



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 163 381**

51 Int. Cl.:

C07H 17/08 (2006.01)

C07D 493/22 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

C07D 493/22 (2006.01)

C07D 313/00 (2006.01)

C07D 311/00 (2006.01)

C07D 311/00 (2006.01)

C07D 307/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **90300458 .8**

86 Fecha de presentación : **17.01.1990**

87 Número de publicación de la solicitud: **0379341**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **25.07.1990**

54 Título: **Derivados de la avermectina.**

30 Prioridad: **19.01.1989 US 298710**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2007

73 Titular/es: **Merial Limited**
P.O. Box 327 Sandringham House
Sandringham Avenue Harlow Business Park
Harlow, Essex CM19 5TG, GB

72 Inventor/es: **Fisher, Michael H. y**
Mrozik, Helmut

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 163 381 T3

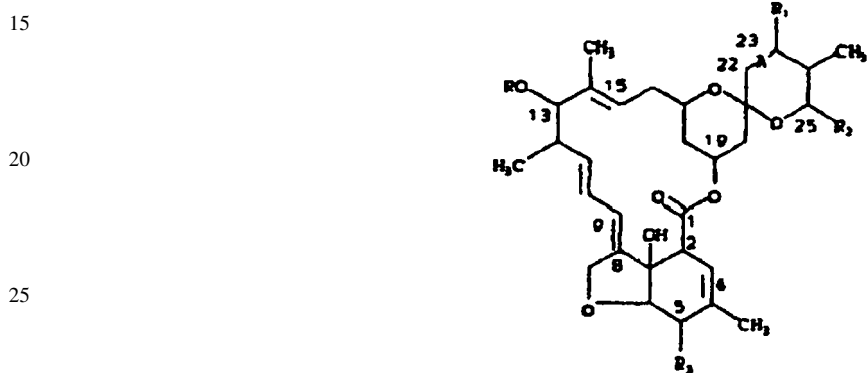
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

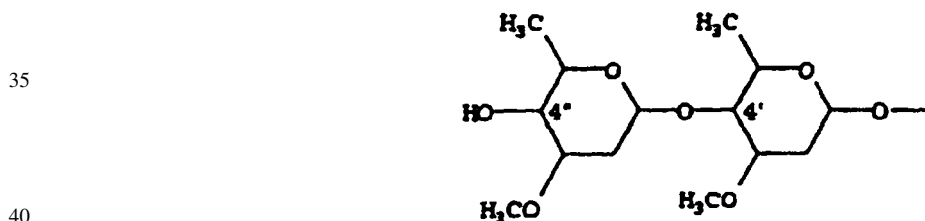
Derivados de la avermectina.

5 El término avermectina (previamente denominado como C-076) se usa para describir una serie de compuestos aislados a partir del caldo de fermentación de una cepa productora de avermectina de *Streptomyces avermitilis*, y los derivados de los mismos. Las características morfológicas del cultivo se describen completamente en la Patente Estadounidense N° 4.310.519. Los compuestos de avermectina son una serie de macrólidos, cada uno de los cuales está sustituido en la posición 13 con un grupo 4-(α -L-oleandrosil)- α -L-oleandrosa. Los compuestos de avermectina y
10 los derivados inmediatos de los mismos tienen un elevado grado de actividad antihelmíntica y antiparasitaria.

La serie de compuestos de avermectina aislados a partir del caldo de fermentación tienen la estructura siguiente:



30 en donde R₄ es el grupo 4'-(α -L-oleandrosil)- α -L-oleandrosil de la estructura:



y en donde A en la posición 22,23 indica un enlace simple o doble; R₁ es un hidrógeno o un hidroxilo, y está presente sólo cuando A indica un enlace simple;

45 R₂ es iso-propil o sec-butil; y

R₃ es metoxi o hidroxilo.

50 Existen ocho compuestos de productos naturales de avermectina diferentes, y se les han asignado las denominaciones A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a, y B2b en base a la estructura de los compuestos individuales.

En la fórmula estructural precedente, los compuestos de avermectina individuales son tal y como se detallan a continuación. (El grupo R es la 4'-(α -L-oleandrosil)- α -L-oleandrosa):

55

	R ₁ (A)	R ₂	R ₃
60 A1a	(22,23-doble enlace)	sec-butilo	-OCH ₃
A1b	(22,23-doble enlace)	iso-propilo	-OCH ₃
A2a	-OH	sec-butilo	-OCH ₃
A2b	-OH	iso-propilo	-OCH ₃
65 B1a	(22,23-doble enlace)	sec-butilo	-OH
B1b	(22,23-doble enlace)	iso-propilo	-OH
B2a	-OH	sec-butilo	-OH
B2b	-OH	iso-propilo	-OH

ES 2 163 381 T3

Los compuestos de avermectina se aíslan generalmente como mezclas de componentes a y b. Tales compuestos difieren sólo en la naturaleza del sustituyente R₂ y se ha hallado que las diferencias estructurales menores tienen poco efecto sobre los procedimientos de aislamiento, la reactividad química, y la actividad biológica de tales compuestos.

5

Además de estas avermectinas naturales que contienen el sustituyente 25-iso-propilo o 25-sec-butilo, se conocen en la literatura otros derivados estrechamente relacionados que contienen otros sustituyentes 25-alquilo o 25-alqueno ramificados o cíclicos, opcionalmente sustituidos de forma adicional por heteroátomos tales como el oxígeno, el azufre, el nitrógeno, y los halógenos. Estos derivados se obtienen a través de varios ajustes y adiciones a los procedimientos de fermentación tal y como se describe completamente en la Solicitud de Patente Europea EPO 0.214.731.

10

Las avermectinas son productos de fermentaciones microbianas que utilizan el actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. Estos microbios usan acetatos y propionatos como bloques de construcción para la mayor parte de la cadena de carbono de la avermectina, la cual es modificada adicionalmente por enzimas microbianas para obtener las moléculas de avermectina completadas. Se sabe, sin embargo, que el carbono C-25 y los sustituyentes 2-propilo y 2-butilo en este carbono no derivan de unidades de acetato o propionato, sino que derivan respectivamente de los aminoácidos L-valina y L-isooleucina. Se razonó que estos aminoácidos son desaminados a sus correspondientes 2-ceto ácidos, y que éstos a continuación son descarboxilados para obtener los ácidos 2-metilbutírico y 2-metilpentanoico. Se ha hallado que estos ácidos pueden incorporarse directamente en las estructuras de avermectina para obtener los sustituyentes 2-propilo y 2-butilo en C-25, tal y como se describe por Chen *et al.*, *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* (186 Meet., MBTD 28, (1983)). También se describió en la Solicitud de Patente Europea número 0.214.731 que las adiciones de grandes cantidades de otros ácidos, tales como los ácidos ciclopentanoico, ciclobutírico, 2-metilpentanoico, 2-metilhexanoico, tiofeno-3-carboxílico y otros, al caldo de fermentación de *S. avermitilis* causan que los microbios acepten estos ácidos como sustitutos para sintetizar pequeñas cantidades de avermectinas que contienen estos ácidos en forma de nuevos sustituyentes en C-25. Son ejemplos de tales derivados de la avermectina:

15

25-(tien-3-il)-25-de-(1-metilpropil)avermectina A2a

25-(ciclohex-3-enil)-25-de-(1-metilpropil)avermectina A2a

30

25-ciclohexil-25-de-(1-metilpropil)avermectina A2a

25-(1-metiltioetil)-25-de-(1-metilpropil)avermectina A2a

35

25-(2-metilciclopropil)-25-de-(1-metilpropil)avermectina A2a.

Además, se producen derivados adicionales de avermectina a través de la modificación artificial de la fermentación de *Streptomyces avermitilis*, bien mediante la adición de inhibidores metabólicos, tales como la cinefungina (tal y como describieron Schulman *et al.*, *J. Antibiot.*, 38:1494-1498 (1985)), o mediante mutación de la cepa progenitora (tal y como describieron Schulman *et al.*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 31:744-747(1987), y la EP-276-131-A de Pfizer Inc.). Algunos de estos derivados de la avermectina aún se modifican adicionalmente, y carecen de uno o dos de los grupos 3'- y 3''-O-metilo (Schulman *et al.*, *J. Antibiot.*, 38:1494-1498 (1985)). Son ejemplos de tales derivados:

45

3',3''-bisdesmetilavermectina B1a/B1b.

