



ESPAÑA

449456

ES	(11) NUMERO	A1
	(21) 449.456	
	(22) FECHA DE PRESENTACION	
	1.7.76	

P.- 63.401

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES:		
(31) NUMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
452.600 10602/74	19.3.74 31.7.74	EE.UU. Suiza
(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07H A61K	428.892
(64) TITULO DE LA INVENCION		
"PROCELMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS PSEUDOTRISACARTDOS"		
(71) SOLICITANTE (S)		
SCHERICO LTD.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Töpferstrasse 5, Lucerna, Suiza		
(73) INVENTOR (ES)		
Marvin Joseph Weinstein, Peter John Lovell Daniels, Gerald Howard Wagman, Raymond Testa, Alan Keith Mallams, John Jessen Wright y Tattanahalli Lakshminarayan Nagabhusan		
(72) TITULAR (ES)		
(74) REPRESENTANTE		
D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ		

1 Este invento se refiere a un procedimiento para la
preparación de nuevos derivados sustituidos en 1-N de 4,6-
di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitoles activos como anti-
bacterianos.

5 Se conocen en la técnica agentes antibacterianos
de amplio espectro que pueden ser clasificados químicamente
como 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitoles. Agentes
antibacterianos valiosos de este grupo son aquellos en que
el aminociclitol es 2-desoxi-estreptamina o un derivado de
10 la misma que tiene funciones amino en las posiciones 1 y 3.
Agentes antibacterianos particularmente valiosos de las 4,6-
di-(aminoglicosil)-2-desoxiestreptaminas son aquellas en que
el grupo aminoglicosilo en la posición 6 es un radical garo-
samínilo. Dentro de la clase de las 4-aminoglicosil-6-garosa-
15 minil-2-desoxiestreptaminas se encuentran antibióticos tales
como gentamicinas B, B₁, C₁, C_{1a}, C₂, C_{2a}, C_{2b} y X₂; sisomi-
cina, verdamicina, Antibiótico G-418, Antibiótico G-52, Anti-
biótico JI-20A y Antibiótico JI-20B.

20 De acuerdo con este invento, se proporcionan compues-
tos en que el grupo amino en la posición 1 de la 2-desoxies-
treptamina o de un derivado de ella en un 4,6-di-(aminogli-
cosil)-1,3-diamino-ciclitol está sustituido selectivamente
en N. Los derivados sustituidos en 1-N de las 4,6-di-(amino-
glicosil)-2-desoxiestreptaminas o derivados de las mismas
25 son valiosos agentes antibacterianos de amplio espectro.

30 De acuerdo con el procedimiento de este invento,
se preparan derivados sustituidos en 1-N de los 4,6-di-(ami-
noglicosil)-1,3-diaminociclitoles gentamicina A, gentamicina
B, gentamicina B₁, gentamicina C₁, gentamicina C_{1a}, gentami-
cina C₂, gentamicina C_{2a}, gentamicina C_{2b}, gentamicina X₂,

1 sisomicina, verdamicina, tobramicina, Antibiótico G-418, An-
tibiótico 66-40B, Antibiótico 66-40D, Antibiótico JI-20A,
Antibiótico JI-20B, Antibiótico G-52, mutamicina 1, mutami-
cina 2, mutamicina 4, mutamicina 5 y mutamicina 6; en que el
5 sustituyentes es $-\text{CH}_2\text{X}$, siendo X hidrógeno, alcohilo, alque-
nilo, cicloalcohilo, cicloalcoholalcohilo, hidroxialcohilo,
aminoalcohilo, N-alcoholaminoalcohilo, aminohidroxialcohilo,
N-alcoholaminohidroxialcohilo, fenilo, bencilo o tolilo, te-
niendo dichos radicales alifáticos hasta siete átomos de car-
10 bono, y si están sustituidos con amino y con hidroxilo, llevan-
do los sustituyentes en diferentes átomos de carbono, y las
sales por adición de ácido farmacéuticamente aceptables de
los mismos.

Están incluidos entre los sustituyentes considera-
15 dos para el resto CH_2X en los nuevos compuestos, grupos al-
cohilo de cadena recta y ramificada tales como etilo, n-pro-
pilo, n-butilo, β -metilpropilo, n-pentilo, β -metilbutilo,
 γ -metilbutilo y β, β -dimetilpropilo; n-hexilo, δ -metilpen-
tilo, β -etilbutilo, γ -etilbutilo, n-heptilo, ϵ -metilhepti-
20 lo, β -etilpentilo, γ -etilpentilo, δ -etilpentilo, γ -propil-
butilo, n-octilo, iso-octilo, β -etilhexilo, δ -etilhexilo,
 ϵ -etilhexilo, β -propilpentilo, γ -propilpentilo; grupos al-
quenilo tales como β -propenilo, β -metilpropenilo, β -buteni-
lo, β -metil- β -butenilo, β -etil- β -hexenilo; grupos cíclicos
25 tales como ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexil-
metilo y ciclopentiletilo; grupos aromáticos tales como or-
to-, meta- y para-metilbencilo; grupos alcohilo de cadena
recta o ramificada sustituidos con hidroxilo tales como ϵ -hi-
droxipentilo, β -hidroxio- γ -metilbutilo, β -hidroxio- β -metil-
30 propilo, δ -hidroxibutilo, β -hidroxipropilo, γ -hidroxipro-

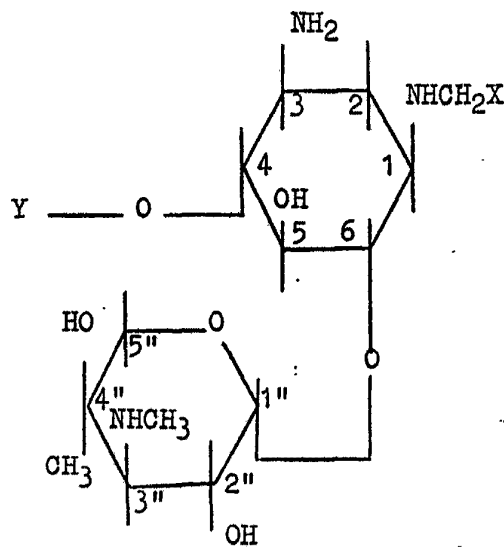
1 pila, ω -hidroxiocilo; grupos alcoholo de cadena recta y ra
mificada sustituidos con amino tales como ϵ -aminopentilo,
 β -aminopropilo, γ -aminopropilo, δ -aminobutilo, β -amino-
 γ -metilbutilo y ω -aminooctilo y derivados monoalcoholados
5 en \underline{N} de los mismos tales como los derivados \underline{N} -metílico, \underline{N} -
etilico y \underline{N} -propilico, por ejemplo ϵ -metilaminopentilo,
 β -metilaminopropilo, β -etilaminopropilo, δ -metilaminobuti-
lo, β -metilamino- γ -metilbutilo y ω -metilaminobutilo; gru-
pos alcoholo de cadena recta y ramificada disustituidos con
10 amino y con hidroxi tales como β -hidroxi- ϵ -aminopentilo,
 γ -hidroxi- γ -metil- δ -aminobutilo, β -hidroxi- δ -aminobutilo,
 β -hidroxi- γ -aminopropilo, y β -hidroxi- β -metil- γ -aminopro-
pilo; y derivados monoalcoholados en \underline{N} de los mismos tales
como β -hidroxi- ϵ -metilaminopentilo, γ -hidroxi- γ -metil- δ -
15 -metilaminobutilo, β -hidroxi- δ -metilaminobutilo, β -hidroxi-
 γ -etil-aminopropilo y β -hidroxi- β -metil- γ -metilaminopropi-
lo.

Los compuestos son preferiblemente derivados con
agrupación $1-\underline{N}-\text{CH}_2\text{X}$ que contienen el radical garosaminilo en
20 calidad de radical 6-aminoglicósido y que, en una caracterís-
tica más preferida, 2-desoxi-estreptamina como 1,3-diaminocic-
clitol.

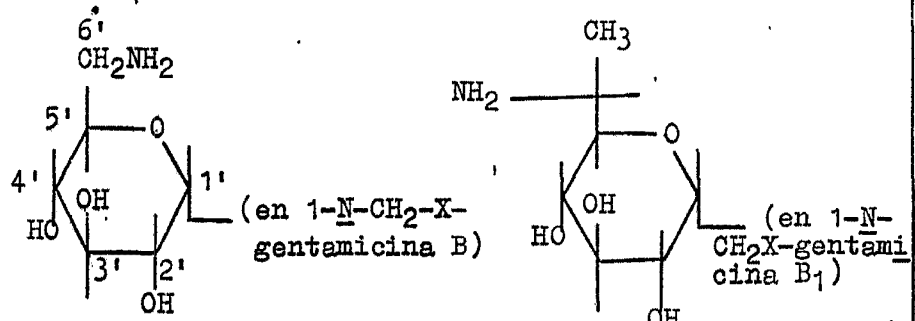
La 2-desoxi-estreptamina está presente en todos
los compuestos del invento antes enumerados, excepto en las
25 mutamicinas. El núcleo de 1,3-diaminociclitol en cada una de
las $1-\underline{N}-\text{CH}_2\text{X}$ -mutamicinas 1,2,4,5 y 6 son respectivamente es-
treptamina, 2,5-didesoxiestreptamina, 2-epi-estreptamina,
5-amino-2,5-didesoxiestreptamina y 5-epi-2-desoxiestreptami-
na.

