

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

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	NÚMERO	476106	10	A1
			22	FECHA DE PRESENTACION		
				19-12-78		

5 MAR. 1979

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
	31	NÚMERO			
		P 27 56 914.8	21-12-77		Rep. Federal Alemana

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C07D/A61K		

64	TITULO DE LA INVENCION
	"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 4-ESPECTINOMICILAMINA"

71	SOLICITANTE (S)	(Case 5/726)
	DR. KARL THOMAE GESELLSCHAFT MIT BESCHRANKTER HAFTUNG	

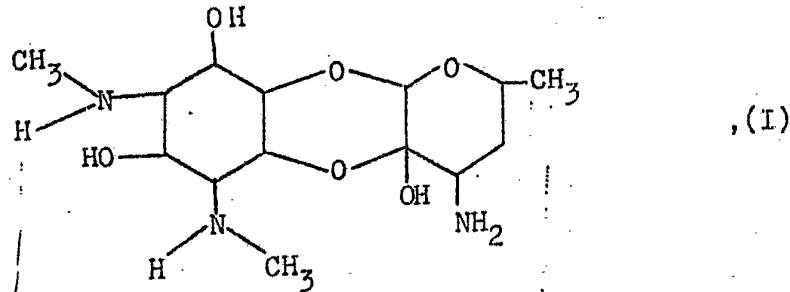
DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Biberach an der Riss, República Federal Alemana

72	INVENTOR (ES)
	Dr. Roland Maier, Dr. Eberhard Weitun, Dr. Wolfgang Reuter, Dr. Bernd Wetzell, Dr. Hanns Hoeth y Dr. Uwe Lechner.

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 70.367)

La invención se refiere a 4-espectinomicilamina de la fórmula



a sus sales por adición de ácido, fisiológicamente compatibles, con ácidos inorgánicos u orgánicos, a un procedimiento para su preparación y a medicamentos que contienen estas sustancias.

10

La 4-espectinomicilamina de la fórmula I puede describirse también como decahidro-4a,7,9-trihidroxi-4-amino-2-metil-6,8-bis(metilamino)-pirano-[2,3-b][1,4]benzodioxina. Este compuesto posee una eficacia antimicrobiana excelente junto con buena compatibilidad, y por consiguiente es superior a la conocida espectinomicina (entonces designada como actinoespectacina) como antibiótico de amplio espectro.

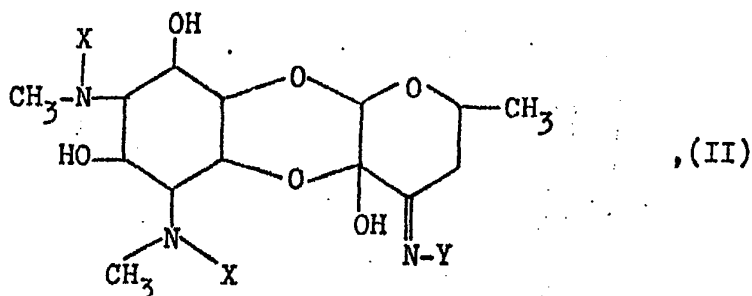
15

La preparación de la 4-espectinomicilamina se efectúa tal como se describe a continuación:

20

1. Mediante reducción de un derivado espectinomicínico de la fórmula general

25



5 donde X e Y tienen los siguientes significados:

X significa un átomo de hidrógeno, un grupo orgánico, conocido a partir de la química de los péptidos, fácilmente separable mediante reducción, tal como el grupo benciloxicarbonilo, 4-bromo- ó 4-nitro- ó 4-cloro-benciloxicarbonilo, el grupo 4-metoxi- ó 3,4-dimetoxi- ó 3,4-metilen-dihidroxi- ó 3,4,5-trimetoxi- ó 4-deciloxi- ó 4-acetoxi- ó 4-etoxicarboniloxi-benciloxicarbonilo, un grupo fenil- o bifenil-alcoxicarbonilo, el cual puede estar sustituido en el radical fenilo con uno hasta tres grupos metilo o metoxi y cuyo grupo alcoholeno, que puede ser lineal o ramificado, contiene 2 hasta 4 átomos de carbono, tal como por ejemplo el grupo α, α -dimetil-3,5-dimetoxi-benciloxicarbonilo o 2-[bifenilil-(4)]-propil-(2)-oxicarbonilo, el cual puede estar eventualmente sustituido con un grupo nitro, metoxi o metilo, un grupo dialcoholaminooxicarbonilo, tal como el grupo dimetilamino-oxicarbonilo o el grupo piperidinooxicarbonilo, o también un grupo bencilo o tritilo e Y significa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi con 1 hasta 10 átomos de carbono, el grupo fenalcoxi con en total 7 hasta 12 átomos de carbono o un grupo de la fórmula $-N \begin{matrix} R_1 \\ < \\ R_2 \end{matrix}$,

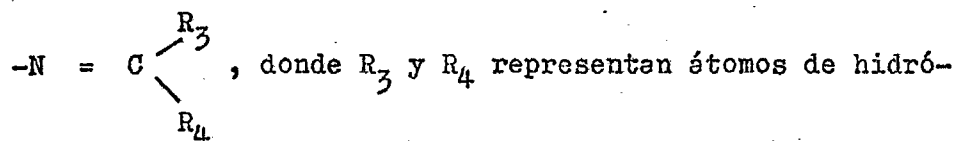
10

15

20

25

donde R_1 y R_2 representan átomos de hidrógeno, grupos alcohilo con 1 hasta 6 átomos de carbono, grupos fenalcohilo con en total 7 hasta 10 átomos de carbono o el grupo fenilo, pudiendo ser R_1 también un grupo acilo alifático con 1 hasta 10 átomos de carbono o el grupo benzóilo, si R_2 posee los otros significados mencionados precedentemente, o un grupo de la fórmula

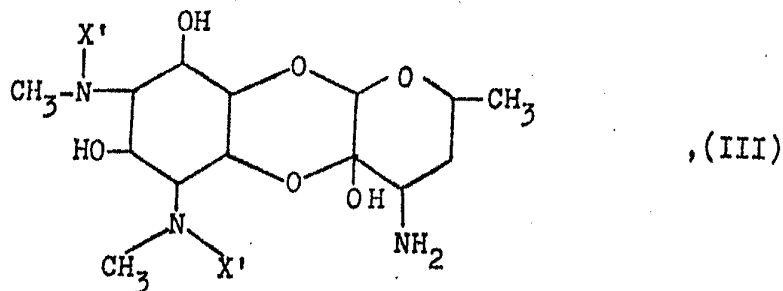


geno, grupos alcohilo con 1 hasta 6 átomos de carbono, grupos fenalcohilo con 7 hasta 10 átomos de carbono o el grupo fenilo, pudiendo formar R_3 y R_4 juntamente con el átomo de carbono que está entre ellos también un anillo carbocíclico de 5 hasta 8 miembros.

