

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

(10) ES	(11) NUMERO	(16) A1
	469.304	
	(12) FECHA DE PRESENTACION	
	28-4-78	

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

PATENTE DE INVENCION

A1 469.304 790916 C 07 H 50/60

(30) PRIORIDADES:	(32) FECHA	(33) PAIS
(31) NUMERO	28-4-77	Estados Unidos
NO REGISTRADA ESTA PRIORIDAD	20-3-78	NO REGISTRADA ESTA PRIORIDAD

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(69) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07H; A61K	

(2) TITULO DE LA INVENCION
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE ANTIBIOTICOS DE 1-N-(ω -AMINO- α -HIDROXIALCANOIL) AMINOGLICOSIDO.

(71) SOLICITANTE (S)
BRISTOL-MYERS COMPANY.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
345 Park Avenue- New York 10022. ESTADOS UNIDOS.

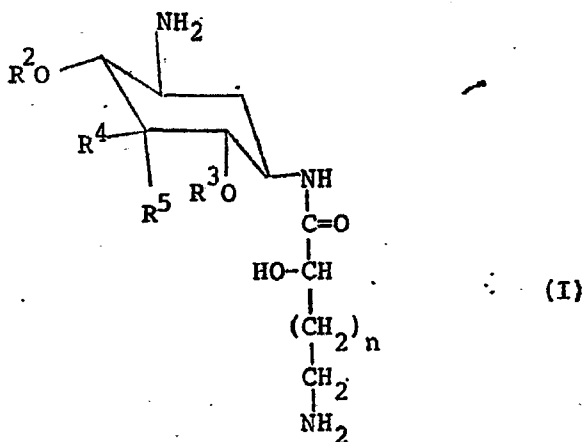
(72) INVENTOR (ES)
Martin John Cron; John Gerard Keil; Jeng Shyong Lin; Mariano Vecchio Ruggeri y Derek Walker.

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE
D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU.

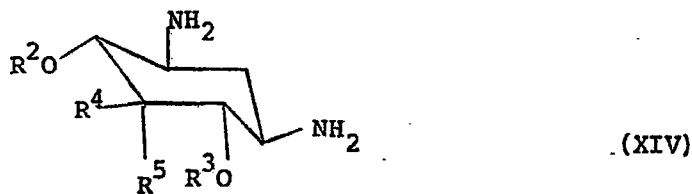
POOR QUALITY

1 Esta invención se refiere a un procedimiento para
la preparación de antibióticos de 1-N-(ω -amino- α -hidroxi-
alcanoil) aminoglicósido de fórmula:



15 donde n es un número entero de 0 a 4; R² es un anillo de
hexopiranosilo sustituido definido más adelante; R³ es hi-
drógeno o un anillo de hexopiranosilo sustituido definido
20 más adelante; R⁴ es hidrógeno, hidroxí o un anillo de pen-
tofuranosilo definido más adelante y R⁵ es hidrógeno o hi-
droxi; con la condición de que, cuando R³ es distinto de
hidrógeno, uno de los radicales R⁴ y R⁵ es hidrógeno y el
otro es hidroxí y con la condición de que, cuando R³ es hi-
drógeno, R⁵ es hidrógeno y R⁴ es un anillo de pentofurano-
silo sustituido.

25 El procedimiento implica la reacción de un aminogli-
cósido polisililado preparado a partir de un aminoglicósi-
do de Fórmula XIV:



1 donde n es 1, 2 o 3. Los compuestos se preparan por acila-
ción del aminoglicósido (cuyo radical 6'-amino y opcional-
mente 2'-amino está protegido con un grupo convencional de
5 bloqueo del amino) con un agente acilante que contiene el
grupo acilo anterior, por ejemplo su éster de N-hidroxisuc-
cinimida.

La patente sudafricana 77/1944 describe entre otros
un procedimiento para la preparación de los derivados 1-N-
alcanofílicos inferiores de la kanamicina A y B, donde los
10 grupos alcanofilo pueden estar sustituidos con hidroxil y/o
amino. El procedimiento implica la acilación de la kanami-
cina A o B, donde el radical 3-amino de la kanamicina A o
B y el radical 2'-amino de la kanamicina B (y opcionalmente
el radical 6'-amino de cada uno de estos antibióticos) está
15 protegido con un grupo convencional de bloqueo del amino.
La acilación se realiza de forma convencional, por ejemplo
empleando el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido aci-
lante.

