



ESPAÑA

20 ENE. 1979

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

ES

11

21

22

NUMERO

FECHA DE PRESENTACION

17 ABO. 1978

10

A 1

472640

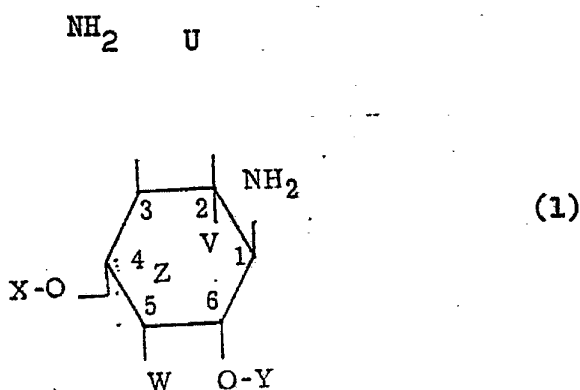
**PATENTE DE INVENCION**

<b>30</b> PRIORIDADES:		
<b>31</b> NUMERO	<b>32</b> FECHA	<b>33</b> PAIS
P 27 37 264.1	18 de agosto de 1977	República Federal Alemana.
<b>47</b> FECHA DE PUBLICIDAD	<b>51</b> CLASIFICACION INTERNACIONAL	<b>63</b> PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	CO7H   A61K	
<b>24</b> TITULO DE LA INVENCION		
PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR SEUDOTRISACARIDOS.		
<b>71</b> SOLICITANTE (S)		
BAYER AKTIENGESELLSCHAFT,		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Leverkusen-Bayerwerk, República Federal Alemana.		
<b>72</b> INVENTOR (ES)		
Dr. Peter Stadler, Dr. Karl Georg Metzger, Dr. Uwe Petersen, Dr. Eckart Voss.		
<b>73</b> TITULAR (ES)		
<b>74</b> REPRESENTANTE		
D. José Miguel GOMEZ-ACEBO Y POMBO.		

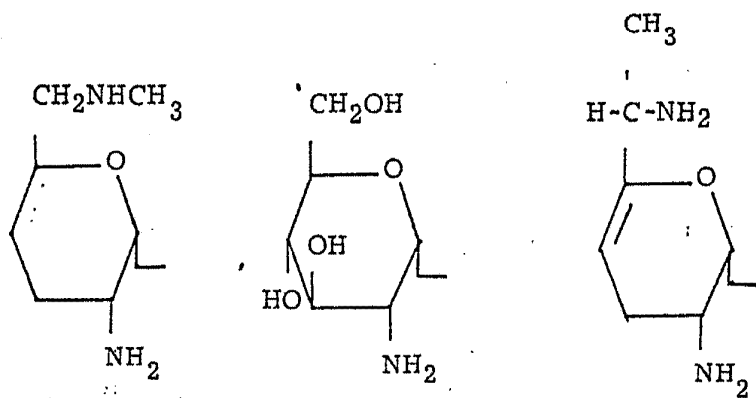
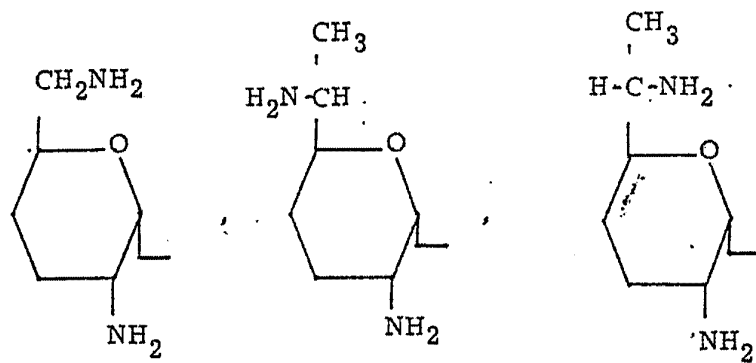
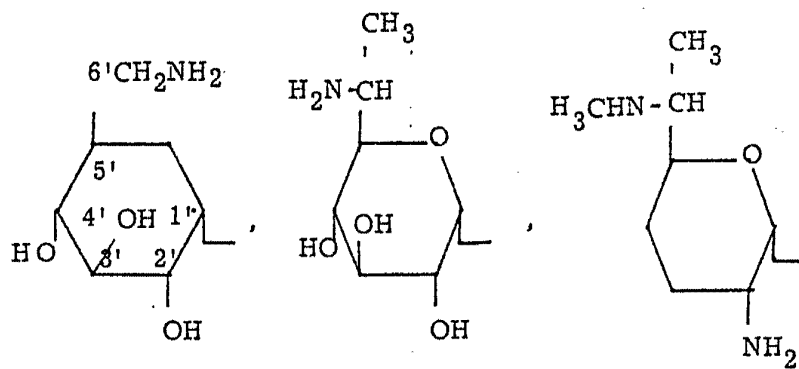
La invención se refiere a un procedimiento para preparar nuevos seudotrisacáridos útiles como medicamentos, en particular a un procedimiento para preparar nuevos antibióticos aminoglicosídicos de acción antibacteriana del tipo de los 4,6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitoles.

Los antibióticos aminoglicosídicos son sustancias importantes para combatir eficazmente las infecciones bacterianas. Sin embargo, la aparición de gérmenes resistentes reduce en muchos casos la amplitud de su espectro de aplicación; además pueden presentarse efectos secundarios, tales como la oto- y la nefrotoxicidad. En algunos casos, se logra subsanar estas desventajas transformándolos en determinados derivados.

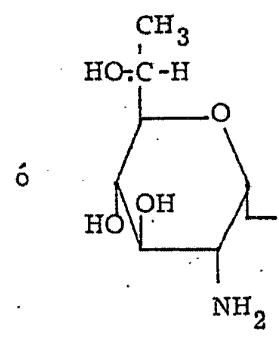
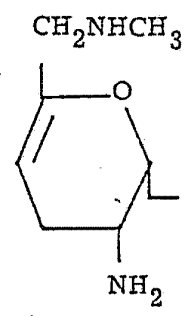
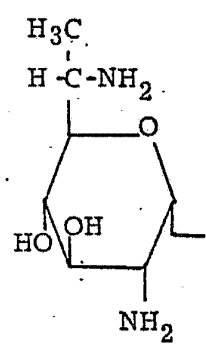
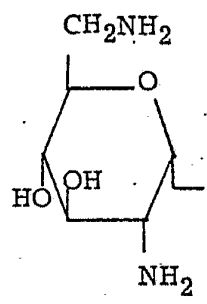
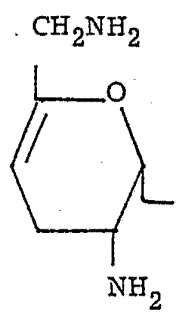
Los seudotrisacáridos según la invención pueden ser representados por la fórmula (1)



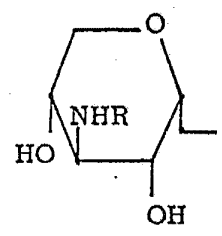
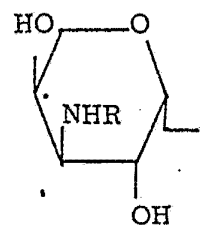
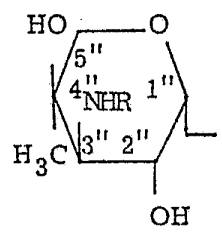
en la cual  
X representa un resto



POOR  
QUALITY



Y designa un resto



U, V, W significan hidrógeno o hidroxí;

Z puede ser hidrógeno, hidroxí o amino, y

R representa alquilo (excepto metilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquil-alquilo, cicloalquenilalquilo, arilo o aralquilo,

5

pudiendo llevar los restos hidrocarbonados citados, uno o varios sustituyentes. También incluyen las sales de adición de ácido respectivas.

Alquilo significa preferiblemente restos alquilo lineales o ramificados, preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono, pudiendo tener preferiblemente de 1 a 3, particularmente 1 ó 2 sustituyentes, iguales o diferentes. Como sustituyentes pueden mencionarse por ejemplo: hidroxí, alcoxi, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; alquiltio, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; halógeno, preferiblemente flúor,

10

cloro o bromo; nitro; amino, monoalquilamino y dialquilamino, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono por grupo alquilo. Ejemplos de restos alquilo de este tipo son: etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo,

15

n-heptilo,  $\beta$ -metilpropilo, ter-butilo,  $\beta$ -propilpentilo,  $\delta$ -etilhexilo,  $\beta$ -dimetilpropilo,  $\beta$ -hidroxipropilo,  $\beta, \gamma$ -dihidroxipropilo,  $\xi$ -hidroxipentilo,  $\delta$ -hidroxibutilo,  $\gamma$ -hidroxipropilo,  $\beta$ -metoxietilo,  $\beta$ -butoxi-  
etilo,  $\beta$ -metoxipropilo,  $\gamma$ -metoxibutilo,  $\gamma, \xi$ -dimetóxihexilo,

20

$\beta$ -n-propoxietilo,  $\beta$ -etoxietilo,  $\beta$ -isopropoxietilo,  $\beta$ -aminoetilo,  $\beta$ -aminopropilo,  $\gamma$ -aminopropilo,  $\beta$ -amino- $\gamma$ -metilbutilo, N-metil- $\beta$ -amino-  
etilo, N-metil- $\beta$ -aminopropilo, N-metil- $\gamma$ -aminopropilo, N-metil- $\beta$ -

25

amino- $\gamma$ -metilbutilo, N,N-dimetil- $\beta$ -aminoetilo, N,N-dimetil- $\beta$ -aminopropilo, N,N-dimetil- $\gamma$ -aminopropilo, N,N-dimetil- $\beta$ -amino- $\gamma$ -metilbutilo,

N-etil- $\beta$ -aminoetilo, N-etil - $\beta$ -aminopropilo,  
N-etil - $\gamma$ -aminopropilo, N-etil - $\beta$ -amino- $\gamma$ -metil-butilo,  
N,N-dietil- $\beta$ -aminoetilo, N,N-dietil- $\beta$ -aminopropilo,  
N,N-dietil- $\gamma$ -aminopropilo, N,N-dietil- $\beta$ -amino- $\gamma$ -metilbutilo,  
5 N-propil- $\beta$ -aminoetilo, N-propil- $\beta$ -aminopropilo,  
N-propil- $\gamma$ -aminopropilo, N-propil- $\beta$ -amino- $\gamma$ -metilbutilo,  
N,N-dipropil- $\beta$ -amino-etilo, N,N-dipropil- $\beta$ -aminopropilo,  
N,N-dipropil- $\gamma$ -aminopropilo, N,N-dipropil- $\beta$ -amino- $\gamma$ -metilbutilo,  
10  $\beta$ -hidroxi- $\epsilon$ -aminopentilo,  $\beta$ -hidroxi- $\delta$ -aminobutilo,  
 $\beta$ -metoxi- $\epsilon$ -aminopentilo,  $\beta$ -etoxi- $\delta$ -aminobutilo,  
 $\beta$ -metoxi- $\delta$ -N-metilaminobutilo,  $\beta$ -bromoisopropilo,  $\beta$ -cloroetilo.

