



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo
con los datos que figuran en la pre-
sente descripción y según el con-
tenido de la Memoria adjunta.

19 ES

11	NUMERO
21	462.566
23	FECHA DE PRESENTACION
	22-9-77

10 A 1

20 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
725.829	23-9-76	ESTADOS UNIDOS

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

64 TITULO DE LA INVENCION

UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE DERIVADOS DE 4-N-ACILFORFIMICINA
B.

71 SOLICITANTE (S)

KYOWA HOKKO KOGYO CO., LTD.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Ohtemachi Bldg., Ohtemachi - Chiyoda-Ku, Tokyo - Japon

72 INVENTOR (ES)

John Solomon Tadamier; Jerry Roy Martin y Paul Kurath. Los cuales
cedieron sus derechos a la Compañia solicitante.

73 TITULAR (ES)

El mismo solicitante.

74 REPRESENTANTE

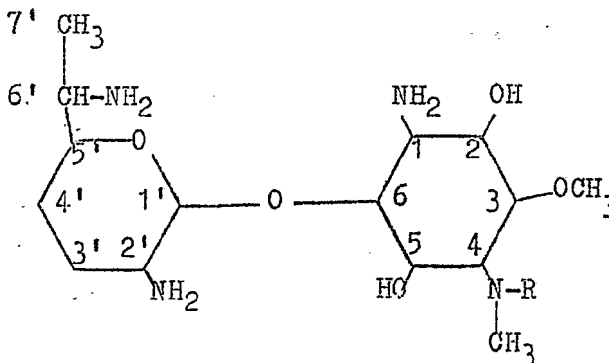
BIERNARDO UNGRIA GOIBURU.

1

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención proporciona derivados de 4-N-acilfortimicina B de estructura

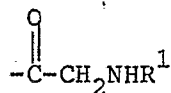
5



10

donde R es acilo, aminoacilo, N-monoalquil(inferior)aminoacilo, N,N-dialquil(inferior)aminoacilo, hidroxilaminoacilo sustituido o aminoacilo sustituido de fórmula

15



donde R¹ es un radical acilo derivado de un aminoácido o de un péptido corto, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

20

Los compuestos son útiles como intermediarios en la preparación de derivados de 4-N-alkil (o alkil sustituido)fortimicina B. Además de su utilidad como intermediarios, algunos de los compuestos de esta invención también son útiles como agentes antimicrobianos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

25

La terapia con antibióticos desempeña un papel vital en la medicina moderna. El advenimiento de la terapia antibiótica en este siglo ha sido responsable en parte de la mayor esperanza de vida así como de la menor incidencia de muertes de niños y recién nacidos. Aunque existen numerosas clases de antibióticos en el mercado, las penicilinas semisintéticas, las tetraciclinas, las eritromicinas y las cefalospori-

30

1 nas son probablemente los antibióticos más utilizados.

5 A pesar de la disponibilidad de una gran variedad de
antibióticos muy eficaces, continúa la búsqueda de agentes
mejorados por diversas razones. Muchos organismos adquieren
resistencia a un antibiótico o clase de antibióticos parti-
cular y por lo tanto debe disponerse continuamente de nue-
vas drogas para tratar las infecciones que implican cepas
de organismos que se han hecho resistentes a cualquier otra
10 terapia. Aparte del problema de la resistencia, esta potente
clase de drogas presenta un cierto número de efectos secun-
darios indeseables y, por lo tanto, continúa la búsqueda
de agentes de menor toxicidad que los antibióticos actualmente
existentes pero que continúan siendo eficaces agentes anti-
microbianos.

15 Otro problema relativo a la actual terapia antibióti-
ca es que existen ciertos organismos, como el género Proteus
de organismos, que son de tratamiento muy difícil. Por lo
tanto, los investigadores están buscando constantemente nue-
vas entidades químicas que sean eficaces contra diversas ce-
pas de Proteus.
20

Recientemente se ha identificado una nueva clase de
antibióticos que se ha designado con el nombre de fortimi-
cinas. Hasta la fecha, se conocen dos antibióticos de forti-
micina, la fortimicina A y la fortimicina B. Ambos antibió-
25 ticos son productos de fermentación y por lo tanto su manu-
factura es difícil y costosa.

La fortimicina A presenta un amplio espectro de activi-
dad in vitro contra las bacterias Gram-positivas y Gram-ne-
gativas y también presenta excelente actividad contra las
30 cepas de Staphylococcus aureus y Escherichia coli que son

1 resistentes a diversos antibióticos conocidos como la kana-
micina, la gentamicina, la tobramicina y similares, además
de presentar actividad antibacteriana contra las bacterias
del género Proteus. Los ensayos in vivo indican que la DE₅₀
5 de la fortimicina A contra Escherichia coli Juhl KY 4286 en
ratones es de 6 mg/kg (véase la patente estadounidense
3.976.768).

10 La fortimicina B también presenta actividad antibacte-
riana in vitro contra diversos antibióticos Gram-positivos
y Gram-negativos, pero es considerablemente menos activa
que la fortimicina A (véase la patente estadounidense
3.931.490).

15 Aunque la fortimicina A constituye un cabo prometedor
en la clase de antibióticos de fortimicina, se ha encontrado
que los derivados de 4-N-alkilfortimicina B son generalmen-
te más estables pero igual de eficaces que la fortimicina A.

20 Esta invención proporciona una nueva serie de interme-
diarios que son útiles en la preparación de los derivados de
4-N-alkilfortimicina y también proporciona un método para
convertir la fortimicina B en fortimicina A.

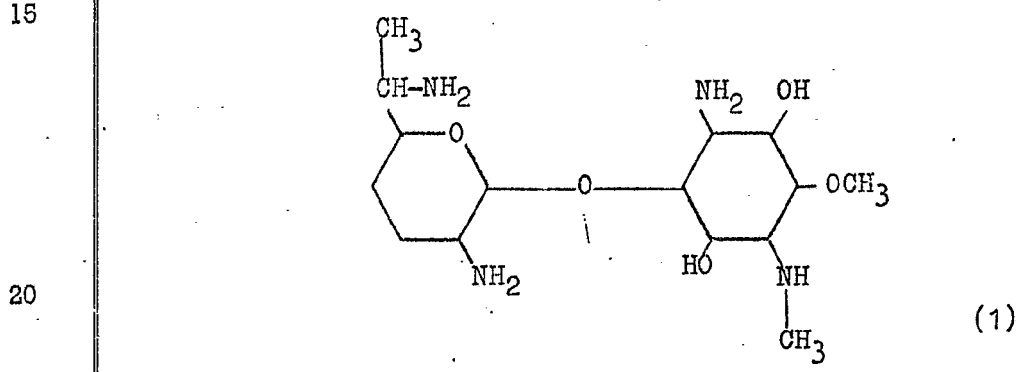
COMPENDIO DE LA INVENCION

25 Esta invención proporciona una nueva serie de deriva-
dos de 4-N-acilfortimicina B que son útiles como intermedia-
rios en la síntesis de derivados de 4-N-alkilfortimicina B.
Además de su utilidad como intermediarios, algunos de los
compuestos de esta invención, como muestra la Tabla II, tam-
bién son útiles como agentes antimicrobianos.

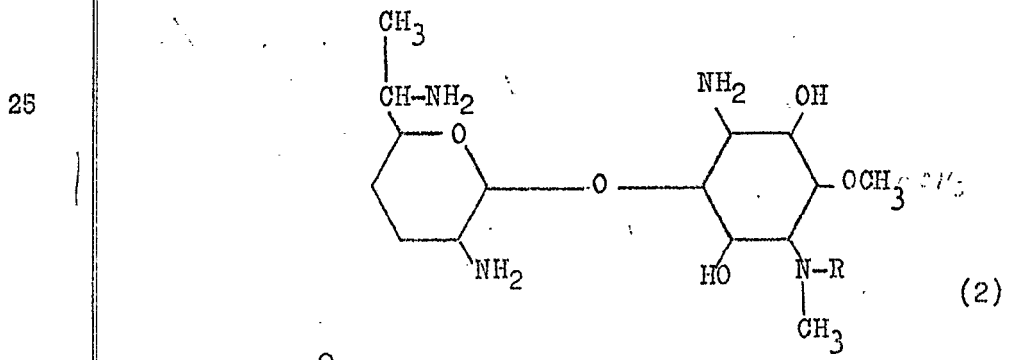
30 Esta invención también proporciona un método para la
conversión química de la fortimicina B menos activa en forti-
micina A, así como los derivados de 4-N-acilfortimicina B. En

1 términos generales, los derivados de 4-N-alkilfortimicina B
se preparan por reducción de la función acilamido del deri-
vado particular de 4-N-acilfortimicina, por ejemplo con hi-
5 druro de litio y aluminio o con diborano que constituyen los
agentes normales de reducción de amidas. Los compuestos de
esta invención se utilizan como intermediarios en la sínte-
sis de derivados de 4-N-alkil(sustituido)fortimicina B así
como de derivados de 4-N-alkilfortimicina B. Específicamen-
te, además de ser útiles para la obtención de los derivados
10 4-N-alkílicos, también son útiles en la preparación de los
derivados 4-N-aminoalkílicos o 4-N-hidroxialkílicos de la
fortimicina B.

Esta invención también proporciona un método para la
15 conversión química de la fortimicina B (1) de fórmula



25 en fortimicina A (2) de fórmula

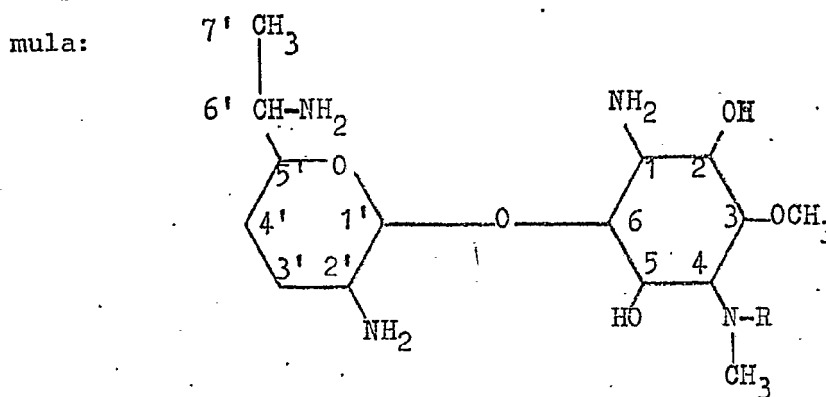


30 donde R es $\text{-C(=O)-CH}_2\text{NH}_2$, y la preparación de análogos de forti-

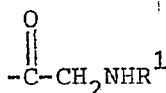
1 micina A (derivados de 4-N-acilfortimicina B) donde el grupo
2 po 4-N-glicilo del antibiótico de aminociclitol natural,
3 la fortimicina A (2), es sustituido por grupos acilo deri-
4 vados de ácidos carboxílicos y de aminoácidos distintos de
5 la glicina, donde R es el definido anteriormente. En parti-
6 cular, la invención se refiere a la preparación de derivados
7 de 4-N-acilfortimicina B donde el grupo 4-N-acilo deriva de
8 un aminoácido o de un péptido y sus sales farmacéuticamente
9 aceptables.

10 DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a nuevas fortimicinas y más
especialmente a derivados de 4-N-acilfortimicina B y a la
conversión química de fortimicina B en fortimicina A. Los
compuestos de esta invención son representados por la fórmula:



25 donde R es acilo, aminoacilo, N-monoalquil(inferior)amino-
acilo, N,N-dialquil(inferior)aminoacilo, hidroxí-aminoacilo
sustituido o aminoacilo sustituido de fórmula:



30 donde R¹ es un radical acilo derivado de un aminoácido o de
un péptido corto, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Estos compuestos son útiles como intermediarios en la

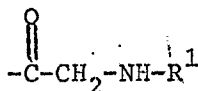
1 preparación de derivados de 4-N-alkil(o alkil sustituido)-
fortimicina B. Además de su utilidad como intermediarios,
algunos de los compuestos de esta invención también son úti-
les como agentes antimicrobianos.

5 El término "acilo" en el sentido utilizado aquí, se
refiere a grupos R representados por la fórmula



10 donde R² es alkilo inferior, aminoalkilo inferior, N-ami-
no(sustituido)alkilo inferior y N,N-amino(disustituido)al-
kilo inferior donde los N-sustituyentes de los grupos N-ami-
no(sustituido)alkilo inferior y N,N-amino(disustituido)al-
kilo inferior están constituidos por grupos alkilo como
15 metilo y etilo. El término "alkilo inferior" se refiere a
grupos alkilo C₁-C₇ de cadena lineal y ramificada.

Además, el término "acilo" en el sentido utilizado aquí
se refiere a grupos R representados por la fórmula



20 donde R¹ es un radical acilo derivado de un aminoácido o un
péptido corto.

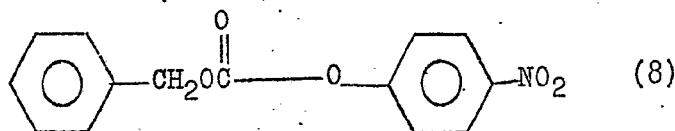
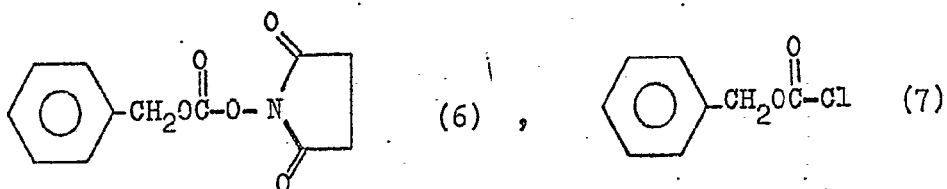
Además, los grupos acilo derivan de aminoácidos natura-
les o de sus enantiómeros, que no están incluidos entre los
definidos anteriormente, tales como histidina, fenilalanina,
25 tirosina o pequeños péptidos como glicilglicina u otros di-
péptidos o tripéptidos.

En el sentido utilizado aquí, el término "Cbz" se refie-
re al grupo benciloxicarbonilo.

30 El término "sales farmacéuticamente aceptables", en el
sentido utilizado aquí, se refiere a las sales de adición de

1 ácido no tóxicas que se preparan generalmente por reacción
de los compuestos de esta invención con un ácido orgánico
o inorgánico adecuado. Son sales representativas el hidro-
5 cloruro, hidrobromuro, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato,
valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fos-
fato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tar-
trato, napsilato y similares.