Para la reducción es adecuada especialmente la hidrogenación catalítica en presencia de catalizadores metálicos, tales como por ejemplo platino finamente dividido, paladio o dióxido de platino. La hidrogenación se realiza en agua, en disolventes orgánicos, tales como alcoholes, ácidos carboxílicos, dioxano, tetrahidrofurano, o en mezclas de estos disolventes a temperaturas comprendidas entre 0° y 100°C , preferentemente entre 20 y 50°C , y a presiones comprendidas entre 1 y 100 atmósferas. En tal caso se manifiesta ventajosa la adición de ácidos inorgáni-

cos u orgánicos, tales como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico o ácido trifluorometanosulfónico.

2. Mediante separación de los radicales X' a partir de derivados 4-espectinomomicilaminicos de la fórmula general



En ésta X' significa un grupo orgánico, conocido a partir de la química de los péptidos, fácilmente separable mediante tratamiento con ácidos, con bases o mediante reducción, tal como el grupo benciloxicarbonilo, el grupo 4-bromo- ó 4-nitro- ó 4-cloro-benciloxicarbonilo, el grupo 4-metoxi- ó 3,4-dimetoxi ó 3,4-metilen-dihidroxi- ó 3,4,5-trimetoxi- ó 4-deciloxi- ó 4-acetoxi- ó 4-etoxicarbonilxi-benciloxicarbonilo, un grupo alcóxicarbonilo saturado o insaturado con 1 hasta 12 átomos de carbono, el cual puede estar sustituido eventualmente con un grupo furilo-(2), con un grupo para-tolilsulfonilo, con uno o varios átomos de halógeno, con un grupo alcoxi o alcoxi-alcoxi con 1 hasta 3 átomos de carbono en la porción alcohólica y con 1 hasta 3 átomos de carbono en la porción alcohil-

5 nica, por ejemplo el grupo furil-(2)-metoxicarbonilo, aliloxycarbonilo, 2-(para-tolilsulfonil)-etoxicarbonilo, 2-bromo-etoxicarbonilo, 2,2,2-tricloro-etoxicarbonilo, 2-(2-metoxi-etoxi)etoxicarbonilo, 3-metil-pentil-(3)-oxycarbonilo, pero especialmente el grupo ter-butiloxycarbonilo, un grupo cicloalcoholoxycarbonilo con 5 hasta 12 átomos de carbono, tal como el grupo ciclopentiloxycarbonilo o ciclohexiloxycarbonilo, ambos de los cuales pueden estar sustituidos con un grupo metilo, etilo o ter-butilo,

10 el grupo isoborniloxycarbonilo o el grupo adamantil-(1)-oxycarbonilo, un grupo fenil- o bifenilalcoxicarbonilo, el cual puede estar sustituido en el radical fenilo con uno hasta tres grupos metilo o metoxi y cuyo grupo alcoholeno, que puede ser lineal o ramificado, contiene 2 hasta 4 átomos de carbono, tal como por ejemplo el grupo

15 α, α -dimetil-3,5-dimetoxi-benciloxycarbonilo ó 2-(bifenillil-(4)7-propil-(2)-oxycarbonilo, el grupo difenil-metoxycarbonilo, un grupo feniloxycarbonilo, que eventualmente puede estar sustituido con un grupo nitro, metoxi o metilo,

20 un grupo dialcoholaminoxycarbonilo, tal como el grupo dimetilaminioxycarbonilo o el grupo piperidinioxycarbonilo, un grupo alcoholtiocarbonilo con 1 hasta 4 átomos de carbono en el radical alcoholo, el grupo benciltiocarbonilo, el grupo formilo u otro grupo acilo alifático con

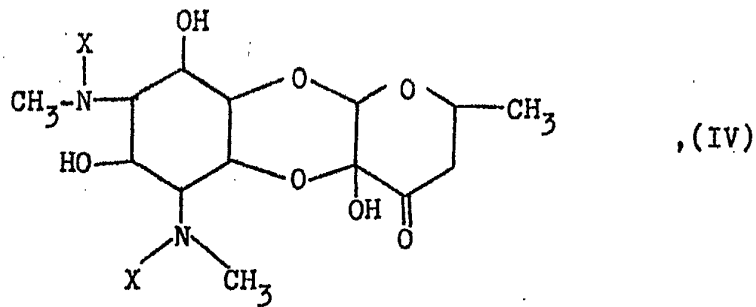
25 1 hasta 10 átomos de carbono, el cual eventualmente puede

estar sustituido además con 1 hasta 3 átomos de halógeno, grupos hidroxilo, radicales acilo, o con un grupo nitro, tal como el grupo trifluoroacetilo, acetoacetilo, 2-nitro-
5 -fenoxi-acetilo, monocloroacetilo, 3-cloro-butiroilo, 3-hidroxiisocaproilo, además de ello X puede ser un grupo benzilo, 2-nitrobenzilo, 4-tolueno-sulfonilo, bencil-sulfonilo o para-metoxibencenosulfonilo o también un grupo bencilo o tritilo.

