



10 ES	11 NUMERO 449.831	10 A1
	21 FECHA DE PRESENTACION 14.7.76	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 85767/75 85768/75		32 FECHA 15.7.75 15.7.75	33 PAIS Japonesas. "
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K;C07D	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA	
24 TITULO DE LA INVENCION "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DEL ANTIBIOTICO XK-62-2"			
71 SOLICITANTE (S) KYOWA HAKKO KOGYO CO, LTD.			
DOMICILIO DEL SOLICITANTE OHEMACHI BLDG. OHEMACHI CHIYODA-KU, TOKYO, JAPON.			
72 INVENTOR (ES) Shinji Tomioka y Tasuki Mori, ambos de nacionalidad japonesa.			
73 TITULAR (ES)			
74 REPRESENTANTE DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU			

RESUMEN DE LA INVENCION

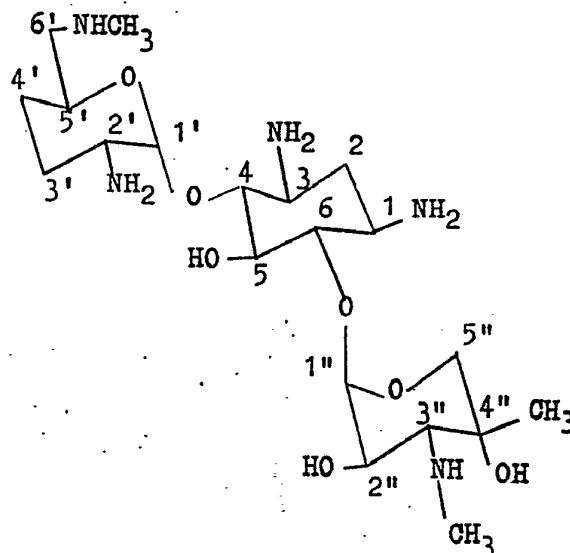
Nuevos derivados 3"-N-desmetil- y 3"-N, 6'-N-didesmetil-1- α -hidroxi- ω -aminoacilicos del antibiótico XK-62-2, sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y un procedimiento para la preparación de los mismos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIONCampo de la invención

Esta invención se refiere a nuevos derivados del antibiótico XK-62-2, a sus sales de adición de ácido y a un procedimiento para su preparación.

Descripción de la técnica anterior

El XK-62-2, un conocido antibiótico descrito en la solicitud de patente estadounidense copendiente número de serie 364.058, presentada el 25 de Mayo de 1973, está representado por la fórmula:



El antibiótico XK-62-2 y los procedimientos para la producción del mismo también están descritos en Okachi y colaboradores, The Journal of Antibiotics, Vol. XXVII, nº 10, págs. 793-800, 1974.

1 En pocas palabras, tal como se describe en la solici-
tud de patente estadounidense número de serie 364.058 (cuya
descripción se incorpora aquí expresamente por referencia),
5 el antibiótico XK-62-2 es producido fácilmente cultivando
actinomicetes como Micromonospora sagamiensis. Más especí-
ficamente, las cepas de los microorganismos antes menciona-
dos, tales como Micromonospora sagamiensis ATCC 21826, ATCC
21827, ATCC 21803 y ATCC 21949, se inoculan en un medio lí-
quido que contiene una fuente de carbono que pueda utilizar
10 el microorganismo, como azúcares, hidrocarburos, alcoholes,
ácidos orgánicos, etc.; fuentes de nitrógeno orgánico e inor-
gánico y sales inorgánicas y factores promotores del creci-
miento y se cultiva a 25-40°C durante 2 a 12 días hasta que
se detecta en el líquido de cultivo una actividad antibacte-
15 riana sustancial. El aislamiento y la purificación del
XK-62-2 se lleva a cabo mediante una combinación de técnicas
de adsorción y desorción de resinas cambiadoras de ión y car-
bón activo y cromatografía en columna empleando celulosa,
Sephadex, alúmina y gel de sílice. De esta forma, puede obte-
20 nerse el XK-62-2 en forma de sal o de base libre.

El XK-62-2 responde a la fórmula molecular $C_{20}H_{41}N_5O_7$
y tiene un peso molecular de 463. La sustancia es totalmente
soluble en agua y metanol, ligeramente soluble en etanol y
acetona e insoluble en cloroformo, benceno, acetato de etilo
25 y n-hexano.

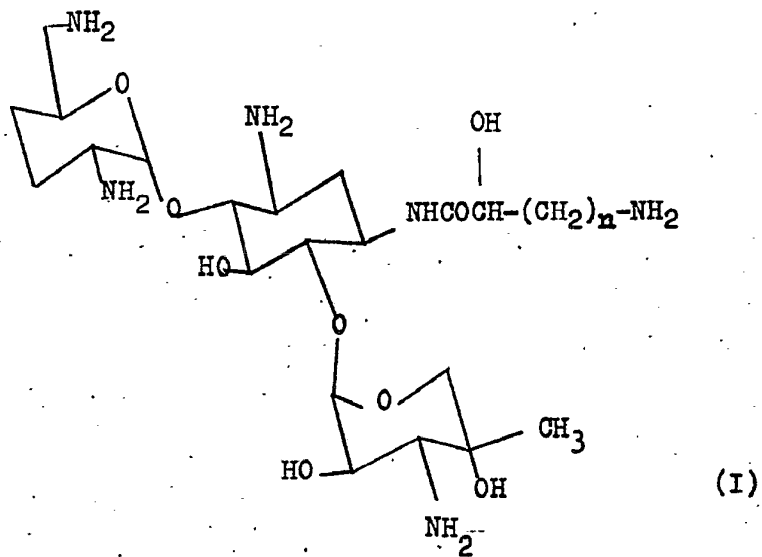
COMPENDIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a nuevos derivados antibió-
ticos representados por las fórmulas generales (I) y (II):
30

1

5

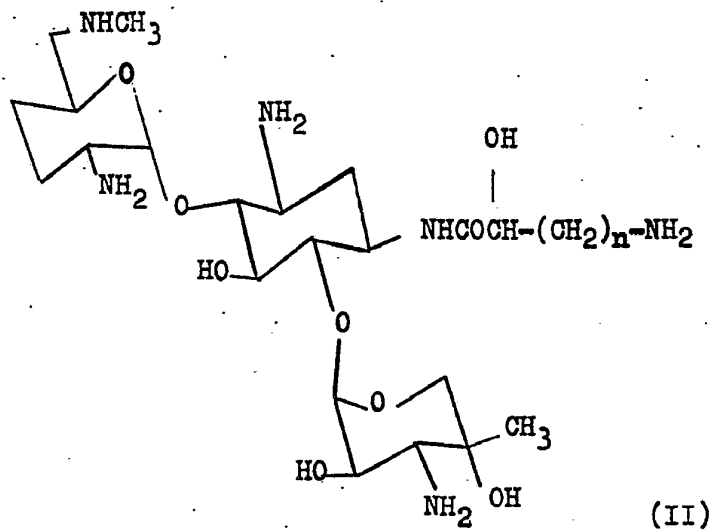
10



donde n es un número entero de 1 a 4;

15

20



25

donde n es un número entero de 1 a 4, y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

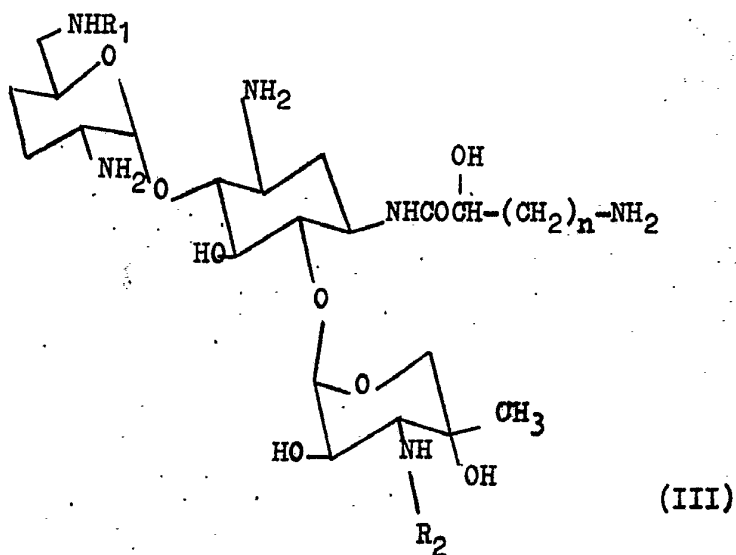
30

Además, esta invención se refiere a un procedimiento para la producción de los compuestos de fórmula (I) que consiste en oxidar los compuestos de fórmula (III):

1

5

10



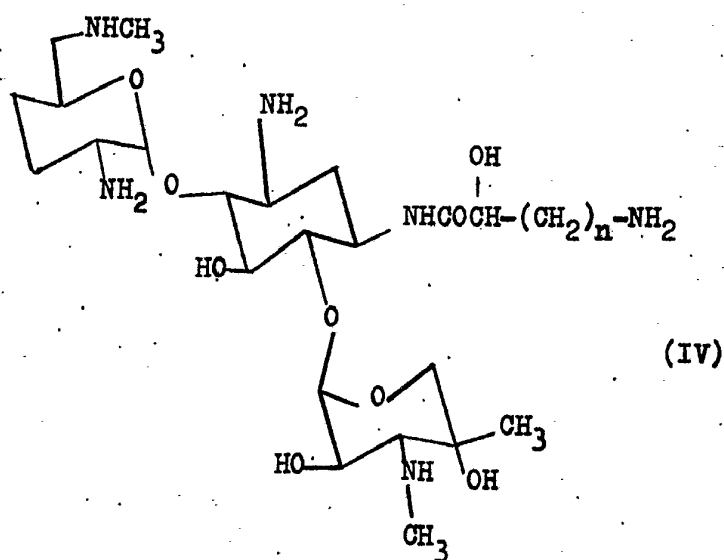
con un agente oxidante, donde R_1 y R_2 representan hidrógeno o CH_3 , con la condición de que R_1 y R_2 no son simultáneamente hidrógeno y n es un número entero de 1 a 4.

