



ESPAÑA

ES	11	NUMERO	A1
	21	463456	
	22	FECHA DE PRESENTACION	
		21 OCT. 1977	

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

20 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
31	NUMERO				
	P 26 47 807.9		22 de Octubre de 1976		República Federal Alemana

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C07H//A61K		

54	TITULO DE LA INVENCION
	PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE GARAMINA Y DERIVADOS DE GARAMINA

71	SOLICITANTE (ES)
	MERCK PATENT GESELLSCHAFT MIT BESCHRANKTER HAFTUNG

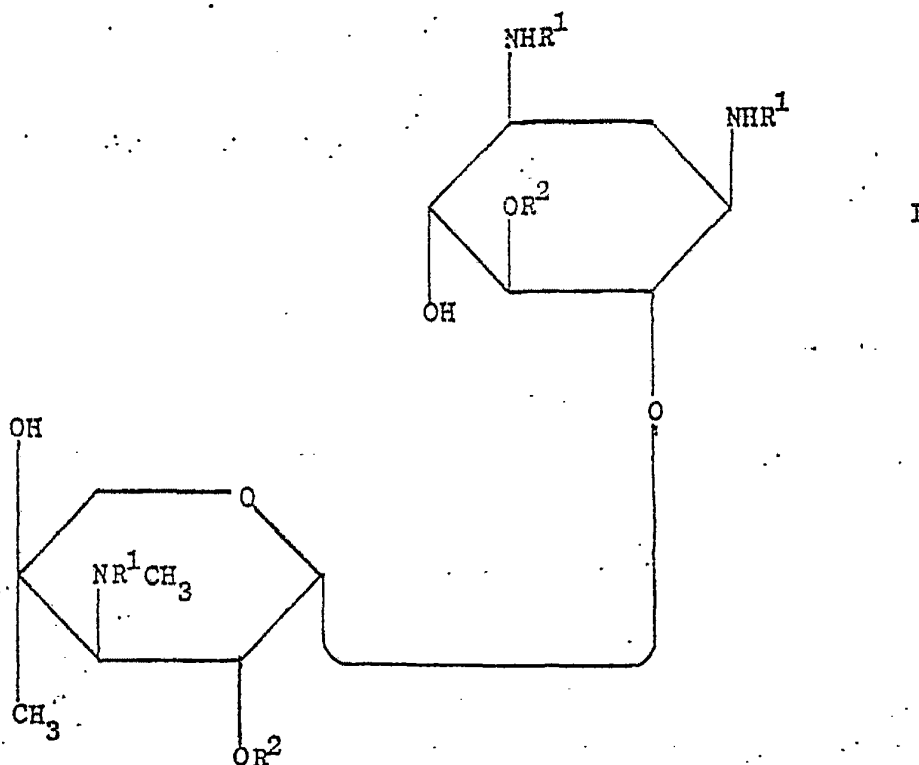
	DOMICILIO DEL SOLICITANTE
	61 Darmstadt 2 República Federal Alemana

72	INVENTOR (ES)
	Prof. Dr. Hans Paulsen, Dr. Peter Stadler Folkhard Tödter

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	Gomez-Acebo

La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de garamina y derivados de garamina de fórmula general I



5 donde los restos  $R_1$ , en cada caso significan H ó grupos protectores amino y los restos  $R_2$ , en cada caso significan H ó grupos protectores hidroxí.

En los productos del procedimiento se trata, en detalle, de la garamina (I,  $R^1 = R^2 = H$ ) y de aquellos derivados de esta sustancia en los cuales los amino y/o hidroxí están total o parcialmente protegidos.

10

La garamina es conocida, los productos del procedimiento protegidos son en parte conocidos, en parte nuevos.

Los compuestos de fórmula I son valiosos productos intermedios para la obtención de antibióticos de aminoglicósido semi-sintéticos, que están emparentados con las gentamicinas, clínicamente importantes.