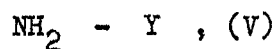
La separación del radical X' se efectúa por ejemplo por medio de hidrogenólisis catalítica en disolventes acuoso-orgánicos o puramente orgánicos tales como alcoholes, ácido acético, dimetilformamida, en presencia de catalizadores de metales nobles, tales como negro de paladio, paladio sobre carbón o paladio sobre sulfato de berio, platino sobre carbón, o mediante desdoblamiento re-
15 ductivo con sodio en amoníaco líquido o mediante un desdoblamiento acidolítico con un hidrácido halogenado, tal como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido trifluoroacético o un ácido sulfónico orgánico en disol-
20 ventos tales como ácido acético glacial, cloroformo, agua o etanol. Grupos alcoxycarbonilo pueden ser eliminados también mediante la acción de hidróxido de sodio en mezclas de agua-etanol o mediante la acción de etanolato de sodio en etanol. Los grupos feniloxycarbonilo o benciloxycarbonilo así como dialcoholaminooxycarbonilo eventualmen
25

5 te sustituidos pueden ser eliminados mediante hidrogenación catalítica. Radicales acilo pueden ser separados especialmente bien mediante la acción de un ácido clorhídrico metanólico o de lejías acuosas. El grupo 2,2,2-tricloro-etoxicarbonilo es eliminado ventajosamente mediante la acción de zinc en polvo en ácido acético o de zinc en polvo en metanol. El grupo bencilo es eliminado en cambio preferentemente mediante hidrogenación catalítica con paladio, el grupo tritilo es eliminado mediante saponificación ácida por medio de ácido acético. Sin embargo, la mayor parte de los grupos X' pueden ser separados por ejemplo con bromuro de hidrógeno en ácido acético glacial a temperaturas comprendidas entre 20 y 50°C. La 4-espectinomilammina de la fórmula I puede ser transformada a continuación, si se desea, por medio de ácidos inorgánicos u orgánicos, según métodos conocidos, en sus sales por adición de ácido, fisiológicamente compatibles. Como ácidos entran en consideración por ejemplo: ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido tartárico o ácido fumárico.

15
20
25
Un derivado espectinomicínico de la fórmula general II, que sirve como sustancia de partida, puede ser preparado a partir de un derivado espectinomicínico de la fórmula general



5 donde X está definido tal como anteriormente, mediante reacción con un compuesto de la fórmula general



10 donde Y está definido asimismo tal como anteriormente. La reacción se realiza en agua o en un disolvente orgánico, por ejemplo en alcoholes, tales como etanol, isopropanol, en ácidos carboxílicos, tales como ácido acético glacial, en ésteres o éteres, tales como dioxano o en mezclas de tales disolventes a temperaturas comprendidas entre 0º y 15 100º C, preferentemente entre 0º y 50º C.

Los derivados 4-espectinomamicilamínicos de la fórmula general III, que sirven como sustancias de partida, se obtienen asimismo a partir de los compuestos de la fórmula general IV, a saber haciendo reaccionar a éstos 20 con sales amónicas en presencia de cianoborohidruros de metales alcalinos. La reacción se efectúa en agua o en disolventes orgánicos, preferentemente en alcoholes, o en mezclas de éstos, a temperaturas comprendidas entre 0º y 100º C, preferentemente entre 0º y 50º C. Como sales 25 amónicas entran en consideración por ejemplo las sales de

amoníaco con hidrácidos halogenados, ácidos sulfúrico, ácido fosfórico y ácido nítrico, y como cianoborohidruros de metales alcalinos entran en consideración preferentemente cianoborohidruro de sodio.

5 Los compuestos de partida de la fórmula general III, donde X' posee los significados indicados anteriormente con excepción del significado de un grupo fácilmente separable mediante reducción (en el caso de los grupos separables mediante reducción se trata de los indicados anteriormente para X de la fórmula general II), pueden obtenerse reduciendo compuestos de la fórmula general II, donde en lugar de X se dispone el radical X', por ejemplo mediante hidrogenación catalítica.

10 En el caso de la preparación de la 4-espectinomicilamina de la fórmula I aparecen dos compuestos isómeros, a saber la forma 4 R con grupo amino axial y la forma 4 S con grupo amino ecuatorial. La forma 4 R se designa como 4-espectinomicilamina I y manifiesta un valor Rf de 0,5, la forma 4 S, la 4-espectinomicilamina II, posee en cambio un valor Rf de 0,4 (agente adsorbente: gel de sílice G, agente eluyente cloroformo:metanol:amoníaco concentrado tal como 40:40:20). Por ello es fácilmente posible separar ambos isómeros entre sí por medio de métodos cromatográficos.

25 Una asociación de los valores Rf a los corres-

pondientes isómeros era posible porque estos isómeros manifestaron comportamiento químico diferente por ejemplo en el caso de la reacción con acetona o con el éster metílico de ácido 2-ciano-3,3-bis(metil)-mercaptocrílico.

5 Ambas espectinomicilaminas poseen propiedades antimicrobianas valiosas; especialmente mercedes son las propiedades en la forma 4 R, es decir en la 4-espectinomicilamina I.

10 Se investigó la 4R-espectinomicilamina de la fórmula I comparativamente con la conocida espectinomicilamina en lo que se refiere al efecto frente a *Staphylococcus aureus* SG 511, *Streptococcus Aronson*, *Escherichia Coli* ATCC 9637, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ATCC 13 880, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10 031, *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* y en lo que se refiere a la toxicidad aguda.

15 Para las investigaciones se utilizó el método del ensayo de diluciones en serie en un sistema de microvaloración. El ensayo de las sustancias en cuanto a bacteriostasis se efectuó en un medio líquido. Se investigó el efecto de bacteriostasis en las siguientes concentraciones: 80; 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 y 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Como medio nutricio sirvió un caldo a base de 5 g de peptona, 3 g de extracto de cerne, completado con agua destilada hasta un volumen de 1.000 ml; valor pH 6,7. La edad

20

25

de los cultivos primarios fue de 24 horas. El ajuste de la suspensión de bacterias se efectuó con el fotómetro (según "Eppendorf") (diámetro del tubo de ensayo 14 mm, filtro 546 mm) con ayuda del enturbiamiento de una suspensión comparativa de sulfato de bario, que había sido producida por medio de una suspensión de sulfato de bario, la cual se formó mediante la adición de 3,0 ml de solución al 1% de cloruro de bario en 97 ml de ácido sulfúrico al 1%. Después del ajuste fueron diluidos adicionalmente Streptococcus Aronson en la proporción 1: 150, y los demás gérmenes del ensayo en la proporción 1: 1.500, con una solución de ssl común.