3',3''-bisdesmetilavermectina B2a/B2b.

3',3''-bisdesmetil-25-ciclohexil-25-de-(2-butil)-avermectina B2a

50

3',3''-bisdesmetil-25-ciclopentil-25-de-(2-butil)-avermectina B2a

3',3''-bisdesmetil-25-(3-tienil)-25-de-(2-butil)-avermectina B2a

55

3',3''-bisdesmetil-25-(3-furil)-25-de-(2-butil)-avermectina B2a

3',3''-bisdesmetil-25-(1-metiltioetil)-25-de-(2-butil)-avermectina B1a

3''-desmetilavermectina B1a/B1b.

60

Los productos de la fermentación se han modificado químicamente con el fin de obtener análogos antiparasitarios e insecticidas adicionales con propiedades mejoradas. Las publicaciones de tales procedimientos en la literatura científica y de patentes ha sido revisada por Fisher, M. H.; Mrozik, H., en *Macrolide Antibiotics*; Omura, S., ed.; Academic: Nueva York, (1984); pp 553-606, y por Davies, H. G.; Green, R. H., *Nat. Prod. Rep.*, 3:87-121 (1986).

65

Por ejemplo, se obtuvo un grupo de derivados semisintéticos de la avermectina hidrogenando específicamente el doble enlace 22,23 de la avermectina B1, obteniendo derivados de 22,23-dihidroavermectina B1, los cuales tienen propiedades antihelmínticas y antiparasitarias. Otros ejemplos de derivados semisintéticos de la avermectina contie-

nen un grupo 8,9-óxido, un grupo 4a-hidroxi o aciloxi, un grupo 23-ceto, los cuales son todos potentes compuestos antiparasitarios e insecticidas.

También ha sido descrito por Mrozik, en la Patente Estadounidense N° 4.427.663, que los sustituyentes amino en las posiciones 4''- y 4'- tienen actividades antiparasitarias e insecticidas muy elevadas.

Estos compuestos podrían usarse como materiales de partida para los compuestos de la presente invención sin modificación adicional, o cuando contengan grupos reactivos adicionales, los cuales no se modificarán en las condiciones de reacción aplicadas, sólo después de la protección de dichos grupos con un grupo protector apropiado.

El documento de Patente Europea n° 0.246.739-A (publicada el 25/11/1987) describe derivados de la milbemicina esterificados en la posición 13, procesos para su preparación, y su uso como agentes acaricidas, insecticidas, y antihelmínticos.

El documento de Patente Europea n° 0.110.667-A describe derivados oxima de las 5-dideshidromilbemicinas A₃, A₄ y D. En particular, se describen la 5-dideshidromilbemicina D 5-oxima y la 5-dideshidromilbemicina A₄ 5-oxima, junto con derivados oxima sustituidos en O de la 5-dideshidromilbemicina D.

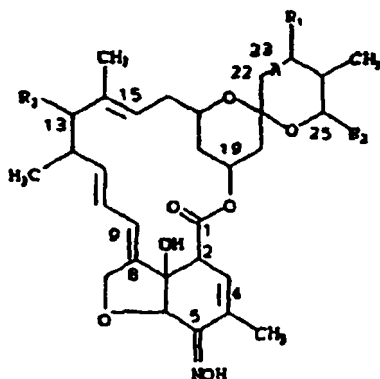
La Patente Estadounidense n° 4.423.209 describe derivados 5-ceto de avermectina y su uso en la conversión de compuestos de avermectina del tipo A en compuestos de avermectina del tipo B.

Descripción resumida de la invención

La presente invención se refiere a derivados de compuestos de avermectina en donde el grupo 5-hidroxi está sustituido por un sustituyente oxima. Los análogos de oxima también podrían modificarse adicionalmente. Por tanto, es el objeto de la presente invención describir tales compuestos. Un objeto adicional de la presente invención es describir los procesos útiles para la preparación de tales compuestos. Aún otro objeto adicional es describir el uso de tales compuestos como agentes antihelmínticos, insecticidas y acaricidas. Aún otros objetos adicionales serán evidentes a partir de la lectura de la siguiente descripción.

Descripción de la invención

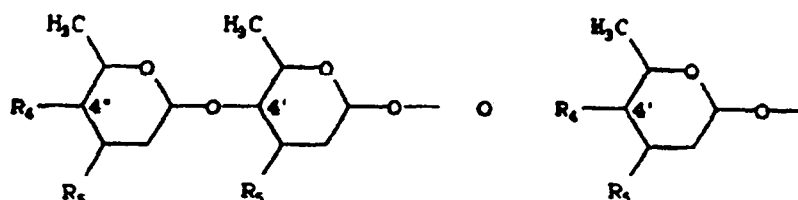
Los compuestos de la presente invención tienen la siguiente fórmula estructural:



en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple, y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo o acetona, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

R₂ es un grupo alquilo de C₃-C₈ ramificado en alfa, un grupo cicloalquilo de C₃-C₈, un grupo cicloalquilo de C₃-C₈ alquilo de C₁-C₃, o un grupo tienilo.

R₃ es



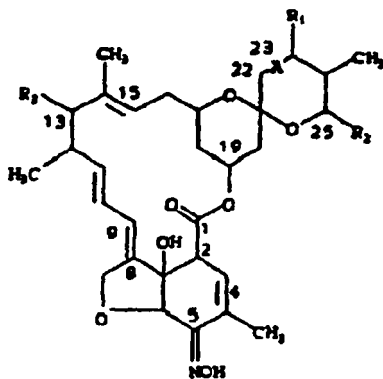
ES 2 163 381 T3

en donde R_4 está unido a C-4'' o C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, un N-alquilo inferior amino, N,N-dialquilo inferior amino, alcanilo inferior amino, N-alquilo inferior alcanilamino o trialquilo inferior sililoxi;

5 y cada R_5 es independientemente hidroxilo o metoxi.

Los compuestos preferidos de la presente invención tienen la siguiente fórmula estructural:

10



15

20

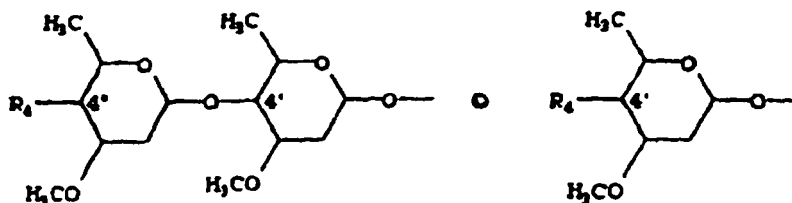
25 en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple, y en donde R_1 es hidrógeno o hidroxilo o cetona, o A representa un doble enlace y R_1 está ausente;

R_2 es un grupo alquilo de C₃-C₈ ramificado en alfa; y

30

R_3 es

35



40

45 en donde R_4 está unido a C-4'' ó C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, un N-alquilo inferior amino, N,N-dialquilo inferior amino, alcanilo inferior amino, N-alquilo inferior alcanilamino o trialquilo inferior sililoxi.

50

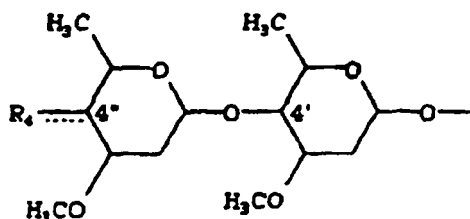
Los compuestos preferidos adicionales de la presente invención se realizan en la fórmula estructural anterior, en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple y en donde R_1 es hidrógeno o hidroxilo, o A representa un doble enlace y R_1 está ausente;

55

R_2 es iso-propilo o sec-butilo; y

R_3 es

60



65

en donde R_4 está unido a C-4'' ó C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, un N-alquilo inferior amino, un alcanilo inferior amino, o un N-alquilo inferior alcanilamino.

