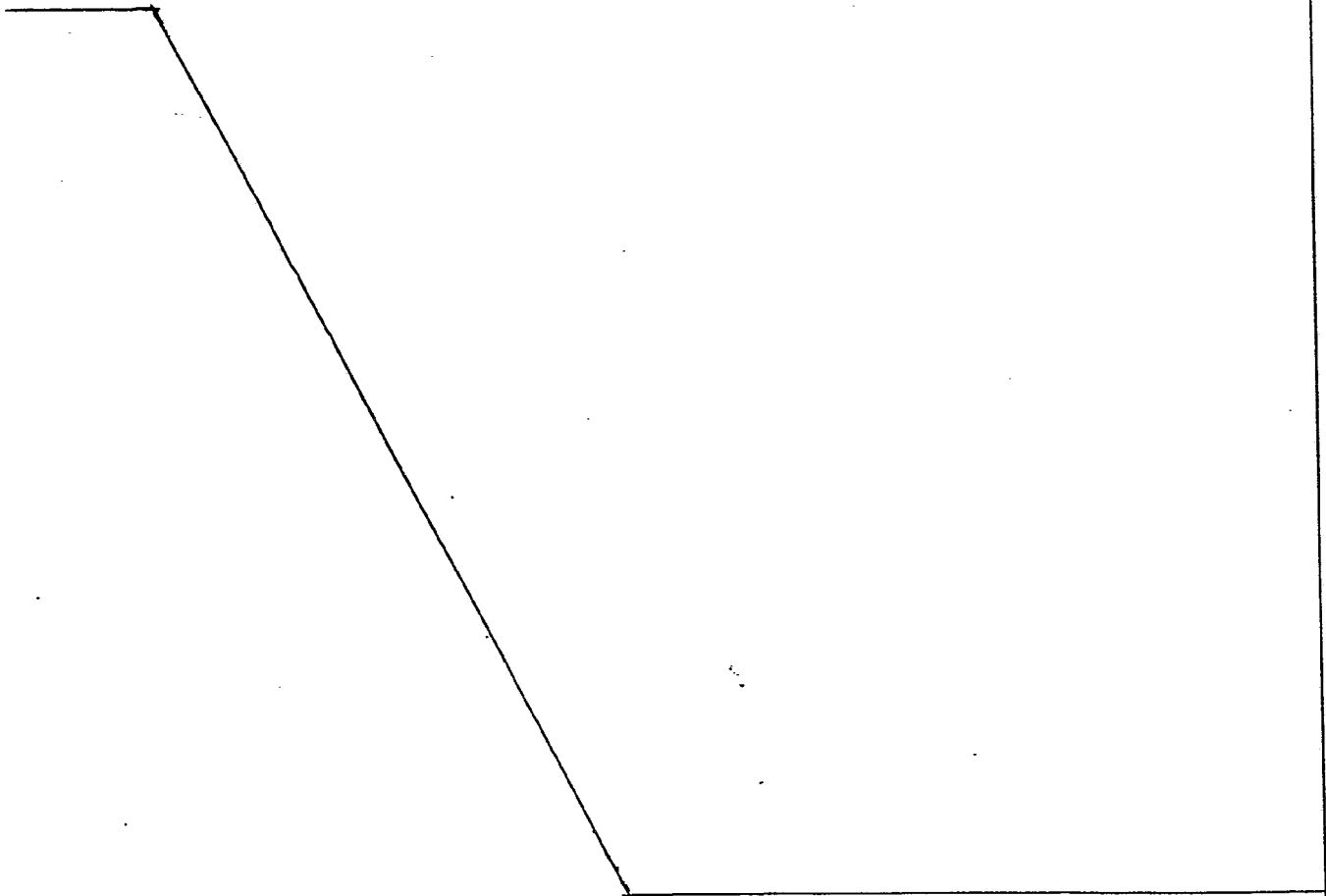


13 NOV 1964

<u>so eluido</u>	<u>rendimiento, peso</u>	<u>bio-rendimiento</u>	
3 N	1603 mg (33 %)	1490 mg (30 %) ^{*1}	kanamicina recuperada
3 N	483 mg (8 %)		BB-K 29
3 N	376 mg (6 %)	196 mg (3 %) ^{*2}	BB-K 29 + BB-K 8
3 N-0,5 N	1877 mg (30%)	1350 mg (23 %) ^{*2}	BB-K 8 + BB-K 11
5 N	100 mg (2 %)		BB-K 11
0 N	146 mg (2 %)		compuesto diacilado

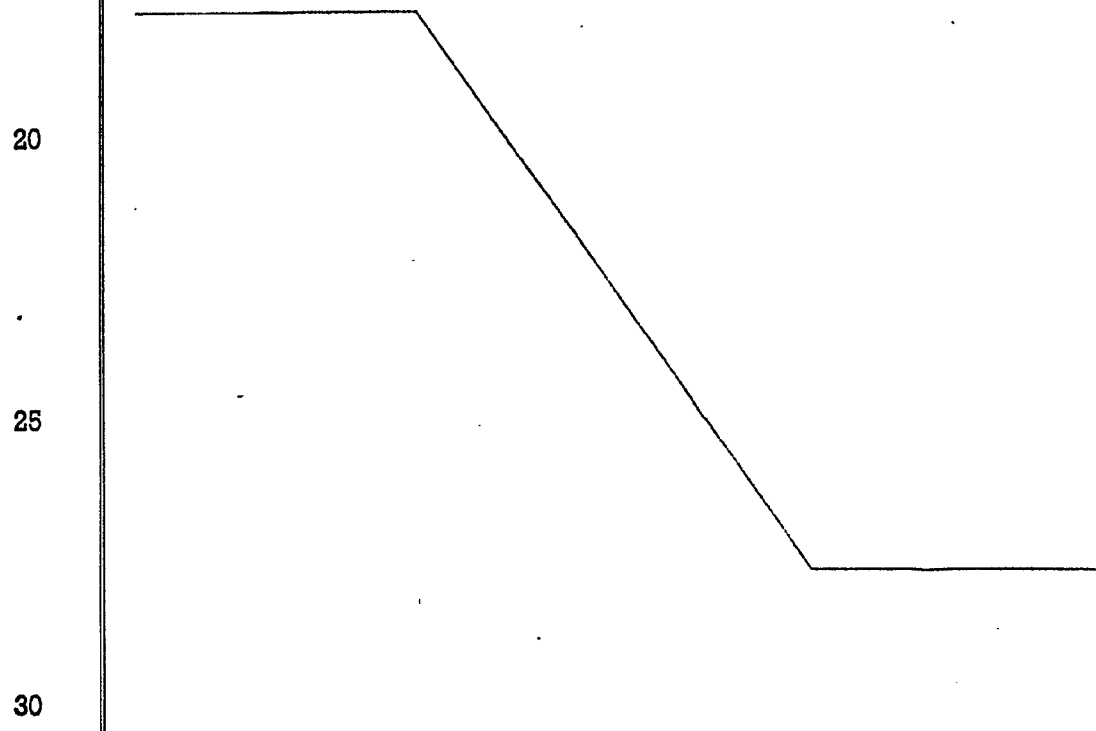
lis PCI 219

oniae A 20680 que es sensible al BB-K 8 y altamente resistente a la kanamicina





1 La fracción 4 (1,877 g) se disuelve en 10 ml de agua
desionizada. La solución se ajusta a pH 6 con HCl al 10 %
y se adsorbe sobre una columna CG-50 (NH_4^+ , 15 ml) que se elu-
5 ye con 100 ml de NH_4OH 0,3 N y 200 ml de NH_4OH 0,5 N. El
eluato se recoge en fracciones de 20 ml. Los tubos núms. 6 y
8 a 17 son ninhidrina positivos. Los tubos núms. 8 a 17 se
combinan y concentran a vacío hasta aproximadamente 1 ml. El
concentrado se trata con 3 ml de metanol y se filtra. El fil-
10 tro se lava con 0,5 ml de metanol acuoso al 75 %. Se combinan
el filtrado y las aguas de lavado, se diluyen con 10 ml adi-
cionales de metanol y se dejan en reposo durante la noche a
la temperatura ambiente. Se filtra el precipitado amorfo y el
15 filtrado se siembra para dar cristales incoloros de IV, que
es idéntico a una muestra auténtica. El filtrado se evapora
a vacío y se liofiliza. El rendimiento y el análisis de cada
fracción se encuentran en la siguiente tabla.