16 mg de la sustancia correspondiente fueron pesados en matraces graduados de 10 ml y completados con el disolvente hasta la marca. La serie adicional de diluciones se preparó con agua destilada o con el correspondiente disolvente.

Las cavidades de las placas de micro valoración fueron cargadas con 0,2 ml de medio nutricio con 0,01 ml de la correspondiente dilución de sustancia y con una gota de suspensión de bacterias y fueron incubadas durante 18 hasta 20 horas a 37°C. Se realizó siempre al mismo tiempo un control de disolvente.

La lectura se efectuó macroscópicamente, determinándose la correspondiente concentración límite (= la

concentración más baja, todavía eficaz bacteriostáticamente).

En la tabla siguiente están indicadas las concentraciones o concentraciones inhibitorias mínimas determinadas para las dos sustancias mencionadas anteriormente:

5

10

15

20

25

Bacterias	Concentración inhibitoria mínima en $\mu\text{g/ml}$ de la sustancia	
	4R-espectinomycinolamina	Espectinomycin
Staphylococcus aureus SG 511	5 (2,5)	20 (10)
Streptococcus Aronson	5	10
Escherichia Coli ATCC 9637	20 (10)	40 (20)
Pseudomonas aeruginosa	40 (20)	160 (80)
Serratia marcescens ATCC 13 880	10	20
Klebsiella pneumoniae ATCC 10 031	10 (5)	20 (10)
Proteus mirabilis	10	10
Proteus vulgaris	5	10

Los valores entre paréntesis significan las

concentraciones, con las que puede reconocerse la disminución del crecimiento, pero todavía ninguna detención completa del crecimiento.

La toxicidad aguda fue determinada mediante administración peroral y subcutánea de ambas sustancias a ratones blancos de laboratorio en dosis crecientes. La DL₅₀ es la dosis, después de cuya administración murieron 50 % de los animales en el espacio de 8 días. Las dos sustancias manifestaron en tal caso una DL₅₀ de más de 5g/kg; en el caso de 5 g/kg no murieron ningunos animales con ambas sustancias. Después de la inyección subcutánea ambas sustancias poseen una DL₅₀ de más de 1.000 mg/kg; por consiguiente son completamente atóxicas para la práctica.

Ejemplos de preparación de los productos de partida:

Ejemplo A

Espectinomycin-benciloxima

6 g (0,012 moles) de diclorhidrato de espectinomicina pentahidratado y 3 g de O-bencilhidroxilamina son disueltos en 25 ml de agua y 25 ml de metanol. La solución es agitada durante la noche, concentrada por evaporación, el residuo es disuelto en un poco de etanol absoluto y mezclado con éter hasta el enturbiamiento. Se obtienen 5,0 g (83 % de la teoría) de polvo incoloro con un

punto de descomposición de 175°C.

Rf: 0,8 (gel de sílice, cloroformo/metanol/amoniaco concentrado =20:20:3)

Espectro RMN (disolvente CD₃OD)

- 5 ppm : 1,3 (doblete, 3H ≐ 2-CH₃-)
 2,8 (doblete, 6H ≐ -N-CH₃)
 4,65 (singulete, 1H ≐ 10αH)
 5,2 (singulete, 2H ≐ bencil-CH₂)
 7,4 (singulete, 5H ≐ fenilo)

10 Se obtiene el compuesto libre, mezclando la solución acuoso-metanólica del di-clorhidreto con un intercambiador de iones (Dowex 2 x 8 (Forma OH⁻) hasta el valor pH permanente de 10,4.

15 Cristales incoloros con un intervalo de fusión de 86 - 106°C.

De la misma manera se obtuvieron:

a) 6,8-bisbenciloxicarbonil-espectinomicinoxima a partir de 6,8-bisbenciloxicarbonilespectinomicina e hidroxilamina

Rf: 0,38 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:1)

20 C H N O (615,6)
 30 37 3 11

Calculado: C 58,52 H 6,06 N 6,82

Hallado: 58,00 6,21 6,65

25 El material de partida 6,8-bisbenciloxicarbonilespectinomicina es conocido a partir de la bibliografía (J.Amer. chem. Soc. 85, 2.657 (1963)).

b) 6,8-bis-benciloxicarbonilespectinomycinmetiloxima a partir de 6,8-bis-benciloxicarbonilespectinomicina y O-metilhidroxilamina,

Rf: 0,40 (gel de sílice; cloroformo/metanol = 9:1).

5 c) Diclorhidrato de espectinomycin-benzohidrazona a partir de diclorhidrato de espectinomicina pentahidratado y de benzoilhidrazina,

punto de descomposición: 180°C,

Rf: 0,35 (celulosa, butanol/metanol/agua = 90:25:20).

10 d) Diclorhidrato de espectinomycin-acetohidrazona a partir de diclorhidrato de espectinomicina pentahidratado y de acetilhidrazina,

Margen de descomposición: 160 - 180°C,

Rf: 0,29 (celulosa, butanol/metanol/agua = 20/40/20).

15 Ejemplo B

6,8-bis- β , β , β -tricloroetoxicarbonilespectinomycinben-
ciloxima

20 6 g (0,008 moles) de 6,8-bis- β , β , β -tricloroetoxicarbonilespectinomicina y 1,5 g (0,01 moles) de clorhidrato de O-bencilhidroxilamina son disueltos en 40 ml de dioxano y 40 ml de agua. Mediante adición de lejía de sosa 4n se ajusta un valor de pH de 3 hasta 4. Después de agitar durante 18 horas a temperatura ambiente se incorpora agitando en 150 ml de agua y se extrae con acetato de etilo.