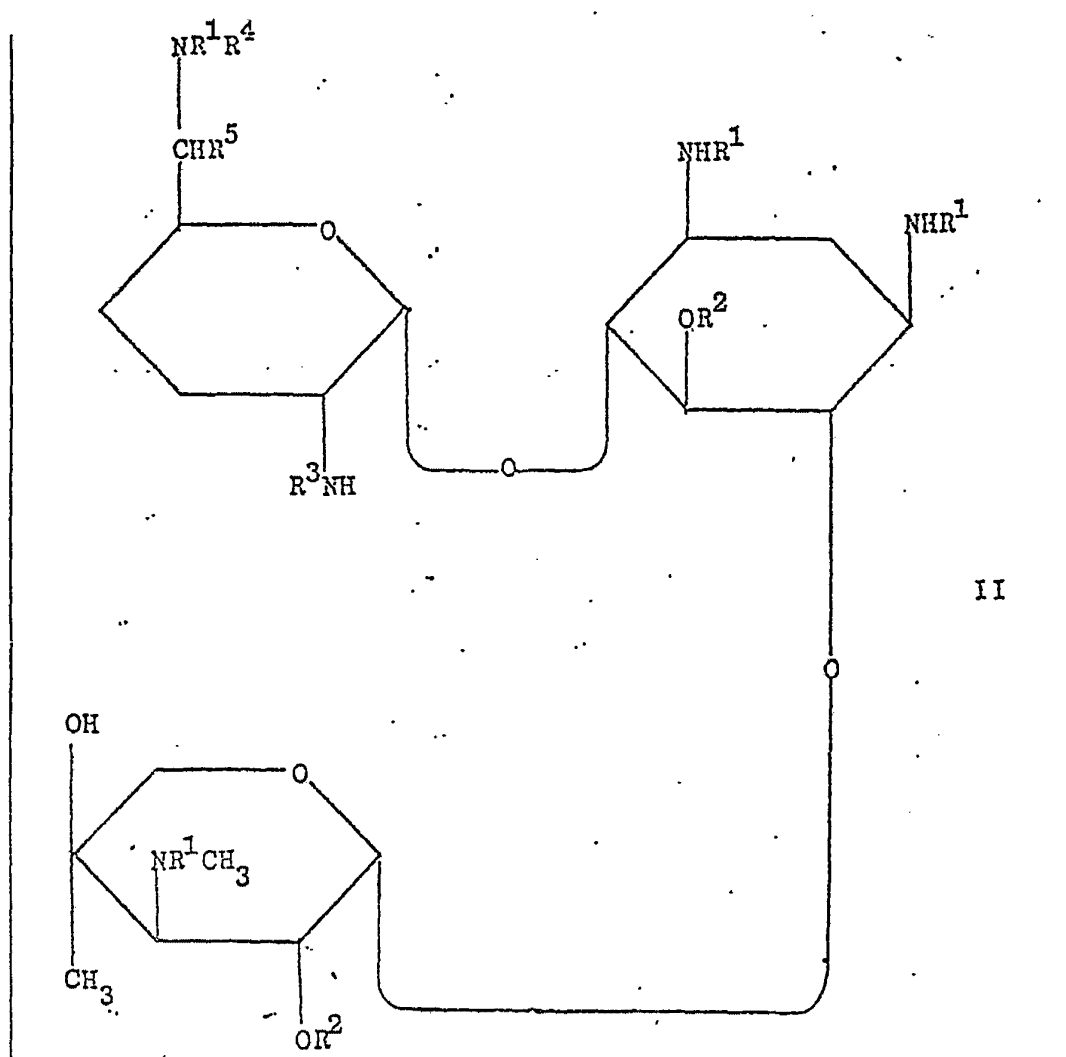
15

La garamina se obtenía hasta ahora solo por hidrólisis parcial de sisomicina. En la sisomicina se puede disociar con relativa facilidad la unidad de la 2,6-diaminoazúcar insaturada, con lo que entonces se obtiene la unidad garamina. Para la hidrólisis se emplea por regla general penta-N-carbobenzoxi-sisomicina. Según las indicaciones de la literatura (véase J. C. S. Perkin 1976, pág. 1088) la garamina, por el contrario, no se puede obtener de las gentamicinas C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> y C<sub>1a</sub> clínicamente importantes (o del complejo de gentamicina natural, una mezcla de estas sustancias) ya que debido a la presencia de un grupo 2'-amino los enlaces glicósido de la unidad purpurosamina son más estables con respecto a la hidrólisis ácida.

