

ESPAÑA

19 ES	11	NUMERO	10 A1
	21	- 453.501	
	22	FECHA DE PRESENTACION	
		19.11.1976	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
634,296	21.11.1975	ESTADOS UNIDOS
676,261	12.4.1.976	" "
733.654	18.10.1976	" "

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	Co 7 D	

54 TITULO DE LA INVENCION

UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS
N-MEPILENICOS DE TIENAMICINA.

71 SOLICITANTE (S)

MERCK & CO., INC.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

126 East Lincoln Avenue, Rarway, P.O. Box 2000 New Jersey 07065,
Estados Unidos.

72 INVENTOR (ES)

BURTON G. CHRISTENSEN; WILLIAM J.
LEANZA y KENNETH J. WILDONGER

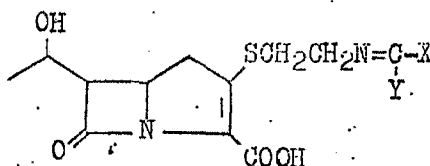
73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se describen derivados N-metilénicos sustituidos de tienamicina que pueden ser representados por la siguiente fórmula estructural:



donde X e Y están seleccionados entre el grupo formado por hidrógeno, R, OR, SR y NR¹R², donde, entre otros, R es un grupo alquilo, alquénilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroaralquilo, heterocíclico y heterocicloalquilo, sustituido o no sustituido; R¹ y R² son hidrógeno o R. Estos compuestos y sus sales, éteres, ésteres y amidas farmacéuticamente aceptables son útiles como antibióticos. También se describen procedimientos para la preparación de estos compuestos; composiciones farmacéuticas que los contienen y métodos de tratamiento que consisten en administrar dichos compuestos y composiciones cuando está indicado un efecto antibiótico.

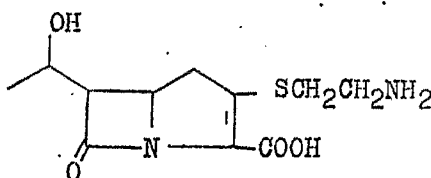
ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a ciertos derivados N-metilénicos sustituidos del nuevo antibiótico tienamicina. Estos compuestos y sus sales, éteres, ésteres y amidas farmacéuticamente aceptables son útiles como antibióticos. Esta invención también se refiere a procedimientos para la preparación de estos compuestos; a composiciones farmacéuticas que los contienen y a métodos de tratamiento que consisten en administrar dichos compuestos y composiciones cuando está

1 indicado un efecto antibiótico.

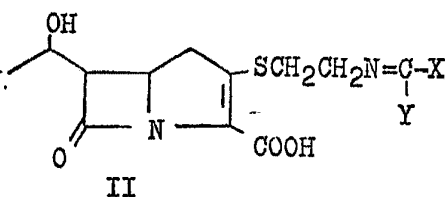
La tienamicina está descrita y reivindicada en la so-
licitud de patente estadounidense copendiente, asignada al
mismo concesionario, número de serie 526.992, presentada el
5 25 de Noviembre de 1974 (ahora patente estadounidense
3.950.357, concedida el 13 de Abril de 1976), que se incorpo-
ra aquí por referencia ya que la tienamicina puede emplearse
como material de partida en la preparación de los compues-
tos de esta invención.

10 Se sabe que la tienamicina presenta la siguiente es-
tructura:



15

Los derivados N-metilénicos sustituidos de tienamici-
na de esta invención pueden ser descritos mediante la si-
guiente fórmula estructural:

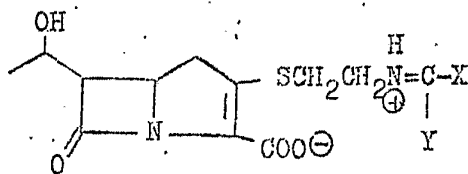


20

25 que, de acuerdo con la basicidad del nitrógeno amínico (que
es función de la identidad de los sustituyentes metilénicos
X e Y), pueden ser representados equivalentemente como una
sal interna:

30

1

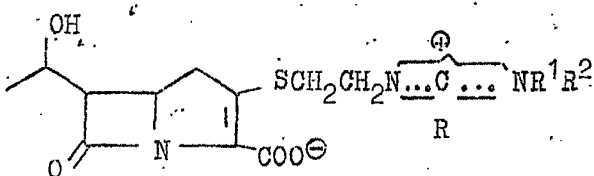


5

II

que es una forma canónica de una estructura resonante individual que, por ejemplo, cuando Y es -NR¹R² y X es R es:

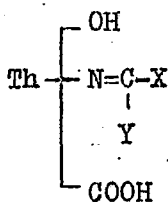
10



II

Por comodidad, los compuestos de esta invención pueden ser representados mediante el símbolo:

15



II

20

donde "Th" representa el núcleo bicíclico de la tienamicina y están indicados sus grupos funcionales hidroxilo, amino y carboxilo, donde X e Y están seleccionados independientemente entre el grupo formado por hidrógeno, -R, -OR, -SR y -NR¹R²; R¹ y R² están seleccionados independientemente entre R, hidrógeno, nitro, hidroxilo, alcoxilo de 1 a 6 átomos de carbono, amino, mono-, di- y tri-alquilamino donde los radicales alquilo contienen cada uno de ellos de 1 a 6 átomos de carbono; R¹ y R² pueden estar unidos para formar un grupo heteroarilo monocíclico o bicíclico, sustituido o no sustituido o un grupo heterocíclico que contiene (junto con el

25

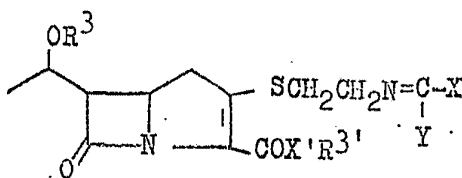
30

1 átomo de nitrógeno al que están unidos) de 4 a 10 átomos,
de los que uno o más puede ser un heteroátomo adicional se-
leccionado entre oxígeno, azufre o nitrógeno; R, R¹ y R² son
un grupo sustituido o no sustituido seleccionado entre: cian-
5 no; carbamilo; carboxilo; alcoxicarbonilo y alquilo de 1 a
unos 10 átomos de carbono; alquenilo de 2 a unos 10 átomos
de carbono; alquinilo de 2 a unos 10 átomos de carbono; ci-
cloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono; cicloalquilalquilo
y cicloalquilalquenilo de 4 a 12 átomos de carbono; ciclo-
10 alquenilo, cicloalquenilalquenilo y cicloalquenilalquilo de
3-10, 4-12 y 4-12 átomos de carbono, respectivamente; arilo
de 6 a 10 átomos de carbono, aralquilo, aralquenilo y aralqui-
nilo de 7 a 16 átomos de carbono; heteroarilo y heteroaral-
quilo monocíclico y bicíclico que típicamente contienen de
15 4 a 10 átomos en el anillo, de los que uno o más es un hete-
roátomo seleccionado entre oxígeno, azufre o nitrógeno y
donde el radical alquilo del radical heteroaralquilo con-
tiene alrededor de 1 a 6 átomos de carbono; heterociclo y
heterocicloalquilo monocíclico y bicíclico que típicamente
20 contienen de 4 a 10 átomos en el anillo, de los que uno o
más es un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, azufre o
nitrógeno y donde el radical alquilo del radical heterociclo-
alquilo contiene de 1 a unos 6 átomos de carbono; y donde el
sustituyente o sustituyentes antes mencionados son R, R¹, R²
25 o sobre el anillo formado por la unión de R¹ y R² están se-
leccionados entre el grupo formado por halógeno, como cloro,
bromo, yodo y fluor; azido; alquilo de 1 a 4 átomos de car-
bono; tio; sulfo; fosfeno; cianotio (-SCN); nitro; ciano;
amino; hidrazino; mono-, di- y trialquil-amino e hidrazino
30 donde el alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono; hidro-

1 xilo; alcoxilo de 1 a 6 átomos de carbono; alquiltio de 1
a 6 átomos de carbono; carboxilo; oxo; alcoxicarbonilo de
2 a 10 átomos de carbono; carboxilo; oxo; alcoxicarbonilo de
5 1 a 6 átomos de carbono en el radical alcoxilo; aciloxi de
2 a 10 átomos de carbono; carbamoilo y mono- y di-alquilcar
bamoilo donde los grupos alquilo contienen de 1 a 4 átomos
de carbono.

Los compuestos de esta invención también abarcan rea-
lizaciones de la siguiente estructura:

10

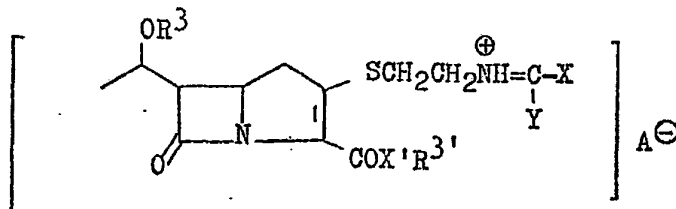


IIa

15

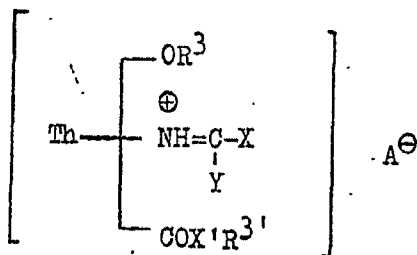
que también pueden existir en forma de sal:

20



25

o, más convenientemente, según el símbolo anteriormente in-
troducido:



IIa

30

donde el contranión no crítico, A, está representativamente
seleccionado para formar sales farmacéuticamente aceptables,
como haluros (cloruros, bromuros y similares), sulfato,

1 fosfato, citrato, acetato, benzoato y similares y R^3 , X^1 y
 $R^{3'}$ están seleccionados independientemente entre los grupos
definidos a continuación:

5 X^1 es oxígeno, azufre o NR^1 (R^1 es hidrógeno o $R^{3'}$);
 $R^{3'}$ es hidrógeno o, entre otros, está representativa-
mente seleccionado para formar la sal, el éster, el anhídri-
do ($R^{3'}$ es acilo) y la amida farmacéuticamente aceptable co-
nocidas en la técnica de los antibióticos bicíclicos de
10 β -lactama, siendo enumerados estos radicales con más detalle
más adelante; y

15 R^3 es: 1) acilo (genéricamente el grupo OR^3 es clasi-
ficable como un éster); ó 2) R^3 está seleccionado entre al-
quilo, arilo, alquenoilo, aralquilo y similares (tales que el
grupo OR^3 es genéricamente clasificable como un éter). R^3
también puede ser hidrógeno. El término "acilo" incluye por
definición los alcanilo con sus derivados y análogos, ta-
les como los análogos tio donde el oxígeno carbonílico ha
sido sustituido por azufre, así como los análogos acílicos
del azufre y del fósforo como radicales con sustituyentes
20 sulfonilo, sulfinilo y sulfenilo y radicales P(III y V) sus-
tituido tal como radicales fosforoso, fosfórico, fosfonoso
y fosfónico sustituidos. Estos radicales R^3 de esta invención
son enumerados con más detalle más adelante.

25 Existe una continua necesidad de nuevos antibióticos.
Desgraciadamente, no hay una eficacia estática de un antibió-
tico dado porque el continuo uso a gran escala de cualquiera
de estos antibióticos da lugar selectivamente a cepas resis-
tentes de patógenos. Además, los antibióticos conocidos pre-
sentan el inconveniente de ser solamente eficaces contra
30 ciertos tipos de microorganismos. Por consiguiente, conti-

1

núa la búsqueda de nuevos antibióticos.

5

Se ha encontrado inesperadamente que los compuestos de esta invención son antibióticos de amplio espectro, que son útiles en la terapia animal y humana y en los sistemas inanimados.

10

Así, un objeto de esta invención es proporcionar una nueva clase de antibióticos que poseen la estructura nuclear básica de la tienamicina (I) pero que se caracterizan como sus derivados N-metilénicos sustituidos. Estos antibióticos son activos contra una amplia gama de patógenos que representativamente incluyen bacterias Gram-positivas, como S. aureus, Strep. pyogenes y B. subtilis y bacterias Gram-negativas como E. coli, Proteus morganii, Klebsiella, Serratia y Pseudomonas. Otros objetos de esta invención son proporcionar procedimientos químicos para la preparación de estos antibióticos y sus sales, éteres, ésteres y amidas no tóxicos y farmacéuticamente aceptables; composiciones farmacéuticas que contienen dichos antibióticos y proporcionar métodos de tratamiento que consisten en administrar estos antibióticos y composiciones cuando está indicado un efecto antibiótico.

15

20

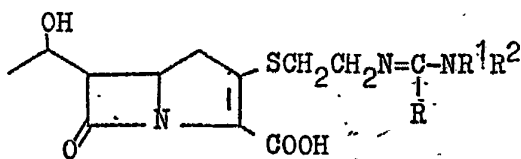
DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Los compuestos de esta invención (Estructuras II y IIa, anteriores) pueden ser divididos en cuatro clases:

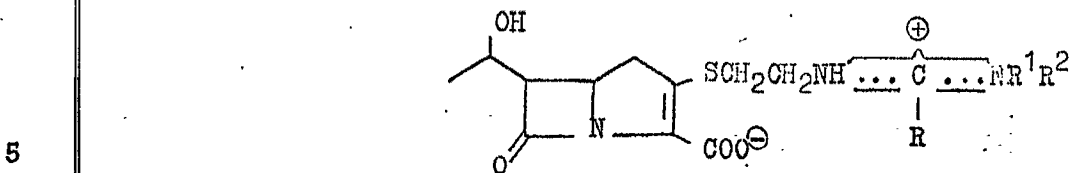
25

1) Amidinas, donde Y = -NR¹R² y X = hidrógeno o R:

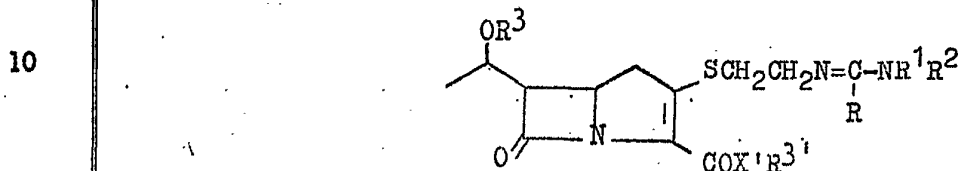
30



1 que pueden ser representadas por la estructura resonante:



donde R, R¹ y R² son los definidos anteriormente. Las especies IIIa pueden describirse análogamente:



15 donde R³, X¹ y R^{3'} son definidos por completo más adelante. Son ejemplos representativos de estas amidinas (el sustituyente más el grupo amino de la tienamicina forma la estructura de amidina) los siguientes:

- 20
- La benzamidina: Y = -NH₂, X = fenilo;
 - La formamidina: Y = -NH₂, X = H;
 - La acetamidina: Y = -NH₂, X = CH₃;
 - La 4-piridilcarboxamidina: Y = -NH₂, X = 4-piridilo;
 - La N-isopropilformamidina: Y = -NHCH(CH₃)₂, X = H;
 - La N-metilformamidina: Y = -NHCH₃, X = H;
 - La N,N-dimetilformamidina: Y = -N(CH₃)₂, X = H;
 - La piperidinilmetilenimina: Y = 1-piperidilo, X = H.

25

Otras amidinas preferidas son aquéllas donde Y = NR¹R² y R¹ y R² están independientemente seleccionados entre el grupo formado por: hidrógeno; un grupo sustituido o no sustituido seleccionado entre: alquilo de 1 a 6 átomos de carbono como metilo, etilo, isopropilo, butilo, t-butilo, N,N-

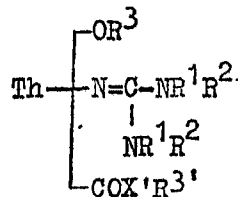
30

1 dimetilaminoetilo, 2,2,2-trifluoretilo, 2-metiltioetilo y
similares; alqueno de 3 a 6 átomos de carbono como alilo,
metalilo, 2-butenilo, 1-buten-3-ilo y similares; cicloalqui-
5 lo, cicloalquilalquilo, cicloalqueno y cicloalquenilalqui-
lo de 3-6, 4-7, 4-6 y 4-7 átomos de carbono, respectivamen-
te, como ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopro-
pilmétilo, ciclohexilmétilo, 2-ciclopropeno, 1,4-ciclohexa-
dienilmétilo y similares; aralquilo y aralqueno de 7 a 10
10 átomos de carbono, como bencilo, p-metoxibencilo, p-dimetil-
aminobencilo, cinamilo y similares; y heteroaralquilo mono-
cíclico de 5 ó 6 átomos en el anillo, de los que uno o más
está seleccionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno y 1-3
átomos de carbono en el radical alquilo, tal como 2-tienil-
15 metilo y similares; donde el sustituyente del anillo o de
la cadena correspondiente a la definición de R¹ y de R² pue-
de ser cloro, fluor, hidroxilo, alcoxilo de 1 a 3 átomos de
carbono, dialquilamino de 1 a 3 átomos de carbono en cada
radical alquilo y alquiltio de 1 a 3 átomos de carbono; X es-
20 tá seleccionado entre el grupo antes definido para R y en
particular está seleccionado entre el grupo formado por hi-
drógeno; alquilo de 1 a unos 6 átomos de carbono; aminoalqui-
lo y aminoalqueno de 1 a 6 átomos de carbono; alqueno de
2 a 6 átomos de carbono; alcoxilalquilo de 2 a unos 6 átomos
25 de carbono, como metoximétilo, etoxietilo y similares; mono-
di- y tri-alquil(inferior)aminoalquilo de 2 a 12 átomos de
carbono como dimetilaminométilo, metilaminométilo, trimeti-
lamoniométilo y similares; perhaloalquilo de 1 a 6 átomos de
carbono como trifluormétilo; alquiltioalquilo de 2 a unos 6
30 átomos de carbono como metiltiométilo, etiltioetilo y simila

1 res; grupos sustituidos y no sustituidos seleccionados entre
 arilo y aralquilo como fenilo y bencilo; heteroarilo, hete-
 roaralquilo, heterociclo y heterocicloalquilo monociclicos
 5 tales como 2-, 3- y 4-piridilo y 2-tiazolilo, donde el susti-
 tuyente o sustituyentes son los definidos anteriormente. Las
 realizaciones de amidina de esta invención representan una
 clase preferida. Además, son especialmente preferidas las -
 amidinas donde X' es osígeno y R³ y R^{3'} son hidrógeno.

10 Son amidinas especialmente preferidas de esta inven-
 ción aquellas donde Y = -NR¹R² y X = R, donde R¹, R² y R están
 seleccionados entre hidrógeno y los radicales alquilo y al-
 quenilo sustituidos y no sustituidos antes citados como pre-
 feridos.

2) Guanidinas, donde Y = -NR¹R² y X = NR¹R²:



donde todos los símbolos son los definidos anteriormente.

20 Son ejemplos representativos de estas realizaciones de
 guanidina (el sustituyente más el grupo amino de la tienami-
 cina forma la estructura de guanidina) los siguientes:

La guanidina: Y = -NH₂, X = -NH₂;

La N-metilguanidina: Y = -NHCH₃, X = -NH₂;

25 La N,N-dimetilguanidina: Y = -N(CH₃)₂, X = -NH₂;

La N,N,N-trimetilguanidina: Y = -N(CH₃)₃, X = -NHCH₃;

La N-fenilguanidina: Y = -NH(C₆H₅), X = -NH₂;

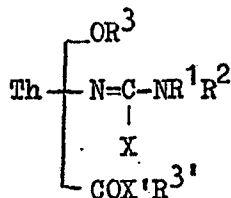
La nitroguanidina: Y = -NHNO₂, X = -NH₂;

La aminoguanidina: Y = -NHNH₂, X = -NH₂.

1 "Otras guanidinas preferidas son aquéllas donde R¹ y R²
están seleccionadas independientemente entre el grupo forma-
do por hidrógeno; grupos sustituidos y no sustituidos selec-
5 cionados entre: alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, como me-
tilo, etilo, isopropilo, butilo, t-butilo, N,N-dimetilamino-
etilo, 2,2,2-trifluoretilo, 2-metiltioetilo y similares; al-
queno de 3 a 6 átomos de carbono como alilo, metililo,
2-butenilo, 1-buten-3-ilo y similares; cicloalquilo, ciclo-
alquilalquilo, cicloalqueno y cicloalquenalquilo de 3-6,
10 4-7, 4-6 y 4-7 átomos de carbono, respectivamente, como ci-
clopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopropilmetilo,
ciclohexilmetilo, 2-ciclopropenilo, 1,4-ciclohexadecilmeti-
lo y similares; aralquilo y aralqueno de 7 a 10 átomos de
15 carbono, como bencilo, p-metoxibencilo, p-dimetilaminobenci-
lo, cinamilo y similares; y heteroaralquilo monocíclico de
5 ó 6 átomos en el anillo, de los que uno o más está selec-
cionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno y 1-3 átomos de
carbono en el radical alquilo, tal como 2-tienilmetilo, 3-
tienilmetilo, 2-furilmetilo, 1-metil-5-tetrazolilmetilo y
20 similares; donde el sustituyente del anillo y de la cadena
correspondiente a la definición de R¹ y R² puede ser cloro,
flour, hidroxilo, alcoxilo de 1 a 3 átomos de carbono, dial-
quilamino de 1 a 3 átomos de carbono en cada radical alqui-
lo y alquiltio de 1 a 3 átomos de carbono; X' es oxígeno y
25 R³ y R^{3'} son hidrógeno.

3) Pseudoureas sustituidas, donde Y = -NR¹R² y X = -OR

o -SR:

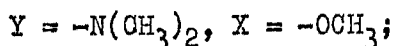


30

1 donde R^3 , $R^{3'}$, X' , R^1 y R^2 son los definidos y $X = -OR$ o $-SR$.

5 Son ejemplos representativos de estas pseudoureas sustituidas (el sustituyente más el grupo amino de la tienamicina forman la estructura de pseudourea sustituida) los siguientes:

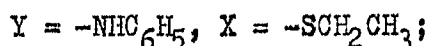
La N,N-dimetil-O-metil-pseudourea:



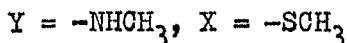
La N,N-dimetil-S-etil-pseudotiourea:



La N-fenil-S-etil-pseudotiourea:

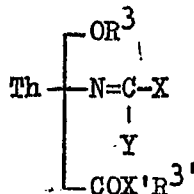


La N-metil-S-metil-pseudotiourea:



15 Son compuestos especialmente preferidos aquéllos donde R^3 y $R^{3'}$ son hidrógeno y X' es oxígeno.

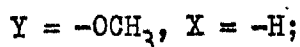
4) Imidoésteres e imidotioésteres



donde R^3 , X' , $R^{3'}$ y R son los definidos y X es $-OR$ o $-SR$ e Y es hidrógeno, R , $-OR$ y $-SR$.

25 Son ejemplos representativos de estos imidoésteres el imidotioésteres (el sustituyente más el grupo amino de la tienamicina forman la estructura de imidoéster o de imidotioéster) los siguientes:

El metil-formimidato:



30

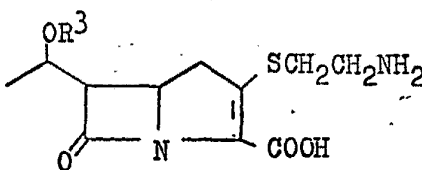
1 El S-metiltiobenzimidato:
Y = -SCH₃, X = fenilo;

El metil-benciloxicarbimidato:
Y = -OCH₃, X = -OCH₂C₆H₅;

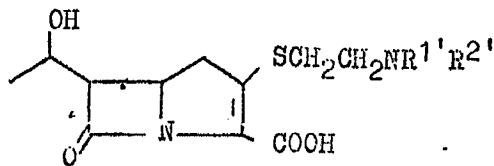
5 El dietil-ditiocarbimidato:
Y = -S-C₂H₅, X = -S-C₂H₅.

IDENTIFICACION DE LOS MATERIALES DE PARTIDA

10 Los compuestos de esta invención son preparados convenientemente a partir de la tienamicina (I, supra). Las realizaciones de esta invención como IIa, donde el grupo alcohólico secundario y/o el grupo carboxilo están derivatizados, se preparan convenientemente a partir del correspondiente derivado O-, carboxilo u O- y carboxilo de la tienamicina o a partir de II o tienamicina, seguido de una reacción posterior para establecer los radicales R³ y R^{3'} (o -X'R^{3'}) y combinaciones de los mismos. Estos materiales de partida están totalmente descritos en las siguientes solicitudes de patentes estadounidenses que se incorporan aquí por referencia: número de serie 634.006 (presentada el 21 de Noviembre de 1975) que se dirige a los O- derivados de la tienamicina (derivados ésteres y éteres del grupo alcohólico secundario de la tienamicina) y su solicitud de patente, continuación en parte, simultáneamente presentada, número de serie _____ (Merck and Co., Inc. Attorney's Docket Number Case 15821IA) con la siguiente fórmula estructural:



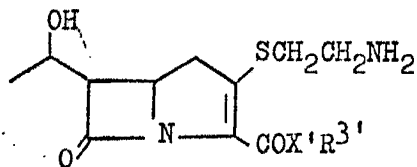
1 Número de serie 634.291 (presentada el 21 de Noviembre de
1975) y su continuación en parte, simultáneamente presentada,
número de serie _____ (Merck & Co., Inc. Attorney's
Docket Number Case 157775IA) que está dirigida a los deriva-
5 dos N-acilados de la tienamicina, con la siguiente fórmula
estructural:



10 Ib

donde R^{1'} y R^{2'} están seleccionados entre el grupo formado
por hidrógeno y acilo; el término "acilo" está definido más
adelante igual que en la solicitud incorporada por referencia.
15 Estas N-acil-tienamicinas son útiles materiales de partida
para la preparación de las pseudoureas sustituidas (3) y los
imidoéteres e imidotioéteres (4) de esta invención.

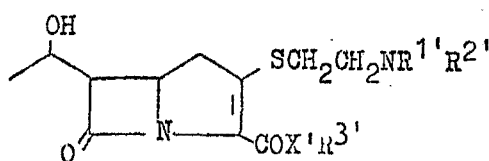
Número de serie 634.298 (presentada el 21 de Noviembre
de 1975) y su continuación en parte, simultáneamente presen-
20 tada, número de serie _____ (Merck & Co., Inc. Attorney's
Docket Number 15818IA) que están dirigidas a los derivados
carboxilados de la tienamicina con la siguiente fórmula es-
tructural:



25 Ic

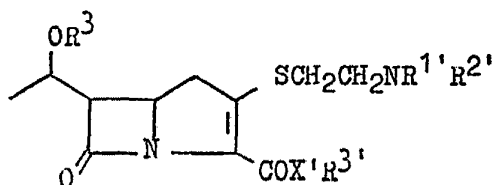
Número de serie 634.295 (presentada el 21 de Noviembre
de 1975) y su continuación en parte, simultáneamente presen-
30

1 tada, número de serie _____ (Merck & Co., Inc. Attorney's
Docket Number 15813IA) que están dirigidas a los derivados
N-acilados y carboxilados de la tienamicina, con la siguiente
fórmula estructural:



Id

10 Número de serie 634.294 (presentada el 21 de Noviembre
de 1975) y su continuación en parte, simultáneamente presen-
tada, número de serie _____ (Merck & Co., Inc. Attorney's
Docket Number 15822IA) que están dirigidas a los derivados
N-acilados, O- y carboxilados de la tienamicina, con la si-
guiente fórmula estructural:



Ie

20 Por lo tanto, las realizaciones de esta invención des-
critas como IIa, anteriormente, pueden ser preparadas par-
tiendo de los correspondientes derivados Ia, Ib, Ic, Id o Ie
25 o bien las realizaciones IIa pueden ser preparadas directa-
mente a partir de la tienamicina, I (I → II) seguido del
procedimiento de derivatización deseado para establecer R³
y/o X'R^{3'} (II → IIa) que está descrito en las solicitudes
de patentes estadounidenses antes citadas e incorporadas
30 aquí por referencia.

1 En relación con las estructuras Ia, Ib, Ic, Id y Ie, los radicales R^3 , $R^{3'}$, X' y acilo ($R^{1'}$ y $R^{2'}$) se definen como sigue:

Identificación del radical $-COX'R^{3'}$

5 En la representación genérica de los compuestos de esta invención (IIa, supra), el radical representado por $-COX'R^{3'}$ es, entre otros, $-COOH$ (X' es oxígeno y $R^{3'}$ es hidrógeno) y todos los radicales conocidos por ser eficaces como radicales éster, anhídrido ($R^{3'}$ es acilo) y amida farmacéuticamente aceptables en el campo de los antibióticos bicíclicos de β -lactama, tales como las cefalosporinas y las penicilinas y sus análogos en el núcleo.

10 Entre los radicales adecuados ($R^{3'}$) se encuentran los grupos protectores convencionales o de bloqueo del carboxilo. El término "grupo de bloqueo" en el sentido utilizado aquí se emplea de la misma forma y de acuerdo con las enseñanzas de la patente estadounidense 3.697.515, que se incorpora aquí por referencia. Más adelante se dan los derivados de tienamicina farmacéuticamente aceptables de esta invención
15 comprendidos dentro de esta clase. Por lo tanto, los ésteres de bloqueo adecuados comprenden los seleccionados entre la siguiente lista, que es representativa y no pretende ser una lista exhaustiva de los grupos éster posibles, donde $X' = O$ y se da $R^{3'}$:

20 (i) $R^{3'} = CR^aR^bR^c$, donde por lo menos uno de los grupos R^a , R^b y R^c es un donador de electrones; v.g. p-metoxifenilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 9-antrilo, metoxi, CH_2SCH_3 , tetrahidrofur-2-ilo, tetrahidropirán-2-ilo o fur-2-ilo. Los restantes grupos R^a , R^b y R^c pueden ser hidrógeno o grupos
25 orgánicos sustituyentes. Los grupos éster adecuados de este
30

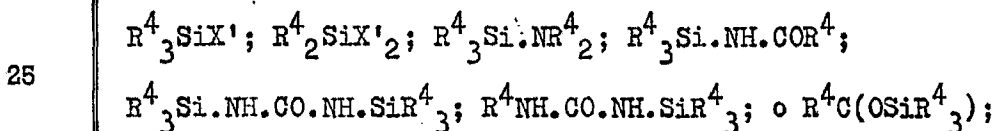
1 tipo son el p-metoxibenciloxicarbonilo y el 2,4,6-trimetil-
benciloxicarbonilo.

(ii) $R^{3'} = CR^aR^bR^c$, donde por lo menos uno de los gru-
pos R^a , R^b y R^c es un grupo aceptor de electrones; v.g. ben-
zoilo, p-nitrofenilo, 4-piridilo, triclorometilo, tribro-
mometilo, yodometilo, cianometilo, etoxicarbonilmetilo, aril-
sulfonilmetilo, 2-dimetilsulfoniometilo, o-nitrofenilo o
ciano. Entre los ésteres adecuados de este tipo se encuen-
tran benzoilmetoxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo,
4-piridilmetoxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y
2,2,2-tribromoetoxicarbonilo.

(iii) $R^{3'} = CR^aR^bR^c$, donde por lo menos dos de los
grupos R^a , R^b y R^c son un hidrocarburo tal como alquilo,
v.g. metilo o etilo o arilo, v.g. fenilo y el grupo R^a , R^b y
 R^c restante, si es que hay alguno, es hidrógeno. Entre los
ésteres adecuados de este tipo se encuentra el t-butiloxi-
carbonilo, t-amiloxicarbonilo, difenilmetoxicarbonilo y
trifenilmetoxicarbonilo.

(iv) $R^{3'} = R^d$, donde R^d es adamantilo, 2-benciloxife-
nilo, 4-metiltiofenilo o tetrahidropiran-2-ilo.

Los ésteres silílicos, bajo esta categoría de grupos
de bloqueo, pueden ser preparados convenientemente a partir
de un halosilano o de un silazano de fórmula:



$HN(SiR^4_3)_2$ donde X^1 es un halógeno como cloro o bromo y los
diversos grupos R^4 , que pueden ser iguales o diferentes, re-
presentan átomos de hidrógeno o alquilo, v.g. metilo, etilo,
n-propilo, isopropilo; arilo, v.g. fenilo; o aralquilo, v.g.

1 grupos bencilo.

En forma más general, los derivados carboxilados farmacéuticamente aceptables de esta invención son los obtenidos por reacción de tienamicina o de una tienamicina N-protegida, tal como tienamicina N-acilada, con alcoholes, fenoles, mercaptanos, tiofenoles, reactivos acilantes y similares. Por ejemplo, los ésteres y amidas de interés son los materiales de partida y los productos finales antes citados que contienen el siguiente grupo en la posición 2 del núcleo de tienamicina: $-COX'R^{3'}$, donde X' es oxígeno, azufre o NR' (R' es H o R^{3'}) y R^{3'} es alquilo de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificado, como metilo, etilo, t-butilo, pentilo, decilo y similares; carbonilmetilo, como fenacilo, p-bromofenacilo, p-t-butilfenacilo, acetoxiacetilmetilo, pivaloxiacetilmetilo, carboximetilo y sus ésteres alquílicos y arílicos, α -carboxi- α -isopropilo; aminoalquilo como 2-metilaminoetilo, 2-dietilaminoetilo, 2-acetamidoetilo, ftalimidometilo, succinimidometilo; alcoxialquilo donde el radical alcoxi contiene de 1 a 10 y preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono pero puede ser ramificado, lineal o cíclico y el radical alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, como metoximetilo, etoximetilo, isopropoximetilo, deciloximetilo, etoxipropilo, deciloxipentilo, ciclohexiloximetilo y similares; alcanoiloxialquilo donde el radical alcanoiloxi es lineal o ramificado y contiene de 1 a 6 átomos de carbono y el radical alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, como acetoximetilo, pivaloiloximetilo, acetoxietilo, propioniloxietilo, acetoxipropilo y similares; haloalquilo donde halo representa cloro, bromo, fluor o yodo y la porción alquílica es lineal o ramificada y de 1 a 6 átomos de carbono, v.g. 2,2,2-tricloro-

5

10

15

20

25

30

1 roetilo, trifluoretilo, 2-bromopropilo, diyodometilo, 2-clo-
roetilo, 2-bromoetilo y similares; alqueno de 1 a 10 áto-
mos de carbono, lineal o ramificado, v.g. alilo, 2-propenilo,
3-butenilo, 4-butenilo, 4-pentenilo, 2-butenilo, 3-penteni-
5 lo, 3-metil-3-butenilo, metalilo, 1,4-ciclohexadien-1-il-
metilo y similares; alquino de 1 a 10 átomos de carbono,
lineal o ramificado, v.g. 3-pentenilo, propargilo, etinilo,
3-buten-1-ilo y similares; alcanilo, lineal o ramificado,
de 1 a 10 átomos de carbono, como pivaloilo, acetilo, propio-
10 nilo y similares; aralquilo o heteroaralquilo donde alquilo
contiene de 1 a 3 átomos de carbono y el término hetero sig-
nifica 1-4 heteroátomos seleccionados entre el grupo forma-
do por oxígeno, azufre o nitrógeno, tales como bencilo, ben-
zohidrilo y bencilo y benzohidrilo sustituidos, v.g. benci-
15 lo o benzohidrilo sustituidos con 1-3 sustituyentes, tales
como bencilo, fenoxi, halógeno, alquilo inferior, alcanoil-
oxi inferior de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi inferior,
hidroxi, nitro, carboxi bloqueado o combinaciones de los mis-
mos, v.g. p-clorobencilo, o-nitrobencilo, 3,5-dinitrobencilo,
20 p-metoxibencilo, m-benzoilbencilo, p-t-butilbencilo, m-feno-
xibencilo, p-benzoilbencilo, p-nitrobencilo, 3,5-dicloro-4-
hidroxibencilo, p-metoxicarbonilbencilo, p-metoxibenzohidri-
lo, p-carboxibencilo, siendo este último el ácido libre, el
éster o la sal sódica, 2,4,6-trimetilbencilo, p-pivaloiloxi-
25 bencilo, p-t-butoxicarbonilbencilo, p-metilbencilo, p-ben-
zoiloxibencilo, p-acetoxibencilo, p-2-etilhexanoilbencilo,
p-etoxicarbonilbencilo, p-benzoiltiobencilo, p-benzamido-
bencilo, o-pivaloiloxibencilo, m-pivaloiloxibencilo, p-iso-
propoxibencilo, p-t-butoxibencilo, así como sus análogos cí-
30 clicos, 2,2-dimetil-5-cumaranmetilo, 5-indanilmetilo, p-tri-

1 metilsililbencilo, 3,5-bis-t-butoxi-4-hidroxibencilo, 2-tie-
nilbutilo, 2-furilmetilo, 3-t-butil-5-isotiazolmetilo, 6-pi-
valoiloxi-3-piridaziniletilo, 5-feniltio-1-tetrazolilmetilo
5 o similares (el uso de los términos alquilo inferior o alco-
xi inferior en este contexto significa de 1 a 4 átomos de
carbono en la cadena); o ftalidilo; o feniletilo, 2-(p-metil-
fenil)etilo y sus análogos ariltioalquílicos; ariloxialquilo
donde el grupo arilo es preferiblemente un anillo fenílico
con 0-3 sustituyentes, preferiblemente 0 o 1 sustituyente
10 en las posiciones orto o para y alquilo contiene de 1 a 6
átomos de carbono, v.g. (4-metoxi)fenoximetilo, fenoximetilo,
(4-cloro)fenoximetilo, (4-nitro)fenoximetilo, (4-benciloxi)-
fenoximetilo, (4-metil)fenoximetilo, (4-benciloxi)fenoximeti-
lo, (4-metil)fenoximetilo, (2-metoxi)fenoximetilo, (1-fenoxi)-
15 etilo, (4-amino)fenoximetilo, (4-metoxi)feniltiometano, (4-
cloro)feniltiometano, feniltioetilo; arilo donde arilo es
fenilo, 5-indanilo o fenilo sustituido con 0-3 sustituyentes
preferiblemente 0 o 1 sustituyente en la posición orto o
para, v.g. (4-metil)fenilo, (4-hidroxi)fenilo, (4-t-butil)-
20 fenilo, p-nitrofenilo, 3,5-dinitrofenilo o p-carboxifenilo,
siendo este último el ácido libre o la sal sódica; aralque-
nilo, donde el grupo arilo es fenilo y el grupo alqueno
contiene de 1 a 6 átomos de carbono, tal como 3-fenil-2-
propenilo; aralcoxialquilo donde el grupo aralcoxi es bencil-
25 oxi y el grupo alquilo contiene de 1 a 3 átomos de carbono,
como benciloximetilo, (4-nitro)benciloximetilo, (4-cloro)-
benciloximetilo; alquiltioalquilo donde el radical alquil-
tio contiene de 1 a 10 y preferiblemente de 1 a 6 átomos de
carbono pero puede ser ramificado, lineal o cíclico y el ra-
30 dical alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, tal como

1 metiltioetilo, etiltioetilo, ciclohexiltiometilo, deciltio-
butilo, metiltiopropilo, isopropiltioetilo, metiltiobutilo
y similares.