ES 2 163 381 T3

Los compuestos más preferidos de la presente invención se realizan en la fórmula estructural anterior, en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

5 R₂ es iso-propilo o sec-butilo; y

R₃ es 4'-(α -L-oleandrosil)- α -L-oleandrosiloxi.

Los compuestos preferidos de la presente invención se realizan adicionalmente en los siguientes compuestos:

10

4''-oxoavermectina B1a/B1b 5-cetoxima

avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

15

4''-desoxi-4''-metilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

4''-desoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

20

4''-amino-4''-desoxiavermectina B1a/B1b 5-cetoxima

4''-desoxi-4''-epi-amino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

4''-acetilamino-4''-desoxiavermectina B1a/B1b 5-cetoxima

25

4''-desoxi-4''-epi-acetilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

avermectina B1a/B1b-4''-semicarbazona 5-cetoxima

22,23-dihidro-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

30

22,23-dihidro-4''-oxo-avermectina B1/B1b 5-cetoxima

avermectina B2a/B2b-5-cetoxima

35

22,23-dihidro-4''-epi-acetilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

22,23-dihidro-4''-desoxi-4''-metilamino avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

40

4'-desoxi-4'-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b monosacárido 5-cetoxima

4''-epi-amino-4''-desoxiavermectina B2a/B2b 5-cetoxima

25-ciclopentil-25-de-(1-metilpropil)-4''-oxo-avermectina B2a 5-cetoxima

45

25-ciclopentil-25-de-(1-metilpropil)-avermectina B1a 5-cetoxima

25-ciclopentil-25-de-(1-metilpropil)-4''-epi-avermectina B1a 5-cetoxima.

50

En la presente invención, el término "alquilo inferior" pretende indicar aquellos grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, pentilo, hexilo, y similares.

El término "alcoxi inferior" pretende que incluya aquellos grupos alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, tales como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, pentoxi, hexoxi, y similares.

55

El término "alcanoilo inferior" pretende que incluya aquellos grupos alcanoilo de 1 a 6 átomos de carbono, tales como formilo, acetilo, propionilo, butirilo, pentanoilo, hexanoilo, y similares.

El término "halógeno" pretende que incluya los átomos de halógeno: flúor, cloro, bromo o yodo.

60

La fórmula estructural anterior se muestra sin una estereoquímica definitiva. No obstante, durante el curso de los procedimientos sintéticos usados para preparar tales compuestos, los productos de tales procedimientos pueden ser una mezcla de estereoisómeros. En particular, los estereoisómeros en las posiciones 4'', 4', 13 y 23 podrían estar orientados en α - o β -, representando que tales grupos están respectivamente por debajo o por encima del plano general de la molécula. En cada uno de tales casos, se pretende que ambas configuraciones α - y β - estén incluidas dentro del ámbito de la presente invención. En ciertos casos, el término "epi" se usa para distinguir el estereoisómero que tiene la configuración opuesta al compuesto natural en un átomo de carbono asimétrico específico.

65

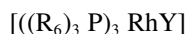
ES 2 163 381 T3

Preparación de los materiales de partida

Los materiales de partida definitivos para los compuestos de esta invención son los productos de fermentación de avermectina definidos anteriormente. Además, se han descrito otros derivados de la avermectina producidos por microbios que contienen un grupo alquilo o alqueno ramificado en alfa en la posición 25, designado en la fórmula estructural como R₂, en las solicitudes de Patente Europea con números 86.305.604.0 (número de publicación 0.214.731), 88.300.426.9 (0.276.131), y 88.300.354.3 (0.276.103). Estos compuestos pueden usarse también como materiales de partida para los compuestos reivindicados en la presente invención. El sustituyente R₂ es inerte en las condiciones de reacción empleadas para la preparación de los compuestos de esta invención, de forma que estas reacciones pueden llevarse a cabo con estos derivados de avermectina modificados. Es evidente que se requieren reacciones adicionales para preparar los materiales de partida para los presentes compuestos. Específicamente, las reacciones se llevan a cabo en las posiciones 4", 4', 22, y 23. Generalmente se prefiere preparar cualquier sustituyente requerido en estas posiciones antes de la oxidación en el grupo 5-hidroxi, y la sustitución subsiguiente en la 5-cetona producida de este modo. Un procedimiento tal, generalmente evita las reacciones secundarias no deseadas. Sin embargo, esta técnica no es imprescindible, y si se desea podrían usarse otras secuencias. Además, durante las reacciones de oxidación y sustitución descritas más arriba, es necesario proteger el grupo hidroxilo en la posición 5 para evitar la oxidación o sustitución en tal posición. Con esta posición protegida, las reacciones podrían llevarse a cabo en las posiciones 4" ó 4' sin afectar el resto de la molécula. A continuación se cualquiera de las reacciones descritas más arriba, el grupo protector podría retirarse y aislarse el producto desprotegido. El grupo protector empleado es idealmente uno que podría sintetizarse fácilmente, que no se verá afectado por las reacciones en las posiciones 4" ó 4', y que podría retirarse sin afectar cualquier otra funcionalidad de la molécula. Un tipo preferido de grupo protector para el tipo de molécula de la avermectina es el grupo sililo trisustituido, preferiblemente el grupo sililo tri-alquilo inferior. Además, tales compuestos tienen un actividad significativa y se consideran abarcado por el ámbito de esta invención. Un ejemplo especialmente preferido es el grupo t-butildimetilsililo. La reacción de preparación del compuesto protegido se realiza haciendo reaccionar el compuesto hidroxilo con el sililhaluro convenientemente sustituido, preferiblemente el sililcloruro en un solvente polar aprótico tal como el cloruro de metileno, benceno, tolueno, acetato de etilo, tetrahydrofurano, dimetilformamida y similares. Con objeto de minimizar las reacciones secundarias, se incluye en la mezcla de reacción una base para reaccionar con el haluro ácido liberado durante el curso de la reacción. Las bases preferidas son las aminas tales como el imidazol, la piridina, o la trietilamina. La base se requiere en cantidades equimolares respecto la cantidad de haluro de hidrógeno liberado; sin embargo, generalmente se emplean varios equivalente de la amina. La reacción se agita a desde 0°C hasta la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción, y se completa en desde 1/2 hasta 16 horas.

El grupo sililo se retira agitando el compuesto sililado en metanol, catalizado por un ácido, preferiblemente un ácido sulfónico monohidrato tal como el ácido p-toluensulfónico monohidrato. La reacción se completa en aproximadamente de 1 a 12 horas a desde 0°C hasta 50°C. Alternativamente, el grupo sililo podría retirarse mediante tratamiento del grupo sililo con piridina anhídrido-fluoruro de hidrógeno en tetrahydrofurano. La reacción se completa en desde 3 hasta 24 horas, a desde 0°C hasta 25°C.

Otros de los materiales de partida usados en el esquema de reacción precedente son aquéllos en los que el doble enlace 22,23 ha sido reducido a un enlace simple. El catalizador preferido para la hidrogenación selectiva del doble enlace 22,23 es uno que tiene la fórmula:



en donde R₆ es un alquilo inferior, fenilo, o fenilo sustituido con alquilo inferior, e Y es un halógeno. La reducción está descrita completamente en la Patente Estadounidense N° 4.199.569.

Los otros materiales de partida que se usan en el anterior esquema de reacción implican la preparación del monosacárido. Los procesos que podrían usarse para preparar los derivados monosacáridos de los compuestos de avermectina se describen en la Patente Estadounidense N° 4.206.205. La reacción consiste generalmente en tratar el disacárido de partida con ácido en una mezcla acuosa con un solvente orgánico. La concentración de agua de desde el 0,1 hasta el 20% en volumen, y las concentraciones de ácido de desde aproximadamente el 0,01 hasta el 0,1%, producirán predominantemente el monosacárido.

Un procedimiento adicional para la preparación del monosacárido utiliza una solución al 1% de ácido mineral en isopropanol a 20°C hasta 40°C durante desde 6 hasta 24 horas. Podrían emplearse los ácidos minerales tales como el sulfúrico, fosfórico y similares.

En todos los casos, el sustituyente en la posición 25 de la avermectina es inerte respecto las condiciones de reacción y la presencia de grupo grupos alquilo, grupos alqueno, grupos cicloalquilo, grupos cicloalqueno y similares en esta posición afectará poco la preparación, aislamiento o actividad del derivado de la avermectina.