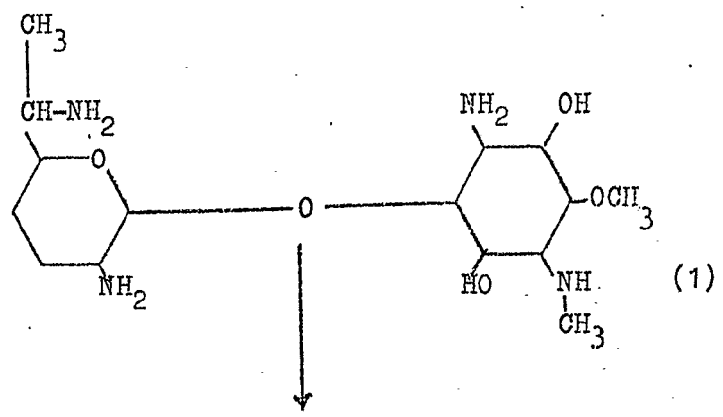
El método ilustrado a continuación, que puede utilizarse
para la preparación de fortimicina A (2) a partir de fortimi-
10 cina B (1) y también para la preparación de los análogos de
fortimicina A (5) implica como primera etapa la preparación
de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) por tra-
tamiento de fortimicina B (1) con un agente acilante adecua-
do como N-(benciloxicarboniloxi)succinimida (6), cloruro de
15 benciloxicarbonilo (7), benciloxicarbonil-p-nitrofenol (8),
respectivamente:



en un disolvente como N,N-dimetilformamida, metanol-agua y
similares, de acuerdo con el Esquema 1:

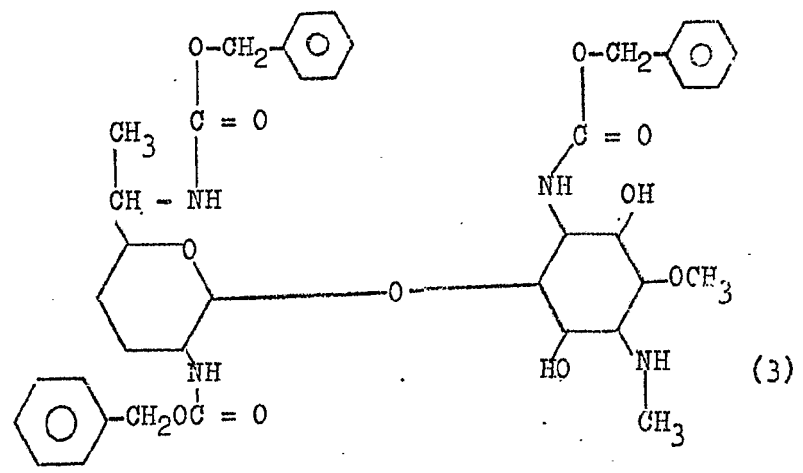
1

5



10

15



20

Esquema 1

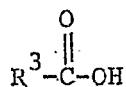
25

La segunda etapa del procedimiento, la acilación del grupo C₄-N-metilamino de la 1,2',6'-tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B (3) se realiza con un derivado activo de un ácido carboxílico, tal como un anhídrido carboxílico, un cloruro carboxílico, un éster activo de ácido carboxílico o una azida de ácido carboxílico, siguiendo la metodología comúnmente utilizada en la síntesis de péptidos.

30

Los ésteres activos pueden prepararse a partir del derivado de ácido carboxílico de fórmula:

1



con 1-hidroxibenzotriazol, N-hidroxisuccinimida o N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida { M. Fujino, S. Kobayashi, M. Obayashi, T. Fukuda, S. Shinagawa y O. Nishimura, Chem. Pharm. Bull. Japan, 22, 1857 (1974) } respectivamente, como se ilustra en los Esquemas A, B y C dados a continuación, donde:

5

10

10

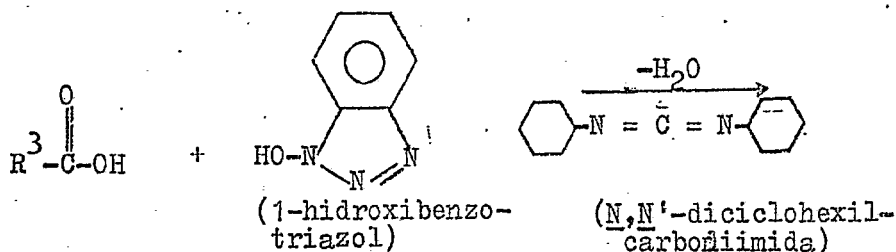


es un grupo acilo, N,N-dialquil(inferior)aminoacilo o acilo derivado de un aminoácido protegido con N-benciloxicarbonilo o de un péptido corto.

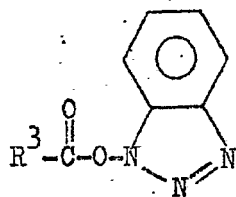
15

Esquema A

20



25

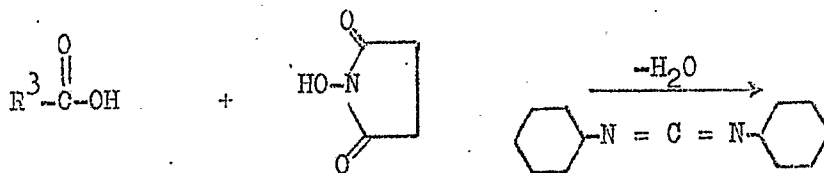


(éster activo de 1-hidroxibenzotriazol)

30

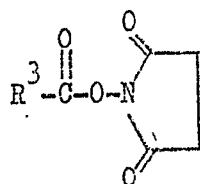
1

Esquema B



5

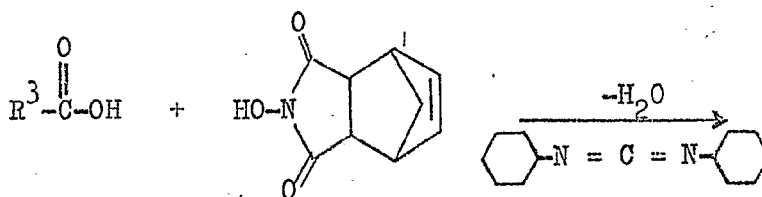
(N-hidroxisuccinimida)



10

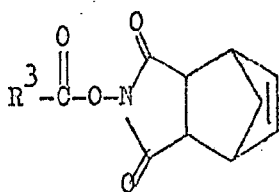
(éster activo de N-hidroxisuccinimida)

Esquema C



15

(N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida)



20

(éster activo de N-hidroxi-norbornen-2,3-dicarboximida)

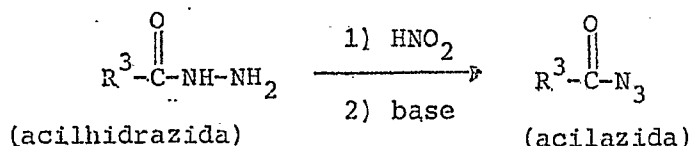
25

Las reacciones de los ésteres activos con 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) se efectúan en un disolvente inerte como tetrahidrofurano, dioxano, cloroformo, N,N-dimetilformamida y similares. En algunos casos, resulta beneficiosa la adición de una amina terciaria, tal como trietilamina.

30

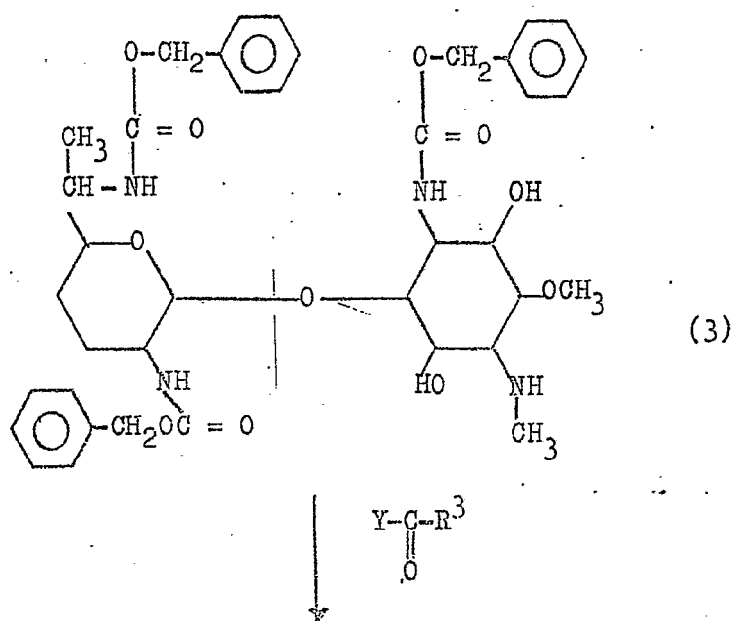
En algunas de las copulaciones se utiliza el grupo azido para activar al carboxilo terminal del ácido carboxílico que

1 ha de ser copulado. Las acilazidas se preparan a partir de las correspondientes acilhidrazinas con HNO₂ (ácido nitroso) y el exceso de ácido se elimina mediante un lavado acuoso básico. La reacción es ilustrada a continuación:



10 donde R³-C(=O)- representa los mismos grupos que en la preparación del éster activo descrita anteriormente. Las reacciones de copulación de las acilazidas preparadas anteriormente con 1,2',6'-tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B (3) se llevan a cabo en un disolvente inerte como el acetato de etilo.

15 Las reacciones de copulación de los derivados activados carboxílicos N-protegidos anteriores en el grupo C₄-N-metilo de la 1,2',6'-tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B (3) para formar 4-N-acil-1,2',6'-tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B (4) está ilustrada en el Esquema 2 siguiente:



1

5

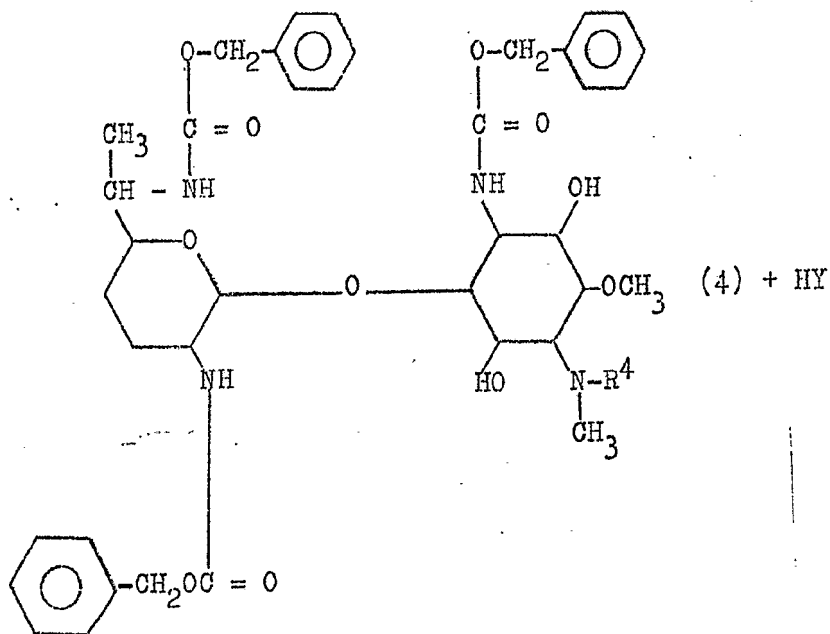
10

15

20

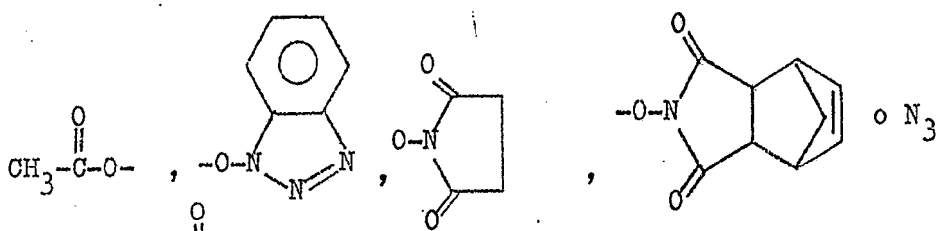
25

30



Esquema 2

donde Y representa grupos activantes tales como



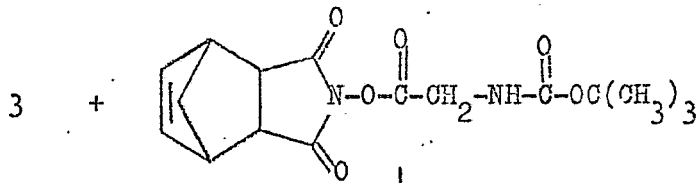
y R⁴ es R³-C(=O)- como se ha definido anteriormente.

Para los expertos en el campo de la síntesis de péptidos resulta evidente que la introducción de una cadena peptídica corta N-protogida en el compuesto (3) para dar el compuesto (4) puede realizarse por etapas utilizando intermediarios adecuadamente protegidos como se ilustra en el siguiente Esquema 3:

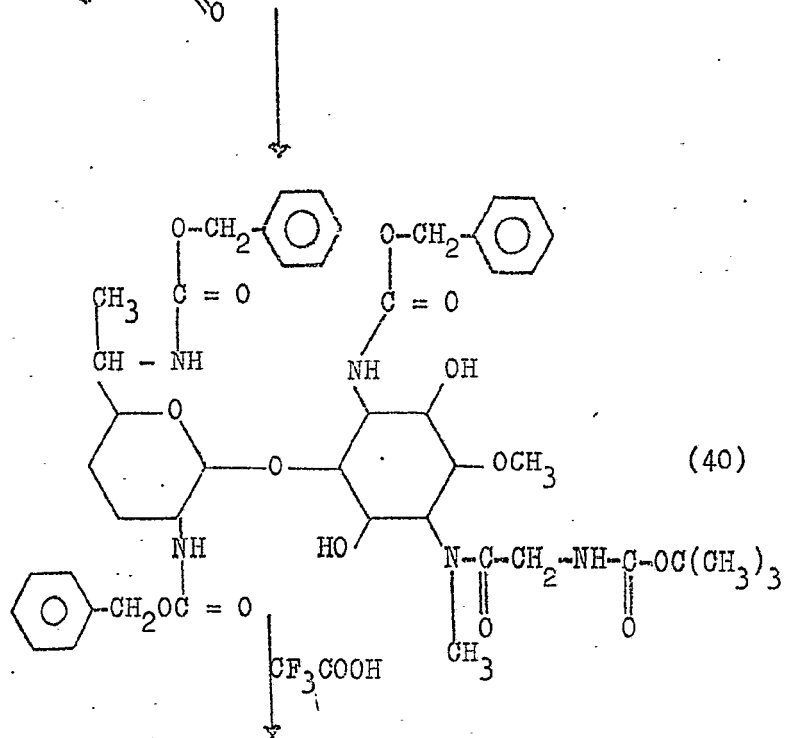
1

Esquema 3

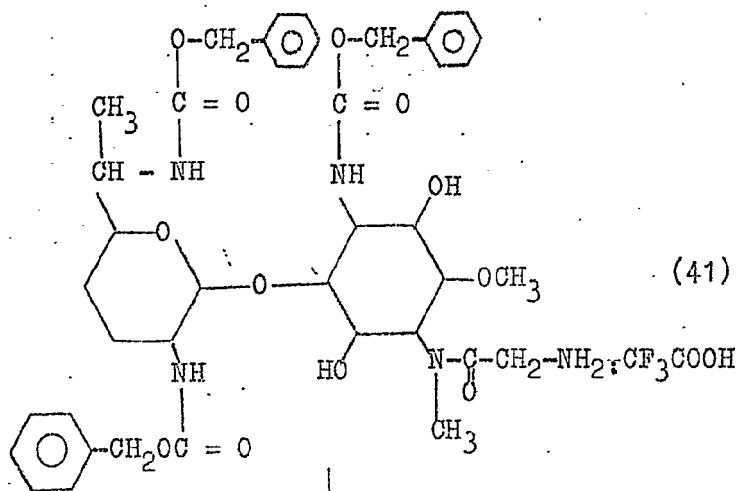
5



10



20

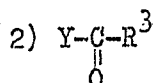
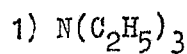


25

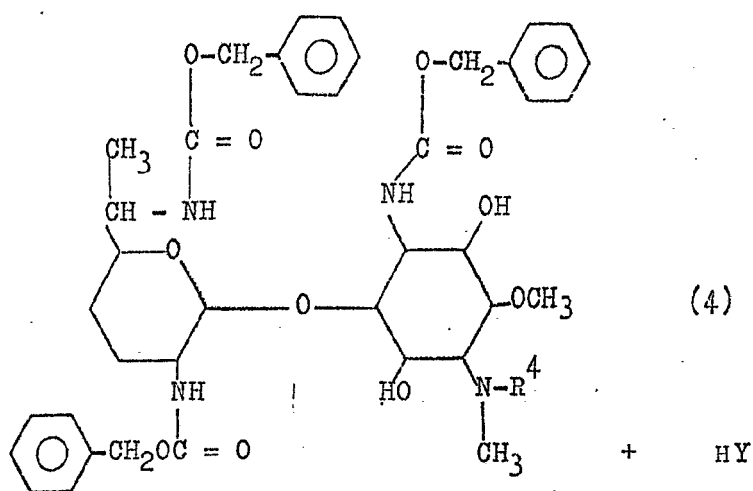
30

1

5



10



15

20

donde R^4 es $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-CH_2-NH-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-R^3$ donde $R^3-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ es el definido anteriormente e Y es un grupo activante como se ha descrito anteriormente.