5 Además de los ésteres (y tioésteres) antes citados,
también las amidas están abarcadas por esta invención, es
decir, compuestos donde X' es el grupo $\overset{R'}{\text{N}}$. Son representa-
tivas de estas amidas aquellas donde R' está seleccionado en-
tre el grupo formado por hidrógeno, metilo, etilo, fenilo,
p-metoxifenilo, bencilo, carboximetilo, metiltioetilo y he-
10 teroarilo; también están representados por el radical
-COX'R^{3'} los anhídridos donde R^{3'} es acilo, por ejemplo ben-
ciloxicarbonilo, etoxicarbonilo, benzoilo y pivaloilo.

15 Los radicales -COX'R^{3'} más preferidos en esta inven-
ción son aquéllos donde (en relación con la estructura IIa
anterior) X' es oxígeno, azufre o NR' (R' está seleccionado
entre el grupo formado por hidrógeno y alquilo inferior) y
R^{3'} está seleccionado entre el grupo formado por alquilo in-
ferior, alqueno inferior, como metalilo, 3-metilbutenilo,
3-butenilo y similares; metiltioetilo; bencilo y bencilo sus-
20 tituido como p-t-butilbencilo, m-fenoxibencilo, p-pivaloil-
oxibencilo, p-nitrobencilo y similares; pivaloiloximetilo,
3-ftalidilo y acetoximetilo, propioniloximetilo, acetiltio-
metilo, pivaloiltiometilo, alilo, 4-butenilo, 2-butenilo,
3-metil-2-butenilo, fenacilo, acetoxiacetilmetilo, metoxi-
25 metilo, p-acetoxibencilo, p-pivaloiloxibencilo, p-isopropo-
xibencilo, 5-indanilmetilo, 5-indanilo, benciloximetilo,
etiltioetilo, metiltiopropilo, metoxicarboniloximetilo, eto-
xicarboniloximetilo, dimetilaminoacetoximetilo, crotonolac-
30 tón-3-ilo y acetamidometilo.

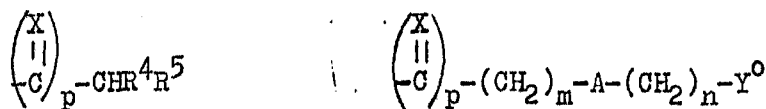
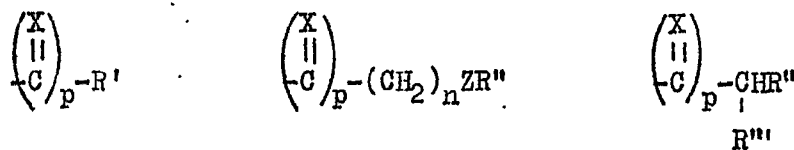
1 Identificación de R³ (R^{1'} y R^{2'})

En la representación genérica de esta invención, estructura IIa(supra), el radical R³ es, además de hidrógeno:

1) acilo (genéricamente el grupo -OR³ es clasificable como un éster) o 2) R³ está seleccionado entre alquilo, arilo,

5 aralquilo y similares, de manera que el grupo -OR³ es clasificable como un éter. Para los ésteres (1), R³ está seleccionado entre las siguientes definiciones de radicales acilo

(p = 1). En los llamados éteres (2) de esta invención, R³ está seleccionado entre los mismos radicales acilo donde el radical carbonilo, $\overset{O}{\parallel}C-$, o más generalmente $\overset{X}{\parallel}C-$, ha sido suprimido (p = 0); así, R³ está seleccionado entre los siguientes radicales, donde todos los símbolos se definen más adelante:



20 R^{1'} y R^{2'} están seleccionados entre los radicales anteriores donde p = 1. Así, en relación con la definición de R³, R^{1'} y R^{2'}, el radical acilo puede ser, entre otros, un radical ácido carboxílico alifático, aromático, heterocíclico aralifático o heterocicloalifático, sustituido o no sustituido, un radical carbonilo sustituido o no sustituido o un radical ácido carbotioico. Un grupo de radicales acilo puede ser representado por la fórmula general:



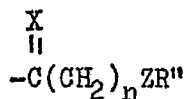
30 donde X es oxígeno o azufre y R'' representa hidrógeno; amino;

1 amino sustituido como alquilamino y dialquilamino donde el radical alquilo contiene de 1 a unos 6 átomos de carbono; un radical alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido, donde el radical alquilo contiene de 1 a unos
5 6 átomos de carbono; mercapto, ariloxi, típicamente de 5 a 10 átomos de carbono; alquenilo o alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono típicamente; arilo como fenilo; aralquilo como bencilo; cicloalquilo, conteniendo típicamente de 3 a 6 átomos de carbono; o un grupo heteroarilo o heteroaralquilo (monocíclico y bicíclico) donde el radical alquilo contiene típicamente de 1 a 3 átomos de carbono y el anillo heterocíclico contiene típicamente de 4 a 10 átomos y el heteroátomo o los heteroátomos están seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; los grupos citados pueden estar sin sustituir o sustituidos con radicales como OH, SH, SR (R es alquilo inferior o arilo como fenilo), alquilo o alcoxi de 1 a unos 6 átomos de carbono, halógeno como cloro, bromo, fluor y yodo; ciano, carboxi, sulfamino, carbamoilo, sulfonilo, azido, amino, amino sustituido como alquilamino, incluido el amonio cuaternario donde el grupo alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, haloalquilo como trifluorometilo, carboxialquilo, carbamoilalquilo, carbamoilalquilo N-sustituido, donde el radical alquilo de los cuatro radicales anteriores contiene de 1 a unos 6 átomos de carbono, amidino, guanidino, guanidino N-sustituido, guanidino-alquilo (inferior) y similares. Son ejemplos representativos de estos grupos acilo que podemos mencionar aquellos donde R" es bencilo, p-hidroxibencilo, 4-amino-4-carboximetilo, metilo, cianometilo, 2-pentenilo, n-amilo, n-heptilo, etilo, 3 ó 4-nitrobencilo, fenetilo, β,β -difeniletilo, metildifenilmetilo, trifenilmetilo, 2-metoxife-

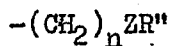
10
15
20
25
30

1 nilo, 2,6-dimetoxifenilo, 2,4,6-trimetoxifenilo, 3,5-dime-
til-4-isoxazolilo, 3-butyl-5-metil-4-isoxazolilo, 5-metil-3-
fenil-4-isoxazolilo, 3-(2-clorofenil)-5-metil-4-isoxazolilo,
3-(2,6-diclorofenil)-5-metil-4-isoxazolilo, D-4-amino-4-car-
5 boximetilo, D-4N-benzoilamino-4-carboxi-n-butilo, p-aminoben-
cilo, o-aminobencilo, m-aminobencilo, p-dimetilaminobencilo,
(3-piridil)metilo, 2-etoxi-1-naftilo, 3-carboxi-2-quinoxali-
nilo, 3-(2,6-diclorofenil)-5-(2-furil)-4-isoxazolilo, 3-fe-
10 nil-4-isoxazolilo, 5-metil-3-(4-guanidinofenil)-4-isoxazoli-
lo, 4-guanidinometilfenilo, 4-guanidinometilbencilo, 4-gua-
nidinobencilo, 4-guanidinofenilo, 2,6-dimetoxi-4-guanidino,
o-sulfobencilo, p-carboximetilbencilo, p-carbamoilmetilben-
cilo, m-fluorbencilo, m-bromobencilo, p-clorobencilo, p-me-
15 toxibencilo, 1-naftilmetilo, 2-isotiazolilmetilo, 4-isotia-
zolilmetilo, 5-isotiazolilmetilo, guaniltiometilo, 4-piri-
dilmtilmetilo, 5-isoxazolilmetilo, 4-metoxi-5-isoxazolilmetilo,
4-metil-5-isoxazolilmetilo, 1-imidazolilmetilo, 2-benzofura-
nilmetilo, 2-indolilmetilo, 2-fenilvinilo, 2-feniletinilo,
1-aminociclohexilo, 2- y 3-tienilaminometilo, 2-(5-nitro-
20 furanil)vinilo, fenilo, o-metoxifenilo, o-clorofenilo, o-fe-
nilfenilo, p-aminometilbencilo, 1-(5-cianotriazolil)metilo,
difluormetilo, diclorometilo, dibromometilo, 1-(3-metilimi-
dazolil)metilo, 2- ó 3-(5-carboximetiltienil)metilo, 2- ó
3-(4-carbamoiltienil)metilo, 2- ó 3-(5-metiltienil)metilo,
25 2- ó 3-(metoxitienil)metilo, 2- ó 3-(4-clorotienil)metilo,
2- ó 3-(5-sulfotienil)metilo, 2- ó 3-(5-carboxitienil)meti-
lo, 3-(1,2,5-tiadiazolil)metilo, 3-(4-metoxi-1,2,5-tiadiazo-
lil)metilo, 2-furilmetilo, 2-(5-nitrofuril)metilo, 3-furil-
metilo, 2-tienilmetilo, 3-tienilmetilo, tetrazolilmetilo,
30 benzamidinometilo y ciclohexilamidinometilo.

1 El grupo acilo también puede ser un radical de fórmula:
la:

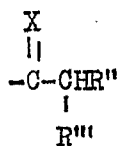


5 donde X es oxígeno o azufre y n es 0-4, Z representa oxígeno, azufre, carbonilo o nitrógeno y R'' es el definido anteriormente. Son miembros representativos del sustituyente



que podemos mencionar los siguientes: aliltiométilo, feniltiométilo, butilmercaptométilo, α -clorocrotilmercaptométilo, fenoximétilo, fenoxietilo, fenoxibutilo, fenoxibencilo, difenoximétilo, dimetilmetoxiétilo, dimetilmetoximétilo, dimetilfenoximétilo, 4-guanidinofenoximétilo, 4-piridiltiométilo, p-(carboximétil)fenoximétilo, p-(carboximétil)feniltiométilo, 2-tiazoliltiométilo, p-(sulfo)fenoximétilo, p-(carboximétil)feniltiométilo, 2-pirimidiniltiométilo, feneltiométilo, 1-(5,6,7,8-tetrahidronaftil)oxométilo, N-metil-4-piridiltio, benciloxi, metoxi, etoxi, fenoxi, feniltio, amino, metilamino, dimetilamino, piridinométilo, trimetilamonio-métilo, cianometiltiométilo, trifluormetiltiométilo, 4-piridiletilo, 4-piridilpropilo, 4-piridilbutilo, 3-imidazoliletilo, 3-imidazolilpropilo, 3-imidazolilbutilo, 1-pirroloetilo, 1-pirrolpropilo y 1-pirrolbutilo.

25 Alternativamente, el grupo acilo puede ser un radical de fórmula

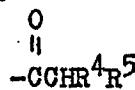


30 donde R'' es el definido anteriormente y R''' es un radical como amino, hidroxilo, azido, carbamilo, guanidino, amidino,

1 aciloxi, halógeno como cloro, fluor, bromo, yodo, sulfamino, tetrazolilo, sulfo, carboxi, carbalcoxy, fosfono y similares. Como miembros representativos del sustituyente



5 podemos mencionar α -aminobencilo, α -amino-(2-tienil)metilo, α -(metilamino)bencilo, α -amino-metilmercaptopropilo, α -amino-3 ó 4-clorobencilo, α -amino-3 ó 4-hidroxibencilo, α -amino-2,4-diclorobencilo, α -amino-3,4-diclorobencilo, D(-)- α -hidroxibencilo, α -carboxibencilo, α -amino-(3-tienil)metilo, D(-)- α -amino-3-cloro-4-hidroxibencilo, α -amino(ciclohexil)-metilo, α -(5-tetrazolil)bencilo, 2-tienil-carboximetilic, 3-tienil-carboximetilo, 2-furilcarboximetilo, 3-furil-carboximetilo, α -sulfaminobencilo, 3-tienil-sulfaminometilo, 15 α -(N-metilsulfamino)bencilo, D(-)-2-tienil-guanidinometilo, D(-)- α -guanidinobencilo, α -guanilureidobencilo, α -hidroxibencilo, α -azidobencilo, α -fluorbencilo, 4-(5-metoxi-1,3-oxadiazolil)aminometilo, 4-(5-metoxi-1,3-oxadiazolil)hidroximetilo, 4-(5-metoxi-1,3-sulfadiazolil)hidroximetilo, 4-(5-clorotienil)aminometilo, 2-(5-clorotienil)hidroximetilo, 2-(5-clorotienil)carboximetilo, 3-(1,2-tiazolil)aminometilo, 3-(1,2-tiazolil)hidroximetilo, 3-(1,2-tiazolil)carboximetilo, 2-(1,4-tiazolil)aminometilo, 2-(1,4-tiazolil)hidroximetilo, 2-(1,4-tiazolil)carboximetilo, 2-benzotienilaminometilo, 2-benzotienilhidroximetilo, 2-benzotienilcarboximetilo, 25 α -sulfbencilo, α -fosfonobencilo, α -dietilfosfono y α -monoetilfosfono. Otros radicales acilo de interés en esta clase cuando X = oxígeno son:

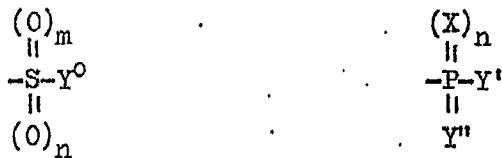


30

1 donde R⁴ y R⁵ son los definidos a continuación. R⁴ representa
ta hidrógeno, halógeno, como cloro, fluor, bromo o yodo,
amino, guanidino, fosfeno, hidroxilo, tetrazolilo, carboxi,
5 sulfo o sulfamino y R⁵ representa fenilo, fenilo sustituido,
un heterociclo monocíclico o bicíclico conteniendo uno o más
átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno en el anillo, tal como
furilo, quinoxalilo, tienilo, quinolilo, quinazolilo, tiazolilo,
isotiazolilo, tetrazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo
10 y heterociclos sustituidos similares, feniltio, feniloxi,
alquilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono, grupos tio heterocíclicos o tiorheterocíclicos sustituidos o ciano. Los
sustituyentes sobre los radicales R⁴ y R⁵ pueden ser halógeno,
15 carboximetilo, guanidino, guanidinometilo, carboxamidometilo,
aminometilo, nitro, metoxi o metilo. Cuando R⁴ está
seleccionado entre el grupo formado por hidrógeno, hidroxilo,
amino o carboxi y R⁵ está seleccionado entre el grupo formado
por fenilo o un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros con-
teniendo uno o dos heteroátomos de azufre, oxígeno o nitrógeno,
20 como tetrazolilo, tienilo, furilo y fenilo, son representativos los siguientes radicales acilo: fenilacetilo,
3-bromofenilacetilo, p-aminometilfenilacetilo, 4-carboximetilfenilacetilo,
4-carboxiamidometilfenilacetilo, 2-furilacetilo, 5-nitro-2-furilacetilo,
3-furilacetilo, 2-tienilacetilo, 5-cloro-2-tienilacetilo, 5-metoxi-2-tienilacetilo,
25 α-guanidino-2-tienilacetilo, 3-tienilacetilo, 2-(4-metil-tienil)acetilo,
3-isotiazolilacetilo, 4-metoxi-3-isotiazolilacetilo, 4-isotiazolilacetilo,
3-metil-4-isotiazolilacetilo, 5-isotiazolilacetilo, 3-cloro-5-isotiazolilacetilo, 3-metil-
1,2,5-oxadiazolilacetilo, 1,2,5-tiadiazolil-4-acetilo, 3-
30 metil-1,2,5-tiadiazolilacetilo, 3-cloro-1,2,5-tiadiazolil-

1 acetilo, 3-metoxi-1,2,5-tiadiazolilacetilo, feniltioaceti-
 lo, 4-piridiltioacetilo, cianoacetilo, 1-tetrazolilacetilo,
 α-fluorfenilacetilo, D-fenilglicilo, 4-hidroxi-D-fenilglici-
 lo, 2-tienilglicilo, 3-tienilglicilo, fenilmalonilo, 3-cloro-
 5 fenilmalonilo, 2-tienilmalonilo, 3-tienilmalonilo, α-fosfo-
 fenilacetilo, α-amino-ciclohexadienilacetilo, α-sulfamino-
 fenilacetilo, α-hidroxifenilacetilo, α-tetrazolilfenilaceti-
 lo y α-sulfofenilacetilo.

10 El radical acilo también puede estar seleccionado
 entre radicales del azufre (1) y del fósforo (2):



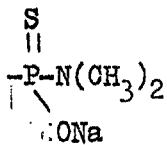
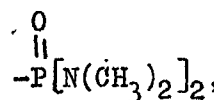
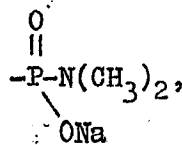
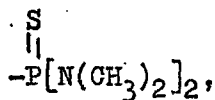
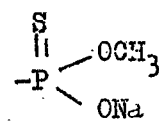
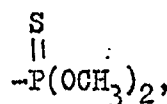
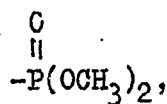
15 donde, en relación con 1, m y n son números enteros selec-
 cionados entre 0 y 1 e $Y^0 = O^{\ominus} M^{\oplus}$, $-N(R'')_2$ y R'' , donde
 M^{\oplus} está seleccionado entre hidrógeno, cationes de metales
 alcalinos y bases orgánicas y R'' es el definido anteriormen-
 te, v.g. alquilo, alquenilo, arilo y heteroarilo. En rela-
 20 ción con 2, $X = O$ o S ; $n = 0$ ó 1 e Y' e Y'' están selecciona-
 dos entre el grupo formado por $O^{\ominus} M^{\oplus}$, $-N(R'')_2$, R'' y ZR'' ,
 donde todos los símbolos son los definidos anteriormente,
 v.g. R'' y ZR'' son representativamente: alquilo, alquenilo,
 25 arilo y heteroariloxi; Y' e Y'' incluidos los radicales R'' ,
 pueden estar unidos entre sí para formar funciones cíclicas
 éster, éster-amida y amida. Son ejemplos ilustrativos de 1
 la O-(metilsulfonil)tienamicina, O-(p-nitrofenilsulfonil)-
 tienamicina, O-(p-clorofenilsulfonil)tienamicina, O-(o-nitro-
 30 fenilsulfenil)tienamicina, O-sulfamoiltienamicina, O-dimetil-

1 sulfamoyltienamicina y sal sódica del ácido tienamicin-O-
sulfónico. Son ejemplos ilustrativos de 2 la O-(dimetoxifos-
fino)tienamicina, O-(dibenciloxifosfino)tienamicina, sal di-
sódica de O-(dihidroxifosfino)tienamicina, O-(dimetoxifosfi-
5 nil)tienamicina, O-(dimetoxifosfinotioil)tienamicina, O-(di-
benciloxifosfinil)tienamicina y sal disódica de O-(dihidro-
xifosfinil)tienamicina. La definición de $R^{1'}$ y $R^{2'}$ no abarca
los radicales 1 y 2.

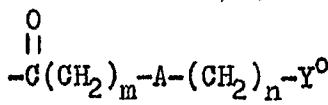
10 Una clase de grupos acilo de especial interés son los
radicales acilo que están seleccionados entre el grupo for-
mado por grupos de bloqueo N-acílico o protectores convencio-
nales, tales como carbobenciloxi, carbobenciloxi sustituido
en el anillo como o- y p-nitrocarbobenciloxi, p-metoxicarbo-
benciloxi, cloroacetilo, bromoacetilo, fenilacetilo, t-buto-
15 xicarbonilo, trifluoracetilo, bromoetoxicarbonilo, 9-fluor-
enilmetoxicarbonilo, dicloroacetilo, o-nitrofenilsulfenilo,
2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, bromo-t-butoxicarbonilo, feno-
xiacetilo; también son interesantes los grupos protectores
no acílicos como trialquil(inferior)sililo, por ejemplo tri-
20 metilsililo y t-butildimetilsililo.

Los siguientes radicales, de acuerdo con la anterior
definición de acilo, son especialmente preferidos para R^3 en
la estructura IIa: formilo, acetilo, propionilo, butirilo,
cloroacetilo, metoxiacetilo, aminoacetilo, metoxicarbonilo,
25 etoxicarbonilo, metilcarbamoilo, etilcarbamoilo, feniltiocar-
bonilo, 3-aminopropionilo, 4-aminobutirilo, N-metilaminoace-
tilo, N,N-dimetilaminoacetilo, N,N,N-trimetilaminoacetilo,
3-(N,N-dimetil)aminopropionilo, 3-(N,N,N-trimetil)aminopropio-
nilo, N,N,N-trietilaminoacetilo, piridinioacetilo, guanidi-
30 noacetilo, 3-guanidinopropionilo, N^3 -metilguanidinopropionilo,

1 hidroxiaacetilo, 3-hidroxipropionilo, acrililo, propinoilo,
malonilo, fenoxicarbonilo, amidinoacetilo, acetamidinoaceti-
5 lo, amidinopropionilo, acetamidinopropionilo, guanilureido-
acetilo, guanilcarbamoilo, carboximetilaminoacetilo, sulfo-
acetilaminoacetilo, fosfonoacetilaminoacetilo, N³-dimetil-
aminoacetamidinopropionilo, ureidocarbonilo, dimetilamino-
guaniltioacetilo, 3-(1-metil-4-piridinio)propionilo, 3-(5-
aminoimidazol-1-il)propionilo, 3-metil-1-imidazolioacetilo,
3-sidnonilacetilo, o-aminometilbenzoilo, o-aminobenzoilo,
10 sulfo, fosfono,

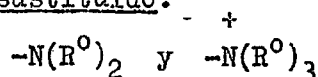


20 Otra clase de radicales acilo son los grupos acilo
terminalmente sustituidos, donde el sustituyente es un gru-
po básico tal como amino, amidino, guanidino, guanilo y he-
terociclos monocíclicos y bicíclicos nitrogenados (aromáti-
cos y no aromáticos), donde el heteroátomo o los heteroátomo-
25 s, además de nitrógeno, pueden ser oxígeno o azufre, to-
dos estos radicales sustituidos o no sustituidos. Los grupos
acilos sustituidos pueden ser representados por la siguiente
fórmula:



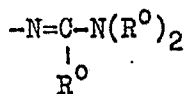
1 donde m y n son números enteros seleccionados entre 0 a 5;
A es oxígeno, NR' (R' es hidrógeno o alquilo inferior de 1 a
6 átomos de carbono), S o bien A representa un enlace sencillo
e Y⁰ está seleccionado entre los grupos siguientes:

5 1) amino o amino sustituido:



10 donde los significados de R⁰ están seleccionados independien-
temente entre hidrógeno; N(R')₂ (R' es hidrógeno o alquilo
inferior de 1 a 6 átomos de carbono); alquilo inferior y al-
coxilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono; alcoxi(inferior)-
alquilo(inferior) donde el radical alcoxi contiene de 1 a 6
átomos de carbono y el radical alquilo contiene de 2 a 6 áto-
mos de carbono; cicloalquilo y cicloalquilalquilo donde el
radical cicloalquilo contiene de 3 a 6 átomos de carbono y
15 el radical alquilo contiene de 1 a 3 átomos de carbono; dos
grupos R⁰ pueden estar unidos entre sí y con el átomo de ni-
trogeno al que están enlazados forman un anillo de 3 a 6 áto-
mos.

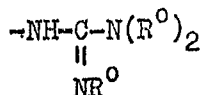
20 2) amidino y amidino sustituido:



25 donde los significados de R⁰ están seleccionados independien-
temente entre el grupo formado por hidrógeno; N(R')₂ (R' es
hidrógeno o alquilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono); al-
quilo inferior y alcoxilo inferior de 1 a 6 átomos de carbo-
no; alcoxi(inferior)alquilo(inferior), donde el radical al-
coxi contiene de 1 a 6 átomos de carbono y el radical alqui-
lo contiene de 2 a 6 átomos de carbono (cuando el radical al-
coxi(inferior)alquilo(inferior) está unido al carbono, el ra-
30 dical alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono); cicloal-

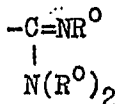
1 quilo y cicloalquilalquilo donde el radical alquilo contiene
de 1 a 3 átomos de carbono; dos grupos R^o pueden estar unidos
entre sí y con los átomos a los que están enlazados forman
un anillo de 3 a 6 átomos;

5 3) guanidino y guanidino sustituido:



donde R^o es el definido en 2).

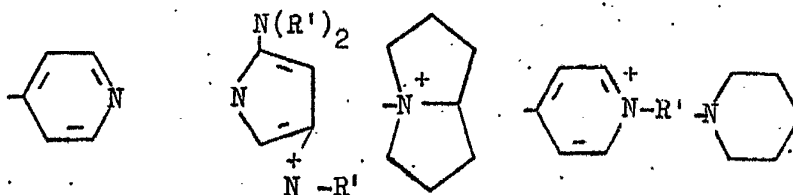
4) guanilo y guanilo sustituido:



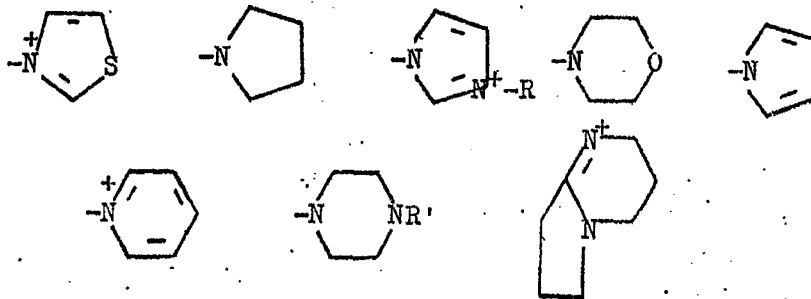
donde R^o es el definido en 2.

10 5) heterociclos monocíclicos y bicíclicos nitrogenados (aro-
máticos y no aromáticos), de 4 a 10 átomos en el núcleo, don-
de el heteroátomo o los heteroátomos, además de nitrógeno,
15 pueden ser oxígeno y azufre. Estos heterociclos están repre-
sentativamente ilustrados por la siguiente lista de radica-
les (R' es hidrógeno o alquilo inferior de 1 a 6 átomos de
carbono):

20

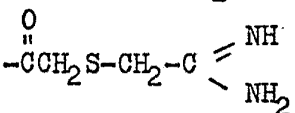
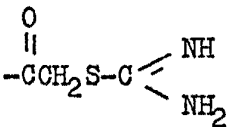
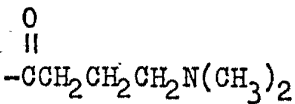
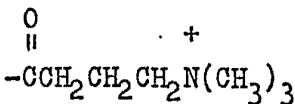
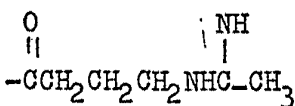
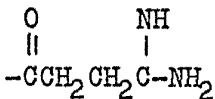
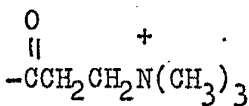
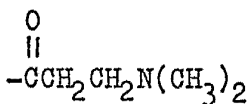
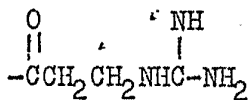
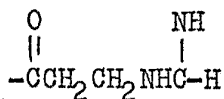
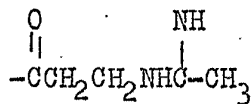


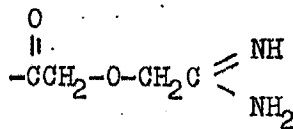
25



30

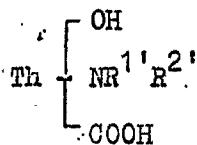
1 Los siguientes radicales acilo específicos comprendidos dentro de esta clase son también representativos:





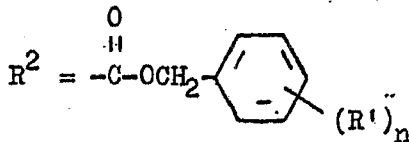
Preparación de los materiales de partida Ia, Ib, Ic, Id y Ie

Los materiales de partida antes descritos se preparan convenientemente a partir de una tienamicina N-prottegida (1), tal como una tienamicina (1) N-acilada.



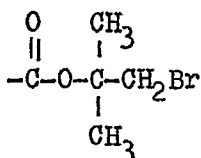
1

donde R^{1'} y R^{2'} están seleccionados entre hidrógeno y los radicales acilo antes definidos. Preferiblemente, R^{1'} es hidrógeno y R^{2'} es un grupo de bloqueo fácilmente separable, tal como carbobenciloxi, carbobenciloxi sustituido en el anillo, como o- y p-nitrocarbobenciloxi, p-metoxicarbobenciloxi, cloroacetilo, bromoacetilo, fenilacetilo, t-butoxicarbonilo, trifluoroacetilo, bromoetoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo, dicloroacetilo, o-nitrofenilsulfenilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, bromo-t-butoxicarbonilo y fenoxiacetilo; también son interesantes los grupos protectores no acílicos como trialkil(inferior)sililo, por ejemplo trimetilsililo y p-butildimetilsililo. Los grupos de N-bloqueo más preferidos son el radical carbobenciloxi sustituido y no sustituido:



donde n es 0-2 (n = 0, R' = hidrógeno) y R' es alcoxi infe-

1 rior ó nitro y bromo-t-butoxicarbonilo,



5 El procedimiento de N-desbloqueo final para la preparación de Ia, Ic o Ie se lleva a cabo por cualquiera de los métodos conocidos que implican hidrólisis o hidrogenación; cuando se utiliza la hidrogenación, las condiciones adecuadas suponen un disolvente tal como un alcohol inferior en presencia de un catalizador de hidrogenación como paladio, platino o sus óxidos.

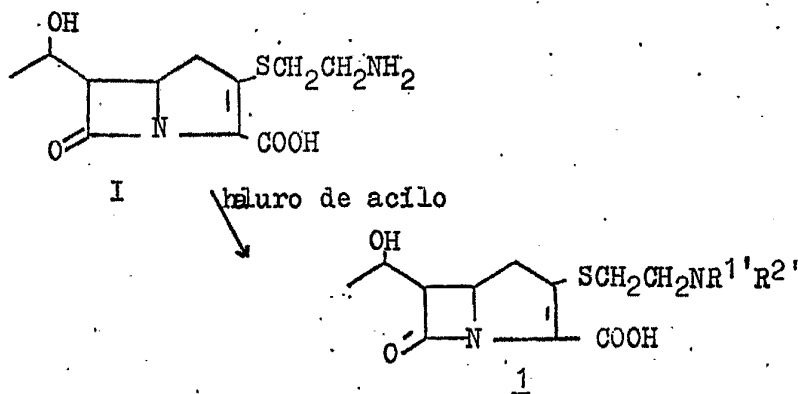
10 El compuesto intermedio N-acilado {1 (o Ia) anterior} se prepara por tratamiento de la tienamicina (I) con un agente acilante, por ejemplo un haluro de acilo o un anhídrido de acilo, tal como un haluro o anhídrido de un ácido carboxílico alifático, aromático, heterocíclico, aralifático o heterocíclico alifático. También pueden emplearse otros agentes acilantes, por ejemplo anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos y especialmente ésteres alquílicos inferiores de anhídridos carboxílicos-carbónicos mixtos; asimismo, ácidos carboxílicos en presencia de una carbodiimida como 1,3-diciclohexilcarbodiimida y un éster activo de un ácido carboxílico como el éster p-nitrofenílico.

25 Estas tienamicinas N-aciladas de partida están descritas con todo detalle en la solicitud de patente estadounidense copendiente, simultáneamente presentada, número de serie 634.291, presentada el 21 de Noviembre de 1975 y su continuación en parte, solicitud de patente estadounidense número de serie _____ presentada simultáneamente con esta solicitud (Merck & Co., Inc. Attorney's Docket Number 15775IA).

30

1 Estas solicitudes se incorporan aquí por referencia.

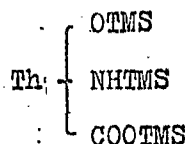
La reacción de acilación puede llevarse a cabo a una temperatura comprendida entre unos -20° y unos 100°C pero preferiblemente se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -9° y 25°C . Puede emplearse cualquier disolvente en el que las sustancias reaccionantes sean solubles y esencialmente inertes, por ejemplo disolventes polares como agua, alcoholes y disolventes orgánicos polares en general, como dimetilformamida (DMF), hexametilfosforamida (HMPA), acetona, dioxano, tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo, aminas heterocíclicas como piridina, acetato de etilo, mezclas acuosas de los anteriores, así como disolventes halogenados como cloruro de metileno y cloroformo. La reacción se lleva a cabo durante un periodo de tiempo de unos 5 minutos hasta un máximo de 3 horas, pero en general es suficiente un tiempo de reacción de 0,5 a 1 hora aproximadamente. La siguiente ecuación ilustra este procedimiento empleando un haluro de ácido carboxílico; sin embargo, se sobreentiende que utilizando un anhídrido carboxílico u otro agente acilante funcionalmente equivalente, pueden obtenerse productos similares:



30

1 En general, cuando la reacción de acilación antes des-
crita emplea un haluro de ácido (los haluros adecuados son
cloruro, yoduro o bromuro) y un anhídrido, la reacción se
5 lleva a cabo en agua o en una mezcla acuosa de un disolven-
te orgánico polar como acetona, dioxano, THF, DMF, acetoni-
trilo o similares, en presencia de una base aceptora adecua-
da, como NaHCO_3 , MgO , NaOH , K_2HPO_4 y similares.

10 Para efectuar las reacciones aquí descritas, en general
no es necesario proteger el grupo 2-carboxi ni el grupo
1'-hidroxi; sin embargo, cuando el reactivo acilante es exce-
sivamente sensible al agua, algunas veces es ventajoso reali-
zar la acilación en un sistema disolvente no acuoso. La
reacción de los derivados triorganosilílicos (o estánnicos)
de la tienamicina transcurre rápidamente para dar el deriva-
do tris-triorganosilílico, por ejemplo tris-trimetilsilil-
15 tienamicina $\text{Th}(\text{TMS})_3$:

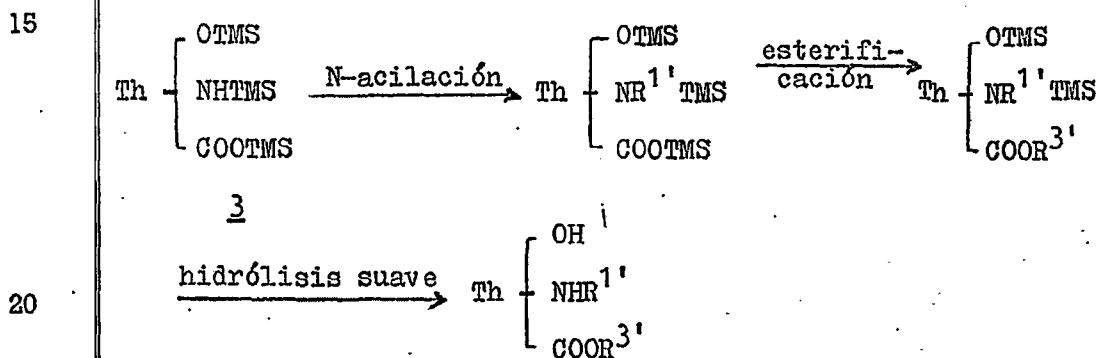


20 Estos derivados, que son fácilmente solubles en disol-
ventes orgánicos, se preparan convenientemente por tratamien-
to de la tienamicina con un exceso de hexametildisilazano y
una cantidad estequiométrica de trimetilclorosilano a 25°C ,
con intensa agitación, en atmósfera de nitrógeno. El cloruro
25 amónico resultante se separa por centrifugación y el disol-
vente se separa por evaporación para dar el derivado silíli-
co deseado.