IV	Cantidad	Análisis		Rendimiento	
		B. subtilis	K. pneumoniae	B. subtilis	K. pneumoniae
polvo amorfo	70 mg	737 µ/mg	927 µ/mg	0,9 %	1,1 %
cristales	1098 mg	1163 µ/mg	1087 µ/mg	19 %	19 %
polvo liofilizado	180 mg	608 µ/mg	504 µ/mg	1,9 %	1,6 %

1

5

10

15

20

25

30

1	IV	Cantidad	Análisis	
			B. subtilis	K. pneumon
	polvo amorfo	70 mg	737 μ /mg	927 μ
	cristales	1098 mg	1163 μ /mg	1087 μ
5	polvo liofilizado	180 mg	608 μ /mg	504 μ
10				
15				
20				
25				
30				



Cantidad	Análisis		Rendimiento	
	<u>B. subtilis</u>	<u>K. pneumoniae</u>	<u>B. subtilis</u>	<u>K. pneumoniae</u>
70 mg	737 μ /mg	927 μ /mg	0,9 %	1,1 %
1098 mg	1163 μ /mg	1087 μ /mg	19 %	19 %
180 mg	608 μ /mg	504 μ /mg	1,9 %	1,6 %



1 BB-K 11 es la 3"-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril] kanami-
cina A.

BB-K 29 es la 3-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril] kanamici-
na A.

5

EJEMPLO 7

Preparación de ácido L-(-)- γ -benciloxycarbonilamino- α -hidro-
xibutírico (VI)

10

A una solución de 5,2 g (0,13 moles) de hidróxido só-
dico en 50 ml de agua se añaden 7,4 g (0,062 moles) de ácido
L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutírico. A la solución agitada se
añaden gota a gota, a 0-5°C, durante un periodo de media ho-
ra, 11,7 g (0,068 moles) de cloruro de carbobenzoxi y se con-
tinúa agitando durante 1 hora más a la misma temperatura. La

15

mezcla de reacción se lava con 50 ml de éter, se ajusta a
pH 2 con ácido clorhídrico diluido y se extrae con cuatro por-
ciones de 80 ml de éter. Se combinan los extractos etéreos,
se lavan con una pequeña cantidad de solución saturada de
cloruro sódico, se secan con sulfato sódico anhidro y se fil-
tran. El filtrado se evapora a vacío y el residuo resultante

20

se cristaliza en benceno para dar 11,6 g (74 %) de placas in-
coloras, p.f. 78,5-79,5°C, $[\alpha]_D - 4,5^\circ$ (c = 2, CH₃OH). Espec-
tro infrarrojo (IR) [KBr] : IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1740, 1690 cm⁻¹.

25

Resonancia magnética nuclear (RMN) (acetona-d₆) δ (en ppm a
partir de TMS) 2,0 (2H, m), 3,29 (2H, d-d, J = 6,7 y 12 Hz),
4,16 (1H, d-d, J = 4,5 y 8 Hz), 4,99 (2H, s), 6,2 (2H; ancho),
7,21 (5H, s).

30

Análisis para C₁₂H₁₅NO₅:

Calculado : C, 56,91; H, 5,97; N, 5,53

Encontrado: C, 56,66; H, 5,97; N, 5,47.



1

EJEMPLO 8

Ester de N-Hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -benciloxi-carbonilamino- α -hidroxibutírico (VII)

5

10

15

20

25

30

Se enfría a 0°C una solución de 10,6 g (0,042 moles) de VI y 4,8 g (0,042 moles) de N-hidroxisuccinimida¹ en 200 ml de acetato de etilo y después se añaden 8,6 g (0,042 moles) de dicitclohexilcarbodiimida. La mezcla se mantiene durante la noche en un frigorífico. La dicitclohexilurea que se separa se filtra y el filtrado se concentra hasta unos 50 ml bajo presión reducida para dar cristales incoloros de VII que se recogen por filtración; 6,4 g, p.f. 121-122,5°C, El filtrado se evapora a sequedad a vacío y el residuo cristalino se lava con 20 ml de una mezcla de benceno - n-hexano para dar una cantidad adicional de VII. El rendimiento total es de 13,4 g (92 %). $[\alpha]_D^{25} 1,5^\circ$ (c = 2, CHCl₃). IR (KBr) $\nu_{C=O}$ 1810, 1755, 1740, 1680 cm⁻¹. RMN (acetona-d₆) δ (en ppm a partir de TMS) 2,0 (2H, m), 2,83 (4H, s), 3,37 (2H, d-d, J = 6,5 y 12,5 Hz), 4,56 (1H, m), 4,99 (2H, s), 6,3 (2H, ancho), 7,23 (5H, s).

Análisis para C₁₆H₁₈N₂O₇:

Calculado : C, 54,85; H, 5,18; N, 8,00

Encontrado: C, 54,79, 54,70; H, 5,21, 5,20; N, 8,14, 8,12.

1. G.W. Anderson y colaboradores, J. Am.-Chem. Soc., 86, 1839 (1964).

EJEMPLO 9

Preparación de N-(benciloxicarbonilo) succinimida

Se disuelven 23 g (0,2 moles) de N-hidroxisuccinimida en una solución de 9 g (0,22 moles) de hidróxido sódico en 200 ml de agua. A la solución agitada se añaden gota a gota



1 34 g (0,2 moles) de carbobenzoxicloruro enfriando con agua
y después la mezcla se agita a la temperatura ambiente duran-
te la noche para separar el derivado carbobenzoxi que se re-
5 recoge por filtración, se lava con agua y se seca al aire. Ren-
dimiento: 41,1 g (82 %). Por recristalización en benceno -
n-hexano (10:1) se obtienen prismas incoloros que funden a
78-79°C.

1. G.W. Anderson y colaboradores, J. Am. Chem. Soc.,
86, 1839 (1964).

10

EJEMPLO 10

Preparación de 6'-carbobenzoxikanamicina A (II)

Se enfría por debajo de 9°C y se agita fuertemente una
solución de 42,5 g (90 milimoles) de kanamicina A en forma de
base libre en 450 ml de agua y 500 ml de dimetilformamida
15 (DMF). A la solución se añade gota a gota, durante un pe-
riodo de unas 2 horas, una solución de 22,4 g (90 milimoles)
de N-(benciloxicarboniloxi)succinimida en 500 ml de DMF. La
mezcla se agita entre -10° y 0°C durante la noche y después
a la temperatura ambiente durante 1 día. La mezcla de reac-
20 ción se evapora a presión reducida por debajo de unos 50°C.
El residuo oleoso se disuelve en una mezcla de 500 ml de agua
y 500 ml de butanol, filtrando la mezcla para separar la ma-
teria insoluble y se separa en dos capas. El butanol y las
25 capas acuosas se tratan con 500 ml de agua saturada de buta-
nol por dos veces y otras dos veces con 500 ml de butanol sa-
turado de agua, respectivamente, utilizando una técnica si-
milar a la distribución en contracorriente. Las tres capas
acuosas se combinan y evaporan a sequedad bajo presión redu-
cida para dar un residuo oleoso, una parte del cual cristali-
30 za al permanecer en reposo a la temperatura ambiente. Al re-



1 siduo conteniendo los cristales se añaden alrededor de 100 ml
de metanol que disuelve el aceite y lo separa de los crista-
les. Después de añadir alrededor de 300 ml de etanol, la
mezcla se mantiene a la temperatura ambiente durante la noche
5 para dar una masa cristalina que se recoge por filtración.
Pesa 44 g. El producto contiene una pequeña cantidad de
kanamicina A como indica la cromatografía en capa delgada
utilizando n-propanol - piridina - ácido acético - agua
(15:10:3:12) como sistema disolvente y ninhidrina como reac-
10 tivo pulverizado.

El producto crudo se disuelve en 300 ml de agua y se
cromatografía en una columna (30 mm de diámetro) de resina
cambiadora de ión CG-50 (tipo NH_4^+ , 500 ml). La columna se
irriga con solución de hidróxido amónico 0,1 N y el eluato
15 se recoge en fracciones de 10 ml. El producto deseado está
contenido en los tubos números 10-100, mientras que la kana-
micina A se recupera de las fracciones que se mueven más len-
tamente y el isómero o isómeros de posición del producto pa-
recen estar contenidos en las fracciones que se mueven más
20 rápidamente. Se combinan las fracciones 10-110 y se evaporan
a sequedad bajo presión reducida para dar 24,6 g (45 %) de
un producto incoloro, 6-carbobenzoxi-kanamicina A (II)
[6'-Cbz-kanamicina A], que comienza a fundir y colorearse
a 204°C y se descompone a 212°C con desprendimiento de gas.
25 $[\alpha]_D + 106^\circ$ (c = 2, H₂O).

GCF (gel de sílice F254; ninhidrina).