En el aislamiento de los compuestos de avermectina, los cuales sirven como materiales de partida para el presente proceso, a partir del caldo de fermentación, se hallará que los diversos compuestos de avermectina se han preparado en cantidades desiguales. En particular, un compuesto de la serie "a" se preparará en una proporción mayor que el correspondiente de la serie "b", y la serie "b" es contante a lo largo de los compuestos de avermectina y consiste

ES 2 163 381 T3

respectivamente en un grupo sec-butilo y un grupo iso-propilo en la posición 25. Esta diferencia, por supuesto, no interfiere con ninguna de las presentes reacciones. En particular, podría no ser necesario separar los componentes “b” del componente “a” relacionado. La separación de estos compuestos estrechamente relacionados generalmente no se practica, puesto que el compuesto “b” está presente sólo en un porcentaje muy pequeño en peso, y la diferencia estructural tiene un efecto despreciable sobre los procesos de reacción y las actividades biológicas.

En particular, se ha hallado que los materiales de partida para los compuestos de esta invención se preparan muy a menudo en una proporción de aproximadamente un 80% de avermectina “a” o componente mayoritario, y un 20% de la avermectina “b” o compuestos minoritarios. Por tanto, la composición preferida de esta invención es una que contiene más de aproximadamente el 80% del componente “a” y menos de aproximadamente el componente “b”.

Preparación de los compuestos

La preparación de los presentes compuestos requiere que los materiales de partida de avermectina estén oxidados en la posición 5 a las cetonas correspondientes, las cuales se tratan entonces con una sal de hidroxilamina, preferiblemente un hidrocloreto. Los grupos 4”-, 4’-, y 23-hidroxi son menos reactivos, y el grupo 7-hidroxi es muy inactivo y no precisan ser protegidos. La reacción de oxidación se realiza en un solvente inerte, tal como el éter, el cloruro de metileno, o la dimetilformamida, usando dióxido de manganeso (MnO₂) o dicromato de piridinio como el agente oxidante. Puesto que estos son agentes y condiciones de reacción bastante suaves, y puesto que el grupo 5-hidroxi es muy reactivo, estos dos pasos sintéticos pueden realizarse en presencia de otros sustituyentes unidos a la molécula. Por tanto, los sustituyentes hidroxilo-, amino-, alquilamino-, acilamino-, acilhidrazona-, semicarbazona- en las posiciones 4”, 4’, o 23 de la molécula de avermectina generalmente no deben protegerse durante esta conversión. Los compuestos 5-ceto y 5-oxima se aíslan usando técnicas conocidas por aquéllos formados en la técnica. Generalmente no es necesario aislar el compuesto 5-ceto, y el producto de la oxidación crudo podría hacerse reaccionar inmediatamente con una sal de hidroxilamina con objeto de rendir los derivados oxima deseados. La reacción con la sal de hidroxilamina generalmente se lleva a cabo en un solvente, preferiblemente un solvente polar, tal como un alcohol como el etanol, y generalmente se completa en desde media hora hasta seis horas.

Los materiales de partida que contienen sustituyentes oxo-, amino-, alquilamino-, o acilamino- en las posiciones 4” ó 4’ son descritos por Mrozik en la Patente Estadounidense N° 4.427.663, y aquéllos que contienen sustituyentes 4”- ó 4’-O-acilo por Mrozik *et al.* en la Patente Estadounidense N° 4.201.861. Los derivados 4”- y 4’-semicarbazona y acilhidrazona se obtienen a partir de los derivados 4”- y 4’-oxo conocidos mediante reacción con semicarbazidas o hidrazonas de acuerdo con procedimientos bien conocidos. Por tanto, la preparación de las 4”-oxoavermectina-4”-semicarbazonas se lleva a cabo mediante tratamiento de la 4”-oxoavermectina B1a/B1b con una semicarbazida en un solvente polar tal como el metanol, etanol, tetrahidrofurano, y similares, en presencia de un cantidad catalítica de ácido, preferiblemente ácido acético, a temperaturas que oscilan desde -20°C hasta 30°C durante un período de 0,5 a 20 horas. Las semicarbazonas correspondientes se aíslan y purifican mediante técnicas conocidas por los especialistas en la técnica.

Alternativamente, los compuestos 5-oxima de avermectina pueden modificarse aún más.

Todas las reacciones precedentes realizadas en la posición 4” de la avermectina pueden llevarse a cabo en la posición 4’ del monosacárido para rendir los derivados monosacáridos correspondientemente sustituidos.

Los nuevos compuestos de esta invención tienen una actividad significativa como antihelmínticos, ectoparasitocidas, insecticidas y acaricidas, en la salud humana y animal y en la agricultura.

La enfermedad o grupo de enfermedades descrito generalmente como helmintiasis se debe a la infección de un animal huésped con gusano parásitos conocidos como helmintos. La helmintiasis es problema económico corriente y serio en animales tales como el cerdo, la oveja, los caballos, la vaca, las cabras, los perros y las aves de corral. Entre los helmintos, el grupo de gusanos descritos como nematodos causa una infección extendida, y a menudo sería, en varias especies de animales. Los géneros más comunes de nematodos que infectan los animales mencionados más arriba son *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Ascaris*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Chabertia*, *Trichuris*, *Strongylus*, *Trichonema*, *Dictocaulus*, *Capillaria*, *Heterakis*, *Toxocara*, *Ascaridia*, *Oxyuris*, *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Toxascaris*, y *Parascaris*. Algunos de éstos, tales como los *Nematodirus*, *Cooperia*, y *Oesophagostomum* atacan principalmente el tracto intestinal, mientras que otros, tales como *Haemonchus* y *Ostertagia*, son más predominantes en el estómago, y aún otros tales como *Dictocaulus* se hallan en los pulmones. Aún otros parásitos podrían localizarse en otros tejidos y órganos del cuerpo, tales como el corazón y los vasos sanguíneos, el tejido subcutáneo y linfático, y similares. Las infecciones parasitarias conocidas como helmintiasis conducen a la anemia, malnutrición, debilidad, pérdida de peso, lesión grave de las paredes del tracto intestinal y otros tejidos y órganos, y, si no se tratan, podrían resultar en la muerte del huésped infectado. Los compuestos de avermectina de esta invención tienen inesperadamente una actividad elevada contra la *Dirofilaria* en perros, los *Nematospiroides*, *Syphacia*, *Aspiculuris* en roedores, los artrópodos ectoparásitos de animales y aves, tales como las garrapatas, ácaros, piojos, pulgas, *Lucilia sp.* en la oveja, insectos picadores, y larvas de dípteros migradoras tales como *Hypoderma sp.* en la vaca, *Gastrophilus* en los caballos, y *Cuterebra sp.* en los roedores.

Los presentes compuestos son útiles también contra parásitos que infectan los humanos. Los géneros más comunes de parásitos del tracto gastrointestinal humano son *Ancylostoma*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capi-*

ES 2 163 381 T3

llaria, *Trichuris*, y *Enterobius*. Otros géneros de parásitos médicamente importantes, que se hallan en la sangre y otros tejidos y órganos fuera del tracto gastrointestinal, las filarias tales como *Wuchereria*, *Brugia*, *Onchocerca* y *Loa*, *Dracunculus* y las etapas extra-intestinales de los gusanos intestinales *Strongyloides* y *Trichinella*. Los compuestos tienen valor también contra artrópodos que parasitan el hombre, contra insectos picadores, y otras plagas de dípteros que causan molestias al hombre.

Los compuestos son activos también contra plagas tales como la cucaracha, *Blatella sp.*, la polilla de la ropa, *Tineola sp.*, el antreno, el *Attagenus sp.*, y la mosca común, *Musca domestica*.

Los compuestos son útiles también contra plagas de insectos de granos almacenados, tales como *Tribolium sp.*, *Tenebrio sp.* y de plantas agrícolas, tales como la araña roja (*Tetranychus sp.*), los áfidos (*Acyrtiosiphon sp.*); contra ortópteros migratorios tales como la langosta, y contra las etapas inmaduras de insectos que viven sobre el tejido de la planta. Los compuestos son útiles como nematocidas para el control de los nematodos del suelo y de parásitos de plantas tales como *Meloidogyne spp.*, los cuales podrían tener importancia en la agricultura.