La invención tenía por objeto hallar un ulterior procedimiento mejor para la obtención de garamina, a partir de gentamicina. Este cometido se solucionó mediante la puesta a disposición del procedimiento según la presente invención.

Se ha descubierto, sorprendentemente, que de la gentamicina (en forma del complejo o en forma de las distintas gentamicinas individuales) por disociación parcial en medio ácido se pueden obtener la garamina y derivados de garamina si se parte de un derivado de gentamicina que contenga como mínimo en la posición 2' un grupo amino protegido por un grupo acilo. Los demás grupos funcionales (amino o hidroxilo) en el producto de partida pueden estar protegidos o sin proteger.

El objeto de la invención es un procedimiento para la obtención de garamina y derivados de garamina de fórmula I por disociación selectiva de derivados funcionales de antibióticos de sacáridos que contengan la unidad garamina, con ácidos fuertes, caracterizado porque como compuesto de partida se emplea un compuesto de fórmula general II



5 donde  $R^3$  significa un grupo acilo y  $R^4$  y  $R^5$ , en cada caso, significan H ó  $CH_3$  y  $R^1$  y  $R^2$  tienen el significado arriba indicado y, si se desea, en el producto obtenido los grupos protectores en caso dado existentes se retiran hidrolítica o hidrogenolíticamente en forma en si conocida.

10 Los compuestos de partida de fórmula II comprenden esencialmente la gentamicina  $C_1$ , gentamicina  $C_2$  y gentamicina  $C_{1a}$ , así como el complejo gentamicina natural (una mezcla de estas sustancias), además, sagamicina así como sus derivados que en lugar de uno o varios grupos amino y/o hidroxí libres contengan grupos amino y/o hidroxí protegidos, debiéndose presentar sin embargo siempre el grupo amino en la posición 2' en forma acilada. Los productos de partida de fórmu-

la II son esencialmente conocidos; los compuestos de partida de fórmula II nuevos se pueden obtener análogo a los conocidos según métodos conocidos por la literatura.

En los compuestos de fórmula I y II significan los restos  $R^1$  en cada caso H ó (preferentemente) grupos protectores amino. Los distintos restos  $R^1$  pueden ser aquí iguales o distintos entre si, tambien pueden significar grupos protectores amino distintos entre si. Sin embargo, los grupos protectores amino existentes en una molécula serán preferentemente iguales entre si.

La expresión "grupo protector amino" es generalmente conocida y se refiere a grupos que son adecuados para proteger (bloquear) un grupo amino contra reacciones químicas, pero que son fáciles de retirar después de que se ha realizado la reacción química deseada en otros lugares de la molécula. Típico de tales grupos son especialmente los grupos acilo insustituídos o sustituidos, además, los grupos arilo insustituídos o sustituidos (por ejemplo, 2,4-dinitrofenilo) o aralquilo (por ejemplo, bencilo, 4-nitrobencilo, trifenilmetilo). Como los grupos protectores amino se retiran después la reacción deseada (o secuencia de reacciones), su clase y magnitud no es por demás crítica; preferentemente se emplearán, sin embargo, aquellos con 1 - 20, especialmente 1 - 8 átomos de carbono. La expresión "grupo acilo" se comprenderá en relación con el presente procedimiento en el más amplio sentido. Comprende los grupos acilo derivados de ácidos carboxílicos alifáticos, aralifáticos, aromáticos o heterocíclicos ó de ácidos sulfónicos, así como especialmente los grupos alcóxicarbonilo, arilóxicarbonilo y, ante todo, aralcóxicarbonilo. Ejemplos de tales grupos acilo son alcancóilo, tal como acetilo, propionilo, butirilo; aralcanóilo, tal como fenilacetilo; aroilo, tal como benzoilo ó toluilo; alcóxicarbonilo tal como metóxicarbonilo, etóxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetóxicarbonilo, terc.butoxicarbonilo, 2-iodoetóxicarbonilo;

aralcoxicarbonilo, tal como benciloxicarbonilo ("carbobenzoxi"), 4-metoxibenciloxicarbonilo, etc. Grupos acilo preferentes son carbobenzoxi y acetilo.