15

Además, esta invención se refiere a un procedimiento para la producción de los compuestos de fórmula (II) que consiste en oxidar los compuestos de fórmula (IV):

20

25



30

con un agente oxidante, donde n es un número entero de 1 a 4.

1 Los compuestos de fórmula (I) de la invención denominados en lo que sigue Compuestos (I) son los siguientes:

Compuesto (I-1) 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2 (es decir, n = 1)

5 Compuesto (I-2) 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril} XK-62-2 (es decir, n = 2)

Compuesto (I-3) 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- δ -aminovaleril}-XK-62-2 (es decir, n = 3)

10 Compuesto (I-4) 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- ϵ -aminocaproil}-XK-62-2 (es decir, n = 4).

Los compuestos de fórmula (II) de la invención denominados en lo que sigue Compuestos (II) son los siguientes:

Compuesto (II-1) 3"-N-desmetil-1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2 (es decir, n = 1)

15 Compuesto (II-2) 3"-N-desmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 (es decir, n = 2)

Compuesto (II-3) 3"-N-desmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- δ -aminovaleril}-XK-62-2 (es decir, n = 3)

20 Compuesto (II-4) 3"-N-desmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- ϵ -aminocaproil}-XK-62-2 (es decir, n = 4).

25 Los compuestos (I) y los Compuestos (II) son nuevos derivados antibióticos con intensa actividad antibacteriana contra diversas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y especialmente contra las bacterias que son resistentes a los antibióticos aminoglicósidos conocidos.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

30 La Figura 1 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear del 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-{L(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 Compuesto (I-2).

La Figura 2 muestra el espectro de resonancia magnética

1 ca nuclear del 3^o-N-desmetil-1-N-(L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobu-
tiril)-XK-62-2 Compuesto (II-2) .

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La reacción de oxidación

5 Los procedimientos para la producción de los Compues-
tos (I) a partir de los compuestos de fórmula (III) {en ade-
lante denominados Compuestos (III)} y de los Compuestos (II)
a partir de los compuestos de fórmula (IV) {denominados en
adelante compuestos (IV)} pueden ser efectuados mediante una
10 reacción de oxidación conocida utilizando métodos y produc-
tos convencionales.

Más específicamente, los compuestos (I) y (II) pueden
ser preparados por reacción de los compuestos (III) y (IV),
respectivamente, con un agente oxidante en un disolvente iner-
15 te apropiado, bajo las siguientes condiciones. La temperatura
de reacción está comprendida entre -20° y 100°C, generalmen-
te entre 0° y 70°C. El tiempo de reacción es de 0,5-5C he-
ras. El pH de la mezcla de reacción oscila entre 4,0 y 12,0.
Estas condiciones de reacción son apropiadamente selecciona-
20 das dentro de los límites citados de acuerdo con el tipo de
agente oxidante, la cantidad de agente oxidante y otras con-
diciones de la reacción.

El agente oxidante a utilizar en los procedimientos de
esta invención puede ser cualquiera de los agentes oxidantes
25 convencionales y compuestos con capacidad potencial de oxi-
dación. Específicamente, pueden utilizarse las sales de me-
tales pesados, peróxidos, halógenos, ácidos halogenados,
óxidos de nitrógeno, oxígeno molecular y similares. Más es-
pecíficamente, se utilizan los agentes oxidantes convencio-
30 nales como permanganatos, manganatos, dióxido de manganeso,

1 anhídrido crómico, bicromatos, cromatos, cromatos de alqui-
lo, cloruro de cromilo, dióxido de selenio, sales cobálticas,
sales céricas, ferricianuro potásico, óxido cúprico, óxido
5 de plomo, óxido mercúrico, mezclas de peróxido de hidrógeno
con uno o más de los reactivos seleccionados entre el grupo
formado por una sal ferrosa, una sal férrica, dióxido de se-
lenio, tetróxido de osmio, vanadatos, ácido wolfrámico y áci-
do crómico, tetraacetato de plomo, cloro, bromo, yodo, ácido
10 hipocloroso, ácido clórico, ácido hipobromoso, ácido brómico,
ácido peryódico, óxido nitroso, monóxido de nitrógeno, dióxi-
do de nitrógeno, aire, etc. Se emplean preferiblemente metales
nobles como platino, níquel, paladio, rodio, rutenio, renio
y similares como catalizador cuando se utiliza oxígeno mole-
cular.

15 Aunque puede utilizarse cualquiera de los agentes oxi-
dantes antes mencionados para poner en práctica esta inver-
ción, los preferidos son el cloro, bromo, yodo, ferricianuro
potásico, permanganato potásico y aire y el yodo es el más
preferido.

20 Los compuestos (III) y (IV) contienen grupos funciona-
les tales como grupos hidroxilo y grupos amino dentro de sus
moléculas. El objeto de esta invención puede cumplirse al mis-
mo tiempo que se evitan graves pérdidas de estos grupos fun-
cionales controlando adecuadamente la cantidad de agente oxi-
25 dante, la acidez de la mezcla de reacción, la temperatura de
reacción, el tiempo de reacción y la cantidad de disolvente
en la reacción con el agente oxidante convencional antes men-
cionado.

30 La cantidad de agente oxidante es de 0,5 a 15,0 moles
por mol de compuestos de partida (III) o (IV) pero esta can-

1 tidad puede ser adecuadamente seleccionada dentro de los límites anteriores de acuerdo con el tipo de agente oxidante, la temperatura de reacción y otras condiciones de la reacción.

5 Pueden utilizarse en esta invención los disolventes que pueden disolver a las sustancias reaccionantes pero que presentan la mínima reactividad con ellos. Por ejemplo, se utiliza agua sola o en combinación con uno o más disolventes seleccionados entre metanol, etanol, tetrahidrofurano, dimetilacetamida, dimetilformamida, dioxano y éter dimetílico de etilenglicol.

10 El compuesto de partida se disuelve en el disolvente a una concentración de 4,5 a 50 milimoles.

Preparación de los compuestos de partida (III)

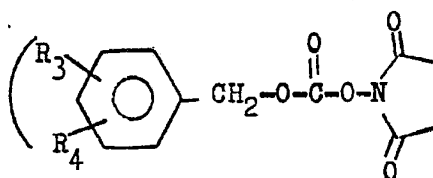
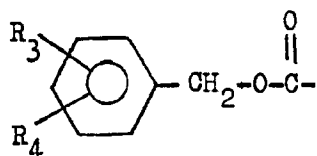
15 Los compuestos de partida (III) pueden ser preparados como sigue: Los compuestos donde R_1 y R_2 son ambos CH_3 denominados en lo que sigue compuestos (III-a) pueden ser preparados introduciendo el correspondiente grupo α -hidroxi- ω -aminoacilo en el grupo amino ligado al átomo de carbono de la posición 1 del compuesto conocido XK-62-2. Estos métodos están descritos en las siguientes solicitudes de patentes estadounidenses copendientes, cuyas descripciones se incorporan aquí expresamente por referencia:

<u>Número de serie</u>	<u>Fecha de concesión</u>	<u>n</u>
25 531.768	11 de Diciembre de 1974	2
531.769	11 de Diciembre de 1974	2
542.950	22 de Enero de 1975	2
556.223	7 de Marzo de 1975	1
601.361	4 de Agosto de 1975	3, 4

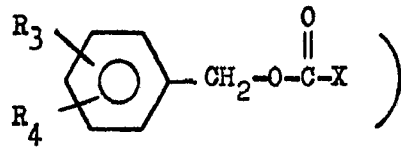
30

1 En pocas palabras, los compuestos (III-a) pueden ser
preparados protegiendo primero los grupos amino unidos a los
átomos de carbono de las posiciones 2' y/o 6' del XK-62-2,
después haciendo reaccionar el compuesto resultante con un
5 agente acilante, es decir, un compuesto capaz de introducir
un grupo α -hidroxi- ω -amino(sustituído)acilo, donde por lo me-
nos uno de los átomos de hidrógeno del grupo ω -amino está
sustituído con un grupo protector, para introducir el grupo
 α -hidroxi- ω -amino(sustituído)acilo en el grupo amino unido
10 al átomo de carbono de la posición 1 del compuesto y final-
mente eliminando todos los grupos protectores del amino. En
general, puede utilizarse cualquier grupo protector fácilmen-
te eliminable de los habitualmente empleados en la síntesis
de péptidos y las condiciones de reacción pueden ser las ha-
15 bitualmente empleadas en las reacciones conocidas de protec-
ción de grupos amino. Los grupos protectores típicos y los
correspondientes reactivos están descritos en la obra de
M. Bodanszky y colaboradores: Peptide Synthesis, págs. 21-41
y 75-135 (1966) (John Wiley & Sons, Inc., Estados Unidos)
20 (en adelante citada como documento A); A. Kapoor: Journal of
Pharmaceutical Sciences, Vol. 59, págs. 1-27 (1970) (en ade-
lante citada como documento B) y en M. Bodanszky y colabo-
radores: Synthesis, págs. 453-463 (1972) (en adelante citada
como documento C).