30 Los materiales de partida intermedios Ic se preparan
de acuerdo con el siguiente esquema; sin embargo, se hace
observar que también es posible la esterificación directa,

1 de ácido tal como cloroformiato de etilo, cloroformiato de
 2 bencilo y similares, con un alcohol como los citados en 3),
 3 bajo las mismas condiciones de reacción que en 3). El anhí-
 4 drido se prepara por reacción de 1 y el cloruro de ácido en
 5 un disolvente como tetrahidrofurano (THF), CH₂Cl₂ y similares,
 a una temperatura entre 25° y la de reflujo, durante 15 mi-
 nutos a 10 horas.

5) Reacción de ésteres lábiles de 1 tal como el éster
 10 trimetilsilílico, éster dimetil-t-butilsilílico o similares
 con R^{3'}X⁰, donde X⁰ es halógeno como bromo y cloro y R^{3'} es
 el definido antes, en un disolvente como THF, CH₂Cl₂ y simi-
 lares, a una temperatura entre 0°C y la de reflujo, durante
 15 minutos a 16 horas. Por ejemplo, de acuerdo con el siguien-
 te esquema:



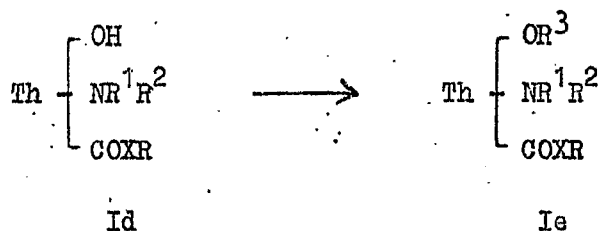
donde TMS es triorganosililo tal como trimetilsililo y todos los otros símbolos son los definidos anteriormente.

25 La forma más conveniente de preparar las amidas de esta invención consiste en hacer reaccionar el anhídrido (Ic, X' = O, R^{3'} = acilo) con amoniaco o con la amina de elección, v.g. las alquilaminas, dialquilaminas, aralquilaminas o aminas heterocíclicas antes citadas.

30 Los esquemas de esterificación descritos son muy conocidos en la técnica de los antibióticos bicíclicos de β-lactama.

1 y en realidad en todas las síntesis orgánicas generales y
hay que observar que no existe ningún parámetro crítico de
reacción en la preparación de los derivados N-asilados y car-
boxílicos Ic útiles como materiales de partida en la prácti-
5 ca de esta invención.

Los materiales de partida Ia y Ic se preparan conve-
nientemente por cualquiera de diversas reacciones conocidas
de esterificación o eterificación sobre el grupo alcohólico
secundario de Id. Entre estos procedimientos se encuentran
10 los siguientes:



15 1) Para la preparación de los éteres de esta inven-
ción, la reacción catalizada por ácido de Id con un diazo-
alcano como diazometano, fenildiazometano, difenildiazometano
y similares, en un disolvente inerte como dioxano, tetra-
hidrofurano (THF), halohidrocarburos como CH_2Cl_2 , acetato de
20 etilo y similares, en presencia de una cantidad catalítica
de un ácido fuerte o de un ácido de Lewis, como ácido toluen-
sulfónico, ácido trifluoracético, ácido fluobórico, trifluo-
ruro de boro y similares, a una temperatura comprendida en-
tre -78°C y 25°C , durante algunos minutos a 2 horas.

25 2) Para la preparación de los éteres de esta invención,
la reacción de Id con un agente alquilante tal como haluros
activos, por ejemplo yoduro de metilo, bromuro de bencilo,
bromuro de m-fenoxibencilo y similares; alquilsulfonatos
como dimetilsulfato, dietilsulfato, metilfluorsulfonato y
30

1 similares, en presencia de una base fuerte capaz de formar
el anión alcoholato de Ib. Las bases adecuadas son los óxi-
dos y los óxidos hidratados de metales alcalinos y alcalino-
5 tóreos, alcóxidos de metales alcalinos como t-butóxido po-
tásico, aminas terciarias como trietilamina, derivados metá-
licos alcalinos de grupos alquilo y arilo como fenil-litio
y amidas de metales alcalinos como sodamida. Entre los di-
solventes adecuados se encuentran cualquier disolvente anhi-
dro inerte como t-butanol, dimetilformamida (DMF), THF, hexa-
10 metilfosforamida (HMPA), dioxano y similares, a una tempera-
tura de -78 a 25°C , durante algunos minutos a 4 horas.

3) Para la preparación de los ésteres de esta inven-
ción, la reacción de Id con cualquiera de los radicales acilo
antes citados, en su forma ácida. Esta reacción puede efec-
15 tuarse en presencia de un agente de condensación del tipo de
carbodiimida, como dicitclohexilcarbodiimida y similares. Los
disolventes adecuados son cualquier disolvente inerte como
 CHCl_3 , CH_2Cl_2 , DMF, HMPA, acetona, dioxano y similares, a
una temperatura comprendida entre 0 y 60°C , durante 15 minu-
20 tos a 12 horas.

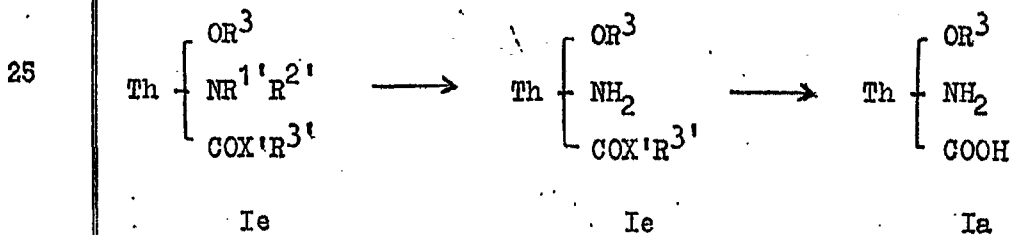
4) Para la preparación de los ésteres de esta inven-
ción, la reacción de Id con un haluro de acilo o un anhídri-
do de ácido, donde el radical acilo es el descrito anterior-
mente. En general, cuando en la reacción de acilación antes
25 descrita se utiliza un haluro de acilo (los haluros adecua-
dos son los cloruros, yoduros o bromuros) o un anhídrido,
la reacción se lleva a cabo en un disolvente orgánico anhi-
dro como acetona, dioxano, cloruro de metileno, cloroformo,
dimetilformamida o similares, en presencia de una base acep-
30 tora adecuada como NaHCO_3 , MgO , trietilamina, piridina y simila

1 res, a una temperatura de 0 a 40°C, durante 1 a 4 horas.

Los haluros y anhídridos de acilo adecuados son: anhídrido acético, anhídrido bromoacético, anhídrido propiónico, cloruro de benzoilo, cloruro de fenilacetilo, cloruro de azidoacetilo, cloruro de 2-tienilacetilo, cloruro de 2-, 3- y 4-nicotinilo, cloruro de p-nitrobenzoilo, cloruro de 2,6-dimetoxibenzoilo, cloruro de 4-guanidinofenilacetilo, cloruro de metanosulfonilo, fosforoclorurato de dibencilo, tiosfosforoclorurato de dimetilo, anhídrido 2-furoiletil-carbónico, cloroformiato de metilo, fosforoclorurato de bis(p-nitrobencilo) y similares.

5) Para la preparación de los ésteres de esta invención, la reacción de Id con una cetena o un isocianato adecuadamente sustituidos, como cetena, dimetilcetena, isocianato de metilo, isotiocianato de metilo, isocianato de clorosulfonilo y similares. Entre los disolventes adecuados se encuentran el dioxano, tetrahidrofurano, cloroformo y similares, a una temperatura comprendida entre -70° y 60°C, durante 15 minutos a 18 horas.

El compuesto intermedio Ie es después N-desbloqueado como se ha descrito antes para dar los materiales de partida, Ie (R^{1'} y R^{2'} = H) y Ia. A partir de Ie, se prepara Ia por desbloqueo del grupo carboxílico:

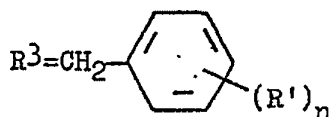


Conveniente y preferiblemente se obtiene un material de partida Ia cuando X¹ es oxígeno y R^{3'} es un grupo de blo-

1 queo o protector del carboxilo fácilmente separable (véase
lo anterior). El material de partida Ia se prepara por des-
bloqueo siguiendo cualquiera de los diversos procedimientos
5 conocidos entre los que se encuentran la hidrólisis y la
hidrogenación. Cuando se emplean los grupos de bloqueo del
carboxilo preferidos (véase más adelante), el procedimiento
de desbloqueo preferido es la hidrogenación, donde la espe-
cie intermedia (Ie) en un disolvente como un alcohol infe-
rior, es hidrogenada en presencia de un catalizador de hi-
10 drogenación como paladio, platino o sus óxidos.

En relación con esto, se hace observar que los "grupos
de bloqueo" adecuados R^3 incluyen los grupos subgenéricos
definidos anteriormente, como aralquilo, haloalquilo, alcooil-
oxialquilo, alcoxialquilo, alquenoilo, alquilo sustituido o
15 aralcoxialquilo y también incluye los grupos alquilsililo,
donde el radical alquilo contiene de 1 a 10 átomos de carbo-
no. Por ejemplo, los "grupos de bloqueo" R^3 adecuados son
bencilo, fenacilo, p-nitrobencilo, metoximetilo, tricloro-
etilo, trimetilsililo, tributilestaño, p-metoxibencilo y ben-
20 zohidrilo. Se prefieren estos grupos de bloqueo porque en
general se admite que son grupos de bloqueo fácilmente sepa-
rables en las cefalosporinas y penicilinas.

Los grupos de bloqueo carboxílico preferidos son benci-
25 lo y bencilo sustituido:



1 donde n es 0-2 (n = 0, R' = H) y R' es alcoxi inferior o nitro.

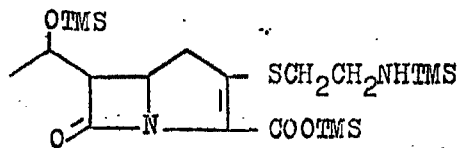
5 Alternativamente, debe observarse que los compuestos de esta invención, IIa, pueden obtenerse trabajando sobre los derivados de N-metilientienamicina sustituidos II, para conseguir la derivatización por establecimiento de los grupos R³ y/o -COX'R^{3'}. Este procedimiento es exactamente igual al descrito anteriormente, a excepción de que se utiliza la especie II en lugar de los materiales de partida antes descritos, tales como Ia, Ic y Ie y, naturalmente, no hay necesidad de N-desbloqueo.

10 Preparación

La preparación de los compuestos de esta invención se describe convenientemente teniendo en cuenta las cuatro clases o realizaciones antes definidas, a saber: 1) amidinas; 15 2) guanidinas; 3) pseudoureas sustituidas y 4) imidoésteres e imidotioésteres.

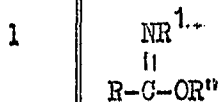
20 1) Amidinas. En general, los compuestos de la Clase 1) pueden ser preparados convenientemente por reacción de la tienamicina (I) o de un derivado de la misma (Ia, Ic o Ie, cuando R^{1'} = R^{2'} = H) o una forma adecuadamente protegida de la tienamicina tal como su derivado sililado (1), con un imidoéster (a) o con un imidohaluro sustituido (b):

25

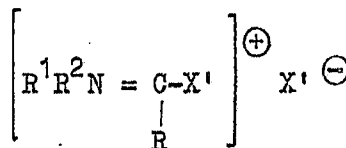


30 1 TMS = trimetilsililo

30



a)



b)

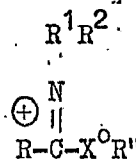
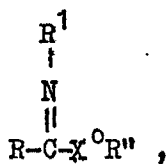
5 donde R¹, R² y R son los definidos anteriormente; X' es halógeno, como cloro y -OR'' es un grupo saliente donde R'' es alquilo inferior como metilo, etilo y similares. Alternativamente, los compuestos de la Clase 1 pueden prepararse por reacción de un compuesto de la Clase 4 con amoniaco o con

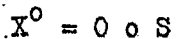
10 compuestos amínicos primarios o secundarios (c), calculados para formar las especies deseadas de la Clase 1. Los reactivos a, b y c son enumerados más adelante representativamente.

15 Los disolventes adecuados para la preparación de los compuestos de la Clase 1 de acuerdo con los esquemas de reacción anteriores, según la identidad del substrato de tienamicina y del reactivo, pueden ser agua, dioxano, tetrahydrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), cloroformo, acetona, acetonitrilo o sus mezclas. La reacción se lleva a cabo a una temperatura de 0 a unos 25°C, durante 1 a 6 horas aproximadamente. No existe ningún factor crítico sobre la identidad precisa del disolvente de la reacción y sobre las variables de reacción dentro de los límites antes descritos, solamente con la condición de que el disolvente de reacción sea inerte o esencialmente inerte frente al curso pretendido

20 de la reacción. Son reactivos adecuados representativos los siguientes:

a) Imidoésteres:





1 formimidato de metilo, formimidato de etilo, acetimidato de
metilo, acetimidato de etilo, bencimidato de metilo, 4-pi-
ridilcarboximidato de etilo, fenilacetimidato de metilo,
5 3-tienilcarboximidato de metilo, azidoacetimidato de metilo,
cloroacetimidato de metilo, ciclohexilcarboximidato de meti-
lo, 2-furilcarboximidato de metilo, p-nitrobencimidato de
metilo, 2,4-dimetoxibencimidato de metilo, N-metilformimida-
to de etilo, N-metilformimidato de metilo, N-isopropilformi-
10 midato de metilo y similares.

Estos imidoésteres reactivos (a) se preparan conve-
nientemente por cualquier método conocido, tal como:

1) Reacción de un nitrilo RCN con un alcohol inferior,
en presencia de HCl, de acuerdo con la conocida síntesis de
15 Pinner.

2) Reacción de un nitrilo RCN con un alcohol inferior,
en presencia de una base. Típicamente la reacción se efectúa
a 0-40°C, en presencia de un exceso del alcohol con una can-
tidad catalítica de un alcóxido de metal alcalino, durante
20 15 minutos a 4 horas.

3) Reacción de una amida $\begin{matrix} O \\ || \\ RCNHR^1 \end{matrix}$ con un cloroformiato
de alquilo, como cloroformiato de metilo, a 25-45°C, durante
1 a 4 horas.

4) Reacción de una amida N-sustituída $\begin{matrix} O \\ || \\ RCNHR^1 \end{matrix}$ o
25 $\begin{matrix} O \\ || \\ RCNR^1R^2 \end{matrix}$, con un equivalente de un agente alquilante tal como
fluoborato de trietiloxonio, en un disolvente inerte como
éter, cloroformo o similares, a 0-23°C, durante 10 minutos a
30 2 horas.

5) Conversión de un imidoéster fácilmente asequible,

1 RCNR¹ (R¹ puede ser hidrógeno) en el imidoéster deseado,
OR¹¹
RCNR¹, por reacción del mencionado en primer lugar con una
OR¹¹
5 alquilamina R¹NH₂, en una mezcla de agua y un disolvente no
miscible tal como éter o cloroformo, a 0-23°C, durante 5 mi-
nutos a 1 hora.

b) Imidohaluros sustituidos:

Cloruro de cloropiperidinometilico, cloruro de cloro-
dimetilforminio, cloruro de clorodietilforminio y similares.

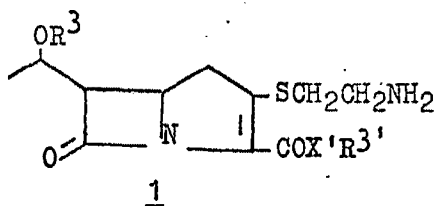
10 Estos imidohaluros reactivos (b) son preparados conve-
nientemente por cualquier procedimiento conocido, tal como:

1) Reacción de una amida N,N-disustituída RCNR^1R^2 con
un agente halogenante como cloruro de tionilo, fosgeno, pen-
tacloruro de fósforo o similares, en un disolvente inerte
15 como cloroformo, cloruro de metileno y similares, a 0-40°C,
durante 1 a 5 horas.

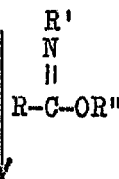
c) Compuestos amínicos primarios y secundarios:

20 Metilamina, etilamina, 2-aminopirimidina, dimetilamina,
metilbencilamina, 3-aminometilpiridina, 2-aminometiltiofeno,
etanolamina, dimetilaminoetilamina, N-2-(aminoetil)pirrolidi-
na, ciclohexilamina, n-heptilamina, isopropilamina, 2-metil-
alilamina, 3-fenil-1-propilamina, 2-amino-4-picolina, 2-ami-
nopiridina, 3-amino-4-carbetoxipirazol, 2-aminotiazol, 5-
amino-3-metilisotiazol y 3-amino-1,2,4-triazol.

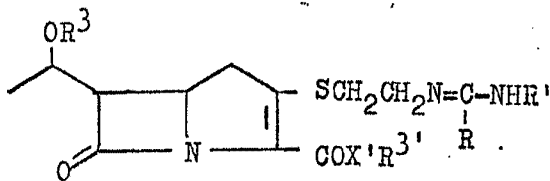
25 La reacción que implica los reactivos (a) puede ser des-
crita representativamente mediante el siguiente esquema:



1



5



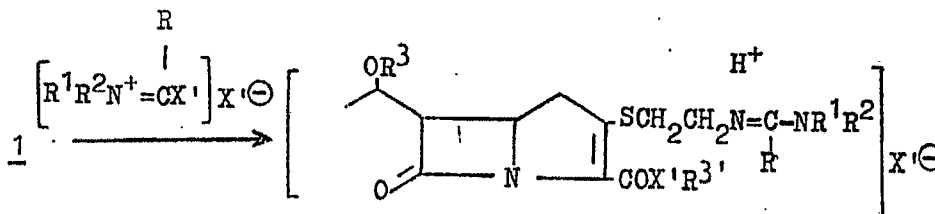
10

donde OR'' es el grupo saliente del imidoéster reactivo y R , R' , $R^{3'}$, R^3 y X' son los definidos anteriormente. Esta reacción es especialmente adecuada para las realizaciones donde R^3 y $R^{3'}$ son hidrógeno y X' es oxígeno.

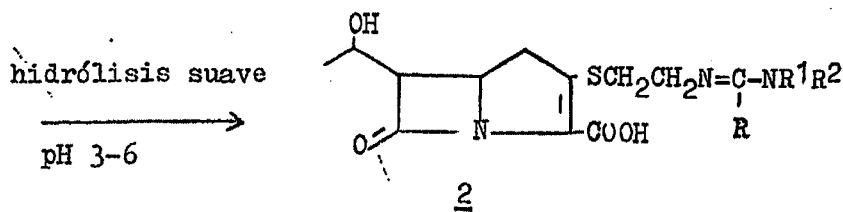
15

La reacción que implica los reactivos (b) puede ser descrita representativamente mediante el siguiente esquema:

20



25



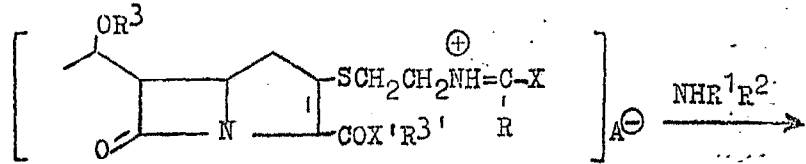
30

donde todos los símbolos son los definidos anteriormente. Cuando se desea el producto 2, los significados adecuados de R^3 y $R^{3'}$ son trimetilsililo y X' es oxígeno.

1

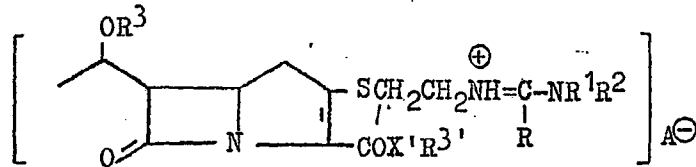
La reacción que implica los reactivos (c) puede ser descrita representativamente mediante el siguiente esquema:

5



Compuesto de la Clase 4

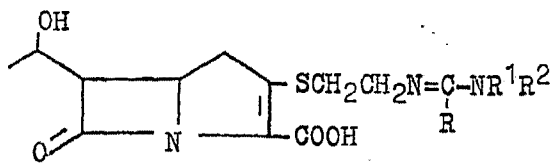
10



15

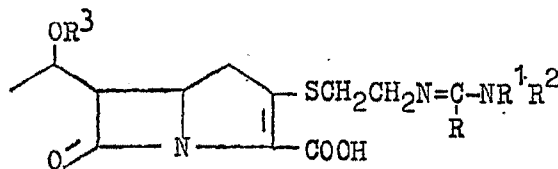
donde todos los símbolos son los definidos anteriormente y X es -OR o -SR, donde R es preferiblemente alquilo inferior como metilo o etilo. Cuando R³ y R^{3'} son grupos protectores o de bloqueo fácilmente separables, pueden ser separados independientemente por procedimientos conocidos para dar las especies 3, 4 y 5.

20



3

25

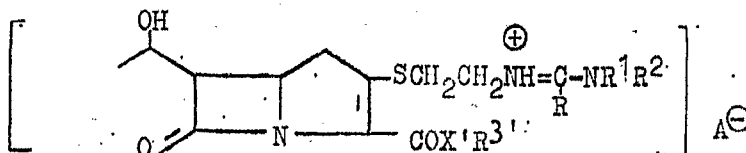


4

30

1

5



5

2) Guanidinas:

10

En general, los compuestos de la Clase 2 pueden ser preparados convenientemente por reacción de tienamicina o un derivado O- o carboxílico de la misma (Ia, Ic o Ie; cuando $R^1 = R^2 = H$) (a) con una $-OR''$ (v.g. O-alkil, O-aril) pseudourea o una S-alkil o S-aril-pseudotiourea o (b) por reacción de un compuesto de la Clase 3 (supra) con amoníaco o un compuesto amínico como alkil-, aralkil- o heteroaralkil-amina.

15

20

Los disolventes adecuados para esta reacción son el agua y las mezclas de disolventes orgánicos polares y agua, tamponadas, a pH 7-9 o disolventes orgánicos polares anhidros como dimetilformamida o hexametilfosforamida, a una temperatura de 0 a 40°C, durante 1 a 24 horas.

Entre los reactivos (a) y (b) adecuados, se encuentran los siguientes:

25

(a) -OR-pseudoureas y -SR-pseudotioureas:

O-metilpseudourea, S-metilpseudotiourea, S-metilpseudotionitrourea, O-2,4-diclorofenilpseudourea, S-p-nitrofenilpseudotiourea, O-N,N-trimetilpseudourea y similares.

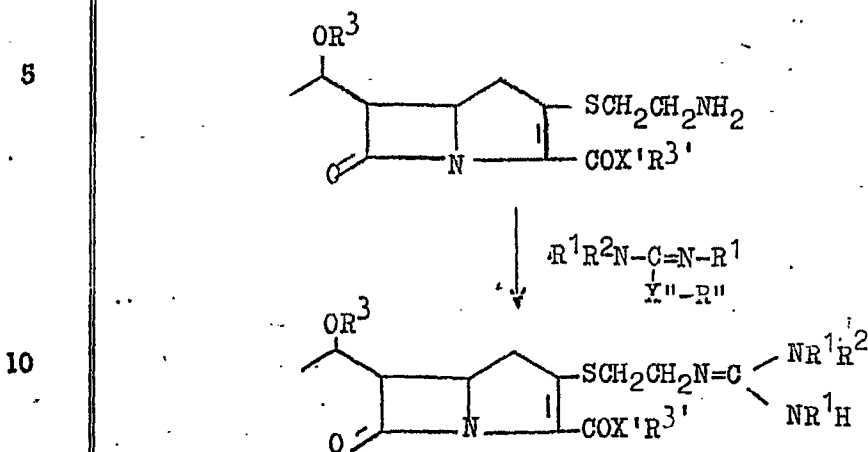
30

(b) Reactivos amínicos:

Estos reactivos son los indicados anteriormente para

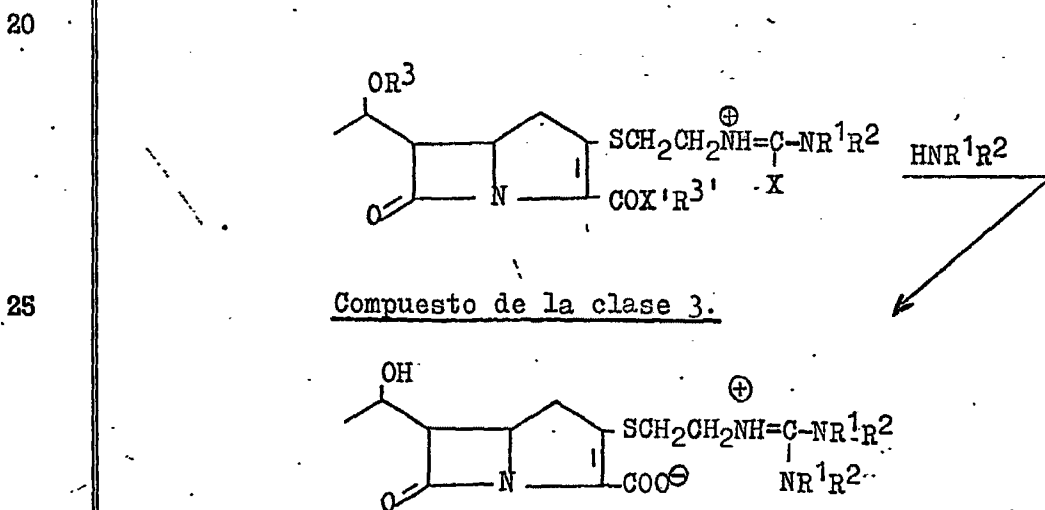
1 la preparación de la Clase 1 (c), supra.

La reacción que implica los reactivos (a) puede ser indicada representativamente mediante el siguiente esquema:



15 donde R^3 , X' , $R^{3'}$, R^1 y R^2 son los definidos anteriormente; X'' es O o S y R'' es el definido y preferiblemente es alquilo inferior o arilo.

La reacción que implica los reactivos (b) puede ser indicada representativamente mediante el siguiente esquema:

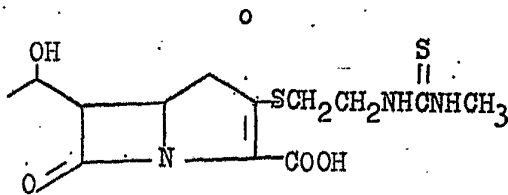
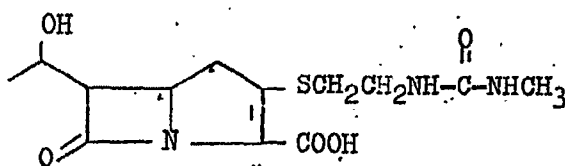


30

1 donde todos los símbolos son los definidos anteriormente.

3) Pseudoureas sustituidas:

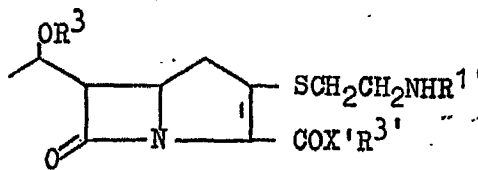
En general, los compuestos de la Clase 3 pueden ser
preparados convenientemente por reacción de una carbamil- o
5 tiocarbamil-tienamicina N-sustituída (a), por ejemplo:



20 con un agente alquilante (b) tal como un haluro de alquilo
o aralquilo activo o un éster sulfúrico.

Los disolventes adecuados para la reacción anterior
son los alcoholes inferiores, dioxano y acetonitrilo, a una
temperatura de 20 a 60°C, durante 1 a 4 horas.

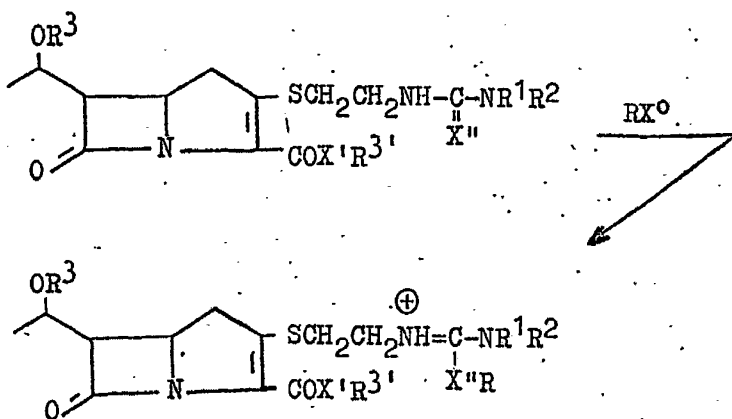
25 Los reactivos adecuados (a) para el esquema de reac-
ción anterior son las N-acil-tienamicinas:



1 donde R^3 , X^1 y $R^{3'}$ son los definidos anteriormente y $R^{1'}$ es
2 acilo antes definido y preferiblemente está seleccionado en-
3 tre el grupo formado por $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NR}^1\text{R}^2$ y $-\overset{\text{S}}{\parallel}{\text{C}}\text{NR}^1\text{R}^2$ (R^1 y R^2 son los
4 definidos anteriormente), tales como: carbamilo, metilcarbami-
5 lo, etilcarbamilo, fenilcarbamilo, p-bromofenilcarbami-
6 lo, feniltiocarbamilo, metiltiocarbamilo, dimetilcarbamilo y simi-
7 lares.

8 Los reactivos (b) adecuados, agentes alquilantes, son:
9 yoduro de metilo, bromuro de bencilo, sulfato de dimetilo,
10 sulfato de dietilo, bromuro de alilo, bromuro de 2-tienilo,
11 bromuro de metalilo, bromuro de p-nitrobencilo, éter metil-
12 clorometílico y similares.

13 La reacción que implica los reactivos (a) y (b) ante-
14 riores puede ser indicada representativamente mediante el si-
15 guiente esquema:



26 donde X'' es O o S; X^0 es halógeno, como bromo, yodo o sulfato
27 de alquilo; RX^0 es el agente alquilante y R^1 , R^2 , R^3 , X^1 ,
28 $R^{3'}$ y R son los definidos anteriormente.

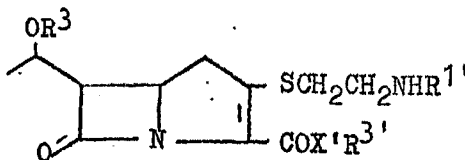
29

1 4) Imidoésteres e imidotioésteres:

En general, los compuestos de la Clase 4 pueden prepararse convenientemente por reacción de un derivado N-acílico, N-tioacílico y N-alcoxicarbonílico protegido adecuado de tienamicina (a) con un agente alquilante (b).

Los disolventes adecuados para la reacción anterior son el cloruro de metileno, tetrahidrofurano, dioxano, cloroformo y similares, a una temperatura comprendida entre -78°C y 25°C, durante 5 minutos a 3 horas.

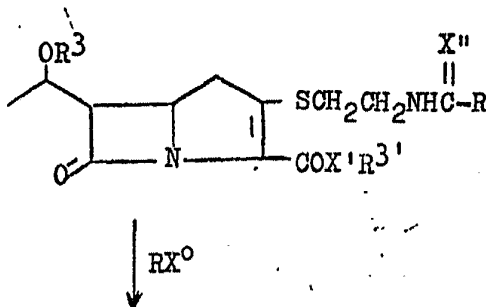
10 Las N-acil-tienamicinas de partida adecuadas (a) son:



15 donde R^{1'} es acilo como formilo, benzoilo, tiobenzoilo, tioacetilo y similares; R³, R^{3'} y X' son los ya definidos.

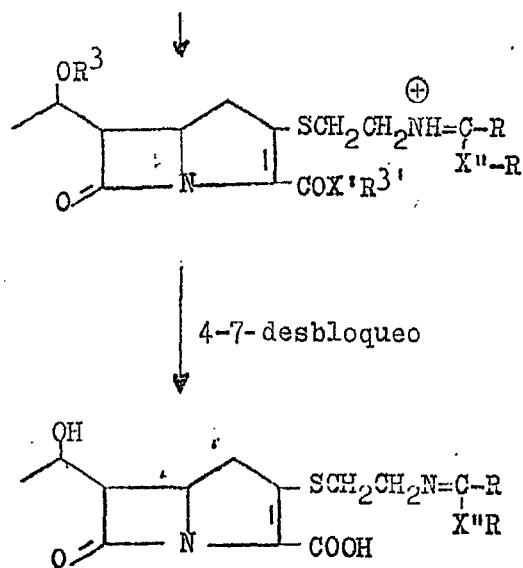
Los agentes alquilantes adecuados (b) son: fluoroborato de trietiloxonio, fluorsulfonato de metilo y hexafluorofosfato de trimetiloxonio.

20 La reacción que implica los reactivos anteriores (a) y (b) puede ser indicada representativamente mediante el siguiente esquema:



30

1
5
10
15
20
25
30



donde X'' = O o S y R³, X', R^{3'} y R son los definidos anteriormente. Cuando se desea la especie desbloqueada, los significados adecuados de X' y R³ y R^{3'} son oxígeno y trimetilsililo; en cuyo caso, el desbloqueo se realiza convenientemente mediante hidrólisis acuosa suave a pH 3-6. Hay que observar que la mezcla de reacción anterior puede ser utilizada directamente en la reacción con la amina (c) como se ha descrito en la preparación de las amidinas de la Clase 1 anterior.

Los productos de esta invención (II y IIa) forman una amplia variedad de sales farmacológicamente aceptables tales como sales de adición de ácidos, v.g. con ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, toluen-p-sulfónico y metano-sulfónico. Las sales de esta invención son derivados no tóxicos y farmacológicamente aceptables que pueden ser utilizados como ingrediente activo en dosis unitarias farmacéuticas adecuadas. Asimismo, pueden combinarse con otras drogas para

1 formar composiciones con un amplio espectro de actividad.

Los nuevos compuestos son valiosos antibióticos, activos contra diversas bacterias gram-positivas y gram-negativas y, por consiguiente, encuentran utilidad en medicina humana y veterinaria. Los compuestos de esta invención, por lo tanto, pueden utilizarse como drogas antibacterianas para el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias gram-positivas y gram-negativas, por ejemplo contra Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Serratia, Salmonella typhosa, Pseudomonas y Bacterium proteus. Los antibacterianos de esta invención pueden ser utilizados además como aditivos para piensos de animales, para la preservación de alimentos y como desinfectantes. Por ejemplo, pueden emplearse en composiciones acuosas a concentraciones que oscilan entre 0,1 y 100 partes de antibiótico por millón de partes de solución con objeto de destruir e inhibir el crecimiento de las bacterias perjudiciales sobre el equipo médico y dental y como bactericidas en aplicaciones industriales, por ejemplo en las pinturas al agua y en el agua blanca de las fábricas de papel para inhibir el crecimiento de las bacterias dañinas.

Los productos de esta invención pueden ser utilizados sólo o en combinación como ingrediente activo en diversos preparados farmacéuticos. Estos antibióticos y sus correspondientes sales pueden emplearse en forma de cápsulas o como tabletas, polvos o soluciones líquidas o como suspensiones o elixires. Pueden ser administrados por vía oral, intravenosa o intramuscular.

Preferiblemente las composiciones se presentan en una forma adecuada para su absorción por el tracto gastrointesti-

1 nal. Las tabletas y cápsulas para administración oral pueden
encontrarse en forma de dosis unitaria y pueden contener ex-
cipientes convencionales como agentes ligantes, por ejemplo
jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto o po-
5 livinilpirrolidona; cargas, por ejemplo lactosa, azúcar, almi-
dón de maíz, fosfato cálcico, sorbitol o glicina; lubrican-
tes, por ejemplo estearato magnésico, talco, polietilengli-
col y sílice; desintegrantes, por ejemplo almidón de patata
o agentes humectantes aceptables como laurilsulfato sódico.
10 Las tabletas pueden ser recubiertas por métodos conocidos.
Los preparados líquidos orales pueden adoptar la forma de
suspensiones, soluciones o emulsiones acuosas u oleáceas,
jarabes, elixires, etc. o pueden presentarse como producto
seco, para su reconstitución con agua o con otros vehículos
15 adecuados antes de su uso. Estos preparados líquidos pueden
contener los aditivos convencionales como agentes suspenso-
res, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, jarabe de
glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetil-
celulosa, gel de estearato de aluminio o aceites comestibles
20 hidrogenados, por ejemplo aceite de almendras, aceite de co-
co fraccionado, ésteres oleosos, propilenglicol o alcohol
etílico; preservativos, por ejemplo p-hidroxibenzoatos de
metilo o de propilo o ácido sórbico. Los supositorios con-
tienen las bases convencionales para supositorios, v.g. man-
25 teca de cacao u otro glicérido.