Los restos alquénilo y alquillo tienen preferiblemente de 2 a 6 átomos de carbono. A título de ejemplo pueden mencionarse: alilo, crotilo, metililo,  $\beta$ -metil- $\beta$ -butenilo, propin-(2)-ilo, butin-(2)-ilo. Si están sustituidos, llevan preferiblemente uno de los sustituyentes del alquilo citados más arriba.

Cicloalquilo y cicloalquénilo significan preferiblemente restos cíclicos de 3 a 10, particularmente de 3 a 6 átomos de carbono, que pueden tener de 1 a 3, particularmente 1 ó 2 sustituyentes iguales o diferentes, de los citados antes para el alquilo. Cicloalquilalquilo y cicloalquénialquilo representan preferiblemente cicloalquilmetilo, cicloalquénilmetilo, cicloalquiletilo o cicloalquéniletilo, siendo los restos cicloalquilo y cicloalquénilo los mismos definidos arriba. Son ejemplos de restos cicloalquilo, cicloalquénilo, cicloalquilalquilo y cicloalquénialquilo: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclo-

5

10

15

20

25

pentilo, ciclohexilo, ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, ciclohexiletilo, ciclohexenilmetilo.;

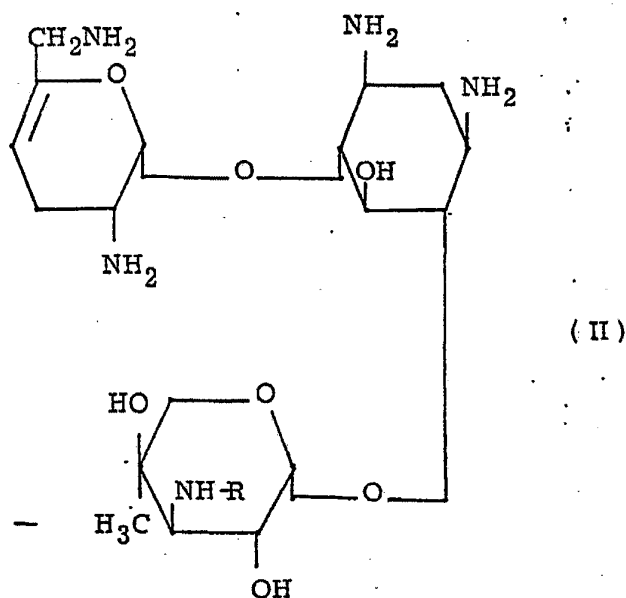
Arilo significa un resto fenilo o naftilo. El resto arilo puede tener de 1 a 3 sustituyentes iguales o  
5 diferentes, tales como por ejemplo: alquilo, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono; halógeno, preferiblemente fluor, cloro o bromo; nitro; amino; monoalquilamino y dialquilamino, de 1 a 4 átomos de carbono por grupo alquilo; hidroxil; alcoxi y alquiltio, de 1 a 4 átomos de carbono por grupo alquilo. Son ejemplos de restos arilo; o-etilfenilo, m-etilfenilo,  
10 p-etilfenilo, p-hidroxifenilo, nitrofenilo, aminofenilo, nitrobenzilo.

En cuanto a los restos aralquilo, se trata preferiblemente de restos fenilmetilo o feniletilo que pueden tener los sustituyentes mencionados anteriormente para arilo. Como ejemplos pueden nombrarse:  $\beta$ -feniletilo,  $\beta$ -toliletilo.

15 De particular interés son los antibióticos aminoglicosídicos de fórmula (I), según la invención, que pueden considerarse derivados de los antibióticos Gentamicina A, Gentamicina B, Gentamicina B<sub>1</sub>, Gentamicina C<sub>1</sub>, Gentamicina C<sub>1a</sub>, Gentamicina C<sub>2</sub>, Gentamicina C<sub>2a</sub>, Gentamicina C<sub>2b</sub>, Gentamicina X<sub>2</sub>, Sisomicina,  
20 JI-20A, JI-20B, Verdamicina G 52, G 418, 66-40B, 66-40D, Mutamicina<sup>1</sup>, Mutamicina<sup>2</sup>, Mutamicina<sup>4</sup>, Mutamicina<sup>5</sup> y Mutamicina<sup>6</sup> por sustitución del grupo 3''-metilamino presente en los antibióticos mencionados por un grupo amino sustituido del tipo -NH-R, en el cual R tiene los significa-

dos arriba indicados.

De estos derivados los de la  
sisomicina representados por la fórmula (II)



en la cual

5 R tiene el significado arriba indicado, son particularmente valiosos.

Son ejemplos de los antibióticos

de fórmula (II)

- la 3''-N-demetil-3''-N-etilsisomicina,
- 10 la 3''-N-demetil-3''-N-propilsisomicina,
- la 3''-N-demetil-3''-N-butilsisomicina,
- la 3''-N-demetil-3''-N-pentilsisomicina,
- la 3''-N-demetil-3''-N-isopropilsisomicina,
- la 3''-N-demetil-3''-N-heptilsisomicina,
- 15 la 3''-N-demetil-3''-N-(β-dimetilpropil)-sisomicina,
- la 3''-demetil-3''-N-alilsisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -butenil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-toliletilsisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -aminoetil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -metoxietil)-sisomicina,

5 la 3''-N-demetil-3''-N-( $\gamma$ -metoxietil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\gamma$ ,  $\xi$ -dimetoxihexil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -butoxietil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -propoxietil)-sisomicina,

10 la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -etoxietil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -iso-propoxietil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-( $\beta$ -bromo-isopropil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-(N-metil- $\beta$ -aminoetil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-(N',N'-dimetil- $\beta$ -aminoetil)-sisomicina,

la 3''-N-demetil-3''-N-(N',N'-dietil- $\beta$ -aminoetil)-sisomicina,

15

La invención comprende además

las sales de adición de ácidos, particularmente las sales utilizables desde el punto de vista farmacéutico, de los nuevos antibióticos de aminoglicosídicos, de las cuales pueden mencionarse por ejemplo, las sales de adición de los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, bromhídrico, bencenosulfónico, fórmico, acético, propiónico, maleico, 20 ascórbico o cítrico.

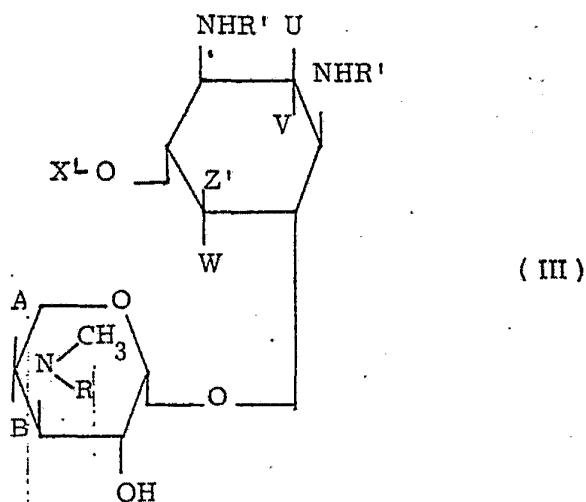
20

La invención se refiere además a procedimientos para la producción de las pseudotrisacáridos representados por la fórmula ( I ).

25

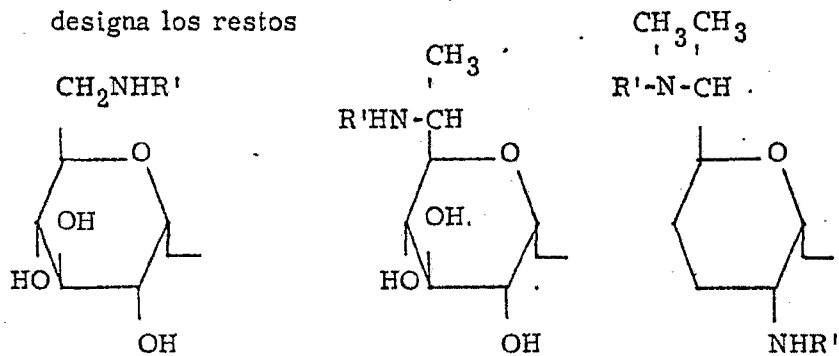
Para ello se tratan compuestos

de fórmula ( III )