5 En las fórmulas I y II significan los restos  $R^2$  en cada caso H ó (preferentemente) grupos protectores hidroxilo, pudiendo estos ser iguales o diferentes entre si. En caso de que los restos  $R^2$  signifiquen grupos protectores hidroxilo estos serán preferentemente iguales; pero también pueden ser diferentes entre si.

10 La expresión "grupo protector hidroxilo" es asimismo generalmente conocida y se refiere a grupos que son adecuados para proteger un grupo hidroxilo contra reacciones químicas, pero que se pueden retirar fácilmente después de haberse realizado la reacción química en otros lugares de la molécula. Típico de tales grupos son los grupos arilo, aralquilo o acilo insustituídos o sustituidos arriba mencionados, además, también los grupos alquilo. La naturaleza y magnitud  
15 de los grupos protectores hidroxilo no es crítica, ya que se retiran después de la reacción o secuencia de reacciones químicas deseadas; tienen preferencia los grupos con 1 - 20, especialmente 1 - 10 átomos de carbono. Ejemplos de grupos protectores hidroxilo son, entre otros,  
20 bencilo, p-nitrobenzoilo, p-toluenosulfonilo y acetilo, teniendo especial preferencia bencilo y acetilo.

El resto  $R^3$  en los compuestos de fórmula II significa uno de los grupos acilo arriba mencionados (en el amplio sentido). También aquí tiene preferencia el grupo carbobenzoxi y, en segundo  
25 lugar, el grupo acetilo.

En caso de que uno o varios de los restos  $R^1$  signifique (un) grupo(s) protector(es) amino entonces este (estos) es (son) preferentemente el (los) mismo(s) como el resto  $R^3$ , especialmente carbobenzoxi.

30 La disociación de los compuestos de fórmula II a los com-

puestos de fórmula I se logra con ácidos fuertes, convenientemente con ácido trifluoracético o ácido perclórico, pero también con otros ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tal como ácido tricloroacético o ácidos sulfónicos, tales como ácido benceno- ó p-toluenosulfónico. La presencia de un disolvente inerte adicional es posible, pero por regla general no es necesario. Como disolventes inertes son adecuados preferentemente los disolventes orgánicos hidrosolubles, por ejemplo; los ácidos carboxílicos, tal como ácido acético, los éteres, tales como tetrahidrofurano o dioxano, las cetonas tal como acetona, los nitrilos, tal como acetonitrilo, además también los alcoholes, tales como metanol, etanol ó isopropanol, así como agua. También entran en consideración las mezclas de los disolventes mencionados. El ácido trifluoracético se emplea preferentemente en exceso sin la adición de un ulterior disolvente, el ácido perclórico en forma de una mezcla de ácido acético y ácido perclórico al 70 % en una proporción de 9:1. Las temperaturas de reacción para la disociación se encuentran preferentemente entre unos 0 y unos 50°, preferentemente se trabaja entre 15 y 30° (temperatura ambiente).

Preferentemente se efectúa la disociación en medio anhidro o como mínimo pobre en agua, por ejemplo, con contenidos en agua inferiores a un 5, preferentemente inferiores a un 1 %.

Como agente de disociación tiene especial preferencia el ácido trifluoracético; se emplea convenientemente a temperatura ambiente y se puede recuperar por destilación,

Si se desea, los grupos protectores existentes en el producto obtenido se pueden retirar en forma conocida hidrolítica o hidrogenolíticamente.

Una eliminación hidrolítica de los grupos protectores se ha efectuar bajo condiciones benignas para que simultaneamente no se di-

socien los enlaces éter en la molécula de garamina. Convenientemente se hidroliza en medio alcalino.