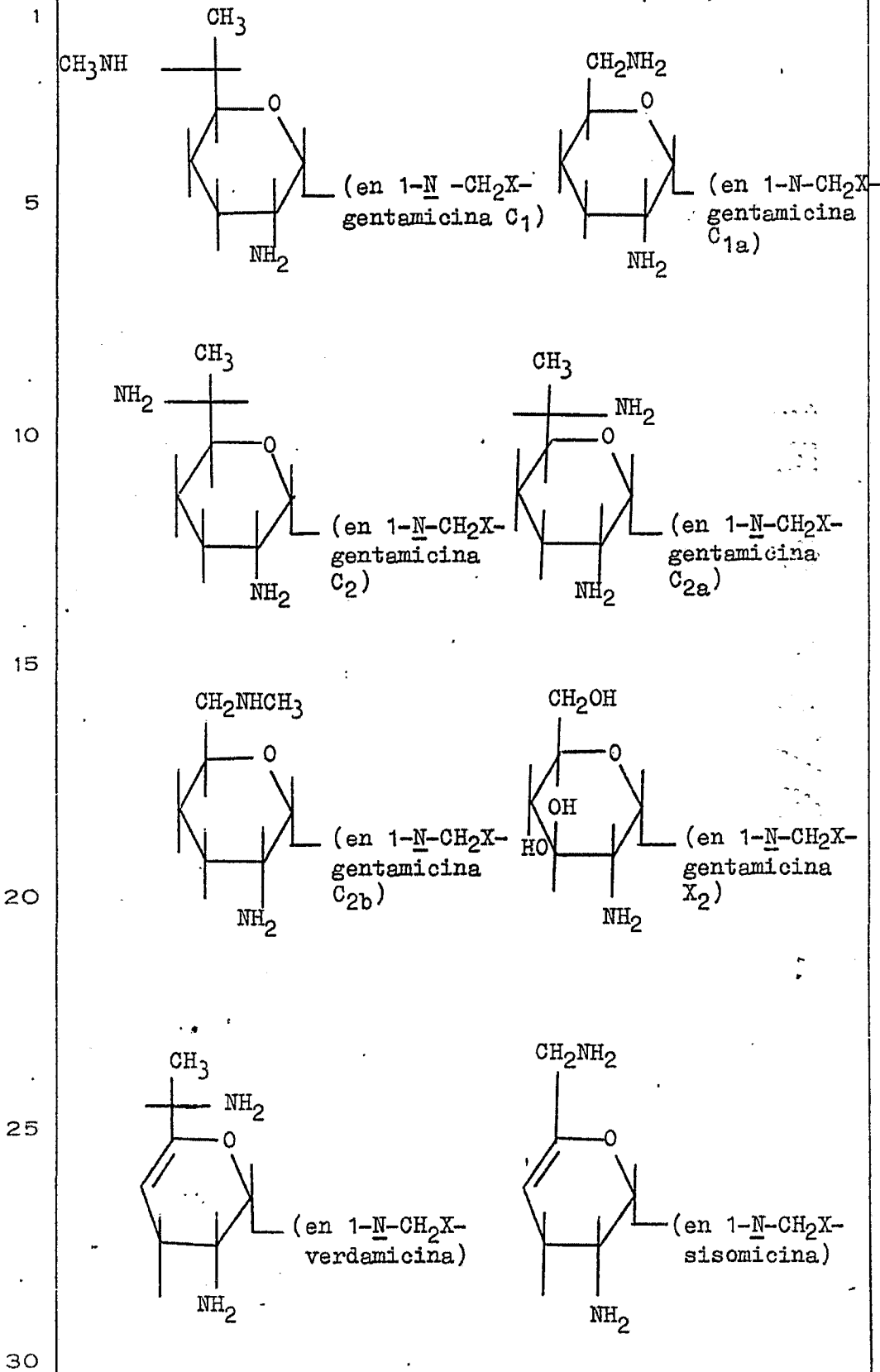
30 Las $1-\underline{N}-\text{CH}_2\text{X}$ -4-aminoglicosil-6-garosaminil-2-deso-

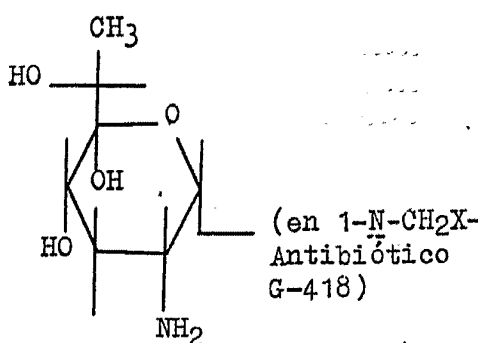
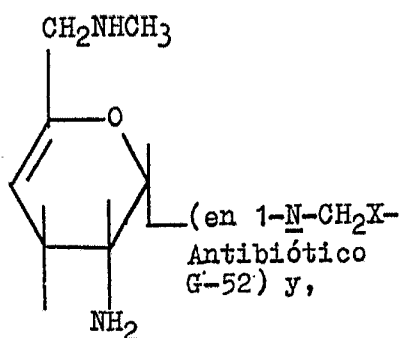
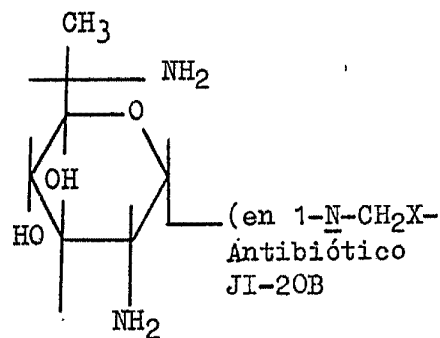
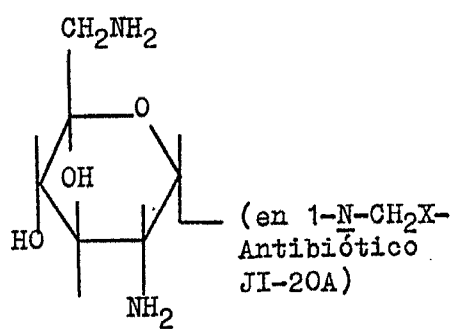
1 xiestreptaminas de este invento son los derivados de gentamicina B, gentamicina B₁, gentamicina C₁, gentamicina C_{1a},
 2 gentamicina C₂, gentamicina C_{2a}, gentamicina C_{2b}, gentamicina X₂, sisomicina, verdamicina, Antibiótico G-418, Antibiótico
 3 tico JI-20A, Antibiótico JI-20B y Antibiótico G-52, los cuales compuestos son definidos por la siguiente fórmula estructural I:



20 en que X es tal como arriba se ha definido, y en que Y es una función aminoglicosilo seleccionada del grupo que consiste en:

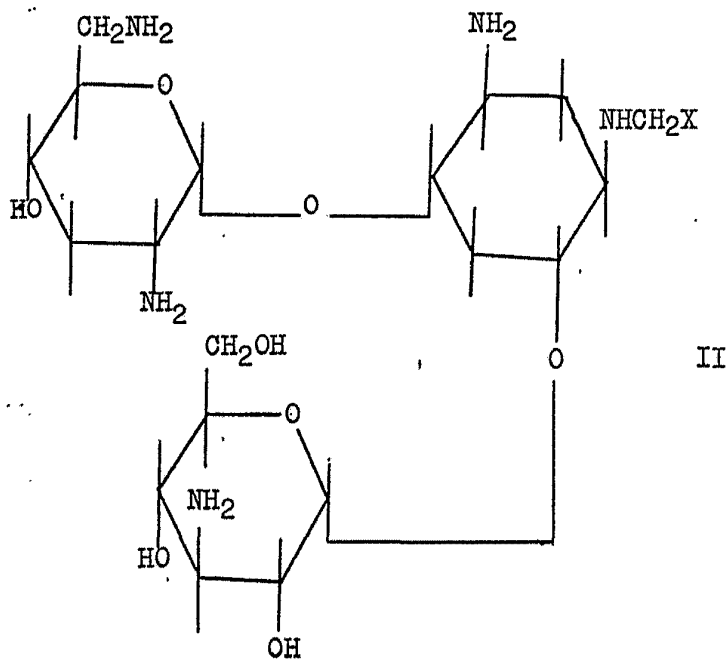




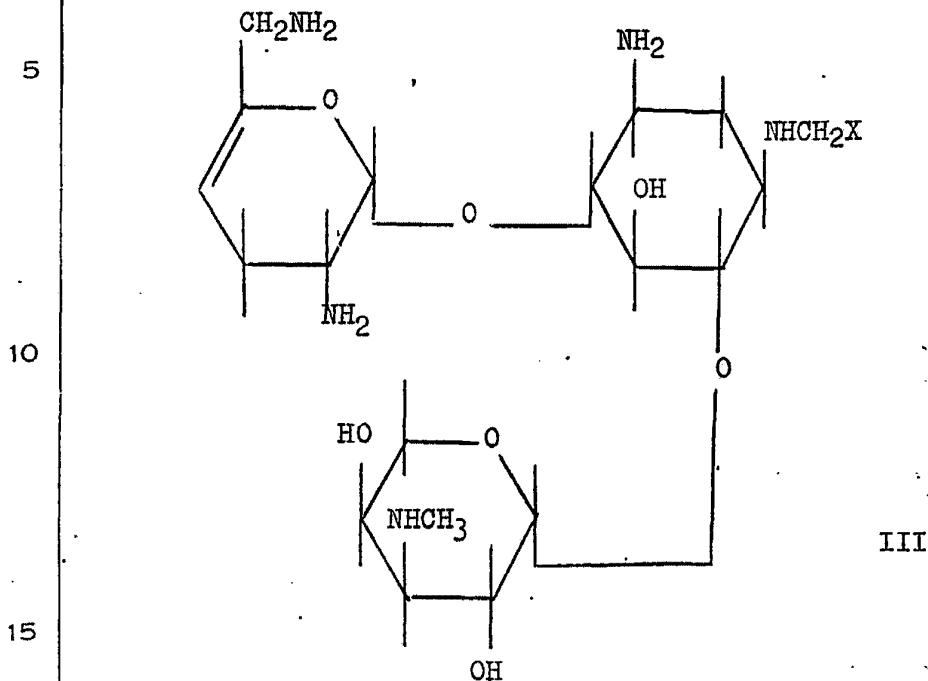


15

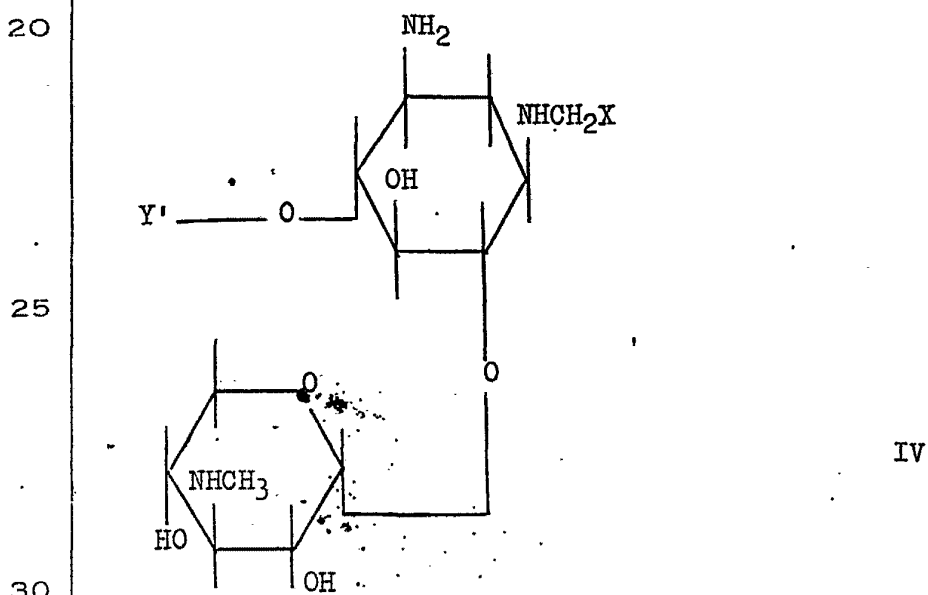
Otras 1-N-CH₂X-4,6-di(aminoglicosil)-2-desoxi-es-treptaminas útiles de este invento incluyen 1-N-CH₂X-tobramicina con la siguiente fórmula II:



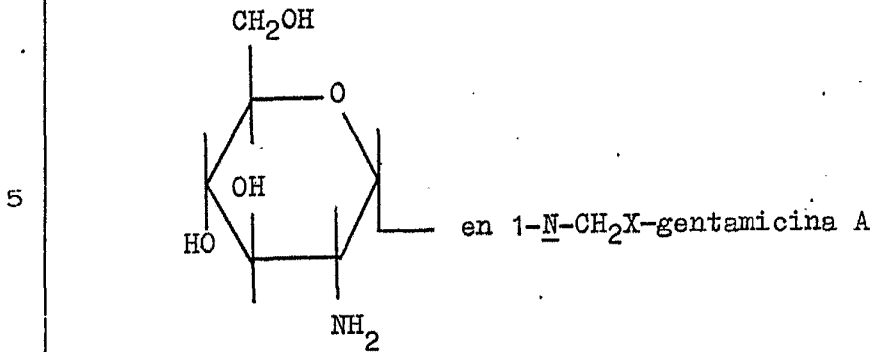
1 en que X es como anteriormente se ha definido; 1-N-CH₂X-Anti-
 5 tibiótico 66-40D con la siguiente fórmula III (que se encuen-
 tra entre los compuestos preferidos de este invento):



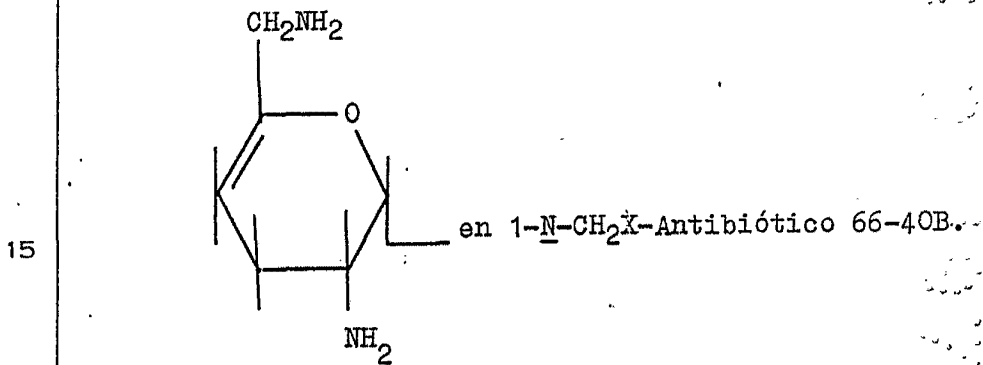
20 en que X es como anteriormente se ha definido; y 1-N-CH₂X-
 gentamicina A y 1-N-CH₂X-Antibiótico 66-40B con la siguiente
 fórmula IV:



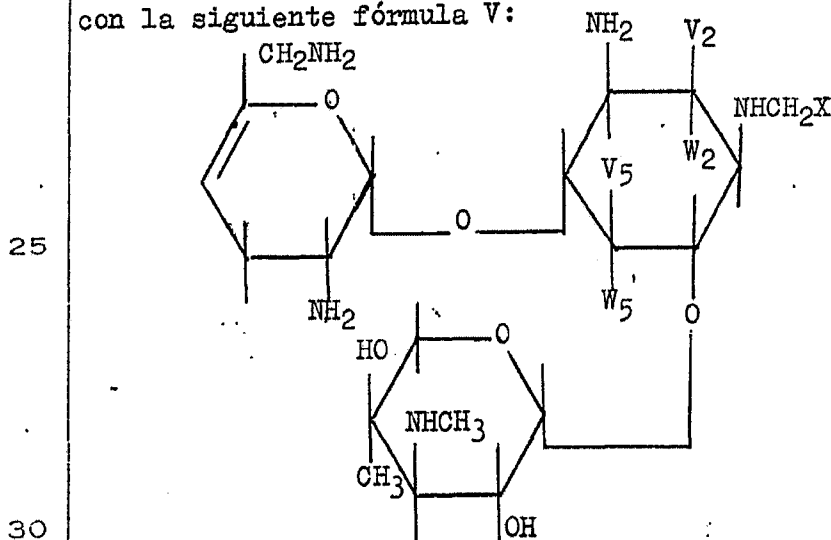
1 en que X es como anteriormente se ha definido e Y' es



10 e Y' es



20 Las 1-N-CH₂X-mutamicinas de este invento incluyen
1-N-CH₂X-4-aminoglicosil-6-garoseminil-1,3-diaminociclitoles
con la siguiente fórmula V:



1 en que X es como anteriormente se ha definido, y en 1-N-CH₂X-
mutamicina 1, V₂ y W₅ son hidrógeno y W₂ y V₅ son hidroxí;
en 1-N-CH₂X-mutamicina 2, W₂, V₂, W₅ y V₅ son hi-
drógeno;

5 en 1-N-CH₂X-mutamicina 4, W₂ y W₅ son hidrógeno y
V₂ y V₅ son hidroxí;

en 1-N-CH₂X-mutamicina 5, W₂, V₂ y W₅ son hidróge-
no y V₅ es amino; y

en 1-N-CH₂X-mutamicina 6, W₂, V₂ y V₅ son hidróge-

10 no mientras que W₅ es hidroxí.

En las fórmulas estructurales aquí expuestas, se
entiende que los sustituyentes no indicados en los termina-
les de enlace son átomos de hidrógeno.

También está incluida dentro del invento la prepa-
15 ración de sales por adición de ácido farmacéuticamente acep-
tables de los 1-N-CH₂X-4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminoci-
clitoles tal como se definen por las fórmulas I, II, III, IV
y V, las cuales sales son preparadas de acuerdo con métodos
conocidos, por ejemplo por neutralización de la base libre
20 con el ácido apropiado, usualmente a pH 5 aproximadamente.

Acidos apropiados para este fin incluyen ácidos tales como
los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, bromhí-
drico, acético, propiónico, maleico, ascórbico, cítrico y si-
25 milares. Las formas físicas de las sales por adición de áci-
do de los 1-N-CH₂X-4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclit-
les de este invento están caracterizadas por ser sólidos blan-
cos que son solubles en agua, escasamente solubles en la ma-
yor parte de los disolventes polares e insolubles en disol-
ventes orgánicos no polares.

30 Los 1-N-CH₂X-4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminoci-

1 clitoles, tal como se definen por las fórmulas I, II, III,
IV y V, y sus sales por adición de ácido farmacéuticamente
5 aceptables no tóxicas, exhiben en general una actividad anti-
bacteriana de amplio espectro. Particularmente los derivados
con agrupación 1-N-alcoholo inferior poseen actividades an-
tibacterianas mejoradas en comparación con los antibióticos
afines, que se manifiesta específicamente en la actividad
acrecentada de los compuestos contra organismos resistentes
al compuesto afin. Así, por ejemplo, los compuestos son más
10 activos contra organismos que inactivan a los antibióticos
afines por acetilación del grupo 3-amino- y/o por adenilila-
ción del grupo 2"-hidroxilo. Entre estos, algunos exhiben
también propiedades antiprotozoos, antiamebas y antihelmin-
tos.

15 Un grupo preferido de compuestos preparados de
acuerdo con el procedimiento del invento son los derivados
sustituídos en 1-N de las 4-aminoglicosil-6-garosaminil-2-
desoxiestreptaminas gentamicina B, gentamicina B₁, gentami-
na C₁, gentamicina C_{1a}, gentamicina C₂, gentamicina X₂, si-
20 somicina, verdamicina, Antibiótico JI-20A, Antibiótico JI-20B,
Antibiótico G-52 y Antibiótico G-418, de los cuales los más
preferidos son los derivados de gentamicina C₁, gentamicina
C_{1a}, sisomicina, verdamicina y Antibiótico G-52. Otros compues-
tos particularmente útiles son los derivados sustituídos en
25 1-N de Antibiótico 66-40D.