Estos compuestos podrían administrarse oralmente en una forma de dosificación individual, tal como una cápsula, bolo o tableta, o como un líquido para rociar cuando se usa como antihelmíntico en mamíferos. El líquido rociado es normalmente una solución, suspensión o dispersión del ingrediente activo, usualmente en agua junto, con un agente suspensor tal como la bentonita, y un agente humectante o excipiente similar. Generalmente, los líquidos rociados contienen también un agente antiespumante. Las formulaciones para rociado generalmente contienen desde aproximadamente el 0,001 hasta el 5% en peso del compuesto activo. Las formulaciones para rociado preferidas podrían contener desde el 0,01 hasta el 0,1% en peso del compuesto activo. Las cápsulas o bolos están compuestos del ingrediente activo mezclado con un vehículo tal como el almidón, el talco, el estearato magnésico, o el fosfato dicálcico.

Cuando se desea administrar los derivados de la avermectina en una forma de dosificación unitaria sólida, seca, usualmente se emplean cápsulas, bolos o tabletas que contienen la cantidad deseada de compuesto activo. Las formas de dosificación se preparan mezclando íntima y uniformemente los ingredientes activos con diluyentes apropiados divididos finamente, rellenos, agentes desintegrantes, y/o unidores tales como el almidón, la lactosa, el talco, el estearato magnésico, las gomas vegetales, y similares. Tales formulaciones de dosificación unitaria podrían variar ampliamente con respecto a su peso y contenido total de agente antiparasitario dependiendo de factores tales como el tipo de animal a tratar, la gravedad y el tipo de la infección, y el peso del huésped.

Cuando el compuesto activo va a administrarse a través de la alimentación del animal, se dispersa íntimamente en la comida o se usa como recubrimiento superficial o en forma de granulado, los cuales podrían entonces añadirse al alimento acabado u, opcionalmente suministrarse por separada. Alternativamente, los compuestos antiparasitarios de nuestra invención podrían administrarse a los animales parenteralmente, por ejemplo, mediante inyección intraluminal, intramuscular, intratraqueal o subcutánea, en la cual el ingrediente activo está disuelto o disperso en un vehículo portador líquido. Para la administración parenteral, el material activo está convenientemente mezclado con un vehículo aceptable, preferiblemente de la variedad de aceite vegetal tal como el aceite de cacahuete, el aceite de semilla del algodón, y similares. También se usan otros vehículos parenterales tales como preparaciones orgánicas usando solketal, formal glicerol, y formulaciones parenterales acuosas. El compuesto o compuestos de avermectina activos se disuelven o suspenden en la formulación parenteral para su administración; tales formulaciones generalmente contienen desde el 0,005 hasta el 5% en peso del compuesto activo.

Aunque los agentes antiparasitarios de esta invención hallan su uso principal en el tratamiento y/o prevención de la helmintiasis, ellos son útiles también en la prevención y tratamiento de enfermedades causadas por otros parásitos, por ejemplo, artrópodos parásitos tales como las garrapatas, piojos, pulgas, ácaros, y otros insectos picadores en animales domesticados y aves de corral. Ellos son también efectivos en el tratamiento de enfermedades parasitarias que ocurren en otros animales, incluyendo los humanos. La cantidad óptima a emplearse para los mejores resultados dependerá, por supuesto, del compuesto concreto empleado, la especie de animal a tratar, y el tipo y gravedad de la infección o infestación parasitaria. Generalmente se obtienen buenos resultados con nuestros nuevos compuestos mediante la administración oral de desde aproximadamente 0,001 hasta 10 mg por kg de peso corporal del animal, administrándose tal dosis total de una vez o en dosis divididas a lo largo de un período de tiempo relativamente corto, tal como 1-5 días. Con los compuestos preferidos de la invención, se obtiene un control excelente de tales parásitos en animales mediante la administración de desde aproximadamente 0,025 hasta 0,5 mg por kg de peso corporal en una única dosis. Se proporcionan tratamientos repetidos según sea necesario para combatir re-infecciones, y dependen de la especie de parásito y de las técnicas de cultivo que se estén empleando. Las técnicas para administrar estos materiales a animales son conocidas por los especialistas en el campo veterinario. Cuando los compuestos descritos en ésta se administran como un componente de la comida de los animales, o disuelto o suspendido en el agua de bebida, se proporcionan composiciones en las que el compuesto o compuestos activos están íntimamente dispersos en un portador o diluyente inerte. Por portador inerte se quiere indicar uno que no reaccionará con el agente antiparasitario y uno que podría administrarse de forma segura a animales. Preferiblemente, un portador para administración con la comida es uno que es, o podría ser, un ingrediente de la ración del animal.

Las composiciones apropiadas incluyen mezclas previas o suplementos para alimentación, en los cuales el ingrediente activo está presente en cantidades relativamente elevadas, y las cuales son apropiadas para la alimentación directa al animal o para la adición a la comida, bien directamente o después de un paso de dilución o molido intermedio. Los portadores o diluyentes típicos apropiados para tales composiciones incluyen, por ejemplo, las lías de la

ES 2 163 381 T3

destilación de los granos, las harinas de maíz, las harinas de cítricos, los residuos de fermentación, las valvas de ostras molidas, las harinillas de trigo, las melazas solubles, las harinas de grano duro, las harinas de legumbres molidas comestibles, los granos de soja, la caliza molida, y similares. Los compuestos de avermectina activos se dispersan íntimamente en el portador mediante procedimientos tales como el triturado, el mecido, el molido, o el volteo. La composición que contienen desde aproximadamente el 0,005 hasta el 2,0% en peso del compuesto activo son particularmente apropiadas como premezclas para comida. Los suplementos para comidas, que se suministran directamente al animal, contienen desde aproximadamente el 0,002 hasta el 0,3% en peso del compuesto activo.

Tales suplementos se añaden a la comida del animal en una cantidad para proporcionar a la comida acabada la concentración de compuesto activo deseada para el tratamiento y control de las enfermedades parasitarias. Aunque la concentración deseada del compuesto activo variará dependiendo de los factores mencionados previamente, así como dependiendo del derivado concreto de avermectina empleado, los compuestos de esta invención se suministran usualmente a concentraciones de entre el 0,00001 hasta el 0,002% en la comida con objeto de conseguir el resultado antiparasitario deseado.

Al usar los compuestos de esta invención, los componentes de avermectina individuales podrían prepararse y usarse en esa forma. Alternativamente, podrían usarse mezclas de dos o más de los componentes de avermectina individuales, u otros compuestos activos no relacionados con los compuestos de esta invención.

Los compuestos de esta invención son útiles también para combatir las plagas agrícolas que infligen daños a los cultivos mientras están creciendo o en almacenamiento. Los compuestos se aplican, usando técnicas conocidas como los aerosoles, los polvos, la emulsiones y similares, a los cultivos en crecimiento o almacenados para efectuar la protección frente a tales plagas agrícolas.

Los ejemplos siguientes se proporcionan con objeto de que esta invención se entienda más completamente; no deben considerarse como limitantes de esta invención.

Los derivados de la avermectina preparados en los ejemplos siguientes se aíslan generalmente como sólidos amorfos y no como sólidos cristalinos. Por tanto, se caracterizan analíticamente usando técnicas tales como la espectrometría de masas, la espectrometría de resonancia magnética nuclear, y similares. Siendo amorfos, los compuestos no se caracterizan por puntos de fusión marcados, sin embargo, los procedimientos cromatográficos y analíticos empleados indican que los compuestos son puros.