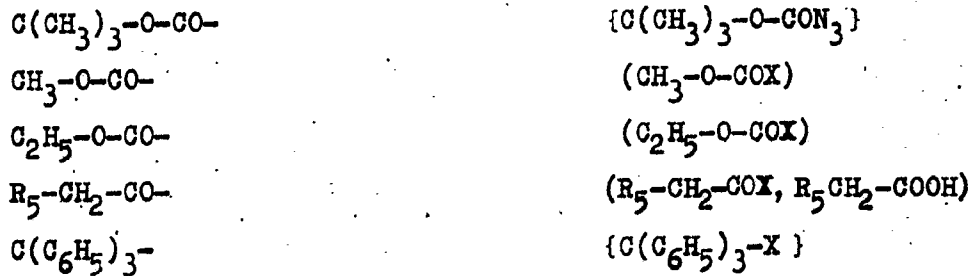
25 Son ejemplos de grupos protectores preferidos y los
correspondientes reactivos los siguientes:



1

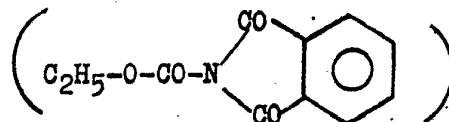
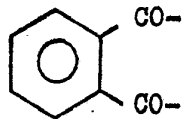
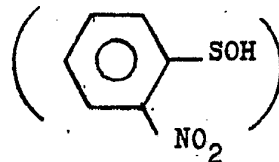
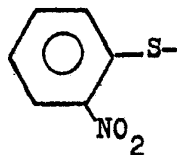


5



10

15



20

(R_3 y R_4 en las fórmulas anteriores pueden ser iguales e diferentes y representan H, OH, NO_2 , Cl, Br, I, grupos alquile de 1 a 5 átomos de carbono o grupos alcoxi de 1 a 5 átomos de carbono; R_5 es H, F, Cl, Br, I o un grupo alquile de 1 a 5 átomos de carbono y X es Cl, Br o I).

25

Más específicamente, se hace reaccionar un mol de XK-62-2 con 1,0 a 4,5 moles, preferiblemente 1,5 a 2,6 moles, del reactivo protector a una temperatura de -50° a $+50^\circ\text{C}$, preferiblemente de -20° a $+30^\circ\text{C}$, en un disolvente apropiado. Los disolventes adecuados son agua; alcoholes como metanol, etanol, 2-propanol, butanol, etc.; amidas como dimetilforma-

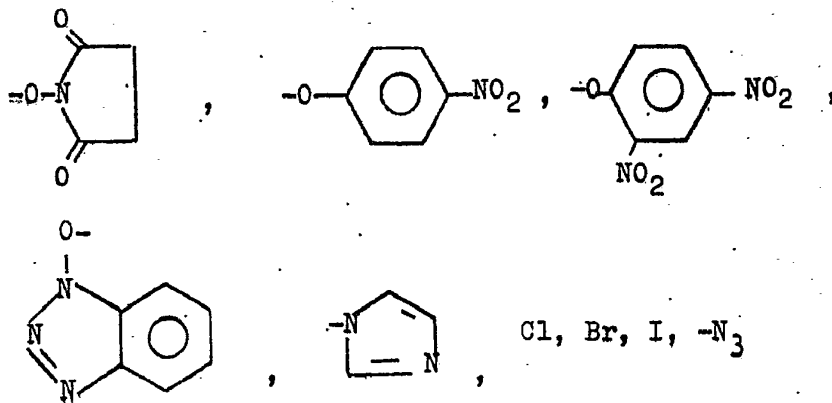
30

1 mida, dimetilacetamida, etc.; tetrahidrofurano; dioxano;
éter dimetílico de etilenglicol; piridina, mezclas de estos
disolventes; etc. Se prefiere especialmente un disolvente
mixto de etanol y agua 2:1 en volumen. El procedimiento ante-
5 rior está descrito en los documentos A, B y C.

El compuesto resultante se hace reaccionar después
con un agente acilante, es decir un compuesto capaz de in-
troducir un grupo α -hidroxi- ω -amino(sustituido)acilo, donde
10 por lo menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo ω -ami-
no está sustituido con un grupo protector o con derivados
funcionales del mismo. El derivado funcional del grupo car-
boxilo del agente puede ser uno cualquiera de diversos deri-
vados funcionales conocidos de los grupos carboxilo habitual-
mente utilizados en la síntesis de péptidos, tales como ha-
15 luros de ácido, azidas, anhídridos mixtos, y ésteres reactivos
y hay descritos ejemplos específicos en los documentos A,
B y C antes mencionados.

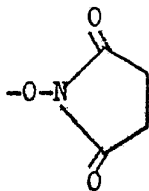
Como derivados funcionales preferidos, son apropiados
aquellos con una estructura en la que el grupo hidróxido del
20 grupo carboxilo está sustituido con uno de los siguientes

grupos:



1 o $R_6\text{OCOO-}$, donde R_6 es un grupo alquilo de 1 a 7 átomos de carbono o un grupo fenilo.

5 Son agentes acilantes especialmente preferidos los que presentan una estructura en la que el grupo OH del grupo carboxilo está sustituido con



10 Estos compuestos se preparan por reacción del correspondiente α -hidroxi- ω -amino(sustituido)ácido con N-hidroxi-succinimida, en presencia de un agente deshidratante y condensante como dicitclohexilcarbodiimida.

15 La mezcla de reacción resultante conteniendo el agente acilante puede ser utilizada para la reacción de acilación tal como está, aunque el agente acilante puede ser aislado de la mezcla de reacción y después empleado para la reacción de acilación.

20 Naturalmente pueden utilizarse otros agentes acilantes de la misma forma descrita.

Como disolvente para la reacción de acilación, puede utilizarse cualquiera de los disolventes antes mencionados en relación con la reacción de protección del grupo amino.

25 Este método de acilación per se está descrito en los documentos A, B y C antes mencionados.

30 Los grupos protectores del amino del derivado resultante de XK-62-2 obtenido por la reacción de acilación pueden ser eliminados de forma conocida de eliminación de grupos protectores del amino. Por ejemplo, cuando los grupos protectores del amino son grupos ftaloilo, la eliminación se rea-

1 za con hidrazina; cuando los grupos protectores del amino
son grupos carbometoxi o grupos carboetoxi, la eliminación
se realiza con hidróxido bórico; cuando los grupos protectores
5 del amino son grupos butoxicarbonilo terciario, la eliminación
se realiza con ácido fórmico o ácido trifluoroacético;
cuando los grupos protectores del amino son grupos tritilo,
la eliminación se realiza con ácido acético e ácido trifluoro-
acético; cuando los grupos protectores del amino son grupos
10 ortonitrofenilsulfenilo, la eliminación se realiza con ácido
acético o ácido clorhídrico; y cuando los grupos protectores
del amino son grupos cloroacetilo, la eliminación se realiza
con 3-nitropiridin-2-tiona {citada por K. Undheim y colabo-
radores: Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions,
Parte I, pág. 829 (1973)}.

15 Cuando los grupos protectores del amino son grupos
benciloxicarbonilo, la eliminación se realiza fácilmente me-
diante una hidrogenólisis a la temperatura ambiente y a la
presión atmosférica, con una pequeña cantidad de ácido tal
como clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, acético, etc.,
20 en presencia de un catalizador metálico como paladio, pla-
tino y similares, en un disolvente por lo menos, selecciona-
do entre el grupo formado por agua, alcoholes, tetrahidro-
furano, dioxano, dimetilformamida, dimetilacetamida, éter di-
metílico de etilenglicol, etc.

25 El producto deseado puede ser aislado y purificado de
la mezcla de reacción así obtenida empleando cromatografía
de columna con adsorbentes como resinas cambiadoras de ión,
gel de sílice, alúmina, celulosa, Sephadex, etc., o cromato-
grafía en capa fina con gel de sílice, alúmina o celulosa.
30

1 Los compuestos de partida (III) donde R_1 es H y R_2 es
CH₃ {en lo que sigue citados como compuestos (III-c)} pueden
ser preparados de la misma forma que los compuestos (III-a)
antes descrita, por acilación de 6'-N-desmetil-XK-62-2 (que
5 es la gentamicina G_{1a} cuya preparación está descrita en la
patente estadounidense nº 3.091.572, cuya descripción se in-
corpora aquí expresamente por referencia).

 Los compuestos de partida (III) donde R_1 es CH₃ y R_2
es H {citados aquí algunas veces como compuestos (III-b)} son
10 igual que los compuestos (II) y pueden ser preparados por el
proceso de oxidación de esta invención.