Las composiciones para inyección pueden presentarse en
forma de dosis unitaria en ampollas o en envases de dosis
múltiples con un preservativo añadido. Las composiciones pue-
den adoptar formas como suspensiones, soluciones o emulsio-
30 nes en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener agentes

1 formulantes, como agentes suspensores, estabilizantes y/o
dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede
encontrarse en forma de polvo para su reconstitución con un
vehículo adecuado, v.g. agua estéril y exenta de pirógenos
5 antes de su uso.

Las composiciones también pueden prepararse en formas
adecuadas para su absorción a través de las membranas muco-
sas de la nariz y de la garganta o de los tejidos bronquia-
les y convenientemente pueden adoptar la forma de nebuliza-
10 ciones o inhalaciones en polvo o líquidas, píldoras, unguen-
tos para la garganta, etc. Para la medicación de los ojos
u oídos, los preparados pueden presentarse como cápsulas in-
dividuales, en forma líquida o semisólida o pueden ser utili-
zados como gotas, etc. Las aplicaciones tópicas pueden ser
15 formuladas en bases hidrófobas o hidrofílicas como unguentos,
cremas, lociones, pinturas, polvos, etc.

Asimismo, además de un vehículo, estas composiciones
pueden contener otros ingredientes como estabilizantes, li-
gantes, antioxidantes, preservativos, lubricantes, agentes
20 suspensores, agentes reguladores de la viscosidad, agentes
aromatizantes y similares. Además, también pueden incluirse
en la composición otros ingredientes activos para conseguir
un espectro más amplio de actividad antibiótica.

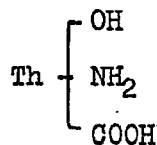
25 Para veterinaria la composición puede ser formulada,
por ejemplo, como preparado intramamario en bases de acción
prolongada o rápida.

La dosis a administrar depende en alto grado del estado
del sujeto en tratamiento y del peso del huésped, de la vía
y frecuencia de administración, siendo preferida la vía pa-
30 renteral para las infecciones generalizadas y la vía oral

1 para las infecciones intestinales. En general, una dosis
oral diaria está constituida por alrededor de 2 a 600 mg de
5 ingrediente activo por kilogramo de peso corporal del suje-
to, en una o más aplicaciones al día. Una dosis diaria pre-
ferida para humanos adultos está comprendida entre unos 15
y 150 mg de ingrediente activo por kilogramo de peso corpo-
ral.

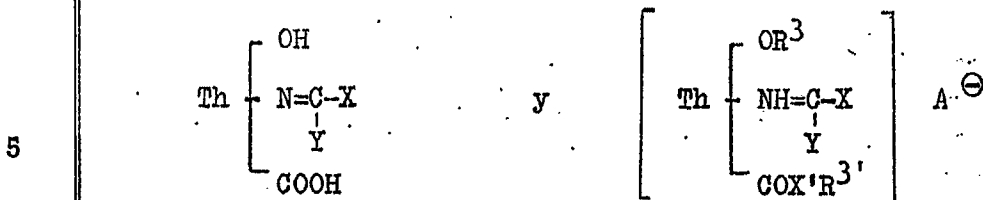
10 Estas composiciones pueden ser administradas en varias
formas de dosis unitarias como, por ejemplo, en dosis sólidas
o líquidas, ingerible por vía oral. Las composiciones por
dosis unitaria, ya sean líquidas o sólidas, pueden contener
de 0,1 a 99 % de material activo, siendo el intervalo prefe-
rido de 10 a 60 % aproximadamente. Generalmente la composi-
15 ción contendrá alrededor de 15 a 1500 mg de ingrediente ac-
tivo; sin embargo, en general, se prefiere emplear una do-
sis comprendida aproximadamente entre 100 y 1000 mg. En la
administración parenteral, la dosis unitaria es habitualmen-
te el compuesto puro en una solución acuosa estéril ligeramen-
te acidulada o en forma de polvo soluble destinado a la
20 disolución.

Los siguientes ejemplos ilustran pero no limitan los
aspectos de producto, procedimiento, composición o método de
tratamiento de esta invención. En los ejemplos, el núcleo
de tienamicina (I, supra) está representado por el si-
25 guiente símbolo:



30 donde están ilustrados el grupo alcohólico secundario, el
grupo amino y el grupo carboxilo. Así, los compuestos de

1 esta invención pueden ser representados convenientemente como sigue:



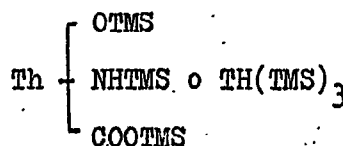
II

IIa

donde X, Y, R³, X', R^{3'}, y A son los definidos anteriormente.

EJEMPLO 1

10



TMS = trimetilsililo

Preparación de tienamicina sililada

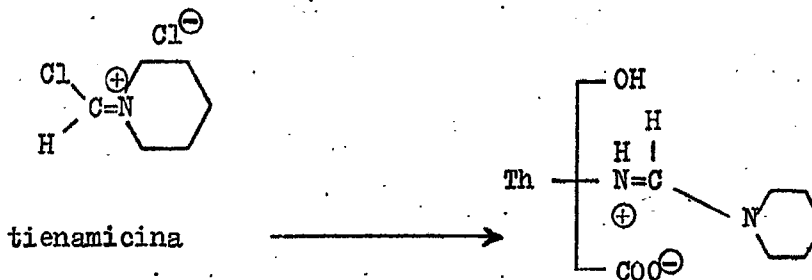
15

Se suspenden 80,0 mg de tienamicina en 40 ml de tetrahidrofurano (THF) en atmósfera de nitrógeno y se concentra hasta 10 ml; se añaden 1,0 ml de hexametildisilazano y 300 microlitros de trimetilclorosilano. La mezcla se hace reaccionar durante 20 minutos a 25°C con intensa agitación. Después la suspensión se centrifuga para separar el cloruro amónico. El líquido que sobrenada se evapora para formar un aceite bajo corriente de nitrógeno para una reacción futura.

20

EJEMPLO 1a

25

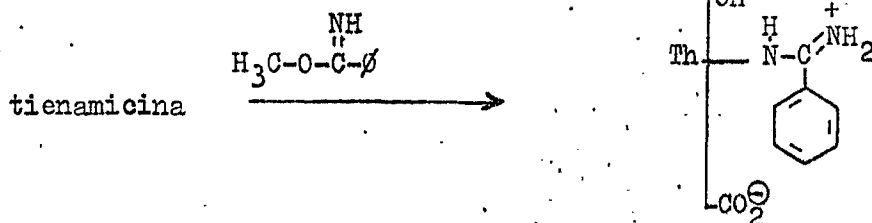


30

1 Preparación del derivado N-piperidin-1-il-metilénico de tienamicina

5 Por el procedimiento anteriormente descrito se someten a sililación 57 mg (162 micromoles) de tienamicina. El anti-
biótico sililado $\text{Th}(\text{TMS})_3$ se disuelve en 6 cc de cloruro de metileno en un matraz tapado con un diafragma, bajo una presión positiva de nitrógeno y se enfría en un baño de acetona y hielo seco. A la solución magnéticamente agitada se agregan
10 180 microlitros de una solución de 644 micromoles de trietilamina en cloruro de metileno. A continuación se añade una solución de 67 mg (405 micromoles) de cloruro de cloropiperidinometililo en 465 microlitros de cloruro de metileno. Al cabo de 1 hora en un baño de hielo seco, la solución reaccionante se agrega rápidamente sobre 50 ml de una mezcla 1:1 de tetrahidrofurano y solución tampón de fosfato 0,1 N, pH 7.
15 La mezcla se concentra después a vacío hasta 10 ml para formar una solución homogénea. Esta solución se lava dos veces con 5 ml cada vez de acetato de etilo y 5 ml cada vez de éter y se bombea brevemente a vacío. Después esta solución acuosa
20 se cromatografía sobre una columna de resina XAD-2 (60 ml de lecho). El producto se eluye en tetrahidrofurano acuoso al 10% (después de la elución con agua) para dar 12,9 mg (22%) de producto (medido en una solución suponiendo que $\epsilon = 8,030$ igual al de la tienamicina. Cromatografía en papel: R_f 0,42 (4:1:5, n-butanol/etanol/agua).

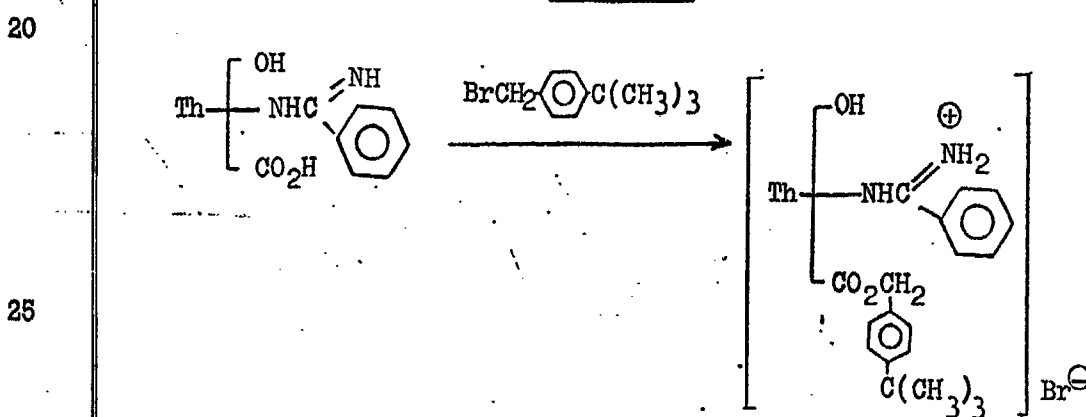
EJEMPLO 2



1 Preparación de N-bencimidoil-tienamicina

Se disuelven 59 mg (212 micromoles) de tienamicina en 4,5 ml de una solución de N,N-dimetilformamida al 33 % en tampón de fosfato (0,05 N) a pH 7 y se ajusta a pH 9,5 empleando NaOH 2,5 N con una bureta dispensadora automática. La solución se agita magnéticamente a 25°C y se añaden de una sola vez 340 mg (1981 micromoles) de bencimidato de metilo. HCl. Al cabo de 30 minutos, se extrae la solución dos veces con un volumen igual de cloroformo y se ajusta con solución acuosa diluida de ácido fosfórico hasta pH 7,0. La solución tamponada se cromatografía sobre 65 ml de resina XAD-2. La columna se eluye primero con agua y después con tetrahidrofurano acuoso al 10 %, que eluye el producto. Esta fracción se concentra hasta la mitad de su volumen y se liofiliza para dar 50 mg del producto. La movilidad electroforética (50 V/cm, 20 minutos, tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) es 1,5 cm hacia el ánodo. $UV\lambda_{max} = 300 \text{ nm}$ ($\epsilon 6,960$), tampón de fosfato 0,1 N a pH 7.

20 EJEMPLO 3

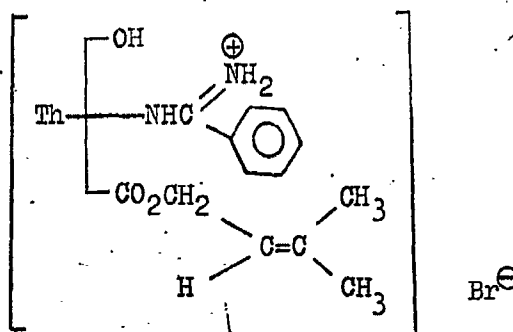


30 Preparación de éster p-terc-butilbencílico de N-bencimidoil-tienamicina

Se suspenden 3,2 mg de bencimidoil-tienamicina en 75 microlitros de hexametilfosforamida conteniendo 3,8 microlitros

1 de bromuro de p-t-butilbencilo y se agita magnéticamente a
22°C. Al cabo de 45 minutos se produce una solución que se
5 agita durante 1 hora más. Después el producto se precipita
de la solución con éter y el producto crudo se cromatografía
en una placa de gel de sílice de 250 micras de espesor, de-
sarrollada en cloroformo/etanol 7:3. Se retira la banda a
R_F 0,6 y se eluye con etanol para dar el hidrobromuro del és-
ter p-t-butilbencílico de N-bencimidoil-tienamicina. Espec-
tro de masas: m/e 521 (M⁺), 487, 444, 418, 341, 323, 297,
10 226, 147.

EJEMPLO 4



20 Preparación del éster 3-metil-2-buten-1-ílico de N-bencimi-
doil-tienamicina

Se disuelven 5,9 mg de bencimidoil-tienamicina en
100 microlitros de hexametilfosforamida conteniendo 4,8 micro-
litros de 1-bromo-3-metil-2-buteno y 0,5 microlitros de trie-
tilamina y se agitan magnéticamente a 22°C. Al cabo de 1 ho-
25 ra, el producto de reacción crudo se cromatografía sobre una
placa de gel de sílice de 250 micras de espesor, desarrolla-
da con cloroformo/etanol 8:2. Se retira la banda de R_F 0,1-
R_F 0,3 y se eluye con etanol. Se aísla el hidrobromuro del
éster 3-metil-2-buten-1-ílico de bencimidoil-tienamicina en
30 forma sólida después de precipitar de una solución de etanol-

1 cloroformo con hexano.

EJEMPLO 5

Preparación de N-formimidoil-tienamicina

5



10

Se disuelven 517 mg de tienamicina en 25 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y se enfría en un baño de hielo con agitación magnética. La solución se ajusta a pH 8,5 con solución de hidróxido sódico 2,5 N dispensada desde una bureta automática. Manteniendo un pH de 8,5, se añaden poco a poco 711 mg de hidrocloreuro de formimidato de metilo, a lo largo de 2-3 minutos. Después de 10 minutos más, el pH de la solución se lleva a 7,0 empleando ácido clorhídrico 2,5 N. La solución se cromatografía en una columna de 150 cc de resina XAD-2 que se eluye con agua. El derivado N-formimidoil-tienamicina eluye en 1,5-2,0 volúmenes de columna (200-300 cc) y se liofiliza hasta dar 217 mg de un sólido blanco.

15

20

UV (pH 7; tampón de fosfato 0,1 N) λ_{\max} : 297 nm (ε.8,590).

IR (suspensión de Nujol): 1767 cm^{-1} (β-lactama).

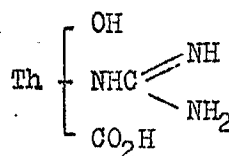
25

RMN (D_2O) δ: 1,37 (d, J = 6 Hz, $\text{CH}_3\text{-CH}$), 3,0-3,75 (m, $-\text{CH}_2-$), 4,2-4,8 (m, C_5H , C_6H , C_7H), 7,86 (s, $-\text{C}-\text{H}$).
NH

30

1

EJEMPLO 6



5

Preparación de N-guanil-tienamicina

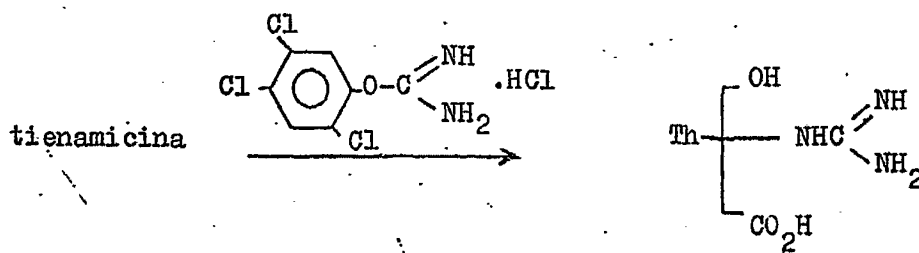
Se disuelven 8,9 mg de tienamicina en 0,7 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y 0,3 ml de N,N-dimetilformamida y la solución se lleva a pH 9,5 por adición de solución de hidróxido sódico 2,5 N. A la solución magnéticamente agitada se añaden 43 mg de hidrógeno-sulfato de O-metilisourea produciendo un ligero descenso del pH. Se añade más solución de hidróxido sódico para llevar de nuevo el pH a 9,5 y la solución se agita durante 30 minutos a 23°C. Después la solución se acidula a pH 7,0. Una muestra de la solución que contiene una mezcla de tienamicina y N-guanil-tienamicina presenta dos zonas bioactivas después de electroforesis (50 V/cm, 20 minutos, tampón de fosfato 0,05 N a pH 7) y bioautografía sobre placas de S. aureus.

10

15

EJEMPLO 7

20



25

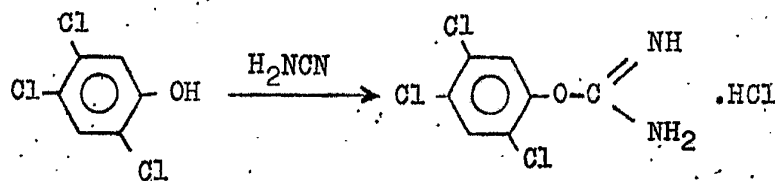
Preparación de N-guanil-tienamicina

Se disuelven 11 mg de tienamicina en 1 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y se ajusta a pH 8,3 con hidróxido sódico 0,1 N mediante una bureta dispensadora automática. A la solución magnéticamente agitada se añaden poco a poco 76 mg de hidrocloreuro de O-2,4,5-triclorofenilisourea para

30

1 permitir que la bureta automática mantenga un pH casi cons-
tante. La reacción se lleva a cabo durante 4 horas a 22°C y
después se reajusta a pH 7,0 mediante adición de ácido di-
5 luído. Una muestra de esta solución conteniendo tienamicina y
N-guanil-tienamicina se somete a electroforesis (50 V/cm,
25 minutos, tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) y presenta una
zona de reacción de Sakaguchi positiva a 2,0 cm hacia el án-
do y una zona de reacción de ninhidrina positiva a 1,5 cm
en la misma dirección.

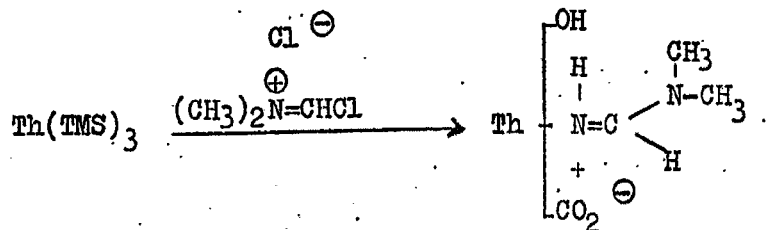
EJEMPLO 8



Preparación de hidrocloreuro de O-2,4,5-triclorofenilisourea

15 Se mezcla una solución de 0,28 mg de cianamida en
0,50 ml de éter con 12,5 g de 2,4,5-triclorofenol; la mezcla
se calienta a 70°C y el fundido se agita magnéticamente mien-
20 tras el matraz de reacción se barre con nitrógeno. Después se
borbotea lentamente a través del fundido cloruro de hidrógeno
gaseoso seco y se deja enfriar la mezcla de reacción a 22°C.
El sólido resultante se lava bien con éter y se filtra para
25 dar hidrocloreuro de O-2,4,5-triclorofenilisourea en forma
de sólido blanco, p.f. 205-206°C.

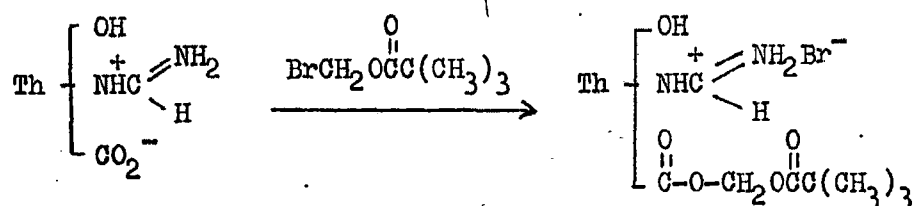
EJEMPLO 9



1 Preparación de N-dimetilaminometilen-tienamicina

5 Se someten a sililación 16,5 mg de tienamicina con 200 microlitros de hexametildisilazano y 60 microlitros de trimetilclorosilano en la forma habitual. La tienamicina sililada se suspende en 1 ml de cloroformo (exento de etanol) con agitación magnética en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfría a -45°C y se añade una solución de 21 microlitros de trietilamina en 21 microlitros de cloroformo, seguida de una solución de 14,5 mg de cloruro de (clorometileno)-dimetilamonio en 50 microlitros de cloroformo. La mezcla se calienta a -25°C durante 1 hora y se añaden 5 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7. La mezcla se agita fuertemente durante 15 minutos. Se separa la fase acuosa y contiene N-dimetilaminometilen-tienamicina que presenta una movilidad electroforética (50 V/cm, 1 hora, tampón a pH 7) de 3,6 cm hacia el cátodo.

EJEMPLO 10



25 Preparación de hidrobromuro del éster pivaloximetílico de N-formimidóil-tienamicina

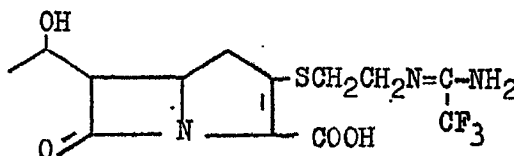
30 Se disuelven 10 mg de N-aminometilen-tienamicina en 200 microlitros de hexametilfosforamida conteniendo 10 microlitros de pivalato de bromometilo y 1 microlitro de trietilamina y se agita magnéticamente a 22°C. Al cabo de 2 horas, la solución de hexametilfosforamida se disuelve en 2 ml de cloruro de metileno y el producto precipita con una solu-

1 ción de hexano al 50 % en éter. El precipitado se disuelve
en una solución acuosa de tetrahidrofurano al 10 % y se cro-
matografía en una columna rellena de resina XAD-2. El éster
5 pivaloiloximetílico de la N-formimidoil-tienamicina se aísla
en forma sólida después de eluir de la columna con tetrahi-
drofurano y liofilizar.

EJEMPLO 11

Preparación de N-trifluoracetimidoil-tienamicina

10



15

20

25

30

Se disuelven 199 mg de tienamicina en 7 ml de tampón
de fosfato 0,1 N a pH 7 y se ajusta a pH 8,5 con solución
de hidróxido sódico 1 N. Mientras se mantiene este pH con
una bureta automática, se añade de una sola vez una solución
de 355 microlitros de trifluoracetimidato de metilo en 2,5 ml
de dioxano. Al cabo de 30 minutos se reajusta el pH a 7,0
por adición de ácido clorhídrico 1 N. Después la solución
se cromatografía sobre resina Dowex 50-X4 (200 cc, ciclo Na⁺
200-400 mallas) y se eluye con agua. El derivado N-trifluor-
acetimidoil-tienamicina eluye en el primer medio volumen de
columna. Este eluato se cromatografía de nuevo de forma si-
milar sobre Dowex 50-X4 (100 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas)
y el primer volumen de columna se concentra y se cromatogra-
fia sobre 30 cc de resina XAD-2. El derivado N-trifluoraceti-
midoil-tienamicina eluye en 2,5-5,0 volúmenes de columna y
se liofiliza para dar 15 mg de un sólido blanco.

30

UV (pH 7, tampón de fosfato 0,1 N) λ_{\max} : 302 nm

1 (ε 4.450).

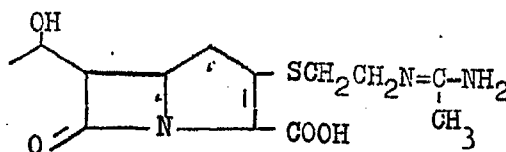
IR (suspensión de Nujol): 1750 cm⁻¹ (β-lactama).

Electroforesis: (50 V/cm, 20 minutos, tampón de fosfato 0,1 N a pH 7), movilidad 2,0 cm (hacia el cátodo).

5

EJEMPLO 12

Preparación de N-acetimidóil-tienamicina



10

Se disuelven 190 mg de tienamicina en 13 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y se enfría en un baño de hielo con agitación magnética. La solución se ajusta a pH 8,5 empleando solución 2,5 N de hidróxido sódico dispensada desde una bureta automática. Manteniendo un pH de 8,5, se añaden poco a poco a lo largo de algunos minutos, 400 mg de hidrocloreuro de acetimidato de etilo. Después de 40 minutos más, la solución se ajusta a pH 7,0 con ácido clorhídrico 2,5 N. Después la solución se cromatografía sobre resina Dowex 50-X8 (250 cc ciclo Na⁺, 100-200 mallas) y se eluye con agua. El derivado N-acetimidóílico eluye en 1-2 volúmenes de columna (240-520 cc) y se liofiliza hasta dar 88 mg de un sólido blanco.

15

20

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{max} 297 nm

25

(ε 7.620).

IR (suspensión de Nujol): 1774 cm⁻¹, (β-lactama).

RMN (D₂O) δ 1,27 (d, J = 6 Hz, CH₃-CH), 2,24 (s, -C-CH₃),
NH

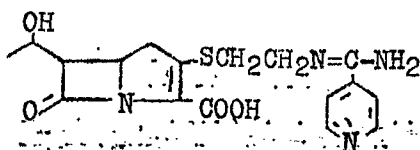
30

3,2-3,5 (m, -CH₂), 3,5-3,9 (m, -CH₂-), 4,2-4,6 (m, C₅H, C₆H, C₇H).

EJEMPLO 13

Preparación de N-((4-piridil)(imino)metil)tienamicina

1



5

10

15

20

25

Se disuelven 80 mg (0,294 moles) de tienamicina en una solución acuosa de 24,7 mg de bicarbonato sódico en 2,0 ml de agua (0,294 milimoles) a 25°C. En la solución se disuelven 80 mg (0,588 milimoles) de isonicotinimidato de metilo y el progreso de la reacción se sigue tomando muestras a intervalos regulares, utilizando cromatografía de líquidos de alta presión (CLAP): instrumento Waters; columna de fase invertida Bondapak C₁₈, 0,2 x 61 cm; 1,5 ml/minuto de tetrahidrofurano al 10 % en agua; monitores de UV (254 nm) e I.R. La reacción es esencialmente completa en 40 minutos y la solución reaccionante se cromatografía directamente sobre una columna de resina XAD de 18,4 x 270 mm, eluyendo primero con agua destilada desionizada y después cambiando a tetrahidrofurano acuoso al 10 %. El eluato se vigila por UV y se utiliza CLAP para localizar el producto puro. Se combinan las fracciones correctas y se liofilizan para dar 80 mg (73 %) de un polvo esponjoso incoloro.

UV $\lambda_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{max}}$: 298 nm (ϵ 7.800).

IR (suspensión de Nujol): 1762 cm^{-1} (β -lactama).

RMN (60 MHz, D₂O) δ : 1,27, 3H (d, J = 7 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})$), 7,75 y 8,80, 4H, (m, m, 4-piridilo).

CLAR: 1,58 x retención de tienamicina, las mismas condiciones de antes.

EJEMPLO 14

30

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 13, pero sustituyendo el reactivo por picolinimidato de metilo, se obtienen 85 mg (77 %) de N-((2-piridil)(imino)metil)tienamicina.

1 UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 267, 300 nm (ϵ , 8.150, 7.600).

IR (suspensión de Nujol) 1764 cm^{-1} (β -lactama).

5 RMN (60 MHz, D_2O) δ : 1,24, 3H (d, J = 7 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})$),
7,80, 8,07, 8,80, 4H, (m,m,m, 2-piridilo).

CLAP: 1,8 x retención de tienamicina.

EJEMPLO 15

10 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 13 pero sustituyendo el reactivo por nicotinimidato de metilo, se obtienen 77 mg (70 %) de N-[(3-piridil(imino)metil] tienamicina.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 264, 299 nm, (ϵ , 5.570, 6.120).

IR (suspensión de Nujol): 1766 cm^{-1} (β -lactama).

15 RMN (60 MHz, D_2O) δ : 1,24, 3H, (d, J = 7 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})$); δ : 7,6, 8,2, 8,9, 4H (m,m,m, 3-piridilo).

CLAP: 1,57 x retención de tienamicina.

EJEMPLO 16

20 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 13 pero sustituyendo el reactivo por 4-tiazolcarboximidato de metilo, se obtienen 99 mg (89 %) de N-[(4-tiazolilimino)metil]tienamicina.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 300 nm (ϵ 7.530).

IR (suspensión de Nujol): 1764 cm^{-1} (β -lactama).

25 RMN (60 MHz, D_2O) δ : 1,23, 3H, (d, J = 7Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})$),
8,60, 9,17, 2H (d,d, J = 2 Hz, 4-tiazolilo).

CLAP: 1,8 x tiempo de retención de la tienamicina.

EJEMPLO 17

Preparación de N-alilformamida

30 Se agita a 25°C, durante 2 horas, una mezcla de 5,00 g (87,6 milimoles) de alilamina y 5,26 g (87,6 milimoles) de formiato de metilo. Transcurrido este tiempo, se coloca so-

1 bre el matraz de reacción una cabeza de destilación de columna corta y la N-alilformamida deseada se recoge a 89-90°C/0,7 mm en forma de aceite incoloro. Rendimiento: 7,0 g (94 %).

IR (CHCl₃): 3380, 1680 cm⁻¹.

5 RMN (CHCl₃) δ : 8,1 (1H, s ancho), 6,4-7,9 (1H, muy ancho), 5,5-6,3 (1H, m), 4,9-5,5 (2H, m), 3,85 (2H, m).

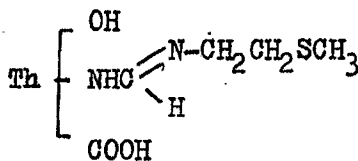
EJEMPLO 18

Preparación de hidrocioruro de alilimidato de etilo

10 Mediante una jeringa se agregan 2,66 g (24,47 milimoles) de cloroformiato de etilo a 2,08 g (24,47 milimoles) de N-alilformamida en un matraz seco bajo nitrógeno. Después la mezcla resultante se agita a 25°C durante 2 horas, durante las cuales se desprende rápidamente CO₂. A continuación la
15 mezcla de reacción se calienta a 45°C hasta que ya no hay evidencia de más desprendimiento de gases (2 horas). Después se enfría el producto viscoso y se mantiene a vacío de 0,2 mm durante 2 horas para eliminar todas las sustancias volátiles.

EJEMPLO 19

20 Preparación de N'(2-metiltioetil)-N-formimidoil-tienamicina



25 Se disuelven 105 mg de tienamicina en 5 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y sobre esta mezcla se añade una solución de 300 microlitros de N-2-metiltioetilformimidato de etilo en 2 ml de tetrahidrofurano. El pH de la solución se ajusta y se mantiene en 8,5 empleando una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. Al cabo de 30 minutos, el pH se ajusta
30

1 a 7,0 con HCl 2,5 N. La solución se cromatografía en una co-
 5 lumna con una camisa de agua de hielo de resina Dowex 50-X4
 (53 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) eluida con agua desioni-
 zada. El derivado N'-(2-metiltioetil)-N-formimidoílico eluye
 en 2-4 volúmenes de columna y se liofiliza para dar un sólido
 blanco.

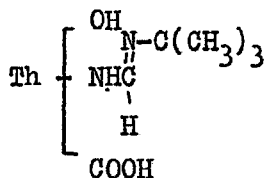
UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{max}: 298 nm
 (ε 7.760).

IR (suspensión de Nujol): 1760 cm⁻¹ (β-lactama).

10

EJEMPLO 20

Preparación de N'-t-butil-N-formimidoil-tienamicina



15

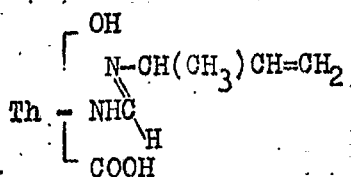
Se disuelven 105 mg de tienamicina en 5 ml de tampón
 de fosfato 0,1 N a pH 7 y sobre esta mezcla se añade una so-
 lución de 290 mg de N-t-butilformimidato de etilo en 1 ml
 de tetrahidrofurano. El pH de la solución se ajusta a 8,5 y
 20 se mantiene en este valor empleando una bureta automática que
 dispensa NaOH 1 N. Al cabo de 30 minutos se ajusta el pH a
 7,0 con HCl 2,5 N. La solución se cromatografía sobre una co-
 lumna de resina Dowex 50-X4 provista de una camisa de agua de
 hielo (53 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) y se eluye con agua
 25 desionizada. Se combinan las fracciones que contienen el pro-
 ducto del título y se liofilizan.

EJEMPLO 21

Preparación de N'-(1-metil-2-propenil)-N-formimidoil-tienami-
 cina

30

1



5

10

15

Se disuelven 126 mg de tienamicina en 6 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a 8,5 mediante una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. A esta solución agitada se añaden 300 microlitros de hidrocloreuro de N-1-metil-2-propenilformimidato de etilo mientras el pH se mantiene a 8,5. Al cabo de 30 minutos, se ajusta el pH de la solución a 7,0 con HCL 2,5 N y la solución se cromatografía en una columna provista de una camisa de agua de hielo de resina Dowex 50-X4' (49 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) y se eluye con agua desionizada. El derivado N'-(1-metil-2-propenil)-N-formimidoílico eluye en 2-4 volúmenes de columna y se liofiliza para dar 59 mg de un sólido blanco.

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 longitud de onda de absorción máxima igual a 299 nm (absorción igual a 7.820).

IR (solución de Nujol): δ 1760 cm⁻¹ (β -lactama).

EJEMPLO 22

20

Preparación de N-(1-buten-3-il)formamida

25

Una solución de 3,5 g (0,05 moles) de 3-amino-1-buteno en 12 ml de formiato de metilo se mantiene a 25°C durante 20 horas; después la solución se concentra a presión reducida para separar el exceso de formiato de metilo. La N-(1-buten-3-il)formamida residual se destila a presión reducida. Se obtiene una fracción que asciende a 3 g (p.e. 58-60°C/0,5 mm) de N-(1-buten-3-il)formamida.

EJEMPLO 23

30

Preparación de N-(1-buten-3-il)formimidato de etilo

Se agita bajo nitrógeno durante 4 horas una mezcla de

1 1,0 g de N-(1-buten-3-il)formamida y un equivalente de cloro-
formiato de etilo, durante cuyo tiempo se desprende CO₂. La solu-
ción se agita a presión reducida durante 3 horas para separar
5 cualquier cloroformiato de etilo que no había reaccionado y se
obtiene un residuo de N-(1-buten-3-il)formimidato de etilo.

EJEMPLO 24

Preparación de N-dimetilaminoformimidato de metilo

10 A una solución agitada de 0,22 g de N,N-dimetilformihidrazida en 2,0 ml de cloroformo, bajo nitrógeno, se añaden
0,5 ml de cloroformiato de metilo. La mezcla se calienta a
40°C durante 3 horas y después se evapora bajo nitrógeno. La
mezcla se tritura con éter anhidro. Se decanta la solución
que sobrenada y el residuo se seca en una corriente de nitró-
15 geno. Rendimiento: 284 mg.

RMN (CDCl₃) δ : 9,13 (CH), 3,80 (OCH₃), 3,01 (N(CH₃)₂).

EJEMPLO 25

Preparación de ciclopropilformamida

20 Se agita a 25°C, durante 2 horas, una mezcla de 5,00 g
(87,6 milimoles) de ciclopropilamina y 5,26 g (87,6 milimo-
les) de formiato de metilo (se observa una reacción exotérmica
inicial). Después la mezcla se introduce en un evaporador
giratorio para separar el metanol formado en la reacción. El
residuo se destila a través de una cabeza de columna corta pa-
25 ra dar 6,92 g (93 %) de la N-ciclopropilformamida deseada en
forma de aceite incoloro.

30 RMN (CDCl₃) δ : 8,1 (1H, s ancho), 6,8-8,5 (1H, ancho)
2,4-3,0 (1H, m), 0,4-1,0 (4H, m).

EJEMPLO 26

Preparación de N-ciclopropilformimidato de etilo

Mediante una jeringa se agregan 4,078 g (37,58 milimoles) de cloroformiato de etilo a 3,194 g (37,58 milimoles) de N-ciclopropilformamida en un matraz seco bajo nitrógeno. Después de un periodo de inducción de 30 segundos, comienza un rápido desprendimiento de gas. La mezcla de reacción resultante se agita a 25°C hasta que ya no se detecta más desprendimiento de gases (alrededor de 4 horas) y después el producto viscoso se somete a un vacío de 0,5 mm durante 1 hora para separar cualquier cloroformiato de etilo que no había reaccionado. El análisis RMN del producto muestra el protón formílico a δ 9,37 como singlete ancho (solución en CDCl_3).