Los grupos protectores hidrogenolíticamente eliminables (por ejemplo, carbobenzoxi o bencilo) se pueden disociar, por ejemplo, 5 por tratamiento con hidrógeno en presencia de un catalizador (por ejemplo, de un catalizador de metal noble, tal como paladio, convenientemente sobre un soporte tal como carbón). Como disolventes son adecuados en la hidrogenólisis, por ejemplo, los alcoholes tales como metanol o etanol. La hidrogenólisis se efectúa por regla general a tem- 10 peraturas entre unos 0 y unos 100° y a presiones entre 1 y 200 atmósferas aproximadamente, preferentemente a 20 - 30° y 1 - 10 atmósferas.

Los productos del procedimiento, donde todos los grupos amino así como los dos grupos hidroxilo en la posición 2' y 5 están protegidos, tienen preferencia. Estos compuestos contienen solo un grupo 15 hidroxilo reactivo en la posición 4 que queda disponible para ulteriores reacciones, por ejemplo, con haluros de glucopiranosilo sustituidos adecuadamente a análogos de la gentamicina (véase publicación alemana DOS 23 49 974).

#### Ejemplo 1

20 a) Una solución de 3 g de penta-N-carbobenzoxi-gentamicina (obtenible por goteado de cloroformiato de bencilo a una solución de complejo de gentamicina en solución acuosa de carbonato sódico a 0°) en 10 cc de ácido trifluoroacético se deja reposar durante 2,5 ho- 25 ras a 25°, se evapora, se mezcla dos veces, cada una con 6 cc de tolueno y nuevamente se evapora. El tratamiento del residuo con 10 cc de éter, nueva evaporación y cromatografía en gel de sílice (eluyente: diclorometano : metanol 10 : 1) suministra la tri-N-carbobenzoxi-garamina del p.f. 105 - 110°.

El mismo producto se obtiene en forma análoga de penta-N-

carbобенzoxi-gentamicina C<sub>1</sub>, penta-N-carbобенzoxi-gentamicina C<sub>2</sub>, penta-N-carbобенzoxi-gentamicina C<sub>1a</sub> ó penta-N-carbобенzoxi-sagamicina.

5 b) Hidrogenólisis de 2,02 g de tri-N-carbобенzoxi-garamina en 100 cc de metanol en 1 g de Pd-carbón al 10 % a 25° y 3,4 atmósferas suministra en forma conocida garamina, p.f. 89 - 99°.

10 c) Una solución de 500 mg de tri-N-carbобенzoxi-garamina y 2 g de NaOH en 20 cc de dioxano y 20 cc de agua se hierve durante 18 horas, se enfría, se neutraliza con resina Amberlit IRC-50. La resina se lava con agua y se eluye con solución de amoníaco 1,5-n. Se evapora hasta sequedad, se cromatografía en gel de sílice (eluyente: fase inferior de un sistema cloroformo-metanol-hidróxido amónico concentrado (2 : 1 : 1) y se obtiene la garamina del p.f. 89 - 99°.

#### Ejemplo 2

15 Análogo al ejemplo 1 se obtiene de di-O-acetil-penta-N-carbобенzoxi-gentamicina (obtenible por dejar reposar durante 24 horas penta-N-carbобенzoxi-gentamicina con anhídrido acético en piridina a 20° y calentamiento a continuación durante 9 horas a 75°) con ácido trifluoroacético (tiempo de reacción: 1 hora) la 2',5-di-O-acetil-tri-  
20 N-carbобенzoxi-garamina del p.f. 107 - 112°.

El mismo producto se obtiene en forma análoga de di-O-acetil-penta-N-carbобенzoxi-gentamicina C<sub>1</sub>, di-O-acetil-penta-N-carbобенzoxi-gentamicina C<sub>2</sub>, di-O-acetil-penta-N-carbобенzoxi-gentamicina C<sub>1a</sub> ó di-O-acetil-penta-N-carbобенzoxi-sagamicina.

#### 25 Ejemplo 3

Análogo al ejemplo 1 se obtiene de di-O-bencil-penta-N-carbобенzoxi-gentamicina (obtenible agitando durante media hora 600 mg de penta-N-carbобенzoxi-gentamicina con hidruro sódico en dimetilformami-

da a 0°, goteado de bromuro de bencilo y a continuación agitación durante 3,5 horas a 0°) la 2',5-di-O-bencil-tri-N-carbobenzoxi-garamina, p.f. 77 - 80°.