Preparación de los compuestos de partida (IV)

 Los compuestos (IV) son los mismos compuestos (III-a)
y pueden ser preparados como se ha descrito antes.

15 Producción de compuestos (I)

 Cuando los compuestos (III-a) se oxidan como se ha
descrito antes, se obtiene una mezcla de compuestos (III-b),
(III-c) y (I). El producto deseado, compuestos (I), puede ser
obtenido de esta mezcla. Además, los compuestos (I) pueden
20 ser obtenidos aislando los compuestos (III-b) y (III-c) de
la mezcla y oxidándolos. Para obtener el producto deseado,
los compuestos (I), con un alto rendimiento a partir de los
compuestos (III), se prefiere el uso de compuestos (III-c)
ya que el grupo N-metilo unido al átomo de carbono de la po-
25 sición 3ª de los compuestos (III) es más reactivo que el uni-
do al átomo de carbono de la posición 6'.

 En la preparación de los compuestos (I), las condi-
ciones de reacción cuando se utiliza yodo, que es el agente
oxidante más preferido, son las descritas a continuación con
30 detalle.

1 (A) Síntesis de compuestos (III-b) a partir de Compuestos
(III-a).

5 Habitualmente se utilizan de 0,7 a 10,0 moles, pre-
feriblemente de 2,0 a 6,0 moles de yodo por mol de compues-
tos (III-a) para obtener los compuestos (III-b) por elimina-
ción del grupo metilo del grupo N-metilo unido al átomo de
carbono de la posición 3" de los compuestos (III-a).

10 Los compuestos (III-b) deseados pueden obtenerse con
un alto rendimiento manteniendo básico el pH de la mezcla de
reacción durante esta reacción. Como sustancia básica utili-
zada para mantener básica la mezcla de reacción, son apropia-
das las que no reaccionan con los compuestos de partida, con
el agente oxidante ni con los productos de reacción. Por
ejemplo, pueden utilizarse hidróxidos y carbonatos de metales
15 alcalinos y alcalino-térreos, alcoholatos de metales alcali-
nos, sales de metales alcalinos de ácido carboxílico y sales
de metales alcalino-térreos de ácido carboxílico. En cuanto
a la cantidad de sustancia básica, se emplean de 0,5 a 6,0
moles, preferiblemente de 1,5 a 3,5 moles, de una sustancia
20 fuertemente básica o de 5,0 a 25,0 moles, preferiblemente de
5,0 a 13,0 moles, de una sustancia débilmente básica por mol
de material que ha de ser desmetilado. Estas sustancias bá-
sicas pueden ser agregadas al principio de la reacción o
agregadas intermitentemente durante la reacción y no se ob-
25 serva ninguna diferencia sustancial entre estas dos formas
de operación.

30 La reacción se lleva a cabo generalmente a una tempe-
ratura de -10 a +90°C, preferiblemente de 20 a 50°C y está
completa en 1 a 24 horas, generalmente en 2 a 15 horas.

1 (B) Síntesis de compuestos (III-c) a partir de compuestos
(III-a).

5 Esta reacción se lleva a cabo en las mismas condicio-
nes que en (A) a excepción de que habitualmente se emplean
de 1,0 a 13,0 moles, preferiblemente de 4,0 a 8,0 moles de
yodo por mol de compuestos (III-a).

10 (C) Síntesis de compuestos (I) a partir de compuestos (III-a).
Esta reacción se lleva a cabo en las mismas condicio-
nes que en (A) a excepción de que habitualmente se utilizan
de 2,0 a 15,0 moles, preferiblemente de 6,0 a 11,0 moles de
yodo por mol de compuestos (III-a).

15 (D) Síntesis de compuestos (I) a partir de compuestos (III-b).
Los compuestos (I) deseados pueden obtenerse en las
mismas condiciones que en (A) a excepción de que se utilizan
como materiales de partida los compuestos (III-b) y que se
emplean de 2,0 a 15,0 moles, preferiblemente de 6,0 a 11,0
moles de yodo por mol de compuestos (III-b).

20 (E) Síntesis de compuestos (I) a partir de compuestos (III-c).
Los compuestos (I) deseados pueden obtenerse en las
mismas condiciones que en (A) a excepción de que se utilizan
los compuestos (III-c) como sustancias de partida y que ha-
bitualmente se emplean de 0,7 a 10,0 moles, preferiblemente
de 2,0 a 6,0 moles de yodo por mol de compuestos (III-c).

25 En las reacciones anteriores, la mezcla de reacción
que contiene los compuestos (III-b) y (III-c) producidos a
partir de los compuestos (III-a) puede ser utilizada directa-
mente para la preparación de los compuestos (I) sin necesi-
dad de aislar y recuperar los compuestos (III-b) y (III-c).

30 El aislamiento y la purificación de los productos de
la mezcla de reacción se lleva a cabo preferiblemente de la

1 siguiente forma.

5 Una vez completada la reacción, se neutraliza la mezcla. La mezcla de reacción neutralizada se pone en contacto con una resina cambiadora de catión tal como está o se concentra a presión reducida y se pone en contacto una solución acuosa del residuo resultante con una resina cambiadora de catión. La sustancia de partida que no ha reaccionado y los productos de reacción son adsorbidos en la resina. Después la resina se lava con agua y la elución se realiza con amoníaco acuoso 2,0 N. Después se concentra el eluato y los productos se aíslan y purifican por métodos convencionales, por ejemplo cromatografía en columna y cromatografía en capa fina, empleando adsorbentes como resinas cambiadoras de ión, gel de sílice, alúmina, celulosa, etc.

15 Preparación de los compuestos (II)

En la preparación de los compuestos (II), cuando se utiliza yodo como agente oxidante, que es el agente oxidante más preferido, las condiciones de reacción son las siguientes.

20 Para producir eficazmente compuestos (II) por eliminación del grupo metilo del grupo N-metilo unido al átomo de carbono de la posición 3" de los compuestos (IV), se emplea yodo como agente oxidante en una proporción de 0,7 a 10,0 moles, preferiblemente de 2,0 a 6,0 moles por mol de compuestos (IV).

25 Los compuestos (II) deseados pueden obtenerse con altos rendimientos manteniendo la mezcla de reacción a un pH básico cuando se emplea yodo como agente oxidante. Como sustancias básicas a utilizar para el mantenimiento de la mezcla de reacción a un pH básico durante la reacción, son conve-

30

1 nientes aquéllas ~~que presentan~~ solamente una posibilidad remota
de descomponer a los compuestos (IV) y a sus productos desme-
tilados por reacción con ellos y de reducir sustancialmente
la reactividad del yodo por reacción con el mismo. Por ejem-
5 plo, los hidróxidos y carbonatos de metales alcalinos y alcalino-térreos, los alcoholatos de metales alcalinos, las sales de metales alcalinos y ácidos carboxílicos y las sales de metales alcalino-térreos y ácidos carboxílicos son las sustancias básicas que satisfacen los requisitos anteriores.

10 En cuanto a la cantidad de sustancias básicas, se utilizan de 0,5 a 6,0 moles, preferiblemente de 1,5 a 3,5 moles de una sustancia fuertemente básica por mol de compuesto a desmetilar o de 5,0 a 25,0 moles, preferiblemente de 5,0 a 13,0 moles, de una sustancia débilmente básica por mol de
15 compuesto a desmetilar. Estas sustancias básicas pueden ser agregadas al principio de la reacción o intermitentemente durante la reacción sin ninguna diferencia sustancial.

20 La temperatura de reacción es generalmente de -10 a 90°C, preferiblemente de 20° a 50°C y la reacción es completa en 1 a 24 horas, habitualmente en 2 a 15 horas.

25 En el procedimiento de esta invención, los compuestos (II) apenas se producen selectivamente; pero los compuestos donde el grupo metilo del grupo N-metilo unido al átomo de carbono de la posición 6' de los compuestos (IV) es eliminado {correspondientes a los compuestos (III-c)} y los compuestos donde son eliminados los grupos metilo de los grupos N-metilo unidos a los átomos de carbono en las posiciones 6' y 3" de los compuestos (IV) { que da lugar a los compuestos (I) } son producidos simultáneamente con la producción de compuestos (II).
30

1 El aislamiento y la purificación del producto de la
mezcla de reacción se lleva a cabo preferiblemente en la forma antes descrita para la preparación de compuestos (I).

Actividad antibacteriana

5 Los compuestos (I) y (II), que son los compuestos deseados de esta invención, son nuevos derivados antibióticos y presentan per se una actividad antibacteriana. Por lo tanto, son útiles como antibióticos.

10 La Tabla I muestra los espectros antibacterianos de 1-N-(DL-(α -hidroxi- β -aminopropionil)) -XK-62-2, 1-N-(L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril)-XK-62-2; compuestos (I-1), (I-2), (II-1) y (II-2), frente a diversas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, determinados por el método de dilución en agar a pH 7,2.