25 La fase orgánica es secada y concentrada por evaporación.

Se obtienen 6 g de producto incoloro (93 % de la teoría)

Rf: 0,30 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:1)

RMN (disolvente deuterocloroformo)

ppm. 1,35 doblete 2H (2-CH₃)

5 3,15 doblete 6H (-N-CH₃)

4,7 singulete 1H (10aH)

4,8 singulete ensanchado 2H (-CH₂-CCl₃)

5,2 singulete 2H (bencil-CH₂)

7,4 singulete 5H (fenilo)

10 El material de partida 6,8-bis-β,β,β-tricloroetoxicarbonilespectinomicina puede ser preparado según el método indicado en J. Antibiotics XXVIII, página 140 (1975) para la 6,8-bisbenciloxicarbonil-4-dihidro-espectinomicina a partir de espectinomicina y de éster β,β,β-tricloroetílico de ácido clorofórmico.

15

Rf: 0,26 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 11:1)

De la misma manera se obtuvieron los siguientes compuestos:

20

a) 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicin-oxima a partir de 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicina y de hidroxilamina,

25

Rf: 0,32 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 11:1). El material de partida 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicina fue obtenido, tal como está indicado anteriormente, a partir de cloruro de para-metoxibencenosul-

fonilo y de espectinomicina.

Rf: 0,40 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:1)

b) 6,8-bis-isoborniloxicarbonilespectinomicin-benciloxima
a partir de 6,8-bis-isoborniloxicarbonilespectinomicina
y de O-bencilhidroxilamina,

Rf: 0,55 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 10:1),
punto de fusión : 120°C (descomposición). El material de
partida fue preparado, tal como está indicado anteriormen
te, a partir de espectinomicina y de cloruro de isobornil
oxicarbonilo;

Rf: 0,42 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 10:1).

Ejemplo C

6,8-bis-benciloxicarbonilespectinomicilamina

1,85 g (0,003 moles) de 6,8-bis-benciloxicarbonilespecti-
nomicina y 2,4 g de nitrato de amonio son disueltos en
15 ml de metanol absoluto y agitados durante 15 minutos
a 40°C. A continuación se añaden en porciones en el es-
pacio de 3 minutos a 20°C 0,131 g de cianoborohidruro de
sodio. Después de 30 minutos a temperatura ambiente se
filtra con succión, el filtrado es incorporado agitando
en 70 ml de una solución saturada de sal común, extraído
con acetato de etilo, el extracto es secado y concentrado
por evaporación. El residuo es triturado con éter y fil-
trado con succión. Este residuo (1,2 g) es cromatografía-
do sobre gel de sílice (cloroformo/metanol = 5:1). Se ob-

tienen 0,6 g de un polvo incoloro con un margen de descomposición de 110 - 130°C.



Calculado: C 58,89 H 6,53 N 6,57

5 Hallado: 59,10 6,99 6,76

Espectro de masas de la sustancia sililada:

M^+ : 817 = 601 + 3X72 (3 radicales sililo)

745 = 601 + 2X72 (2 radicales sililo)

Rf: 0,47 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 5:1)

10 De igual manera se obtuvieron:

a) 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicilamina

a partir de 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicina, nitrato de amonio y cianoborohidruro de sodio,

Rf: 0,55 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:1)

15 b) 6,8-bis- β, β, β -tricloroetoxicarbonilespectinomicilamina a partir de 6,8-bis- β, β, β -tricloroetoxicarbonilespectinomicina, nitrato de amonio y cianoborohidruro de sodio,

Rf: 0,41 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:2)

20 Espectro de masas del compuesto sililado:

M^+ : 969 = 681 + 4X72 (4 radicales sililo)

Peso molecular calculado: 684,18.

25 c) 6,8-bis-isoborniloxicarbonilespectinomicilamina a partir de 6,8-bis-isoborniloxicarbonilespectinomicina, de nitrato de amonio y de cianoborohidruro de sodio.

Espectro de masas de la sustancia sililada:

M^+ : 909 = 693 + 3X72 (3 radicales sililo)

837 = 693 + 2X72 (2 radicales sililo)

693 = peso molecular calculado

5 Punto de fusión: 160°C (descomposición)

d) 6,8-bis-4-metoxibenciloxycarbonilespectinomicilamina
a partir de 6,8-bis-4-metoxibenciloxycarbonilespectinomi-
cina, nitrato de amonio y cianoborohidruro de sodio.

Rf: 0,29 (gel de sílice, cloroformo/metanol 5:1)

10 Espectro de masas del compuesto sililado:

M^+ : 877 = 661 + 3X72 (3 radicales sililo)

Peso molecular calculado: 661,6.

Ejemplo D

15 6,8-bis-isoborniloxycarbonil-espectinomicilamina

7,98 g (0,01 moles) de 6,8-bis-isoborniloxycar-
bonil-espectinomicinbenciloxima, disueltos en 150 ml de
ácido clorhídrico etanólico al 3 %, son reducidos en pre-
sencia de 8 g de óxido de platino con hidrógeno a 25°C.
20 (Presión de hidrógeno: 5 atmósferas; tiempo de reacción:
62 horas).

Después de terminar la reducción, se filtra
con succión del catalizador y el etanol es separado por
destilación en vacío.

25 Se disuelve en agua el residuo sólido remanen-

te, se ajusta el valor de pH de la solución a 3,5 y se separan mediante extracción con éter los productos secundarios. A continuación se eleva el valor de pH de la solución a 7,0 y se extrae nuevamente con éter. Después de secar con sulfato de sodio y de retirar el éter se obtiene el producto deseado en forma de un polvo de color blanco.

Rendimiento: 4,1 g (59 % de la teoría),

Punto de fusión: 160°C (descomposición)

$C_{36}H_{59}N_3O_{10}$ (693,97)

Calculado: C 49,41 H 6,12 N 8,23

Hallado: 49,29 6,25 8,37

El clorhidrato puede obtenerse, tratando la solución etanólica de la base libre con ácido clorhídrico etéreo. Punto de fusión: 182 - 185°C.