En el sustituyente en 1-N X se selecciona preferi-
blemente de hidrógeno, alcoholo, hidroxialcoholo, aminoalco-
hilo, aminohidroxialcoholo, fenilo o bencilo, teniendo dichos
radicales alifáticos hasta siete átomos de carbono y, si es-
30 tán sustituídos por amino e hidroxilo, llevando los sustituyen

tes en átomos de carbono diferentes. De éstos, los radicales preferidos son hidrógeno, alcohol, aminoalcohol e hidroxialcohol con hasta siete átomos de carbono y aminohidroxialcohol con hasta tres átomos de carbono y llevando los sustituyentes en átomos de carbono diferentes.

Compuestos particularmente útiles del invento son aquellos en que X es hidrógeno, metilo, etilo y propilo, y preferiblemente metilo y etilo. Un grupo particularmente valioso es el de las 1-N-CH₂X-4-aminoglicosil-6-garoseminil-2-desoxiestreptaminas de fórmula I en que X es un grupo alcohol inferior que tiene 1 a 3 átomos de carbono, particularmente los derivados de 1-N-alcohol inferior de gentamicina C₁, gentamicina C_{1a}, gentamicina C₂, gentamicina C_{2a}, gentamicina C_{2b}, sisomicina, verdamicina y Antibiótico G-52 así como 1-N-alcohol inferior Antibiótico 66-40D de fórmula III, los cuales derivados son agentes antibacterianos de espectro amplio, siendo activos contra bacterias gram-positivas (por ejemplo Staphylococcus aureus) y bacterias gram-negativas (por ejemplo Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa) según se determina por ensayos de dilución normalizados, incluyendo bacterias resistentes a los precursores que no están sustituidos en 1-N. Son particularmente útiles 1-N-etilverdamicina y 1-N-alcohol inferior-sisomicinas, por ejemplo 1-N-metilsisomicina, 1-N-(n-propil)-sisomicina, 1-N-(n-butil)-sisomicina y, preferiblemente, 1-N-etilsisomicina que exhiben actividad contra organismos gram-negativos que son resistentes a sus precursores que no están sustituidos en 1-N.

Otros compuestos particularmente útiles son 1-N-etilgentamicina C_{1a}, 1-N-etilgentamicina C₁, 1-N-etil-Antibiótico G-52, 1-N-(n-propil)-verdamicina, 1-N-(β -aminobutil)-sisomicina,

1 1-N-metilverdamicina, 1-N-(n-butyl)-verdamicina, 1-N-(S-2-
hidroxi-4-aminobutil)-gentamicina C₁, 1-N-(S-2-hidroxi-4-
aminobutil)-sisomicina y 1-N-(S-2-hidroxi-4-aminobutil)-ver-
damicina.

5 La mayor parte de los antibióticos de 4,6-di-(ami-
noglicosil)-1,3-diaminociclitol no sustituidos en 1-N a par-
tir de los cuales se pueden preparar los derivados sustitui-
dos en 1-N del invento son conocidos. De las gentamicinas,
el compuesto de partida aquí denominado gentamicina X₂ es co-
10 nocido en la técnica también como gentamicina X. El compues-
to de partida aquí denominado gentamicina C_{2a} es aislado y
caracterizado tal como se menciona en la patente belga No.
818.431.

15 El compuesto de partida aquí mencionado como genta-
micina C_{2b} es aislado y caracterizado tal como se indica en
la patente belga No. 818.431, y teniendo la fórmula estruc-
tural aquí mostrada, es denominado en alguna técnica ante-
rior como gentamicina C_{2a}.

20 El aislamiento, las propiedades y la configuración
plana de la gentamicina C₂ se describen en la patente de los
Estados Unidos 3.651.042.

25 Los Antibióticos 66-40B y 66-40D, su preparación,
aislamiento, propiedades y configuración, se describen en la
patente belga 811.370. Los antibióticos son producidos con-
juntamente con la sisomicina, que es el producto principal
de la fermentación de Micromonospora inyoensis (descrito en
la patente británica número 1.274.518) y pueden ser separa-
dos del medio de fermentación empleando técnicas de separa-
ción cromatográfica especiales.

30 Las mutamicinas 1, 2, 4, 5 y 6, cuya configuración

1 se ha mostrado arriba, pueden ser preparadas cultivando una
cepa mutante de Micromonospora inyoensis aquí designada co-
mo Micromonospora inyoensis cepa 1.550 F-1G en un medio nu-
tricio acuoso. Esta cepa mutante es incapaz de producir un
5 antibiótico cuando es cultivada en condiciones aerobias su-
mergidas en un medio nutricio acuoso cuando está ausente el
bloque formador de 1,3-diaminociclitol. No obstante cuando
se añaden ciertos de dichos compuestos al medio de fermenta-
ción, se producen las mutamicinas. Cuando se añade 2-deso-
10 xiestreptamina a la fermentación, se produce el antibiótico
sisomicina conocido. La preparación de las mutamicinas se
describe en la patente belga No. 818.429.

El procedimiento de este invento comprende tratar
un derivado sustituido en 1-N de uno de los 4,6-di-(amino-
15 glicosil)-1,3-diaminociclitoles arriba mencionados, en que
pueden estar protegidos uno o más grupos amino, y el susti-
tuyente en posición 1-N es $\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-X}''$, siendo X'' hidrógeno, alco-
hilo, alquenilo, cicloalcohilo, cicloalcoholalcohilo, hidro-
xialcohilo, aminoalcohilo, N-alcoholaminoalcohilo, aminohi-
20 droxialcohilo, N-alcoholaminohidroalcohilo, fenilo, benci-
lo, tolilo o hidrocarbilo, teniendo dichos radicales ali-
fáticos hasta siete átomos de carbono y, si están sustitui-
dos con amino y con hidroxilo, llevando los sustituyentes en
átomos de carbono diferentes, y en que cualquier grupo ami-
25 no o hidroxilo presente puede estar protegido, con un reaccio-
nante de hidruro reductor de amida y, si se requiere, elimi-
nar todos los grupos protectores presentes en la molécula;
siendo seguida la última etapa del procedimiento por aisla-
miento del derivado deseado tal como está o en forma de una
30 sal por adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

1 El procedimiento se lleva a cabo usualmente en un disolvente orgánico no reactivo que se considere que sea un disolvente en el que son solubles los compuestos de partida y el reaccionante reductor de amida y que no reaccione con
5 el reaccionante, de manera que se produzca un mínimo de reacciones secundarias competitivas. Disolventes orgánicos no reactivos que son de la máxima utilidad en el proceso de reducción son éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano, dietilenglicol-dimetil-éter y similares.

10 Reaccionantes de hidruro reductores de amida preferidos son hidruros y borohidruros de aluminio, incluyendo hidruro de litio y aluminio, trimetoxi-hidruro de aluminio y litio, hidruro de aluminio, diborano, di-isoamilborano y 9-borabicyclo [3.3.1] nonano.

15 En general, se prefiere utilizar diborano como agente reductor de amidas excepto cuando el compuesto de partida posee un doble enlace, por ejemplo tal como en 1-N-acil-sisomicina, 1-N-acilverdamicina, 1-N-acil-Antibiótico 66-40B, 1-N-acil-Antibiótico 66-40D y 1-N-acil-Antibiótico G-52, los
20 cuales compuestos son reducidos de modo conveniente por medio de hidruro de litio y aluminio.

Cuando X" representa hidrocarbiloxi, tal como ter-butoxi, y la amida es sometida a reducción, se forma el correspondiente compuesto 1-N-metílico.

25 En este procedimiento, en el cual un 1-N-C(=O)-X"-4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitol es reducido para formar el correspondiente derivado de 1-N-CH₂X del invento, si la cadena lateral acíclica del compuesto intermedio 1-N-acílico posee un centro quiral, puede utilizarse cada uno de los
30 estereoisómeros separadamente o una mezcla de los mismos, y

1 se obtendrán los correspondientes diastereoisómeros o una
mezcla de los mismos, respectivamente.

El compuesto de partida de amida de este procedi-
miento puede prepararse tratando uno de los 4,6-di-(aminoglic-
5 cosil)-1,3-diaminociclitolos anteriormente mencionados, que
pueden tener grupos protectores de amino en cualquier posi-
ción que no sea la posición 1, con un ácido de la fórmula
$$\text{OH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{Z}'$$
, siendo Z' como se ha definido para X'' anteriormente,
en donde cualquier grupo amino o hidroxí presente puede es-
10 tar protegido, en presencia de una carbodiimida o con un de-
rivado reactivo del ácido anterior, y, si se requiere, reti-
rando todos los grupos protectores presentes en la molécula
y aislando el compuesto así obtenido.