25

La síntesis por etapas transcurre a través de la 4-N-(N-t-butiloxicarbonilglicil)-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (40) que, en condiciones ácidas, por ejemplo ácido trifluoroacético en cloruro de metileno, produce el trifluoroacetato de 4-N-glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (41). Este último compuesto (41) se trata primero con trietilamina y después se deja reaccionar en la forma habitual con $R^3-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-Y$ para dar las 4-N-acil-1,2',6'-tri-N-

30

1 benciloxicarbonilfortimicinas B (4) . intermediarias en un
procedimiento por etapas.

5 Una vez completada la acilación en el grupo C₄-N-metilo
de la 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) para
10 formar los intermediarios protegidos (4), es necesario sepa-
rar los grupos protectores benciloxicarbonílicos del compues-
to (4) por hidrogenolisis de este último sobre un cataliza-
dor de paladio en carbón para obtener los análogos de fortimi-
cina A (5) biológicamente activos. La fortimicina A (2) y
15 los análogos de fortimicina A (5) así preparados se aislan
convenientemente en forma de hidroccloruros cuando la hidroge-
nolisis se realiza en presencia de un ligero exceso de ácido
clorhídrico. La hidrogenolisis de (4) para obtener (5) está
formulada en el siguiente Esquema 4:

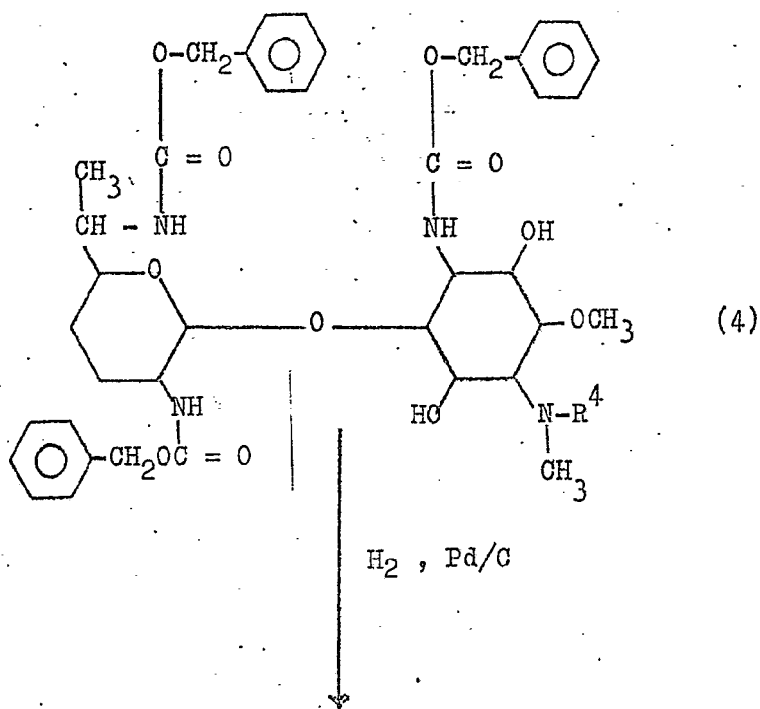
15

Esquema 4

20

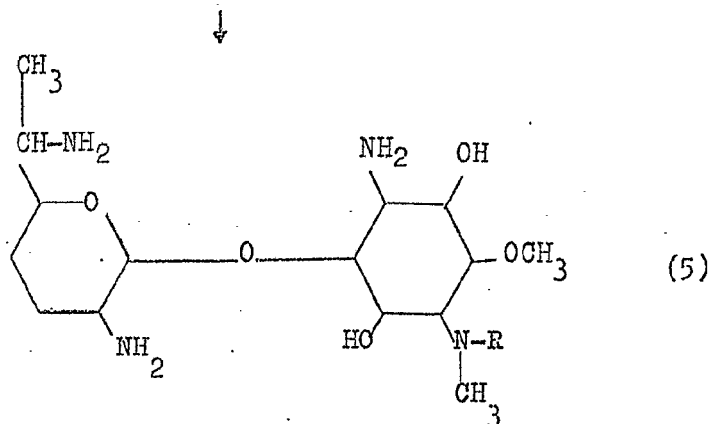
25

30



1

5

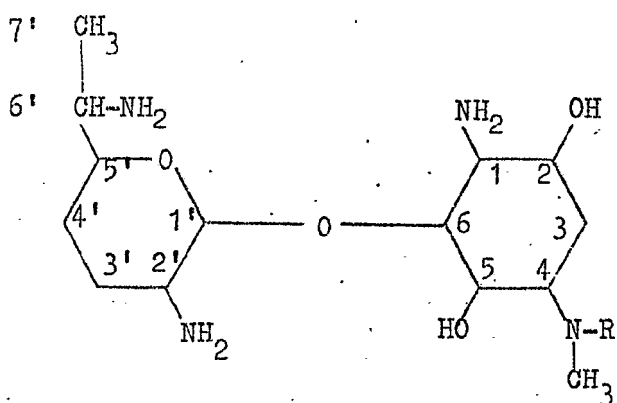


donde R⁴ y R son los definidos anteriormente.

10

Los compuestos que pueden ser preparados por el método antes descrito incluyen los compuestos representados por la fórmula:

15

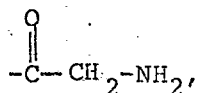


20

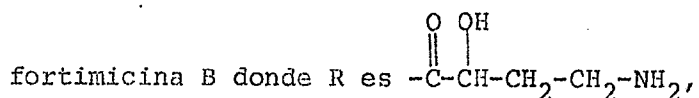
donde R es el definido anteriormente. Son ejemplos de estos compuestos, que no se pretende que limiten el alcance de la invención, los siguientes:

(9) el tetrahidrocloruro de fortimicina A donde R es

25

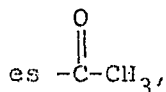


(10) el tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril

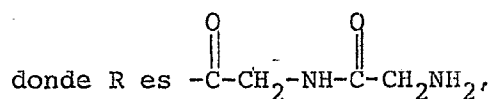


(11) el trihidrocloruro de 4-N-acetilfortimicina B donde R

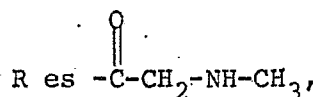
30



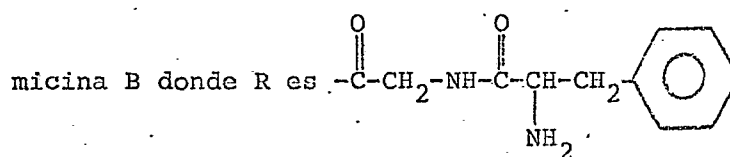
1 (12) el tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilfortimicina B



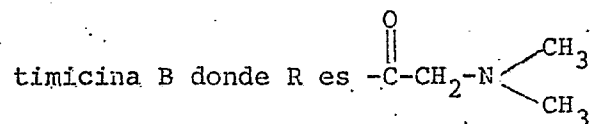
5 (13) el tetrahidrocloruro de 4-N-sarcosilfortimicina B donde



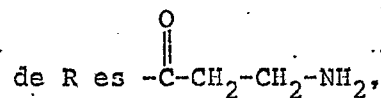
(14) el tetrahidrocloruro de 4-N-L-fenilalanilglicilforti-



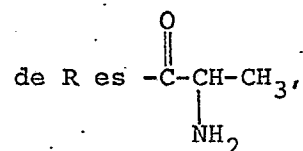
10 (15) el tetrahidrocloruro de 4-N-(N,N'-dimetilglicil)fer-



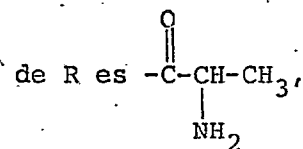
15 (16) el tetrahidrocloruro de 4-N-β-alanilfortimicina B don-



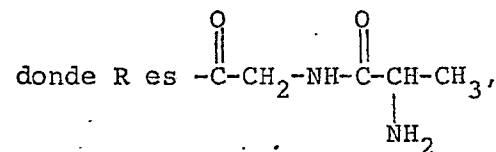
(17) el tetrahidrocloruro de 4-N-D-alanilfortimicina B don-



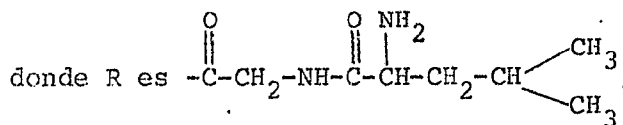
20 (18) el tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilfortimicina B don-



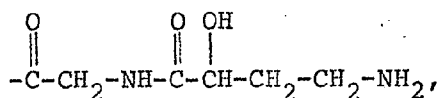
25 (19) el tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilglicilfortimicina B



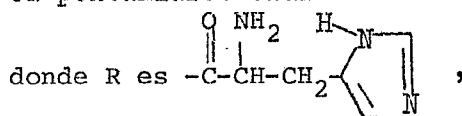
30 (20) el tetrahidrocloruro de 4-N-L-leucilglicilfortimicina B



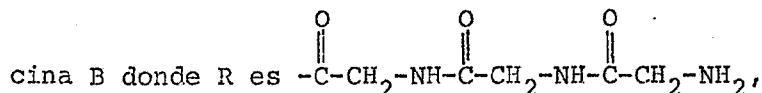
(21) el tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)glicilfortimicina B donde R es



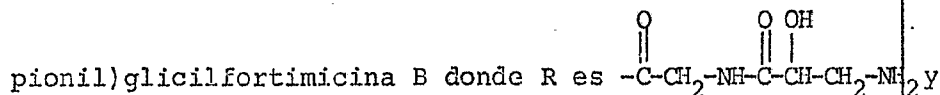
(22) el pentahidrocloruro de 4-N-L-histidilfortimicina B



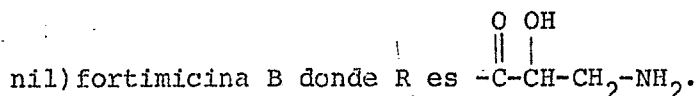
(23) el tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilglicilfortimicina B donde R es



(24) el tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)glicilfortimicina B donde R es



(25) el tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)fortimicina B donde R es



Los ejemplos siguientes se dan para ilustrar mejor esta invención y no se pretende que limiten o restrinjan su alcance en modo alguno.

EJEMPLO 1

1,2',6'-Tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3)

A. A una solución agitada de 2,0 g de fortimicina B (1), 30 ml de agua y 60 ml de metanol, enfriada en un baño de hielo a 0°, se añaden 4,44 g de N-(benciloxicarboniloxi)succinimida. Se continúa agitando a 0° durante 3 horas y después a la temperatura ambiente durante 22 horas. La mayor parte del metanol se evapora a presión reducida y el residuo se sacude

1 con una mezcla de cloroformo y agua. La solución clorofórmica se lava con agua y se seca sobre sulfato magnésico anhidro. Se evapora el cloroformo y el residuo se cromatografía sobre gel de sílice. Por elución con un sistema disolvente
5 constituido por cloroformo-metanol-hidróxido amónico concentrado (23,4:1,4:0,1 en volumen) se obtienen 1,05 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3): $[\alpha]_D^{25} +16,5^\circ$ (c = 1,0, CH₃OH).

IR: 1712, 1507 cm⁻¹.

10 RMN (CDCl₃) δ: 1,03 (C₆'-CH₃, J = 6,0), 2,32 (NHCH₃), 3,41 (OCH₃).

Análisis para C₃₉H₅₀N₄O₁₁:

Calculado : C, 62,39; H, 6,71; N, 7,46

Encontrado: C, 62,16; H, 6,76; N, 7,43.

15

EJEMPLO 2

Tetra-N-benciloxicarbonilfortimicina A (26)

A. A una solución magnéticamente agitada de 1,00 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3), 0,357 g de N-benciloxicarbonilglicina y 0,376 g de monohidrato de
20 1-hidroxibenzotriazol en 2,8 ml de tetrahidrofurano, enfriada a 0° en un baño de hielo, se agrega una solución de 0,353 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida en 2,8 ml de tetrahidrofurano. Se agregan otros 2,8 ml de tetrahidrofurano para pasar toda la N,N'-díciclohexilcarbodiimida a la vasija
25 de reacción. Se continúa agitando a 0° durante una hora y después a la temperatura ambiente durante 18 horas. La N,N'-díciclohexilurea precipitada se separa por filtración. Se evapora el tetrahidrofurano para separarlo del filtrado a presión reducida, dejando 1,79 g de producto. Se cromatografía una muestra de 1,20 g en una columna de gel de sílice,
30

1 preparada y eluída con un sistema disolvente formado por ben-
ceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado
(23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen). Se combinan las fracciones
que contienen el producto deseado y se concentran a presión
5 reducida para dar 0,826 g de tetra-N-benciloxicarbonilfor-
timicina A: $[\alpha]_D^{23} + 52,9^\circ (c = 1,0, \text{CH}_3\text{OH})$.

IR: 1710, 1635, 1500 cm^{-1}

RMN (CDCl_3) δ : 1,16 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 2,82 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$),
3,31 (OCH_3), 4,80 (H'_1 , $J = 3,0$).

10 Análisis para $\text{C}_{49}\text{H}_{59}\text{N}_5\text{O}_{14}$:

Calculado : C, 62,48; H, 6,31; N, 7,43

Encontrado: C, 62,52; H, 6,49; N, 7,23.

B. A una solución magnéticamente agitada de 4,02 g de
1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B en 40 ml de
15 tetrahidrofurano, enfriada a 0° en un baño de hielo, se aña-
den 1,80 g del éster de N-hidroxisuccinimida de la N-bencil-
oxicarbonilglicina. Se continúa agitando a 0° durante 4 ho-
ras y después a la temperatura ambiente durante 23 horas. La
solución resultante se sacude con una mezcla de 300 ml de
20 CHCl_3 y 400 ml de solución acuosa al 5 % de NaHCO_3 . La solu-
ción en CHCl_3 se separa y se lava con 400 ml de agua. Las
soluciones acuosas se lavan en serie tres veces con 200 ml
de CHCl_3 . Se evapora el CHCl_3 a presión reducida para dar
5,18 g de un vidrio blanco. Este producto se cromatografía en
25 una columna de 250 g de gel de sílice (3,4 x 74 cm). La elu-
ción se realiza con un sistema disolvente formado por benceno-
metanol-etanol-hidróxido amónico (23,5:1,60:1,80:0,20 en vo-
lumen). Se combinan las fracciones que contienen el producto
y por evaporación del disolvente se obtienen 4,58 g de tetra-
30 N-benciloxicarbonilfortimicina A (26) idéntica a la preparada

1 como se ha descrito anteriormente.

EJEMPLO 3

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)-
fortimicina B (27)

5 A una solución magnéticamente agitada de 1,03 g de
1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3), 0,693 g
de ácido N-benciloxicarbonil-DL-1-hidroxi-4-aminobutírico
y 0,829 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol en 5 ml
de tetrahidrofurano, enfriada en un baño de hielo, se agrega
10 una solución de 0,560 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida en
2,5 ml de tetrahidrofurano. Se añaden otros 2,5 ml de tetra-
hidrofurano para pasar toda la N,N'-díciclohexilcarbodiimida
a la vasija de reacción. Se continúa agitando durante 15 mi-
15 nutos en el baño de hielo y después se agregan 0,8 ml de
trietilamina. Se continúa agitando a 0° durante 15 minutos
y después a la temperatura ambiente durante 21,5 horas. La
N,N'-díciclohexilurea insoluble se separa por filtración
y el tetrahidrofurano se separa del filtrado dando 2,91 g de
un vidrio amarillo. La cromatografía se realiza primero en
20 una columna de gel de sílice eluyendo con un sistema disol-
vente formado por benceno-metanol-etanol-hidróxido amónico
concentrado (23,5:0,7:2,7:0,2 en volumen). Se combinan las
fracciones enriquecidas en el producto deseado y se cromato-
grafían de nuevo sobre gel de sílice empleando un sistema di-
25 solvente formado por benceno-metanol-etanol (23,5:0,7:2,7 en
volumen). Después las fracciones enriquecidas en el producto
deseado se cromatografían sobre Sephadex LH-20 en metanol pa-
ra dar 0,353 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidro-
xi-4-aminobutíril)fortimicina B (27): $[\alpha]_D^{24} + 42,4^\circ$ (c = 1,0,
30 CH₃OH).