EJEMPLO 27

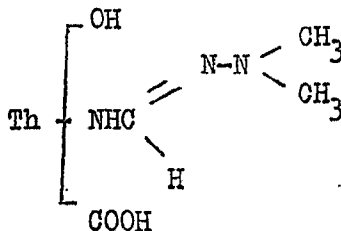
Preparación de N(metiltioetil)formimidato de etilo

En un embudo de separación de 60 ml se introducen 0,97 g (8,8 milimoles) de hidrocioruro de formimidato de etilo, una solución de 0,80 g (8,8 milimoles) de β -metiltioetilamina en 35 ml de cloruro de metileno y 35 ml de agua. La mezcla se sacude fuertemente durante 5 minutos. Se separa la capa de cloruro de metileno, se lava con salmuera, se seca con sulfato magnésico, se filtra y se evapora a presión reducida para dar 0,59 g del imidato crudo en forma de líquido amarillo pálido turbio.

IR: 1660, 1230 cm^{-1} .

EJEMPLO 28

Preparación de N'-dimetilamino-N-formimidoil-tienamicina



Se disuelven 115 mg de tienamicina en 7 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a 8,5 con una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. A esta solución agitada se añaden 284 mg de hidrocloreuro de N-dimetilaminoformimidato de metilo mientras el pH se mantiene a 8,5. Al cabo de 20 minutos, el pH de la solución se ajusta a 7,0 con HCl 2,5 N y la solución se cromatografía sobre resina Dowex 50-X4 (53 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) y se eluye con agua desionizada. La cromatografía se lleva a cabo en una columna con camisa de agua a 3°. El derivado N'-dimetilamino-N-formimidofílico eluye en dos volúmenes de columna y se liofiliza para dar 40 mg de un sólido blanco.

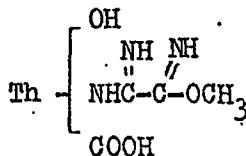
UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{max} : 298 mm (ϵ 6.910).

IR (suspensión de Nujol): 1760 cm⁻¹ (β -lactama).

RMN (D₂O) δ : 1,29 (d, J = 6 Hz, CH₃-CH), 2,59 (s, N(CH₃)₂), 7,76 (s, NCH).

EJEMPLO 29

Preparación de metil-oxalimidoil-tienamicina



Se disuelven 105 mg de tienamicina en 5 ml de tampón

1 de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a
8,5 empleando una bureta automática que dispensa NaOH 1 N.
A esta solución se añaden 200 microlitros de oxalimidato de
metilo mientras se mantiene el pH a 8,5. Al cabo de 30 minu-
5 tos se ajusta el pH a 7,0 empleando HCl 2,5 N y la solución
se cromatografía sobre resina Dowex 50-X4 (53 cc, ciclo Na⁺,
200-400 mallas) eluída con agua desionizada. La cromatogra-
fía se realiza en una columna con una camisa de agua a 3°. El
derivado metil-oxalimidofílico eluye en dos volúmenes de
10 columna y se liofiliza para dar 44 mg de un sólido blanco.

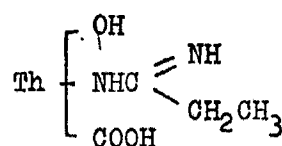
UV. (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm
(ϵ 6.230).

IR (suspensión de Nujol): 1760 cm⁻¹ (β -lactama).

15 RMN (D₂O): δ 1,27 (d, J = 6 Hz, $\underline{\text{CH}}_3\text{-CH}$), 3,87 (s,
-OCH₃).

EJEMPLO 30

Preparación de N-propionimidoil-tienamicina



Se disuelven 114 mg de tienamicina en 10 ml de tampón
de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a
8,5 con una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. Se añaden
poco a poco 231 mg de hidrocloreuro de propionimidato de etil-
25 lo sólido pero con toda la rapidez compatible con el manteni-
miento de un pH próximo a 8,5. Al cabo de 30 minutos, se ajus-
ta el pH a 7,0 empleando HCl 2,5 N y la solución se cromato-
grafía sobre resina Dowex 50-X4 (72 cc, ciclo Na⁺, 200-400
mallas) eluída con agua desionizada. El derivado N-propioni-
30 midofílico eluye en 2 volúmenes de columna y se liofiliza para

1 dar 76 mg de un sólido blanco.

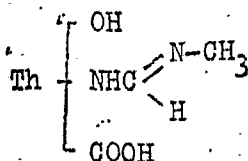
UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm
(ϵ 7.830).

5 RMN (D_2O): δ 1,28 (d, J = 6 Hz, $\underline{CH_3}CH(OH)$), 1,23
(t, J = 8 Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$), 2,50 (q, J = 8 Hz, $\underline{CH_2}CH_3$).

EJEMPLO 31

Preparación de N'-metil-N-formimidoil-tienamicina

10



15

Se disuelven 140 mg de tienamicina en 10 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a 8,5 con una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. A esta solución se añaden 200 microlitros de hidrocloreuro de N-metilformimidato de metilo mientras se mantiene el pH a 8,5. Al cabo de 40 minutos se ajusta el pH a 7,0 empleando HCl 2,5 N y la solución se cromatografía sobre resina Dowex 50-X4 (72 cc, ciclo Na^+ , 200-400 mallas) eluida con agua desionizada. El derivado N'-metil-N-formimidoílico eluye en 2 volúmenes de columna y se liofiliza hasta dar 43 mg de un sólido blanco.

20

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm
(ϵ 7.250).

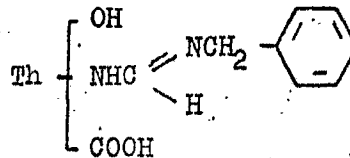
25

IR (suspensión de Nujol): 1765 cm^{-1} (β -lactama).
RMN (D_2O) δ : 1,29 (d, J = 6 Hz, $\underline{CH_3}-CH$), 2,92 (s, N- CH_3), 7,80 (s, N-CH).

30

EJEMPLO 32

Preparación de N'-bencil-N-formimidoil-tienamicina



Se disuelven 110 mg de tienamicina en 7 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a 8,5 empleando una bureta automática que dispensa NaOH 1 N. Se añade una solución de 572 mg de fluoborato de N-bencil-formimidato de etilo en 2 ml de p-dioxano a la solución tamponada mientras se mantiene el pH a 8,5. Al cabo de 20 minutos, se ajusta el pH de la solución a 7,0 con HCl 2,5 N y se cromatografía sobre resina Dowex 50-X4 (53 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) eluida con agua desionizada. La cromatografía se realiza en una columna con una camisa de agua a 3°. El derivado N'-bencil-N-formimidoílico eluye en 2 volúmenes de columna y se liofiliza para dar 5 mg de un sólido blanco.

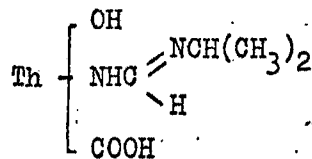
UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{max} : 295 nm (ϵ 3.980).

IR (suspensión de Nujol): 1765 cm⁻¹ (β -lactama).

RMN (D₂O) δ : 1,29 (d, J = 6 Hz, CH_3CH), 4,44 (s, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 7,37 (s, arilo), 8,14 (s, NCH).

EJEMPLO 33

Preparación de N'-isopropil-N-formimidoil-tienamicina



Se disuelven 110 mg de tienamicina en 7 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7 y el pH de la solución se ajusta a

1 8,5 empleando una bureta automática que dispensa NaOH 1 N.
 Se añade una solución de 300 mg de hidrocloreuro de N-isopro-
 5 pilformimidato de metilo en 1 ml de p-dioxano a la solución
 tamponada y magnéticamente agitada mientras el pH se mantie-
 ne a 8,5. Al cabo de 25 minutos, se ajusta el pH de la solu-
 ción a 7,0 empleando ClH. 2,5 N y se cromatografía sobre
 resina Dowex 50-X4 (53 cc, ciclo Na⁺, 200-400 mallas) alufi-
 10 da con agua desionizada. La cromatografía se realiza en una
 columna con una camisa de agua a 3°C. El derivado N'-isopro-
 pil-N-formimidóilico eluye en dos volúmenes de columna y se
 liofiliza para dar 12 mg de un sólido blanco.

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{max} : 299 nm
 (e 8.130).

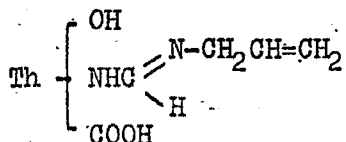
IR (suspensión de Nujol): 1760 cm⁻¹ (β -lactama).

15 RMN (D₂O) δ : 1,26 (d, J = 6 Hz, CH₃CH(OH)), 1,29
 (d, J = 6 Hz, CH(CH₃)₃), 7,89 (s, NHCH), 7,96 (s, NHCH).

EJEMPLO 34

Preparación de N-(N'-alil-formimidóil) tienamicina

20



25

A una muestra previamente enfriada de 123 mg (0,452 mi-
 limoles) de tienamicina se añaden 13 ml de tampón de fosfato
 0,1 N frío. La solución se ajusta a pH 9 con hidróxido sódico
 1N. A esta solución básica a 2°C se añaden de una sola vez
 0,3 g de hidrocloreuro de N-alil-formimidato de etilo. El pH
 30 desciende a 7,3 y se lleva de nuevo a 8,5 con hidróxido sódico
 adicional. La mezcla de reacción se agita a 2°C durante
 30 minutos más y el pH se ajusta a 7 con ácido sulfúrico
 0,1 N frío. La mezcla de reacción se analiza utilizando cro-

1 matografía de líquido a alta presión sobre una columna
C₁₈-Porosil desarrollada con tetrahidrofurano acuoso al 10 %
y se encuentra que presenta solamente cantidades traza de
5 tienamicina (tiempo de retención, 5 minutos) y producto esen-
cialmente puro (tiempo de retención, 10,5 minutos). La mez-
cla de reacción se cromatografía en una columna de Dowex-50x4
(60 ml, ciclo Na, 200-400 mallas) eluyendo con agua a un ca-
dal de 0,5 ml/min/cm² de lecho de resina. Después de despre-
10 ciar los primeros 400 ml de eluato, se liofilizan los 150ml
siguientes para dar el producto. Rendimiento: 96 mg (63 %).

UV λ_{max} : 301 nm, 24,6 ODU/mg (NH₂OH extinguida), pu-
reza 90 %.

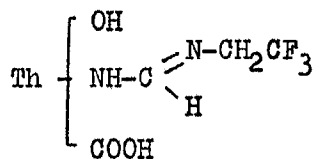
IR (suspensión de Nujol) presenta bandas de C=O a
5,67 u y 5,90 u.

15 RMN (100 MHz, D₂O muestra una mezcla 1:1 de sin- y
anti-N(N'-alilformimidoil)tienamicina.

EJEMPLO 35

Preparación de N-(N'-trifluoretil-formimidoil)-tienamicina

20



25

30

A una muestra previamente enfriada de 123 mg (0,452 mi-
limoles) de tienamicina se añaden 15 ml de tampón de fosfa-
to 0,1 N frío. La solución se ajusta a pH 9 con hidróxido só-
dico 1 N. A esta solución básica a 0-2°C se añaden 0,3 ml de
N-trifluoretil-formimidato de etilo en 2 ml de dioxano, pau-
latinamente a lo largo de 30 minutos. El pH de la mezcla de
reacción se mantiene a 8,5-9 durante la adición. La mezcla
de reacción se agita durante algunos minutos. Una vez comple-
tada la adición de imidato y ajustado el pH a 7 con H₂SO₄

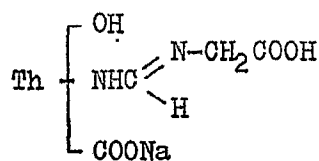
1 0,1 N frío, la CLAP, fase invertida de C₁₈-Porosil, utilizando
do tetrahidrofurano acuoso al 10 %, presenta un nuevo pico
a 12,2 min que según demuestra el análisis es el producto de
seado. La mezcla se cromatografía en una columna de
5 Dowex 50x4 (60 ml, 200-400 mallas). La columna se eluye con
agua a un caudal de 0,5 ml/min/cm² de lecho de resina. Se
descarta el primer frente y se combinan las fracciones que
contienen el producto que se liofilizan para dar 10,2 mg de
un sólido higroscópico; λ_{\max} 302 nm.

10

EJEMPLO 36

Preparación de sal sódica de N-(N'-carboximetil-formimidoil)-

tienamicina



15

Se disuelven 130 mg de tienamicina en 4 ml de tampón
de fosfato 0,1 N a pH 7 y se añaden de una sola vez 500 mg
de N-carboximetilformimidato de etilo sódico sólido. El pH
de la solución se ajusta a 8,5 empleando una bureta automá-
tica que dispensa NaOH 1 N. Al cabo de 25 minutos a pH 8,5,
20 la solución se ajusta a pH 7,0 con HCl 2,5 N. Después la so-
lución se cromatografía en una columna provista de camisa de
agua de hielo de resina Dowex 50-X4 (51 cc, ciclo Na⁺, 200-
400 mallas), eluida con agua desionizada. El eluato del pri-
25 mer volumen de columna se combina y concentra hasta 7 ml.
Esta solución se cromatografía después en una columna con
camisa de agua de hielo de resina XAD-2 (53 cc) eluida con
agua desionizada. Se recogen los volúmenes de columna segun-
do a cuarto y se combinan y liofilizan para dar 25 mg de
30 N-(N'-carboximetilformimidoil)tienamicina sódica.

20

25

30

1 UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 300 nm
(ϵ 6.390).

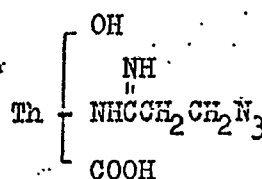
IR (suspensión de Nujol): 1755 cm^{-1} (β -lactama).

RMN (D_2O) δ : 1,29 (d, J = 6 Hz, CH_3CH), 7,85 (s, NCH).

5

EJEMPLO 37

Preparación de N-(3-azidopropionimidóil) tienamicina

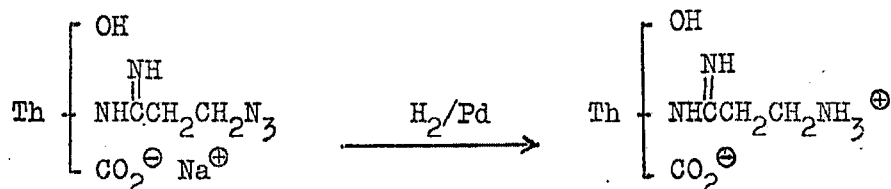


15 A una solución de 133 mg de tienamicina en 10 ml de tampón de fosfato 0,1 M a pH 7,0 se añaden 1,2 g de hidroclo-
ruro de 3-azidopropionimidato de O-etilo mientras la solu-
ción se mantiene a pH 8,5 con NaOH 2,5 N. La mezcla se agita
a 0°C durante media hora, después se neutraliza con HCl 2,5 N
20 hasta pH 7,0, se concentra hasta 5 ml y se cromatografía en
una columna de Dowex 50 W x 8 (forma Na). (1,5" x 12", 38 x
305 mm) que se eluye con agua para dar 30 mg del producto de-
seado. El producto presenta una banda a 300 nm en el espectro
ultravioleta, $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$; un tiempo de retención en cromatogra-
fía de líquidos a alta presión (CLAP) de 10 minutos en compa-
ración con un tiempo de 4,8 minutos para el material de par-
tida bajo las mismas condiciones (columna de fase invertida
25 Bondapak C_{18} , 1/8" x 2', 3,2 mm x 61 cm., eluida con tetra-
hidrofurano al 10 % en agua a un caudal de 1,5 ml/minuto); mo-
bilidad electroforética: 5 mm hacia el cátodo a 50V/cm duran-
te 20 minutos en tampón de fosfato 0,05 M a pH 7,0.

30

EJEMPLO 38

Preparación de N-(3-aminopropionimidoil)tienamicina



10
15
20

Se hidrogenan 43 mg de N-(3-azidopropionimidoil)tienamicina (I) en 40 ml de agua bajo una atmósfera de hidrógeno, en presencia de 0,1 g de catalizador de paladio (10% de paladio en carbon vegetal) durante 30 minutos. La electroforesis de la mezcla resultante muestra un nuevo producto bioactivo que se mueve 30 mm hacia el cátodo (50 V/cm durante 20 minutos en tampón de fosfato 0,05 M a pH 7,0) además del material de partida (I) que se mueve 5 mm hacia el cátodo. La movilidad electroforética del producto concuerda con la del producto esperado (II). La mezcla de reacción resultante de la reacción de hidrogenación se neutraliza con 2,5 NHCl y se filtra del catalizador. El filtrado se concentra a 10 ml y se cromatografía en resina XAD-2 (columna de 2,3x16 cm). Se eluye la columna con agua para proporcionar el producto esperado (II) en forma del hidrocioruro tras la liofilización - (23 mg, N-(3-aminopropionimidoil)hidrocioruro de tienamicina) UV máxima absorción en agua igual a 301 nm (absorción igual a 7080)

25

IR (suspensión de Nujol) : 1765 cm⁻¹

RMN 60 MHz, (D₂O) δ 1,30 ppm, (doblete, 3) δ 2,60 - 3,72 ppm (multiplete, 11) y δ 4,18 ppm (multiplete, 2)

EJEMPLO 39

Preparación de N-nitroguanil-tienamicina

30

Se disuelven 131 mg de tienamicina en una solución de 10 ml de dimetilsulfóxido, 0,30 ml de tri-n-butilamina y 0,3

1 g de 2-metil-1-nitro-2-tiopseudourea. La solución se ca-
lienta en un baño de agua a 45°C mientras se hace borbotear
a través de la misma una intensa corriente de nitrógeno. Al
cabo de 50 minutos, la solución se concentra a alto vacío
5 hasta 1,0 ml y se disuelve en 7 ml de tampón de fosfato 0,05
N a pH 7. La tiopseudourea que no ha reaccionado se precipi-
ta y separa por filtración. La solución se cromatografía des-
pués sobre resina Dowex 50-X4 (53 cc, 200-400 mallas, ciclo
Na⁺) y se eluye con agua. El derivado N-nitroguanílico cluye
10 en el primer volumen de columna y se liofiliza para dar un -
sólido (23 %).

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 269 nm (E11.000)

Electroforesis (40 V/cm, tampón de fosfato 0,1 N a
pH 7, 20 minutos): 3,0 cm hacia el cátodo.

15

EJEMPLO 40

Preparación de N-isovutirimidoil-tienamicina

20

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 pero susti-
tuyendo el hidrocloreuro de acetimidato de etilo por hidro-
cloruro de isobutirimidato y permitiendo que la reacción trans-
curra a 20°C y pH 8,2, se obtiene la N-isobutirimidoil-tie-
namicina (14 %).

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm (E8.290)

RMN (D₂O) δ : 1,27 (d, J = 7 Hz, CH(CH₃)₂); 1,29
(d, J = 6 Hz, CH₂CH(OH)), 2,79 heptete, J = 7 Hz, CH(CH₃)₂).

25

EJEMPLO 41

Preparación de N'-metil-N-acetimidóil-tienamicina

30

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 pero susti-
tuyendo el hidrocloreuro de acetimidato de etilo por N-metil-
acetimidato de metilo, se obtiene la N-metil-N'-acetimidóil-
tienamicina (10%).

1 UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm (ϵ 6.700).
IR (suspensión de Nujol): 1750 cm^{-1} (β -lactama),
1660 cm^{-1} (>C=NCH_3).
5 RMN (D_2O) δ : 1,27 (d, J = 6 Hz, $\text{CH}_2\text{CH(OH)}$), 2,22 y
2,25 (s, $\text{N}-\underset{\text{N}}{\text{C}}\text{CH}_3$), 2,97 (s, NCH_3).

EJEMPLO 42

Preparación de N'-metil-N-formimidoil-tienamicina

10 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 pero sustituyendo el hidrocloreuro de acetimidato de etilo por hidrocloreuro de N-metil-formimidato de etilo, se obtiene la N'-metil-N-formimidoil-tienamicina (10%).

UV (tampón de fosfato 0,1 N a pH 7) λ_{\max} : 298 nm
15 RMN (D_2O) δ : 1,30 (d, J = 6 Hz, $\text{CH}_2\text{CH(OH)}$), 2,92 (s, N-CH_3), 7,78 (s, $-\underset{\text{H}}{\text{C}}\text{H}$).

EJEMPLO 43

20 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 pero sustituyendo el reactivo por una cantidad equivalente de metoxiacetimidato de metilo, se obtiene la N-(metoxiacetimidatoil)tienamicina (34 %).

25 UV $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$: 198, 301 nm (ϵ 16.180, 8.700).
IR (suspensión de Nujol): 1760 cm^{-1} (β -lactama).
RMN (60 MHz, D_2O) δ : 1,28, 3H, (d, J = 6 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH(OH)}$), 3,50, 3H, (s, $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2$) 4,35, 2H, (s, $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2$).
CLAP: 1,50 x tiempo de retención de la tienamicina.

EJEMPLO 44

Preparación de N-metoxiformimidato de etilo

30 Se disuelve una mezcla de 0,020 moles (1,6700 g) de hidrocloreuro de metoxiamina y 0,010 moles (1,3821 g) de carbonato potásico anhidro en 7,0 ml de agua. Se añaden 80 ml de éter y la mezcla de reacción se trata con 0,02 moles (2,1900 g) de hidrocloreuro de formimidato de etilo. La mez-

1 cla se sacude durante 15 minutos. Se separa la capa etérea
y la capa acuosa se extrae dos veces con 30 ml cada vez de
éter. La solución etérea combinada y seca se evapora para
dar 0,8433 g de N-metoxiformimidato de etilo.

5 RMN δ : 1,36 (triplete),
 δ 3,83 (singlete),
 δ 4,13 (cuartete),
 δ 6,56 (singlete).

EJEMPLO 45

N-(2,2,2-trifluoretil)formimidato de etilo

10 Se suspenden 0,555 g (5 milimoles) de hidrocioruro de
formimidato de etilo, 0,677 g (5 milimoles) de hidrocioruro
de 2,2,2-trifluoretilamina y 0,345 g (2,5 milimoles) de car-
bonato potásico en 20 ml de CH_2Cl_2 y se tratan con 2 ml de
15 agua. La mezcla se sacude fuertemente durante 3 minutos. Se
separa la fase orgánica y la fase acuosa se extrae dos veces
con 10 ml cada vez de cloruro de metileno. Se seca la fase
orgánica combinada y el cloruro de metileno se destila en una
columna Vigreux para dar el N-(2,2,2-trifluoretil)formimi-
dato de etilo.

20 RMN δ : 1,33 t (CH_3CH_2), 3,8 q ($j = 10$ cps, CF_3CH_2),
4,23 q ($j = 7,5$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 7,6 s (H-C=N).

EJEMPLO 46

Preparación de N-etoxicarboniletil-formimidato de etilo

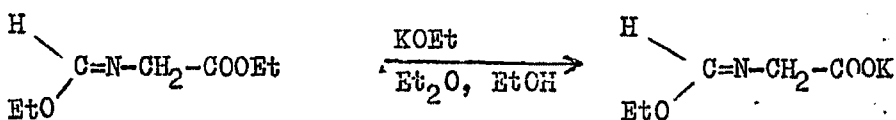
25 Se suspenden 0,55 g (5 milimoles) de hidrocioruro de
formimidato de etilo, 0,697 g (5 milimoles) de hidrocioruro
de glicinato de etilo y 0,345 g (2,5 milimoles) de carbonato
potásico en 20 ml de cloruro de metileno y se tratan con
2 ml de agua. La mezcla se sacude fuertemente durante 4 minu-
30 tos. Se separa la fase orgánica, la fase acuosa se extrae

1 dos veces con 10 ml cada vez de cloruro de metileno y las
fases orgánicas combinadas se secan y evaporan para dar N-
etoxicarbonilmetil-formimidato de etilo.

5 RMN δ : 1,26 t ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 4,06 s ($\text{N-CH}_2\text{-O}$), 4,23 g
($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O}$), 7,5 s (N=CH).

EJEMPLO 47

Preparación de N-etoxicarbonilmetil-formimidato potásico



15 Se disuelven 0,18 g de potasio en una mezcla de 0,6 g
de etanol y 4 ml de éter dietílico bajo nitrógeno. La solu-
ción se diluye con 50 ml de éter dietílico y se añaden
0,79 g de N-etoxicarbonilmetil-formimidato de etilo en 2 ml
de éter dietílico, seguido de 0,1 ml de agua. Tiene lugar
una cristalización rápida de la sal. Se filtra el sólido, se
lava con éter y se seca a vacío para dar N-etoxicarbonilmetil-
formimidato potásico.

20 RMN (D_2O) δ : 1,13 t (CH_3CH_2), 3,63 g ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{O}$), 3,8
s ($\text{N-CH}_2\text{-C}$), 8,06 s (N=CH).

EJEMPLO 48

Preparación de N-bencilformimidato de etilo

25 Una solución de 690 mg (5,1 milimoles) de N-bencilfor-
mida en 5 ml de cloruro de metileno se enfría en un baño de
agua de hielo y se coloca bajo una capa de argón. La solución se
agita mientras se añaden gota a gota 4,9 ml (4,9 milimoles)
de fluoborato de trietiloxonio 1 M en cloruro de metileno.
Después de un tiempo de reacción de 45 minutos, la mezcla se
concentra a sequedad bajo presión reducida a la temperatura
ambiente y el residuo se seca a presión reducida sobre P_2O_5 .
30 El espectro de resonancia magnética nuclear del producto en

1 deuterocloroformo está totalmente de acuerdo con que el pro-
ducto sea un complejo de fluoborato-eterato de N-bencilfor-
mimidato de etilo.

EJEMPLO 49

Preparación de N-isopropilformamida

5 Se disuelven 1,13 g (0,98 ml) de formamida en 10 ml
de tolueno conteniendo 4,7 g de ácido toluensulfónico. A la
mezcla anterior se añaden 2,95 g (4,25 ml) de isopropilami-
na. La mezcla se calienta a reflujo durante la noche bajo
10 una suave corriente de nitrógeno. Se filtra la solución y
se evapora el tolueno a presión reducida. Se destila el acei-
te residual a 59-62°C/0,07 mm para dar 1,0 g del producto
deseado.

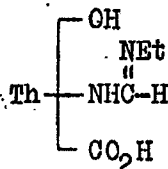
EJEMPLO 50

Preparación de N-isopropil-formimidato de metilo

15 Se tratan 535 mg de isopropilformamida con una canti-
dad equivalente de cloroformiato de etilo (440 microlitros)
durante 2-3 horas, bajo nitrógeno, a 40-45°C. La mezcla se
lava sucesivamente con éter de petróleo, éter anhidro y
20 benceno, dando un producto en forma de aceite.

EJEMPLO 51

Preparación de N-(N'-etilformimidatoil)tienamicina



Una mezcla de 100 mg de tienamicina en 10 ml de tampón
de fosfato 0,1 M a pH 7,0 se ajusta y se mantiene a pH 8,5-
9,0 con hidróxido sódico 2,5 N. A la solución se añaden
300 mg de hidrocloreuro de N-etilformimidato de etilo. La
30 mezcla se agita a 23°C durante 20 minutos, después se neutra-

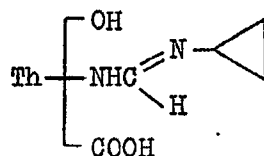
1 liza a pH 7,0 con HCl 2,5 N y se cromatografía en una columna
cambiadora de ión Dowex-50-X8 (forma Na⁺) (1,5 x 10",
38 x 254 mm). La columna se eluye con agua tomando fracciones
de 6,7 ml. Se combinan las fracciones 40-90, se concentran
5 y liofilizan para dar 15 mg del producto sólido. Por electro-
foresis del producto a 50 V/CM durante 20 minutos en tampón
de fosfato 0,1 M a pH 7,0 aparece una sola zona bioactiva
que se mueve 2 mm hacia el cátodo.

UV λ $\begin{matrix} \text{H}_2\text{O} \\ \text{max} \end{matrix}$: 301 nm;

10 RMN (100 MHz, D₂O): 7,77 (s, y 7,82 (s) (CH de formi-
midoilo).

EJEMPLO 52

Preparación de N-(N'-ciclopropilformimidoil)tienamicina



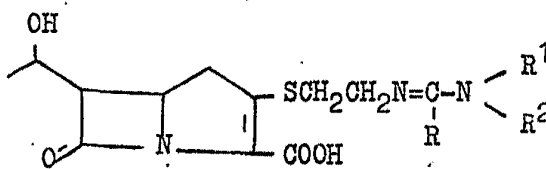
20 Una mezcla de 100 mg de tienamicina en 10 ml de tam-
pón de fosfato 0,1 M a pH 7,0 se ajusta y se mantiene a pH
8,5-9,0 mientras se añaden gota a gota a la solución 300 mg
de hidrocloreuro de N-ciclopropilformimidato de etilo. La mez-
cla se agita a 23° durante 40 minutos, después se neutraliza
y se cromatografía sobre una columna cambiadora de ión de
Dowex 50-X8 (forma Na⁺) (1,5" x 10", 38 x 254 mm). La co-
25 lumna se eluye con agua, recogién dose fracciones de 6,5 ml.
Se combinan las fracciones 43-95, se concentran y se liofi-
lizan para dar 54 mg del producto sólido. La electroforesis
del producto muestra una sola zona bioactiva que se mueve
100 mm hacia el cátodo. (50 V/cm, 1 hora en tampón de fosfato
0,05 M a pH 7,0).

30 UV λ $\begin{matrix} \text{H}_2\text{O} \\ \text{max} \end{matrix}$: 301 nm.



RMN (100 MHz, D₂O): 0,60-1,30 ppm (m, ciclopropilo) y 7,80 ppm (CH de formimidoilo).



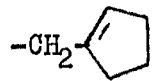
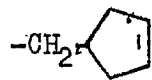
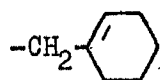
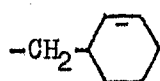
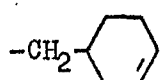
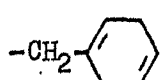
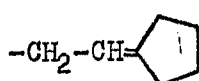



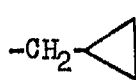
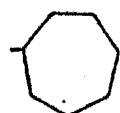
EJEMPLO 53






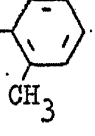
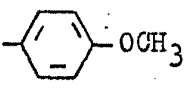
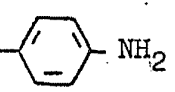
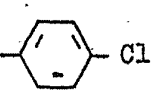




Siguiendo el procedimiento indicado en el texto y en los ejemplos anteriores, se obtienen los siguientes compuestos de esta invención. Los reactivos, imidoéteres e imido-haluros, utilizados en la reacción con tienamicina o con uno de sus derivados para formar los siguientes compuestos o bien son conocidos o pueden ser preparados como se ha descrito antes.

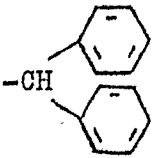


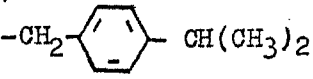
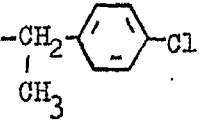



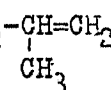







Compuesto	R	R ¹	R ²
1	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H
2	H	-CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₃	H
3	H	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H
4	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H
5	H	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₃	H
6	H	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H
7	H	-CH(CH ₃)-CH(CH ₃)-CH ₃	H
8	H	-C(CH ₃)(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	H
9	H	-CH ₂ C(CH ₃) ₃	H

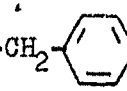


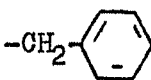
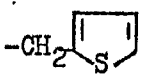
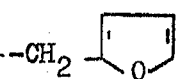
1	Compues to	R	R ¹	R ²
	10	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CHCH ₃	H
	11	H	-CH-CH ₂ CH(CH ₃) ₂ CH ₃	H
5	12	H	-CH ₂ -C=CH ₂ CH ₃	H
	13	H	-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	H
	14	H	-CH-CH=CH ₂ CH ₃	H
10	15	H	-CH ₂ CH ₂ CH=CH ₂	H
	16	H	-CH ₂ CH ₂ CH=CH-CH ₃	H
	17	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂ CH ₃	H
	18	H	-CH ₂ -CH-CH=CH ₂ CH ₃	H
15	19	H	-CH - C = CH ₂ CH ₃ CH ₃	H
	20	H	-CH-CH=CH ₂ C ₂ H ₅	H
	21	H	-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ CH ₂ CH ₃	H
20	22	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ CH ₃	H
	23	H	-CH-CH=CH-CH ₂ CH ₃ CH ₃	H
	24	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂ -CH ₃ CH ₃	H
25	25	H	-CHCH ₂ -CH ₂ CH ₂ =CH ₂ CH ₃	H
	26	H		H
	27	H		H
30				

1	Compues to	R	R ¹	R ²
	28	H		H
5	29	H		H
	30	H		H
	31	H		H
10	32	H		H
	33	H		H
15	34	H		H
	35	H		H
	36	H		H
20	37	H		H
	38	H		H
25	39	H		H
	40	H		H
30	41	H		H

1	Compues to	R	R ¹	R ²
	42	H	-CH ₂ - 	H
5	43	H	-CH ₂ - 	H
	44	H	-CH ₂ CH ₂ - 	H
	45	H	1-adamantilo	
10	46	H	-CH ₂ - 	H
	47	H		H
	48	H		H
15	49	H		H
	50	H		H
20	51	H		H
	52	H	-CH ₂ CH ₂ N 	H
25	53	H	-CH ₂ CH ₂ - 	H
	54	H	-CH  CH ₃	H
30	55	H	-CH ₂ CH=CH- 	H

1	Compues to	R	R ¹	R ²
5	56	H		H
10	57	H		H
10	58	H		H
15	59	H		H
15	60	H		H
20	61	H	-C ₂ H ₅	-C ₂ H ₅
20	62	H	-CH(CH ₃) ₂	-CH(CH ₃) ₂
20	63	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₃
20	64	H	-CH ₃	-C ₂ H ₅
20	65	H	-CH ₃	-CH(CH ₃) ₂
20	66	H	-CH ₃	-CH ₂ CH=CH ₂
20	67	H	-CH ₂ CH=CH ₂	-CH ₂ CH=CH ₂
20	68	H	-C(CH ₃) ₃	-CH ₃
25	69	H	-CH ₃	-CH-C ₂ H ₅ CH ₃
25	70	H	-C ₂ H ₅	-CH(CH ₃) ₂
25	71	H	-CH ₃	-CHCH=CH ₂ CH ₃
25	72	H	-CH ₃	-CH ₂ -CH(CH ₃) ₂
30	73	H	-CH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₃

	Compues to	R	R ¹	R ²
1				
	74	H	-CH ₃	-CH ₂ ∅
	75	H	-CH ₃	-∅
5	76	H	-CH ₃ -	-CH ₂ - 
	77	H	-CH ₃ -	-CH ₂ - 
	78	H	-CH ₃	
10	79	H	-CH ₃	-CH ₂ - 
	80	H	-CH ₃	
15	81	-CH ₃	-C ₂ H ₅	H
	82	-CH ₃	-CH ₂ CH=CH ₂	H
	83	-CH ₃	-CH(CH ₃) ₂	H
	84	CH=CH ₂	-CH ₃	H
	85	-CH=CH ₂	-C ₂ H ₅	H
20	86	-CH=CH ₂	-CH(CH ₃) ₂	H
	87	-CH ₃	-C(CH ₃) ₃	H
	88	-CH ₃	-CH ₂ - 	H
25	89	-CH ₃		H
	90	-CH ₃		H
	91	-CH ₃	-CH ₂ ∅	H
30	92	-CH ₃	-CH ₂ - 	H

1	Compues to	R	R ¹	R ²
	93	-CH ₃	-CHCH=CH ₂ CH ₃	H
5	94	-CH ₃	-CH ₂ -C=CH ₂ CH ₃	H
	95	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₂ CH ₃ CH ₃	H
	96	-CH=CH ₂	H	H
10	97	-CH ₃	-CH ₂ - 	H
	98	-CH ₃	-∅	H
	99	-CH ₃		H
15	100	-CH ₃	-CH ₂ - 	H
	101	CH ₃	CH ₃	CH ₃
	102	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
	103	CH ₃	CH ₃	-CH(CH ₃) ₂
20	104	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH=CH ₂
	105	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	106	CH ₃	CH ₃	-CH-CH=CH ₂ CH ₃
25	107	CH ₃	CH ₃	-CH ₂ - 
	108	CH ₃	-CH ₂ CH=CH ₃	-CH ₂ - 
30	109	CH ₃	C ₂ H ₅	-CH ₂ - 