Los compuestos de 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diami-
15 nociclitol sustituidos en 1-N de este procedimiento pueden
tener grupos amino libres o grupos amino protegidos. Si es-
tán protegidos grupos amino en los 4,6-di-(aminoglicosil)-
1,3-diaminociclitolos gentamicina B, gentamicina C_{1a}, Anti-
biótico JI-20A, Antibiótico 66-40B, Antibiótico 66-40D, si-
20 somicina, mutamicina 1, mutamicina 2, mutamicina 4, mutami-
cina 5 y mutamicina 6, es usualmente el grupo 6'-amino el
que está protegido. La gentamicina C₁ puede estar protegida
en posiciones 2' y 3. Los compuestos de partida de 4,6-di-
(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitol pueden ser utilizados en
25 forma de una base nitrogenada libre (con o sin grupos protec-
tores de N) o, preferiblemente, como un compuesto en que des-
de 1 hasta n grupos amino del 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-dia-
miñociclitol son neutralizados por formación de una sal por
adición de ácido en que n es el número de grupos amino en la
30 molécula. La sal por adición de ácido puede contener también

1 grupos protectores de N. En una característica preferida,
(n - 1) grupos amino son neutralizados por formación de una
sal por adición de ácido. Por ejemplo, un equivalente de gen-
tamicina C_1 que tiene cinco grupos amino (n = 5) requiere
5 cinco equivalentes de ácido para formar la "per" sal por adi-
ción de ácido. En la característica preferida, se utiliza
una sal por adición de ácido de gentamicina C_1 que tiene
(n - 1), por ejemplo cuatro, grupos amino que está protonados.
El término "sal por adición de ácido" abarca las sales que
10 pueden ser formadas entre el antibiótico básico y un ácido
sin tener en cuenta que el ácido pueda ser denominado inor-
gánico u orgánico. Ilustrativos de ácidos abarcados por el
término en cuestión son los ácidos sulfúrico, clorhídrico,
fosfórico, nítrico, acético, propiónico, succínico, oxálico,
15 ciclopropilcarboxílico, trimetilacético, maleico, benzoico,
fenilacético, trifluoroacético o similares.

Si se desea utilizar como material de partida una
sal por adición de ácido, en que está protonados (n - 1) gru-
pos amino, este compuesto es producido ventajosamente "in si-
20 tu" haciendo reaccionar de este modo una "per" sal por adi-
ción de ácido con un equivalente de base fuerte, por ejemplo
triethylamina.

En general, se prefiere la utilización de deriva-
dos reactivos del ácido $\text{OH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{Z}'$ como agentes acilantes. Deri-
vados reactivos del ácido comprenden ésteres, azidas, deriva-
25 dos de imidazol o anhídridos. En los casos en que Z' no está
sustituído, uno de los derivados reactivos preferidos es el
anhídrido del ácido requerido. En otros casos puede ser pre-
ferible utilizar el N-éster hidroxisuccinimidílico del ácido.

30 Cuando se lleva a cabo el procedimiento en que se

1 utiliza un derivado reactivo de un ácido que contiene una
función amino, es preferible proteger la función amino antes
de llevar a cabo el procedimiento y luego eliminar el grupo
protector en N en el compuesto formado de este modo. Puede
5 también ser ventajoso proteger un grupo hidroxil presente en
el agente acilante, pero esto no es necesario en general.

Las siguientes Preparaciones ilustran la prepara-
ción de una pluralidad de materiales de partida requeridos,
y los siguientes Ejemplos ilustran el invento.

10

PREPARACION - 1

1-N-(aminohidroxiacil)-4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diamino-
ciclitoles

A. 1-N-(S-4-amino-2-hidroxi-butiril)-gentamicina C_{1a}

15

1. 1-N-(S-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-butiril)-gentamicina C_{1a}

Se disuelven 2,8 g (4 milimoles) de sulfato de gen-
tamicina C_{1a} en 30 ml de agua y se añaden 15 ml de metanol.
Se añaden 0,56 ml (4 milimoles) de trietilamina y se agita
20 durante 10 minutos. Se añade una solución que contiene 4 mi-
lilimoles de N-(S-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-butiriloxi)-
succinimida en 20 ml de dimetilformamida anhidra, gota a go-
ta con agitación, a la solución de antibiótico. Se agita la
mezcla durante la noche (16 horas) a la temperatura ambien-
te. La cromatografía en capa delgada de la mezcla de reac-
25 ción mediante cromatografía en capa delgada sobre gel de sí-
lice utilizando la fase inferior de un sistema de disolven-
tes que consiste en cloroformo: metanol: hidróxido de amonio
(1:1:1), muestra la presencia de una pluralidad de componen-
tes secundarios y de un componente principal. Se concentra
30

1 en vacío la mezcla de reacción para formar un residuo y se
tritura el residuo con metanol para rendir 3,2 g de sólidos
blancos que contienen la totalidad de los componentes ante-
riormente observados por cromatografía.

5 Se cromatografían 150 mg del producto sobre 50 g
de gel de sílice utilizando la fase inferior de un sistema
de disolventes que consiste en cloroformo: metanol: hidróxi-
do de amonio (2:2:1). Se reúnen las fracciones que contienen
el componente principal y se liofilizan para dar 1-N-(S-4-
10 benciloxicarbonilamino-2-hidroxitiril)-gentamicina C₁₈.
RMN (D₂O) δ 1,15 (3H, s, C-CH₃); 2,49 (3H, s, NCH₃); 4,10
(1H, dd, J=8,0, 4,0 Hz, cadena lateral H-2); 7,36 (5H, m,
fenilo).

2. 1-N-(S-4-amino-2-hidroxitiril)-gentamicina C₁₈

15 Se disuelve el producto de la Preparación 1A (1)
en una mezcla que consiste en 12 ml de metanol y 3 ml de
agua, se añaden 20 mg de paladio al 10% sobre carbón y se
hidrogena a 4 atmósferas a la temperatura ambiente. Después
de 3 horas la reacción está esencialmente completa. Se elimi-
na el catalizador por filtración y se liofiliza el producto
20 filtrado y se obtienen 46 mg de 1-N-(S-4-amino-2-hidroxi-
tiril)-gentamicina C₁₈.

RMN (D₂O) δ 1,17 (3H, s, C-CH₃); 2,48 (3H, s, NCH₃); 4,22
(1H, dd, J=9,5Hz; 4,0 Hz, cadena lateral CHOH); 5,04 (2H,
25 m, H-1', y H-1").

Datos de espectro de masas: (M-H₂O) m/e 532.

B. 1-N-(S-4-amino-2-hidroxitiril)-gentamicina B

1. 1-N-(S-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-
tiril)-gentamicina B

30 Se disuelven 3,39 g de sulfato de gentamicina B en

1 48,4 ml de agua y se diluye con 23,7 ml de metanol. Se añaden
gota a gota, con agitación, 0,7 ml de trietilamina. Se
disuelven 1,67 g de N-(S-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-
butiriloxi)-succinimida en dimetilformamida y se añade la
5 solución gota a gota, con agitación, a la solución de anti-
biótico. Se agita la solución resultante a la temperatura
ambiente durante 18 horas y luego se concentra en vacío pa-
ra formar un residuo. Se disuelve el residuo en agua y se
trata con solución diluída de hidróxido de bario, con agita-
10 ción, hasta que el pH llega a aproximadamente 8,0. Se elimi-
na por filtración el sulfato de bario precipitado utilizan-
do un agente auxiliar de filtración. Se lava con agua el pre-
cipitado, se combinan el producto filtrado y los líquidos
de lavado y se concentran en vacío hasta sequedad. Se cromatografía
15 tografía el residuo sobre una columna que contiene 600 g de
gel de sílice utilizando la fase inferior de un sistema de
disolventes que consiste en cloroformo: metanol: hidróxido
de amonio (1:1:1) en calidad de agente eluyente. Se reúne el
material que es eluido inmediatamente delante de la gentami-
20 cina B y se concentran hasta sequedad las fracciones reuni-
das y se obtiene de este modo 1-N-(S-4-benciloxicarbonilami-
no-2-hidroxi-butiril)-gentamicina B en forma de un sólido amor-
fo. Rendimiento: 0,2 g.

25 RMN (D_2O): δ 1,27 (3H, s, C- CH_3); 2,51 (3H, s, NCH_3); 5,08
(1H, d, $J=4$ Hz); 5,25 (1H, d, $J=3,5$ Hz).

2. 1-N-(S-4-amino-2-hidroxi-butiril)-gentamicina B

30 Se disuelve el producto de la Preparación 1B (1)
en una mezcla que consiste en 20 ml de agua y 8 ml de meta-
nol. Se hidrogena el producto en presencia de 60 mg de pala-
dio al 5% sobre carbón a 3,5 atmósferas y la temperatura

1 ambiente durante 3 horas. Se elimina el catalizador por fil-
tración a través de un agente auxiliar de filtración. Se la
va con agua la almohadilla de filtro y se combinan el pro-
ducto filtrado y los líquidos de lavado. Se concentra hasta
5 sequedad en vacío la combinación de producto filtrado y lí-
quidos de lavado. Se cromatografía el residuo sobre una co-
lumna de gel de sílice que contiene 10 g de gel de sílice
utilizando una solución que consiste en cloroformo: metanol:
hidróxido de amonio (1:2:1) en calidad de eluyente. Se reu-
10 nen fracciones que contienen el componente más polar, se con-
centra y se liofiliza para dar 1-N-(S-4-amino-2-hidroxibuti-
ril)-gentamicina B.

PREPARACION - 2

1-N-acétilsisomicina

15 (A) Se disuelven 1,25 g de sulfato de sisomicina en
200 ml de metanol-agua (2:3, v/v) y se enfría rápidamente la
solución. Se añaden 1,5 ml de anhídrido de ácido acético y
tras aproximadamente 10 minutos se añaden 0,125 ml de trie-
20 tilamina en 10 ml de metanol por un intervalo de 15 minutos.
Se deja que la mezcla de reacción se caliente a la temperatu-
ra ambiente durante un intervalo de 2 horas y luego se evapo-
ra en vacío el disolvente. Se disuelve el residuo en agua y
se convierte el producto en la base libre por paso de una
25 solución acuosa de la misma a través de resina Amberlite
IRA -401S en el ciclo de ión hidróxido. Se liofiliza el elug-
to de la columna y se cromatografía el residuo sobre 50 g de
gel de sílice utilizando la fase inferior de un sistema de
disolventes de cloroformo-metanol-hidróxido de amonio al 7%
30 (2:1:1) en calidad de eluyente. Se vigilan las fracciones

1 mediante cromatografía en capa delgada y se combinan fraccio-
nes iguales para obtener de este modo el compuesto del títu-
lo.