IR: 1705, 1623, 1504 cm^{-1} .

RMN (CDCl_3) δ : 1,19 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$), 2,9 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,32 (OCH_3), 4,75 (H'_1 , $J = 3,0$).

Análisis para $\text{C}_{51}\text{H}_{63}\text{N}_5\text{O}_{15}$:

Calculado : C, 62,12; H, 6,44; N, 7,10

Encontrado: C, 62,07; H, 6,54; N, 7,07.

EJEMPLO 4

1,2',6'-Tri-N-benciloxicarbonil-4-N-acetilfortimicina B (28)

A una solución agitada de 3,22 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) en 225 ml de metanol, enfriada en un baño de hielo, se añaden 16 ml de anhídrido acético durante un periodo de 15 minutos. Se continúa agitando a 0° durante 2 horas y después a la temperatura ambiente durante 2 horas. Se evapora el metanol a presión reducida y el anhídrido acético residual y el ácido acético se separan por co-distilación con benceno y metanol para dar 3,63 g de 1,2',

6'-tri-N-benciloxicarbonil-4-N-acetilfortimicina B (28):

$[\alpha]_D^{25} + 58,4^\circ$ ($c = 1,03$, CH_3OH).

IR: 1710, 1620, 1500 cm^{-1} .

RMN (CDCl_3) δ : 1,16 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,0$), 2,07 (COCH_3), 2,83 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,34 (OCH_3), 4,81 (H'_1 , $J = 3,0$).

Análisis para $\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{12}$:

Calculado : C, 62,11; H, 6,61; N, 7,07

Encontrado: C, 62,37; H, 6,74; N, 7,00

EJEMPLO 5

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-glicilglicilfortimicina B (29)

A una suspensión agitada de 0,754 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3), 0,536 g de N-benciloxicarbonilglicilglicina y 0,622 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol en 4 ml de tetrahidrofurano se añade una solu-

1 ción de 0,418 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida en 3 ml de
tetrahidrofurano. Se utilizan otros 3 ml de tetrahidrofurano
para pasar toda la N,N'-díciclohexilcarbodiimida a la vasi-
ja de reacción. La suspensión resultante se agita a la tempe-
5 ratura ambiente durante 44 horas. Después se separa por fil-
tración la N,N'-díciclohexilurea insoluble y se lava bien
con tetrahidrofurano. Se combinan el filtrado y las aguas
de lavado y el tetrahidrofurano se evapora a presión redu-
cida dando 1,96 g de un vidrio blanco. El producto se cromatografía en una columna de gel de sílice. Por elución con
10 un sistema disolvente constituido por benceno-metanol-etanol-
hidróxido amónico concentrado (23,5:0,7:2,7:0,2 en volumen)
se obtienen 0,824 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-glicil-
glicilfortimicina B (20): $[\alpha]_D^{23} + 43^\circ$ (c = 1,0, CH₃OH).

15 IR: 1712, 1638, 1500 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ : 1,17 (C'₆-CH₃, J = 6), 2,87 (C₄-NCH₃),
3,32 (OCH₃).

Análisis para C₅₁H₆₂N₆O₁₅:

Calculado : C, 61,31; H, 6,25; N, 8,41

20 Encontrado: C, 61,35; H, 6,40; N, 8,28.

EJEMPLO 6

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-sarcosilfortimicina B (30)

25 A una solución agitada de 2,26 g de 1,2',6'-tri-N-ben-
cilocarbonilfortimicina B (3), 0,855 g de N-benciloxicarbo-
nilsarcosina y 0,982 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotri-
azol en 12,0 ml de tetrahidrofurano se añaden 0,808 g de N,N'-
díciclohexilcarbodiimida disueltos en 6,0 ml de tetrahidro-
furano. Se utilizan 6,0 ml de tetrahidrofurano adicionales
30 para pasar toda la N,N'-díciclohexilcarbodiimida a la vasija
de reacción. Se continúa agitando durante 24 horas a la tempe-

1 ratura ambiente. La N,N'-diciclohexilurea insoluble se sepa-
ra por filtración con un embudo de vidrio sinterizado. Se-
parando el tetrahidrofurano a presión reducida se obtiene
un residuo amarillo que se cromatografía en una columna de
5 gel de sílice preparada y eluída con un sistema disolvente
formado por benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico
concentrado (23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen). Se recogen las
fracciones enriquecidas en tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-
sarcosilfortimicina B (30) y se cromatografían de nuevo en
10 una columna de Sephadex LH-20 preparada y eluída con etanol
al 95 %. Se combinan las fracciones apropiadas para dar
2,29 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-sarcosilfortimicina B
(30) en forma de espuma blanca: $[\alpha]_D^{24} + 49,9^\circ$ (c = 1,0,
CH₃OH).

15 IR: 1710, 1635, 1500 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ: 1,15 (C'₆-CH₃, J = 6,8), 2,79 (C₄-NCH₃),
2,98 (OCH₃), 3,35 (CH₂-N-CH₃), 4,82 (H'₁, J = 3,0).
|
Cbz

Análisis para C₅₀H₆₁N₅O₁₄:

20 Calculado: C, 62,82; H, 6,43; N, 7,32

Encontrado: C, 62,59; H, 6,47; N, 7,32.

EJEMPLO 7

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-fenilalanilglicilfortimici-
na B (31)

25 A una solución agitada de 2,00 g de 1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonilfortimicina B (3), 1,284 g de N-benciloxi-
carbonil-L-fenilalanilglicina y 0,892 g de monohidrato de
1-hidroxibenzotriazol en 10 ml de tetrahidrofurano se aña-
den 0,602 g de N,N'-diciclohexilcarbodiimida disueltos en
30 5,0 ml de tetrahidrofurano. Se emplean 5,0 ml adicionales de

1 tetrahidrofurano para pasar toda la N,N'-diciclohexilcarbo-
diimida a la vasija de reacción. Se continúa agitando duran-
te 20 horas a la temperatura ambiente. La diciclohexilurea
5 insoluble se separa por filtración a través de un embudo de
vidrio sinterizado. El filtrado se concentra a sequedad pa-
ra dar un residuo amarillo. El residuo se cromatografía en
una columna de gel de sílice preparada y eluida con un siste-
ma disolvente formado por benceno-metanol-etanol al 95 %-hi-
dróxido amónico concentrado (23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen).
10 Se recogen las fracciones enriquecidas en el componente de-
seado y se evaporan a sequedad. El residuo se pasa por una
columna de Sephadex LH-20 preparada y eluida con etanol al
95 %. Se recogen las fracciones que contienen tetra-N-bencil-
oxycarbonil-4-N-L-fenilalanilglicilfortimicina B (31) y el
15 etanol se evapora a presión reducida para dar 1,16 g de pro-
ducto: $[\alpha]_D^{25} + 28,4^\circ$ (c = 1,03, CH₃OH).

IR: 1712, 1637, 1500 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ : 1,16 (C'₆-CH₃, J = 6), 2,80 (C₄-NCH₃),
20 3,27 (OCH₃).

Análisis para C₅₈H₆₈N₆O₁₅:

Calculado : C, 63,96; H, 6,29; N, 7,72

Encontrado: C, 63,82; H, 6,45; N, 7,71.

EJEMPLO 8

25 1,2',6'-Tri-N-benciloxycarbonil-(N,N-dimetilglicil)fortimi-
cina B (32)

A una solución agitada de 2,26 g de 1,2',6'-tri-N-ben-
ciloxy-carbonilfortimicina B (3), 0,515 g de dimetilglicina
y 1,03 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol en 6,0 ml
de tetrahidrofurano se añaden 0,840 g de N,N'-diciclohexil-
30 carbodiimida disueltos en 6,0 ml de tetrahidrofurano. Se uti-

1 lizan 6,0 ml adicionales de tetrahidrofurano para pasar toda
la N,N'-diciclohexilcarbodiimida a la vasija de reacción.
Se agregan 1,5 ml de trietilamina a la mezcla de reacción
5 y se continúa agitando durante 20 horas a la temperatura
ambiente. La diciclohexilurea insoluble se separa por fil-
tración a través de un embudo de vidrio sinterizado y el
filtrado se lleva a sequedad. El residuo se cromatografía
en una columna de gel de sílice preparada y eluída con un
sistema disolvente constituido por cloruro de metileno-eta-
10 nol acuoso al 95 %-hidróxido amónico concentrado (18,2:1,8:
0,2 en volumen). Se recogen las fracciones que contienen
1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-(N,N-dimetilglicil)fortimi-
cina B (32) y se evaporan a sequedad para dar 1,34 g de un
vidrio incoloro: $[\alpha]_D^{23} + 46,1^\circ$ (c = 1,0, CH₃OH).

15 IR: 1711, 1630, 1503 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ: 1,16 (C'₆-CH₃, J = 6), 2,3 [N(CH₃)₂],
2,89 (C₄-NCH₃), 3,06 (COCH₂-N<), 3,34 (OCH₃), 4,82 (H'₁,
J = 3,0).

20 Análisis para C₄₃H₅₇N₅O₁₂:

Calculado: C, 61,78; H, 6,87; N, 8,38

Encontrado: C, 61,75; H, 7,02; N, 8,30.

EJEMPLO 9

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-β-alanilfortimicina B (33)

25 A una solución agitada de 5,52 g de 1,2',6'-tri-N-ben-
cilocarbonil-4-N-β-alanina y 1,96 g de monohidrato de 1-
hidroxibenzotriazol en 24,0 ml de tetrahidrofurano se añaden
1,62 g de N,N'-diciclohexilcarbodiimida disueltos en 12,0 ml
de tetrahidrofurano. Se utilizan otros 12,0 ml de tetrahidro-
30 furano para pasar toda la N,N'-diciclohexilcarbodiimida a la
vasija de reacción. Se continúa agitando durante 20 horas a

1 la temperatura ambiente. La dicitclohexilurea insoluble se
separa por filtración a través de un embudo de vidrio sin-
terizado. El filtrado se concentra a sequedad a presión
5 se cromatografía en una columna de gel de sílice empleando
un sistema disolvente de benceno-metanol-etanol al 95 %-hi-
dróxido amónico concentrado (23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen).
Se recogen las fracciones enriquecidas en el producto desea-
do, se llevan a sequedad y se cromatografían de nuevo en una
10 columna de Sephadex LH-20 preparada en etanol al 95 %. Por
elución con el mismo disolvente se obtienen fracciones que
contienen el producto deseado. Por separación del etanol
a presión reducida se obtienen 4,76 g de tetra-N-benciloxi-
carbonil-4-N-β-alanilfortimicina B (33) en forma de vidrio
15 blanco: $[\alpha]_D^{23} + 42,9^\circ$ (c = 0,94, CH₃OH).

IR: 1710, 1620, 1503 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ : 1,17 (C'₆-CH₃, J = 6), 2,82 (C₄-NCH₃),
3,28 (OCH₃), 4,78 (H'₁).

Análisis para C₅₀H₆₁N₅O₁₄:

Calculado : C, 62,82; H, 6,43; N, 7,32;

Encontrado: C, 62,11; H, 6,47; N, 7,29.

EJEMPLO 10

Tetra-N-benciloxycarbonil-4-N-D-alanilfortimicina B (34)

25 A una solución agitada de 2,26 g de 1,2',6'-tri-N-ben-
cilocarbonilfortimicina B (3), 0,856 g de N-benciloxicar-
bonil-D-alanina y 0,972 g de monohidrato de 1-hidroxibenzo-
triazol en 6,0 ml de tetrahidrofurano, enfriada en un baño
de hielo, se agregan 0,816 g de N,N'-dicitclohexilcarbodiimi-
da disueltos en 6,0 ml de tetrahidrofurano. Se utilizan
30 6,0 ml adicionales de tetrahidrofurano para pasar toda la

1 N,N'-diciclohexilcarbodiimida a la vasija de reacción. La
mezcla de reacción se agita durante una hora a 0° y después
durante 18 horas a la temperatura ambiente. La N,N'-diciclo-
hexilurea insoluble se separa por filtración a través de un
5 embudo de vidrio sinterizado y el tetrahidrofurano se sepa-
ra a presión reducida para dar 4,15 g de una espuma blanca.
El producto se cromatografía en una columna de gel de sílice
preparada y eluída con un sistema disolvente constituído
por benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico con-
10 centrado (23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen). Las fracciones enri-
quecidas en el producto deseado se llevan a sequedad y el
residuo se cromatografía repetidas veces en una columna de
gel de sílice, preparada y eluída con un sistema disolvente
formado por ciclohexano-acetona (1:1 en volumen). Se reúnen
15 las fracciones que contienen la tetra-N-benciloxicarbonil-4-
N-D-alanilfortimicina B pura y se evapora el disolvente para
dar 0,669 g de producto en forma de espuma blanca: $[\alpha]_D^{24} +$
41,4° (c = 1,0, CH₃OH).

20 IR: 1710, 1625, 1498 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ: 1,15 (C'₆-CH₃, J = 6,8), 1,28 (CH-CH₃,
|
NHCbz

J = 6,5), 2,88 (C₄-NHCH₃), 3,27 (OCH₃), 4,82 (H'₁, J = 3,7).

Análisis para C₅₀H₆₁N₅O₁₄:

25 Calculado : C, 62,82; H, 6,43; N, 7,32

Encontrado: C, 62,83; H, 6,59; N, 7,09

EJEMPLO 11

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-alanilfortimicina B (35)

30 A una solución agitada de 2,26 g de 1,2',6'-tri-N-ben-
ciloxicarbonilfortimicina B (3), 0,853 g de N-benciloxicarbo-
nil-L-alanina y 0,963 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotri-

1 azol en 6,0 ml de tetrahidrofurano, enfriada en un baño de
agua de hielo, se añaden 0,803 g de N,N'-diciclohexilcarbo-
diimida disueltos en 6,0 ml de tetrahidrofurano. Se utilizar
5 6,0 ml adicionales de tetrahidrofurano para pasar toda la
N,N'-diciclohexilcarbodiimida a la vasija de reacción. Se
continúa agitando durante una hora a 0° y después a la tem-
peratura ambiente durante 18 horas. La N,N'-diciclohexilurea
insoluble se separa por filtración y el filtrado se concen-
tra a sequedad para dar 4,20 g de una espuma blanca. El pro-
10 ducto se cromatografía en una columna de gel de sílice pre-
parada y eluida con un sistema disolvente formado por ben-
ceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado
(23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen). Se recogen las fracciones que
15 contienen la porción principal de la tetra-N-benciloxicarbo-
nil-4-N-L-alanilfortimicina B (35) y se cromatografían de
nuevo en una columna de gel de sílice preparada y eluida con
un sistema disolvente formado por acetona-hexano (1:1 en vo-
lumen). Se recogen las fracciones que contienen el producto
deseado y se pasan por una columna de Sephadex LH-20 prepara-
20 da y eluida con etanol al 95 %. Las fracciones que contie-
nen tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-alanilfortimicina B (35)
pura se concentran a sequedad para dar 1,22 g de una espuma
incolora: $[\alpha]_D^{24} + 37,5^\circ$ (c = 1,0, CH₃OH).