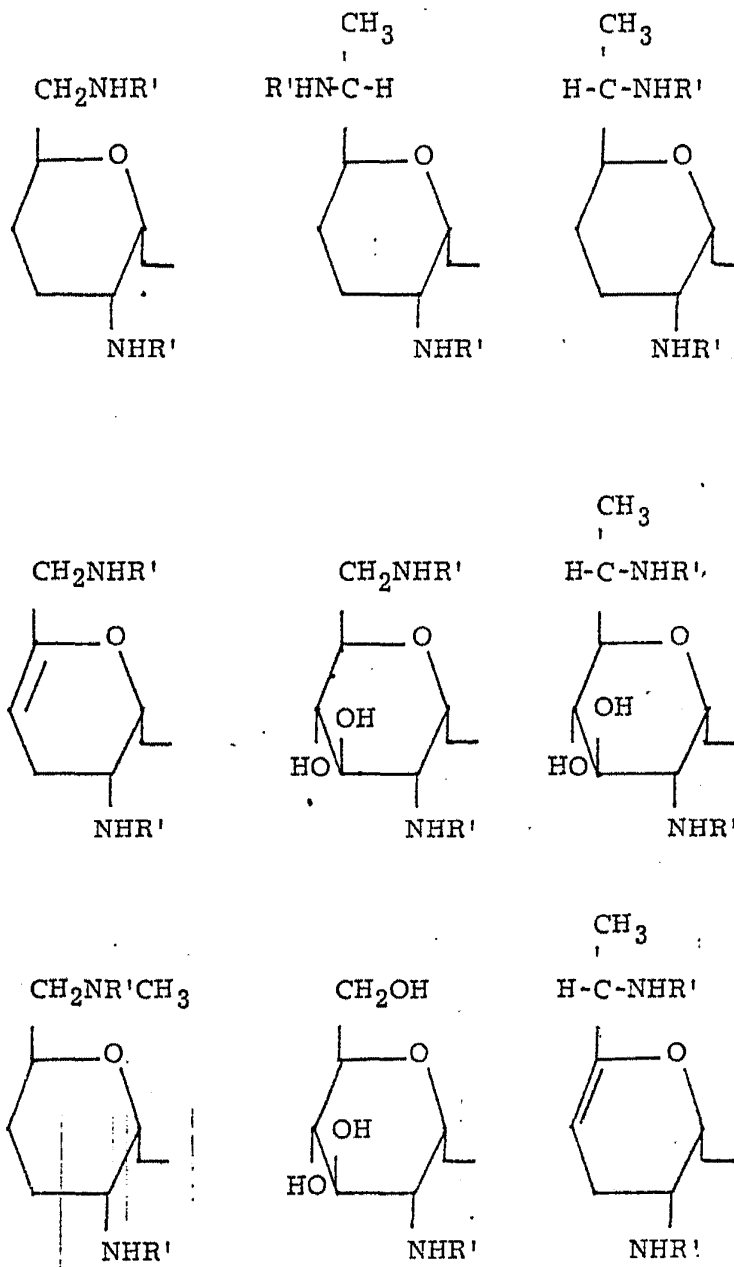


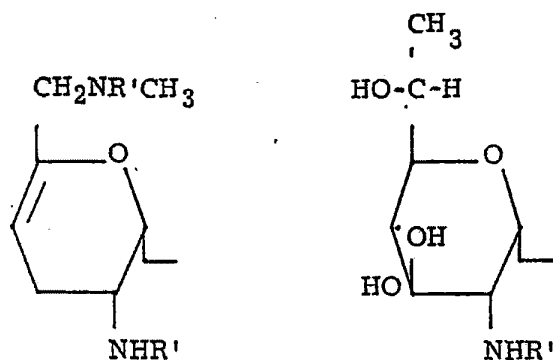
en la cual

- A significa hidroxilo o hidrógeno;
- 5 B, hidroxilo, hidrógeno o metilo;
- R, U, V, W tienen los significados indicados arriba;
- Z' representa hidrógeno, hidroxilo, amino o amino protegido con R';
- R' representa grupos protectores del grupo amino, tales como los definidos más adelante, y
- 10 X' designa los restos



2





teniendo  $\text{R}'$  el significado indicado

con un oxidante a temperaturas de entre unos  $-20^\circ\text{C}$  y unos  $100^\circ\text{C}$ , preferiblemente en presencia de un disolvente inerte en las condiciones de la reacción, con lo que se separa el grupo 3''-N-metilo pero no se ataca el resto  $\text{R}$ , distinto de metilo. Después de la eliminación de los grupos protectores del grupo amino, eventualmente presentes, se aislan los nuevos seudotrisacáridos de fórmula ( I ) al estado libre o, en presencia de ácidos, en forma de sus sales de adición.

5

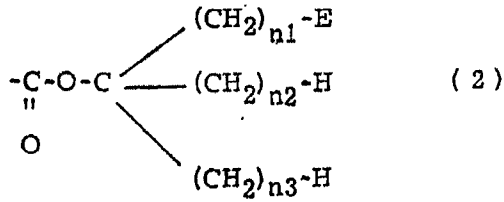
Como grupos  $\text{R}'$ , protectores

del grupo amino, pueden emplearse todos los grupos protectores estables en las condiciones de oxidación del procedimiento arriba descrito de los que se utilizan en la química de los aminoazúcares y los péptidos. Estos grupos protectores y los procedimientos para su preparación son conocidos (véase por ejemplo Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Tomo XV, 1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974).

15

Ejemplos preferidos de tales

grupos protectores son los grupos acilo de los tipos (1) ó (2) :



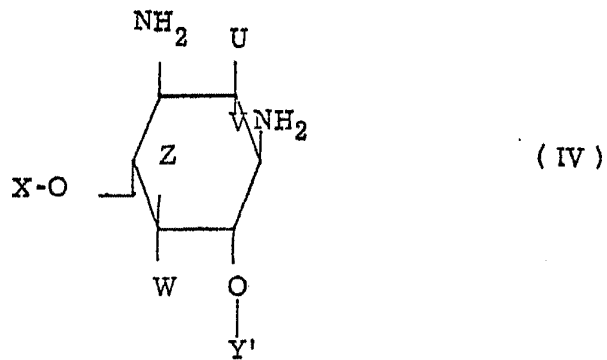
en las cuales

D y E representan independientemente, hidrógeno, fenilo o fenilo sustituido, y

n, n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> significan, independientemente números de 0 a 5.

5

Las sustancias de partida empleadas según el invento son aminotrisacáridos conocidos en la bibliografía, de fórmula general (IV)

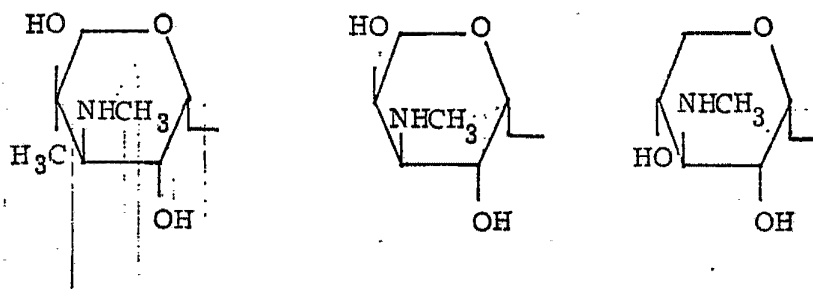


en la cual

10

X tiene el significado indicado con referencia a la fórmula (I) e

Y' representa



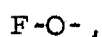
Son ejemplos de estos trisa-  
cáridos la sisomicina, las gentamicinas, las mutamicinas y los anti-  
bióticos 66-40B y 66-40D. Para preparar los aminotrisacáridos de fór-  
mula ( III ) cuyos N están bloqueados en forma selectiva (significando  
5  $R^1$  en cada caso un grupo protector del grupo amino) y empleados como  
sustancias de partida de acuerdo con el invento, se hace reaccionar  
un aminotrisacárido de fórmula ( IV ) con un compuesto de fórmula ( V )



10 en la cual

F representa un resto de fórmulas ( 1 ) ó ( 2 ) y

15  $G^1$ , halógeno o un grupo separable de los que se usan en las reaccio-  
nes de acilación, preferiblemente un grupo éster activado, o un  
grupo

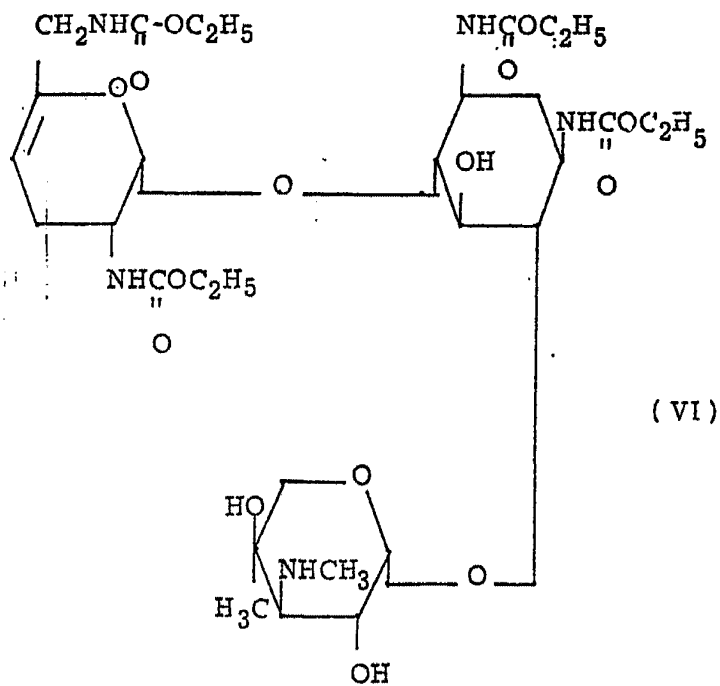


(donde F tiene el significado arriba indicado), en un disolvente  
orgánico inerte, eventualmente con adición de agua, a temperatu-  
ras de entre unos  $-80^{\circ}C$  y unos  $+50^{\circ}C$ , eventualmente en presen-

cia de una base, terminándose la elaboración del producto de la reacción en la forma habitual.

5 De esta manera se obtienen seudotrisacáridos en los cuales todos los grupos amino, excepto el grupo 3''-N-metilamino, están bloqueados por grupos protectores.

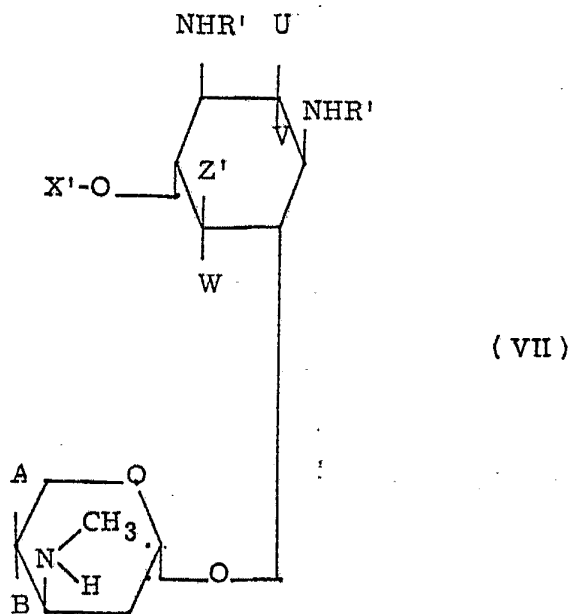
10 Si se emplean, por ejemplo la sisomicina como sustancia de partida y el éster dietílico del ácido procarbónico como agente de acilación, se obtiene por reacción en etanol acuoso la 1, 2', 3, 6'-tetra-N-etoxicarbonil-sisomicina de fórmula (VI)



en forma cuantitativa.

15 Los seudotrisacáridos cuyo N se encuentra bloqueado en forma selectiva que pueden obtenerse por lo general de esta manera, pueden ser representados por la fórmula

general ( VII )



en la cual

X', R', U, V, W, Z', A y B tienen los significados indicados con relación a la fórmula ( III ).

5

La invención comprende tam-

bién procedimientos, en los cuales los seudotrisacáridos de fórmula III protegidos en forma selectiva se alquilan en N del grupo 3''-metil-amino, obteniéndose derivados 3''-N-alquilados de fórmula ( III ) para los cuales el nuevo resto R tiene el significado indicado arriba.

10

Uno de los procedimientos según la invención preferidos para la producción de los derivados 3''-N-sustituídos de los 4, 6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitolos de fórmu-

la ( III ) que contienen grupos protectores del grupo amino en todas las posiciones excepto la posición 3'', consiste en hacer reaccionar compuestos según la fórmula ( VII ), o sus sales de adición de ácidos, con un aldehído de fórmula  $R''\text{-CHO}$ , en la que  $R''\text{CH}_2$  tiene el significado indicado antes para R, y que, cuando este resto contenga grupos amino y/o hidroxil, también puede tener grupos protectores de los grupos amino y/o hidroxil, en presencia de un reductor, donador de hidrógeno, terminándose de elaborar la mezcla de la reacción en forma en sí conocida para obtener compuestos del tipo ( III ) y separándose los grupos protectores eventualmente existentes.