1

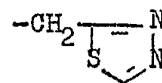
Compues
to

R

R¹

R²

110



5

111



112



10

113



114

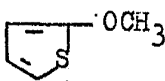


115



15

116



117



20

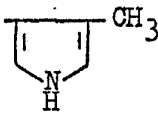
118



119



120



25

121

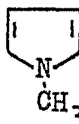


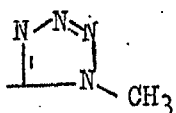





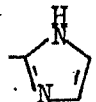

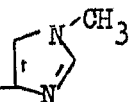
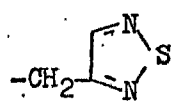
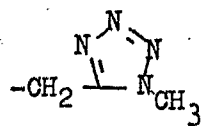

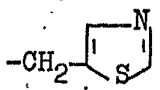
122

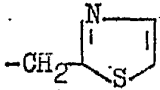
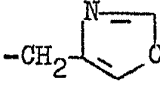
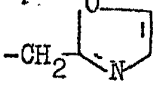
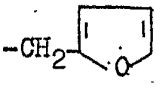
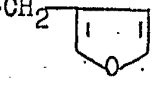
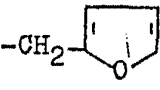
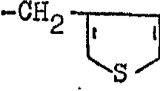
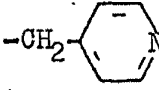
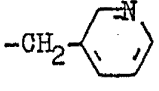
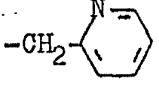
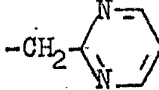



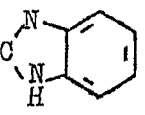
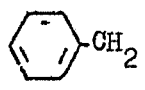
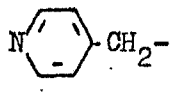
30

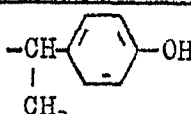
123



	Compues to	R	R ¹	R ²
1				
	124		H	H
5	125	H		H
	126	H		H
10	127	H		H
	128	H		H
	129		H	H
15	130	H		H
	131	H		H
20	132		H	H
	133	H		H
25	134	H		H
	135	H		H
30	136	H		H

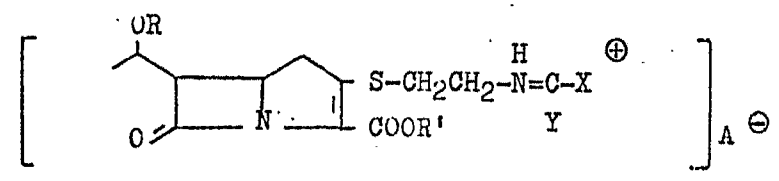
	Compounds	R	R ¹	R ²
1	137	H		H
5	138	H		H
10	139	H		H
	140	H		H
15	141	H		H
	142	H		H
20	143	H		H
	144	H		H
25	145	H		H
	146	H		H
30	147	H		H

1	Compues to	R	R ¹	R ²
	148	H	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 	H
5	149	H	$-\text{CH}_2-\text{C}$ 	H
	150		H	H
10	151		H	H
	152	H	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$	H
15	153	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$	H
	154	CH_3	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$	H
	155	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$	H
	156	H	$-\text{CH}_2\overset{\text{OCH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_3$	H
20	157	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{N}$	H
	158	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-(\text{OCH}_3)_2$	H
	159	H	$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\emptyset$	H
25	160	H	$-\overset{\text{CH}_2\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2\text{CH}_3$	H
	161	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$	H
	162	H	$-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$	H
	163	H	$-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	H
30	164	H	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{SH}$	H

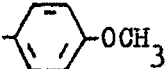
	Compues to	R	R ¹	R ²
1		H		H
		H	-CH ₂ CH ₂ -N(CH ₃) ₂	H
5		H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -Br	H
		H	-CH ₂ CH ₂ CH-N(CH ₃) ₂	H
		H	-CH ₂ CH ₂ -N(CH ₃) ₃	H
		NH ₂	CH ₃	H
10		NH ₂	CH ₃	CH ₃
		NHCH ₃	CH ₃	CH ₃
		N(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃
		NH ₂	C ₂ H ₅	H
		NH ₂	-CH(CH ₃) ₂	H
15		NH ₂	-CHCH=CH ₂	H
		NHCH ₃	-CH(CH ₃) ₂	H
		NHCH ₃	CH ₃	H
		NH ₂	N(CH ₃) ₂	H
		NH ₂	NHNH ₂	H
20		OCH ₃	H	H
		OCH ₃	CH ₃	H
		OCH ₃	CH ₃	CH ₃
		OCH ₃	C ₂ H ₅	H
		OCH ₃	CH(CH ₃) ₂	H
25		OCH ₃	H	H
		SCH ₃	CH ₃	H
		SCH ₃	CH ₃	CH ₃
		SCH ₃	CH(CH ₃) ₂	H
		S-CH ₂ -CH=CH ₂	CH ₃	H
30		S-CH ₂ -∅	CH ₃	H

	Compués to	R	R ¹	R ²
1	192	-SCH ₂ CH=CH ₂	H	H
	193	SCH ₂ Ø	H	H
5	194	H	-OH	H
	195	H	-OCH ₃	H
	196	CH ₃	-OH	H
	197	H	-C≡N	H
	198	H	-NHCH ₃	H
	199	H	NH ₂	H
10	200	CH ₃	CH ₃	NH ₂
	201	H	CH ₃	N(CH ₃) ₂
	202	CH ₂ Br	H	H
	203	-CH ₂ N(CH ₃) ₂	H	H
15	204	-CH ₂ S-CH ₃	H	H
	205	$\begin{array}{c} \text{-C-NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	H	H
	206	-CH ₂ N(CH ₃) ₃	H	H
	207	-C(CH ₃) ₃	H	-C(CH ₃) ₃
20	208	$\begin{array}{c} \text{-CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
	209	$\begin{array}{c} \text{-CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{-CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{-CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
	210	-C(CH ₃) ₃	-C(CH ₃) ₃	-C(CH ₃) ₃

25



30

1	Compues to	R	R ¹	X	Y	A
	211	H	-CH ₂ CH=C(CH ₃) ₂	NH ₂	H	Cl
	212	H	-CH ₂ -  -OCH ₃	NH ₂	H	Cl
5	213	H	-CH ₂ -O-C(=O)-C(CH ₃) ₃	NHCH ₃	H	HSO ₄
	214	H	-CH ₂ -O-C(=O)-C(CH ₃) ₃	NH ₂	CH ₃	CH ₃ COO
	215	H	-CH ₂ CH ₂ -CH=CH ₂	NHCH(CH ₃) ₂	H	Cl
10	216	H	-CH ₂ CH ₂ -S-CH ₃	NHCH ₃	CH ₃	H ₂ PO ₄
	217	H	-CH ₂ -O-C(=O)-CH ₃	NHCH ₃	CH ₃	Cl
	218	H	-CH ₂ -C(=O)- ϕ	NH ₂	H	Cl
15	219	H	-5-indanilo	N(CH ₃) ₂	H	Cl
	220	H	-ftalidilo	-CH ₂ CH=CH ₂	H	Cl
	221	SO ₃ ⁻	Na	NH ₂	H	-
	222	PO ₄ H ₂	-CH ₂ OC(=O)CH(CH ₃)	NH ₂	CH ₃	-
	223	SO ₃ ⁻	-CH ₂ -CH=C(CH ₃) ₂	NHCH ₃	H	-
20	224	PO ₄ H ₂	Na	NHCH(CH ₃) ₂	H	-

EJEMPLO 54

Preparación de composiciones farmacéuticas

25 Una dosis unitaria consiste en mezclar 120 mg de N-acetimidoil-tienamicina (producto del Ejemplo 12) con 20 mg de lactosa y 5 mg de estearato magnésico e introducir los 145 mg de mezcla en una cápsula de gelatina del n^o 3. Análogamente, empleando más ingrediente activo y menos lactosa, pueden introducirse otras dosis en cápsulas de gelatina del n^o 3 y si

30 fuera necesario mezclar más de 145 mg de ingredientes, pueden

1 prepararse cápsulas mayores tales como comprimidos y píldoras. Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la preparación de formulaciones farmacéuticas:

	<u>Tabletas</u>	<u>Por Tableta</u>
5	N-acetimidóil-tienamicina	125 mg
	Almidón de maíz, U.S.P.	6 mg
	Fosfato dicálcico	192 mg
	Lactosa, U.S.P.	190 mg

10 El ingrediente activo se mezcla con el fosfato dicálcico, la lactosa y alrededor de la mitad del almidón de maíz. Después la mezcla se granula con una pasta de almidón de maíz al 15% (6mg) y se tamiza groseramente. Se seca a 45°C y se tamiza de nuevo a través de tamices del nº 16. Se añaden el resto del almidón de maíz y el estearato magnésico y la mezcla se comprime en tabletas, de 0,5 pulgadas (12,7 mm) de diámetro aproximadamente, cada una de ellas con un peso de 800 mg.

Solución parenteral

Ampollas:

20	N-acetimidóil-tienamicina	500 mg
	Agua estéril	2 ml

Solución oftálmica

	N-acetimidóil-tienamicina	100 mg
	Celulosa de hidroxipropilmetilo	5 mg
25	Agua estéril hasta	1 ml

Solución ótica

	N-acetimidóil-tienamicina	100 mg
	Cloruro de benzalconio	0,1 mg
30	Agua estéril hasta	1 ml

1

Ungüento tópico

N-acetimidoil-tienamicina	100	mg
Polietilenglicol 4000 U.S.P.	400	mg
Polietilenglicol 4000 U.S.P.	1,0	g

5

El ingrediente activo de las formulaciones anteriores puede ser administrado sólo o en combinación con otros ingredientes biológicamente activos como, por ejemplo, con otros agentes antibacterianos como lincomicina, una penicilina, estreptomycin, novobiocina, gentamicina, neomicina, colistina y kanamicina o con otros agentes terapéuticos como probenécid.

10

PREPARACION DE OTROS MATERIALES DE PARTIDA

15

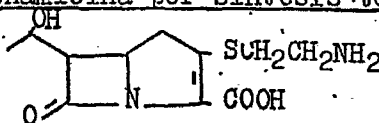
Además de la tienamicina, el experto en la técnica observará que sus diversos isómeros, sólo o en forma de mezclas, pueden servir como materiales de partida en la preparación de los compuestos de esta invención. Algunos de estos isómeros se obtienen a partir de productos naturales de fermentación (véase más adelante). Sin embargo, por síntesis total todos los isómeros se obtienen en forma de mezcla de 4 diastereómeros que poseen actividad antibacteriana y que son susceptibles de resolución por técnicas convencionales. Los cuatro diastereoisómeros (2 cis, 2 trans) pueden separarse por cromatografía. La resolución de cualquier pareja d/l dada con ácidos o bases ópticamente activos se realiza por técnicas convencionales. Debe observarse que la configuración absoluta del material de partida identificado en primer lugar (I) es 5R 6S 8R.

20

25

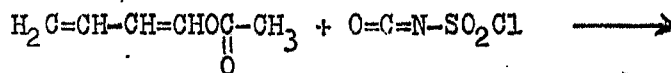
Preparación de tienamicina por síntesis total

30

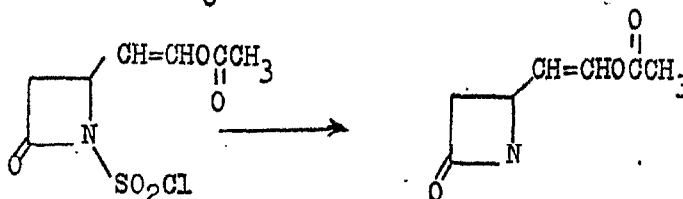


1 Etapa A:

Preparación de 4-(2-acetoxivinil)azetidín-2-ona



5



10

Una solución de 1,0 ml de isocianato de clorosulfoni-
lo destilado (1,65 g, 11,7 milimoles) en 2,5 ml de éter die-
tílico anhidro se enfría bajo nitrógeno en un baño a -20°C .

De forma similar se enfría bajo nitrógeno, en un baño
a -20°C , una solución de 2,5 g (22 milimoles) de 1-acetoxi-
butadieno en 2,5 ml de éter anhidro.

15

La solución de isocianato de clorosulfonilo se agrega
gota a gota a la solución de acetoxibutadieno mediante un
tubo de Teflon sumergido en la solución de CSI y presurizado
con nitrógeno. La adición dura 10 minutos. Se observa poco o
nada de color y la reacción se agita a -20°C durante media
hora. La solución es transparente y presenta un color amari-
llo pálido.

20

Se prepara una solución de 2 g de sulfito sódico y 5 g
de K_2HPO_4 en 20 ml de agua durante el tiempo de reacción de
media hora anterior y se enfría en un baño de hielo; se aña-
den 20 ml de éter y la mezcla se agita fuertemente en un ba-
ño de hielo. Al final del periodo de reacción de 30 minutos,
la mezcla de reacción se transfiere, de nuevo utilizando ni-
trógeno a presión y el tubo de teflon, desde el matraz de
reacción que se mantiene en el baño a -20°C a la mezcla de
hidrólisis fuertemente agitada. La rápida adición gota a

25

30

1 gota se completa en 5 minutos. Se deja que la hidrólisis continúe durante 5 minutos más. La mezcla de hidrólisis tiene un pH de 6-8, preferiblemente 8.

5 Se separan las fases dejando una goma naranja amarillenta con la fase acuosa. La fase etérea se seca directamente con sulfato magnésico. La fase acuosa/gomosa se extrae tres veces más con 50 ml cada vez de éter, agregando cada porción al éter inicial/sulfato magnésico.

10 Los extractos etéreos se filtran y concentran en corriente de nitrógeno hasta 5 ml; una parte del producto es cristalina en este momento.

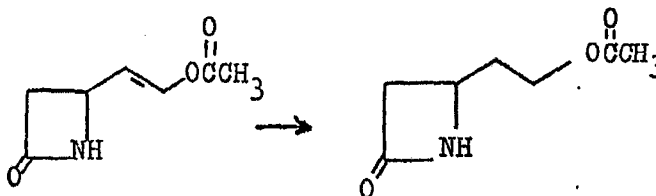
15 Se prepara una columna de 10 g de gel de sílice Baker rellena en éter y el concentrado etéreo se aplica a su parte superior y se hace descender. El matraz y el sólido se enjuagan tres veces con 2ml de éter, pipeteando cada vez y haciendo pasar por la columna. Entonces se inicia la elución con éter. Los 25 ml primeros están constituidos fundamentalmente por volumen vacío. Se recogen las siguientes cinco fracciones de 10 ml seguidas de tres fracciones de 50 ml y todas ellas se reducen de volumen bajo una corriente de nitrógeno. Cristaliza el producto de las fracciones 4-6, con trazas del mismo en las fracciones 3 y 7. Las fracciones 1-3 contiene un material amarillento de olor intenso que resinifica al permanecer en reposo. Rendimiento: 100 mg en forma de
25 mezcla de los isómeros cis y trans.

1

Etapa B:

Preparación de 4-(2-acetoxietil)-2-azetidiona

5



10

Una solución de 10,0 g (0,065 moles) de 4-(2-acetoxivinil)-2-azetidiona en 200 ml de acetato de etilo conteniendo 100 mg de paladio al 10 % en carbón se hidrogena en un sacudidor Parr a 25°C, bajo 40 psi (2,8 kg/cm²) de hidrógeno, durante 15 minutos. La mezcla se filtra por un lecho Supercel y se lava con acetato de etilo adicional. Los filtrados combinados se evaporan a vacío para dar 10,0 g de 4-(2-acetoxietil)-2-azetidiona en forma de sólido cristalino. Por recristalización en éter se obtienen cristales blancos, p.f. 44-47°. IR (CHCl₃)_μ: 5,66, 5,74.

15

20

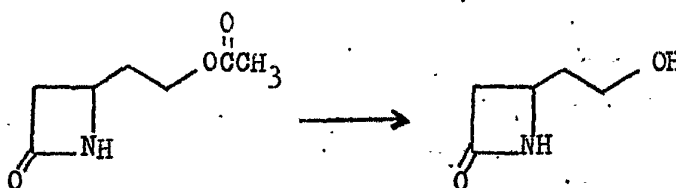
RMN (CDCl₃) τ : 3,44 (s, ancho, 1, NH), 5,82 (m, 2, CH₂OCOCH₃), 6,29 (m, 1, C-4H), 6,87 (diagrama 1/2 AB escindido además en 4, por C-4H y NH, 1, J_{gem} = 12,8 Hz, J = 4,5 Hz, J_{NH} = 1,9 Hz), 7,38 (diagrama 1/2 AB escindido además en cuatro por C-4H y NH, 1, J_{gem} = 12,8 Hz, J = 2,3 Hz, J_{MH} = 1,0 Hz), 7,93 y 8,02 (s o m, total 5, OCOCH₃ y CH₂CH₂OCOCH₃, respectivamente).

25

Etapa C:

Preparación de 4-(2-hidroxietil)-2-azetidiona

30



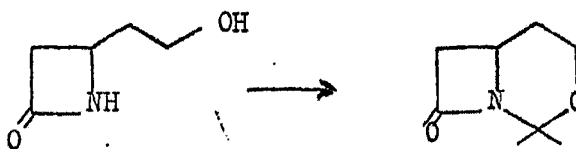
1 Bajo nitrógeno, a 0°, una solución de 2,24 g (0,014 mo-
les) de 4-(2-acetoxietil)-2-azetidiona en 25 ml de meta-
nol anhidro se trata con una solución de 77 mg (1,4 milimo-
5 les) de metóxido sódico en 5 ml de metanol anhidro. Después
de agitar durante 1 hora, la solución se neutraliza con áci-
do acético glacial. Por separación del metanol a vacío se
obtiene la 4-(2-hidroxietyl)-2-azetidiona cruda en forma de
aceite. El producto se purifica por cromatografía en gel de
sílice eluyendo con metanol al 10 % en cloroformo para dar
10 1,55 g del alcohol, p.f. 50°.

IR (CHCl₃)_μ: 5,67.

RMN (CDCl₃)_τ: 3,20 (s, ancho, 1, NH), 6,24 y 6,28 (m
sobre t, total 3, C-4H y CH₂OH respectivamente), 6,90 (s an-
cho sobre diagrama 1/2 AB escindido además en 4 por C-4H y
15 NH, total 2, OH y C-3H respectivamente, J_{gem} = 13,0 Hz,
J_{vic} = 4,2 Hz, J_{NH} = 1,6 Hz), 7,42 (diagrama 1/2 AB escindi-
do además en cuatro por C-4H y NH, 1, C-3H, J_{gem} = 13,0 Hz,
J_{vic} = 2,2 Hz, J_{NH} = 1,1 Hz), 8,16 (m, 2, CH₂CH₂OH).

Etapa D:

20 Preparación de 8-oxo-2,2-dimetil-3-oxa-1-aza-biciclo[4.2.0]-
octano



30 Una solución de 1,87 g (0,016 moles) de 4-(2-hidroxietyl)-
2-azetidiona y 1,69 g (0,016 moles) de 2,2-dimetoxipropano
en 25 ml de cloruro de metileno anhidro se trata con 0,201 ml
(0,002 moles) de esterato de trifluoruro de boro a 25°C. La

1 solución resultante se agita durante 10 minutos. Por separación del disolvente a presión reducida se obtienen 2,5 g de un aceite. Por cromatografía del producto crudo sobre gel de sílice empleando acetato de etilo/benceno 2:1 como disolvente eluyente se obtienen 1,59 g de 8-oxo-2,2-dimetil-3-oxa-1-aza-biciclo(4.2.0)octano como sólido cristalino. La re-
5 cristalización en éter/hexano se obtiene un producto que funde a 60-61°.

IR (CHCl₃)_μ : 5,73 (β-lactama).

10

RMN (CDCl₃)_τ : 6,02 - 6,28, m, 2H, metileno C-4

6,22 - 6,62, m, 1H, metino C-6

6,90, dd, 1H, J_{7,7} = 14 Hz, J_{6,7} = 4,5 Hz
protón C-7 cis respecto a C-6H

15

7,47, dd, 1H, J_{7,7} = 14 Hz, J_{6,7} = 2 Hz,
protón C-7 trans con respecto a C-6H

15

7,82 - 8,68, m, 2H, metileno C-5

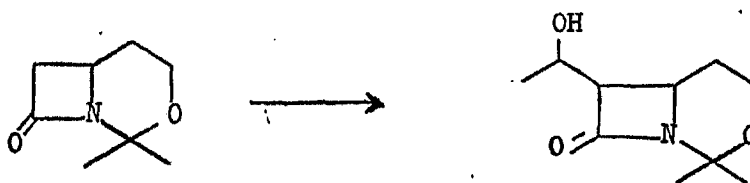
8,23, s, 3H } metilos C-2
8,57, s, 3H }

Etapas E:

20

Preparación de 8-oxo-2,2-dimetil-7α y β-(1-hidroxi-etil)-3-oxa-1-aza-biciclo(4.2.0)octano

25



30

A una solución de 1,1 equivalentes de di-isopropilamida de litio recién preparada en tetrahidrofurano anhidro, en atmósfera de nitrógeno a -78°, se añade una solución de 8-oxo-2,2-dimetil-3-oxa-1-aza-biciclo(4.2.0)octano en tetra-

1 hidrofurano anhidro, que ha sido enfriada a -78°C . Al cabo de
2 minutos, el enolato de litio resultante se trata con un ex-
ceso de acetaldehído. La solución se agita durante 30 minu-
5 tós a -78° y después se vierte en agua. La fase acuosa se
satura con cloruro sódico y se extrae con acetato de etilo.
Las soluciones combinadas en acetato de etilo se secan sobre
sulfato magnésico y se filtran. El filtrado se evapora a
10 presión reducida para dar el producto crudo. Por purifica-
ción mediante cromatografía en gel de sílice empleando aceta-
to de etilo/benceno se obtiene el 8-oxo-2,2-dimetil-7 α y β -
(1-hidroxietil)-3-oxa-1-aza-biciclo[4.2.0]octano.

Datos para el 8-oxo-2,2-dimetil-7 β -(1-hidroxietil)-3-oxa-1-
aza-biciclo[4.2.0]octano:

IR (CH_2Cl_2) μ : 5,72 (β -lactama).

15 RMN (CDCl_3) τ : 5,53-6,43, m, 4H; metileno C-4 + metino
C-6 + metino C-9

6,90, dd sobre s ancho, 2H, $J_{7,9} = 9$ Hz,

$J_{6,7} = 5,5$ Hz, metino C-7 + OH

7,70-8,83, m, 2H, metileno C-5

20 8,27, s, 3H }
8,60, s, 3H } metilos C-2

8,78, d, 3H, $J_{9,10} = 6,5$ Hz, metiló C-10.

Datos para el 8-oxo-2,2-dimetil-7 α -(1-hidroxietil)-3-oxa-1-
aza-biciclo[4.2.0]octano:

25 IR (CHCl_3) μ : 2,9 ancho, O-H

5,73 β -lactama

RMN (acetona- d_6) τ :

30 4,23-3,33, m, metino C-9 + metile-
no C-4 + metino C-6

1

3,33, s ancho, OH
2,83, dd, J = 2 Hz, 6 Hz
2,67, dd, J = 2 Hz, 8 Hz } metino C-7

5

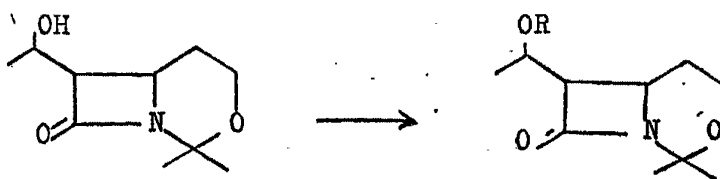
1,93-1,63, m, metileno C-5
1,63, s } metilos C-2
1,40, s }
1,23, d, J = 6,5 Hz, metilo C-10.

Etapa F:

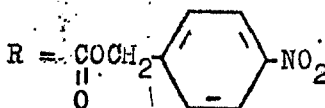
10

Preparación de 8-oxo-2,2-dimetil-7 α -(1-p-nitrobenzilcarbencil-
dioxietil)-3-oxa-1-aza-biciclo[4.2.0]octano

15



20



25

En condiciones anhidras, a 0°C, una solución de 60 mg (0,302 milimoles) de 8-oxo-2,2-dimetil-7 α -(1-hidroxi-etil)-3-oxa-1-aza-biciclo[4.2.0]octano en 0,6 ml de éter se trata con 19 mg (0,332 milimoles) de hidróxido potásico pulverizado. Después de un periodo de 15 minutos, se añaden a la mezcla de reacción 65 mg (0,302 milimoles) de cloroformiato de p-nitrobencilo. Se continúa agitando a 25°C durante 15 horas más. La mezcla se reparte entre tampón de fosfato 1 M a pH 7 y más éter. La fase etérea se lava con agua y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico y se filtra. Por evaporación

30

1 del filtrado a presión reducida se obtienen 67 mg de un acei-
te incoloro. Purificando por cromatografía preparativa en ca-
pa gruesa sobre gel de sílice, desarrollando con acetato de
5 etilo/benceno 1:9, se obtienen 40 mg de 8-oxo-2,2-dimetil-
7a-(1-p-nitrobenzilcarbonildioxi-
etil)-3-oxa-1-aza-biciclo-
(4.2.0)octano en forma de mezcla de diastereómeros.

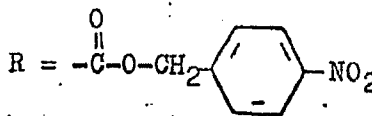
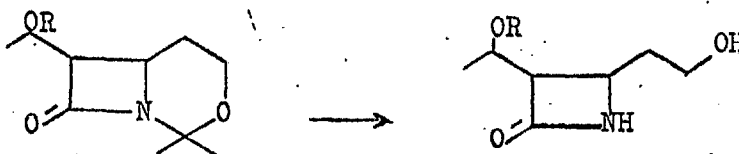
IR (CH₂Cl₂)_μ : 5,68 (β-lactama y carbonato), 6,19 y 6,54
(nitro).

10 RMN (CDCl₃): 1,67, d, 2H, ArH
2,37, d, 2H, ArH
4,67, s, 2H, ArCH₂
4,67-5,22, m, CH₃CH
5,98-6,25, m, 2H, metileno C-4
6,25-6,62, m, 1H, metino C-6
15 6,75-7,12, m, 1H, metino C-7
7,75-8,83, m, 2H, metileno C-5
8,22, s, 3H, metino C-2
8,50-8,58, m, 5H, metilo C-2 + CH₃CH

20 Los 7β-diastereoisómeros o la mezcla 7α y β se obtienen
de forma análoga.

Etapas G:

Preparación de cis y trans-3-(1-p-nitrobenzilcarbonildioxi-
etil)-4-(2-hidroxi-etil)-2-azetidiona



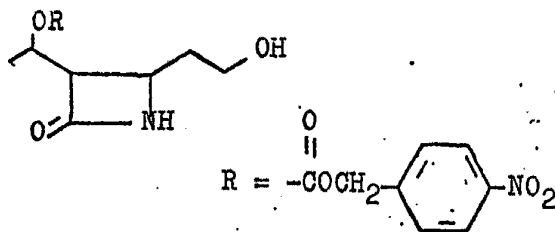
1 Se disuelven 1,0 g de 8-oxo-3-oxa-2,2-dimetil-7 α -(1-p-nitrobencilcarbonildioxietil)-1-aza-biciclo{4.2.0}octano en
8 ml de ácido acético y 2 ml de agua y se calienta a 65°C
durante hora y cuarto. El ácido acético y el agua se separan
5 a presión reducida y el residuo se recoge en benceno y se
evapora para dar trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxietil)-
4-(2-hidroxietil)-2-azetidinona en forma de mezcla de dias-
tereoisómeros.

10 IR (CH₂Cl₂)_μ : 5,67 (β -lactama), 5,72 hombro, 6,20 y
6,57 (nitro).

15 RMN (CDCl₃)_τ : 1,73, d, 2H, J = 8,5 Hz, ArH
2,43, d, 2H, J = 8,5 Hz, ArH
3,63, s ancho, 1H, NH
4,37-5,13, m, 1H, CH₃CH
4,72, s, 2H, ArCH₂
6,07-6,53, m, 1H, metino C-4
6,23, t, 2H, J = 5,5 Hz, CH₂OH
6,73-6,93, m, 1H, metino C-3
7,63-8,97, m, 3H, CH₂CH₂OH
20 8,53, d, J = 6,5 Hz, CH₃CH

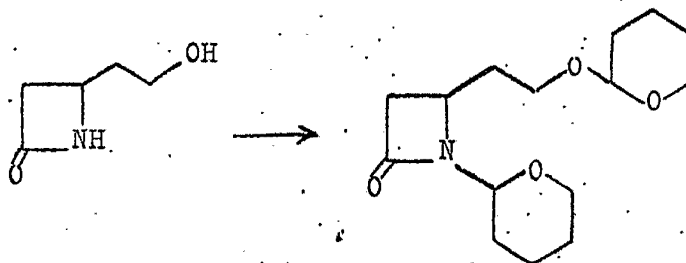
Los diastereoisómeros cis o la mezcla cis-trans se ob-
tienen de forma análoga.

25 Etapas D', E', F' y G' como alternativa a las Etapas D, E,
F y G para la preparación de 3-(1-p-nitrobencilcarbonildio-
xietil)-4-(2-hidroxietil)azetidinona.



1 Etapas D', E', F' y G'

Preparación de 1-(2-tetrahidropiranyl)-4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil}-2-azetidiona



10 Bajo nitrógeno y a 25°C, una solución de 62 mg (0,539 milimoles) de 4-(2-hidroxi-etil)-2-azetidiona en 0,5 ml de p-dioxano anhidro se trata con 0,98 ml (1,08 milimoles) de 2,3-dihidropirano y 19 mg (0,10 milimoles) de monohidrato de ácido p-toluensulfónico. La solución resultante se agita durante un periodo de 60 minutos y después se reparte entre 15 10 ml de tampón de fosfato 0,5 M a pH 7 y 10 ml de acetato de etilo. La fase acuosa se extrae una segunda vez con acetato de etilo. Las soluciones combinadas en acetato de etilo se lavan con salmuera, se secan sobre sulfato magnésico y se filtran. El filtrado se evapora a presión reducida para dar 20 216 mg de producto crudo. Purificando por cromatografía preparativa en capa gruesa y desarrollando con acetato de etilo se obtienen 80 mg de 1-(2-tetrahidropiranyl)-4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil}-2-azetidiona en forma de aceite.

25 RMN (CDCl₃) τ: 5,13-5,60, m, OCH

5,83-6,85, m, C-4H + OCH₂

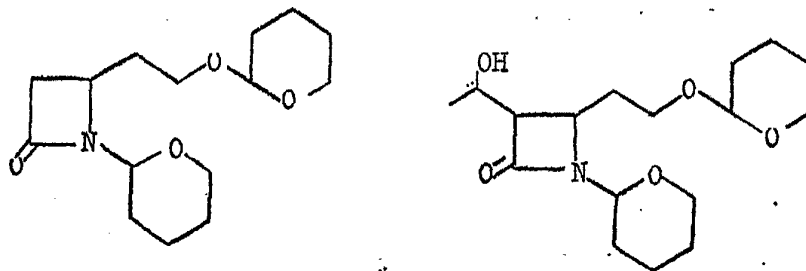
6,95, dd, J = 5 Hz y 15 Hz

7,35, dd, J = 3 Hz y 15 Hz

metileno C-3

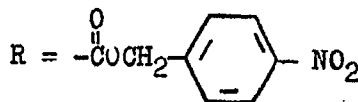
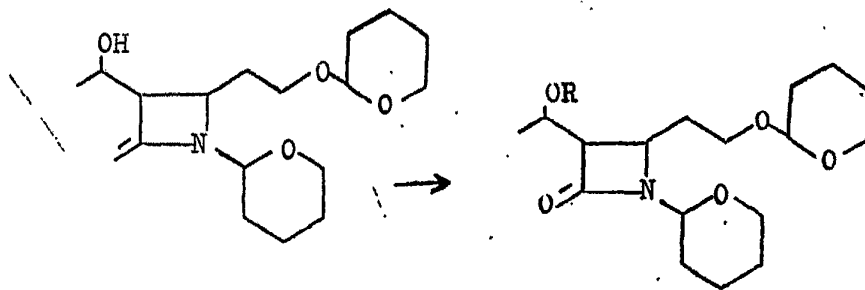
30 7,62-8,95, m, CHCH₂CH₂CH₂CH₂ + CHCH₂CH₂O

1 Preparación de cis y trans-1-(2-tetrahidropiranyl)-3-(1-hi-
5 droxietyl)-4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil}-2-azetidiona



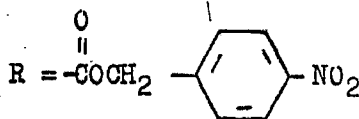
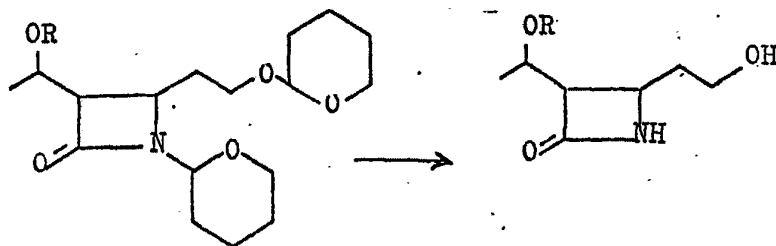
10 Siguiendo el procedimiento descrito para la preparación
de 8-oxo-2,2-dimetil-7 α y β -(1-hidroxietil)-3-oxa-1-aza-bi-
ciclo(4.2.0)octano a partir de 8-oxo-2,2-dimetil-3-oxa-1-
15 aza-biciclo(4.2.0)octano y empleando 1-(2-tetrahidropiranyl)-
4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil}-2-azetidiona, se obtiene
una mezcla diastereomérica de cis y trans-1-(2-tetrahidropi-
ranil)-3-(1-hidroxietil)-4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil}-
2-azetidiona.

20 Preparación de cis y trans-1-(2-tetrahidropiranyl)-3-(1-p-
21 nitrobenzilcarbonildioxietyl)-4-{2-(2-tetrahidropiranyl)oxi-
22 etyl}-2-azetidiona



1 Siguiendo el procedimiento descrito para la prepara-
ción de 8-oxo-2,2-dimetil-7 α -(1-p-nitrobencilcarbonildioxi-
etil)-3-oxa-1-aza-biciclo [4.2.0] octano a partir de 8-oxo-2,2-
5 dimetil-7 α -(1-hidroxi-etil)-3-oxa-1-aza-biciclo [4.2.0] octano
y empleando trans-1-(2-tetrahidropiranyl)-3-(1-hidroxi-etil)-
4-(2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil)-2-azetidionona, se obtie-
ne trans-1-(2-tetrahidropiranyl)-3-(1-p-nitrobencilcarbonil-
dioxietil)-4-(2-(2-tetrahidropiranyl)oxietil)-2-azetidionona.
Los diastereoisómeros cis se obtienen de forma análoga.

10 Preparación de cis y trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxi-
etil)-4-(2-hidroxi-etil)-2-azetidionona

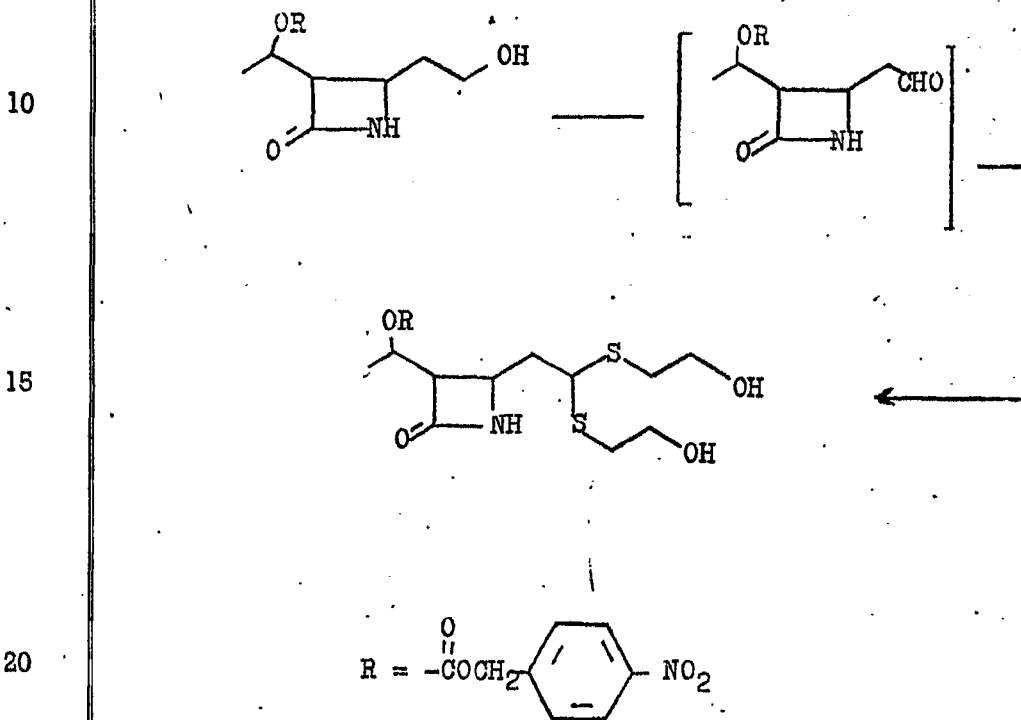


25 Una solución de trans-1-(2-tetrahidropiranyl)-3-(1-
p-nitrobencilcarbonildioxi-etil)-4-(2-(2-tetrahidropiranyl)-
oxietil)-2-azetidionona en metanol a 25°C se trata con 0,1
equivalentes molares de monohidrato de ácido p-toluensulfó-
nico. La solución se agita durante 2 horas y después se neu-
30 traliza con tampón de fosfato 1 M a pH 7. El producto se ex-
trae en acetato de etilo. La solución en acetato de etilo
se lava con salmuera, se seca sobre sulfato magnésico y se

1 filtra. El filtrado se evapora a presión reducida para dar
trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxi-
2-
2-etil)-4-(2-hidroxi-
2-
2-azetidinona. Los diastereoisómeros cis se obtienen de for-
ma análoga.