	<u>Sistema disolvente</u>	Valor Rf			
		<u>6'-Cbz-kanamicina A</u>		<u>Kanamicina A</u>	
1	n-PrOH-piridina-AcOH-H ₂ O (15:10:3:12)	0,42 (principal)	0,33 (minoritaria)	0,15	0,04
5	Acetona-AcOH-H ₂ O (20:6:74)		0,24		0,14
	CHCl ₃ -MeOH-NH ₄ OH c.-H ₂ O (1:4:2:1)		0,76		0,50
10	AcOMe-n-PrOH-NH ₄ OH c. (45:105:60)		0,22*		0,04*

* Detectado con antrona-ácido sulfúrico.

Se encuentra que el producto final va acompañado de dos componentes minoritarios por cromatografía en capa fina con uno de los sistemas disolventes empleados. Sin embargo, el producto final se utiliza sin más purificación para la preparación de BB-K 8 (IV).

EJEMPLO 11

Preparación de ácido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico a partir de ambutirosina A o B o mezclas de las mismas

Se calientan a reflujo 5,0 g de ambutirosina A (patente estadounidense 3.541.078, concedida el 17 de Noviembre de 1970) con 160 ml de hidróxido sódico 0,5 N durante 1 hora. El hidrolizado se neutraliza con HCl 6 N y se cromatografía sobre una columna de CG-50 (tipo NH₄⁺). El ácido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico deseado se aísla desarrollando la columna con agua y separando el agua por liofilización. El ácido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico se caracteriza como un material cristalino con un punto de fusión de 212,5-214,5°C. (Columna 2, líneas 31-38, patente estadounidense 3.541.078).



1

EJEMPLO 12

Preparación de ácido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico a partir de ácido DL-α-hidroxi-γ-ftalimidobutírico

5

A) L-α-hidroxi-γ-ftalimidobutirato de deshidroabietilamonio

10

A una solución de 25 g (0,1 moles) de ácido 2-hidroxi-γ-ftalimidobutírico¹ en 200 ml de etanol se añade una solución de 29 g (0,1 moles) de deshidroabietilamina en 130 ml de etanol. La solución se sacude fuertemente durante 1 minuto y se mantiene a la temperatura ambiente durante 5 horas, durante las cuales cristalizan unas agujas finas. Los cristales se recogen por filtración, se lavan con 50 ml de etanol y se secan al aire para obtener 30,1 g (56 %) de un diastereómero de la sal de deshidroabietilamina, p.f. 93-94°C $[\alpha]_D^{24} + 15^\circ$ (c = 2,5, MeOH). Por recrystalización en 300 ml de etanol se obtienen 23,2 g (43 %) del producto puro, p.f. 94-95°C, $[\alpha]_D^{24} + 10,8^\circ$ (c = 2,5, MeOH). Una nueva recrystalización no altera el punto de fusión ni la rotación específica.

15

20

Análisis para $C_{32}H_{42}N_2O_5 \cdot H_2O$.

Calculado : C, 69,54; H, 8,02; N, 5,07

Encontrado: C, 69,58; H, 8,08; N, 5,07.

1. Y. Saito y colaboradores. Tetrahedron Letters, 1970, 4863.

25

B) Acido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico

30

A una solución de 1,5 g (0,014 moles) de carbonato sódico en 40 ml de agua se añaden 5,3 g (0,01 moles) de L-α-hidroxi-γ-ftalimidobutirato de deshidroabietilamonio y 60 ml de éter. La mezcla se sacude fuertemente hasta que se ha disuelto todo el sólido. Se separa la capa etérea. La solución acuosa se lava dos veces con 20 ml cada vez de éter y se evapora a 15 ml bajo presión reducida. Al concentrado se añaden



1 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se ca-
lenta a reflujo durante 10 horas. Después de enfriar, el
ácido ftálico separado se elimina por filtración. El filtra-
do se evapora a presión reducida. El residuo se disuelve en
5 10 ml de agua y la solución se evapora a sequedad. Esta ope-
ración se repite dos veces para separar el exceso de ácido
clorhídrico. El jarabe residual se disuelve en 10 ml de agua
y se filtra para separar una pequeña cantidad de ácido ftá-
lico insoluble. El filtrado se adsorbe sobre una columna de
10 IR-120 (H^+ , 1 cm x 35 cm), se lava la columna con 300 ml de
agua y se eluye con solución de hidróxido amónico 1 N. El
eluato se recoge en fracciones de 15 ml. Las fracciones nin-
hidrina positivas 10 a 16 se combinan y evaporan bajo presión
reducida para dar un jarabe que cristaliza gradualmente. Los
15 cristales se trituran con etanol, se filtran y secan en un
desecador de vacío para dar 0,78 g (66 %) de ácido L-(-)- γ -
amino- α -hidroxibutírico, p.f. 206-207°C, $[\alpha]_D^{24} -29^\circ$ (c = 2,5,
 H_2O). El espectro IR es idéntico al de una muestra auténtica
que se obtiene a partir de la ambutirosina.

20

EJEMPLO 13

Preparación de 6'-carbобензохи-1,3,3"-три-р-нитробензохи-
micina A (IIIc)

25

30

Se suspenden 9,0 g (14,5 milimoles) de 6'-carbобензохи-
kanamicina en 500 ml de etanol absoluto a 24°C y se añaden
8,7945 g (58,2 milimoles) de p-nitrobenzaldehido. La mezcla
se calienta a reflujo. Durante este tiempo la mezcla se con-
vierte en una solución amarilla transparente pero a reflujo
rápidamente comienza a formarse un sólido blanco. La mezcla
se calienta a reflujo durante 3 horas, después se enfría y
el producto se recoge por filtración y se lava con una pe-



1 queña cantidad de etanol absoluto. El rendimiento es de
14,0 g (94,5 %) de un sólido cristalino blanco, p.f. 233-
234° (sin corregir) del producto del título IIIc.

Análisis para $C_{47}H_{51}N_7O_{19}$:

5 Calculado : C, 55,46; H, 5,05; N, 9,63

Encontrado: C, 55,39; H, 5,08; N, 9,60.

EJEMPLO 14

Preparación de 1-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril]kanami-
cina A (IV)

10 Se disuelven 5,0 g (4,91 milimoles) de 6'-cárbobenzoxi-
1,3,3"-tri-p-nitrobenzalkanamicina A en 50 ml de dimetilfor-
mamida (DMF) a 24°C. Se disuelven 2,064 g (5,895 milimoles)
del éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -bencil-
15 oxicarbonilamino- α -hidroxibutírico en 20 ml de DMF a 24°C y
se añaden lentamente y con intensa agitación a la solución de
la base de Schiff (IIIc) a lo largo de 75 minutos. La solu-
ción se agita a 24° durante la noche. Empleando el vacío del
eyector de vapor, la solución se seca instantáneamente a unos
20 40°C. Después se evapora repetidas veces con 100 ml de meta-
nol para dar un aceite viscoso. El aceite se disuelve en
100 ml de una mezcla 1:1 de dioxano y agua y se añaden 10 ml
de ácido acético glacial. La solución se introduce en un
frasco Parr de 500 ml junto con 2,5 g de paladio al 5 % en
25 carbón (Engelhard) y se reduce a una presión de hidrógeno
de 45 psi (3,2 kg/cm²) durante 4 horas a 24°C. La caída total
de presión en este tiempo (frasco cerrado) es de 87 psi
(6,1 kg/cm²), incluidas las represurizaciones periódicas. La
mezcla se filtra a través de una capa de tierra de diatomeas
que después se lava tres veces con 50 ml cada vez de dioxano
30 acuoso al 50 %. Los filtrados combinados se secan instantá-



1 neamente y se destilan azeotrópicamente con 100 ml de n-butanol y finalmente se evaporan instantáneamente repetidas veces con metanol dando un aceite viscoso. Se disuelven 30 ml de metanol y se vierte lentamente en 1000 ml de éter dietílico

5 frío (5-10°C) con intensa agitación. Después de agitar la suspensión resultante durante media hora en un baño de hielo, el precipitado se recoge por filtración e inmediatamente se seca en un desecador a vacío sobre P₂O₅. La mezcla producida pesa 4,9620 g. La CCF (cromatografía en capa fina) indica

10 que está constituido principalmente por el compuesto IV, kanamicina A y algunas trazas de kanamicina A di- y tri-sustituída y contiene ácido 4-amino-2-hidroxi-butírico.

Las diversas fracciones se separan utilizando una columna de vidrio de 40 x 100 mm rellena con Amberlite IRC-50 (forma NH₄⁺, tipo I, 100/200 mallas) para formar un lecho de resina de unos 980 mm. La columna se carga con 4,600 g de la mezcla cruda disueltos en 1 ml de agua. La columna se eluye con un gradiente desde H₂O hasta NH₄OH 2 N, siendo recogido el eluato en fracciones de 15 ml. Se recogen 295 fracciones y después la columna se lava con 1,5 litros de NH₄OH 3 N. Se reúnen las fracciones basándose en sus rotaciones ópticas y el sólido se aísla de las mismas por liofilización.