Este procedimiento, en el cual el grupo 3''-amino de un 4, 6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitol reacciona con un aldehído y simultáneamente se reduce "insitu", se lleva a cabo comunmente a temperatura ambiente y en presencia de aire, aunque puede ser más conveniente hacerlo en presencia de un gas inerte (argón, nitrógeno). Habitualmente la reacción termina muy rápidamente, a menudo en menos de 60 minutos, lo que puede constatarse por medio de ensayos de cromatografía en capa delgada.

Entre los reductores donadores de hidrógeno que pueden utilizarse en este procedimiento se encuentran los dialquilaminoboranos (por ejemplo el dimetilaminoborano, el dietilaminoborano y, preferiblemente, el morfolinoborano); los cianoborohidruros de tetraalquilamonio (por ejemplo el cianoborohidruro de tetrabutilamonio); los borohidruros de metales alcalinos (por ejemplo el borohidruro de sodio), y preferiblemente los cianoborohidruros de me-

tales alcalinos (por ejemplo el cianoborohidruro de litio y el cianoborohidruro de sodio).

El procedimiento se realiza habitualmente en un disolvente inerte. El disolvente puede ser orgánico o inorgánico, en el cual sean solubles el 4, 6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitol, con sus grupos protegidos en forma selectiva, y los demás reactivos, y que reduzca o impida en lo posible las reacciones secundarias en las condiciones de la reacción. Si bien pueden ser empleados ventajosamente los disolventes apróticos anhidros (por ejemplo el tetrahidrofurano cuando el reductor es el morfolinoborano), se usa por lo general un disolvente prótico. Como tal es apropiado por ejemplo un alcohol de bajo peso molecular; preferiblemente puede usarse agua o un alcohol inferior acuoso, preferiblemente metanol o etanol acuosos, u otros sistemas de disolventes que contengan agua, como por ejemplo la dimetilformamida acuosa, la hexametilamida del ácido fosfórico, acuosa, el tetrahidrofurano acuoso e el etilenglicol-dimetiléter acuoso.

El procedimiento por lo general se lleva a cabo a un pH comprendido entre 1 y 11, preferiblemente entre 4 y 8.

Los aldehídos típicos de fórmula  $R''CHO$  (en la cual  $R''$  tiene la definición dada anteriormente) que pueden utilizarse en el procedimiento comprenden los alquilaldehídos de cadena lineal o ramificada tales como el acetaldehído, el n-propanal, el n-butanal, el 2-metilpropanal, el n-pentanal, el 2-metilbutanal,



procedimientos estandard.

5 En la realización del procedimiento puede resultar conveniente proteger el grupo amino de los aldehidos que presentan un grupo amino, por ejemplo en forma acetamido ftalimido o derivado de etoxicarbonilo, y liberar el grupo amino una vez terminada la reacción. También puede ser conveniente proteger eventuales grupos hidroxilo de los aldehidos, pero en general esto no es necesario.

10 Cabe también la posibilidad de emplear un acetal o un hemiacetal del aldehido, cuando la reacción se lleva a cabo en medio ácido que da lugar a la formación "in situ" del aldehido libre.

15 El procedimiento preferiblemente se lleva a cabo agregando a una solución en metanol acuoso de 4, 6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitol cuyos grupos amino, excepto el de la posición 3'', se encuentran protegidos (por ejemplo la 1, 2', 3, 6'-tetra-N-etoxicarbonilsisomicina), de 1 a 10 equivalentes del respectivo aldehido (por ejemplo acetaldehido) y luego (al cabo de aproximadamente media hora), alrededor de 1, 3 equivalentes de un cianoborato de un metal alcalino (por ejemplo cianoborato de sodio. El procesamiento de acuerdo con métodos usuales, da el derivado de 3''-NR deseado del correspondiente pseudotrisacárido protegido (por ejemplo 3''-N-etil-20 1, 2', 3, 6'-tetra-N-etoxicarbonilsisomicina).

25 Otro procedimiento según la invención para la producción de los derivados 3''-N-alquilados de los

4, 6-di-O-(aminoglicosil)-1, 3-diaminociclitoles de fórmula ( III ) consiste en la reacción de compuestos del tipo ( VII ) con compuestos halogenados de fórmula ( 3 )

R-Hal

5 en la cual

R tiene el significado arriba indicado y

Hal significa halógeno, por ejemplo, cloro, bromo o yodo.

Estas alquilaciones de aminas

ya están descritas en la bibliografía (véase, por ejemplo ; Houben-  
10 Weyl, Methoden der organischen Chemie, Tomo XI, 1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1957). Preferiblemente se trabaja en presencia de un diluyente inerte en las condiciones de la reacción, preferiblemente en un diluyente en el que se disuelvan bien los componentes de la reacción. Son diluyentes preferidos de esta índole los éteres, tales como el tetra-  
15 hidrofurano, el etilenglicoldimetiléter o el dioxano; las cetonas tales como la acetona o la metiletilcetona; los alcoholes, la dimetilacetamida y la dimetilformamida. Particularmente ha de preferirse la dimetilformamida. Según la reactividad del halogenuro de alquilo usado se emplean de 1 a 10 equivalentes molares del agente de alquilación y se trabaja a un pH comprendido entre aproximadamente 5 y aproximadamente  
20 12. Para ello ha de preferirse el empleo de una base auxiliar para interceptar el ácido hidrídrico liberado en la reacción. Son ejemplos de bases adecuadas los hidróxidos de los metales alcalinos y alcalinotérreos, los carbonatos de los metales alcalinos y alcalinotérreos, los

óxidos de los metales alcalinotérreos, los carbonatos y óxidos de metales pesados, tales como por ejemplo el carbonato de plomo y el carbonato de plata, así como el óxido de mercurio y el óxido de plata. En principio, pueden emplearse como bases auxiliares todos los com-  
5 puestos estables en las condiciones de la reacción y capaces de captar el ácido halogenhídrico formado.

La reacción según el invento se lleva a cabo a una temperatura de entre unos  $-20^{\circ}$  y  $+80^{\circ}\text{C}$ , preferible-  
mente de entre  $0^{\circ}$  y  $30^{\circ}\text{C}$ . La duración de la reacción es normalmente  
10 de 1 a 48 horas y se trabaja generalmente a presión normal. Luego de un procesamiento habitual se obtienen los derivados 3-N-sustituídos deseados en forma pura y, en general con rendimiento cuantitativo.

Otros procedimientos para la alquilación de compuestos de fórmula (VII) para la producción de com-  
15 puestos de fórmula (III), consisten en hacerlos reaccionar con ésteres de los ácidos sulfúrico y sulfónicos, epóxidos y compuestos con dobles ligaduras activadas. Estos procedimientos son conocidos por los técnicos.

La invención comprende además  
20 procedimientos para separar en forma selectiva el grupo metilo de los  $3''\text{-N}(\text{CH}_3)\text{R}$ -trisacáridos de fórmula III, obtenidos mediante los métodos de alquilación descriptos arriba.

Uno de los procedimientos pre-  
feridos para esa separación según la invención es la desmetilación oxi-  
25 dática del grupo  $3''$ -amino terciario.

Para separar el grupo metilo de los compuestos de fórmula ( III ) pueden emplearse los oxidantes habituales.

5 Son ejemplos de oxidantes las sales de metales pesados, los peróxidos, los halógenos, los oxiaácidos de los halógenos y sus sales, los óxidos del nitrógeno y el oxígeno molecular. Los oxidantes preferidos son los permanganatos, los manganatos, el dióxido de manganeso, el trióxido de cromo, los bicromatos, los cromatos, los cromatos de alquilo, el cloruro de cromilo, el dióxido, 10 de selenio, las sales de cobalto ( III ), las sales de cerio (IV), el hexacianoferrato ( III ) de potasio, el óxido de cobre, el óxido de plomo, el óxido de mercurio, las mezclas de peróxido de hidrógeno con sales de hierro (II), las sales de hierro (III), el tetróxido de osmio, los vanadatos, los ácidos tungstico y/o crómico, el tetraacetato de plomo, el cloro, 15 el bromo, el yodo, los hipocloratos, los cloritos, los hipobromatos, los bromatos, los peryodatos, el monóxido de dinitrógeno, el dióxido de nitrógeno y el aire. En caso de emplearse oxígeno molecular, se aplican preferiblemente como catalizadores los metales preciosos tales como el platino, el paladio, el rodio, el rutenio, o el renio, así como 20 el níquel.

Son oxidantes particularmente preferidos el dióxido de manganeso, el hexacianoferrato(III) de potasio y el permanganato de potasio. En caso de que el agente de oxidación sea el hexacianoferrato (III) de potasio y el hidróxido de amonio la base auxiliar 25 se puede agregar sulfato de cobre (III) a la solución a oxidar. Entonces

el hexacianoferrato (II) formado en la oxidación precipita en forma de sal de cobre difícilmente soluble.

La separación del grupo metilo se realiza preferiblemente en presencia de un diluyente inerte en las condiciones de la reacción, preferiblemente un diluyente en el que se disuelven los componentes de la reacción. Son diluyentes apropiados del tipo mencionado: el agua o las mezclas de agua con metanol, etanol, iso-propanol, tetrahidrofurano, dimetilformamida, dioxano, piridina, etilenglicol-dimetiléter y acetona.

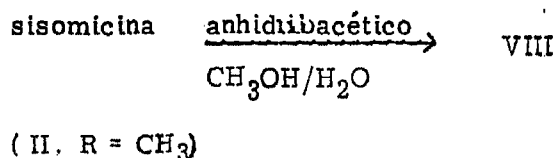
La reacción según el invento se realiza a un pH entre 3 y 12, según el tipo de oxidante empleado. El ajuste del pH puede lograrse mediante la adición de un ácido o una base apropiados, debiendo emplearse aquellos ácidos o bases que no descompongan los compuestos de partida o los productos finales y no provoquen ninguna disminución de la actividad de los oxidantes. Más bien es deseable que aumenten su actividad. Como ácidos inorgánicos pueden emplearse, por ejemplo los ácidos clorhídrico y sulfúrico, y como ácidos orgánicos, por ejemplo los ácidos acético y fórmico. Son ejemplos de bases adecuadas el hidróxido de amonio, los hidróxidos de los metales alcalinos, los hidróxidos de los metales alcalinotérreos, los carbonatos de los metales alcalinos, los carbonatos de los metales alcalinotérreos, los alcoholatos de los metales alcalinos y las sales alcalinas y alcalinotérreas de los ácidos carboxílicos.