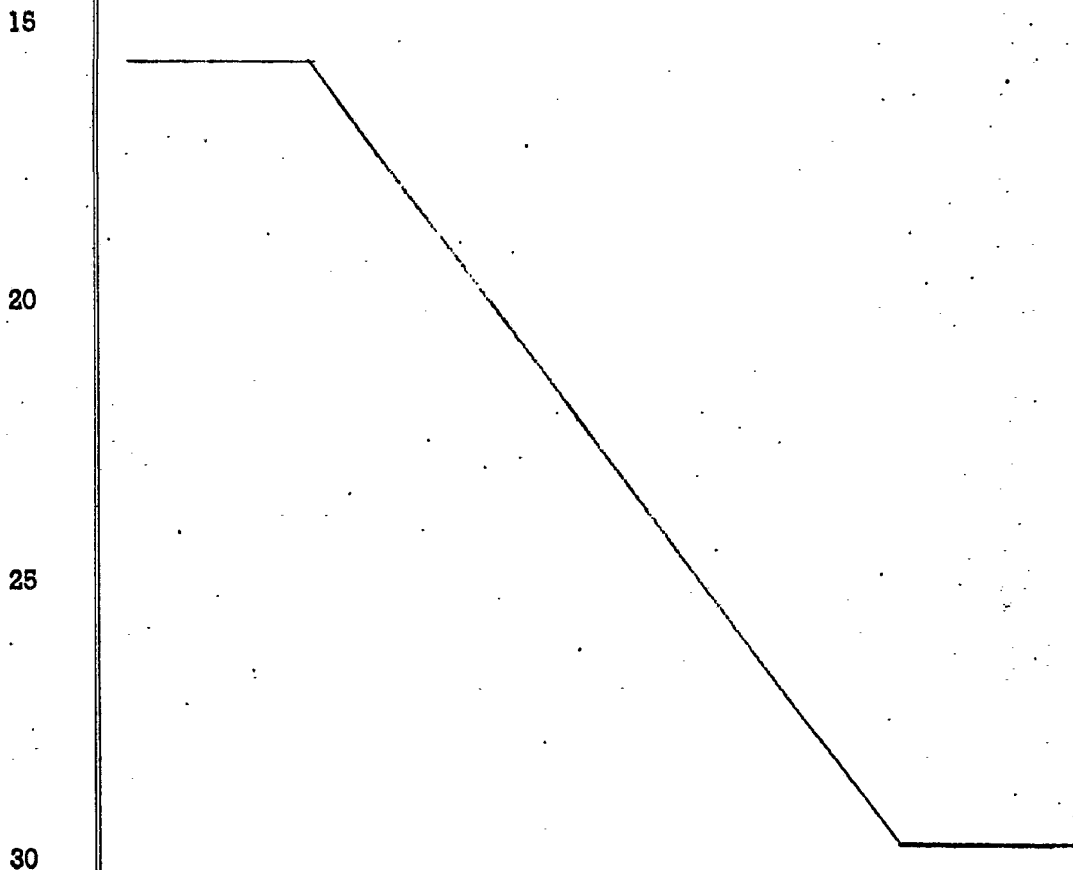


TABLA I

Espectro antibacteriano (concentración mínima de inhibición, mcg/ml)

Cepas	1-N-(DL)-α-hi droxi-β-ami- nopropionil- XK-62-2	1-N(L)-(-)-α- hidroxi-β-ami- nobutiril- XK-62-2	Compuesto I-1	Compuesto I-2	Compuesto II-1	Compuesto II-2
Staphylococcus aureus 209 P	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,4
Staphylococcus aureus Smith	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4
Streptococcus faecalis ATCC 10541	12,5	6,25	12,5	12,5	25	25
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
Sarcina lutea ATCC 9341	0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	1,56
Escherichia coli T-2	0,4	0,4	1,56	0,78	1,56	0,78
Escherichia coli T-5	0,78	0,4	1,56	1,56	1,56	0,4
Escherichia coli Juhl	0,78	0,4	1,56	1,56	3,12	1,56
Pseudomonas aeruginosa BMH 1	1,56	0,78	0,78	0,78	1,56	1,56
Pseudomonas aeruginosa BMH 10	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Pseudomonas aeruginosa n° 12	0,78	0,4	0,4	0,4	0,78	0,78
Pseudomonas aeruginosa NC-5	3,12	3,12	0,78	1,56	3,12	3,12
Pseudomonas aeruginosa E-2	3,12	3,12	1,56	1,56	3,12	3,12
Klebsiella pneumoniae n° 1045	0,78	0,2	0,4	0,78	0,78	0,78
Salmonella enteritidis G-14	6,25	3,12	6,25	12,5	3,12	3,12
Salmonella typhimurium J-9	0,4	0,2	0,78	0,4	0,78	0,78
Shigella sonnei ATCC 9290	0,78	0,78	3,12	1,56	3,12	3,12
Serratia sp. T-55	1,56	0,78	3,12	3,12	1,56	1,56
Proteus mirabilis 1287	12,5	12,5	12,5	12,5	25	12,5
Proteus vulgaris 6897	1,5	1,56	6,25	3,12	12,5	6,25
Proteus vulgaris KY 4208	1,56	0,78	0,78	0,78	1,56	0,78
Proteus morgani KY 4290	0,78	0,78	1,56	0,78	3,12	1,56
Escherichia coli KY Z-343 ¹	0,2	0,1	0,4	0,2	0,4	0,2
Escherichia coli KY 8348 ²	0,2	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4
Escherichia coli KY 0320 ³	0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	0,78

1

5

10

15

20

25

30

TABLA I

Espectro antibacteriano (concentración mínima de in

	Cepas	1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2	1-N(L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril)-XK-62-2	Comp I
1				
5	Staphylococcus aureus 209 P	0,4	0,4	0
	Staphylococcus aureus Smith	0,2	0,1	0
	Streptococcus faecalis ATCC 10541	12,5	6,25	12
	Bacillus subtilis ATCC 6633	0,2	0,1	0
	Sarcina lutea ATCC 9341	0,4	0,2	0
10	Escherichia coli T-2	0,4	0,4	1
	Escherichia coli T-5	0,78	0,4	1
	Escherichia coli Juhl	0,78	0,4	1
	Pseudomonas aeruginosa BMH 1	1,56	0,78	0
	Pseudomonas aeruginosa BMH 10	0,4	0,4	0
15	Pseudomonas aeruginosa nº 12	0,78	0,4	0
	Pseudomonas aeruginosa NC-5	3,12	3,12	0
	Pseudomonas aeruginosa E-2	3,12	3,12	0
	Klebsiella pneumoniae nº 3045	0,78	0,2	0
	Salmonella enteritidis G-14	6,25	3,12	0
20	Salmonella typhimurium E-9	0,4	0,2	0
	Shigella sonnei ATCC 9290	0,78	0,78	0
	Serratia sp. T-55	1,56	0,78	0
	Proteus mirabilis 1287	12,5	12,5	10
	Proteus vulgaris 6897	10,5	1,56	0
25	Proteus reubergeri KY 4288	1,56	0,78	0
	Proteus morgani KY 4290	0,78	0,78	0
	Escherichia coli KY Z-343 ¹	0,2	0,1	0
	Escherichia coli KY 8348 ²	0,2	0,1	0
30	Escherichia coli KY 8320 ³	0,4	0,2	0

TABLA I

Boteriano (concentración mínima de inhibición, mcg/ml)

<u>1-N-(DL-α-hidroxi-β-aminopropionil)-XK-62-2</u>	<u>1-N(L-(-)-α-hidroxi-γ-aminobutiril)-XK-62-2</u>	<u>Compuesto I-1</u>	<u>Compuesto I-2</u>	<u>Compuesto II-1</u>	<u>Compuesto II-2</u>
0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,4
0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4
12,5	6,25	12,5	12,5	25	25
0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	1,56
0,4	0,4	1,56	0,78	1,56	0,78
0,78	0,4	1,56	1,56	1,56	0,4
0,78	0,4	1,56	1,56	3,12	1,56
1,56	0,78	0,78	0,78	1,56	1,56
0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
0,78	0,4	0,4	0,4	0,78	0,78
3,12	3,12	0,78	1,56	3,12	3,12
3,12	3,12	1,56	1,56	3,12	3,12
0,78	0,2	0,4	0,78	0,78	0,78
6,25	3,12	6,25	12,5	3,12	3,12
0,4	0,2	0,78	0,4	0,78	0,78
0,78	0,78	3,12	1,56	3,12	3,12
1,56	0,78	3,12	3,12	1,56	1,56
12,5	12,5	12,5	12,5	25	12,5
12,5	1,56	6,25	3,12	12,5	6,25
1,56	0,78	0,78	0,78	1,56	0,78
0,78	0,78	1,56	0,78	3,12	1,56
0,2	0,1	0,4	0,2	0,4	0,2
0,2	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4
0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	0,78

TABLA I (continuación)

	Cepas	1-N-(DL-α-hidroxi-β-amino)propionil) X-62-2	1-N(L-(-)-α-hidroxi-β-amino)butiril) X-62-2	Compuesto I-1	Compuesto I-2	Compuesto II-1	Compuesto II-2
1	<i>Escherichia coli</i> KY 8340 ³	0,1	0,1	0	0,4	0,4	0,4
5	<i>Escherichia coli</i> KY Z-330 ⁴	0,2	0,2	0,5	0,4	0,78	0,4
	<i>Escherichia coli</i> KY 8321 ⁵	0,4	0,2	1,56	0,78	1,56	0,78
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8510 ¹	3,12	3,12	12,5	12,5	3,12	3,12
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8511 ¹	3,12	3,12	50	25	3,12	3,12
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8511 ²	1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8518 ³	1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8512 ⁶	1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8519 ⁶	6,25	6,25	3,12	3,12	6,25	6,25
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8563 ⁷	3,12	6,25	1,56	3,12	3,12	3,12
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY Z-444 ⁸	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY Z-445 ⁸	3,12	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25
	<i>Serratia marcescens</i> POE 1065 ¹	0,78	0,78	50	25	3,12	3,12
	<i>Providencia</i> sp. 164 ⁹	6,25	6,25	6,25	6,25	25	12,5
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Y-58 ⁴	0,4	0,2	0,78	0,78	0,78	0,4
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Y-60 ⁴	0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	0,78
	1: produce kanamicin-acetiltransferasa						
	2: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo I						
	3: produce neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo I						
	4: produce gentamicin-adeniltransferasa						
	5: produce gentamicin-adeniltransferasa y neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo II						
25	6: produce neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo I y Tipo II						
	7: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo III						
	8: produce 6'-N-acetiltransferasa Tipo III						
	9: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo II						

Los enzimas anteriores son producidos intracelularmente y con los enzimas las bacterias inactivan a los antimbióticos.