25

Frac- ción N ^o	Composi- ción	Peso, g	Corrección al peso de cru- do completo, g	Bioaná- lisis	Rendimiento, %
120-150	kana A	1,1654	1,257	809	42,6
201-224	BB-K29	0,40	0,43	-	
228-241	BB-K8	0,6523	0,7036	786+101*	19,2**

30 * Promedio de 4 análisis en placa, ± desviación típica.

** Si se tiene en cuenta la kanamicina A recuperada, la conversión en BB-K8 (IV) es del 33,5 %.



1 En esta operación, la relación de BB-K8/kanamicina A
es de 0,45.

5 El compuesto IV, recuperado en este proceso, es idénti-
co a un producto auténtico obtenido por el método descrito
en la solicitud de patente estadounidense copendiente núme-
ro de serie 221.378, p.f. 194° (desc.). $[\alpha]_D^{21} +85^\circ$ (c = 2,
H₂O). Potencia relativa frente a B. subtilis (placa de ágar)
= 960 mcg/mg (patrón: kanamicina A en forma de base libre).

10 Análisis para C₂₂H₄₃N₅O₁₃·2H₂CO₃:

Calculado : C, 40,62; H, 6,68; N, 9,87

Encontrado: C, 40,21, 39,79; H, 6,96, 6,87;

N, 9,37, 9,49.

EJEMPLO 15

15 Preparación de la sal monosulfato de 1-N-[L(-)-γ-amino-α-
hidroxibutiril]kanamicina A

20 Se disuelve 1 mol de 1-N-[L(-)-γ-amino-α-hidroxibuti-
ril]kanamicina A en 1 a 3 litros de agua. La solución se fil-
tra para separar el sólido que no se ha disuelto. A la solu-
ción enfriada y agitada se añade 1 mol de ácido sulfúrico
disuelto en 500 ml de agua. La mezcla se continúa agitando
durante 30 minutos, después de los cuales se añade etanol
frío a la mezcla hasta que se produce la precipitación. El
sólido se recoge por filtración y se determina que se trata
de la sal monosulfato deseada.

25 EJEMPLO 16

30 Preparación de la sal disulfato de 1-N-[L(-)-γ-amino-α-hidro-
xibutiril]kanamicina A (BB-K8.2H₂SO₄)

Se disuelven 35 g de 1-N-[L(-)-γ-amino-α-hidroxibuti-
ril]kanamicina A (como el trihidrato de monobicarbonato) en
125 ml de agua desionizada. Se observa un pH de aproximadamen-



1 te 9,0. El pH se reduce a 7-7,5 con ácido sulfúrico al 50 % en volumen/volumen.

5 Se añaden 8,5 g de Darco G-60 (carbón activo) y la mezcla se suspende a la temperatura ambiente durante media hora. Se separa el carbón mediante filtración adecuada y se lava con 40 ml de agua. Las aguas de lavado se agregan al filtrado.

10 El filtrado y las aguas de lavado combinados se ajustan a pH 2-2,6 con ácido sulfúrico al 50 % en volumen/volumen. Se desprende una gran cantidad de dióxido de carbono. La solución se deja bajo el vacío de la vitrina agitando durante 20 minutos para expulsar el dióxido de carbono adicional.

15 A la solución desgasificada se añaden 8,5 g de Darco G-60. La mezcla se suspende durante media hora a la temperatura ambiente. Se separa el carbón mediante filtración adecuada y se lava con 35 ml de agua desionizada. El agua se agrega al filtrado.

20 El filtrado y las aguas de lavado combinados se ajustan a pH 1-1,3 con ácido sulfúrico al 50 % en volumen/volumen. Esta solución se agrega con rápida agitación, a lo largo de un periodo de 10 minutos, a 600-800 ml de metanol (3-4 volúmenes de metanol). La mezcla se agita durante 5 minutos a pH 1-1,3, se pasa por un tamiz de 100 mallas, se agita durante 2 minutos y se deja sedimentar durante 5 minutos. La mayor parte del líquido que sobrenada se separa por decantación. La suspensión restante se filtra adecuadamente, se lava con 200 ml de metanol y se seca a vacío a 50°C durante 24 horas. El rendimiento de BB-K8(sulfato dihidrógeno)₂ amorfo es 32-34 gramos, $[\alpha]_D^{22} \text{H}_2\text{O} = +74,75$, descomposición a 220-223°C.

25

30



1 y se divide en fracciones sobre la base del valor Rf de la
CCF sobre placa de gel de sílice (S-110, ninhidrina) y ensayo
en disco empleando B. subtilis PCI 219 y K. pneumoniae Tipo
22 nº 3038 A 20680. Cada fracción se evapora a vacío y se
5 liofiliza.

EJEMPLO 18

6'-Carbobenzoxi-1,3,3"-trisalicylalkanamicina A

10 Se suspenden 9,0 g (14,5 milimoles) de 6'-carbobenzoxi-
kanamicina A en 500 ml de etanol absoluto a 24°C y se añaden
58,2 milimoles de salicilaldehído. La mezcla se calienta a
reflujo. Durante este tiempo, la mezcla se transforma en una
solución amarilla transparente pero a reflujo comienza a for-
marse rápidamente un sólido blanco. La mezcla se calienta a
reflujo durante 3 horas, después se enfría y el producto se
15 recoge por filtración y se lava con una pequeña cantidad de
etanol absoluto. El punto de fusión después de recristalizar
en tetrahidrofurano-metanol-heptano 4:1:5 y secar es de
196-198°C.

20 Análisis para $C_{47}H_{54}N_4O_{16}$:

Calculado : C, 60,62; H, 5,86; N, 6,02

Encontrado: C, 58,67; H, 5,73; N, 5,98

Agua Karl Fischer, 2,45.

Análisis corregido para el agua:

25 Encontrado: C, 60,14; H, 5,60; N, 6,13.

EJEMPLO 19

Preparación de 1-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butiril]kanamici-
na A por el procedimiento in situ

30 En un equipo adecuado, se suspenden 1000 g (1,074 mo-
les) de 6'-carbobenzoxi-1,3,3"-trisalicylal-kanamicina A en
11.400 ml de THF a 22-25°C. Se añaden 600 ml de agua con agi-



1 tación. La disolución se produce en unos 10 minutos. Se añaden en forma sólida 181,5 g (0,716 moles) de ácido 4-bencil-oxycarbonilamino-2-hidroxi-butírico y 0,12 moles de N-hidroxi-5
5 5-norbornen-2,3-dicarboximida a la solución. El pH está comprendido entre 5,5 y 6,0. Manteniendo la temperatura a 22-25°C, se añaden 162,3 g (0,787 moles) de dicitclohexilcarbodiimida disueltos en 3000 ml de THF seco. La suspensión se agita durante 24 horas a 22-25°C y después se enfría a 0-5°C para cristalizar la dicitclohexilurea, durante 2 horas.

10 La urea se separa por filtración y la torta se lava con 800 ml de una mezcla 95:5 de THF y agua. El filtrado y las aguas de lavado se combinan y su volumen se reduce a vacío hasta 3000 ml. Se añaden 4000 ml de metanol y de nuevo se reduce el volumen a 3000 ml a vacío.

15 A la solución así obtenida se añaden 2000 ml de metanol absoluto a 40°C y después se siembra con 6'-carbobenzoxi-1,3,3"-trisalícilal-kanamicina A y se deja enfriar y cristalizar durante media a 1 hora. Después se añaden 2000 ml de agua a lo largo de media hora, con buena agitación, a unos
20 22-25°C durante 2 horas. Después la temperatura se reduce a 0-5°C durante 1 hora.

Se separa el sólido por filtración y se lava con 900 ml de una mezcla fría 2:1 de metanol y agua y después con 800 ml de metanol. El filtrado y las aguas de lavado se conservan.
25 La torta es esencialmente 6'-carbobenzoxi-1,3,3"-trisalícilal-kanamicina A recuperada.

El filtrado anterior se diluye con 1000 ml de agua. A esta mezcla se añaden 2000 ml de cloruro de metileno. A 25°C, se reduce el pH hasta 1,8-2,0 con HCl 6 N. Se mantiene a este
30 pH durante media hora.



1 Se separa la capa de cloruro de metileno y se lava la fase acuosa con 2000 ml adicionales de cloruro de metileno. Las fases orgánicas combinadas se conservan para la posible recuperación del salicilaldehído.

5 El pH de la fase acuosa se eleva a 3,5-4,0 con hidróxido amónico concentrado. Esta solución es hidrogenada a la temperatura ambiente, a una presión de 50 psi (3,5 kg/cm²) con hidrógeno gaseoso en presencia de paladio al 5 % en carbón. El biorendimiento de producto deseado en solución es del 10 30-45 % del teórico.