Rendimiento - 0,185 g, p. de f. 128^o-130^oC, $[\alpha]_D^{26}$
5 = 159^o (0,3% H₂O), RMN: (D₂O) δ 1,22 (3H, s, -C-CH₃); 2,02
(3H, s, NH-CO-CH₃); 2,53 (3H, s, N-CH₃); 4,88 (1H, m, =CH-);
5,08 (1H, d, J=4Hz, H₁""); 5,35 (1H, d, J=2Hz, H₁').

Espectro de masas: (M+1)⁺ m/e 490, M+m/e 489.

10

PREPARACION - 3

1-N-propionilsisomicina

A. Se disuelven 1,25 g de sulfato de sisomicina en
200 ml de metanol/agua (2:3, v/v) y se enfría rápidamente la
solución. Se añaden 1,5 ml de anhídrido de ácido propiónico
15 seguido por 0,125 ml de trietilamina en 10 ml de metanol du-
rante un intervalo de 15 minutos. Se deja que la mezcla de
reacción se caliente a la temperatura ambiente durante un
intervalo de 2 horas y luego se evapora el disolvente en va-
cío. Se disuelve el residuo en agua y se convierte el produc-
20 to en la base libre por paso de una solución acuosa de ésta
a través de resina de Amberlite IRA-401 S en el ciclo de ión
hidróxido. Se liofiliza el eluato de la columna y se cromatografía el residuo sobre 50 g de gel de sílice utilizando
la fase inferior de un sistema de disolventes de cloroformo-
25 metanol-hidróxido de amonio al 7% (2:1:1) en calidad de elu-
yente. Se vigila la fracción por cromatografía en capa del-
gada y se combinan fracciones iguales para obtener de este
modo 1-N-propionilsisomicina.

30

Rendimiento 0,18 g p. de f. 125^o-130^oC, $[\alpha]_D^{26}$
= +147^o (0,3% H₂O) RMN: (D₂O) δ 1,08 (3H, t, J =7,5 Hz, CH₂-

1 CH_3); 1,18 (3H, s, C- CH_3); 2,25 (2H, m, CH_2 CH_3); 2,48 (3H, s, NHCH_3); 4,87 (1H, m, CH -); 5,07 (1H, d, J= 4Hz, H_1''); 5,34 (1H, d, J=2Hz, H_1').

Espectro de masas $\text{M}^+ + 1$ m/e 504, M^+ m/e = 503.

5

PREPARACION - 4

1-N-acetilgentamicina C₁

Se disuelven 250 mg de sulfato de gentamicina C₁ en una mezcla de 25 ml de agua y 10 ml de metanol. Se añaden 0,065 ml de trietilamina. Se deja reposar la solución duran
10 te diez minutos y luego se añaden 0,5 ml de anhídrido de ácido acético. Se deja reposar la solución durante una hora a la temperatura ambiente y luego se evapora en vacío para formar un residuo. Se disuelve el residuo en agua y se trata con
15 Amberlite IRA-401S en la forma de ión hidroxido. Se filtra la suspensión y se liofiliza el producto filtrado. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice que contiene 30 g de adsorbente utilizando la fase inferior de un sistema de cloroformo-metanol-hidróxido de amonio al 7%
20 (2:1:1), y se obtiene de este modo el producto de este ejemplo.

Rendimiento: 50 mg $[\alpha]_D^{26} = +124^\circ$

Espectro de masas $(\text{M}+1)^+$ m/e = 520

RMN (D_2O). δ 1,01 (3H, d, J=6,5 Hz, - CHCH_3); 1,15 (3H, s, C- CH_3); 1,95 (3H, s, COCH_3); 2,28 (3H, s, 6' NCH_3); 2,45
25 (3H, s, 3" NCH_3); 5,03 (1H, d, J=4,5 Hz, H_1''); 5,09 (1H, d, J=3,5 Hz, H_1').

EJEMPLO - 1

4,6-diaminoglicosil-1,3-diaminociclitoles sustituidos en 1-N
30 preparados por reacción con hidruros de los correspondientes

1 derivados 1-N-acílicos.

A. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina C₁

(1) Se suspenden 98 mg de 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibu-
tiril)-gentamicina C₁ en 8 ml de tetrahidrofurano. Se añaden
5 14 ml de diborano 1 N en tetrahidrofurano y se calienta a
la temperatura de reflujo durante 6 horas bajo una atmósfera
de nitrógeno. Se añaden cuidadosamente 2 ml de agua para des-
componer cualquier cantidad de diborano en exceso y se evapo-
ra. Se disuelve el residuo resultante en hidrato de hidrazina-
10 na y se calienta a la temperatura de reflujo bajo una atmós-
fera de nitrógeno durante 16 horas. Se evapora la solución
y se extrae el residuo con etanol acuoso caliente. Se evapo-
ran los extractos en etanol combinados y se cromatografía el
residuo resultante sobre 10 ml de gel de sílice eluyendo con
15 la fase inferior de un sistema de disolventes de cloroformo-
metanol-hidróxido de amonio concentrado (2:1:1). Se combinan
y evaporan las fracciones iguales según se determina por cro-
matografía en capa delgada para obtener 1-N-(S- δ -amino- β -hi-
droxibutil)-gentamicina C₁ (rendimiento 14,5 mg), p. de f.
20 93-98°C, $[\alpha]_D^{26} + 72,4^\circ$ (c=0,35%, H₂O); rmp (ppm) (D₂O)
 δ 1,18 (3H, d, J=7Hz, CH-CH₃); 1,24 (3H, s, C-CH₃); 2,49
(3H, s, N-CH₃); 2,54 (3H, s, N-CH₃); 5,07 (1H, d, J=3,5Hz,
H-1''); 5,24 (1H, d, J=3,5Hz, H-1').

Espectro de masas: (M+1)⁺ m/e 565.

25 también m/e 528, 516, 490, 437,
434, 410, 397, 278, 250, 232, 160, 157.

(2) En el método antedicho se sustituye 1-N-(S- δ -ami-
no- β -hidroxibutil)-gentamicina C₁ por 1-N-(S- γ -amino- β -hi-
droxipropionil)-gentamicina C₁ para obtener 1-N-(S- γ -amino-
30 β -hidroxipropil)-gentamicina C₁.

1 (3) Se trata cada uno de los siguientes 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-4,6-diaminoglicosil-1,3-diaminociclitolos con diborano en tetrahidrofurano de la manera descrita en el Ejemplo 1A (1).

- 5 1. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
A;
2. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
B;
3. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
10 B₁;
4. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
C_{1a};
5. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
C₂;
- 15 6. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
C_{2a};
7. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
C_{2b};
8. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-gentamicina
20 X₂;
9. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-tobramicina;
10. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-antibiótico
G-418;
11. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-antibiótico
JI-20A;
- 25 12. 1-N-(S- σ -amino- β -hidroxibutiril)-antibiótico
JI-20B.

Se aisla y purifica cada uno de los productos resultantes de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1A (1) para obtener, respectivamente;

30

1. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina A;
2. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina B;
3. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina B₁;
4. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina C_{1a};
5. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina C₂;
6. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina C_{2a};
7. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina C_{2b};
8. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-gentamicina X₂;
9. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-tobramicina;
10. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-antibiótico G-418;
11. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-antibiótico JI-20A;
12. 1-N-(S- δ -amino- β -hidroxibutil)-antibiótico JI-20B.

(4) En el método del ejemplo 1A (3) antedicho se utilizan como compuestos de partida los correspondientes derivados 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropionílicos), para obtener los correspondientes derivados 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropílicos), a saber:

1. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina A;
2. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina B;
3. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina B₁;
4. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina C_{1a};
5. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina C₂;

- 1 6. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina
C_{2a};
7. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina
C_{2b};
- 5 8. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-gentamicina
X₂;
9. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-tobramicina;
- 10 10. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-antibiótico
G-418;
11. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-antibiótico
JI-20A;
12. 1-N-(S- γ -amino- β -hidroxipropil)-antibiótico
JI-20B.
- B. 1-N-etilgentamicina C₁

15 (1) De una manera similar a la descrita en el ejemplo
1A (1) se trata 1-N-acetilgentamicina C₁ con diborano en te-
trahidrofurano. Se aislan y purifican los productos resul-
tantes de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1A
(1), para obtener 1-N-etilgentamicina C₁, $[\alpha]_D^{26} + 114^\circ$
20 (c=0,3%, H₂O); rmp (ppm) (D₂O); δ 1,03 (3H, t, 7Hz, -CH₂CH₃);
1,03 (3H, d, J=6,5Hz, -CH-CH₃); 1,17 (3H, s, C-CH₃); 2,32
(3H, s, 6'-N-CH₃); 2,49 (3H, s, 3''-NHCH₃); 4,94 (1H, d, J=4Hz,
H_{1''}); 5,13 (1H, d, J=3,5Hz, H_{1'}).

Espectro de masas: (M + 1)⁺ m/e 506

25 también m/e 154, 157, 160, 173,
191, 201, 219, 286, 317, 329 (w), 347, 350, 360, 375, 430.

(2) Se tratan los siguientes 1-N-acetil-4,6-diaminoglic-
cosil-1,3-diaminociclitoles de la manera del Ejemplo 1B (1)
anterior:

30 1. 1-N-acetilgentamicina A;

- 1 2. 1-N-acetilgentamicina B;
 3. 1-N-acetilgentamicina B₁;
 4. 1-N-acetilgentamicina C_{1a};
 5. 1-N-acetilgentamicina C₂;
 5 6. 1-N-acetilgentamicina C_{2a};
 7. 1-N-acetilgentamicina C_{2b};
 8. 1-N-acetilgentamicina X₂;
 9. 1-N-acetiltobramicina;
 10. 1-N-acetil-antibiótico G-418;
 10 11. 1-N-acetil-antibiótico JI-20A;
 12. 1-N-acetil-antibiótico JI-20B.