5 Etapa H:

Preparación de cis y trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxi-
etil)-4-(2,2-bis(2-hidroxi-
etil)ti-
etil)-2-azetidinona



25 Bajo nitrógeno, a 25°C, se agita durante 30 minutos
una mezcla de 0,146 ml (1,81 milimoles) de piridina anhidra
y 92 mg (0,916 milimoles) de trióxido de cromo pulverizado
anhidro en 8 ml de acetonitrilo anhidro. A la solución par-
do oscura resultante se añaden 250 mg de Supercel seco se-
30 guido de una solución de 186 mg (0,550 milimoles) de trans-
3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxi-
etil)-4-(2,2-bis(2-hidroxi-
etil)-2-azetidinona

1 azetidínona en 1 ml de acetonitrilo anhidro. Después de agi-
tar durante 1 hora, la mezcla de reacción se filtra a través
de un lecho mixto relleno con 2 g de gel de sílice y 2 g de
5 sulfato magnésico. El lecho se lava repetidas veces con un
total de 30 ml de acetonitrilo adicional. El filtrado se con-
centra a presión reducida a 25°C hasta un volumen de 3 ml.
Por cromatografía en capa fina (gel de sílice, acetato de
etilo/benceno 2:1), esta solución contiene un producto
($R_f = 0,38$) menos polar que el material de partida ($R_f = 0,21$).

10 La solución en acetonitrilo de trans-3-(1-(p-nitroben-
cilcarbonildioxietil)-4-(2-oxoetil)-2-azetidínona antes prepa-
rada se trata bajo nitrógeno y a 0° con 0,386 ml (5,5 mili-
moles) de 2-mercaptoetanol, seguidos inmediatamente por
0,176 ml (1,43 milimoles) de eterato de trifluoruro de boro.
15 Después de agitar durante un periodo de 15 minutos, esta
solución se reparte entre una solución acuosa de hidrógeno-
fosfato dipotásico (1,5 g en 4 ml de agua) y 12 ml de aceta-
to de etilo. La fase acuosa se extrae una segunda vez con
acetato de etilo. Las soluciones combinadas en acetato de
20 etilo se lavan con salmuera, se secan sobre sulfato magné-
sico y se filtran. El filtrado se evapora a presión reducida
para dar 229 mg de un aceite. El producto se purifica por
cromatografía preparativa en capa gruesa sobre gel de síli-
ce, desarrollando con acetato de etilo para dar 118 mg de
25 trans-3-(1-p-nitrobenzilcarbonildioxietil)-4-(2,2-bis(2-hi-
droxietil)tioetil)-2-azetidínona en forma de aceite incoloro
IR (CH_2Cl_2) μ : 5,75, 5,79 (hombro) (β -lactama y carbona-
to), 6,20, 6,55 (nitro).

30 RMN (acetona- d_6) τ : 1,70, d, J = 8,5 Hz, 2H, ArH
2,28, d, J = 8,5 Hz, 2H, ArH

1

2,48-2,88, m, 1H, NH

4,63, s, ArCH₂ }
4,63-5,12, m, CH₃CH } 3H

5

5,80, t, J = 7 Hz, CH₂CH }
5,80-7,45, m, C-4H + C-3H + } 13H
SCH₂CH₂OH

7,63-8,33, m, 2H, CH₂CH

8,53, d, J = 6,5 Hz, 3H, CH₃CH

10

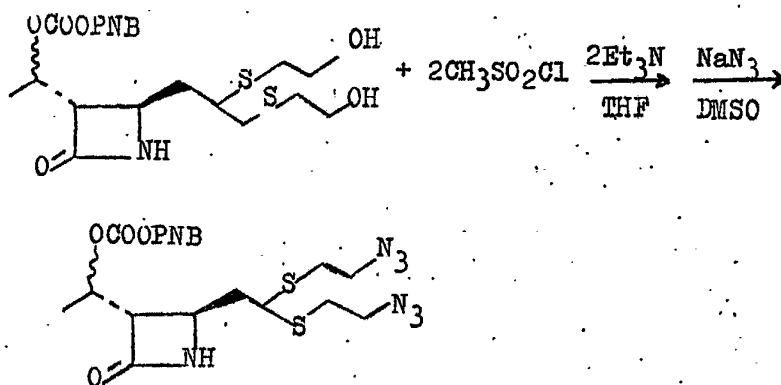
Los diastereoisómeros cis se obtienen de forma análoga. Alternativamente, se obtienen los diastereoisómeros mixtos cuando los materiales de partida están constituidos por una mezcla de los diastereoisómeros.

Etapas I:

15

Preparación de trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxietyl)-4-(2,2-bis(2-azidoetyl)tioetyl)-2-azetidionona

20



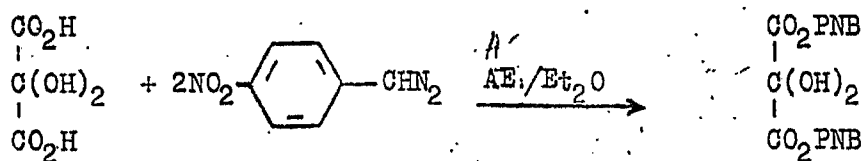
25

30

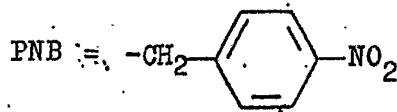
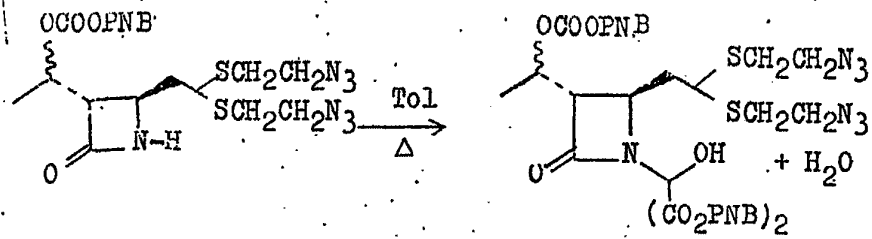
A una solución de 211 mg (peso molecular = 474, 0,445 milimoles) de trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxietyl)-4-(2,2-bis(2-hidroxietyl)tioetyl)-2-azetidionona en 5 ml de

1 tetrahidrofurano (THF) (destilado de hidruro de litio y alu-
 5 minio) a 0°C se añaden 103 mg de cloruro de mesilo (peso mo-
 lecular = 114; 0,904 milimoles) en 1 ml de tetrahidrofurano,
 seguidos inmediatamente por 134 microlitros de trietilamina
 (peso molecular = 101; ρ = 0,729; 0,967 milimoles). La mez-
 10 cla de reacción se agita durante 1 hora bajo nitrógeno. El
 hidrocioruro de trietilamina se filtra bajo nitrógeno, lavan-
 do con algunos mililitros de tetrahidrofurano adicional. El
 filtrado incoloro transparente se concentra bajo una corrien-
 te de nitrógeno, seguido de bombeo a alto vacío durante 10 mi-
 15 nutos. El dimesilato se disuelve inmediatamente en 5 ml de
 DMSO (destilado de CaH₂ a 8 mm y mantenido sobre tamices mo-
 leculares Linde 4A) en presencia de 347 mg de NaN₃ (peso mo-
 lecular = 65, 5,34 milimoles). Después de agitar durante la
 noche bajo nitrógeno, se añaden 10 ml de agua y 20 ml de ace-
 tato de etilo (AE). Se separan las capas y la capa acuosa se
 lava tres veces con 10 ml de AE, siendo después lavada de
 nuevo cada capa orgánica con 10 ml de agua y 10 ml de salmue-
 20 ra. Las capas combinadas en AE se secan sobre sulfato magné-
 sico anhidro, se filtran y se concentran bajo una corriente
 de nitrógeno para dar la diazida cruda. Por cromatografía
 preparativa en capa fina sobre gel de sílice se obtiene la
 trans-3-(1-p-nitrobenzilcarbonildioxietil)-4-[2,2-bis(2-azi-
 doetil)ticetil]-2-azetidiona. Los diastereoisómeros cis o
 25 la mezcla cis-trans se obtienen de forma análoga.

Etapa J:



30



15 Una solución recién preparada (H. Davies y M. Schwarz, J.O.C., 30, 1242 (1965)) de 29 milimoles de p-nitrofenildiazometano en 150 ml de éter se agrega con agitación a una solución de 1,0 g de monohidrato de ácido oxomalónico (peso molecular = 136, 7,35 milimoles) en 50 ml de acetato de etilo a 0°C. Al cabo de 2,5 horas, la solución amarilla se concentra en un evaporador rotatorio calentando suavemente hasta aproximadamente la mitad de su volumen, se seca sobre sulfato sódico anhidro, se filtra y se concentra como antes para dar un aceite. Al éster p-nitrobencílico crudo en 50 ml de tolueno se añaden 3,54 g de trans-3-(1-p-nitrobencilcarbonildioxietyl)-4-(2,2-bis(2-azidoetyl)tioetyl)-2-azetidina (PM = 524, 6,75 milimoles). La mezcla de reacción se calienta con agitación en un baño de aceite, permitiendo que se separe por ebullición aproximadamente la tercera parte del tolueno. Se añade tolueno (secado sobre tamices moleculares Linde 3A 1/16" o 1,6 mm) para llevar de nuevo el volumen a 50 ml y el proceso de secado azeotrópico se repite tres veces más. Después la solución se calienta a reflujo bajo ni-

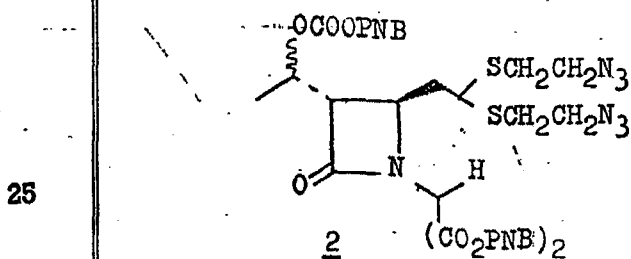
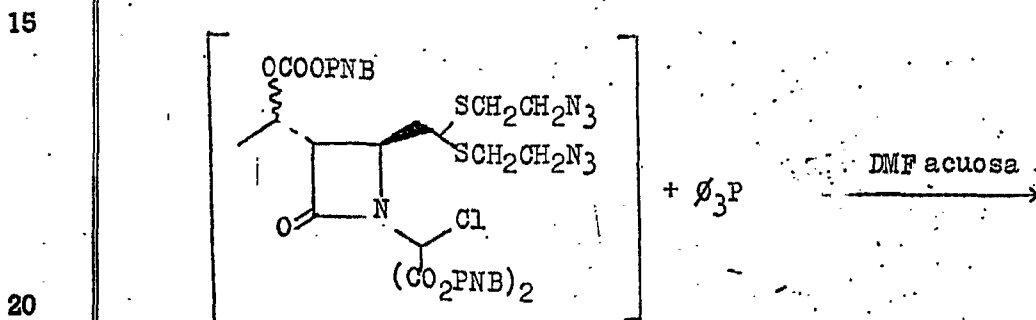
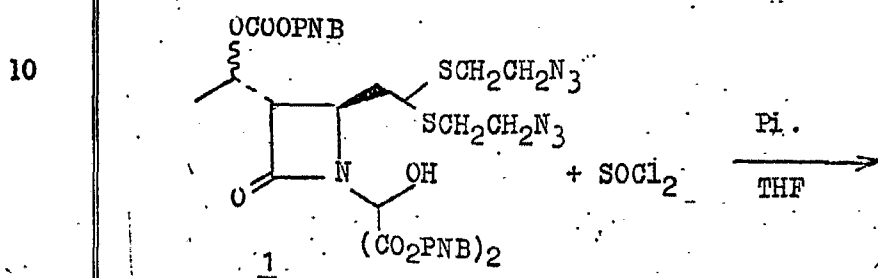
20

25

30

1 trógeno durante 1 hora, se repite por última vez el proceso
de secado azeotrópico y se continúa calentando a reflujo du-
rante 1 hora más. Por concentración de la solución resultan-
te en corriente de nitrógeno se obtiene el producto 1 crudo.
5 El material crudo se cromatografía sobre gel de sílice para
dar 1. Los diastereoisómeros cis o la mezcla cis-trans se
obtienen de forma análoga.

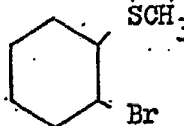
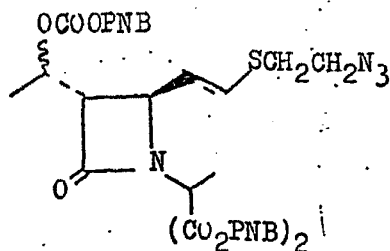
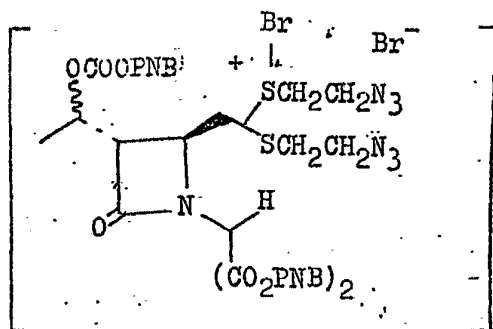
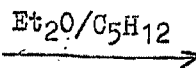
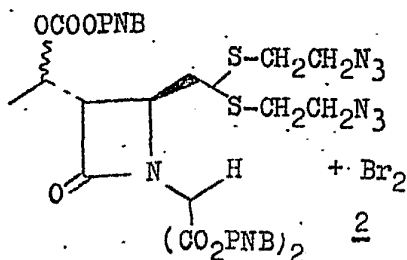
Etapas K:



25 A una solución de 2,80 g de 1 (PM = 912, 3,07 milimo-
les) en 35 ml de tetrahidrofurano (destilado de hidruro de
litio y aluminio), a -20°C, se añaden 0,3 ml de piridina
30 (PM = 79, ρ = 0,982, 3,73 milimoles) (destilada de NaH y man-

1 tenida sobre tamices moleculares Linde 4A). Agitando bajo
nitrógeno, se añaden gota a gota 0,438 g de cloruro de tioni-
lo (PM = 119, 3,68 milimoles) en 1 ml de tetrahidrofurano.
5 La mezcla de reacción se agita bajo nitrógeno durante 5 minu-
tos a -20°C y después durante media hora a 0°C y finalmente
durante 1 hora a 25°C . El hidrocloreuro de piridina se filtra
bajo nitrógeno y se lava dos veces con benceno (secado sobre
tamices moleculares Linde 3A 1/16" ó 1,6 mm). El filtrado y
10 las aguas de lavado combinados se concentran bajo una oc-
rriente de nitrógeno, se suspenden en un pequeño volumen de
benceno con sulfato magnésico anhidro, se filtran bajo ni-
trógeno y después se concentran bajo una corriente de nitró-
geno. Bombeando a alto vacío durante media hora se obtiene
un aceite. A este compuesto clorado recién preparado se aña-
15 den con agitación 0,885 g de trifenilfosfina (PM = 262,
3,38 milimoles) en 66 ml de dimetilformamida/agua 9:1 segui-
dos de 550 mg de K_2HPO_4 (PM = 174, 3,16 milimoles). La mezcla
de reacción se agita a 25°C durante 35 minutos. Después de
diluirl con acetato de etilo y salmuera, se separan las capas
20 y la fase acuosa se extrae tres veces con acetato de etilo.
Las capas combinadas de acetato de etilo se lavan con salmue-
ra, se secan sobre sulfato magnésico anhidro, se filtran y
se concentran en corriente de nitrógeno para dar 2 crudo. El
material se cromatografía en gel de sílice para dar 2. Los
25 diastereoisómeros cis en la mezcla cis-trans se obtienen de
forma análoga.

Etapa I:



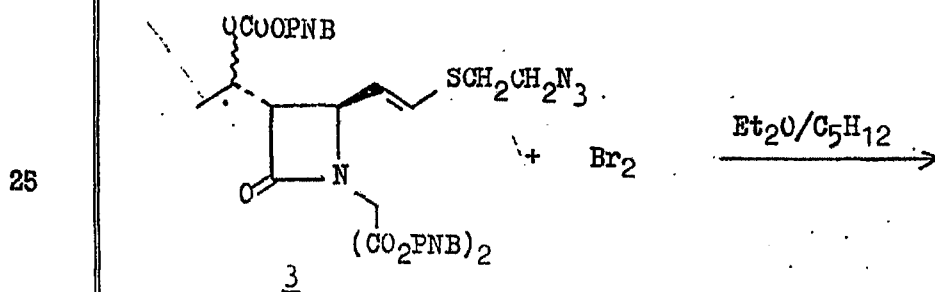
25

30

A 7,8 ml de pentano (secado sobre tamices moleculares Linde 4A) se añaden 0,2 ml de bromo (PM = 160, $\rho = 3,12$, 3,9 milimoles). A una solución de 950 mg de 2 (PM = 896, 1,06 milimoles) en 15 ml de éter dietílico (secado sobre tamices moleculares Linde 3A 1/16" ó 1,6 mm) a 0°C, bajo nitrógeno y agitando, se añaden gota a gota 2,3 ml de la solución 0,49 M de bromo anterior (1,13 milimoles). Después de agitar durante 10 minutos a 0°C, se agregan 114 microlitros de ciclohexeno (PM = 82, $\rho = 0,81$, 1,13 milimoles). Después de

1 5 minutos a 0°C, se añaden 53 mg de NaH al 57 % en aceite
mineral (57 % de 53 mg = 30,2 mg, PM = 24, 1,26 milimoles) a
la mezcla de reacción agitada. Inmediatamente después se
añaden 14 ml de dimetilformamida enfriada en hielo (destila-
5 da de sulfato cálcico anhidro a 40 mm y mantenida sobre ta-
mices moleculares Linde 4A). Se continúa agitando a 0°C ba-
jo nitrógeno durante 3 horas. La mezcla de reacción se vier-
te en una mezcla agitada y enfriada con hielo de 2,5 ml de
KH₂PO₄ 1 M, 40 ml de agua y 75 ml de acetato de etilo. Des-
10 pués de separar las capas, la fase acuosa se satura de
NaCl y se extrae de nuevo con acetato de etilo. Las capas
orgánicas combinadas se extraen una vez con salmuera, se se-
can sobre sulfato magnésico anhidro, se filtran y se concen-
tran en corriente de nitrógeno, seguido de bombeo en una bom-
15 ba de alto vacío para dar 3 crudo. La cromatografía prepara-
tiva en capa fina sobre gel de sílice da lugar al compues-
to 3. Los diastereoisómeros cis o la mezcla cis-trans se ob-
tienen de forma análoga.

20 Etapa M:



30

1

5

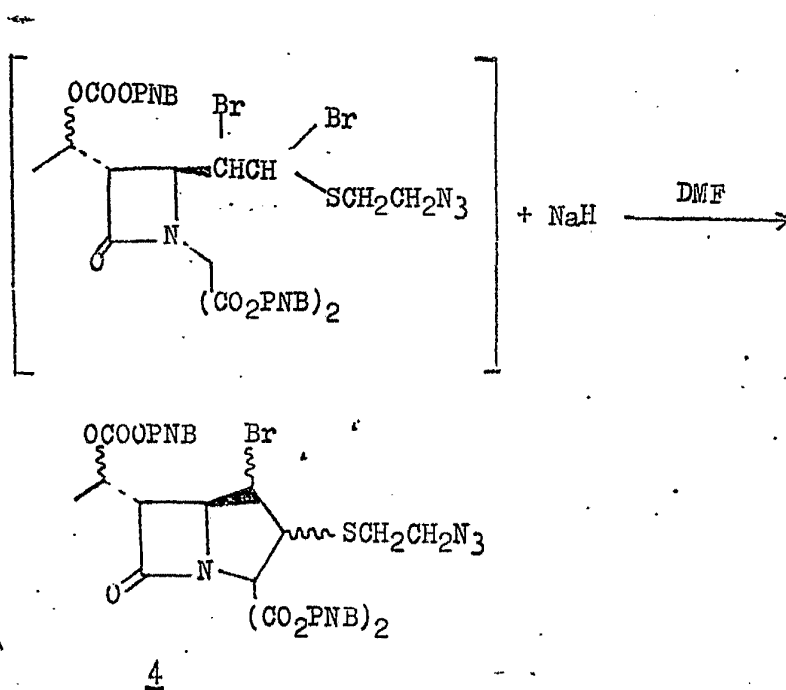
10

15

20

25

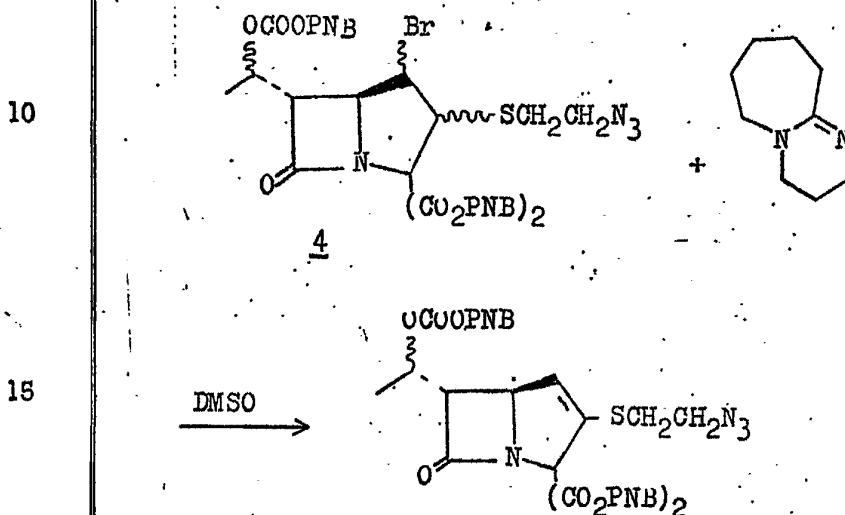
30



A 9,16 ml de pentano (secado sobre tamices moleculares Linde 4A) se añaden 0,2 ml de bromo ($PM_1 = 160, 3,9$ milimoles). A 474 mg de 3 ($PM. = 793, 0,598$ milimoles) en 3 ml de éter dietílico (secado sobre tamices moleculares Linde 3A, 1/16" ó 1,6 mm) a $0^{\circ}C$ bajo nitrógeno, con agitación, se añaden gota a gota 1,52 ml de la solución 0,42 M de bromo anterior (0,63 milimoles). Al cabo de 15 minutos a $0^{\circ}C$, se añaden 33 mg de NaH al 57 % (57 % de 33 mg = 18,8 mg, $PM. = 24, 0,78$ milimoles), e inmediatamente después 6,35 ml de dimetilformamida enfriada con hielo (destilado de sulfato cálcico anhidro a 40 mm y mantenida sobre tamices moleculares Linde 4A). La mezcla de reacción se agita durante hora y media a $0^{\circ}C$, después se vierte en una mezcla agitada y enfriada con hielo de 1,6 ml de KH_2PO_4 1 M, 20 ml de agua y 20 ml de acetato de etilo. Se separan las capas y la fase acuosa se satura de NaCl y se extrae de nuevo con acetato de etilo adicional. Las capas orgánicas combinadas se lavan una vez con

1 salmuera, se secan sobre sulfato magnésico anhidro y se fil-
tran. El filtrado se concentra en una corriente de nitrógeno
y después se bombea a alto vacío para dar 4 crudo. Por cro-
matografía preparativa en capa fina sobre gel de sílice se
5 obtiene 4. Los diastereoisómeros cis o la mezcla cis-trans
se obtiene de forma análoga.

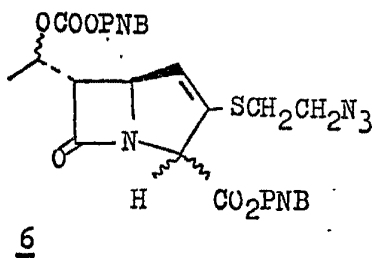
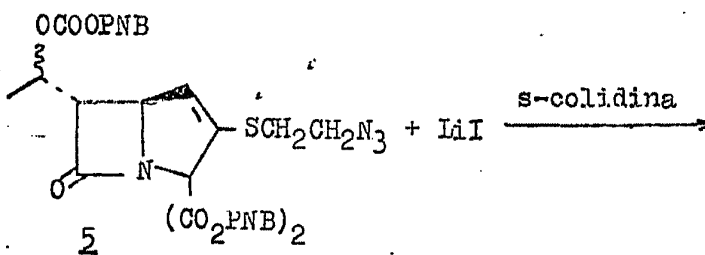
Etapas N:



20 A 210 mg de 4 (PM = 871,0241 milimoles) disueltos en
0,5 ml de DMSO (destilado de CaH₂ a 8 mm y conservado sobre
tamices moleculares Linde 4A) se añaden a 25°C, con agita-
ción, 40 mg de 1,5-diaza-biciclo{5.4.0}undec-5-eno (destila-
do a 80°C/2 mm) (PM = 152, 0,263 milimoles) en 0,7 ml de di-
metilsulfóxido (DMSO). La solución se agita bajo nitrógeno
25 durante 4 horas y después se agrega a una mezcla agitada y
enfriada con hielo de 0,48 ml de KH₂PO₄ 1 M, 7 ml de agua y
10 ml de acetato de etilo. Después de separar las capas, la
capa acuosa se extrae de nuevo con acetato de etilo. Las ca-
pas orgánicas combinadas se lavan una vez con salmuera, se
30 secan sobre sulfato magnésico anhidro, se filtran y concen-

1 tran en corriente de nitrógeno, seguido de bombeo a alto va-
cío para dar el compuesto 5 crudo. Por cromatografía prepa-
rativa en capa fina sobre gel de sílice se obtiene el compues-
to 5. Los diastereoisómeros cis o la mezcla cis-trans se ob-
5 tienen de forma análoga.

Etapas 0:

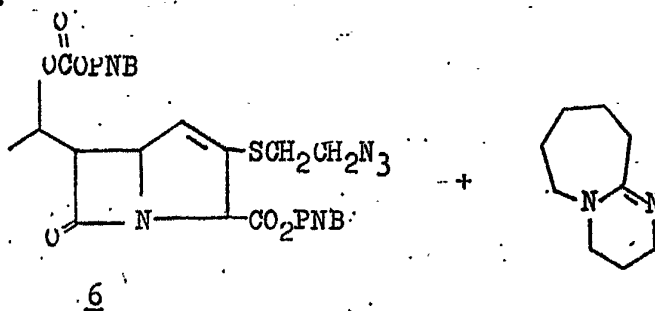


20 Una solución de 187 mg de 5 (PM = 791, 0,236 milimoles) en 2,5 ml de s-solidina (destilada de KOH pulverizado a 30 mm de presión) se agrega a 45 mg de LiI anhidro (secado durante algunas horas a 100°C sobre P₂O₅ a vacío) (PM = 134, 0,336 milimoles). Agitando bajo nitrógeno, la mezcla de reac-
25 ción se calienta en un baño de aceite a 120°C. Después de un total de 25 minutos, se enfría la mezcla de reacción a 25°C, se diluye con CH₂Cl₂ y se transfiere a un matraz de fondo redondo para concentrar bajo una corriente de nitrógeno y des-
30 pués a alto vacío. El residuo se reparte entre 10 ml de ace-

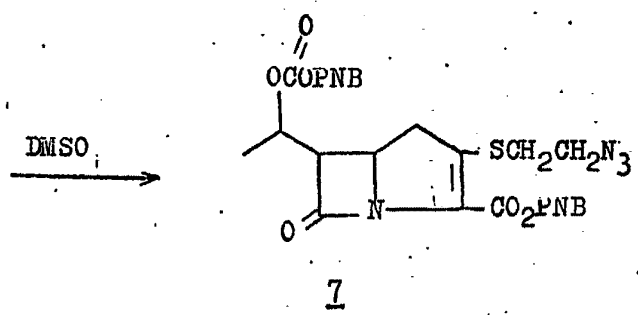
1 tato de etilo y 1,8 ml de KH_2PO_4 1 M en 10 ml de agua, segui-
do de extracción de la capa acuosa dos veces más con aceta-
to de etilo. Las capas orgánicas combinadas se extraen con
5 salmuera, se secan sobre sulfato magnésico anhidro, se fil-
tran y concentran en corriente de nitrógeno para dar el pro-
ducto 6 crudo. Por cromatografía preparativa en capa fina so-
bre gel de sílice se obtiene 6. Los diastereoisómeros cis
o la mezcla cis-trans se obtienen de forma análoga.

Etapa P:

10



15



20

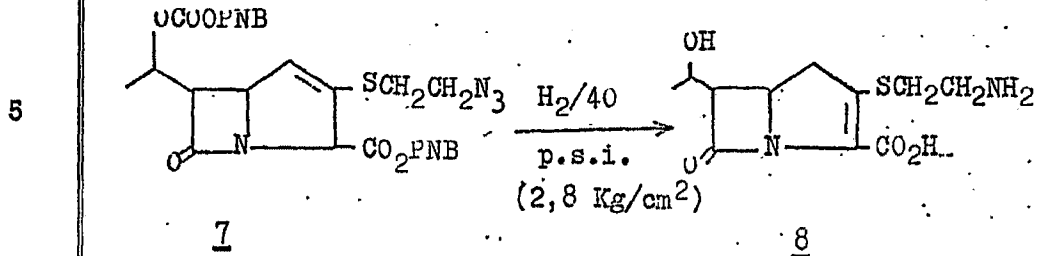
25

30

A una solución de los diastereoisómeros mezclados de 6 (34 mg, $\text{PM} = 612$, 0,055 milimoles) en 0,2 ml de DMSO (des-
tilado de CaH_2 a 8 mm y conservado sobre tamices moleculares
Linde 4A) se añaden con agitación 9,5 microlitros de 1,5-
diazobiciclo 5.4.0 undec-5-eno (destilado a unos $80^\circ\text{C}/2$ mm)
($\text{PM} = 152$, $\rho = 1$, 0,0625 milimoles). La solución se agita
bajo nitrógeno durante 15 minutos, se diluye hasta un volu-
men total de 1 ml con CHCl_3 y se aplica inmediatamente sobre
placas de gel de sílice de 2-1000 micras. La banda de produc-

1 to da 7 como mezcla de diastereoisómeros cis y trans.

Etapas Q:



10 En presencia de 61 mg de PtO_2 , se hidrogenan a 40 psi (2,8 kg/cm²) de hidrógeno, durante 4 horas, 61 mg de 7 (PM = 612, 0,1 milimoles) en 6 ml de dioxano, 6 ml de tetrahidrofurano y 3 ml de agua. La mezcla de reacción se filtra después a través de Celite lavando con 2 ml de tampón de fosfato 0,1 N a pH 7. Después de concentrar a vacío hasta el punto de turbidez, la mezcla acuosa se extrae con acetato de etilo. La capa acuosa se concentra hasta pequeño volumen y se aplica a una columna de 100 g de resina XAD-2. Después de eluir con agua y desprejar las fracciones iniciales, se liofilizan las fracciones que contienen el producto para dar 8 en forma de mezcla de diastereoisómeros cis y trans.

15 El siguiente procedimiento para la N-desacilación enzimática de la tienamicina es aplicable a todos los isómeros de la misma, especialmente a los distintos isómeros N-acetílicos 890A y 890A₃, que son descritos más adelante.

25 Desacetilación de la N-acetil-tienamicina

30 Se prepara una suspensión de 1 % en peso/volumen de una tierra de pradera fértil, suspendiendo 1 g de tierra de pradera en 100 ml de solución salina-tampón de fosfato estéril, donde la solución salina-tampón de fosfato tiene la siguiente composición:

1

Solución salina-tampón de fosfato

NaCl	8,8 g
Tampón de fosfato 1 M, pH 7,5*	10 ml
Agua destilada	1000 ml

5

*Tampón de fosfato 1 M, pH 7,5

Se mezclan 16 ml de KH_2PO_4 1 M con 84 ml de K_2HPO_4 1 M. El pH del tampón de fosfato se ajusta a 7,5 por adición de pequeñas cantidades de KH_2PO_4 1 M o K_2HPO_4 1 M.

10

Se utilizan partes alícuotas de esta suspensión de reserva de tierra al 1 % para preparar diluciones 10x, 100x y 1000x.

15

Se añaden partes alícuotas de 1 ml de la suspensión de reserva o partes alícuotas de 1 ml de las diluciones 10x, 100x y 1000x a partes alícuotas de 2 ml de soluciones estériles de agar al 1,0 % a 48°C. Las mezclas se vierten rápidamente sobre la superficie de placas Petri estériles de 85 mm de diámetro, conteniendo 20 ml de Medio A. El Medio A tiene la siguiente composición:

20

Medio A

KH_2PO_4	3,0 g
K_2HPO_4	7,0 g
MgSO_4	0,1 g
Agua destilada	1000 ml
Solución de N-acetiletanolamina*	8,5 ml

25

*Solución de N-acetiletanolamina

La N-acetiletanolamina se diluye 10x en agua y se esteriliza en membrana. Esta solución se agrega después de tratarla en autoclave.

30

Para medios sólidos: Añadir 20 g de agar. Las placas

1 Petri se incuban durante 18 días a 28°C. Se recoge una colonia bien aislada y se deposita una banda de la misma sobre una placa Petri conteniendo Medio B. El Medio B tiene la siguiente composición:

5

Medio B

Pasta de tomate 40 g

Harina de avena molida 15 g

Agua destilada 1000 ml.

pH: ajustado a 6 con NaOH

10

Para medios sólidos: añadir 20 g de agar.

Se selecciona una colonia individual y se cultiva durante 2 días a 28°C en un tubo inclinado de Medio B. Una parte del crecimiento de este tubo inclinado se deposita en una banda sobre la superficie de seis tubos inclinados preparados con Medio B. Estos tubos inclinados se incuban durante 2 días a 28°C. Este cultivo se identifica como Protaminobacter ruber y ha sido denominado MB-3528 en la colección de cultivos de Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey, Estados Unidos y se ha depositado una muestra en el Agricultural Research Service, Departamento de Agricultura de Estados Unidos, número de accesión NRRL B-8143.

15

20

Se utiliza una parte del cultivo del tubo inclinado de Protaminobacter ruber MB-3528 para inocular un Erlenmeyer de 250 ml que contiene 50 ml de Medio C. El Medio C tiene la siguiente composición:

25

Medio C

Dextrosa 20 g

Pharmamedia 8 g

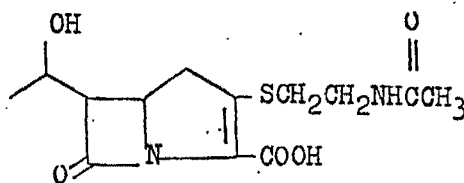
Licor de infusión de maíz (en mojado) 5 g

30

1 vivo de una noche del organismo de ensayo, Staphylococcus
aureus ATCC 6538P, en caldo nutritivo más 0,2 % de extracto
de levadura, se diluye con caldo nutritivo más 0,2 % de ex-
tracto de levadura para formar una suspensión con una trans-
5 mitancia del 60 % a una longitud de onda de 660 nm. Esta sus-
pensión se agrega sobre agar nutritivo Difco suplementado
con 2,0 g/l de extracto de levadura Difco a 37-48°C, para
formar una composición que contiene 33,2 ml de la suspensión
por litro de agar. Se vierten 40 ml de esta suspensión so-
10 bre placas Petri de 22,5 x 22,5 cm y estas placas se enfrían
y se mantienen a 4°C hasta que se utilizan (5 días como má-
ximo).