TABLA I (continuaci

	Cepas	1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil) XK-62-2	1-N{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril} XK-62-2	Compu I-
1				
5	<i>Escherichia coli</i> KY 8340 ³	0,1	0,1	0
	<i>Escherichia coli</i> KY Z-330 ⁴	0,2	0,2	0
	<i>Escherichia coli</i> KY 8321 ⁵	0,4	0,2	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8510 ¹	3,12	3,12	12
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8510 ¹	3,12	3,12	50
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8511 ²	1,56	1,56	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8518 ³	1,56	1,56	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8512 ⁶	1,56	1,56	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8519 ⁶	6,25	6,25	3
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY 8563 ⁷	3,12	6,25	1
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY Z-444 ⁸	1,56	1,56	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KY Z-445 ⁸	3,12	6,25	6
	<i>Serratia marcescens</i> POE 1065 ¹	0,78	0,78	50
	<i>Providencia</i> sp. 164 ⁹	6,25	6,25	6
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Y-58 ⁴	0,4	0,2	6
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Y-60 ⁴	0,4	0,2	1
	1: produce kanamicin-acetiltransferasa			
	2: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo I			
	3: produce neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo I			
	4: produce gentamicin-adeniltransferasa			
	5: produce gentamicin-adeniltransferasa y neomicin-kanamicin-fosfot			
25	6: produce neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo I y Tipo II			
	7: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo III			
	8: produce 6'-N-acetiltransferasa Tipo III			
	9: produce gentamicin-acetiltransferasa Tipo II			

Los enzimas anteriores son producidos intracelularmente y con los antibióticos.

TABLA I (continuación)

<u>N-(DL-α-hidroxi-β-amipropionil) XK-62-2</u>	<u>1-N(L-(-)-α-hidroxi-γ-aminobutiril) XK-62-2</u>	<u>Compuesto I-1</u>	<u>Compuesto I-2</u>	<u>Compuesto II-1</u>	<u>Compuesto II-2</u>
0,1	0,1	0	0,4	0,4	0,4
0,2	0,2	0,5	0,4	0,78	0,4
0,4	0,2	1,56	0,78	1,56	0,78
3,12	3,12	12,5	12,5	3,12	3,12
3,12	3,12	50	25	3,12	3,12
1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	1,56
6,25	6,25	3,12	3,12	6,25	6,25
3,12	6,25	1,56	3,12	3,12	3,12
1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56
3,12	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25
0,78	0,78	50	25	3,12	3,12
6,25	6,25	6,25	6,25	25	12,5
0,4	0,2	0,78	0,78	0,78	0,4
0,4	0,2	0,78	0,78	1,56	0,78

arasa
 ferasa Tipo I
 fosfotransferasa Tipo I
 ferasa
 ferasa y neomicin-kanamicin-fosfotransferasa Tipo II
 fosfotransferasa Tipo I y Tipo II
 ferasa Tipo III
 Tipo III
 ferasa Tipo II

ducidos intracelularmente y con los enzimas las bacterias inactivan a los an-

1 De la Tabla I anterior se deduce que los compuestos
(I) y (II) presentan una actividad antibacteriana notablemen-
te intensa contra diversas bacterias Gram-positivas y Gram-
negativas entre las que se encuentran las resistentes a los
5 antibióticos aminoglicósidos. Por lo tanto, se espera que
sean eficaces para el tratamiento de diversas infecciones
en el hombre y en los animales, inducidas por estas bacte-
rias flogógenas. Por ejemplo, se espera que estos compuestos
sean efectivos para el tratamiento de las infecciones del
10 tracto urinario y de las infecciones del sistema respiratorio
inducidas por Staphylococcus aureus, Escherichia coli y ce-
pas del género Proteus. Los compuestos también son útiles pa-
ra la esterilización de superficies, por ejemplo en hospita-
les y en zonas de preparación de alimentos.

15 La Tabla II muestra la toxicidad aguda (DL₅₀) del
1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2, 1-N-{L(-)- α -
hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2, compuestos (I-2), (II-1) y
(II-2) en ratones.

TABLA II

	<u>DL₅₀, mg/kg</u>
20 1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)- XK-62-2	185
1-N-{L(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}- XK-62-2	180
25 Compuesto (I-2)	200
Compuesto (II-1)	175
Compuesto (II-2)	250

30 Si se desea, los compuestos (I) y (II) deseados de es-
ta invención pueden ser convertidos en sus sales de adición
de ácido (es decir, sales amínicas) con ácidos no tóxicos y

1 farmacéuticamente aceptables. En esta invención, los ácidos
no tóxicos son los ácidos inorgánicos como clorhídrico, brom-
hídrico, yodhídrico, sulfúrico, fosfórico, carbónico, etc. y
ácidos orgánicos como acético, fumárico, málico, cítrico,
5 mandélico, tartárico, ascórbico, etc. Las sales de adición
de ácidos se preparan por métodos conocidos en la técnica.

La práctica de esta invención es ilustrada mediante
los siguientes ejemplos representativos. Sin embargo, son po-
sibles diversas modificaciones y los ejemplos no son limita-
10 tivos de la invención.

EJEMPLO 1

Se disuelven 720 mg (1,28 milimoles) de 1-N-{L-(-)- α -
hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 y 2,10 g (15,4 milimoles) de
15 trihidrate de acetato sódico en 55,0 ml de dimetilformamida
acuosa al 50 %. A la solución se añaden 1,8 g (7,1 milimoles)
de yodo de una sola vez. La reacción se lleva a cabo agitando
a 55°C durante 2,5 horas. Una vez completada la reacción, la
mezcla se pasa a través de una columna de 50 ml de Amberlite
(producto de Rohm & Haas Co.) IRC-50 (forma H⁺) y la columna
20 se lava con 200 ml de agua para desalificar y decolorar. Des-
pués se hace pasar por la columna amoniaca acuoso 2,0 N. Se
combinan 85 ml de las fracciones que presentan una reacción
coloreada positiva con la ninhidrina y se concentran a pre-
sión reducida para obtener 670 mg de un residuo ligeramente
25 amarillento. El residuo se somete a cromatografía en columna
empleando 25 g de gel de sílice y un disolvente formado por
una mezcla de isopropanol, cloroformo, y amoniaco acuoso con-
centrado 4:1:1 en volumen. El eluato se recoge en porciones
de 12 ml. Se combinan las fracciones números 35-55 y se con-
30 centran a sequedad a presión reducida para recuperar 210 mg

1 del material de partida que no ha reaccionado.

Después las fracciones números 61-69 se concentran a sequedad bajo presión reducida para obtener 54 mg de 6'-N-desmetil-1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2.

5 A continuación se concentran las fracciones números 73-101 a presión reducida para obtener 175 mg de 3"-N-desmetil-1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 (es decir, compuesto (II-2)).

10 Los valores Rf del compuesto (II-2) y el compuesto de partida en cromatografía en capa fina de gel de sílice {placa: gel de sílice nº 5715 (producida por Merck & Co., Inc.), eluyente: n-butanol/etanol/cloroformo/amoniaco acuoso concentrado 4:5:2:5 en volumen, desarrellado a la temperatura ambiente durante 4 horas} son 0,28 y 0,33 respectivamente.

15 Punto de fusión: 138-157°C
Rotación específica: $[\alpha]_D^{29} +89,6$ (c = 1,05, agua)
Espectro de absorción infrarrojo: $\nu_c = 0 \ 1640 \text{ cm}^{-1}$
Espectro de resonancia magnética nuclear (en D₂O, $\rho_D = 0,9$) δ (en ppm desde DSS) (Fig. 2): 1,29 (3H, s),
20 2,29 (3H, s), 5,18 (1H, d, J = 4,0 Hz), 5,81 (1H, d, J = 3,5 Hz).

25 Analisis elemental para C₂₃H₄₆N₆O₉·H₂O:
Calculado : C, 48,58; H, 8,51; N, 14,78 %
Encontrado: C, 48,97; H, 8,15; N, 14,52 %

Las fracciones núms. 109-137 se concentran a sequedad bajo presión reducida para obtener 98 mg de 3"-N,6'-N-didesmetil-1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 (es decir, compuesto (I-2)).