EJEMPLO 20

Preparación del compuesto IV empleando diversos porcentajes molares de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida mientras se mantienen constantes los otros porcentajes mo-
15 lares

Sustituyendo en el procedimiento del Ejemplo 20 los 0,12 moles de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida (HONB) allí empleados por los diversos porcentajes molares siguientes, se obtienen los diversos porcentajes de rendimiento del 20 compuesto IV:

<u>Experimento nº</u>	<u>Moles % de HONB</u>	<u>Rendimiento de compuesto IV, %</u>
1	0	9,33
2	2	20,07
25 3	10	31,72
4	50	36,52
5	100	36,01

30 Puede observarse en los resultados anteriores que la reacción producirá el compuesto IV en completa ausencia de HONB. Sin embargo, también puede observarse que los mejores



1 rendimientos de compuesto IV se obtienen cuando el porcentaje
molar de HONB es de 10 a 50 % de la cantidad molar de ácido
4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxitbutírico empleado en la
reacción de acilación. El mecanismo preciso mediante el cual
5 transcurre la acilación de la kanamicina bloqueada A es des-
conocido. Sin embargo, se observa que la presencia de HONB
de alguna manera produce mejores rendimientos que los obteni-
dos anteriormente.

EJEMPLO 21

10 Preparación de 1-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxitbutiril] kanami-
cina A (IV)

Se disuelven 18,6 g (20,0 milimoles) de 6'-carbобензохи-
1,3,3'-трисалицилал-канамидина А, preparada como se ha des-
crito en el Ejemplo 18, en 55 ml de dimetilformamida (DMF)
15 a 45°C. A la solución anterior se añaden 7,3 ml de agua y
102 ml de acetona. La solución se deja enfriar a unos 25°C
y se añade de una sola vez 50 ml de una solución de acetona
y 9,9 milimoles de éster de N-hidroxisuccinimida de ácido
L-(-)-γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxitbutírico. La mezcla
20 de reacción se agita a 25°C aproximadamente, durante 40 horas.
Posteriormente, se añaden 150 ml de agua y algunos cristales
de 6'-carbобензохи-1,3,3'-трисалицилал-канамидина А y la mez-
cla se agita a unos 25°C durante 1 hora seguido de 3 horas a
0-5°C. El exceso y la base de Schiff del salicilaldehido que
25 no ha reaccionado cristalizan y se recogen sobre un filtro.
La torta del filtro se lava con 60 ml de acetona acuosa al
50 %. Se seca la torta y se pesa para dar 9,4 g de la base de
Schiff recuperada, p.f. (crudo) 170-185°C.

30 El filtrado procedente de la operación anterior se tra-
ta con 40 ml de cloruro de metileno y el pH se ajusta desde



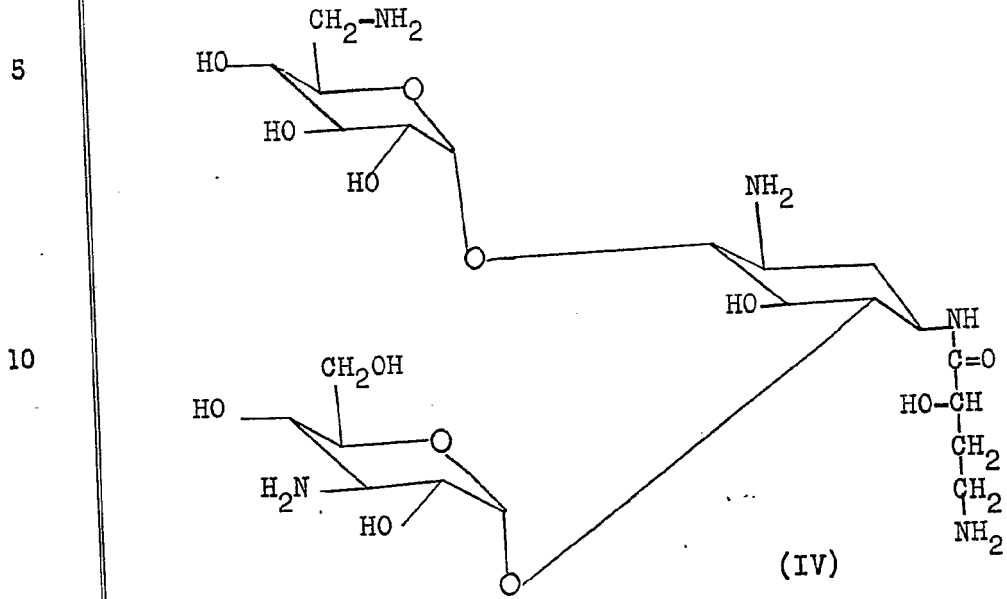
1 6,2 hasta 2,0 para separar más material de partida. Se sepa-
ran las capas y la capa acuosa se extrae dos veces con 40 ml
cada vez de cloruro de metileno. Se ajusta el pH de la capa
acuosa a 3,7 y se purga a vacío un pequeño volumen de aceto-
5 na y cloruro de metileno. La solución acuosa se hidrogena
después con 3,0 g de paladio al 5 % en carbón como cataliza-
dor, a 24°C, durante 15 horas y a 45 psi (3,2 kg/cm²) de hi-
drógeno. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra
de diatomeas para separar el catalizador. El filtrado se ajus-
10 ta a un volumen de 100 ml. Se toma una muestra de 1 ml de
esta solución para el ensayo en placa y en disco. El ensayo
en placa indica la presencia de 1936 mcg/ml de compuesto IV
y el ensayo en disco da un resultado de 2325 mcg/ml que co-
rresponde a un rendimiento del 33,4 % del producto final.

15 Los 99 ml restantes de solución se concentran hasta un
volumen de unos 30 ml y se hacen pasar por una columna cromatográfica como se ha descrito anteriormente, por ejemplo en el
Ejemplo 14. Las fracciones combinadas conteniendo el compues-
to IV, 500 ml, se concentran hasta unos 20 ml, después se
20 añaden 45 ml de metanol y a continuación se añaden gota a go-
ta alrededor de 25 ml de isopropanol para cristalizar el pro-
ducto. El material cristalino se recoge en un filtro, se lava
con una mezcla 50:50 de metanol e isopropanol y se seca para
dar 2,31 g de compuesto BB-K8 de fórmula IV. El ensayo en
25 placa del sólido da un resultado de 836 mcg/mg indicador de
una pureza del 83,6 % y un rendimiento real de compuesto pu-
ro de fórmula IV del 33,3 % calculado sobre los 9,9 milimo-
les del material de partida.

30 En resumen, la Patente de Invención que se solicita de-
berá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

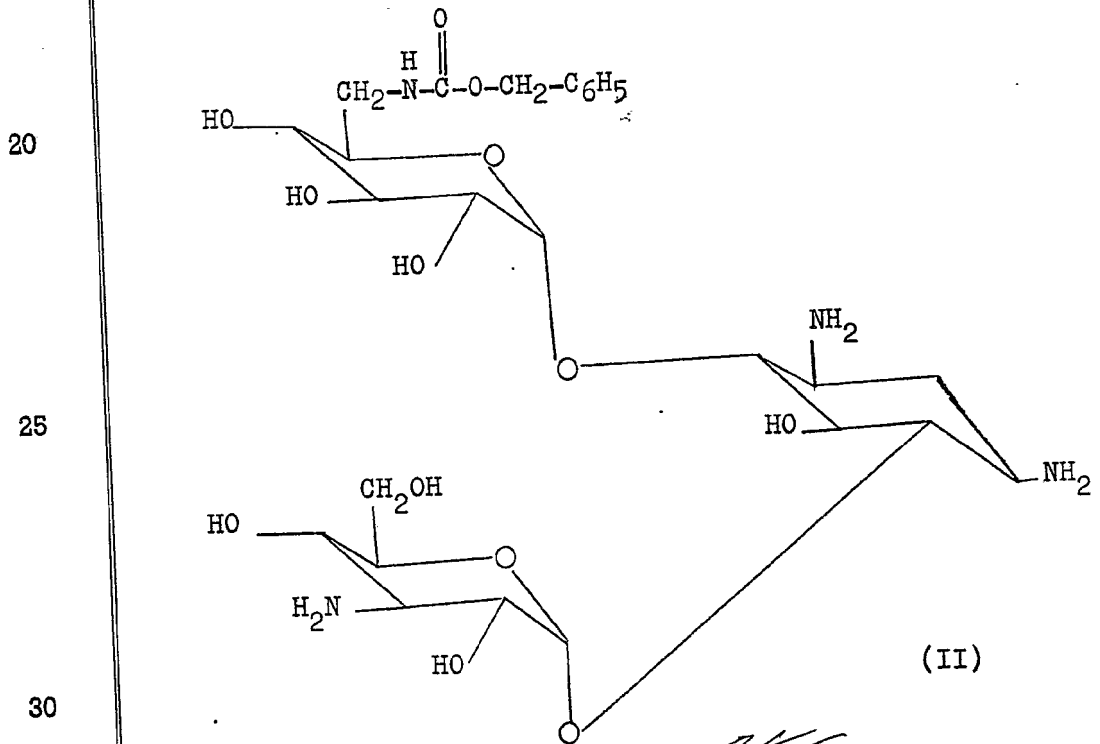
1. Un procedimiento mejorado para la preparación de un agente antibacteriano de fórmula:



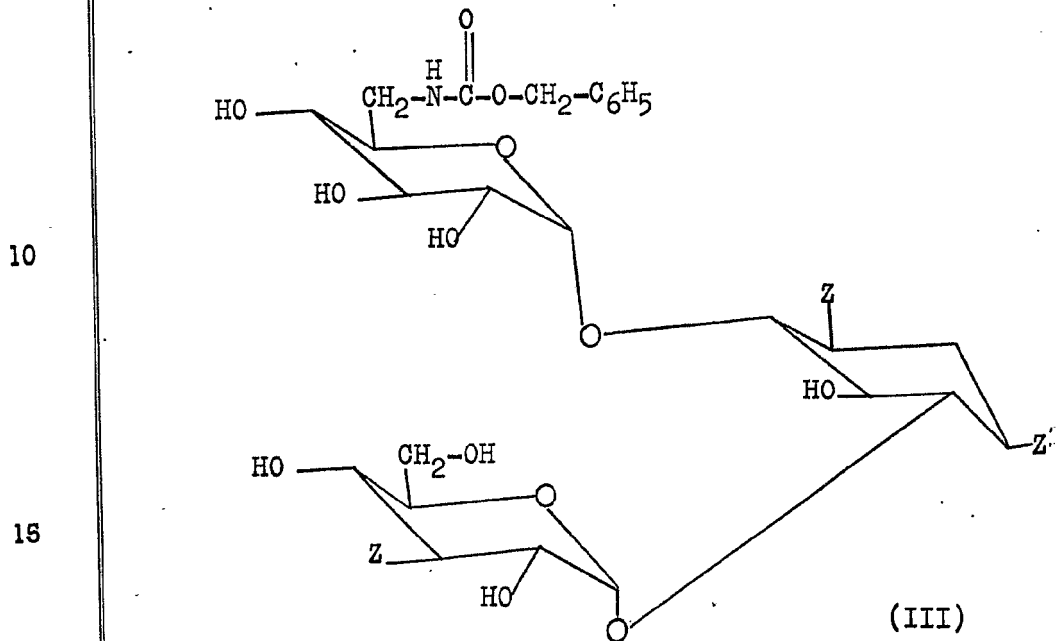
15

cuyo procedimiento comprende las etapas consecutivas de:

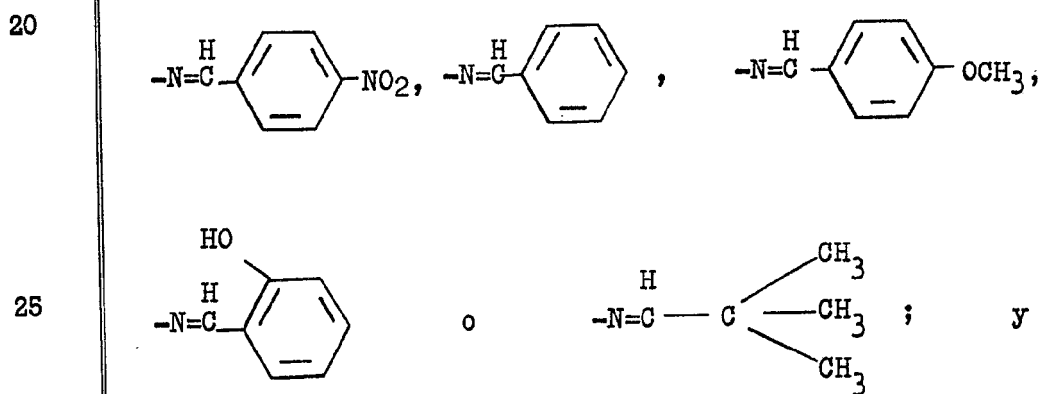
A) tratar el compuesto de fórmula:



1 con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por ben-
zaldehído; salicilaldehído, p-nitrobenzaldehído, p-metoxiben-
zaldehído y pivaldehído, en una proporción de un mol de com-
puesto II por cada tres moles como mínimo de aldehído, para
5 producir el compuesto de fórmula,



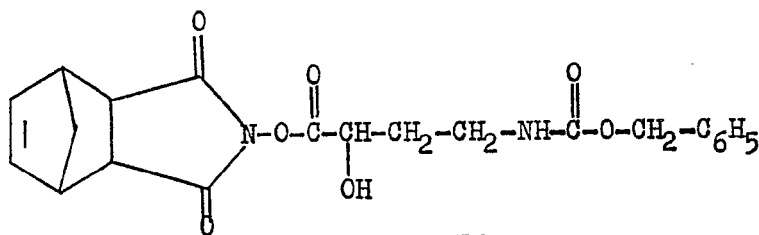
donde Z es un radical de fórmula



B) tratar el compuesto III in situ con el compuesto
de fórmula

30

1



5

XX

en una relación de 1 mol de compuesto III por cada 0,5 moles como mínimo de compuesto XX y después hidrogenar el residuo in situ para producir el compuesto de fórmula IV.

10

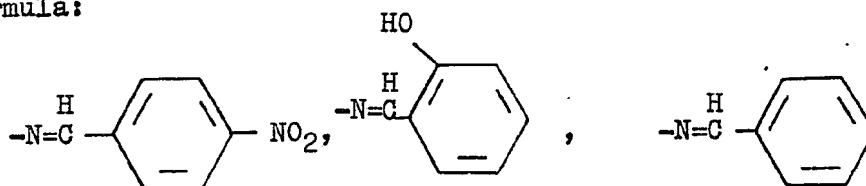
2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, que consiste en:

15

A) tratar el compuesto de fórmula II con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por benzaldehído, p-nitrobenzaldehído, salicilaldehído, p-metoxibenzaldehído, y pivaldehído, en una proporción de un mol de compuesto II por cada tres moles como mínimo de aldehído, en etanol absoluto, metanol, n-propanol, cloruro de metileno, isopropanol, n-butanol, sec-butanol, terc-butanol, tetrahydrofurano, dioxano, dimetilformamida o acetona, o mezclas de los mismos, o una mezcla con agua, en un intervalo de temperaturas comprendido entre 5°C y aproximadamente la temperatura de reflujo, durante un período de tiempo de unos 30 minutos a unas 5 horas, para producir el compuesto de fórmula III donde Z es un radical de fórmula:

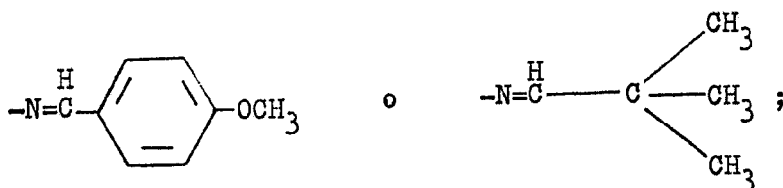
20

25



30

1



5

y

10

B) tratar el compuesto III con el compuesto de fórmula XX, en una relación de un mol de compuesto III por cada 0,5 moles como mínimo de compuesto XX, en un intervalo de temperatura comprendido entre unos -10° y unos $+35^{\circ}\text{C}$, durante 1 hora como mínimo, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A; después separar el disolvente orgánico e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno, en presencia de un catalizador metálico del grupo formado por paladio, platino, níquel Raney, rodio, rutenio y níquel, en agua o en un sistema formado por agua y un disolvente miscible con agua seleccionado del grupo formado por agua y dioxano, tetrahydrofurano, éter dimetílico de etilenglicol y éter dimetílico de propilenglicol, a un pH de 3-5, para producir un compuesto de fórmula IV.