Ejemplo 1

4"-deoxi-4"-epi-metilamino-5-oxoavermectina B1a/B1b

Una solución de 500 mg de 4"-deoxi-4"-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b (obtenida tal como se describió en las preparaciones A, B, C, and D) en 50 ml de éter, se agitó con 3,0 g de dióxido de manganeso activado, a temperatura ambiente, durante 18 horas. A continuación se aisló el producto mediante dilución de la mezcla de reacción con acetato de etilo y filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado. El MnO₂ se lavó repetidamente con cloruro de metileno. El filtrado se combinó y concentró al vacío hasta 381 mg de un vidrio ligeramente coloreado, el cual se observó que era 95% puro mediante cromatografía líquida de altas prestaciones, y se caracterizó mediante sus espectros de masas y RMN de ¹H como 4"-deoxi-4"-epi-metilamino-5-oxoavermectina B1a/B1b.

Ejemplo 2

4"-deoxi-4"-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

Una solución de 380 mg de 4"-deoxi-4"-epi-metilamino-5-oxoavermectina B1a/B1b, 1,5 ml de piridina seca, y 300 mg de hidroxilamina hidrocloreto en 15 ml de etanol seco, se agitó durante 2,5 horas a temperatura ambiente. A continuación se retiró el etanol mediante vacío a temperatura ambiente, y el residuo se distribuyó entre agua y acetato de etilo. El extracto de acetato de etilo se lavó con agua, se secó con MgSO₄, y se concentró al vacío hasta 395 mg de un vidrio amarillo. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice con cloruro de metileno que contenía desde el 2,5 hasta el 7,5% de metanol rindió una fracción de 140 mg que contenía el producto deseado. La purificación adicional mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice usando una mezcla de solventes de cloruro de metileno:metanol (9:1) proporcionó 105 mg de 4"-deoxi-4"-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima pura como una espuma, la cual se caracterizó por sus espectros de masas y RMN de ¹H.

Ejemplo 3

Avermectina B1a/B1b 5-cetoxima

Una solución que contenía 131 mg de 5-oxo-avermectina B1a/B1b (descrita en *J. Agric. Food Chem.*, 29:884-886 (1981)) en 5,0 ml de etanol absoluto, 0,5 ml de piridina, y 104 mg de hidroxilamina hidrocloreto se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se concentró mediante vacío a temperatura ambiente hasta un aceite espeso. Éste se disolvió en éter, y la solución se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, y se concentró al vacío hasta 140 mg de una espuma ligera. La purificación mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice con una

ES 2 163 381 T3

mezcla de solventes de cloruro de metileno-metanol (proporción 92,5:7,5) rindió 72,5 mg de avermectina B1a/B1b 5-cetoxima, la cual se caracterizó por sus espectros de masas y RMN de ^1H .

Ejemplo 4

Avermectina B2a/B2b-5-cetoxima

5-oxo-avermectina B1a/B1b (descrita en *J. Agric. Food Chem.*, 29:884-886 (1981)) se hace reaccionar de acuerdo con el procedimiento descrito completamente en el Ejemplo 3 para rendir avermectina B2a/B2b 5-cetoxima, la cual se caracteriza por sus espectros de masas y RMN de ^1H .

Ejemplo 5

22,23-dihidroavermectina B1a/B1b 5-cetoxima

Una solución que contiene 130 mg de 22,23-dihidro-5-oxo-avermectina B1a/B1b (descrita en *Anal. Chem.*, 59:266-270 (1987)) se hace reaccionar con 105 mg de hidroxilamina hidrocloreto y 0,5 ml de piridina en 5 ml de etanol seco, tal como se describe completamente en el Ejemplo 3, para rendir la 22,23-dihidroavermectina B1a/B1b 5-cetoxima, la cual se caracteriza por sus espectros de masas y RMN.

Ejemplo 6

4''-epi-acetilamino-4''-deoxi-5-oxoavermectina B1a/B1b

Una solución de 100 mg de 4''-epi-acetilamino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b (procedente de la preparación G) en 3,5 ml de dimetilformamida anhidra se agitó con 82 mg de dicromato de piridinio a temperatura ambiente durante 45 minutos. La reacción se completó con agua y éter, y la fase éter lavada se concentró al vacío hasta 98 mg de un vidrio incoloro, el cual se caracterizó mediante sus espectros de masas y RMN de ^1H como 4''-epi-acetilamino-4''-deoxi-5-oxoavermectina B1a/B1b.

Ejemplo 7

4''-epi-acetilamino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b 5-cetoxima

Una solución de 98 mg de 4''-epi-acetilamino-4''-deoxi-5-oxoavermectina B1a/B1b cruda, 75 mg de hidroxilamina hidrocloreto, y 0,36 ml de piridina en 3,6 ml de etanol se agitó a temperatura ambiente durante 75 minutos. A continuación se concentró la mezcla de reacción al vacío hasta un residuo sólido. Ésta se completó con agua y acetato de etilo, y la fase orgánica se secó y concentró al vacío hasta 96 mg de residuo sólido. La purificación mediante cromatografía líquida de elevadas prestaciones preparativa en fase inversa en una columna Waters Magnum 20 y 75% de una mezcla de acetonitrilo-metanol (3:2) y 25% de agua proporcionó 46 mg de 4''-epi-acetilamino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b 5-cetoxima, la cual se caracterizó por sus espectros de masas y RMN.

Ejemplo 8

22,23-dihidro-5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-semicarbazona

Una solución de 500 mg de 22,23-dihidro-4''-oxoavermectina B1a/B1b semicarbazona (obtenida tal como se describió en las preparaciones H, I, y J) en 50 ml de éter se agita con 3,0 g de dióxido de manganeso activado, a temperatura ambiente, durante 18 horas. A continuación se aísla el producto mediante dilución de la mezcla de reacción con acetato de etilo y filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado. El MnO_2 se lava repetidamente con cloruro de metileno. El filtrado se combina y concentra al vacío hasta un vidrio ligeramente coloreado, el cual se caracteriza mediante sus espectros de masas y RMN de ^1H como 22,23-dihidro-5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-semicarbazona.

Ejemplo 9

22,23-dihidroavermectina B1a/B1b 4''-semicarbazona-5-cetoxima

Una solución que contenía 130 mg de 22,23-dihidro-5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-semicarbazona (obtenida en el Ejemplo 8) en 5,0 ml de etanol absoluto, 0,5 ml de piridina, y 105 mg de hidroxilamina hidrocloreto se agita a temperatura ambiente durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se concentra mediante vacío a temperatura ambiente hasta un aceite espeso. Éste se disuelve en éter, y la solución se lava con agua, se seca sobre MgSO_4 , y se concentra al vacío hasta una espuma ligera. La purificación mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice proporciona la 22,23-dihidroavermectina B1a/B1b 4''-semicarbazona-5-cetoxima, la cual se caracteriza por sus espectros de masas y RMN de ^1H .

ES 2 163 381 T3

Ejemplo 10

5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona

5 Una solución de 500 mg de avermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona (obtenida tal como se describió en las preparaciones K y L) en 50 ml de éter se agita con 3,0 g de dióxido de manganeso activado, a temperatura ambiente, durante 18 horas. El producto se aísla mediante dilución de la mezcla de reacción con acetato de etilo y filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado. El MnO₂ se lava repetidamente con cloruro de metileno. El filtrado se combina y concentra al vacío hasta un vidrio ligeramente coloreado, el cual se caracteriza mediante sus espectros de masas y RMN de ¹H como 5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona.

Ejemplo 11

Avermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona-5-cetoxima

15 Una solución que contiene 130 mg de 5-oxoavermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona (obtenida en el Ejemplo 10) en 5,0 ml de etanol absoluto, 0,5 ml de piridina, y 105 mg de hidroxilamina hidrocloreto se agita a temperatura ambiente durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se concentra mediante vacío a temperatura ambiente hasta un aceite espeso. El residuo se disuelve en éter, y la solución se lava con agua, se seca sobre MgSO₄, y se concentra al vacío hasta una espuma ligera. La purificación mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice proporciona la avermectina B1a/B1b 4''-acetilhidrazona-5-cetoxima, la cual se caracteriza por sus espectros de masas y RMN de ¹H.