De la misma manera se obtuvieron:

a) 6,8-bis- β, β, β -tricloroetoxicarbonilespectinomycinaminas a partir de 6,8-bis- β, β, β -tricloroetoxicarbonilespectinomycin-benciloxima y dióxido de platino.

Rf: 0,41 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:2)

Espectro de masas del compuesto sililado:

M^+ : 969 = 681 + 4X72 (4 radicales sililo)

897 = 681 + 3X72 (3 radicales sililo)

825 = 681 + 2X72 (2 radicales sililo)

Peso molecular calculado: 684,18

b) 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomicilamina
a partir de 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonilespectinomi-
cinoxima y dióxido de platino.

Rf: 0,55 (gel de sílice, cloroformo/metanol = 9:1)

5

Ejemplos de preparación del producto final:

Ejemplo 1

Triclorhidrato de 4-R-espectinomicilamina

10

500 mg de 6,8-bisbenciloxicarbonilespectinomicilamina
(forma R) son hidrogenados en 25 ml de ácido clorhídrico
etanólico al 3,4 % con 500 mg de paladio sobre carbón al
20 % durante dos horas a temperatura ambiente en un apa-
rato secudidor. El catalizador es separado por filtración,
el filtrado es concentrado hasta dejar 5 ml y el residuo
es mezclado con 100 ml de éter. Se obtienen 230 mg (65 % de
la teoría) de polvo incoloro con un punto de fusión de
189 - 194°C.

15

Rf: 0,5 (gel de sílice, cloroformo/metanol/amoníaco con-
centrado= 40/40/15)

20

Espectro de masas del compuesto sililado:

M^+ 693 = 333 + 5X72 (5 radicales sililo)

621 = 333 + 4X72 (4 radicales sililo)

549 = 333 + 3X72 (3 radicales sililo)

477 = 333 + 2X72 (2 radicales sililo)

25

Peso molecular calculado de la base libre 333.

Ejemplo 2Triclorhidrato de 4-R-espectinomicilemina

5 g de diclorhidrato de espectinomicinbenciloxima son hidrogenados a temperatura ambiente y a 15 atmósferas durante 30 horas en 500 ml de ácido clorhídrico etanólico al 3,4 % en presencia de 6,25 g de dióxido de platino. El catalizador es separado por filtración, el filtrado es concentrado hasta dejar 100 ml. Los cristales obtenidos son separados por filtración.

Rendimiento: 2,5 g (59 % de la teoría)

Espectro de masas del compuesto sililado:

M^+ 621 = 333 + 4X72 (4 radicales sililo)

Peso molecular calculado de la base libre 333.

La base libre puede obtenerse, ajustando la solución acuosa del clorhidrato con un intercambiador de iones (Dowex 2 x 8 forma OH) a un valor de pH de 10,9 y concentrando la solución acuosa por evaporación en alto vacío.

Punto de fusión: 114 - 117°C (descomposición).

Ejemplo 3Tribromhidrato de 4-S-espectinomicilemina

1 g (0,00145 moles) de 6,8-bis-isoborniloxycarbonil-espectinomicilemina (forma S) son mezclados con 10 ml de una solución al 20 % de bromuro de hidrógeno en ácido acé

tico glacial a 20°C.

Después de 2 minutos se añaden a la mezcla de reacción 100 ml de éter absoluto. Los cristales precipitados son separados por centrifugación, lavados 3 veces con éter absoluto y secados.

El compuesto deseado se presenta inmediatamente en forma pura. Rendimiento: 0,65 g (78 % de la teoría)

Punto de fusión: 208 - 212°C (descomposición)

$C_{14}H_{27}N_3O_6 \cdot 3HBr$ (576,14)

Calculado: C 29,18 H 5,24 N 7,29 Br 41,60

Hallado: 29,64 5,39 7,01 41,35

Ejemplo 4

Triclorhidreto de 4-R-espectinomicil-amina

Una solución de 6,84 g (0,01 moles) de 6,8-bis-tricloroetoxicarbonil-espectinomicilamine (forma R) en 200 ml de metanol al 70 % es calentada a reflujo después de la adición de 14 g de zinc en polvo.

La mezcla de reacción es filtrada con succión y el filtrado es concentrado por evaporación en vacío.

Se disuelve el residuo en un poco de metanol y se purifica por medio de cromatografía en columna.

(Agente adsorbente: gel de sílice G; agente eluyente: cloroformo/metanol/amoníaco acuoso concentrado = 20:20:5)

Las fracciones que contienen el producto deseado son reunidas y concentradas cuidadosamente por evaporación en vacío.

5 El residuo remanente es disuelto en ácido clorhídrico 0,1 n y liofilizado. La sustancia deseada se obtiene en forma de polvo de color blanco.

Rendimiento: 2,1 g (47 % de la teoría)

Punto de fusión: 189 - 194°C (descomposición)

$C_{14}H_{27}N_3O_6 \cdot 3 HCl$ (442,79)

10	Calculado:	C 37,98	H 6,83	N 9,49	Cl 24,02
	Hallado:	38,12	6,99	9,27	23,62

Ejemplo 5

Triclorhidrato de 4-R-espectinomamicilamina

15 500 mg de 6,8-bis-para-metoxibencenosulfonil-espectinomamicilamina (forma R) son disueltos en 3 ml de ácido metansulfónico y 0,3 ml de anisol y se dejan reposar durante 3 horas a 20°C. La mezcla es incorporada agitando en 20 ml de éter, el producto oleoso separado es digerido varias veces con éter, disuelto en un poco de agua y purificado mediante cromatografía en columna.

20

(SiO_2 , cloroformo/metanol/amoniaco concentrado = 20:20:5)

25

El producto obtenido es disuelto en la cantidad calculada de ácido clorhídrico n/100, y concentrado por evaporación en alto vacío a 0°C. El producto es lava-

do con éter y secado.

Rendimiento: 50 mg (25 % de la teoría)

Punto de fusión: 187 - 190°C.