15

20

3. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 y 2, que consiste en:

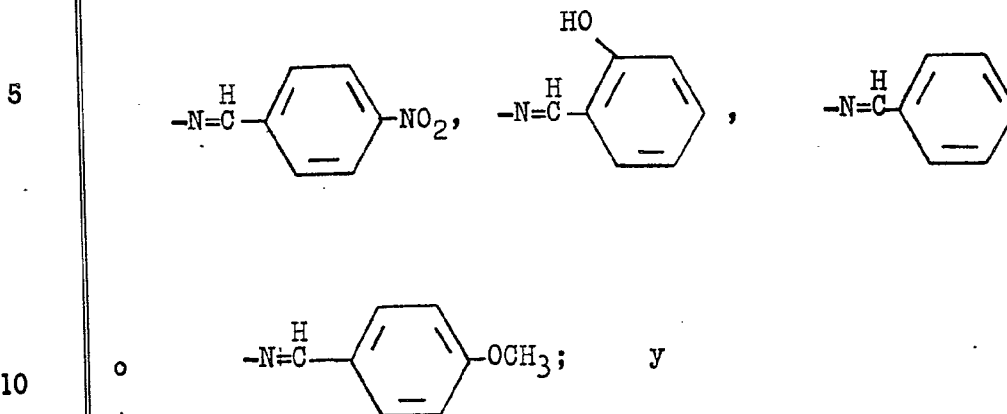
25

A) tratar el compuesto de fórmula II con un aldehído seleccionado entre el grupo formado por benzaldehído, salicilaldehído, p-nitrobenzaldehído y p-metoxibenzaldehído, en una relación de 1 mol de compuesto II por cada 3 moles como mínimo de aldehído, en etanol absoluto, metanol, n-propanol, isopropanol, cloruro de metileno, n-butanol, sec-butanol, terc-butanol, tetrahydrofurano, dioxano, dimetilformamida o acetona o una mezcla de estos o una mezcla de estos con agua, en un intervalo de temperaturas de 5° a 40°C , durante un pe-

30

~~76~~

1 riodo de tiempo de unos 30 minutos a unas 5 horas, para pro-
ducir el compuesto de fórmula III, donde Z es un radical de
fórmula



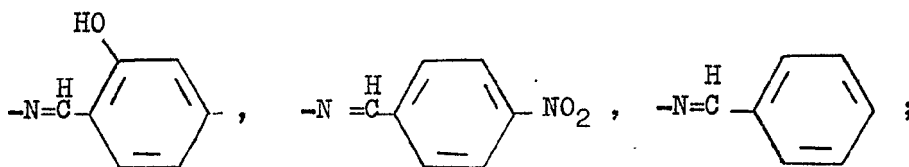
15 B) tratar el compuesto III in situ o después de aislar-
lo con el compuesto de fórmula XX, en una relación de un mol
de compuesto III por cada 0,5 a 1,0 moles aproximadamente de
compuesto XX, en un intervalo de temperaturas de +5°C a 35°C,
durante 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descri-
to en la Etapa A; después separar el disolvente e hidrogenar
el residuo in situ con hidrógeno, en presencia de un catali-
20 zador metálico seleccionado entre el grupo formado por pala-
dio, platino, níquel Raney, rodio, rutenio y níquel, en agua
o en un sistema formado por agua y un disolvente miscible
con agua, seleccionado entre el grupo formado por agua y
dioxano, tetrahidrofurano, éter dimetílico de etilenglicol
25 y éter dimetílico de propilenglicol, a un pH de 3-5, para
producir el compuesto de fórmula IV.

4. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindi-
caciones 1 a 3, que consiste en:

30 A) tratar el compuesto de fórmula II con un aldehido
seleccionado entre el grupo formado por benzaldehido, sali-

1 cilaldehido y p-nitrobenzaldehido, en una relación de un
mol de compuesto II por cada tres moles aproximadamente de
aldehido, en etanol absoluto, metanol, n-propanol, isopropa-
5 nol, n-butanol, sec-butanol, terc-butanol, tetrahidrofurano,
dioxano, cloruro de metileno, dimetilformamida o acetona o
una mezcla de estos o mezclas de estos con agua, en un in-
tervalo de temperaturas de 5°C a 40°C, durante un periodo de
tiempo de unos 30 minutos a unas 5 horas, para producir el
compuesto de fórmula III donde Z es un radical de fórmula:

10




15

B) tratar el compuesto III in situ o después de aislarlo
con el compuesto de fórmula XX en una relación de 1 mol de
compuesto III por cada 0,5 a 0,85 moles de compuesto XX, a
temperaturas de +5°C a 30°C, durante 1 a 3 horas, en un sis-
tema disolvente como el descrito en la Etapa A; después se-
20 parar el disolvente e hidrogenar el residuo in situ con hi-
drógeno, en presencia de un catalizador metálico selecciona-
do entre el grupo formado por paladio, platino, níquel Raney,
rodio, rutenio y níquel, en agua o en un sistema formado por
agua y un disolvente miscible con agua, seleccionado entre
25 el grupo formado por agua y dioxano, tetrahidrofurano, éter
dimetílico de etilenglicol y éter dimetílico de propilen-
glicol, a un pH de 4 aproximadamente, para producir el com-
puesto de fórmula IV.

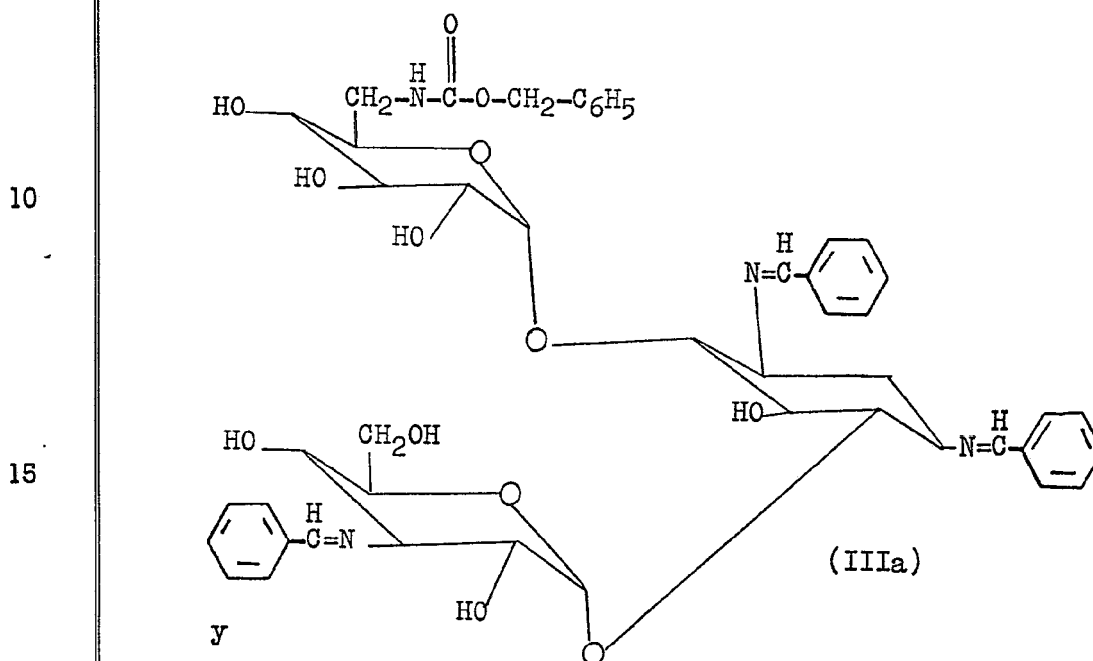
25

30

5. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindica-
ciones 1 a 4, que consiste en:



1 A) tratar el compuesto de fórmula II con benzaldehído
en una relación de 1 mol de compuesto II por cada 3 moles
aproximadamente de benzaldehído, en una mezcla aproximada-
mente 1:1 de agua y tetrahidrofurano, a unos 20-30°C, durante
5 2 a 4 horas aproximadamente, a un pH de 10 aproximadamente,
para producir el compuesto de fórmula