Preparación de A

5-O-t-butildimetilsililavermectina B1a/B1b

25 Una solución de 50 g de avermectina B1a/B1b (secada sobre P₂O₅ en vacío elevado hasta peso constante), 24 g de imidazol y 24 g de tert-butildimetilsilil cloruro en 400 ml de dimetilformamida anhidra se agitó a temperatura ambiente durante 50 minutos. La mezcla de reacción se vertió en 1,5 l de agua enfriada con hielo, y la fase acuosa se extrajo cuatro veces con 200 ml de éter. La fase orgánica se lavó dos veces con agua, con una solución acuosa de cloruro sódico, se secó con sulfato magnésico, y se concentró al vacío hasta una espuma blanca. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice con un sistema solvente de cloruro de metileno-acetato de etilo 90:10 hasta 70:30 para proporcionar 46,5 g de 5-O-t-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b como una espuma amorfa, la cual se caracterizó por sus espectros de RMN de ¹H y masas.

Preparación de B

5-O-t-butildimetilsilil-4''-oxoavermectina B1a/B1b

40 A una solución que contenía 9,1 ml de cloruro de oxalilo en 230 ml de cloruro de metileno seco agitado a -60°C, se le añadieron 15 ml de dimetilsulfóxido seco, disuelto en 120 ml de cloruro de metileno, durante 15 minutos. A continuación una solución de 46,5 g de 5-O-t-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b, disuelta en 230 ml de cloruro de metileno seco, se añadió a lo largo de un período de 15 minutos mientras se mantenía la temperatura a -60°C. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 30 minutos, entonces se añadieron 65 ml de trietilamina seca. La mezcla se agitó durante 5 minutos adicionales a -60°C, y entonces se retiró el baño de enfriamiento y se dejó que la mezcla llegara a la temperatura ambiente. Después de la adición de agua, el producto de la reacción se extrajo con cloruro de metileno, el extracto se lavó con agua, se secó y se concentró al vacío hasta 45,5 g de una espuma amarilla. Ésta se identificó por sus espectros de masas y RMN como 5-O-t-butildimetilsilil-4''-oxoavermectina B1a/B1b, la cual se usó para reacciones químicas adicionales sin purificación.

Preparación de C

5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b

55 Una solución de 26 ml de ácido acético glacial en 300 ml de MeOH se trató con gas de metilamina a 0°C hasta que el pH de la solución alcanzó 9,0. A ésta se le añadió una solución que contenía 44,5 g de 5-O-t-butildimetilsilil-4''-oxoavermectina B1a/B1b en 200 ml de metanol, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, entonces se añadió gota a gota una solución de 3,5 g de cianoborohidruro de sodio en 75 ml de MeOH a lo largo de 10 minutos. Transcurridos 50 minutos, se vertió la mezcla de reacción en 1,5 l de solución acuosa de Na₂CO₃, y el producto se extrajo con éter. El extracto se lavó con agua, se secó, y se concentró al vacío hasta 44,8 g de espuma amarilla. En este punto, la cromatografía en capa fina (gel de sílice, cloruro de metileno-acetato de etilo 85:15) del producto crudo mostró varios manchas. La purificación adicional mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando mezclas de solventes de cloruro de metileno-acetato de etilo, proporcionó 4,7 g de 4''-epi-5-O-t-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b, 1,2 g de 5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b, y 14 g de 5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b como espumas ligeras, las cuales se caracterizaron mediante su espectro de masas, y sus espectros de RMN de ¹H y ¹³C.

ES 2 163 381 T3

Preparación de D

4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b

- 5 Una solución de 14 g de 5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b en 200 ml de metanol, y una solución de 7 g de ácido p-toluensulfónico monohidrato en 500 ml de metanol se mezclaron y agitaron a temperatura ambiente durante 45 minutos, y a continuación se vertieron en una solución acuosa diluida de Na₂CO₃. El producto se extrajo con acetato de etilo, se lavó y secó sobre MgSO₄, se concentró al vacío, y se purificó mediante cromatografía preparativa en columna de gel de sílice con una mezcla de solventes de cloruro de metileno-metanol
10 de 95:5 para proporcionar 6,7 g de 4''-deoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b, la cual se caracterizó por sus espectros de RMN y masas.

Preparación de E

- 15 *4''-epi-amino-5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxi-avermectina B1a/B1b*

- Para la aminación reductora, se añadieron 12 mg de cianoborohidruro de sodio a una solución de 200 mg de 5-O-t-butildimetilsilil-4''-oxoavermectina B1a/B1b (procedente de la preparación B) y 160 mg de sulfato amónico en 3 ml de metanol, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación se vertió en una
20 solución acuosa de Na₂CO₃, y la fase orgánica se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con agua, se secó, y se concentró al vacío hasta obtener 210 mg de aceite amarillo. La cromatografía preparativa en capa de gel de sílice con el solvente cloruro de metileno-metanol 98:2 rindió 26 mg de 4''-amino-5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxiavermectina B1a/B1b, y 100 mg de 4''-epi-amino-5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxiavermectina B1a/B1b como espumas ligeras, las cuales se caracterizaron mediante sus espectros de masas y de RMN de ¹H y ¹³C.

25

Preparación de F

4''-epi-amino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b

- 30 Una solución de 100 mg de 4''-epi-amino-5-O-t-butildimetilsilil-4''-deoxiavermectina B1a/B1b (procedente de la preparación E) en 10 ml de metanol, que contenía un 1% de ácido p-toluensulfónico se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos, y entonces se vertió en una solución acuosa de NaHCO₃. El producto se aisló mediante extracción con acetato de etilo, y se obtuvo en forma pura, después de una cromatografía preparativa en capa de gel de sílice, como 55 mg de una espuma amarilla pálida, la cual se caracterizó mediante sus espectros de masas y RMN
35 como 4''-epi-amino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b.

Preparación de G

4''-epi-acetilamino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b

40

- Una solución de 50 mg de 4''-epi-amino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b en 0,5 ml de cloruro de metileno se trató con 0,007 ml de anhídrido acético a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó entonces con acetato de etilo y se lavó con una solución diluida de NaHCO₃ y agua, y se secó y concentró al vacío hasta obtener una espuma blanca, la cual se caracterizó mediante su espectro de masas y su espectro de RMN de ¹H como 4''-epi-acetilamino-4''-deoxiavermectina B1a/B1b.
45

Preparación de H

22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b

50

- A una solución de 97 µl de cloruro de oxalilo en 2,5 ml de cloruro de metileno, agitada a -60°C, se le añadió una solución de 160 µl de dimetilsulfóxido en 1,0 ml de cloruro de metileno, gota a gota, a lo largo de 3 minutos, desde una jeringa. A continuación, se añadió una solución de 500 mg de 22,23-dihidro-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b en 3,0 ml de cloruro de metileno, mediante jeringa, gota a gota durante 5 minutos. La mezcla de reacción
55 se agitó a -60°C durante 30 minutos, entonces se añadieron gota a gota 0,71 ml de trietilamina. Transcurridos otros 5 minutos a -60°C, se retiró el baño de enfriamiento, y se dejó que la mezcla llegara a la temperatura ambiente. La adición de agua, la extracción con éter, el lavado con agua, el secado y la concentración al vacío rindieron 520 mg de una espuma amarilla, la cual se purificó mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice con una mezcla de solventes de cloruro de metileno-acetato de etilo 9:1, para rendir 470 mg de 22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b pura, la cual se caracterizó mediante sus espectros de masas y de ¹H de RMN a 300 MHz.
60

Preparación de I

- 65 *22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b semicarbazona*

Una solución de 3,0 ml de MeOH que contenía 22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b (50 mg), hidrocloreto de semicarbazida (14,3 mg), y acetato sódico (15 mg), se agitó a temperatura ambiente

ES 2 163 381 T3

5 durante 2 horas. A continuación, la adición de 4 ml de agua, la extracción con éter, el lavado con agua, el secado y la concentración al vacío, proporcionaron 58 mg de producto crudo. La purificación mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice con una mezcla de solventes de cloruro de metileno-metanol 95:5 rindió 37 mg de 22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b semicarbazona pura, la cual se caracterizó por sus espectros de masas y RMN de ¹H.