Ejemplo 6

Triclorhidrato de 4R-espectinomicilamina

2 g de 6,8-bis-4-metoxibenciloxycarbonil-espectinomicilamina son disueltos en 10 ml de dioxano y mezclados a 0°C con 10 ml de cloruro de hidrógeno 4n en dioxano. Se agita durante 45 minutos, se separa por filtración y se lava con éter.

1,2 g de polvo incoloro

Punto de fusión: 186 - 188°C (descomposición)

Espectro de masas del compuesto sililado.

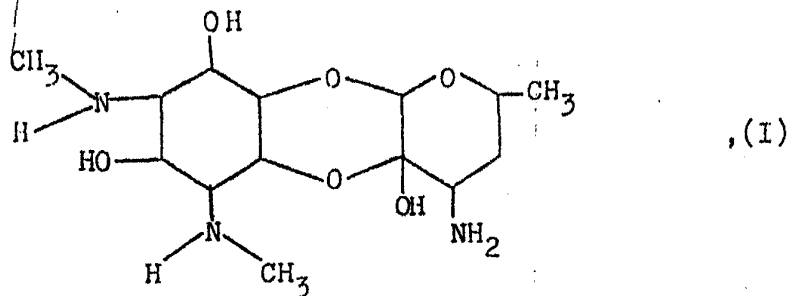
$$M^+ = 765/693/621 = 333 + (4-6) \times 72.$$

Los nuevos compuestos de la fórmula general I pueden incorporarse en las formas de preparación farmacéuticas usuales para la utilización farmacéutica. La dosis individual asciende en el caso de adultos a 100 hasta 2.000 mg, preferentemente a 500 hasta 1.000 mg, la dosis diaria asciende a 200 hasta 6.000 mg, preferentemente a 1.000 hasta 2.000 mg.

REIVINDICACIONES

5

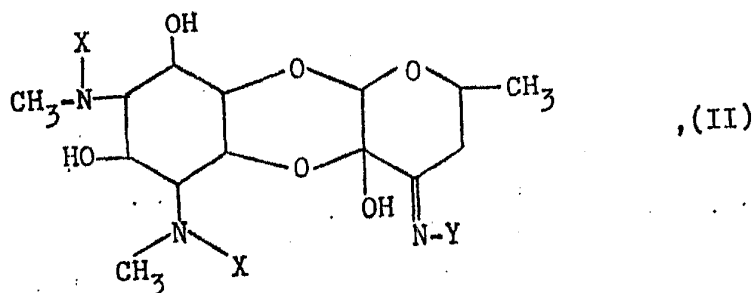
1a.- Procedimiento para la preparación de 4-espectinomicilamina de la fórmula



10

y de sus sales por edición de ácido con ácidos inorgánicos u orgánicos, que se caracteriza porque se hidrogena un derivado espectinomicínico de la fórmula general

15



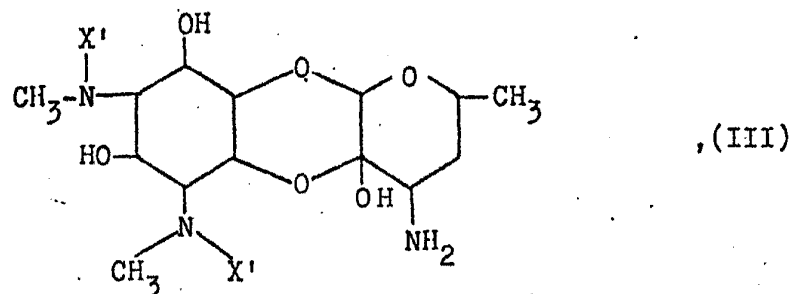
20

donde X significa un átomo de hidrógeno, un grupo orgánico, conocido a partir de la química de los péptidos, fácilmente separable mediante reducción, tal como el grupo benciloxicarbonilo, el grupo 4-bromo- ó 4-nitro- ó 4-cloro-benciloxicarbonilo, el grupo 4-metoxi ó 3,4-dime

25

toxi- o 3,4-metilen-dihidroxi- ó 3,4,5-trimetoxi- ó 4-de-
 ciloxi- ó 4-acetoxi- ó 4-etoxi-carboniloxibenciloxicarbo-
 nilo, un grupo fenil- o bifenil-alcoxicarbonilo que puede
 estar sustituido en el radical fenilo con uno hasta tres
 5 grupos metilo o metoxi y cuyo grupo alcohileno, que puede
 ser lineal o ramificado, contiene 2 hasta 4 átomos de car-
 bono, tal como por ejemplo el grupo α, α -dimetil-3,5-dime-
 toxi-benciloxicarbonilo o 2-[bifenilil-(4)]-propil-(2)-
 -oxicarbonilo, el grupo difenil-metoxicarbonilo, un grupo
 10 feniloxicarbonilo, el cual puede estar eventualmente sus-
 tituido con un grupo nitro, metoxi o metilo, un grupo dial-
 cohilaminooxicarbonilo, tal como el grupo dimetilaminooxi-
 carbonilo, o el grupo piperidinooxicarbonilo, o también
 un grupo bencilo o tritilo, e Y significa un grupo hidro-
 15 xi, un grupo alcoxi con 1 hasta 10 átomos de carbono, el
 grupo fenalcoxi con en total 7 hasta 12 átomos de carbono
 o un grupo de la fórmula $-N \begin{matrix} R_1 \\ \diagdown \\ R_2 \end{matrix}$, donde R_1 y R_2 represen-
 tan átomos de hidrógeno, grupos alcohilo con 1 hasta 6
 átomos de carbono, grupos fenalcohilo con en total 7 hasta
 20 10 átomos de carbono o el grupo fenilo, pudiendo ser R_1
 también un grupo acilo alifático con 1 hasta 10 átomos de
 carbono o el grupo benzoílo, si entonces R_2 posee los
 otros significados mencionados precedentemente, o un gru-
 po de la fórmula $-N = C \begin{matrix} R_3 \\ \diagdown \\ R_4 \end{matrix}$, donde R_3 y R_4 representan
 25 átomos de hidrógeno, grupos alcohilo con 1 hasta 6 átomos