IR: 1712, 1630, 1500 cm⁻¹

25 RMN (CDCl₃) δ : 1,17 (C₆-CH₃), J = 6,5), 1,27 (COCH-CH₃,
NHCBZ

J = 7,0), 2,97 (C₄-NCH₃), 3,29 (OCH₃), 4,77 (H₁, J = 3,0).

Análisis para C₅₀H₆₁N₅O₁₄:

Calculado : C, 62,82; H, 6,43; N, 7,32

30 Encontrado: C, 62,80; H, 6,58; N, 7,10.

EJEMPLO 12

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-alanilglicilfortimicina B (36)

A una solución agitada de 1,09 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3), 0,440 g de N-benciloxicarbonil-L-alanilglicina y 0,50 g de monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol en 6,0 ml de tetrahidrofurano se agrega una solución de 0,416 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida en 3,0 ml de tetrahidrofurano. Se utilizan 3,0 ml adicionales de tetrahidrofurano para pasar toda la N,N'-díciclohexilcarbodiimida a la vasija de reacción. Se continúa agitando durante 20 horas a la temperatura ambiente. La N,N'-díciclohexilurea insoluble se separa por filtración en un embudo de vidrio sinterizado. El filtrado se concentra a sequedad para dar 2,02 g de una espuma amarilla. El producto puro se recupera por cromatografía en columna de la mezcla de reacción sobre gel de sílice, con un sistema disolvente formado por benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado (23,5:1,4:2,0:0,2 en volumen). Se evaporan las fracciones que contienen el producto deseado para dar 1,08 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-alanilglicilfortimicina B (36): $[\alpha]_D^{24} + 30,0^\circ$ (c = 1,02, CH₃OH).

IR: 1711, 1640, 1500 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ: 1,17 (C'₆-CH₃), 1,29 (CO-CH-CH₃),
NHCBz

2,85 (C₄-NCH₃), 3,30 (OCH₃).

Análisis para C₅₂H₆₄N₆O₁₅:

Calculado : C, 61,35; H, 6,37; N, 8,30

Encontrado: C, 61,68; H, 6,52; N, 8,28.

EJEMPLO 13

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-histidilfortimicina B (37)

Una solución de 1,50 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) en 5 ml de acetato de etilo se enfría en un baño de acetona y hielo seco y se agrega con agitación una solución fría de N-benciloxicarbonil-L-histidilazida en 19 ml de acetato de etilo, preparada a partir de 1,21 g de N-benciloxicarbonil-L-histidilhidrazida de acuerdo con F. Schneider (Z. Physiol. Chem., 320, 82 (1960)). La mezcla de reacción se agita a -15° durante 40 minutos, después a 4°C durante 24 horas y finalmente a la temperatura ambiente durante la noche. Se añaden 2 gotas de una solución concentrada de hidróxido amónico y la mezcla se evapora a presión reducida a la temperatura ambiente para dar un residuo de 2,36 g del producto de reacción crudo. Este último se cromatografía sobre 180 g de gel de sílice utilizando una mezcla de cloruro de metileno-metanol acuoso al 95 %-hidróxido amónico concentrado (1170:70:5 en volumen) como disolvente eluyente. Las primeras fracciones cromatográficas contienen sustancias no polares junto con 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B que no ha reaccionado (0,35 g). El residuo obtenido del siguiente grupo de fracciones contiene una pequeña cantidad del material de partida junto con la tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-histidilfortimicina B (37), 1,02 g) deseada. Las últimas fracciones contienen 0,30 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-histidilfortimicina B (37) pura.

La mezcla antes descrita (1,02 g), conteniendo material de partida y el producto deseado, se cromatografía de nuevo sobre 140 g de gel de sílice, utilizando benceno-metanol-etanol al 95 % (1174:34:136 en volumen) como eluyente.

1 Por evaporación de las fracciones combinadas que contienen
tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-histidilfortimicina B (37) se
obtienen 0,75 g de un residuo de (37).

5 Una parte de la sustancia anterior se purifica para
análisis por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20,
utilizando etanol al 95 % como eluyente. Se combinan las frac-
ciones que contienen el compuesto deseado, se evaporan y el
residuo se disuelve en cloroformo. La solución cloroformica
se lava con agua. Se separa la capa acuosa, se filtra la so-
lución orgánica a través de un embudo de vidrio sinterizado
10 y se evapora. El residuo es puro por cromatografía en capa
fina: $[\alpha]_D^{22} + 32^\circ$ (c = 1,01, CHCl₃).

IR (pastilla de KBr): 1710, 1631, 1505 cm⁻¹.

15 RMN (CDCl₃) δ : 1,15 (6'-CH₃), 2,91, 2,93 (C₄-N-CH₃),
3,22, 3,29 (OCH₃), 5,03, 5,07 (Cbz-CH₂), 7,1-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₅₃H₆₃N₇O₁₄:

Calculado : C, 62,28; H, 6,21; N, 9,59

Encontrado: C, 62,05; H, 6,31; N, 9,44.

EJEMPLO 14

20 Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)-
fortimicina B (38)

25 El éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarbo-
ximida del ácido N-benciloxicarbonil-DL-2-hidroxi-3-aminopro-
piónico se prepara por el procedimiento general descrito por
M. Fujino y colaboradores {Chem. Pharm. Bull. Japan, 22, 1857
(1974)}. Se hacen reaccionar 1,44 g de ácido N-bencilocar-
bonil-DL-2-hidroxi-3-aminopropiónico con 1,11 g de N-hidroxi-
5-norbornen-2,3-dicarboximida en presencia de una solución de
30 1,28 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida en 10 ml de tetrahi-
drofurano-dioxano (1:1 en volumen). La N,N'-díciclohexilurea

1 que se forma en el transcurso de la reacción anterior se re-
coge en un filtro y la solución del éster activo se introdu-
ce en un matraz que contiene 2,25 g de 1,2',6'-tri-N-bencil-
oxycarbonilfortimicina B (3). Después la mezcla resultante
5 se agita a la temperatura ambiente durante 2 días. Se recoge
una pequeña cantidad de N,N'-díciclohexilurea en un filtro
y el filtrado se evapora a presión reducida para dar un resi-
duo de 5,46 g. La sustancia se cromatografía en 270 g de gel
de sílice con benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amóni-
10 co concentrado (1174:34:136:10 en volumen). Las primeras frac-
ciones cromatográficas contienen 1,82 g del producto deseado
contaminado por una pequeña cantidad de una impureza menos
polar como indica la cromatografía en capa fina. La mezcla
se cromatografía de nuevo en 180 g de gel de sílice empleando
15 benceno-metanol (85:15 en volumen) como eluyente. Por evapora-
ción de las fracciones apropiadas se obtienen 1,08 g de la
tetra-N-benciloxycarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)
fortimicina B (38) deseada.

20 Se prepara una muestra analítica por cromatografía en
una columna de Sephadex LH-20. El producto obtenido es una
mezcla de los epímeros D y L como indican la cromatografía en
capa fina y el espectro de RMN: $[\alpha]_D^{23} + 42^\circ$ (c = 1,07, CH₃OH).
IR (CDCl₃): 1705, 1628, 1500 cm⁻¹.
25 RMN (CDCl₃) δ : 3,03 (C₄-NCH₃), 3,36, 3,31 (OCH₃), 5,0-
5,1 (Cbz-CH), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₅₀H₆₁N₅O₁₅:

Calculado : C, 61,78; H, 6,33; N, 7,20

Encontrado: C, 61,71; H, 6,58; N, 7,27.

30 Los epímeros pueden separarse por cromatografía en
una columna de Sephadex LH-20 empleando cloroformo-hexano (1:1

1 en volumen) como eluyente. De esta forma, pueden obtenerse
en forma pura la tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(D-2-hidroxi-
3-aminopropionil)fortimicina B así como la tetra-N-bencil-
oxicarbonil-4-N-(L-2-hidroxi-3-aminopropionil)fortimicina B.

5 EJEMPLO 15

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-leucilglicilfortimicina B (39)

Se prepara una solución del éster activo de N-hidro-
xi-5-norbornen-2,3-dicarboximida de la N-benciloxicarbonil-
L-leucilglicina siguiendo el procedimiento general de M.
10 Fujino y colaboradores {Chem.Pharm.Bull. Japan, 22, 1857
(1974)}. Se enfría en un baño de hielo una solución de 1,27 g
de N-benciloxicarbonil-leucilglicina y 0,72 g de N-hidroxi-
5-norbornen-2,3-dicarboximida en 5 ml de tetrahidrofurano y
se añaden 0,83 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida a la solu-
15 ción fría junto con 1 ml de tetrahidrofurano. La mezcla de
reacción se agita a baja temperatura durante 40 minutos y
después a la temperatura ambiente durante 2,5 horas. La N,N'-
díciclohexilurea formada durante la reacción se recoge en un
filtro y se lava tres veces con 1 ml de tetrahidrofurano ca-
20 da vez.

La solución del éster activo antes obtenida se deja
reaccionar con 1,50 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfor-
timicina B (3) durante 20 horas, agitando a la temperatura
ambiente. Por evaporación del disolvente se obtiene un resi-
25 duo de 3,59 g que se cromatografía en 280 g de gel de sílice
utilizando benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico
(1174:34:136:10 en volumen) como eluyente. Después de evapo-
rar el disolvente de las fracciones apropiadas, se obtiene
30 un total de 1,76 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-L-leucil-
glicilfortimicina B (39) pura.

1 Una parte del producto antes descrito se prepara para análisis por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20: $[\alpha]_D^{27} + 24^\circ$ (c = 1,08, CHCl₃).

IR (pastilla de KBr): 1710, 1636, 1500 cm⁻¹.

5 RMN (CDCl₃) δ : 0,92 (Leu-CH₃), 1,17 (C'₆-CH₃, J = 6,0), 2,82 (C₄-NCH₃), 3,30 (OCH₃), 5,0-5,1 (Cbz-CH₂), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₅₅H₇₀N₆O₁₅:

Calculado : C, 62,60; H, 6,69; N, 7,96

10 Encontrado: C, 62,31; H, 6,78; N, 7,93.

EJEMPLO 16

4-N-(N-t-Butiloxicarbonilglicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (40)

15 Se prepara el éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida de la N-t-butiloxicarbonilglicina siguiendo el procedimiento general de M. Fujino y colaboradores {Chem. Pharm. Bull. Japan, 22, 1857 (1974)}. En este caso, el éster activo se aísla y recristaliza en acetato de etilo-heptano, p.f. 126-128°.

20 Una solución preparada a partir de 3,01 g de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (3) y 3,03 g del éster activo preparado anteriormente en 10 ml de cloroformo se enfría inicialmente por inmersión en un baño de hielo. Después la mezcla se agita durante la noche a la temperatura ambiente. Por evaporación del disolvente queda un residuo de 6,84 g del producto copulante crudo que se purifica por cromatografía en 270 g de gel de sílice utilizando benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado (1174:34:136:10 en volumen) como eluyente. Las primeras fracciones cromatográficas
25
30 contienen 4-N-(N-t-butiloxicarbonilglicil)-1,2',6'-tri-N-ben-

1 ciloxicarbonilfortimicina B (40) contaminada con una pequeña
ñ cantidad de un compuesto sustituido superior más polar.
Por evaporación del disolvente se obtiene un residuo de
3,07 g de una mezcla. Después de evaporar el disolvente de
5 las últimas fracciones, se obtienen 0,49 g de 1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonilfortimicina B (3) que no ha reaccionado.
Cromatografiando repetidas veces la mezcla (3,07 g) que con-
tiene el producto deseado en gel de sílice con benceno-metanol
85:15 y después en Sephadex LH-20 utilizando etanol al
10 95 % como eluyente, se obtienen 1,07 g de 4-N-(N-t-butiloxi-
carbonil)glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B
(40): $[\alpha]_D^{26} + 36^\circ$ (c = 1,05, CHCl₃).

IR (disco de KBr): 1712, 1640, 1500 cm⁻¹.

15 RMN (CDCl₃) δ : 1,44 (t-butiloxi-CH₃), 2,82 (C₄-NCH₃),
3,30 (OCH₃), 5,0-5,1 (Cbz-CH₂), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₄₆H₆₁N₅O₁₄:

Calculado : C, 60,84; H, 6,77; N, 7,71

Encontrado: C, 60,52; H, 6,99; N, 7,66.

20 Las sustancias más polares antes mencionadas que con-
taminan al producto deseado en las primeras fracciones cromato-
gráficas son di-(4-N,5-0(o 2-0)-t-butiloxicarbonilglicil)-
1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B. Purificando
esta sustancia se obtiene una muestra analítica: $[\alpha]_D^{22} + 37^\circ$
25 (c = 1,01, CHCl₃).

IR (disco de KBr): 1710, 1648, 1505 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ : 4,9-5,1 (Cbz-CH₂), 7,1-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₅₃H₇₂N₆O₁₇:

Calculado : C, 59,76; H, 6,81; N, 7,89

Encontrado: C, 59,63; H, 7,04; N, 7,86.

1

EJEMPLO 17

Trifluoracetato de 4-N-glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-
fortimicina B (41)

5

10

15

Se agita a la temperatura ambiente durante 20 minutos una solución de 0,78 g de 4-N-(N-t-butiloxicarbonilglicil)-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (40) en 5 ml de cloruro de metileno y 5 ml de ácido trifluoracético. La solución se evapora a presión reducida y el residuo se disuelve de nuevo en 15 ml de cloruro de metileno y se evapora de la misma forma. Este último proceso se repite 6 veces. La sustancia parcialmente desprotegida se seca sobre lentejas de hidróxido potásico y pentóxido de fósforo bajo alto vacío durante varias horas. El residuo de 1,06 g de trifluoracetato de 4-N-glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (41) todavía contiene ácido trifluoracético adherido en exceso sobre el esperado para la sal.

EJEMPLO 18

Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)-
glicilfortimicina B (42)

20

25

30

Se prepara el éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido N-benciloxicarbonil-DL-2-hidroxi-4-aminobutírico por el procedimiento de M. Fujino y colaboradores {Chem. Pharm. Bull. Japan, 22, 1857 (1974)}. A una solución enfriada con hielo de 0,40 g de ácido N-benciloxicarbonil-DL-2-hidroxi-4-aminobutírico y 0,32 g de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida en 3 ml de tetrahidrofurano-dioxano (1:1 en volumen) se añaden, con agitación, 0,36 g de N,N'-diciclohexilcarbodiimida y 1 ml de la mezcla disolvente anterior. La solución se agita en frío durante 30 minutos y después a la temperatura ambiente durante 2 horas. La N,N'-diciclohexilurea

1 que se forma en la reacción anterior se recoge en un filtro y se lava tres veces con 1 ml cada vez de tetrahydrofurano-dioxano (1:1 en volumen).

5 El filtrado que contiene el éster activo se recoge en un matraz que contiene trifluoracetato de 4-N-glicil-1,2'-6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (41) y la mezcla de reacción se sumerge en un baño de hielo y sal. Después se añaden a la mezcla 0,56 ml de trietilamina para neutralizar el ácido trifluoroacético. La mezcla de reacción se agita durante la noche a la temperatura ambiente. Se añaden 0,3 ml adicionales de trietilamina y se continúa agitando a la temperatura ambiente durante 30 minutos. Una pequeña cantidad de sólidos se recoge en un filtro y se lava varias veces con pequeñas cantidades de tetrahydrofurano-dioxano (1:1 en volumen). Por evaporación del filtrado se obtiene un residuo de 2,37 g que se cromatografía en 180 g de gel de sílice con benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado (1174:34:136:10 en volumen) como eluyente para dar 0,35 g de producto. Esta sustancia se cromatografía de nuevo en una columna de Sephadex LH-20 en una solución etanólica al 95 %. La tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)glicilfortimicina B (42) tiene las siguientes constantes físicas: $[\alpha]_D^{25} + 29^\circ$ (c = 1,01, CHCl₃).

IR (disco de KBr): 1710, 1638, 1510 cm⁻¹.