El mismo producto se obtiene en forma análoga de di-O-bencilpenta-N-carbobenzoxi-gentamicina C<sub>1</sub>, di-O-bencil-penta-N-carbobenzoxi-gentamicina C<sub>2</sub>, di-O-bencil-penta-N-carbobenzoxi-gentamicina C<sub>1a</sub> ó di-O-bencil-penta-N-carbobenzoxi-sagamicina.

#### Ejemplo 4

Una solución de 3 g de penta-N-carbobenzoxi-gentamicina en una mezcla de 27 g de ácido acético y 3 cc de ácido perclórico al 70 % se deja reposar durante la noche a 25° y se elabora análogo al ejemplo 1. Se obtiene la tri-N-carbobenzoxi-garamina, p.f. 105 - 110°.

#### Ejemplo 5

Análogo al ejemplo 1 se obtiene de penta-N-carboetoxi-gentamicina (obtenible de cloroformiato de etilo y complejo de gentamicina) la tri-N-carboetoxi-garamina, p.f. 128 - 140°.

#### Ejemplo 6

Análogo al ejemplo 1 se obtienen:

de penta-N-acetil-gentamicina: la tri-N-acetil-garamina, p.f. 190-195°;

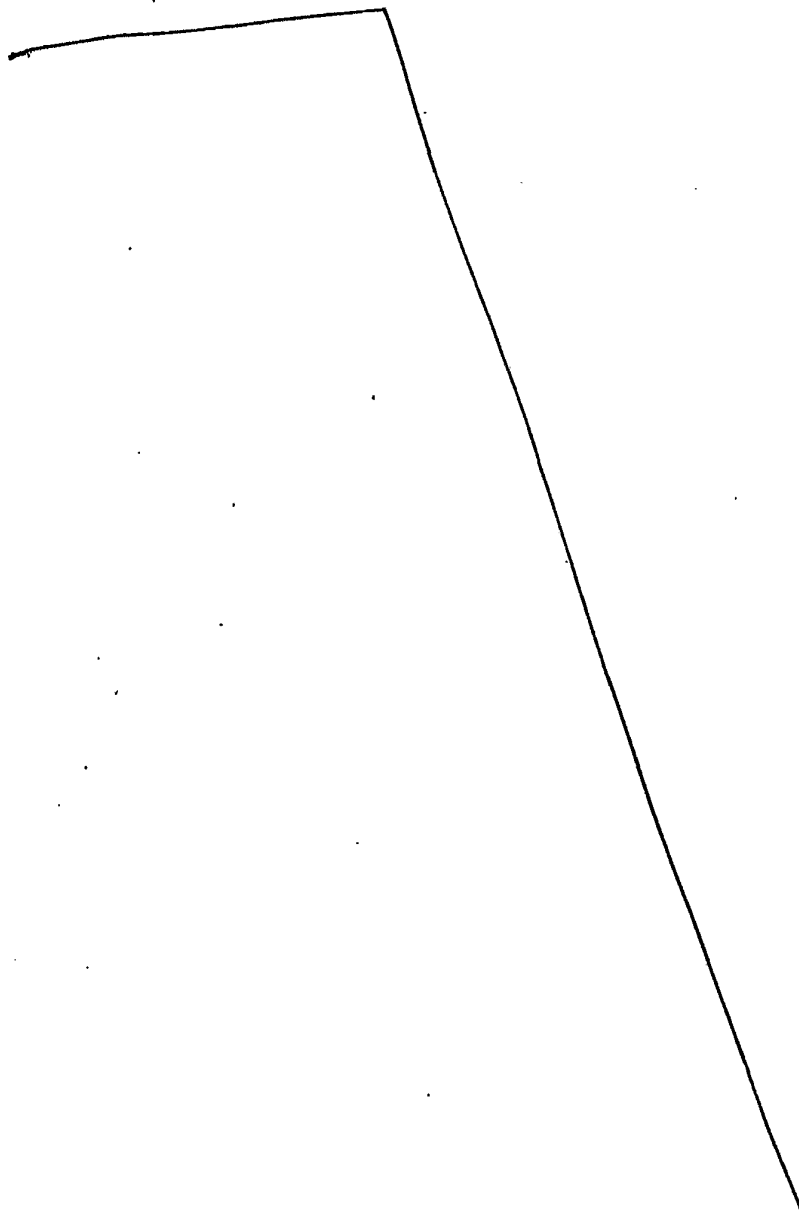
de 2'',5-di-O-acetil-penta-N-acetil-gentamicina: la 2',5-di-O-acetil-tri-N-acetil-garamina;