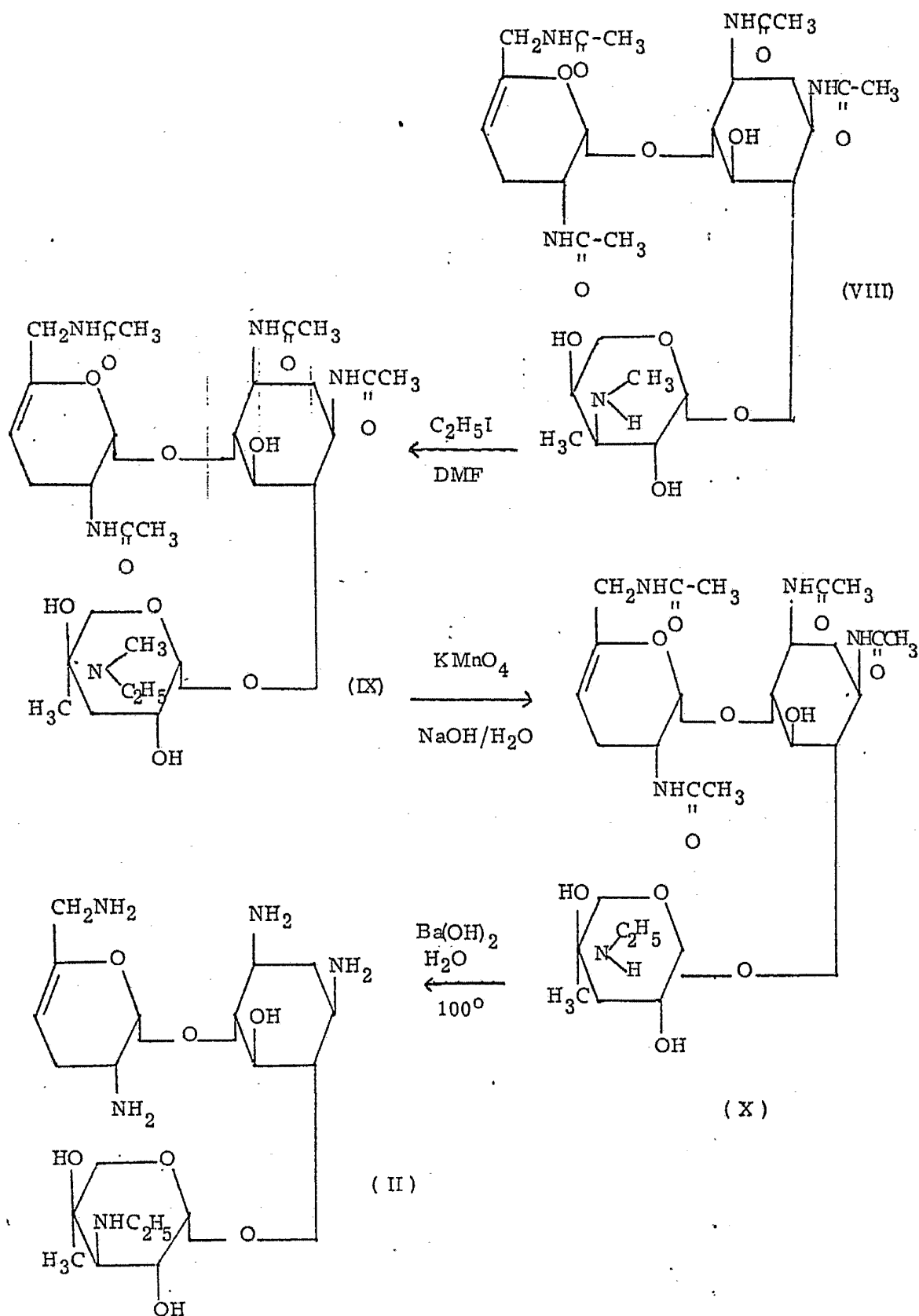
El ajuste del pH puede efectuarse antes o durante la reacción.

La reacción según el invento se lleva a cabo a una temperatura de entre unos  $-20^{\circ}$  y unos  $+100^{\circ}\text{C}$ , preferiblemente entre alrededor de  $0^{\circ}$  y alrededor de  $70^{\circ}\text{C}$ . La duración de la reacción es de media hora y hasta 50 horas. En general la reacción se realiza a la presión normal.

La separación de los grupos protectores presentes en la molécula después de la reacción se logra en forma conocida por hidrólisis alcalina o ácida, hidrogenólisis o reacciones de desplazamiento. Si para esa separación se aplican compuestos que contienen grupos protectores de acilo del tipo (1) ó (2), estos pueden ser separados preferiblemente con soluciones acuosas de hidróxidos alcalinos o alcalinotérreos.

Los procedimientos según la invención descritos precedentemente se ilustran por el siguiente esquema de fórmulas del ejemplo de la preparación de la 3''-N-etil-3''-N-demetilsisomicina, de fórmula (II) con  $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$ , partiendo de la sisomicina:





La 1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetilsisomicina ( VIII) según el invento puede obtenerse con rendimiento cuantitativo por reacción de la sisomicina con anhídrido acético en metanol/agua.

5

La introducción subsiguiente del grupo etilo en el nitrógeno en posición 3'' se realiza por reacción de (VII) con yoduro de etilo en dimetilformamida, como disolvente, y con por ejemplo óxido de plata, como base. Se procesa en forma conocida y se obtiene la 3''-N-etil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetilsisomicina (IX), con 10 rendimiento cuantitativo. Para separar el grupo 3''-N-metilo, se trata (IX) con permanganato de potasio en acetona acuosa y adición de hidróxido de sodio como base. Después de haberse determinado por cromatografía en capa delgada el fin de la reacción se precipitan las sales inorgánicas por adición de acetona y, de la solución remanente, se aísla el 15 compuesto 3''-N-demetilado (X) con un rendimiento elevado. Los grupos acetilo protectores se separan por calentamiento en una solución acuosa de hidróxido de bario y así se obtiene la 3''-N-etil-3''-N-demetilsisomicina, hasta ahora desconocida.

15

20

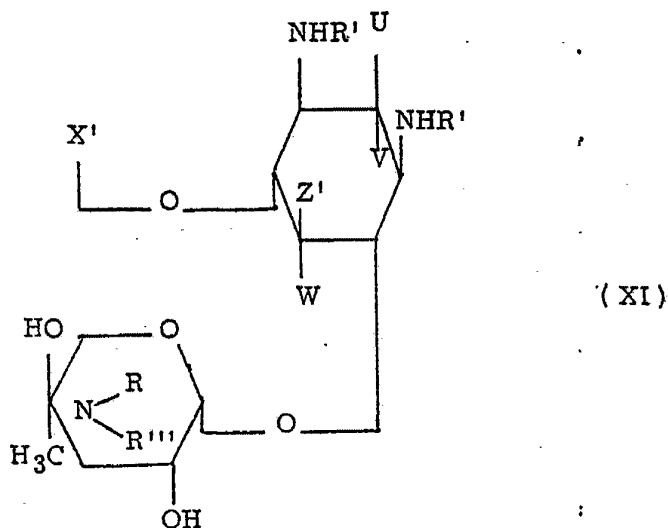
La separación del grupo 3''-N-metilo de los N-derivados en posición 3'' de la fórmula ( III ) también se logra por reacción con bromuro de cianógeno. Las cianamidas así formadas pueden ser transformadas fácilmente, por ejemplo, por calentamiento con ácidos diluïdos, en las correspondientes aminas secundarias de fórmula ( XI ) (con R''' = H).

25

La separación del grupo 3''-N-

metilo también puede ser efectuado oxidando con procedimientos conocidos, por ejemplo con peróxido de hidrógeno los 3''-N-derivados de fórmula III en el grupo amino terciario en posición 3'' al correspondiente N-óxido y transformando este producto por tratamiento con anhídrido acético en el correspondiente compuesto 3''-N-acetil-3''-N-alkil-3''-N-desmetil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acilado. Después de separar el grupo acilo se obtienen así los derivados 3''-N-alkil-3''-desmetilados según la invención, con grupos amino libres.

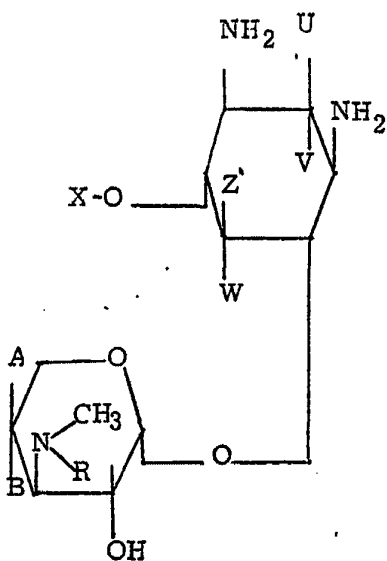
En forma similar a la reacción con el bromuro de cianógeno se desarrolla la reacción con los ésteres del ácido clorofórmico, fosgeno y halogenuros de ácidos carboxílicos tales como el cloruro de benzóilo y 3''-N-(CH<sub>2</sub>)R-derivados de pseudo-trisacáridos de fórmula (III), formándose por separación del resto metilo de la posición 3'' los correspondientes derivados 3''-N-acilados de fórmula (XI) (con R''' = acilo), que pueden ser saponificados para dar las correspondientes aminas libres de fórmula (I)



Los símbolos X', R', U, V, Z', W, A, B y R tienen aquí los significados indicados anteriormente, R<sup>m</sup> puede ser hidrógeno, o acilo.

5

Para la desmetilación oxidativa pueden aplicarse también los correspondientes compuestos no protegidos de fórmula ( XII )



( XII )

estando los grupos amino presentes en la molécula en forma libre.

10

A, B, U, V, W, X, Z y R tienen en ( XII ) los significados indicados anteriormente.

15

Los compuestos según la invención son agentes antimicrobianos con un espectro amplio de actividad y particularmente eficaces contra bacterias gramnegativas. Estas propiedades permiten su empleo como medicamentos para combatir enfermedades bacterianas de seres humanos y animales. Son apropiados para

la profilaxis y la quimioterapia de infecciones locales y sistémicas, particularmente infecciones del sistema urogenital provocadas por bacterias gramnegativas, por ejemplo E.coli, Proteus, Klebsiella y Pseudomonas, en medicina humana y veterinaria.

5

A una concentración de 10<sup>6</sup> microgramos/ml se determinó una inhibición profunda en el ensayo de agar punzado, por ejemplo con las siguientes cepas de bacterias.

Pseudomonas aerug. 5737

Pseudomonas aerug. F 41

10

Klebsiella Pneum. 2 München

Klebsiella Pneum. 1 Düsseldorf

E.coli Münster

E.coli Neumann

15

Por lo general la dosis a administrar de los compuestos según la invención depende de la edad y del peso del ser viviente, del tipo de administración, del tipo y de la gravedad de la infección bacteriana. La dosificación de los compuestos según la invención es en general similar a la dosificación del compuesto 3''-N-metilado, El intervalo de dosificación es de desde 20 mg/día/persona hasta 2000 mg/día/persona, preferiblemente de 100 mg a 500 mg/día.