Se aísla y purifica cada uno de los productos resultantes de una manera similar a la descrita, para obtener respectivamente:

- 15 1. 1-N-etilgentamicina A;
 2. 1-N-etilgentamicina B, $[\alpha]_D^{26} + 119,7^\circ$ (c, 1 en agua)
 Espectro de masas m/e $[MH]^+$ 380, 352, 334, 378, 350, 332, 219, 191, 173.
 20 RMN (60 MHz D₂O): δ 5,55 (H-1', J_{1'2'} = 3,0 Hz), 5,05 (H-1'', J_{1''2''} = 4 Hz), 2,9 (N-CH₃), 1,05-1,5 (2 C-CH₃);
 3. 1-N-etilgentamicina B₁;
 4. 1-N-etilgentamicina C_{1a}, (0,42 gm.), $[\alpha]_D^{26} + 118^\circ$ (c=0,3% H₂O); rmp (ppm) (D₂O); δ 1,06 (3H, t, J=7Hz, -CH₂CH₃); 1,19 (3H, s, -C-CH₃); 2,51 (3H, s, -N-CH₃); 4,97 (1H, d, J=4Hz, H_{1''}); 5,16 (1H, d, J=3,5Hz, H_{1'}).
 25 Espectro de masas (M + 1)⁺ m/e 478
 también m/e 129, 154, 160, 173;
 5. 1-N-etilgentamicina C₂;
 30 6. 1-N-etilgentamicina C_{2a};

- 1 7. 1-N-etilgentamicina C_{2b};
8. 1-N-etilgentamicina X₂;
9. 1-N-etiltobramicina;
10. 1-N-etil-antibiótico G-418;
5 11. 1-N-etil-antibiótico JI-20A;
12. 1-N-etil-antibiótico JI-20B, $\left[\alpha \right]_D^{26} + 112,5$

(H₂O)

RMN (D₂O); δ 1,1 (3H, t, J=7 Hz, CH₂-CH₃); 1,22 (3H, s, C-CH₃); 1,3 (3H, d, -CH-CH₃); 4,95 (1H, d, J=4 Hz, H_{1''});
10 5,35 (1H, J = 3,5 Hz, H_{1'}).

Espectro de masas M⁺ + 1 m/e 524, también 154, 160, 173, 175, 191, 201, 219, 304, 317, 332, 333, 350, 360.

C. 1-N-etil-sisomicina

(1) Se suspende 1 g de 1-N-acetilsisomicina en 100 ml
15 de tetrahidrofurano. Se añade 1 g de hidruro de litio y aluminio, luego se agita la suspensión resultante a la temperatura de reflujo durante 24 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfría y se descompone el hidruro en exceso mediante cuidadosa adición de acetato de etilo. Se evapora la mezcla de reacción hasta un pequeño volumen y se diluye con
20 agua. Se separan los sólidos insolubles por filtración y se lava bien con ácido acético. Se evapora la combinación de producto filtrado y líquidos de lavado y se disuelve el residuo resultante en agua. Se ajusta el pH de la solución
25 acuosa a aproximadamente 7 por adición de hidróxido de amonio. Se hace pasar la solución a través de una columna de resina IRC 50 en el ciclo de amonio y se lava bien la columna con agua. Se eluye con hidróxido de amonio 0,5 N, se evapora el eluato, y se cromatografía el residuo resultante sobre
30 20 g de gel de sílice eluyendo con la fase inferior de un

1 sistema de disolventes de cloroformo-metanol-hidróxido de
amonio concentrado 2:1:1. Se combinan y evaporan las fraccio
nes iguales según se determina por cromatografía en capa del
gada, para obtener 1-N-etilsisomicina, $[\alpha]_D^{26} + 164^{\circ}$ (0,3%,
5 H₂O); rmp (ppm) (D₂O); δ 1,05 (3H, t, J=7Hz, -CH₂CH₃); 1,19
(3H, s, -C-CH₃); 2,5 (3H, s, N-CH₃); 4,85 (1H, m, =CH-);
4,95 (1H, d, J=4Hz, H₁''); 5,33 (1H, d, J=2,5 Hz, H₁').

Espectro de masas: (M + 1)⁺ m/e 476

también m/e 127, 154, 160, 173,

10 191, 201, 219, 256, 299, 317, 332, 345, 350, 360, 378, 390,
400.

(2) Se tratan los siguientes 4,6-diaminoglicosil-1,3-
diaminociclitoles de la manera descrita en el método del

Ejemplo 1C (1):

- 15
1. 1-N-acetilverdamicina;
 2. 1-N-acetil-antibiótico 66-40B;
 3. 1-N-acetil-antibiótico 66-40D;
 4. 1-N-acetil-antibiótico G-52;
 5. 1-N-acetilmutamicina 1;
 - 20 6. 1-N-acetilmutamicina 2;
 7. 1-N-acetilmutamicina 4;
 8. 1-N-acetilmutamicina 5;
 9. 1-N-acetilmutamicina 6.

Se aísla y purifica cada uno de los productos re-
sultantes para obtener, respectivamente,

25 1. 1-N-etilverdamicina, espectro de masas: (M + 1)⁺
m/e 490, también m/e 141, 154, 160, 173, 191, 201, 219, 270,
313, 317 (w), 331, 332, 341, 350 (w), 357, 359, 360, 378,
390, 414;

30 2. 1-N-etil-antibiótico 66-40B;

3. 1-N-etil-antibiótico 66-40D;

4. 1-N-etil-antibiótico G-52, $[\alpha]_D^{26} + 122,1^\circ$
(c=0,3%, H₂O), rmp (ppm) (D₂O); δ 1,06 (3H, t, J=6,5Hz, 1N-CH₂CH₃); 1,21 (3H, s, 4" -C-CH₃); 2,30 (3H, s, 3"-N-CH₃);
5 2,50 (3H, s, 6'-N-CH₃); 4,94 (1H, m, H₄'); 4,97 (1H, d, J=4,0Hz H₁"); 5,34 (1H, d, J=2,5Hz, H₁').

Espectro de masas: (M + 1)⁺ m/e 490

también m/e 141, 154, 160, 173,
191, 201, 219, 270, 313, 317 (w), 331, 332, 341, 350, 359,
10 360, 378, 390, 414;

5. 1-N-etilmutamicina 1;

6. 1-N-etilmutamicina 2, p. de f. 80-84°C

RMP (D₂O): δ 1,06 (t, J=7 Hz, 3, 1-N-CH₂CH₃), 1,19 (s, 3, 4"-CH₃), 2,50 (s, 3, 3"-N-CH₃), 2,53 (d, J₂", 3" = 10,5 Hz, 1, H₃"), 3,75 (dd, J₁", 2" = 4 Hz; J₂", 3" = 10,5 Hz, 1, H₂"),
15 3,83 (d, H₅" eq 5" ax = 12 Hz, 1, H₅"), 4,86 (m, 1, H₄'), 4,98 (d, H₂" , 1" = 4 Hz, 1, H₁") y 5,10 (d, J₁' , 2' = 2,5 Hz, 1, H₁').

Espectro de masas: m/e 459, 384, 329, 316, 311,
20 301, 283, 203, 185, 175, 160, 142, 127;

7. 1-N-etilmutamicina 4;

8. 1-N-etilmutamicina 5;

9. 1-N-etilmutamicina 6, p. de f. 118-122°C (descomp.)

Espectro de masas (M)⁺ m/e 475, (M + 1)⁺ m/e 476,

25 Monosacáridos: m/e 160, 127

2-Desoxiestreptaminas: m/e 219, 201, 191, 171

Disacáridos: m/e 355, 317, 299,

m/e 378, 350, 322

RMP (δ) D₂O

30 5,14 d, J=2,5 Hz 1'-H

1	5,00	d, J=4,1 Hz	1"-H
	4,9	singulete ancho	4'-H
	4,38	singulete ancho	5 - H
	3,93	d, J=12,5 Hz	5"e-H
5	3,78	q.	2"-H
	3,38	d, J=12,5 Hz	5"a-H
	3,21 (1H)	singulete ancho	6'-H
	2,65	d, J=11,0 Hz	3"-H
	2,52	singulete	3"-N-CH ₃
10	1,22	singulete	4"-C-CH ₃
	1,07	triplete	1-N-CH ₂ -CH ₃

CMR (D₂O):

PPM: 149,8, 102,9, 97,4, 97,0, 83,9, 80,5, 73,2, 70,1, 69,6, 68,5, 63,9, 54,5, 47,1, 47,0, 43,1, 40,8, 37,5, 33,0, 25,6, 22,4, 14,6.

D. 1-N-metilgentamicina C₁

(1) Se disuelve 1 g de 2',3-di-N-trifluoroacetilgentamicina C₁ en 30 ml de metanol acuoso al 50%. Se enfría a 5°C y luego se añaden 0,25 g de ter.-butoxicarbonil-azida gota a gota con agitación, seguido por 0,155 ml de trietilamina. Se agita la solución resultante durante 18 horas, se evapora en vacío la mezcla de reacción para formar un residuo y se cromatografía el residuo sobre 100 g de gel de sílice eluyendo con la fase inferior de un sistema de disolventes de cloroformo-metanol-hidróxido de amonio concentrado 2:1:1. Se combinan y evaporan las fracciones iguales del producto principal, según se determina por cromatografía en capa delgada, para obtener 1-N-ter.-butoxicarbonil-2',3-di-N-trifluoroacetilgentamicina C₁.