25 RMN (CDCl₃) δ: 2,90, 2,99 (NCH₃), 3,32 (OCH₃), 5,0-5,1 (Cbz-CH₂), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para C₅₃H₆₆N₆O₁₆:

Calculado : C, 61,02; H, 6,38; N, 8,06

Encontrado: C, 60,80; H, 6,44; N, 8,02.

EJEMPLO 19

Tetra-N-benciloxicarbonilglicilglicilglicilfortimicina B(43)

El éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida de la N-benciloxicarbonilglicilglicina se prepara por el procedimiento de M. Fujino y colaboradores {Chem. Pharm. Bull. Japan, 22, 1857 (1974)}. A una solución enfriada con hielo de 0,38 g de N-benciloxicarbonilglicilglicina y 0,27 g de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida en 4 ml de N,N-dimetilformamida se añaden con agitación 0,31 g de N,N'-díciclohexilcarbodiimida y 1 ml de N,N-dimetilformamida. La mezcla se agita en frío durante una hora y a la temperatura ambiente durante 3 horas. La N,N'-díciclohexilurea se recoge en un filtro y se lava tres veces con 1 ml cada vez de N,N-dimetilformamida.

El filtrado que contiene el éster activo se recoge en un matraz que contiene el trifluoracetato de 4-N-glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (41) recién preparado a partir de 0,91 g de 4-N-(N-t-butiloxicarbonilglicil)-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B (40) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 17. La mezcla de reacción se enfría en un baño de hielo y a la solución fría se añaden 0,52 ml de trietilamina para neutralizar el ácido trifluoracético. La mezcla de reacción se agita a la temperatura ambiente durante la noche. Por evaporación del disolvente se obtiene un residuo de 2,04 g. La sustancia se purifica por cromatografía en 180 g de gel de sílice empleando benceno-metanol-etanol al 95 %-hidróxido amónico concentrado (1174:34:136:10 en volumen) como eluyente. Por evaporación de las fracciones cromatográficas apropiadas queda un residuo de 0,90 g de la tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-glicilglicilgli-

1 cilfortimicina B (43) deseada: $[\alpha]_D^{23} + 44^\circ$ (c = 1,01, CHCl₃)

IR (CDCl₃): 1705, 1670, 1505 cm⁻¹.

RMN (CDCl₃) δ : 2,95 (C₄-NCH₃), 3,33 (OCH₃), 5,0-5,1 (Cbz-CH₂), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

5 Análisis para C₅₃H₆₅N₇O₁₆:

Calculado : C, 60,27; H, 6,20; N, 9,28

Encontrado: C, 60,09; H, 6,22; N, 9,14

EJEMPLO 20

10 Tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)-
glicilfortimicina B (44)

15 A una solución agitada y enfriada con hielo de tri-
fluoracetato de 4-N-glicil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-
fortimicina B, preparada a partir de 0,82 g de 4-N-(N-t-butil-
oxicarbonilglicil)-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimici-
20 na B por el procedimiento descrito en el Ejemplo 17, y del
éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida, pre-
parado a partir de 0,32 g de ácido N-benciloxicarbonil-DL-2-
hidroxi-3-aminopropiónico como se ha descrito en el Ejemplo
25 14, en 7 ml de tetrahidrofurano-dioxano (1:1 en volumen) se
añaden 0,4 ml de trietilamina. La mezcla se agita en frío
durante 40 minutos y después durante la noche a la temperatura
ambiente. Se evapora el disolvente para dar un residuo de
2,16 g. El residuo se purifica por cromatografía en 180 g
de gel de sílice empleando benceno-metanol-etanol al 95 %-hi-
30 dróxido amónico concentrado (1174:34:136:10 en volumen) como
eluyente. La evaporación de las fracciones apropiadas conduce
al aislamiento de 0,83 g de producto. Este último se cromato-
grafía en una columna de Sephadex LH-20 empleando etanol al
95 % como eluyente. Se obtiene un total de 0,74 g de tetra-N-
benciloxicarbonil-4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)glicil-

1 fortimicina B (44) pura. Una muestra analítica presenta las siguientes constantes físicas: $[\alpha]_D^{23} + 32^\circ$ ($c = 1,00$, CHCl_3).

IR (CDCl_3): 1705, 1636, 1503 cm^{-1} .

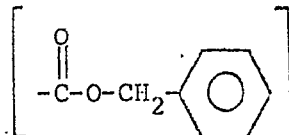
5 RMN (CDCl_3) δ : 2,90, 2,96 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,31 (OCH_3), 5,0-5,1 (Cbz-CH_2), 7,2-7,4 (Cbz-Arom.).

Análisis para $\text{C}_{52}\text{H}_{64}\text{N}_6\text{O}_{16}$:

Calculado : C, 60,68; H, 6,27; N, 8,17

Encontrado: C, 60,86; H, 6,47; N, 8,20.

10 El procedimiento para separar los grupos benciloxi-carbonilo protegidos



15 de los derivados per-N-benciloxicarbonílicos, es el ilustrado en el Ejemplo 21 dado a continuación por conversión de la tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-sarcosilfortimicina B (30) en 4-N-sarcosilfortimicina B (13) que se aísla en forma de tetrahidrocloruro.

20 EJEMPLO 21

4-N-Sarcosilfortimicina B (13)

25 Durante 4 horas, bajo 3 atmósferas de hidrógeno y en presencia de 0,800 g de paladio al 5 % en carbón, se hidrogenolizan 0,840 g de tetra-N-benciloxicarbonil-4-N-sarcosilfortimicina B (30) en 150 ml de ácido clorhídrico 0,2N en metanol (la solución de ácido clorhídrico 0,2N se prepara diluyendo 16,8 ml de ácido clorhídrico concentrado hasta 1000 ml con metanol). Se separa el catalizador por filtra-
30 ción y el metanol se evapora a presión reducida. El agua residual y el exceso de ácidos se separan por codestilación con metanol a presión reducida para dar 0,512 g de 4-N-sarco-

1 silfortimicina B (13) en forma de tetrahidrocloruro: $[\alpha]_D^{20} + 81,3^\circ$ ($c = 1,0$, CH_3OH).

IR (disco de KBr): 1640 cm^{-1}

5 RMN (D_2O) δ : 1,84 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,6$), 3,32 ($\text{COCH}_2\text{NCH}_3$), 3,62 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,99 (OCH_3), 5,82 (H'_1 , $J = 3,2$).

Espectro de masas: M^+ : Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6$:
419,2744; Observado: 419,2732.

EJEMPLOS 22-37

10 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 21 anterior y utilizando los intermediarios protegidos con N-benciloxi-carbonilo apropiados (26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 39, 42, 37, 43, 44, 38), respectivamente, antes descritos, se preparan los siguientes perhidrocloruros:

- 15 (9) tetrahidrocloruro de fortimicina A
(10) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)-fortimicina B
(11) trihidrocloruro de 4-N-acetilfortimicina B
(12) tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilfortimicina B
20 (14) tetrahidrocloruro de 4-N-L-fenilalanilglicilfortimicina B
(15) tetrahidrocloruro de 4-N-(N,N-dimetilglicil)fortimicina B
(16) tetrahidrocloruro de 4-N- β -alanilfortimicina B
(17) tetrahidrocloruro de 4-N-D-alanilfortimicina B
25 (18) tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilfortimicina B
(19) tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilglicilfortimicina B
(20) tetrahidrocloruro de 4-N-L-leucilglicilfortimicina B
(21) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)glicilfortimicina B
30 (22) pentahidrocloruro de 4-N-histidilfortimicina B

- 1 (23) tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilglicilfortimicina B
- (24) tetrahidrocloruro de 4-N- (DL-2-hidroxi-3-aminopropionil) glicilfortimicina B y
- 5 (25) tetrahidrocloruro de 4-N- (DL-2-hidroxi-3-aminopropionil) fortimicina B.

Los datos físicos característicos de este compuesto se encuentran en la Tabla I.

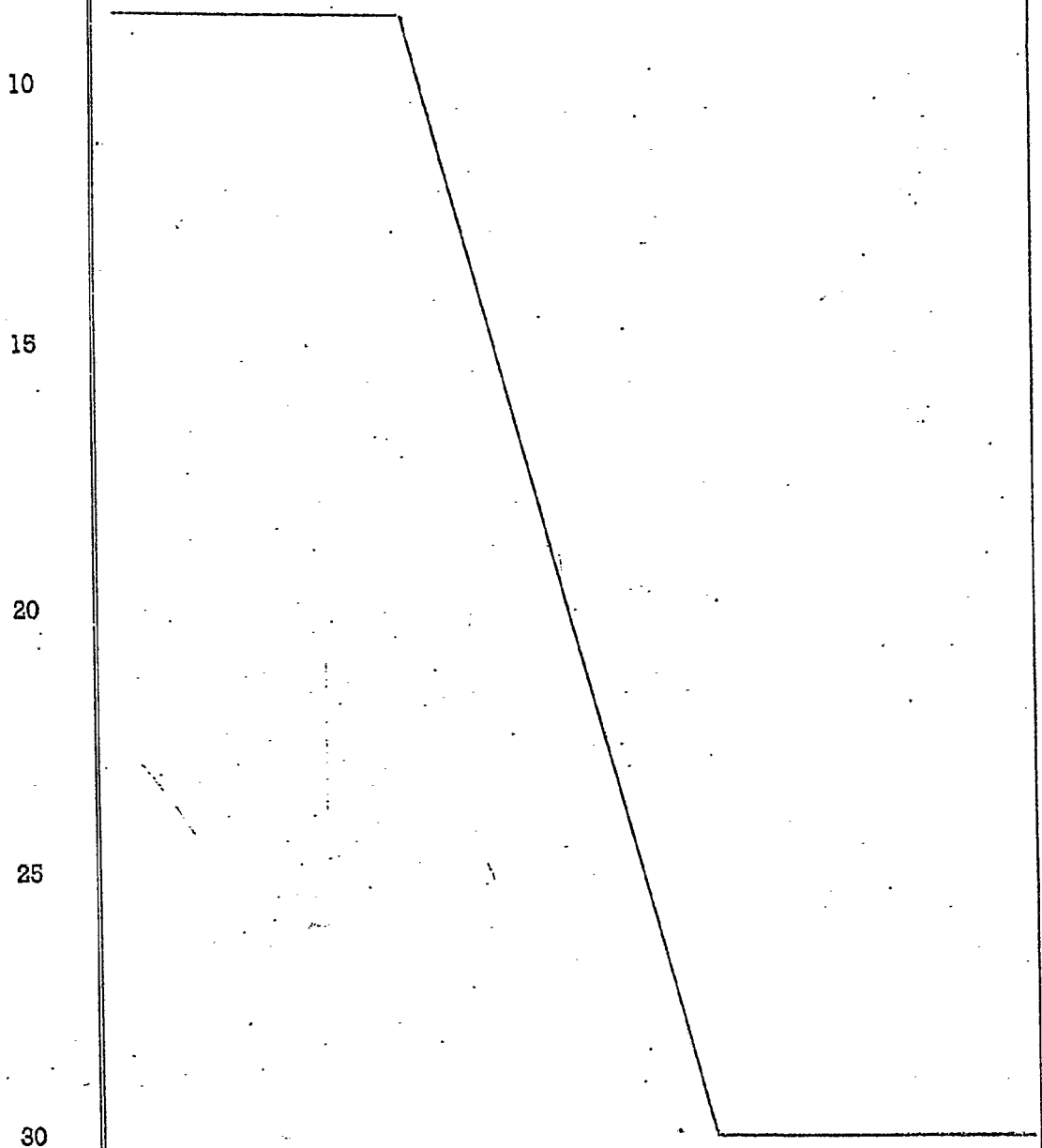


TABLA I

Compuesto	Rotación (Metanol)	IR (cm ⁻¹)	Espectro de masas (a)	RMN (b) D ₂ O, δ
9	$[\alpha]_D^{23} + 82,3^\circ (c = 1,0)$	1643	M ⁺ Calculado: 405,2587 Medido: 405,2617	1,79 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 7,0), 3,57 (C ₄ -NCH ₃), 3,93 (OCH ₃), 5,76 (H ¹ ₁ , J = 3,2)
10	-	1600	M ⁺ -H ₂ O Calculado: 431,2744 Medido: 431,2762	1,80 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,5), 3,32, 3,54 (C ₄ -NCH ₃), 3,94, 4,00 (OCH ₃), 5,78, 5,93 (H ¹ ₁ , J = 3,8, J = 3,6)
11	$[\alpha]_D^{25} + 87,2^\circ (c = 1,04)$	1600	M ⁺ Calculado: 391,2556 Medido: 391,2553	1,80 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,9), 2,62 (COCH ₃), 3,61 (C ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H ¹ ₁ , J = 3,2)
12	$[\alpha]_D^{25} + 70,5^\circ (c = 1,02)$	1678	M ⁺ Calculado: 444,2676 Medido: 444,2699	1,81 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,4), 3,62 (C ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,79 (H ¹ ₁ , J = 3,5)
14	$[\alpha]_D^{25} + 76,0^\circ (c = 1,06)$	1674	M ⁺ Calculado: 553,3350 Medido: 553,3329	1,80 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,8), 3,59 (C ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H ¹ ₁ , J = 3,5), 7,85 (multiplete)
15	$[\alpha]_D^{25} + 79,3^\circ (c = 1,0)$	1640	M ⁺ Calculado: 433,2900 Medido: 433,2903	1,81 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,4), 3,44, 3,47 (N(CH ₃) ₂), 3,56 (C ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,80 (H ¹ ₁ , J = 3,0)
16	$[\alpha]_D^{23} + 61,3^\circ (c = 1,0)$	1610	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido: 419,2727	1,81 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 6,9), 3,61 (C ₄ -NCH ₃), 3,96 (OCH ₃), 5,79 (H ¹ ₁ , J = 3,0)
17	$[\alpha]_D^{20} + 83,2^\circ (c = 1,0)$	1632	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido: 419,2723	1,81 (C ¹ ₆ -CH ₃ , J = 7,0), 2,01 (COHNH ₂ CH ₃ , J = 6,9), 3,69 (C ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H ¹ ₁ , J = 3,7)
18	$[\alpha]_D^{20} + 85,2^\circ (c = 1,02)$	1640	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido: 419,2723	1,81 (C ¹ ₅ -CH ₃ , J = 7,0), 1,97 (CO-CH ₂ -CH ₃ , J = 7,0), 3,69 (C ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,80 (H ¹ ₁ , J = 3,8)

1

	Compuesto	Rotación (Metanol)	IR (cm^{-1})	Espectro d
5	9	$[\alpha]_D^{23} + 82,3^\circ (c = 1,0)$	1643	M^+ Calculado Medido
	10	-	1600	$M^+ - H_2O$ Calculado Medido
10	11	$[\alpha]_D^{25} + 87,2^\circ (c = 1,04)$	1600	M^+ Calculado Medido
	12	$[\alpha]_D^{25} + 70,5^\circ (c = 1,02)$	1678	M^+ Calculado Medido
15	14	$[\alpha]_D^{25} + 76,0^\circ (c = 1,06)$	1674	M^+ Calculado Medido
	15	$[\alpha]_D^{25} + 79,3^\circ (c = 1,0)$	1640	M^+ Calculado Medido
20	16	$[\alpha]_D^{23} + 61,3^\circ (c = 1,0)$	1610	M^+ Calculado Medido
	17	$[\alpha]_D^{20} + 83,2^\circ (c = 1,0)$	1632	M^+ Calculado Medido
25	18	$[\alpha]_D^{20} + 85,2^\circ (c = 1,02)$	1640	M^+ Calculado Medido