de carbono, grupos fenalcohilo con 7 hasta 10 átomos de carbono o el grupo fenilo, pudiendo formar R_3 y R_4 juntamente con el átomo de carbono que está entre ellos también un anillo carbocíclico de 5 hasta 8 miembros, en presencia de catalizadores metálicos en un disolvente ventajosamente en presencia de ácidos inorgánicos u orgánicos a temperaturas comprendidas entre 0 $^{\circ}$ C y 100 $^{\circ}$ C y a presiones comprendidas entre 1 y 100 atmósferas; o b) a partir de un derivado 4-espectinomicilamínico de la fórmula general



donde X' significa un grupo orgánico, conocido a partir de la química de los péptidos, fácilmente separable mediante tratamiento con ácidos, con bases o mediante reducción, tal como el grupo benciloxicarbonilo, el grupo 4-bromo- ó 4-nitro- ó 4-cloro-benciloxicarbonilo, el grupo 4-metoxi- ó 3,4-dimetoxi- ó 3,4-metilen-dihidroxi- ó 3,4,5-trimetoxi- ó 4-deciloxi- ó 4-acetoxi- ó 4-etoxicarbonilo-benciloxicarbonilo, un grupo alcoxicarbonilo saturado o insaturado con 1 hasta 12 átomos de carbono, el cual puede estar eventualmente sustituido con un grupo

furilo-(2), con un grupo para-tolilsulfonilo, con uno o varios átomos de halógeno, con un grupo alcoxi o alcoxi-alcoxi con 1 hasta 3 átomos de carbono en la porción alcohólica y con 1 hasta 3 átomos de carbono en la porción alcohilénica, por ejemplo el grupo furil-(2)-metoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 2-(para-tolilsulfonil)-etoxicarbonilo, 2-bromo-etoxicarbonilo, 2,2,2-tricloro-etoxicarbonilo, 2-(2-metoxi-etoxi)etoxicarbonilo, 3-metil-pentil-(3)-oxicarbonilo, pero especialmente el grupo ter-butiloxicarbonilo, un grupo cicloalcoholoxicarbonilo con 5 hasta 12 átomos de carbono, tal como el grupo ciclopentiloxicarbonilo o ciclohexiloxicarbonilo, ambos de los cuales pueden estar sustituidos con un grupo metilo, etilo o ter-butilo, el grupo isoborniloxicarbonilo o el grupo adamantil-(1)-oxicarbonilo, un grupo fenil- o bifenil-alcoxicarbonilo, el cual puede estar sustituido en el radical fenilo con uno hasta tres grupos metilo o metoxi y cuyo grupo alcohileno, que puede ser lineal o ramificado, contiene 2 hasta 4 átomos de carbono, tal como por ejemplo el grupo α, β -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo o 2-bifenilil-(4)-propil-(2)-oxicarbonilo, el grupo difenil-metoxicarbonilo, un grupo feniloxicarbonilo, que eventualmente puede estar sustituido con un grupo nitro, metoxi o metilo, un grupo dialcoholaminooxicarbonilo, tal como el grupo dimetilaminooxicarbonilo o el grupo piperidinooxicar

bonilo, un grupo alcoholtiliocarbonilo con 1 hasta 4 átomos de carbono en el radical alcoholilo, el grupo benciltiocarbonilo, el grupo formilo u otro grupo acilo alifático con 1 hasta 10 átomos de carbono, el cual eventualmente puede ester sustituido además con 1 hasta 3 átomos de halógeno, grupos hidroxilo, radicales acilo, o con un grupo nitrógeno, tal como el grupo trifluoroacetilo, acetosacetilo, 2-nitro-fenoxiacetilo, monocloroacetilo, 3-cloro-butiroilo, 3-hidroxiisocaproilo, además de ello X' puede ser un grupo benzoilo, 2-nitrobenzoilo, 4-toluenosulfonilo, bencilsulfonilo o para-metoxibencenosulfonilo o también un grupo bencilo o tritilo, el grupo X' es separado por medio de hidrogenólisis catalítica en disolventes acuoso-orgánicos u orgánicos, por medio de hidrógeno nascente, por medio de desdoblamiento reductivo con sodio en amoníaco líquido o mediante desdoblamiento acidolítico por medio de ácidos o mediante la acción de bases y, si se desee, a continuación el compuesto de la fórmula I obtenido de esta manera es transformado por medio de ácidos inorgánicos u orgánicos en sus sales por edición de ácido...

2ª.- Procedimiento conforme a la reivindicación 1ª, que se caracteriza porque como catalizadores metálicos se emplean platino, paladio o dióxido de platino finamente dividido, como disolvente se emplean agua, alcoholes, ácidos carboxílicos, dioxano, tetrahidrofurano, o

mezclas de estos disolventes, y la reducción se realiza en presencia de ácidos inorgánicos u orgánicos.

5 3ª.- Procedimiento conforme a la reivindicación 1ªb, que se caracteriza porque la hidrogenólisis catalítica se consigue en disolventes acuoso-orgánicos o puramente orgánicos, por ejemplo en alcoholes, ácido acético, dimetilformamida, por medio de catalizadores a base de metales nobles, tales como negro de paladio, paladio sobre carbón o paladio sobre sulfato de bario o platino sobre carbón, el desdoblamiento acidolítico se consigue por medio de hidrácidos halogenados, ácido trifluoroacético o ácidos sulfónicos orgánicos, en agua, ácido acético glacial, cloroformo, alcoholes o en mezclas de ellos, y el desdoblamiento básico se consigue por medio de hidróxidos de metales alcalinos o de alcoholatos de metales alcalinos y el desdoblamiento por medio de hidrógeno naciente por la acción de zinc sobre metanol o ácido acético.

10

15

20 4ª.- PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 4-ESPECTINOMICILAMINA.

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

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

Madrid, 19.DIC.1978

P.A.

Alberto de Elzabur
Por Poderes