Se retira la placa de CCF y la placa de análisis se
incuba durante la noche a 37°C. Además de la mancha de N-ace-
15 til-tienamicina bioactiva que no ha reaccionado, a R_F 0,7-
0,89, se observa una mancha bioactiva a R_F 0,44-0,47, debida
a la tienamicina. Las mezclas de incubación de control de an-
tibiótico más tampón, sonificado celular más tampón y anti-
biótico más tampón a la que se ha añadido el sonificado ce-
20 lular inmediatamente antes de la aplicación de la cromatogra-
fía en capa fina no producen ningún material bioactivo a
R_F 0,44-0,47.

Producción de 890A₁, un isómero distinto



30

1 Se abre asépticamente un tubo de cultivo liofilizado de Streptomyces flavogriseus MA-4434 (NRRL 8139) y el contenido se suspende en un tubo que contiene 0,8 ml de sales Davis estériles con la siguiente composición:

5 Salas Davis

Citrato sódico	0,5 g
K_2HPO_4	7,0 g
KH_2PO_4	3,0 g
$(NH_4)_2SO_4$	1,0 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1 g
Agua destilada	1000 ml

10 Esta suspensión se utiliza para inocular cuatro tubos inclinados de Medio A con la siguiente composición:

15 Medio A

Glicerol	20,0 g
Levadura primaria	5,0 g
Harina de pescado	15,0 g
Agua destilada	1000 ml
Agar	20,0 g

20 pH: ajustado a 7,2 con NaOH.

Los tubos inclinados inculados se incuban durante una semana a 27-28°C y después se mantienen a 4-6°C hasta que se utilizan.

25 Un tercio del cultivo de tres tubos inclinados se utiliza para inocular 9 Erlenmeyers de 250 ml, provistos de tabiques, conteniendo 50 ml de Medio B con la siguiente composición:

1

Medio B

Autolizado de levadura (⁺ Ardamine)	10,0 g
Glucosa	10,0 g
Tampón de fosfato [*]	2,0 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	50 mg
Agua destilada	1000 ml

5

pH: ajustado a 6,5 con HCl o NaOH.

⁺Ardamine: Yeast Products Corporation.

*Solución Tampón de fosfato

10

KH ₂ PO ₄	91,0 g
Na ₂ HPO ₄	95,0 g
Agua destilada	1000 ml

15

El matraz de siembra se sacude durante 1 día a 27-28°C en un sacudidor a 220 rpm (recorrido 2", 5 cm). El matraz y su contenido se mantienen estacionarios durante un día a 4°C.

20

Se inoculan 33 Erlenmeyers de producción de 2 litros, conteniendo cada uno de ellos 250 ml de Medio C, con 8 ml por matraz del cultivo del matraz de siembra. El Medio C tiene la siguiente composición:

Medio C

Pasta de tomate	20,0 g
Levadura primaria	10,0 g
Dextrina (Amidex)	20,0 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	5,0 mg
Agua destilada	1000 ml

25

pH: ajustado a 7,2-7,4 con NaOH.

30

Después de la inoculación, los matraces de producción se incuban a 24°C, con agitación en un sacudidor a 212 rpm

1 (recorrido 2", 5 cm), durante 4 días. Se cosechan los matra-
ces y se analiza la actividad utilizando placas de análisis
patrón de Salmonella gallinarum MB1287 y Vibrio percolans
ATCC 8461, empleando discos de análisis de 0,5" (12,7 mm)
5 sumergidos en muestras de caldo centrifugado. Las muestras
se diluyen con tampón de fosfato 0,02 M, pH 7,0, cuando es
necesario. Los resultados están tabulados a continuación:

Edad de la cosecha, horas	96
pH	7,2
10 <u>Salmonella gallinarum</u> (mm de la zona)	29,5
<u>Vibrio percolans</u> dilución 1/10 (mm de la zona)	31
Unidades de 890A	40

15 Se enfrían 7 litros del caldo de fermentación completo
a 3°C y se centrifuga en porciones de 200 ml a 9000 rpm du-
rante 15 minutos cada una.

20 A los líquidos sobrenadantes combinados se añaden
7 ml de EDTA neutra 0,1 M y toda la muestra se adsorbe en
una columna Dowex-1 x 2 (Cl⁻), 50-100 mallas, dimensiones
del lecho 5,1 x 25 cm, a un caudal de 40 ml por minuto. La
columna se lava con 500 ml de agua desionizada conteniendo
5 ml de tampón de Tris-HCl 1 M, pH 7,0, y EDTA neutro
25 µM. El antibiótico se eluye con 1 litro de agua desioni-
zada conteniendo 50 g de cloruro sódico y después la columna
25 se lava con 300 ml de agua desionizada. Se recogen fraccio-
nes de 100 ml, partiendo de la primera aparición de sal a la
salida de la columna. La bioactividad aparece en las fraccio-
nes 1 a 10 con un máximo en la fracción 2. Se reúnen las
fracciones 2 a 5 que contienen el 17 % de la actividad apli-
cada.
30

1 Las fracciones reunidas se concentran hasta 110 ml
por evaporación rotatoria a presión reducida y el pH se
ajusta a 5,8 por adición de 4,2 ml de HCl 1 M. El concentra-
do ajustado se aplica a una columna de XAD-2, dimensiones
5 del lecho 3,8 x 50 cm, que ha sido previamente lavada con
3 litros de acetona acuosa al 60 % (en volumen), seguido de
3 litros de agua desionizada, 3 litros de cloruro sódico al
5 % en peso/volumen y 1 litro de cloruro sódico al 25 % en
peso/volumen en agua desionizada. El concentrado aplicado se
10 deja escurrir hasta el nivel del lecho. El antibiótico se
eluye con agua desionizada a un caudal de 15 ml/minuto. Se
recogen 22 fracciones de 100 ml cada una, contando a partir
de la primera aplicación de la muestra. La bioactividad apa-
rece en las fracciones 6 a 22, con un máximo en las fraccio-
nes 9 y 10. Se combinan las fracciones 9 a 20 para su poste-
rior transformación. Unas fracciones preparadas de forma si-
milar se combinan también y la mezcla se concentra a 70 ml
15 por evaporación rotatoria a presión reducida.

El concentrado se adsorbe en una columna de Dowex 1 x4
20 (Cl⁻), -400 mallas, dimensiones del lecho 2,2 x 27 cm. La
columna se lava con 50 ml de agua desionizada y el antibió-
tico se eluye con 2 litros de NaCl 0,070 M + NH₄Cl 0,005 M +
NH₃ 0,0001 M en agua desionizada, a un caudal de 2 ml por mi-
nuto. Se recogen fracciones de 9,5 ml.

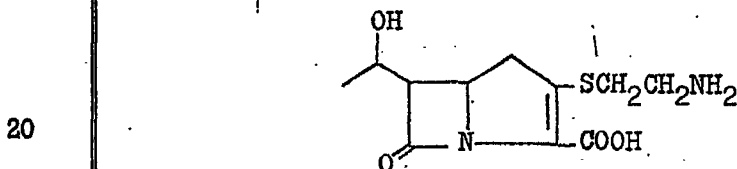
25 El pico principal de antibiótico se eluye en las frac-
ciones 152 a 163. Las fracciones 146 a 157 se combinan para
su posterior transformación.

30 Las fracciones 146-157 combinadas se concentran hasta
3 ml por evaporación rotatoria a presión reducida y el con-
centrado se lleva a pH 6,5 por adición de 5 ml de NH₃ 1 M.

1 El concentrado se aplica a una columna (2,2 x 70 cm) de
Bio-Gel P-2 (200-400 mallas) que ha sido lavada con 20 ml
de NaCl 5 M y 500 ml de agua desionizada. Después de que el
concentrado ha escurrido hasta el nivel del lecho, se apli-
5 can dos lavados de 1 ml cada uno de agua desionizada y se
deja escurrir hasta el nivel del lecho. Después la columna
se eluye con agua desionizada a un caudal de 0,6 ml por mi-
nuto. Se recogen fracciones de 2,9 ml.

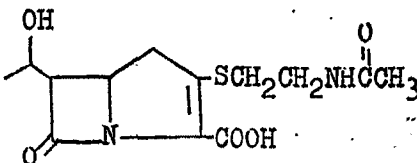
10 El pico principal de antibiótico se eluye en las frac-
ciones 63 a 70. Se reúnen las fracciones 64 y 65 para su pos-
terior transformación.

15 Las fracciones 64 y 65 combinadas se evaporan rotato-
riamente a presión reducida hasta 2 ml y después se conge-
lan en cápsulas y se liofilizan en un vial de tapa de rosca
de 14 ml, durante 8 horas, para dar 2,25 mg del antibió-
tico 890A₁ esencialmente puro. El grupo N-acetilo se escin-
de como se ha descrito antes para dar la base libre:



Producción de 890A₃, un isómero distinto

25



30

1 Se abre asépticamente un tubo de cultivo liofilizado de Streptomyces flavo-griseus MA-4434 (NRRL 8139) y el contenido se suspende en un tubo que contiene 0,8 ml de sales Davis estériles con la siguiente composición:

5 Sales Davis

Citrato sódico	0,5 g
K_2HPO_4	7,0 g
KH_2PO_4	3,0 g
$(NH_4)_2SO_4$	1,0 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1 g
Agua destilada	1000 ml

10 Esta suspensión se utiliza para inocular cuatro tubos inclinados de Medio A con la siguiente composición:

15 Medio A

Glicerol	20,0 g
Levadura primaria	5,0 g
Harina de pescado	15,0 g
Agua destilada	1000 ml
Agar	20,0 g

20 pH: ajustado a 7,2 con NaOH

Los tubos inclinados inoculados se incuban durante una semana a 27-28°C y después se mantienen a 4-6°C hasta que se utilizan (no más de 21 días).

25 Se utiliza un tercio del cultivo de cuatro tubos inclinados para inocular 12 Erlenmeyers de 250 ml, provisto de tabiques, que contienen 50 ml de Medio B, con la siguiente composición:

30

1

Medio B

Autolizado de levadura (⁺ Ardamine)	10,0 g
Glucosa	10,0 g
Tampón de fosfato ⁴	2,0 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	50 mg
Agua destilada	1000 ml

pH: ajustado a 6,5 con HCl o NaOH

⁺Ardamine: Yeast Products Corporation

⁴Solución tampón de fosfato

10

KH ₂ PO ₄	91,0 g
Na ₂ HPO ₄	95,0 g
Agua destilada	1000 ml

15

El matraz de siembra se sacude durante un día a 27-28°C en un sacudidor a 220 rpm (recorrido 2", 5 cm). El matraz y su contenido se mantienen estacionarios durante un día a 4°C.

20

Cuarenta y cuatro Erlenmeyers de producción, de 2 litros, conteniendo cada uno de ellos 200 ml de Medio C, se inoculan con 8 ml por Erlenmeyer del cultivo del matraz de siembra. El Medio C tiene la siguiente composición:

25

Medio C

Pasta de tomate	20,0 g
Levadura primaria	10,0 g
Dextrina (Amidex)	20,0 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	5,0 mg
Agua destilada	1000 ml

pH: ajustado a 7,2-7,4 con NaOH.

30

Después de la inoculación, los matraces de producción se incuban a 24°C, agitando en un sacudidor a 212 rpm (re-

1 corrido 2", 5 cm), durante 4 días y 5 horas. Se cosechan los
matraces y se analiza la actividad utilizando placas de aná-
lisis patrón de Salmonella gallinarum MB 1287 y Vibrio per-
5 colans ATCC 8461, empleando discos de ensayo de 0,5" (12,7
mm) sumergidos en muestras de caldo centrifugado. Las mues-
tras se diluyen con tampón de fosfato 0,02 M, pH 7,0, cuando
sea necesario. Los resultados están tabulados a continua-
ción:

10	Edad de la cosecha, horas	101
	pH	7,2
	<u>Salmonella gallinarum</u> (mm de la zona)	35
	<u>Vibrio percolans</u> dilución 1/10 (mm de la zona)	34
	Unidades de 890 A	121

15 El total de 7,0 litros de caldo completo obtenido en esta fermentación se enfría a 3°C y se centrifuga en porciones de 200 ml a 9000 rpm durante 15 minutos cada una. A los líquidos sobrenadantes combinados se añaden 1,7 ml de EDTA neutro 0,1 M y la mezcla se mantiene a 3°C.

20 La fermentación anterior se repite en condiciones idénticas a excepción de que los 44 Erlenmeyers de producción de 2 litros se inoculan con 7 ml por Erlenmeyer con el cultivo del matraz de siembra. El pH y los resultados de los análisis se encuentran a continuación:

25	Edad de la cosecha, horas	101
	pH	7,3
	<u>Salmonella gallinarum</u> (mm de la zona)	38
	<u>Vibrio percolans</u> dilución 1/10 (mm de la zona)	39
30	Unidades de 890 A	92,8

1 El total de 7,4 litros de caldo completo obtenido en
esta fermentación se enfría a 3°C y se centrifuga en porcio-
nes de 200 ml, a 9000 rpm, durante 15 minutos cada una. A
los líquidos sobrenadantes combinados se añaden 1,8 ml de
5 EDTA neutro 0,1 M.

El líquido sobrenadante del caldo centrifugado resul-
tante de las dos fermentaciones anteriores de este ejemplo
se combina para dar un volumen total de 13 litros.

10 Los líquidos sobrenadantes combinados se pasan por una
columna de Dowex 1 x 2 (Cl⁻), 50-100 mallas, con unas dimen-
siones del lecho de 4,7 cm x 50 cm, a un caudal de 60 ml por
minuto. La columna se lava con 1 litro de agua desionizada
y el antibiótico se eluye con 5 litros de solución de NaCl
al 5 % en peso/volumen conteniendo tampón de Tris-HCl 0,01 M,
15 pH 7,0, y EDTA neutro 25 µM. Se recogen fracciones de 220 ml
a un caudal de 50 ml por minuto y las fracciones se analizan
sobre placas de Salmonella gallinarum MB 1287.

20 La actividad del antibiótico aparece en las fraccio-
nes 3 a 26, con un máximo en las fracciones 5 y 6. Se combi-
nan las fracciones 5 a 9 para su posterior transformación.
El pH de las fracciones combinadas es 7,8 y las fracciones
combinadas contienen el 24 % de la bioactividad inicial,
medida sobre placas de Salmonella gallinarum MB 1287.

25 Las fracciones 5 a 9 combinadas se concentran hasta
150 ml por evaporación rotatoria a presión reducida y se
aplican a una columna (dimensiones del lecho 4,9 x 47 cm) de
XAD-2 que ha sido lavada con 5 litros de acetona acuosa al
60 % (en volumen), seguido de 5 litros de agua desionizada
y 5 litros de una solución de 50 g/litro de NaCl en agua
30 desionizada. La muestra se aplica en porciones de 20 ml,

1 escurriendo la columna hasta el nivel del lecho cada vez.
Cuando la aplicación es completa, se aplican tres porciones
de 20 ml de agua desionizada y se escurre hasta el nivel del
lecho cada vez. La muestra se eluye con agua desionizada a
5 un caudal de 20 ml por minuto. Todas las operaciones que im-
plican la columna de XAD se realizan a la temperatura ambien-
te (24°C) y las fracciones que se eluyen son rápidamente
enfriadas en un baño de hielo inmediatamente después de re-
cogidas. Se recogen las fracciones de 95 a 230 ml.

10 La actividad antibiótica aparece en las fracciones 2
a 21, medida por análisis en placas de Salmonella gallinarum
MB 1287, con un máximo en las fracciones 5 a 7 (desde 510
hasta 895 ml de volumen eluido, contando desde la primera
aplicación de agua desionizada). Se reúnen las fracciones 6
15 a 21.

Las fracciones 6 a 21 reunidas se concentran hasta
68 ml por evaporación rotatoria a presión reducida y después
se diluyen hasta 112 ml por adición de agua desionizada. El
concentrado se aplica a una columna (dimensiones del lecho
20 2,2 cm x 21 cm) de Dowex 1 x 4 (Cl⁻), -400 mallas. La columna
se lava con 20 ml de agua desionizada y los antibióticos se
eluyen con 2 litros de NaCl 0,07 M + NH₄Cl 0,005 M + NH₃
0,0001 M en agua desionizada a un caudal de 1,6 ml por mi-
nuto. Se recogen fracciones de 8 ml cada una. Las fracciones
25 157-179 contienen la máxima actividad y se reúnen.

Estas fracciones reunidas se concentran por evapora-
ción rotatoria a presión reducida hasta 7 ml y el pH se ajusta
a 7,5 por adición de 20 µl de NaOH 1 M. La solución se
concentra de nuevo hasta 5 ml y se aplica a una columna
30 (2,2 x 75 cm) de Bio-Gel P-2, 200-400 mallas. La muestra se

1 lava en el lecho de la columna con dos lavados de 1 ml cada
uno de agua desionizada y se eluye con agua desionizada a un
caudal de 0,6 ml por minuto. Se recogen diez fracciones de
3,3 ml, seguidas de 60 fracciones de 2,65 ml y 10 fracciones
5 de 2,0 ml.

Las fracciones se ajustan a pH 7,5-8,0 por adición de
1,5 a 2,5 μ l de NaOH 0,1 M. Las fracciones 62, 63, 64 y 65
se congelan y liofilizan individualmente en viales de vidrio
de 14 ml y se mantienen a -20°C a vacío.

10 Para aislar el antibiótico 890A₃ exento de 890A₁, se
aprovecha la resistencia relativamente mayor del antibió-
tico 890A₃ a la degradación por la penicilinas, como sigue:

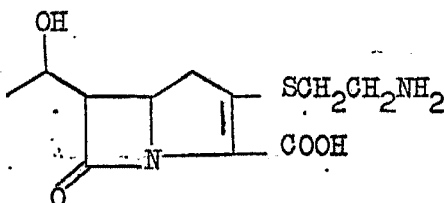
La fracción 63 de la columna de Bio-Gel se combina
con las fracciones 61, 66 y 67 de la columna de Bio-Gel. A
15 estas cuatro fracciones combinadas se añaden 0,2 ml de tam-
pón de Tris-HCl 1 M, pH 7,5, y 0,2 ml de penicilinas
("Bacto-Penase" Difco). Después de 113 minutos a 23°C , se
añaden otros 0,2 ml de penicilinas. Después de 7 horas más
a la temperatura ambiente, se añaden otros 0,2 ml de penici-
linasa y después de 2 horas más a la temperatura ambiente,
20 la mezcla de reacción se enfría en un baño de hielo. La mez-
cla de reacción terminada se diluye hasta 15 ml por adición
de 5 ml de agua desionizada.

La mezcla de reacción se adsorbe en una columna de
25 Dowex 1 x 4 (Cl^-), -400 mallas, dimensiones del lecho 2,15 x
40 cm. El antibiótico 890A₃ se eluye con NaCl 0,07 M + NH_4Cl
0,005 M + NH_3 0,0001 M en agua desionizada; a un caudal de
3 ml por minuto. Se recogen fracciones de 13,8 ml cada una.
Se combinan las fracciones 187 a 200.

30 Las fracciones combinadas se concentran hasta 4 ml por

1 evaporación rotatoria a presión reducida y el concentrado
se aplica a una columna (2,2 x 70 cm) de Bio-Gel P-2, 200-
400 mallas. El antibiótico 890A₃ se eluye con agua desioni-
5 zada a un caudal de 0,6 ml por minuto. Se recogen 30 frac-
ciones de 3,3 ml seguidas de 50 fracciones de 2,65 ml.

Se combinan las fracciones 66 a 70 y las muestras
reunidas se concentran hasta 1,5 ml por evaporación rotato-
ria a presión reducida y el concentrado se congela y liofi-
liza para dar 5,4 mg de sólido que contiene el antibiótico
10 890A₃ más sales residuales. El grupo N-acetilo se escinde
como se ha descrito antes para dar la base libre.

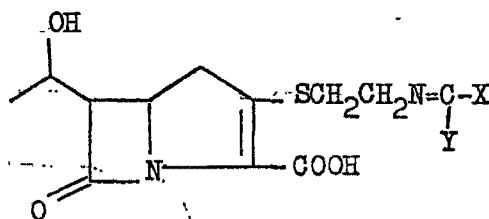


15

En resumen, la Patente de Invención que se solici-
ta deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de nuevos
20 derivados N-metilénicos de tienamicina de fórmula:



25 y las sales, ésteres, éteres y amidas derivados del mismo
farmacéuticamente aceptables, donde Y es -NR¹R² y X es hi-
drógeno o R al mismo tiempo

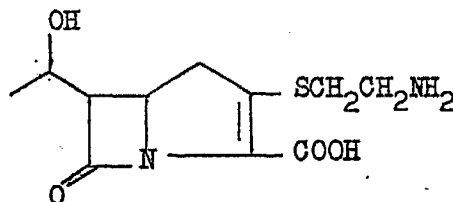
R¹ y R² están seleccionados independientemente en-
tre R, hidrógeno, nitro, hidroxilo, alcoxi de 1 a 6 átomos
30 de carbono, amino, mono-, di- y tri-alquilamino donde los

1 radicales alquilo contienen cada uno de ellos de 1 a 6 áto-
mos de carbono; R^1 y R^2 pueden estar unidos para formar un
heteroarilo o un heterociclo, monocíclicos o bicíclicos,
sustituídos o no sustituídos, que contiene (junto con el
5 átomo de nitrógeno al que están unidos) de 4 a 10 átomos de
los que uno o más pueden ser un heteroátomo adicional selec-
cionado entre oxígeno, azufre o nitrógeno;

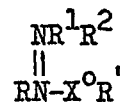
10 R, R^1 y R^2 son grupos sustituídos o no sustituídos
seleccionados entre: ciano; hidrógeno; carbamilo; carboxi-
lo; alcóxicarbonilo y alquilo de 1 a 10 átomos de carbono;
alqueno de 2 a 10 átomos de carbono; alquino de 2 a 10
átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;
cicloalquilalquilo y cicloalquilalqueno de 4 a 12 átomos
de carbono; cicloalqueno, cicloalquenalqueno y cicloal-
15 quenalquilo de 3 a 10, 4 a 12 y 4 a 12 átomos de carbono,
respectivamente; arilo de 6 a 10 átomos de carbono, aralqui-
lo, aralqueno y aralquino de 7 a 16 átomos de carbono;
heteroarilo y heteroaralquilo monocíclicos y bicíclicos con-
teniendo de 4 a 10 átomos en el anillo de los que uno o más
20 es un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, azufre o ni-
trógeno y donde el radical alquilo del radical heteroaral-
quilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono; heterociclo y he-
terocicloalquilo monocíclicos y bicíclicos que contienen de
4 a 10 átomos en el anillo de los que uno o más es un hete-
25 roátomo seleccionado entre oxígeno, azufre o nitrógeno y
donde el radical alquilo del radical heterocicloalquilo con-
tiene de 1 a unos 6 átomos de carbono;

30 y donde el sustituyente o sustituyente antes menciona-
dos sobre R, R^1 , R^2 o sobre el anillo formado por la unión
de R^1 y R^2 están seleccionados entre el grupo formado por:

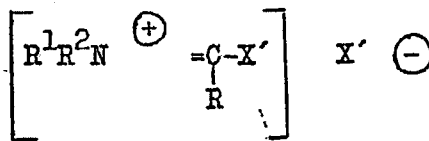
1 cloro, bromo, yodo y fluor; azido, alquilo de 1 a 4 átomos
 de carbono; tio, sulfo, fosfona; cianotio(-SCN); nitro;
 5 ciano; amino; hidrazino; mono-, di- y tri-alquil-amino e
 hidrazino donde el grupo alquilo contiene de 1 a 6 átomos
 de carbono; hidroxilo; alcoxilo de 1 a 6 átomos de carbono;
 alquiltio de 1 a 6 átomos de carbono; carboxilo; oxo; alco-
 xicarbonilo de 1 a 6 átomos de carbono en el radical alcoxi;
 10 aciloxi de 2 a 10 átomos de carbono; carbamoilo y mono- y
 di-alquilcarbamoilo donde los grupos alquilo contienen cada
 uno de ellos de 1 a 4 átomos de carbono, cuyo procedimiento
 consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula:



o un derivado O-, y/o carboxílico adecuado del mismo, con
 un compuesto seleccionado entre un imidoéster de fórmula:



y un imidohaluro de fórmula:



donde $-\text{X}^0\text{R}''$ es un grupo saliente y X' es halógeno y X^0 es
 oxígeno o azufre.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1,
 donde R^1 y R^2 están seleccionados independientemente entre
 el grupo formado por hidrógeno y los siguientes grupos sus-
 tituidos y no sustituidos: alquilo de 1 a 6 átomos de carbo-

30

1 no; alqueno de 3 a 6 átomos de carbono; cicloalquilo, cicloalquilalquilo cicloalqueno y cicloalquenalquilo de
3 a 6, 4 a 7, 4 a 6 y 4 a 7 átomos de carbono, respectivamente; aralquilo y aralqueno de 7 a 10 átomos de carbono;
5 y heteroaralquilo monocíclico de 5 a 6 átomos en el anillo de los que uno o más está seleccionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno y 1-3 átomos de carbono en el radical alquilo; donde el sustituyente o sustituyentes del anillo o de la cadena relativos a la definición de R^1 y R^2 están seleccionados entre el grupo formado por cloro, fluor, hidroxilo,
10 alcoxilo de 1 a 3 átomos de carbono, dialquilamino de 1 a 3 átomos de carbono en cada radical alquilo y alquiltio de 1 a 3 átomos de carbono;

R está seleccionado entre el grupo formado por hidrógeno; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; alqueno de 2 a 6 átomos de carbono; alcoxilalquilo de 2 a 6 átomos de carbono; mono-, di- y tri-alquil(inferior)-aminoalquilo de 2 a 12 átomos de carbono; perfluoralquilo de 1 a 6 átomos de carbono; alquiltio-alquilo de 2 a 6 átomos de carbono;
15 los siguientes grupos sustituidos y no sustituidos: fenilo; bencilo; fenetilo; heteroarilo, heteroaralquilo, heterociclo y heterocicloalquilo monocíclicos; donde el sustituyente o los sustituyentes están seleccionados entre el grupo formado por cloro, fluor, hidroxilo, alcoxilo de 1 a 3 átomos de carbono, dialquilamino de 1 a 3 átomos de carbono en cada radical alquilo y alquiltio de 1 a 3 átomos de carbono.
20
25

3. Un procedimiento según la Reivindicación 2, donde R^1 y R^2 están seleccionados independientemente entre el grupo formado por hidrógeno; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y alqueno de 2 a 6 átomos de carbono y R está se-

1 leccionado independientemente entre el grupo formado por
hidrógeno; alquilo; alcoxialquilo; mono- y dialquilaminoali
5 lo en donde cada uno de los radicales alquilo comprende de
1 a 6 átomos de carbono, el aminoalquilo tiene de 1 a 6 áto-
mos de carbono; perfluoralquilo; alquiltioalquilo y los si-
guientes grupos sustituidos y no sustituidos; fenilo; ben-
cilo; fenetilo; y heteroarilo, heteroaralquilo, heterociclo
y heterocicloalquilo monocíclicos.

4. Un procedimiento según la Reivindicación 3,
10 donde R está seleccionado entre el grupo formado por hidró-
geno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, metoximetilo, hi-
droxietilo, hidroximetilo, aminometilo, aminoetilo, aminopro-
pilo, dimetilaminometilo, metilaminometilo, trifluormetilo,
metiltiommetilo, etiltiommetilo, fenilo, bencilo, fenetilo,
15 2-, 3- y 4-piridilo, 2-tiazolilo y 4-tiazolilo y R^1 y R^2
están seleccionados independientemente entre el grupo for-
mado por hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, bu-
tilo, t-butilo, alilo y bencilo.

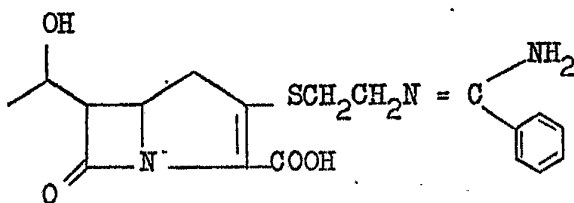
5. Un procedimiento según la Reivindicación 3,
20 donde R^1 , R^2 y R están seleccionados independientemente entre
el grupo formado por hidrógeno, alquilo y aminoalquilo de 1
a 6 átomos de carbono y alqueno de 2 a 6 átomos de carbono.

6. Un procedimiento según la Reivindicación 5,
en el que R_1 y R_2 son hidrógeno y R es aminoalquilo.

7. Un procedimiento según la reivindicación 6,
25 en el que R es aminoetilo.

8. Un procedimiento según la Reivindicación 3,
de la siguiente estructura.

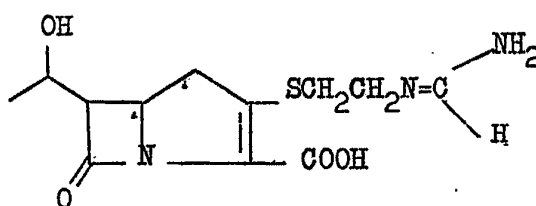
1



5

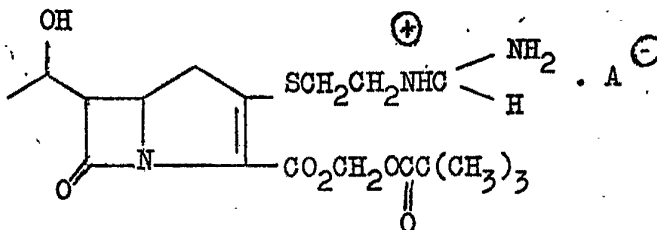
9. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:

10



15

10. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:

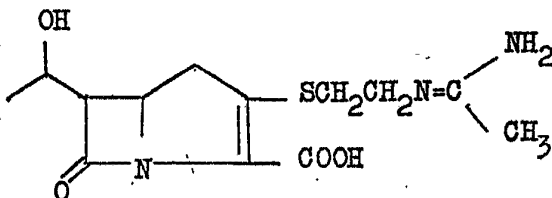


donde A es un radical salino aniónico farmacéuticamente aceptable.

20

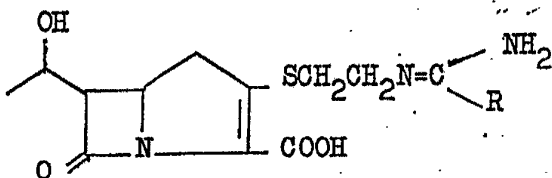
11. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:

25



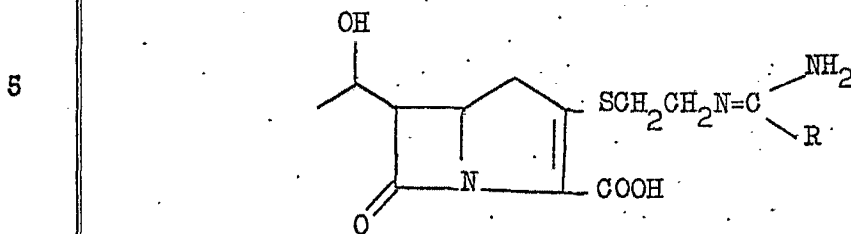
Handwritten signature
30

12. Un procedimiento según la Reivindicación 3, de la siguiente estructura:



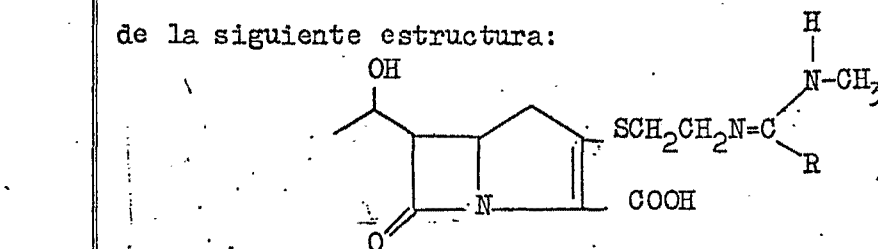
1 donde R es 3-piridilo.

13. Un procedimiento según la Reivindicación 3, de la siguiente estructura:

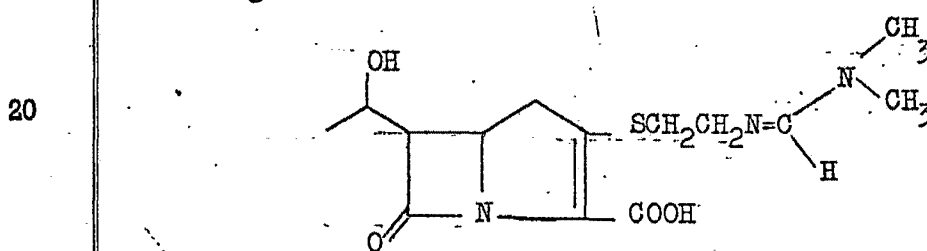


donde R es 4-tiazolilo.

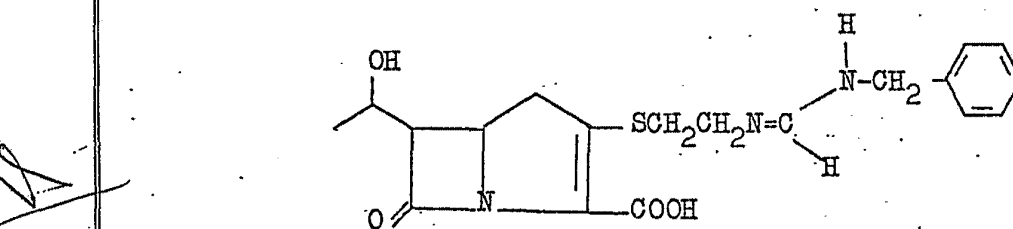
10 14. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:



15. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:



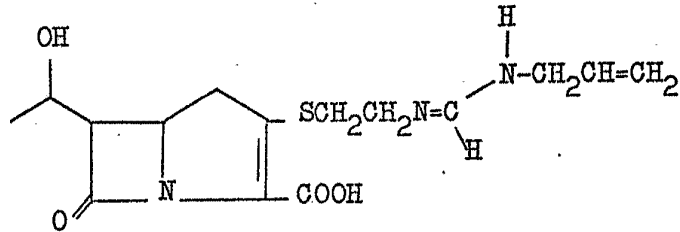
25 16. Un procedimiento según la reivindicación 4, de la siguiente estructura:



1

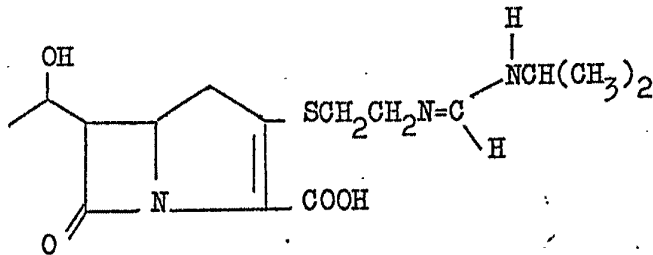
17. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:

5



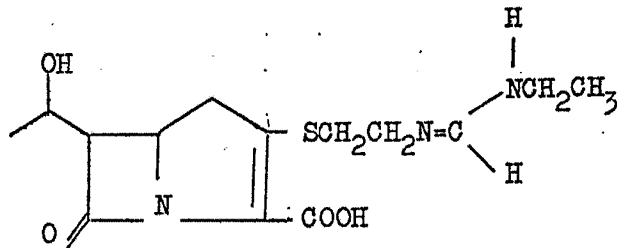
10

18. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:



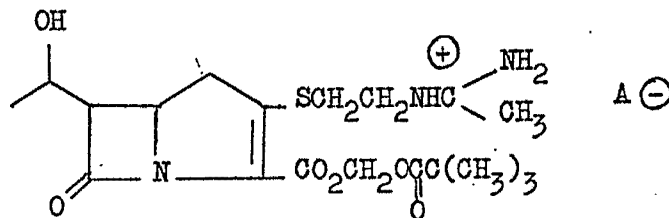
15

19. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:



20

20. Un procedimiento según la Reivindicación 5, de la siguiente estructura:



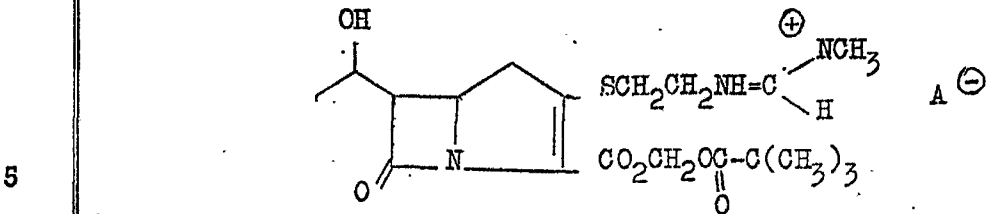
25

donde A es un radical salino aniónico farmacéuticamente aceptable.

Handwritten signature
30

21. Un procedimiento según la Reivindicación 5,

1 de la siguiente estructura:



donde A es un radical salino aniónico farmacéuticamente aceptable.

22. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
10 UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS N-METILENICOS DE TIENAMICINA.

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de ciento cincuenta y ocho páginas mecanografiadas.
15

Madrid, 19 noviembre 1.976
BERNARDO UNGRIA
p-p.

20

25

30