20

25

Los compuestos de la invención pueden ser administrados por vía oral. La administración puede ser hecha en dosis unitarias o repartidas en varias veces. También pueden ser administrados por tópicos en forma de ungüentos, cremas y lociones. Los excipientes para estas formulaciones comprenden agua, aceites, grasas, po-

lísteres y polioles.

Para la administración oral de los compuestos del presente invento pueden utilizarse comprimidos, cápsulas o elixires, pero los compuestos también pueden mezclarse con los piensos.

Por lo general, las preparaciones tópicas contienen desde aproximadamente 0,1 hasta alrededor de 3,0 g del compuesto de la invención por cada 100 g de ungüento, crema o loción. La aplicación tópica se hace aproximadamente de 2 a 5 veces por día.

Los agentes antibacterianos de la invención pueden existir en forma de soluciones o suspensiones para su aplicación a oídos y ojos o en forma de inyecciones intramusculares para su administración parenteral. Las soluciones o suspensiones inyectables se administran usualmente de tal modo que lleguen al organismo infectado aproximadamente de 1 a 15 mg de sustancia activa por kilogramo de peso del cuerpo, en 2 a 4 dosis por día. La dosis exacta depende del tipo de infección, de la sensibilidad del germen infectante y de las características individuales del sujeto a tratar.

Formulación 1.

<u>Comprimido</u>	<u>de 10 mg</u>	<u>de 25 mg</u>	<u>de 100 mg</u>
3"-N-desmetil-3"-N- etil-sisomicina	10,50 <sup>+</sup> mg	26,25 <sup>+</sup> mg	105,00 <sup>+</sup> mg
lactosa	197,50 mg	171,25 mg	126,00 mg
almidón de maíz	25,00 mg	25,00 mg	35,00 mg

<u>Comprimido</u>	<u>de 10 mg</u>	<u>de 25 mg</u>	<u>de 100 mg</u>
polivinilpirrolidona	7,50 mg	7,50 mg	7,50 mg
estearato de magnesio	2,50 mg	2,50 mg	3,50 mg

+) exceso del 5 %

5 Preparación

Se prepara una suspensión

con la 3''-N-desmetil-etilsisomicina, la lactosa y la polivinilpirrolidona, que se seca por pulverización. Se agregan el almidón de maíz y el estearato de magnesio, se mezcla y se moldean los comprimidos.

10 Formulación 2.

Ungüento

3''-N-desmetil-3''-N-etilsisomicina	1,0 g
metilparabeno U. S. P.	0,5 g
propilparabeno U. S. P.	0,1 g
petrolato cantidad suficiente para	1000 g

15

Preparación

(1) Se funde el petrolato.

(2) Se mezclan la 3''-N-desmetil-3''-N-etilsisomicina, el metilparabeno y el propilparabeno con aproximadamente un 10 % de petrolato fundido.

20

(3) Se introduce la mezcla en un molino coloidal.

(4) Se agrega el petrolato restante con agitación y se enfría la mezcla hasta el estado semisólido. El producto se envasa en envases apropiados.

Formulación 3.

<u>Solución inyectable</u>	<u>por ampolla de 2,0 ml</u>	<u>por 50 litros</u>
3''-N-desmetil-3''-N-etil- <u>sisomicina</u>	84,0 mg <sup>+</sup>	2100,0 gm
metilparabeno, U. S. P.	3,6 mg	90,0 gm
5 propilparabeno U. S. P.	0,4 mg	10,0 gm
bisulfito de sodio	6,4 mg	160,0 gm
dihidrato del etilendiamino-tetraacetato disódico	0,2 mg	5,0 gm
agua, U. S. P. c. s. p.	2,0 mg	50,0 litros
10 +) exceso del 5 %.		

Ejemplo 1. 1, 2', 3, 6'-tetra-N-(etoxicarbonil)-sisomicina.

Se disuelven 1,1 g de sisomicina en 50 ml de etanol y 70 ml de agua. Después de enfriar hasta -10°C se agregan con buena agitación 1,35 ml de éster dietílico del ácido pirocarbónico. Al cabo de otras 2 horas y media, se agregan 100 ml de agua a -10°C. Luego se extrae con 150 ml de éter de petróleo y se concentra la fase acuosa por evaporación en vacío, hasta sequedad. El residuo se disuelve en metanol. Por adición de éter y éter de petróleo, en exceso, precipita el producto deseado.

20 Rendimiento: 1,5 g (91 %)

<sup>13</sup>C, RMN (CD<sub>3</sub>OD/CDCl<sub>3</sub>): δ = 50,86 (C-1); 49,90 (C-2); 46,33 (C-2'); 42,87 (C-6'); 157,94, 157,73, 157,29 y 157,22 (≥ C=O) ppm.

Ejemplo 2.

1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina

Se disuelven 1, 1 g de sisomicina en 120 ml de agua. Después de agregar 60 ml de metanol se agregan gota a gota y agitando 2, 5 ml de anhídrido acético. Al cabo de 15 minutos se concentra por evaporación en vacío hasta sequedad. Se disuelve el residuo en 10 ml de metanol y se agrega esta solución gota a gota a una mezcla de 30 ml de éter y 30 ml de éter de petróleo, precipitándose el producto deseado.

10 Rendimiento: 1, 43 g Espectro de masa: m/e = 615

$^{13}\text{C}$ , RMN, ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 50, 14 (C-1); 49, 20 (D-3);

46, 88 (C-2'); 42, 26 (C-6');

173, 24. 173, 13, 173, 63 ( $\text{>C=O}$ ) ppm.

Ejemplo 3.

3''-N-etil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina

15 1, 9 g de la tetra-N-acetil-sisomicina preparada según el ejemplo 2, se disuelven en 30 ml de dimetilformamida y se mezclan, agitando y a 0°C, con 2 g de óxido de plata y luego con 0, 6 ml de yoduro de etilo disuelto en 3 ml de dimetilformamida. Después de agitar durante la noche, se agregan 10 ml de metanol y 25 ml de cloruro de metileno, se decolora con carbón de leña, se filtra y se concentra el filtrado por evaporación en vacío. Así se obtiene el producto deseado en forma de sustancia sólida incolora.

20 Rendimiento: 1, 9 g  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +168^{\circ}$  (c = 1, 0  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

Ejemplo 4.

3''-N-p-nitrobencil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina

1, 3 g del producto del ejemplo  
2 disuelto en 20 ml de dimetilformamida se agitan con 2, 5 g de óxido  
5 de plata y 2, 2 g de bromuro de p-nitrobencilo durante 1 hora a tempe-  
ratura ambiente. Subsiguientemente se diluye con 50 ml de cloroformo,  
se agita brevemente con un poco de carbón de leña y se filtra. El  
filtrado se concentra por evaporación en vacío hasta sequedad y el resi-  
duo se reprecipita de cloroformo con éter de petróleo. Rendimiento:  
10 1, 1 g.

$^{13}\text{C}_{\text{RMN}}$ , ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  = 62, 02 ( $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ); 124, 39, 131, 00  
, 148, 57 (H aromáticos); 102, 05  
(C-1''); 67, 03 (C-3'') ppm.

Ejemplo 5.

15 3''-N-ciclohex-3-enilmetil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina.

650 mg del producto del ejem-  
plo 2 disueltos en 3 ml de agua se agitan durante 30 minutos a tempera-  
tura ambiente con 150 mg de 1, 2, 5, 6-tetrahidrobenzaldehído disuelto  
en 10 ml de metanol. Después de agregar 95 mg de cianoborato de  
20 sodio se agita durante otras 10 horas a temperatura ambiente. Para  
terminar la elaboración se filtra la mezcla de la reacción por una co-  
lumna corta llenada con un intercambiador de iones básico (forma  $\text{OH}^\ominus$ ,  
Lewattit <sup>(R)</sup> MP 500 Bayer, Leverkusen), se concentra el filtrado por  
evaporación en vacío hasta sequedad, se extrae el residuo con cloruro  
25 de metileno/metanol en proporción 1 : 1, se separa lo no disuelto por

filtración y se concentra el filtrado por evaporación en vacío hasta sequedad. Rendimiento: 600 mg de sustancia sólida incolora (mezcla de diastereómeros).

<sup>13</sup>C, RMN, (CD<sub>3</sub>OD/CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  = 33, 60, 33, 35, 27, 95, 27, 48, 25, 74, 25, 45 (ciclometilenos); 127, 55; 126, 95 ( >C=C< ) 67, 46 (C-3'') ppm.

Ejemplo 6.

3''-N-( $\beta$ -metilalil)-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina.

130 mg del producto del ejem-

10 plo 2 se disuelven en 2 ml de dimetilformamida y se mezclan a 0°C con 90 mg de 3-cloro-2-metilpropeno-1 y 200 mg de óxido de plata. Se agita durante 24 horas más a la temperatura ambiente, se agregan 2 ml de metanol y 2 ml de cloruro de metileno y se termina de elaborar como se ha descrito en el ejemplo 3. Sustancia sólida incolora de  
15 p.fus. 158°C Rf = 0, 68

(sistema eluyente B= cloroformo: metanol: 15 % de NH<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O en la proporción de 1 : 1 : 1; placas preparadas para cromatografía en capa delgada de gel de sílice 60-F254, de la casa E. Merck, Darmstadt).

Ejemplo 7.

20 3''-N-( $\beta$ ,  $\gamma$ -dihidroxiopropil)-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina.

2, 6 g de 1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina en 30 ml de agua se mezclan con 400 mg de aldehído glicérico disueltos en 30 ml de metanol y agitados durante 45 minutos a temperatura ambiente. Se agregan 360 mg de clonoborato de sodio y se calienta durante 7 horas y media con reflujo. Se termina la elabora-

25

ción como se ha descrito en el ejemplo 5. Se obtienen 2.5 g de una sustancia sólida incolora (mezcla de diastereómeros) de p. fus. 130-140°C (con descomposición).

Ejemplo 8.

3''-N-desmetil-3''-N-etil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina.

5

10

15

2 g de 3''-N-etil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina (véase el ejemplo 3) se disuelven en 22 ml de agua y 5 ml de acetona, y la solución se enfría a 0°C después de agregar 400 mg de hidróxido de potasio disueltos en 5 ml de agua. Entonces con buena agitación y refrigeración se agregan gota a gota 500 mg de permanganato de potasio disueltos en 50 ml de agua. Al cabo de una hora y media se precipitan las sales inorgánicas por adición de 70 ml de acetona. Se separa por filtración lo no disuelto, se concentra el filtrado por evaporación en vacío y se extrae el residuo así obtenido con metanol/cloroformo. Se filtra de nuevo, se concentra el filtrado por evaporación en vacío y se purifica el producto en bruto así obtenido por filtración a través de columnas de gel de sílice.

De esta manera se obtiene el compuesto del título en forma de sólido amorfo.