50

TABLA I

sol)	IR (cm ⁻¹)	Espectro de masas (a)	RMN (b) D ₂ O, δ
= 1,0)	1643	M ⁺ Calculado : 405,2587 Medido : 405,2617	1,79 (C' ₆ -CH ₃ , J = 7,0), 3,57 (C' ₄ -NCH ₃), 3,93 (OCH ₃), 5,76 (H' ₁ , J = 3,2)
	1600	M ⁺ -H ₂ O Calculado: 431,2744 Medido : 431,2762	1,80 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,5), 3,32, 3,64 (C' ₄ -NCH ₃), 3,94, 4,00 (OCH ₃), 5,78, 5,93 (H' ₁ , J = 3,8, J = 3,6)
= 1,04)	1600	M ⁺ Calculado: 391,2556 Medido : 391,2553	1,80 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,9), 2,62 (COCH ₃), 3,61 (C' ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H' ₁ , J = 3,2)
1,02)	1678	M ⁺ Calculado: 444,2676 Medido : 444,2699	1,81 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,4), 3,62 (C' ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,79 (H' ₁ , J = 3,5)
= 1,06)	1674	M ⁺ Calculado: 553,3350 Medido : 553,3329	1,80 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,8), 3,59 (C' ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H' ₁ , J = 3,5), 7,85 (multiplete)
= 1,0)	1640	M ⁺ Calculado: 433,2900 Medido : 433,2903	1,81 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,4), 3,44, 3,47 {N(CH ₃) ₂ }, 3,56 (C' ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,80 (H' ₁ , J = 3,0)
= 1,0)	1610	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido : 419,2727	1,81 (C' ₆ -CH ₃ , J = 6,9), 3,61 (C' ₄ -NCH ₃), 3,96 (OCH ₃), 5,79 (H' ₁ , J = 3,0)
= 1,0)	1632	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido : 419,2723	1,81 (C' ₆ -CH ₃ , J = 7,0), 2,01 (COCHNH ₂ CH ₃ , J = 6,9), 3,69 (C' ₄ -NCH ₃), 3,94 (OCH ₃), 5,77 (H' ₁ , J = 3,7)
= 1,02)	1640	M ⁺ Calculado: 419,2744 Medido : 419,2723	1,81 (C' ₆ -CH ₃ , J = 7,0), 1,97 (CO-CHNH ₂ CH ₃ , J = 7,0), 3,69 (C' ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,80 (H' ₁ , J = 3,8)

TABLA I (continuación)

Compuesto	Rotación (Metanol)	IR (cm ⁻¹)	Espectro de masas (a)	RMN (b) D ₂ O, δ
19	[α] _D ²⁵ + 76,9° (c = 1,0)	1674	M ⁺ Calculado: 476,2958 Medido : 476,2951	1,81 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 2,04 (CO-CHNH ₂ CH ₃ , J = 7,2), 3,63 (C ₄ -NCH ₃), 3,95 (OCH ₃), 5,78 (H ¹ , J = 3,2)
20	[α] _D ²⁶ + 62° (c = 1,00)	1670, 1630, 1487	M ⁺ Calculado: 518,3428 Medido : 518,3454	1,45 (Leu-CH ₃ , J = 5,0), 1,81 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,63 (C ₄ -NCH ₃), 3,96 (OCH ₃), 5,79 (H ¹ , J = 3,5)
21	[α] _D ²⁴ + 58° (c = 1,01)	1625, 1485	M ⁺ - 3H ₂ O Calculado: 452,2747 Medido : 452,2357	1,82 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,65 (C ₄ -NCH ₃), 3,97 (OCH ₃), 5,80 (H ¹ , J = 3,5)
22	[α] _D ²⁵ + 87° (c = 0,96)	1640, 1590, 1490	M ⁺ - H ₂ O Calculado: 467,2856 Medido : 467,2869	1,81 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,61 (C ₄ -NCH ₃), 3,92 (OCH ₃), 5,79 (H ¹ , J = 3,5), 7,96 (His H-5, J = 1,5), 9,22 (His H-2, J = 1,5)
23	[α] _D ²⁵ + 50° (c = 1,05)	1635, 1485	M ⁺ - OH Calculado: 502,2989 Medido : 502,2973	1,74 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,56 (C ₄ -NCH ₃), 3,89 (OCH ₃), 5,81 (H ¹ , J = 3,5)
24	[α] _D ²⁶ + 68° (c = 1,00)	1628, 1485	M ⁺ Calculado: 492,2907 Medido : 492,2921	1,82 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,65 (C ₄ -NCH ₃), 3,97 (OCH ₃), 5,78 (H ¹ , J = 3,5)
25	[α] _D ²⁷ + 78° (c = 1,04)	1625, 1487	M ⁺ - H ₂ O - NH ₃ Calculado: 400,2322 Medido : 400,2330	1,83 (C ⁶ -CH ₃ , J = 6,5), 3,75 (C ₄ -NCH ₃), 3,99 (OCH ₃), 5,82 (H ¹ , J = 3,5)

(a) El espectro de masas de las sales HCl de los análogos de fortimicina aparecen como los de las bases libres de bido a la disociación térmica a bases libres antes de la volatilización en el espectrómetro de masas.

(b) Los espectros de RMN a 100 MHz se determinaron en solución en D₂O utilizando TMS como patrón externo. Para convertir los desplazamientos químicos registrados en la escala TSP interna: TMS externo = TSP interno + 0,42 ppm.

1

5

10

15

20

25

30

Compuesto	Rotación (Metanol)	IR (cm ⁻¹)	Esp
19	$[\alpha]_D^{25} + 76,9^\circ$ (c = 1,0)	1674	M C M
20	$[\alpha]_D^{26} + 62^\circ$ (c = 1,00)	1670, 1630, 1487	M C M
21	$[\alpha]_D^{24} + 58^\circ$ (c = 1,01)	1625, 1485	M C M
22	$[\alpha]_D^{25} + 87^\circ$ (c = 0,96)	1640, 1590, 1490	M C M
23	$[\alpha]_D^{25} + 58^\circ$ (c = 1,05)	1635, 1485	M C M
24	$[\alpha]_D^{26} + 68^\circ$ (c = 1,00)	1628, 1485	M C M
25	$[\alpha]_D^{27} + 78^\circ$ (c = 1,04)	1625, 1487	M C M

- (a) El espectro de masas de las sales HCl de los a bido a la disociación térmica a bases libres a
- (b) Los espectros de RMN a 100 MHz se determinaron convertir los desplazamientos químicos registr 0,42 ppm.

TABLA I (continuación)

mol)	IR (cm^{-1})	Espectro de masas (a)	RMN (b) $\text{D}_2\text{O}, \delta$
= 1,0)	1674	M^+ Calculado: 476,2958 Medido : 476,2951	1,81 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 2,04 ($\text{CO-CHNH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,2$), 3,63 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,95 (OCH_3), 5,78 (H'_1 , $J = 3,2$)
= 1,00)	1670, 1630, 1487	M^+ Calculado: 518,3428 Medido : 518,3454	1,45 (Leu-CH_3 , $J = 5,0$), 1,81 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,63 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,96 (OCH_3), 5,79 (H'_1 , $J = 3,5$)
= 1,01)	1625, 1485	$\text{M}^+ - 3\text{H}_2\text{O}$ Calculado: 452,2747 Medido : 452,2757	1,82 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,65 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,97 (OCH_3), 5,80 (H'_1 , $J = 3,5$)
= 0,96)	1640, 1590, 1490	$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ Calculado: 467,2856 Medido : 467,2869	1,81 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,61 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,92 (OCH_3), 5,79 (H'_1 , $J = 3,5$), 7,96 (His H-5, $J = 1,5$), 9,22 (His H-2, $J = 1,5$)
= 1,05)	1635, 1485	$\text{M}^+ - \text{OH}$ Calculado: 502,2989 Medido : 502,2973	1,74 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,56 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,89 (OCH_3), 5,81 (H'_1 , $J = 3,5$)
= 1,00)	1628, 1485	M^+ Calculado: 492,2907 Medido : 492,2921	1,82 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,65 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,97 (OCH_3), 5,78 (H'_1 , $J = 3,5$)
= 1,04)	1625, 1487	$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{NH}_3$ Calculado: 400,2322 Medido : 400,2330	1,83 ($\text{C}'_6\text{-CH}_3$, $J = 6,5$), 3,75 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,99 (OCH_3), 5,82 (H'_1 , $J = 3,5$)

las sales HCl de los análogos de fortimicina aparecen como los de las bases libres de rmicina a bases libres antes de la volatilización en el espectrómetro de masas.

00 MHz se determinaron en solución en D_2O utilizando TMS como patrón externo. Para entos químicos registrados en la escala TSP interna: TMS externo = TSP interno +

EJEMPLOS 38-53

Actividades antibióticas in vitro de los derivados de 4-N-acilfortimicina B

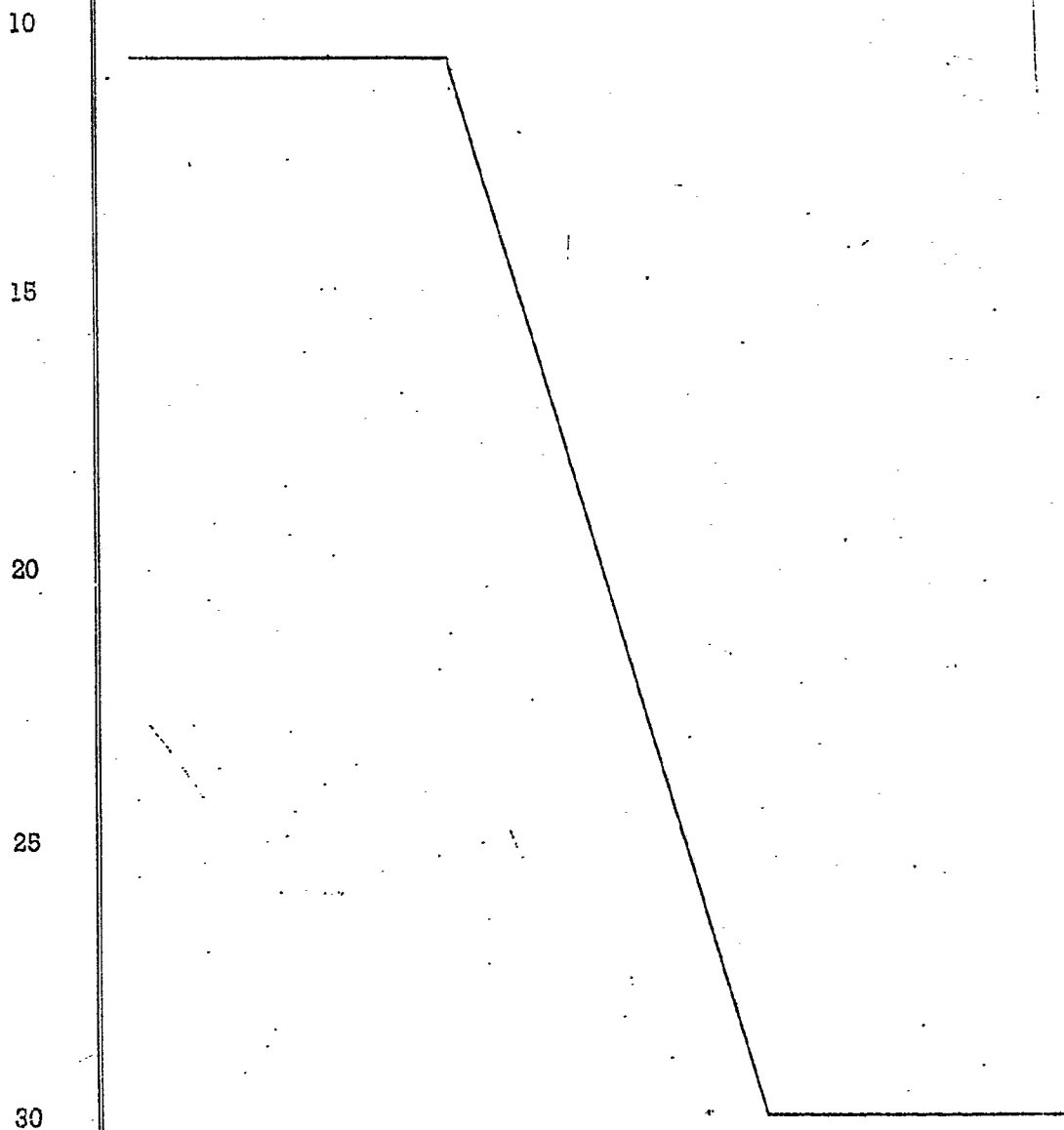
Las actividades antibióticas in vitro de los siguientes derivados de fortimicina B:

- (10) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)-fortimicina B
- (11) trihidrocloruro de 4-N-acetilfortimicina B
- (12) tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilfortimicina B
- (13) tetrahidrocloruro de 4-N-sarcosilfortimicina B
- (14) tetrahidrocloruro de 4-N-L-fenilalanilglicilfortimicina B
- (15) tetrahidrocloruro de 4-N-(N,N-dimetilglicil)fortimicina B
- (16) tetrahidrocloruro de 4-N-β-alanilfortimicina B
- (17) tetrahidrocloruro de 4-N-D-alanilfortimicina B
- (18) tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilfortimicina B
- (19) tetrahidrocloruro de 4-N-L-alanilglicilfortimicina B
- (20) tetrahidrocloruro de 4-N-L-leucilglicilfortimicina B
- (21) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-4-aminobutiril)-glicilfortimicina B
- (22) pentahidrocloruro de 4-N-L-histidilfortimicina B
- (23) tetrahidrocloruro de 4-N-glicilglicilglicilfortimicina B
- (24) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)glicilfortimicina B y
- (25) tetrahidrocloruro de 4-N-(DL-2-hidroxi-3-aminopropionil)fortimicina B

están indicadas en la siguiente Tabla II.

Las actividades antibióticas in vitro fueron deter-

1 minadas mediante un método de dilución al doble en agar,
utilizando agar Mueller-Hinton, a razón de 10 ml por cada
placa Petri. El agar fué inoculado con un aro (aro de
0,001 ml) de una dilución 1:10 de un caldo de cultivo de
5 24 horas del organismo de ensayo indicado e incubado a 37°C
durante 24 horas. Como antibiótico de control se utilizó el
disulfato de fortimicina A. Las actividades se encuentran
en la Tabla II. Las concentraciones mínimas de inhibición
10 (CMI) están expresadas en mcg/ml.