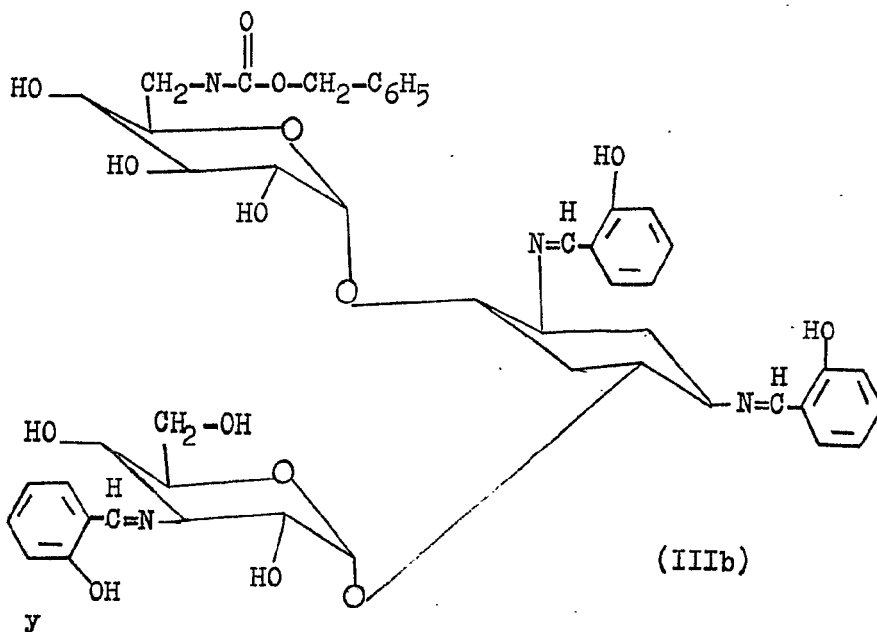


B) tratar el compuesto IIIa in situ o después de aislar
lo con el compuesto de fórmula XX, en una relación de 1 mol
de compuesto IIIa por cada 0,6-0,75 moles de compuesto XX,
a una temperatura comprendida aproximadamente entre 20 y
30°C, durante un periodo de tiempo de 1 a 3 horas, en un sis-
tema disolvente como el descrito en la Etapa A, una mezcla
de cloruro de metileno, metanol y agua o una mezcla de di-
metilformamida, acetona y agua; después separar el disolven-
te orgánico a vacío, ajustar el pH a 4 con hidróxido amónico
e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno a la presión
atmosférica, en presencia de paladio en carbón, para producir
el compuesto de fórmula IV.

95

1 6. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, que consiste en:

5 A) tratar el compuesto de fórmula II con salicilaldehído en una relación de 1 mol de compuesto II por cada 3 moles aproximadamente de salicilaldehído, en una mezcla aproximadamente 1:1 de agua y tetrahidrofurano, a unos 20-30°C durante 2 a 4 horas aproximadamente a un pH alrededor de 8, para producir el compuesto de fórmula:



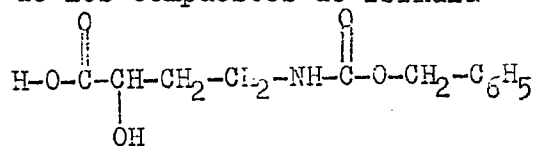
25 B) tratar el compuesto IIIb in situ o después de aislarlo con el compuesto de fórmula XX, en una relación de 1 mol de compuesto IIIb por cada 0,6-0,75 moles aproximadamente de compuesto XX, a una temperatura comprendida entre unos 20 y unos 30°C, durante un periodo de tiempo de 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A, o una mezcla de dimetilformamida, acetona y agua; después separar el disolvente orgánico a vacío, ajustando el pH a 4 con hidróxido amónico e hidrogenar el residuo in situ con hidrógeno a la presión atmosférica, en presencia de paladio

30

25

1 sobre carbón, para producir el compuesto de fórmula IV.

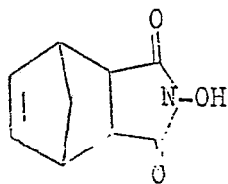
7. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en el que la Etapa B consiste en tratar un compuesto de fórmula III in situ o después de aislarlo con el compuesto de fórmula XX también formado in situ por reacción de los compuestos de fórmula



(VI)

16

y



(XIX)

15

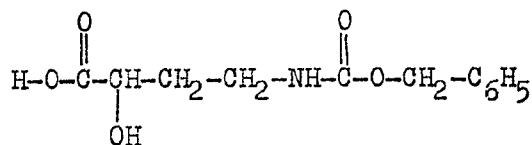
seguido de la adición de dicitclohexilcarbodiimida, en una relación de 1 mol de compuesto III por cada 0,5-1,0 moles aproximadamente de cada uno de los compuestos VI y dicitclohexilcarbodiimida y alrededor de 0,005 a 0,25 moles de compuesto XIX, en un intervalo de temperaturas comprendido aproximadamente entre -10°C y +35°C, durante 10 horas como mínimo, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A; después separar el disolvente orgánico e hidrogenar el residuo in situ como se ha descrito en cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para producir el compuesto de fórmula IV.

25

30

8. Un procedimiento según la Reivindicación 7, donde en la Etapa B un compuesto de fórmula III se trata in situ o después de aislarlo con el compuesto de fórmula XX también formado in situ por reacción de los compuestos de fórmulas

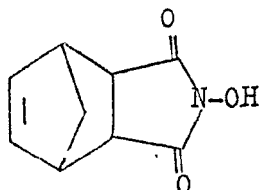
1



(VI)

5

y



(XIX)

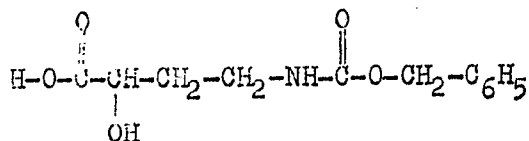
10

seguido de la adición de dicitclohexilcarbodiimida en una relación de 1 mol del compuesto III por cada 0,5 a 0,85 moles aproximadamente de cada uno de los compuestos VI y dicitclohexilcarbodiimida y alrededor de 0,05 a 0,425 moles de compuesto XIX, a temperaturas comprendidas entre +5°C y 25°C, durante 1 a 3 horas, en un sistema disolvente como el descrito en la Etapa A.

15

20

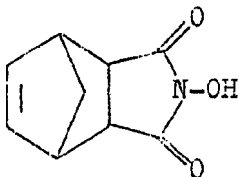
9. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 7 y 8, donde, en la Etapa B, un compuesto de fórmula III se trata in situ con el compuesto de fórmula XX también formado in situ por reacción de los compuestos de fórmulas



(VI)

25

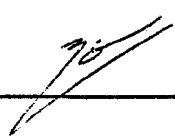
y



(XIX)

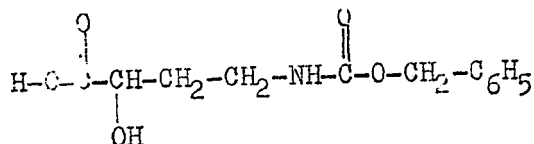
30

seguido de la adición de dicitclohexilcarbodiimida en una re-



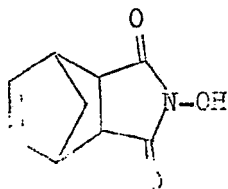
1 lación de 1 mol de compuesto III por cada 0,5-0,8 moles
aproximadamente de cada uno de los compuesto VI y diciclo-
hexilcarbodiimida y alrededor de 0,05 a 0,425 moles del com-
puesto XIX, a temperaturas de +15°C a +30°C, durante 15 a
5 25 horas.

10 10. Un procedimiento según la Reivindicación 5, donde,
en la Etapa B, un compuesto de fórmula IIIa se trata in situ,
o después de aislarlo con el compuesto de fórmula XX también
formada in situ por reacción de los compuestos de fórmula:



(VI)

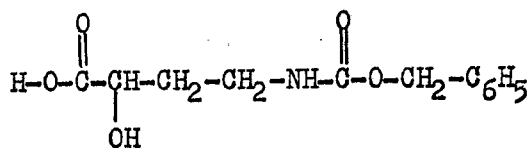
y



(XIX)

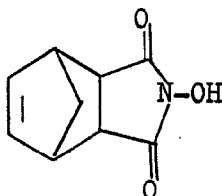
25 con agitación, seguido de la adición de diciclohexilcarbodi-
imida en una relación de 1 mol de compuesto III por cada
0,6-0,75 moles aproximadamente de cada uno de los compues-
tos VI y diciclohexilcarbodiimida y alrededor de 0,06 a
0,375 moles del compuesto XIX, en un intervalo de tempera-
turas de +25°C a +35°C, durante 15 a 25 horas, en una mez-
cla 1:1 de tetrahidrofurano y agua.

30 11. Un procedimiento según la Reivindicación 6, donde
en la Etapa B, un compuesto de fórmula IIIb se trata in situ
o después de aislarlo con el compuesto de fórmula XX también
formado in situ por reacción de los compuestos de fórmulas:



(VI)

y



(XIX)

10 con agitación, seguido de la adición de dicitclohexilcarbo-
diimida en una relación de 1 mol de compuesto IIIb por cada
0,6-0,75 moles aproximadamente de cada uno de los compues-
tos VI y dicitclohexilcarbodiimida y alrededor de 0,06 a
0,375 moles de compuesto XIX, en un intervalo de temperatu-
15 ras de +20°C a 30°C, durante 15 a 25 horas, en una mezcla
9:1 de tetrahidrofurano y agua.

12. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO MEJORADO PARA LA PREPARACION DE UN AGENTE
20 ANTIBACTERIANO.

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre-
sente Memoria descriptiva que consta de sesenta y dos pági-
nas mecanografiadas.

Madrid, 13 de Noviembre de 1974

BERNARDO INGRIA

P.P.

25

30