(2) Se disuelve el producto del Ejemplo 1D (1) en una

1 mezcla que comprende 30 ml de metanol y 20 ml de hidróxido
de amonio concentrado. Se deja reposar la solución durante
3 días a la temperatura ambiente, luego se evapora para for
mar un residuo que comprende 1-N-ter.-butoxicarbonilgentami
5 cina C₁.

(3) Se disuelven 100 mg de 1-N-ter.-butoxicarbonilgen
tamicina C₁ en 15 ml de diborano 1 M en tetrahidrofurano.
Se pone a reflujo la solución resultante durante 16 horas
bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añaden 2 ml de agua para
10 descomponer cualquier cantidad de diborano en exceso y se
evapora la mezcla para formar un residuo. Se disuelve el re
siduo en 10 ml de hidrato de hidrazina y se calienta a la
temperatura de reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno du
rante 16 horas. Se evapora la solución, se extrae el residuo
15 resultante con etanol acuoso caliente, luego se evaporan los
extractos combinados y se cromatografía el residuo resultan
te sobre 10 g de gel de sílice eluyendo con la fase inferior
de una mezcla 2:1:1 de cloroformo-metanol-hidróxido de amo
nio al 15%. Se combinan y evaporan las fracciones iguales,
20 según se determina por cromatografía en capa delgada, para
obtener 1-N-metilgentamicina C₁, δ (D₂O) 1,04 (3H, d, J=6,5
Hz, 6'-CH₃); 1,18 (3H, s, 4"-CH₃); 2,29 (3H, s, 1-NCH₃);
2,32 (3H, s, 6'-NCH₃); 2,49 (3H, s, 3"-NCH₃); 4,95 (1H, d,
J_{1",2"} = 4Hz, H_{1"}); y 5,13 ppm. (1H, d, J_{1',2'} = 3,5Hz, H_{1'});
25 M[±] m/e 491, también 416, 384, 364, 361, 346, 343, 336, 333,
318, 315, 303, 286, 205, 187, 177, 160, 159, 157.

EJEMPLO - 2

SALES POR ADICION DE ACIDO

30 A. Salas de sulfato (Sales por adición con ácido sulfúrico)

1 Se disuelven 5,0 g de 1-N-etilsisomicina en 25 ml
de agua y se ajusta el pH de la solución a 4,5 con ácido sul-
fúrico 1N. Se vierte en aproximadamente 300 ml de metanol
5 con agitación vigorosa, se continúa la agitación durante
aproximadamente 10-20 minutos y se filtra. Se lava el preci-
pitado con metanol y se seca a aproximadamente 60°C en vacío
para obtener sulfato de 1-N-etilsisomicina.

B. Sales de clorhidrato

10 Se disuelven 5,0 g de 1-N-etilverdamicina en 25
ml de agua. Se acidifica con ácido clorhídrico 2 N a pH 5.
Se liofiliza para obtener clorhidrato de 1-N-etilverdamici-
na.

15 Los compuestos preparados de acuerdo con el proce-
dimiento de este invento son agentes antibacterianos de
amplio espectro los cuales, ventajosamente, exhiben activi-
dad contra muchos organismos, particularmente organismos
gram-negativos, que son resistentes a sus precursores no sus-
tituidos en 1-N. Por lo tanto, los compuestos de este inven-
to pueden ser utilizados sólo o en combinación con otros
20 agentes antibióticos para evitar el crecimiento o reducir
el número de bacterias en diversos ambientes. Pueden ser uti-
lizados, por ejemplo, para desinfectar artículos de vidrio
de laboratorio, equipos dentales y médicos contaminados con
Staphylococcus aureus u otras bacterias que puedan ser inhi-
25 bidas por los compuestos. La actividad de los compuestos de
este invento contra bacterias gram-negativas los hace útiles
para combatir infecciones causadas por organismos gram-nega-
tivos, por ejemplo especies de Proteus y Pseudomonas. Los
derivados sustituidos en 1-N de los 4,6-di-(aminoglicosil)-
30 1,3-diaminociclitoles, por ejemplo 1-N-etilsisomicina y 1-N-

1 etilverdamicina tienen aplicaciones veterinarias, particularmente en el tratamiento de mastitis en ganado y de diarreas inducidas por Salmonella en animales domésticos tales como perros y gatos.

5 En general, la dosificación administrada de los compuestos dependerá de la edad y del peso de la especie de animales que están siendo tratados, del modo de administración, y del tipo y gravedad de la infección bacteriana que está siendo evitada o reducida. En general, la dosificación
10 de los derivados de los 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitolos empleados para combatir una infección bacteriana dada será similar a los requisitos de dosificación de los correspondientes 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitolos no sustituidos en 1-N.

15 Los compuestos preparados de acuerdo con el procedimiento de este invento pueden ser administrados por vía oral. Pueden ser asimismo administrados por vía tópica en la forma de ungüentos, tanto hidrófilos como hidrófobos, en la forma de lociones, que pueden ser acuosas, no acuosas o del
20 tipo de emulsión o pueden estar en la forma de cremas. Excipientes farmacéuticos útiles en la preparación de dichas formulaciones incluirán, por ejemplo, sustancias tales como agua, aceites, grasas, poliésteres, polioles y similares.

25 Para administración por vía oral los compuestos pueden ser formulados en la forma de tabletas, cápsulas, elixires o similares, o incluso pueden ser mezclados con piensos para animales. Es en esta forma de dosificación en que los agentes antibacterianos son máximamente eficaces para tratar infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal;
30 las cuales infecciones provocan diarrea.

1 En general, los preparados para vía tópica contene-
drán de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3,0 gramos de
los compuestos del invento por cada 100 gramos de unguento,
cremas o loción. Los preparados por vía tópica son aplicados
5 usualmente de modo suave a lesiones en alrededor de 2 a al-
rededor de 5 veces por día.

Los agentes antibacterianos preparados de acuerdo
con el procedimiento de este invento pueden ser utilizados
en forma líquida, tal como soluciones, suspensiones y simi-
10 lares para utilización ótica y óptica, y pueden también ser
administrados parenteralmente mediante inyección intramuscu-
lar. La solución o suspensión inyectable será administrada
usualmente en cantidades de aproximadamente 1 mg a aproxima-
damente 15 mg de agente antibacteriano por kilogramo de pe-
15 so corporal y por día, dividido en alrededor de 2 a alrede-
dor de 4 dosis. La dosis exacta depende de la fase y de la
gravedad de la infección, de la susceptibilidad del organis-
mo infeccioso al agente antibacteriano y de las caracterís-
ticas individuales de la especie de animal que está siendo
20 tratado.

- REIVINDICACIONES -

25 Los puntos de invención propia y nueva que se pre-
sentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de
Invención en España, por VEINTE años, son los que se reco-
gen en las reivindicaciones siguientes:

30 1ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos

1 pseudotrisacáridos, particularmente derivados sustituidos
en 1-N de los 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diamino-ciclitales
gentamicina A, gentamicina B, gentamicina B₁, gentamicina
C₁, gentamicina C_{1a}, gentamicina C₂, gentamicina C_{2a}, gentami-
5 micina C_{2b}, gentamicina X₂, sisomicina, verdamicina, tobra-
micina, Antibiótico G-418, Antibiótico 66-40B, Antibiótico
66-40D, Antibiótico JI-20A, Antibiótico JI-20B, Antibióti-
co G-52, mutamicina 1, mutamicina 2, mutamicina 4, mutami-
cina 5 y mutamicina 6, en que el sustituyente es -CH₂X,
10 siendo X hidrógeno, alcohol, alqueno, cicloalcohol, ci-
cloalcoholalcohol, hidroxialcohol, aminoalcohol, N-alco-
hilaminoalcohol, aminohidroxialcohol, N-alcoholaminohidro-
xialcohol, fenilo, bencilo o toliilo dichos radicales alifá-
ticos hasta siete átomos de carbono y, si están sustituidos
15 con amino y con hidroxilo, llevando los sustituyentes en dife-
rentes átomos de carbono, y de las sales por adición de áci-
do farmacéuticamente aceptables de los mismos, caracteriza-
do porque comprende hacer reaccionar un derivado sustitui-
do en 1-N de uno de los 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diamino
20 ciclitales arriba mencionados, en que uno o más grupos ami-
no pueden estar protegidos y el sustituyente en 1-N es
C-X", siendo X" hidrógeno, alcohol, alqueno, cicloalco-
hilo, cicloalcoholalcohol, hidroxialcohol, aminoalcohol,
N-alcoholaminoalcohol, aminohidroxialcohol, N-alcoholami-
25 nohidroxialcohol, fenilo, bencilo, toliilo o hidrocarbiloxi,
teniendo dichos radicales alifáticos hasta siete átomos de
carbono, y si están sustituidos con amino y con hidroxilo,
llevando los sustituyentes en diferentes átomos de carbono,
y en que cualquier grupo amino o hidroxilo presente puede es-
30 tar protegido, con un reaccionante de hidruro reductor de

1. amida y, si se requiere, eliminar todos los grupos protectores presentes en la molécula; siendo seguida la última etapa del procedimiento por aislamiento del derivado deseado tal como está o en forma de una sal por adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

5. 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el reaccionante de hidruro reductor de amida es un hidruro de aluminio o un borohidruro.

10 3ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 1ª o 2ª, caracterizado porque el reaccionante de hidruro reductor de amida es hidruro de aluminio y litio, o diborano.

15 4ª.- Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 3ª, caracterizado porque el 4,6-di-(aminoglicosil)-1,3-diaminociclitol es sisomicina o verdamicina, X" en el sustituyente en 1-N es metilo, etilo o propilo y el agente reductor es hidruro de litio y aluminio.

5ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos pseudotrisacáridos.

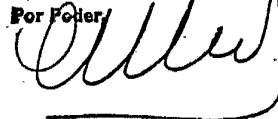
20 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de treinta y ocho hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 02 DIC. 1977

P.A.

25 **Alberto de Elizaburu**
Por F. J. J.



30