1

Actividad antibiótica in vitro

	Compuesto n°		
	<u>Organismo n°</u>	Fortimicina	
		A	10
5	1	0,78	100
	2	50	>100
	3	1,56	>100
	4	3,1	>100
	5	12,5	>100
10	6	1,56	>100
	7	6,2	>100
	8	1,56	>100
	9	0,78	50
	10	6,2	>100
15	11	25	>100
	12	>100	>100
	13	1,56	100
	14	1,56	100
	15	6,2	>100
20	16	25	>100
	17	3,1	>100
	18	6,2	>100
	Compuesto n°		
	<u>Organismo n°*</u>	17	18
25	1	12,5	12,5
	2	>100	>100
	3	100	25
	4	100	25
	5	>100	50
30	6	>100	50

TABLA II

ad antibiótica in vitro de los derivados de 4-N-acilfortimicina

Fortimicina A	10	11	12	13	14	15	16	
0,78	100	>100	12,5	3,1	>100	12,5	3,1	
50	>100	>100	>100	100	>100	>100	100	
1,56	>100	>100	25	6,2	>100	>100	6,2	
3,1	>100	>100	25	6,2	100	25	6,2	
12,5	>100	>100	50	25	>100	>100	25	
1,56	>100	>100	25	6,2	>100	>100	6,2	
6,2	>100	>100	50	25	>100	>100	25	
1,56	>100	>100	50	25	>100	>100	25	
0,78	50	>100	1,56	0,78	3,1	6,2	0,78	
6,2	>100	>100	50	25	>100	>100	25	
25	>100	>100	>100	50	>100	>100	50	
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	
1,56	100	>100	3,1	3,1	>100	25	1,56	
1,56	100	>100	6,2	3,1	100	25	1,56	
6,2	>100	>100	25	6,2	50	50	6,2	
25	>100	>100	100	100	>100	>100	100	
3,1	>100	>100	25	6,2	>100	50	12,5	
6,2	>100	>100	50	12,5	>100	>100	12,5	
17	18	19	20	21	22	23	24	25
12,5	12,5	50	6,2	6,2	50	6,2	3,1	25
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
100	25	12,5	50	25	>100	25	25	50
100	25	25	12,5	25	>100	50	25	50
>100	50	>100	25	100	>100	100	100	>100
>100	50	50	50	25	>100	50	25	50

TABLE II (continuación)

Compuesto n°	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Organismo n°*									
7	>100	>100	>100	50	100	>100	>100	100	>100
8	>100	50	12,5	>100	100	>100	25	25	100
9	100	1,56	1,56	1,50	6,2	50	3,1	3,1	6,2
10	100	50	50	100	100	>100	100	>100	>100
11	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13	50	25	6,2	12,5	12,5	>100	12,5	12,5	25
14	25	6,2	6,2	12,5	12,5	>100	25	12,5	25
15	50	12,5	12,5	25	50	>100	100	50	50
16	>100	>100	50	100	>100	>100	>100	>100	>100
17	100	12,5	12,5	50	50	>100	50	25	50
18	50	25	25	>100	>100	>100	>100	50	50

1

5

10

15

20

25

30

1	Compuesto n°			TAF	
	Organismo n°*	17	18		19
	7	>100	>100	>100	5
5	8	>100	50	12,5	>10
	9	100	1,56	1,56	
	10	100	50	50	10
	11	>100	>100	100	>10
	12	>100	>100	>100	>10
10	13	50	25	6,2	1
	14	25	6,2	6,2	1
	15	50	12,5	12,5	2
	16	>100	>100	50	10
	17	100	12,5	12,5	5
15	18	50	25	25	>10

20

25

30

TABLA II (continuación)

17	18	19	20	21	22	23	24	25
100	>100	>100	50	100	>100	>100	100	>100
100	50	12,5	>100	100	>100	25	25	100
100	1,56	1,56	1,56	6,2	50	3,1	3,1	6,2
100	50	50	100	100	>100	100	>100	>100
100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
50	25	6,2	12,5	12,5	>100	12,5	12,5	25
25	6,2	6,2	12,5	12,5	>100	25	12,5	25
50	12,5	12,5	25	50	>100	100	50	50
100	>100	50	100	>100	>100	>100	>100	>100
100	12,5	12,5	50	50	>100	50	25	50
50	25	25	>100	>100	>100	>100	50	50

*Nombres del organismo

- 1
- N° 1 Staphylococcus aureus Smith
- N° 2 Streptococcus faecalis 10541
- N° 3 Enterobacter aerogenes 13048
- 5 N° 4 Escherichia coli Juhl
- N° 5 Escherichia coli BL3676 (Resistente)
- N° 6 Klebsiella pneumoniae 10031
- N° 7 Klebsiella pneumoniae KY 4262
- N° 8 Providencia 1577
- 10 N° 9 Pseudomonas aeruginosa MBH #10
- N°10 Pseudomonas aeruginosa KY 8512
- N°11 Pseudomonas aeruginosa KY 8516
- N°12 Pseudomonas aeruginosa 209
- 15 N°13 Salmonella typhimurium Ed. #9
- N°14 Serratia marcescens 4003
- N°15 Shigella sonnei 9290
- N°16 Proteus rettgeri U 6333
- N°17 Proteus vulgaris Abbott JJ
- 20 N°18 Proteus mirabilis Fin. #9

Esta invención incluye dentro de sus límites las composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, por lo menos uno de los compuestos de la invención que presentan actividad antimicrobiana, en asociación con el vehículo o diluyente farmacéutico. Los compuestos de esta invención pueden ser administrados por vías de administración oral o parenteral, es decir, intramuscular, intravenosa o subcutánea o por administración rectal y pueden ser formulados en dosis adecuadas para cada vía de administración.

25

30

1

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen las cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y gránulos. En estas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla por lo menos con un diluyente inerte como sacarosa, lactosa o almidón. Estas formas de dosificación también pueden contener, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, v.g. agentes lubricantes como estearato magnésico. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación también pueden contener agentes reguladores del pH. Las tabletas y píldoras pueden prepararse adicionalmente con recubrimientos entéricos.

5

10

15

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen las emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, conteniendo los diluyentes inertes comúnmente utilizados en este campo, como el agua. Además de los diluyentes inertes, estas composiciones también pueden contener coadyuvantes como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores y agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

20

25

30

Los preparados de acuerdo con esta invención para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas, estériles. Son ejemplos de disolventes o vehículos no acuosos el propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales como el aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables como el oleato de etilo. Estas formas de dosificación también pueden contener coadyuvantes como agentes preservantes, humectantes, emulgentes y dispersantes. Pueden ser esterilizadas, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retenga las bacterias, por in-

1 corporación de agentes esterilizantes a las composiciones,
por irradiación de las mismas o por calefacción. También pue-
den fabricarse en forma de composiciones sólidas estériles
que pueden disolverse en agua estéril o en algún otro medio
5 inyectable estéril inmediatamente antes de su uso.

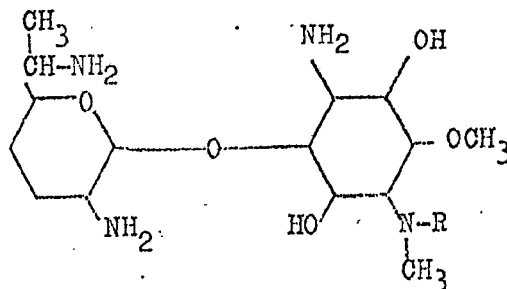
Las composiciones para administración rectal son
preferiblemente supositorios que, además de la sustancia
activa, pueden contener excipientes como manteca de cacao o
una cera para supositorios.

10 La dosis de ingredientes activos en las composicio-
nes de esta invención puede ser variada; sin embargo, es ne-
cesario que la cantidad de ingredientes activos sea tal que
se obtenga una dosis adecuada. La dosis seleccionada depen-
de del efecto terapéutico deseado, de la vía de administra-
15 ción y de la duración del tratamiento.

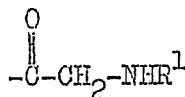
En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de un derivado de
20 4-N-acilfortimicina B de la siguiente estructura:



25 donde R es acilo, aminoacilo, N-monoalquil(inferior)aminoacilo,
N,N-dialquil(inferior)aminoacilo, hidroxil-aminoacilo susti-
tuido o aminoacilo sustituido de fórmula:



1 donde R¹ es un radical acilo derivado de un aminoácido o de
un péptido corto y sus sales farmacéuticamente aceptables,
cuyo procedimiento comprende:

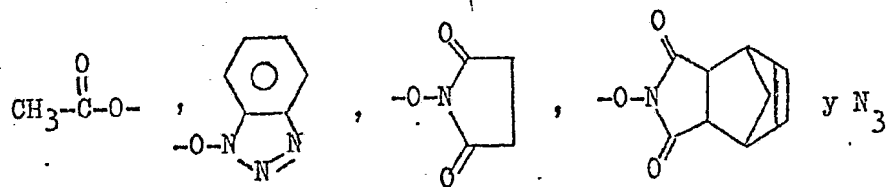
5 a) someter a reacción acilación la fortimicina B con
N-(benciloxicarboniloxi)succinimida, cloruro de benciloxicarbo-
nilo: ú O-(benciloxicarbonil)-p-nitrofenol en un disolvente
seleccionado entre el grupo formado por metanol, metanol-
agua, tetrahidrofurano-agua y dioxano-agua, a una temperatu-
ra comprendida entre -10° y 25° C, durante 12 a 48 horas
10 para dar 1,2', 6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B,

b) someter a reacción acilación dicha 1, 2; 6'-tri-
N-benciloxicarbonilfortimicina B con un reactivo de fórmula



15 donde R⁴ es un grupo acilo, N,N-dialquil(inferior)aminoacilo
o un grupo acilo derivado de un aminoácido protegido con
N-benciloxicarbonilo o de un péptido corto e Y es un grupo
activante seleccionado entre el grupo formado por:

20



25

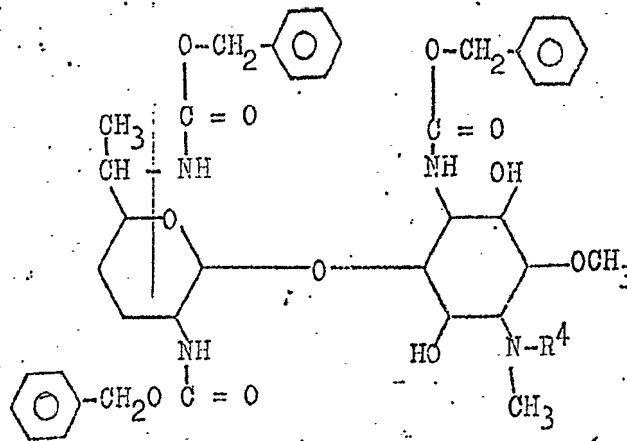
en un disolvente selccionado entre el grupo formado por te-
trahidrofurano, dioxano, cloroformo o N,N-dimetilformamida,
a una temperatura comprendida entre -10° y 25° C, en pre-
sencia de trietilamina o de tri-n-butilamina, durante 15 a
48 horas, para dar 4-N-acil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfor-
timicina B de fórmula:

30

1

5

10



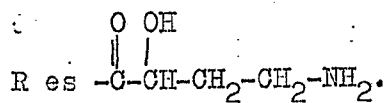
donde R⁴ es el definido anteriormente y

15

c) someter a reacción de hidrogenolisis dichos grupos benciloxicarbonilo de la 4-N-acil-1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilfortimicina B en ácido clorhídrico metanólico 0,1-0,6N, en presencia de un catalizador de paladio al 2-10 % en carbón, bajo 1 a 10 atmósferas de hidrógeno gaseoso y a una temperatura comprendida entre 100 y 250 C, para formar el derivado de 4-N-acilfortimicina B deseado.

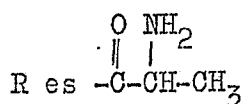
20

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



(DL)

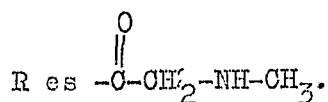
25



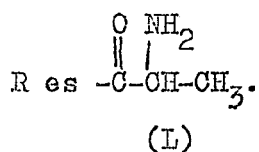
(D)

30

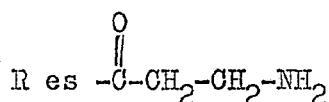
4. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



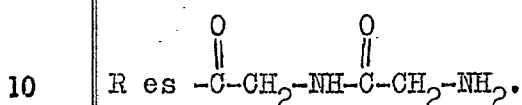
1 5. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



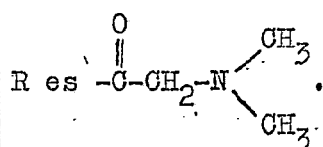
5 6. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



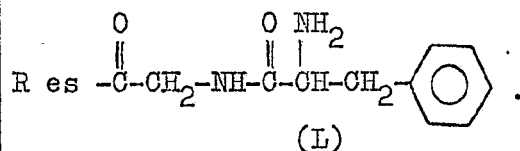
7. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



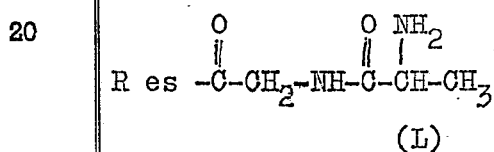
8. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



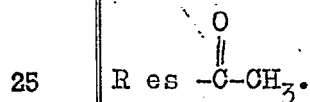
15 9. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



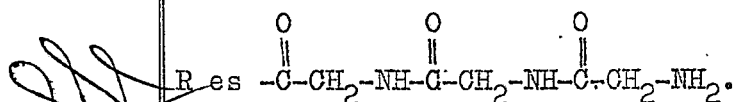
10. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



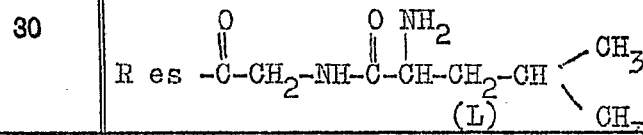
11. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



12. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

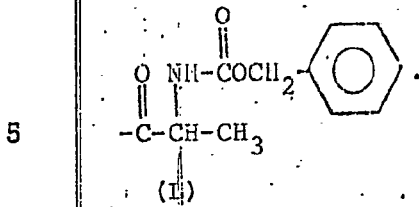


13. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

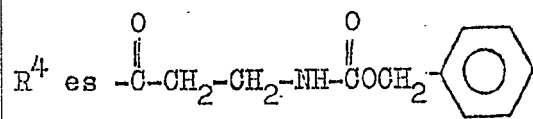


1 21. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

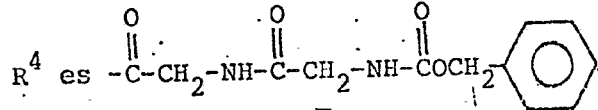
R⁴ es



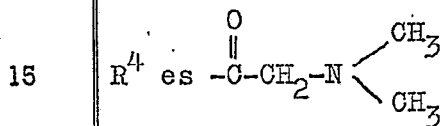
22. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



23. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

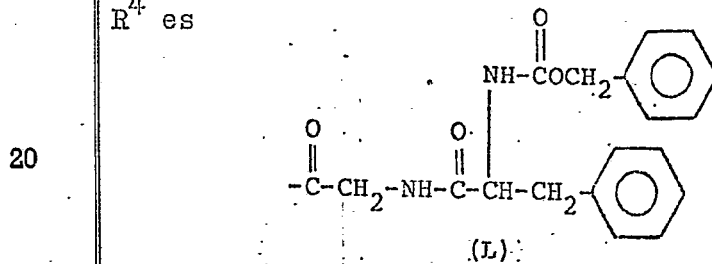


24. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



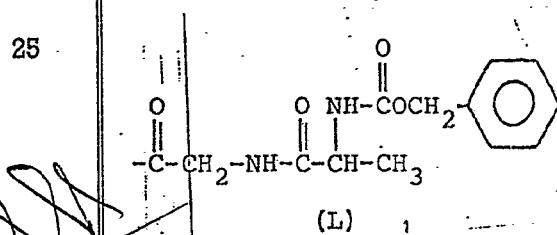
25. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

R⁴ es



26. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

R⁴ es

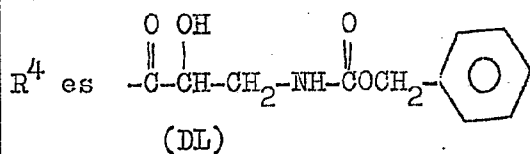


30

27. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde

1

34. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde



5

35. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el producto obtenido en la etapa a) es 1, 2', 6'-Tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B.

10

36. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde en la etapa a) la 1, 2', 6'-tri-N-benciloxycarbonilfortimicina B se prepara por reacción de fortimicina B con N-(benciloxycarboniloxi)succinimida en una solución hidrometanólica, a una temperatura de 0° C durante 3 horas y después a la temperatura ambiente durante 22 horas.

15

37. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE DERIVADOS DE 4-N-ACILFORTIMICINA B.

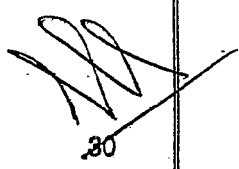
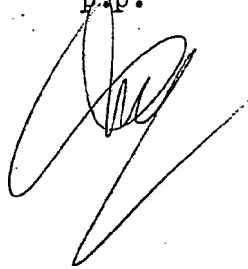
20

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de sesenta páginas mecanografiadas.

25

Madrid, 22 de septiembre de 1.977
BERNARDO UNGRIA

D.P.



30