30 El valor Rf del compuesto (I-2) obtenido en cromatografía en capa fina de gel de sílice en las mismas condic-

1 nes que la cromatografía anterior del compuesto (II-2) y el
compuesto de partida es 0,22.

Punto de fusión: 136-153°C

Rotación específica: $[\alpha]_D^{29} +89,9^\circ$ (c = 0,57, agua)

5 Espectro de absorción infrarrojo: $\nu_c = 0 \ 1640 \text{ cm}^{-1}$

Espectro de resonancia magnética nuclear (en D₂O,

pD = 1,0) δ (en ppm desde DSS) (Fig. 1): 1,28 (3H, s),

5,18 (1H, d, J = 3,7 Hz), 5,66 (1H, d, J = 3,5 Hz).

Análisis elemental para C₂₂H₄₄N₆O₉·H₂O:

10 Calculado: C, 47,64; H, 8,36; N, 15,15

Encontrado: C, 48,01; H, 8,72; N, 15,42.

EJEMPLO 2

15 Se disuelven 169,4 mg (0,3 milimoles) de 1-N-(L(-)-
 α -hidroxi- γ -aminobutiril)-XK-62-2 y 24,0 mg (0,6 milimoles)
de hidróxido sódico en 15 ml de solución acuosa de dimetil-
acetamida al 50 %. A la solución se añaden 98,8 mg (0,6 mili-
moles) de ferricianuro potásico de una sola vez y la mezcla
se deja reaccionar con agitación a 30°C durante la noche.

20 Una vez completada la reacción, la mezcla se pasa por una co-
lumna de 20 ml de Amberlite IRC-50 (forma H⁺). La columna se
lava con 100 ml de agua. Después se pasa por la columna ame-
niaco acuoso 2,0 N. Se combinan 25 ml de fracciones que pre-
sentan reacción coloreada positiva con la ninhidrina y se
concentran a presión reducida para dar 163 mg de un residuo li-
geramente amarillento. El residuo así obtenido se somete a
cromatografía en columna de gel de sílice de la misma forma

25 que en el Ejemplo 1 anterior. Como resultado de ello se recu-
peran 53 mg del material de partida que no ha reaccionado y
posteriormente se obtienen 18 mg de 6'-N-desmetil-1-N-(L(-)-
30 α -hidroxi- γ -aminobutiril)-XK-62-2, 42 mg de compuesto (II-2)

1 y 9 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 3

5 Se disuelven 282,4 mg (0,5 milimoles) de 1-N-{L(-)-
α-hidroxi-γ-aminobutiril}XK-62-2 en 20 ml de agua y a la so-
lución se añaden 350 mg de negro de platino reciente, previa-
mente activado con hidrógeno. La mezcla se deja reaccionar
durante 30 horas mientras se mantiene la temperatura a 50°C
y se introduce aire intensamente en la mezcla de reacción
en forma de burbujas finas. Una vez completada la reacción,
10 el negro de platino se separa por filtración. El filtrado se
concentra a presión reducida para obtener 275 mg de un resi-
duo. El residuo se somete a cromatografía en columna de gel
de sílice de la misma forma que en el Ejemplo 1 anterior. Co-
mo resultado de ello se recuperan 137 mg del material de par-
15 tida que no ha reaccionado y posteriormente se obtienen 23 mg
de 6'-N-desmetil-1-N-{L(-)-α-hidroxi-γ-aminobutiril}-XK-62-2,
73 mg de compuesto (II-2) y 11 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 4

20 Se disuelven 112,9 mg (0,2 milimoles) de 1-N-{L(-)-α-
hidroxi-γ-aminobutiril}-XK-62-2 en 10 ml de agua y a la solu-
ción se añaden 189,6 mg (1,2 milimoles) de permanganato po-
tásico. La mezcla se deja reaccionar a la temperatura ambien-
te durante la noche. Una vez completada la reacción, la mez-
cla se pasa por la columna de 15 ml de Amberlite IRC-50 (for-
25 ma H⁺). Después la columna se lava con 100 ml de agua y se
pasa amoníaco acuoso 2,0 N por la columna. Se combinan 30 ml
de fracciones que presentan reacción coloreada positiva con
la ninhidrina y se concentran a presión reducida para obtener
30 108 mg de un residuo ligeramente amarillento. El residuo se
somete a cromatografía en columna de gel de sílice de la mis-

1 ma forma que en el Ejemplo 1 anterior. Como resultado de
ello se recuperan 29 mg del material de partida que no ha
reaccionado y posteriormente se obtienen 8 mg de 6'-N-desme-
til-1-N-[L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril]-XK-62-2, 27 mg de
5 compuesto (II-2) y 13 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 5

Se disuelven 568,7 mg (1,0 milimoles) de compuesto
(II-2) en 4,0 ml de agua. A la solución se añade otra solu-
ción obtenida disolviendo 98 mg (1,0 milimoles) de ácido sul-
10 fúrico en 1,0 ml de agua con enfriamiento. Al cabo de 30 mi-
nutos, se agrega etanol frío a la mezcla hasta que la preci-
pitación es completa. Por filtración de la mezcla que con-
tiene un precipitado blanco sólido, se obtiene el sulfato
del compuesto (II-2).

EJEMPLO 6

Se disuelven 170,6 mg (0,3 milimoles) de compuesto
(II-2) y 408,3 mg (3,0 milimoles) de trihidrato de acetato
sódico en 15 ml de tetrahidrofurano acuoso al 50 %. A la so-
lución se añaden 456,9 mg (1,8 milimoles) de yodo y la mez-
20 cla se deja reaccionar a 45°C con agitación durante 40 horas.
Una vez completada la reacción, la mezcla se trata de la mis-
ma forma que en el Ejemplo 1. Como resultado de ello se recu-
peran 75 mg de compuesto (II-2) que no ha reaccionado y pos-
teriormente se obtienen 35 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 7

Se disuelven 113,7 mg (0,2 milimoles) de compuesto
(II-2) y 16 mg (0,4 milimoles) de hidróxido sódico en 10 ml
de dimetilacetamida acuosa al 50 %. A la solución se añaden
de una sola vez 131,7 mg (0,4 milimoles) de ferricianuro po-
30 tásico y la mezcla se deja reaccionar a 30°C con agitación

1 durante 5,0 horas. Una vez completada la reacción, la mezcla
se trata de la misma forma que en el Ejemplo 2. Como resulta-
do de ello se recuperan 41 mg de compuesto (II-2) que no ha
reaccionado y posteriormente se obtienen 23 mg de compuesto
5 (I-2).

EJEMPLO 8

Se disuelven 150 mg (0,26 milimoles) de compuesto
(II-2) en 10 ml de agua y a la solución se añaden 210 mg de
negro de platino limpio previamente activado con hidrógeno.
10 Después la reacción se lleva a cabo durante 30 horas mien-
tras se mantiene la temperatura a 50°C y se introducen inten-
samente finas burbujas de aire en la mezcla de reacción. Una
vez completada la reacción, la mezcla se trata de la misma
forma que en el Ejemplo 3. Como resultado de ello se recupe-
ran 81 mg de compuesto (II-2) que no ha reaccionado y poste-
riormente se obtienen 36 mg de compuesto (I-2).
15

EJEMPLO 9

Se disuelven 120 mg (0,21 milimoles) de compuesto
(II-2) en 8 ml de agua y a la solución se añaden 199,1 mg
20 (1,26 milimoles) de permanganato potásico. La mezcla se deja
reaccionar a la temperatura ambiente durante 15 horas. Una
vez completada la reacción, la mezcla se trata de la misma
forma que en el Ejemplo 4. Como resultado de ello se recupe-
ran 39 mg de compuesto (II-2) que no ha reaccionado y poste-
riormente se obtienen 21 mg de compuesto (I-2).
25

EJEMPLO 10

Se disuelven 113,7 mg (0,2 milimoles) de 6'-N-desme-
til-1-N-(L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril)-XK-62-2 y 272,2 mg
(2,0 milimoles) de trihidrato de acetato sódico en 13 ml de
30 tetrahidrofurano acuoso al 50 %. A la solución se añaden

1 203,1 mg (0,8 milimoles) de yodo y la mezcla se deja reaccio-
nar a 40°C con agitación durante 3,0 horas. Una vez comple-
tada la reacción, la mezcla se trata de la misma forma que
5 del material de partida que no ha reaccionado y posteriormen-
te se obtienen 63 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 11

10 Se disuelven 113,7 mg (0,2 milimoles) de 6'-N-desmetil-
1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 y 14 mg (0,35 mi-
limoles) de hidróxido sódico en 10 ml de dimetilacetamida
acuosa al 50 %. A la solución se añaden de una sola vez
15 115,2 mg (0,35 milimoles) de ferricianuro potásico y la mez-
cla se deja reaccionar a 35°C con agitación durante 5,0 horas.
Una vez completada la reacción, la mezcla se trata de la mis-
ma forma que en el Ejemplo 2. Como resultado de ello se recu-
peran 27 mg del material de partida que no ha reaccionado y
se obtienen 48 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 12

20 Se disuelven 130 mg (0,23 milimoles) de 6'-N-desmetil-
1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 en 10 ml de agua
y a la solución se añaden 180 mg de negro de platino limpio
previamente activado con hidrógeno. Después la reacción se
25 lleva a cabo durante 30 horas mientras se mantiene la tempe-
ratura a 50°C y se introduce intensamente burbujas de aire
fino en la mezcla de reacción. Una vez completada la reacción,
la mezcla se trata de la misma forma que en el Ejemplo 3.
Como resultado de ello se recuperan 44 mg del material de par-
tida que no ha reaccionado y posteriormente se obtienen 52 mg
30 de compuesto (I-2).