20

<sup>13</sup>C, RMN, (CD<sub>3</sub>OD) :  $\delta$  = 100, 87 (C-1''); 70, 39 (C-2''); 63, 83 (C-3'');  
51, 17 (C-1); 34, 65 (C-2); 50, 09 (C-3);  
97, 63 (C-1'); 46, 58 (C-2);  
15, 12 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm.

Ejemplo 9-

3''-N-desmetil-3''-etil-sisomicina.

Para separar los grupos acetilo, el producto obtenido según el ejemplo 8 se disuelve en 30 ml de agua y, después de agregar 20 g de hidrato de hidróxido de bario, se calienta durante 5 horas a reflujo. Para terminar la elaboración, se precipitan las sales de bario disueltas, como carbonato de bario. Se filtra, se concentra el filtrado por evaporación en vacío hasta sequedad, se extrae el residuo así obtenido con metanol/cloruro de metileno y se separa por filtración lo no disuelto. La concentración del filtrado por evaporación da el compuesto del título en forma de sustancia sólida incolora.

$[\alpha]_D^{20} = +179^\circ$  (c = 1,0 H<sub>2</sub>O) Rf = 0,27 (sistema eluyente A = cloroformo: metanol: 20 % de NH<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O en la proporción de 2 : 4 : 1).

Ejemplo 10.

3''-N-desmetil-3''-N-propil-sisomicina.

400 mg de 1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina se disuelven en 5 ml de metanol y 1 ml de agua. Se mezcla la solución con 200 mg de propionaldehído y se la deja en reposo durante media hora a la temperatura ambiente. Entonces se agregan 100 mg de cianoborato de sodio y se deja reaccionar durante otras 3 horas a la temperatura ambiente. Se termina de elaborar como se ha descrito en el ejemplo 5 y se obtienen así 400 mg de 3''-n-propil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina, que se somete en bruto a desmetilación oxidativa. A este objeto el producto se disuelve en 4,5 ml de agua y 1 ml de acetona, y a esta solución se agregan 85 mg de hidróxido

de potasio disueltos en 1 ml de agua. Después de enfriar a 0°C, se agregan lentamente, gota a gota y con buena agitación, 100 mg de permanganato de potasio disueltos en 10,5 ml de agua. Al cabo de una hora y media a la temperatura ambiente, se diluye con 25 ml de acetona, se separa lo no disuelto por filtración y se concentran los filtrados por evaporación en vacío hasta sequedad. El producto en bruto así obtenido se cromatografía para su purificación definitiva, por una columna corta con gel de sílice. (Eluyente: sistema A).

5

Para separar los grupos N-ac-

10

tilo se disuelve la 3''-N-desmetil-3''-N-propil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetilsisomicina así obtenida en 6 ml de agua, se agregan 4 g de hidrato de hidróxido de bario y se calienta durante 5 horas con reflujo. Para terminar la elaboración las sales de bario disueltas se precipitan como carbonato de bario. Se filtra, se concentra el filtrado por evaporación en vacío hasta sequedad y se extrae el residuo así obtenido con metanol/cloruro de metileno y se separa por filtración lo no disuelto. La concentración del filtrado por evaporación da el compuesto del título en forma de sustancia sólida incolora.

15

Rf = 0,32 (sistema eluyente A)

20

Las siguientes 3''-N-desmetil-

3''-N-alquil-sisomicinas se preparan de la manera descrita en el ejemplo 10:

1. 3''-N-desmetil-3''-N-n-butyl-sisomicina Rf = 0,35
2. 3''-N-desmetil-3''-N-n-pentil-sisomicina " = 0,37
3. 3''-N-desmetil-3''-N-n-heptil-sisomicina " = 0,40

25

4. 3''-N-desmetil-3''-N-( $\beta$ -dimetilpropil)-sisomicina, Rf = 0,38
5. 3''-N-desmetil-3''-N-( $\beta$ -metoxibutil)-sisomicina Rf = 0,48
6. 3''-N-desmetil-3''-N-( $\gamma$ ,  $\epsilon$ -dimetoxihexil)-sisomicina " = 0,53

5 El sistema eluyente para la determinación del Rf es en cada caso cloroformo: metanol :  $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$  al 20 % en relación 1 : 1 : 1. Rf de la sisomicina = 0,18.

Ejemplo 11.

3''-N-desmetil-3''-N- $\beta$ -aminoetil-sisomicina.

10 La alquilación reductiva con N-etoxicarbonilaminoacetaldehído de 400 mg de 1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina disuelta en 8 ml de metanol y 1 ml de agua da 380 mg de 3''-N-( $\beta$ -etoxicarbonilaminoetil)-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina que, como se ha descrito en el ejemplo 10, se desmetila y subsiguientemente se desaclila. Así se obtiene el compuesto del título en forma de  
15 sustancia sólida amorfa. Rf = 0,10. (Sistema eluyente A).

Ejemplo 12.

3''-N-desmetil-3''-N-metoxietil-sisomicina.

20 220 mg del dietilacetal del metoxiacetaldehído se disuelven en 2 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 4 ml de metanol. Se ajusta el pH a 1 con ácido sulfúrico diluído, se calienta durante 10 minutos con reflujo y subsiguientemente se neutraliza con solución diluída de soda cáustica diluída. Ahora se agregan 400 mg de 1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina, se deja en reposo durante media hora a la temperatura ambiente y entonces se agregan 100 mg de cianoborato de so-

5 dio. Al cabo de otras 5 horas se termina de elaborar como se ha-  
descrito en el ejemplo 10. La desmetilación y la separación de los  
grupos protectores se efectúa como se ha descrito en el ejemplo 10,  
y se obtiene el compuesto del título en forma de sustancia sólida incolo-  
ra. Rf = 0, 33 (Sistema eluyente A)

En forma análoga se obtiene la  
3''-N-desmetil-3''-N-β-n-butoxi-sisomicina. Rf = 0, 58 (sistema elu-  
yente A).

Ejemplo 13.

10 3''-N-desmetil-3''-N-β-butenil-sisomicina

400 mg de 1, 2', 3, 6'-tetra-N-  
acetil-sisomicina disueltos en 5 ml de metanol y 3 ml de agua se agitan  
con 100 mg de crotonaldehído durante media hora a la temperatura am-  
biente. Después de agregar 100 mg de cianoborato de sodio se deja  
15 reaccionar durante 2 horas a la temperatura ambiente y subsiguiente-  
mente se continúa elaborando como se ha descrito en el ejemplo 10  
(Rf = 0, 64, sistema eluyente B). Para la desmetilación oxidativa, se  
disuelve el producto así obtenido en 8 ml de H<sub>2</sub>O y se agrega esta solu-  
ción, con buena agitación, a una solución de 320 mg de hexacianoferra-  
20 to (III) de potasio y 150 mg de hidróxido de sodio disueltos en 8 ml de  
agua. Se deja en reposo durante 48 horas a temperatura ambiente, se  
diluye con 40 ml de acetona, se separan por filtración las sales precipi-  
tadas y se concentra el filtrado por evaporación en vacío. Para su pu-  
rificación, el producto en bruto así obtenido se filtra por una columna  
25 corta de gel de sílice (sistema eluyente B). Así se obtiene la 3''-N-des-

metil-3''-N-β-butenil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina en forma de sustancia sólida amorfa.  $[\alpha]_D^{22} = + 148^{\circ}$  (c = 1,0 CH<sub>3</sub>OH)

Rf = 0,7 (sistema eluyente B). Para separar los grupos acetilo, se procede como se ha descrito en el ejemplo 10, y se obtiene el compuesto del título en forma de sustancia sólida amorfa. Rf = 0,36 (sistema eluyente A).

5

De la misma manera, por des-

metilación oxidativa de la 3''-N-toliletil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina, se obtiene la 3''-N-desmetil-3''-N-toliletil-1, 2', 3, 6'-tetra-N-acetil-sisomicina (con  $\alpha_D^{22} = + 134^{\circ}$  (c = 0,84 CH<sub>3</sub>OH)) y de ésta por separación de los grupos protectores.

10

1. la 3''-N-desmetil-3''-N-toliletil-sisomicina

Rf = 0,45 (sistema eluyente A) y

2. la 3''-N-desmetil-3''-N-alil-sisomicina

Rf = 0,33 (sistema eluyente A).

15

#### Ejemplo 14.

#### 3''-N-desmetil-3''-N-etil-sisomicina.

12,5 g de 3''-N-etil-sisomicina

se agregan a una solución de 16 g de hidrato de carbonato de cadmio y

20

120 ml de amoníaco acuoso al 25 %, en 400 ml de agua. Se enfría a

0 - 1°C y se mezcla en el transcurso de una hora con una solución de

18 g de hexacianoferrato(III) de potasio en 440 ml de agua, con agita-

ción fuerte. Después de neutralizar con ácido sulfúrico acuoso al 20 %, ,

se separa por filtración el precipitado formado y se hace pasar al filtra-

25

do por una columna corta de un intercambiador de iones básico (forma

OH<sup>⊖</sup>, Lewatit MP 500 (R), Bayer H.G., Leverkusen). El eluido se concentra por evaporación en vacío hasta sequedad, el residuo se recoge con metanol/cloruro de metileno y la mezcla así obtenida se filtra. Después de concentrar el filtrado por evaporación, quedan 10,0 g del compuesto del título en forma de sustancia sólida amorfa.

5

$$[\alpha]_D^{22} = +179^\circ \quad (c = 1,0 \text{ H}_2\text{O}).$$

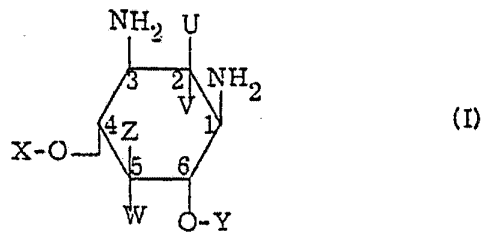
Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente - indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