Preparación de J

22,23-dihidro-4''-oxo-avermectina B1a/B1b semicarbazona

10 Una solución de 35 mg de 22,23-dihidro-4''-oxo-5-O-tert-butildimetilsilil-avermectina B1a/B1b semicarbazona en 3,5 ml de MeOH que contenía 1% de ácido p-toluensulfónico monohidrato, se mantuvo a temperatura ambiente durante 60 minutos. La adición de una solución acuosa de NaHCO₃, la extracción con éter, el lavado con agua, el secado y la concentración al vacío, proporcionaron 23 mg de producto crudo. La purificación mediante cromatografía preparativa en capa de gel de sílice usando una mezcla de solventes de cloruro de metileno-metanol 94:6 proporcionó 15 5,2 mg de 22,23-dihidro-4''-oxo-avermectina B1a/B1b semicarbazona pura, la cual se caracterizó por sus espectros de masas y RMN de ¹H.

Preparación de K

4''-oxoavermectina B1a/B1b

20 Una solución fría (0°C a 5°C) de 5,50 g (5,40 mmoles) de 5-O-tert-butil-dimetilsilil-4''-oxoavermectina B1a/1b (obtenida a través de la preparación B), y 120 ml de ácido p-toluensulfónico monohidrato metanólico al 1% (6,2 mmoles), se agitó durante 50 minutos, y a continuación se vertió en bicarbonato sódico acuoso. El producto se extrajo con cloruro de metileno. Las soluciones de cloruro de metileno se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, y se evaporaron bajo presión reducida proporcionando 4,5 g de 4''-oxoavermectina B1a/1b, la cual se caracterizó mediante resonancia magnética nuclear, espectros de masas [871 (M+H)+] y análisis cromatográficos líquidos de alta presión.

Preparación de L

4''-oxoavermectina B1a/1b acetohidrazona

35 Una solución de 4''-oxoavermectina B1a/1b, 200 mg, acetico hidrazida, 34 mg, ácido acético glacial, 24 ml, y piridina, 100 µl en 1,2 µl de metanol, se agitó a temperatura ambiente, 23°C, durante 19 horas, y entonces se evaporó bajo presión reducida. El residuo se retoma en cloruro de metileno, se extrajo con bicarbonato sódico acuoso, se secó sobre sulfato sódico, y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se cromatografió en una columna de gel de sílice usando del 1,0 al 3,0% de metanol en cloruro de metileno, proporcionando 101 mg de 4''-oxoavermectina 40 B1a/B1b acetohidrazona, la cual se caracterizó mediante resonancia magnética nuclear, espectros de masas y análisis cromatográficos líquidos de alta presión.

45

50

55

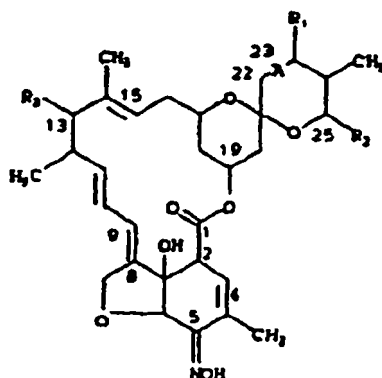
60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene la fórmula:

5



10

15

20

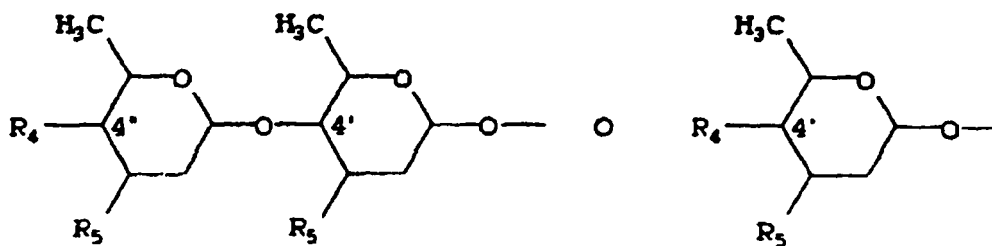
en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple, y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo o ceto, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

25

R₂ es un grupo alquilo de C₃-C₈ ramificado en alfa, un grupo cicloalquilo de C₅-C₈ alquilo de C₁-C₃, o un grupo tienilo;

R₃ es

30



35

40

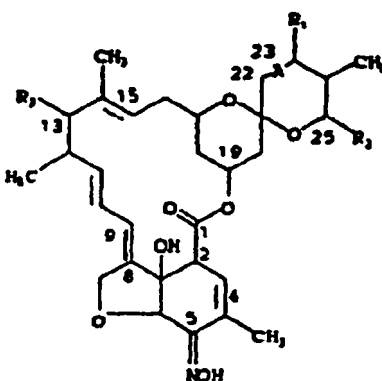
en donde R₄ está unido a C-4'' o C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, un N-alquilamino de C₁-C₆, un N,N-dialquilamino de C₁-C₆, un alcanoilamino de C₁-C₆, un N-alquilalcanoilamino de C₁-C₆, o un trialquilsililoxi de C₁-C₆; y

45

cada R₅ es independientemente hidroxilo o metoxi.

2. Compuesto según la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

50



55

60

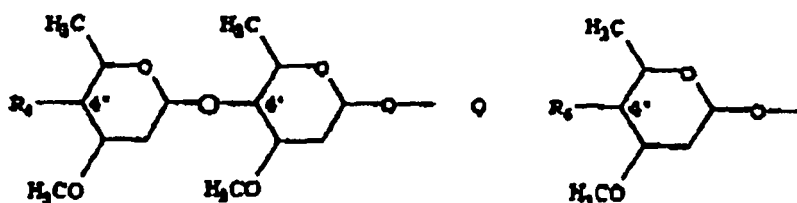
65

en donde A en la posición 22,23 representa un enlace simple, y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo o cetona, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

ES 2 163 381 T3

R₂ es un grupo alquilo de C₃-C₈ ramificado en alfa; y

R₃ es

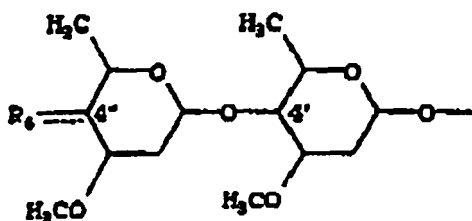


15 en donde R₄ está unido a C-4'' o C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, un N-alquilamino de C₁-C₆, un N,N-dialquilamino de C₁-C₆, un alcanoilamino de C₁-C₆, un N-alquilalcanoilamino de C₁-C₆, o un trialquilsililoxi de C₁-C₆.

20 3. Compuesto según la reivindicación 2, en donde A en la posición 2,2,3 representa un enlace simple y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

R₂ es iso-propilo o sec-butilo; y

R₃ es



35 en donde R₄ está unido a C-4'' o C-4' mediante un enlace simple y es un hidroxilo, un amino, N-alquilamino de C₁-C₆, un alcanoilamino de C₁-C₆, o un N-alquilalcanoilamino de C₁-C₆.

40 4. Compuesto según la reivindicación 3, en donde A en la posición 2,2,3 representa un enlace simple y en donde R₁ es hidrógeno o hidroxilo, o A representa un doble enlace y R₁ está ausente;

R₂ es iso-propilo, o sec-butilo; y

R₃ es 4'-(α -L-oleandrosil)- α -L-oleandrosiloxi.

45 5. Compuesto según la reivindicación 1, el cual es avermectina B1a/B1b 5-cetoxima.

6. Compuesto según la reivindicación 1, el cual es 22,23-dihidro-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima.

50 7. Compuesto según la reivindicación 1, el cual es 4''-desoxi-4''-epi-metilamino-avermectina B1a/B1b 5-cetoxima.

8. Proceso para la preparación de compuestos según la reivindicación 1, el cual comprende tratar el correspondiente compuesto 5-hidroxilo con un agente oxidante suave seguido por tratamiento con una sal de hidroxilamina.

55 9. Procedimiento para el tratamiento de infecciones parasitarias de plantas, el cual comprende tratar la planta infectada, o el suelo en el que crece la planta infectada, con una cantidad eficaz de un compuesto según la reivindicación 1.

60 10. Composición útil para el tratamiento de animales o plantas infectados con parásitos, la cual comprende un portador inerte y un compuesto según la reivindicación 1.

11. Uso de un compuesto según la reivindicación 1 para la preparación de una composición útil para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales.

65