EJEMPLO 13

1
5
10
Se disuelven 143 mg (0,25 milimoles) de 6'-N-desmetil-1-N-{L-(-)- α -hidroxi- γ -aminobutiril}-XK-62-2 en 10 ml de agua y a la solución se añaden 197,5 mg (1,25 milimoles) de permanganato potásico. La mezcla se deja reaccionar a la temperatura ambiente durante 15 horas. Una vez completada la reacción, la mezcla se trata de la misma forma que en el Ejemplo 4. Como resultado de ello se recuperan 37 mg del material de partida que no ha reaccionado y posteriormente se obtienen 46 mg de compuesto (I-2).

EJEMPLO 14

15
Se disuelven 554,7 mg (1,0 milimoles) de compuesto (I-2) en 4,0 ml de agua. A la solución se agrega una solución de 98 mg (1,0 milimoles) de ácido sulfúrico en 1,0 ml de agua, con enfriamiento. Al cabo de 30 minutos, se agrega etanol frío a la solución hasta que la precipitación es completa. Filtrando la mezcla que contiene el precipitado sólido blanco, se obtiene el monosulfato del compuesto (I-2).

EJEMPLO 15

20
25
30
Se disuelven 550 mg (1,0 milimoles) de 1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2 y 2,10 g (15,4 milimoles) de trihidrato de acetato sódico en 70 ml de dimetilformamida acuosa al 50 %. A la solución se añaden de una sola vez 1,8 g (7,1 milimoles) de yodo y la mezcla se deja reaccionar a 55°C con agitación durante 5 horas. Después la mezcla de reacción se pasa por una columna rellena con 50 ml de Amberlite IRC-50 (forma H⁺). Después la columna se lava con 200 ml de agua para desalificar y decolorar por completo y se pasa por la columna amoniaco acuoso 2,0 N. Se combinan alrededor de 100 ml de fracciones que dan reacción coloreada positiva con

1 la ninhidrina y se concentran a presión reducida para obtener
510 mg de un residuo ligeramente amarillento. El residuo así
obtenido se somete a cromatografía en columna empleando 25 g
de gel de sílice y una mezcla disolvente de isopropanol,
5 cloroformo y amoniaco acuoso concentrado 4:1:1 en volumen.
El eluato se recoge en porciones de 12 ml y las fracciones
núms. 30-50 se combinan y concentran a sequedad bajo presión
reducida. Así se recuperan 170 mg del material de partida
que no ha reaccionado.

10 Después se concentran las fracciones núms. 69-95 a
presión reducida para obtener 147 mg de 3"-N-desmetil-1-N-
(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2 (es decir, compues-
to (II-1)).

15 Los valores Rf del compuesto (II-1) y del compuesto
de partida, obtenidos en cromatografía en capa fina de gel
de sílice en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, son
0,37 y 0,48 respectivamente.

Punto de fusión: 133-140,5°C

Espectro de absorción infrarrojo: $\nu_c = 0$ 1640 cm^{-1}

20 Espectro de resonancia magnética nuclear (en D₂O,
pD = 1,0) δ (en ppm desde DSS): 1,29 (3H, s), 2,78
(3H, s), 5,19 (1H, d, J = 4,0 Hz), 5,81 (1H, d,
J = 3,5 Hz).

Análisis elemental para C₂₂H₄₄N₆O₉·H₂O:

25 Calculado : C, 47,64; H, 8,36; N, 15,15 %

Encontrado: C, 48,01; H, 8,71; N, 15,42 %

Las fracciones núms. 97-131 se concentran a seque-
dad bajo presión reducida para obtener 77 mg de 3"-N,6'-N-
didesmetil-1-N-(DL- α -hidroxi- β -aminopropionil)-XK-62-2 (es
30 decir, compuesto (I-1)).

1 Los valores Rf del compuesto (I-1) y del compuesto de
partida, obtenidos en cromatografía en capa fina de gel de
sílice en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, son
0,29 y 0,48 respectivamente.

5 Punto de fusión: 184,5-195°C

Espectro de absorción infrarrojo: $\nu_c = 0$ 1640 cm^{-1}

Espectro de resonancia magnética nuclear (en D₂O,
pD = 0,9) δ (en ppm desde DSS): 1,28 (3H, s), 5,18
(1H, d, J = 3,8 Hz), 5,67 (1H, d, J = 3,6 Hz).

10 Análisis elemental para C₂₁H₄₂N₆O₉·H₂O:

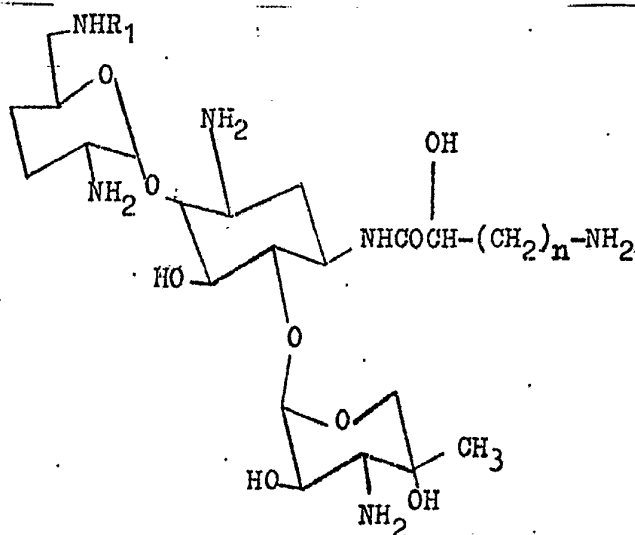
Calculado : C, 46,83; H, 7,86; N, 15,60 %

Encontrado: C, 47,15; H, 8,11; N, 15,87 %

En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

15 REIVINDICACIONES

1. UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS
DERIVADOS DEL ANTIBIOTICO XK-62-2, de formula:



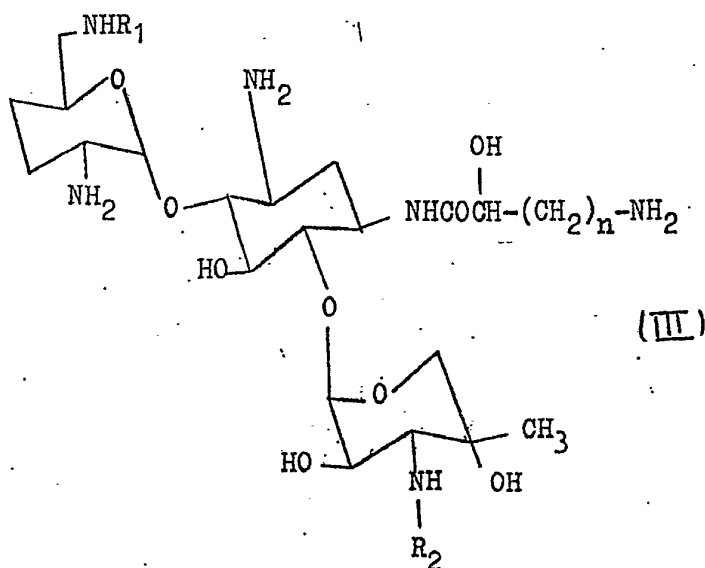
30 donde R₁ representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo

1 y n es un número entero de 1 a 4 y sus sales de adición de ácidos, no tóxicas y farmacéuticamente aceptables, cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un compuesto de formula:

5

10

15



20

25

30

donde R_1 y R_2 representan un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, con la condición de que R_1 y R_2 no son simultáneamente un átomo de hidrógeno y n es un número entero de 1 a 4, con un agente oxidante, en un disolvente inerte adecuado, a una temperatura comprendida entre -20° y 100°C aproximadamente, a un pH comprendido entre 4 y 12 aproximadamente.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde R_1 es un átomo de hidrógeno y n es 1.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde R_1 es un átomo de hidrógeno y n es 2.

4. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde R_1 es un átomo de hidrógeno y n es 3.

5. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde R_1 es un átomo de hidrógeno y n es 4.

1 6. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde
R₁ es un grupo metilo y n es 1.

 7. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde
R₁ es un grupo metilo y n es 2.

5 8. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde
R₁ es un grupo metilo y n es 3.

 9. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde
R₁ es un grupo metilo y n es 4.

10 10. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde
las sales son sulfatos.

 11. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS
DEL ANTIBIOTICO XK-62-2".

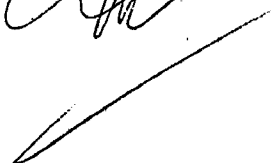
15 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva que consta de treinta y cinco
páginas mecanografiadas.

Madrid, 14 de Julio de 1976

BERNARDO UNGRIA

P.P.





20

25

30