10



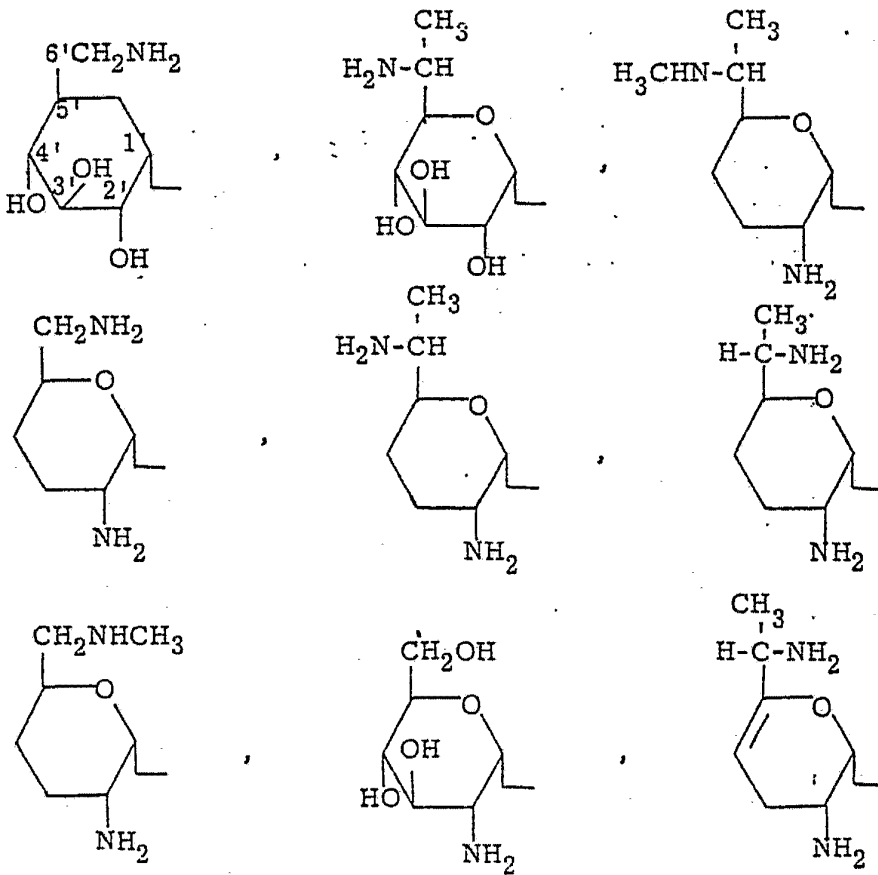
REIVINDICACIONES

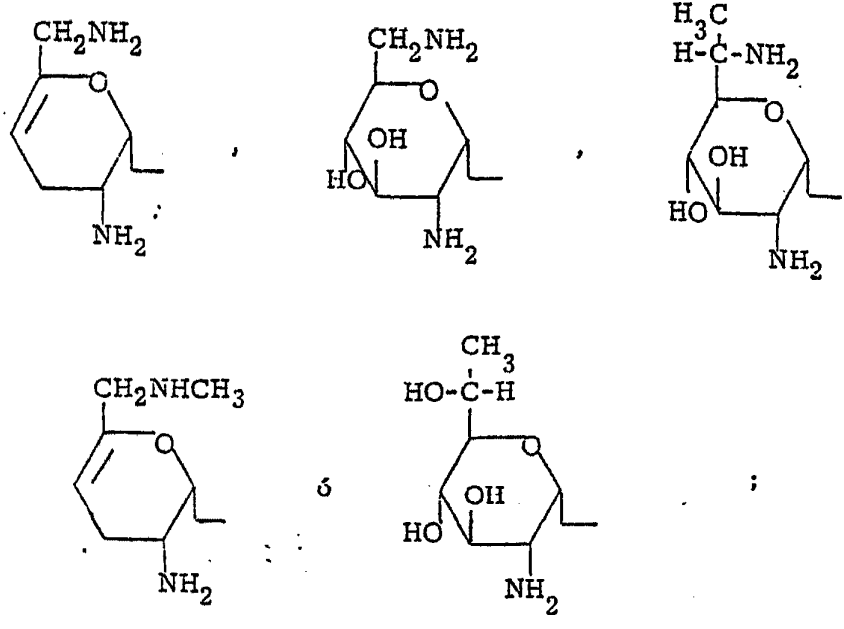
1.- Procedimiento para preparar pseudotri-sacaridos, de fórmula (I):



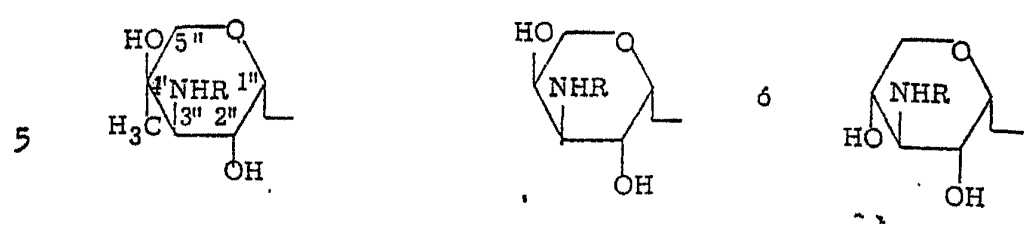
en la cual

X representa un resto

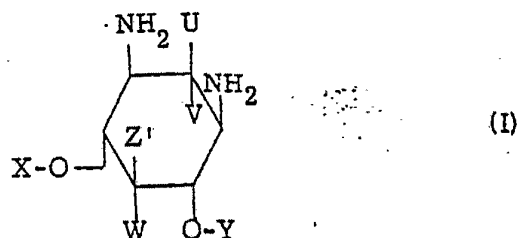




e  
 Y significa un resto



U, V, W significan hidrógeno o hidroxí;  
 Z puede ser hidrógeno, hidroxí o amino, y  
 R, en la parte del sacárido representada por Y, significa alquilo (excepto metilo), alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquil-alquilo, cicloalqueno-alquilo, arilo o aralquilo, pudiendo estar sustituidos los restos hidrocarbonados citados para R;

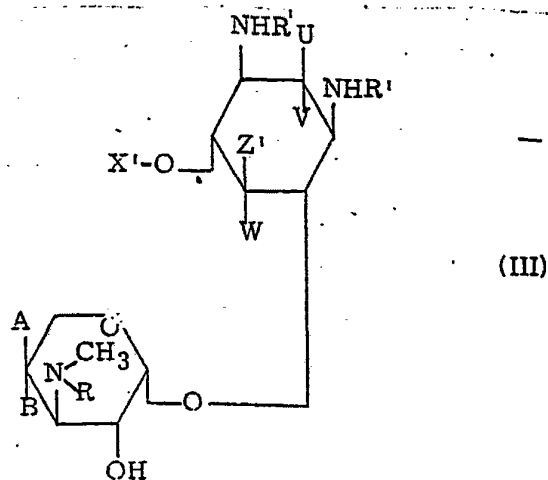


en la cual

caracterizado porque se hacen reaccionar compuestos de

5

fórmula (III)



en la cual

A significa hidroxilo o hidrógeno y

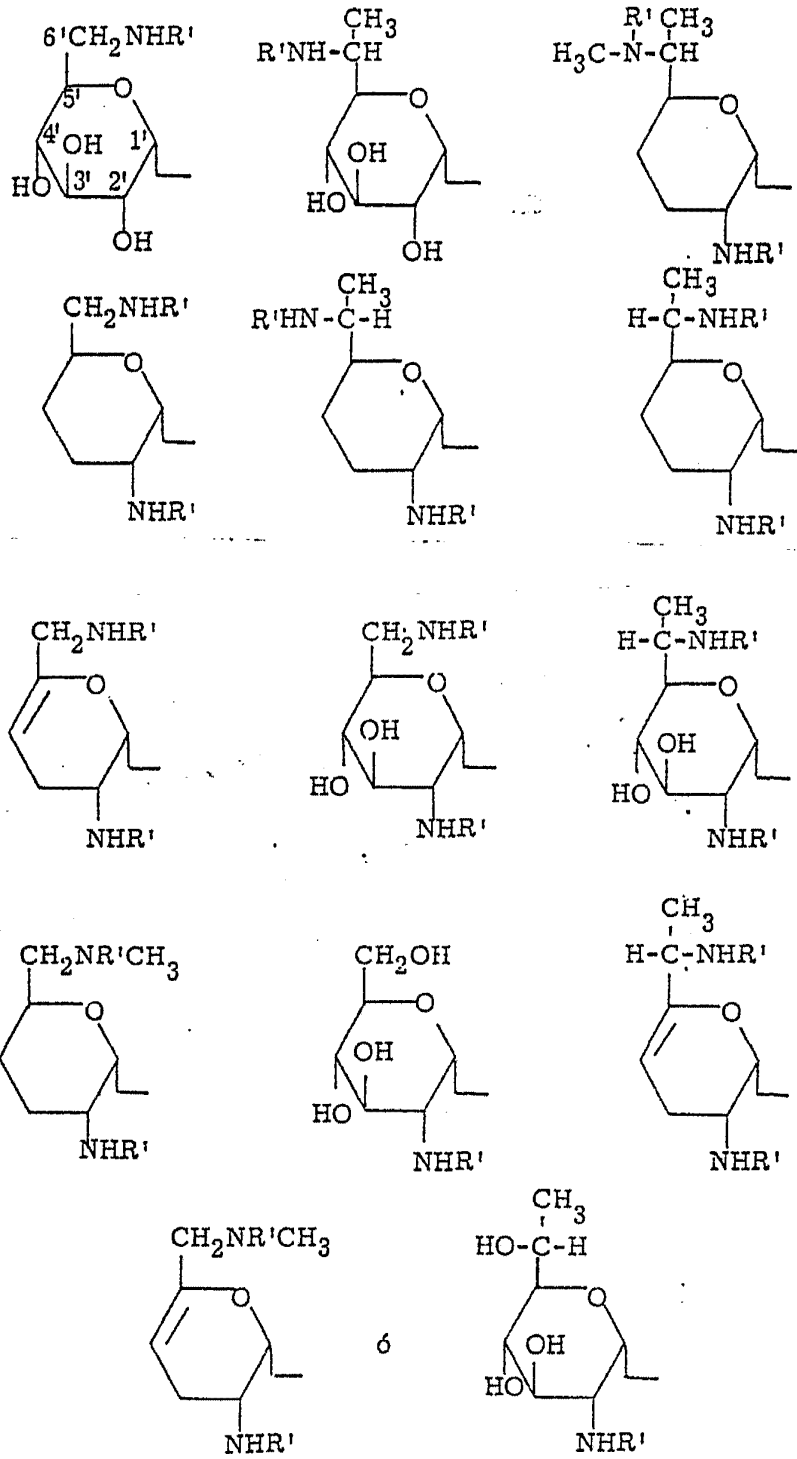
B, hidroxilo, hidrógeno o metilo;

10 R, U, V, W tienen los significados indicados en la cláusula 1;

Z' significa hidrógeno, hidroxilo, amino o amino protegido por R';

R' representa un grupo protector de amino, y

X' representa un resto de fórmulas



en las cuales

R' tiene el significado arriba indicado,

(con un agente de oxidación) a una temperatura de unos -20°C a unos + 100°C, preferiblemente en presencia de un diluyente inerte en las condiciones de la reacción y , después de separarse los grupos protectores del grupo amino, se aislan -  
5 los seudotrisacáridos de fórmula (I) en forma libre o, en presencia de ácidos, en forma de sales de adición.

2.- Procedimiento para preparar seudo-  
triacaridos, tal y como queda sustancialmente descrito en  
la presente Memoria.

10 Esta Memoria consta de 47 hojas escritas a máquina por una sola cara.

17 AGO. 1978  
Madrid,

BAYER AKTIENGESELLSCHAFT,

J. M. GOMEZ ACEBO Y POMBO  
p. p. Firmador J. Suarez Diaz