de penta-N-acetil-2''-O-acetil-gentamicina: la tri-N-acetil-2'-O-acetil-garamina;

de penta-N-(2,4-dinitrofenil)-gentamicina: la tri-N-(2,4-dinitrofenil)-garamina, p.f. 192 - 205°;

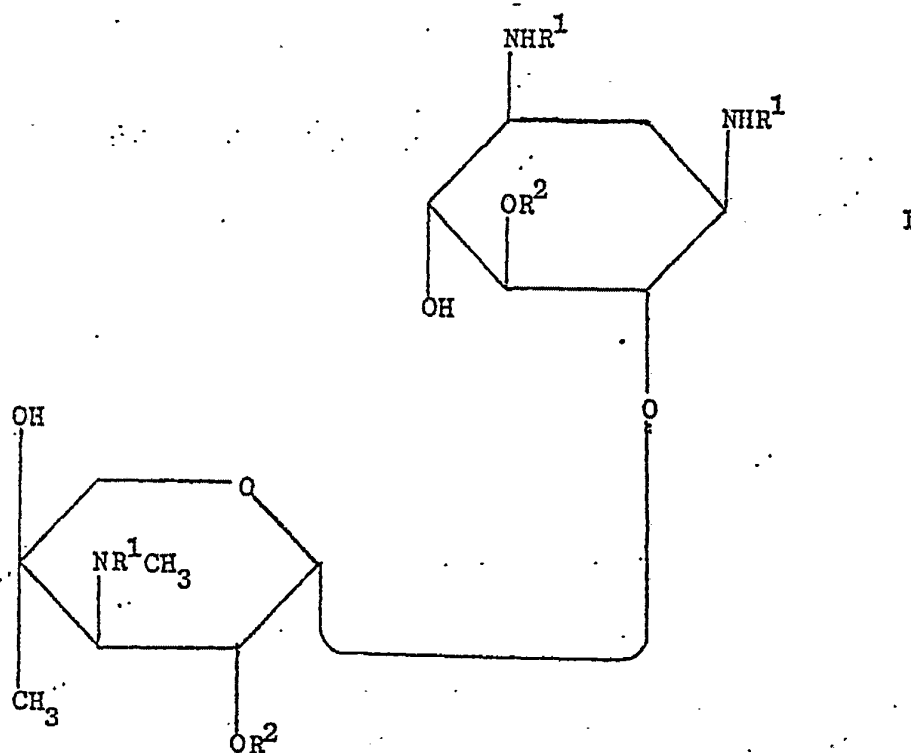
de tri-O-acetil-penta-N-carbobenzoxi-gentamicina: la 2',4',5-tri-O-acetil-tri-N-carbobenzoxi-garamina, p.f. 101 - 105°.

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.



REIVINDICACIONES

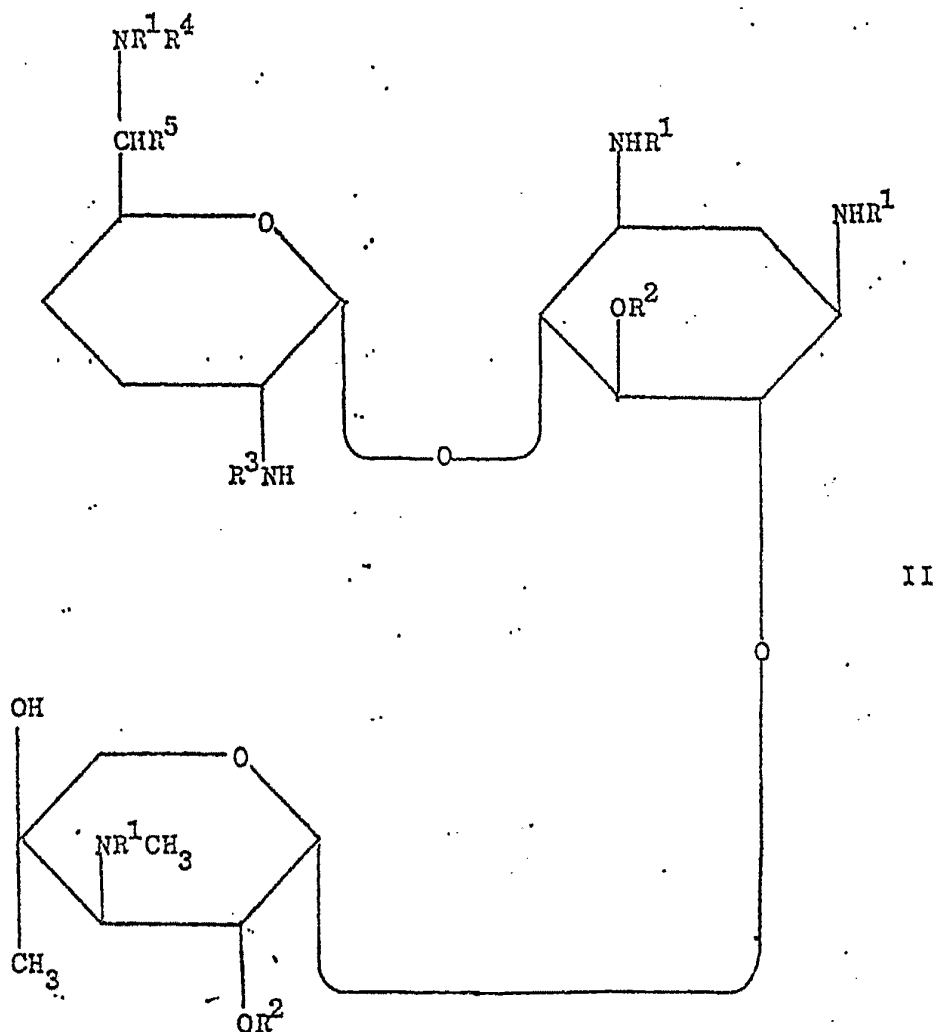
1.- Procedimiento para la obtención de garamina y derivados de garamina de fórmula general I



5 donde los restos  $R^1$ , en cada caso significan H o grupos protectores amino y los restos  $R^2$ , en cada caso, significan H ó grupos protectores hidroxilo, por disociación selectiva de derivados funcionales de antibióticos de sacáridos que contienen la unidad garamina, con ácidos fuertes, caracterizado porque se trata un compuesto de fórmula general II

10

*[Handwritten signature]*



5 donde  $R^3$  significa un grupo acilo y  $R^4$  y  $R^5$  en cada caso significan H ó CH y  $R^1$  y  $R^2$  tienen los significados arriba indicados con ácidos fuertes, preferentemente con ácido trifluoracético ó ácido perclórico en presencia o ausencia de un disolvente inerte a una temperatura comprendida entre 0 y 50°C y, si se desea, los grupos protectores en caso dado existentes en el producto obtenido se retiran en forma en sí conocida hidrolítica o hidrogenolíticamente.

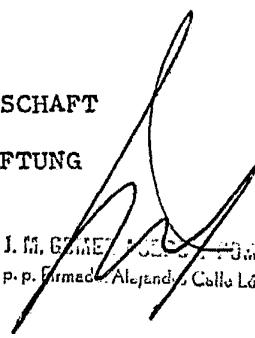
2.- Procedimiento para la obtención de garamina

y derivados de garamina, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 14 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

MERCK PATENT GESELLSCHAFT  
MIT BESCHRANKTER HAFTUNG

  
I. M. GOMEZ GARCIA  
p. p. Firmado Alejandro Collo López