La patente estadounidense 3.974.137 describe y rei-
vinda un procedimiento para la preparación de 1-{L(-)- γ -
20 amino- α -hidroxibutiril}kanamicina A, que consiste en hacer
reaccionar 6'-carbobenciloxikanamicina A con 3 moles como
mínimo de benzaldehído, un benzaldehído sustituido o pivalde-
hído, para producir 6'-N-carbobenciloxikanamicina A que
25 contiene radicales de base de Schiff en las posiciones 1,
3 y 3", acilar este derivado de kanamicina A tetra-protegi-
do con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L(-)- γ -
benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico y posteriormente
separar los grupos protectores.

30 En The Journal of Antibiotics, 26, 790-3 (1973), T.P.

- 1 Culbertson y colaboradores describen la preparación de
5"-amino-5"-desoxibutirosinas A y B a partir de las buti-
rosinas A y B. Las primeras etapas de la síntesis consisten en:
- 1) N-trifluoracetilar parcialmente la butirosina base calen-
5 tándola a reflujo en una mezcla de metanol y trifluorace-
tato de etilo,
 - 2) evaporar a sequedad, disolver el residuo en piridina,
tratarlo con hexametildisilazano y trimetilclorosilano,
después enfriar a una temperatura inferior a 10°C y tra-
10 tarlo con anhídrido trifluoracético,
 - 3) evaporar a sequedad e hidrolizar el residuo en una mez-
cla 2:1 de etanol y ácido acético 2N a reflujo, para for-
mar la tetra {N-(trifluoracetil)}butirosina.

15 Los productos finales de esta síntesis, las 5"-ami-
no-5"-desoxibutirosinas A y B, también se hacen reaccionar
de acuerdo con las tres etapas anteriores para formar pen-
ta-{N-(trifluoracetil)}-5"-amino-5"-desoxibutirosinas A y
B. Aunque esta publicación describe la acilación de un anti-
biótico de aminoglicósido trimetilsililado (y parcialmente
20 acilado) el resultado en cada caso es la acilación completa
de todos los grupos amino primarios de la molécula (4 en
la butirosina de partida y 5 en el producto). El procedimien-
to de esta invención elimina esencialmente la poliacilación
y proporciona un alto grado de selectividad de acilación
25 en la posición 1-N deseada.

30 J.J. Wright y colaboradores, en The Journal of
Antibiotics, 29, 714-719 (1976), describen un procedimiento
general para la 1-N-acilación selectiva de la clase de ami-
noglicósidos gentamicina-sisomicina. Informan que la selec-
tividad en el punto de acilación depende del pH y que el

1 grupo amino C-1 es el más reactivo frente a la acilación
cuando los grupos amino de la molécula están casi completa-
mente protonados. Estas condiciones se consiguen mediante
la adición de un equivalente de una amina terciaria básica
5 a una solución de la sal de adición de ácido totalmente
neutralizada. Aunque estos investigadores obtuvieron 1-N-
selectividad en la acilación de la gentamicina C_{1a}, sisomi-
cina y verdamicina, informaron sobre la pequeña selectividad
observada en la acilación de aminoglicósidos altamente hi-
droxilados como la gentamicina B y la kanamicina A.

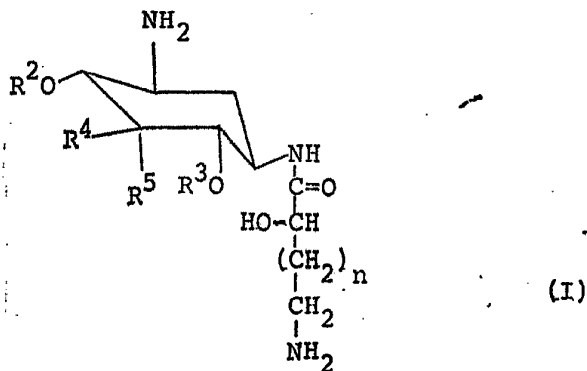
10 La patente estadounidense 1.460.039 describe un pro-
cedimiento para la preparación de diversos antibióticos de
desoxiaminoglicósidos por halogenación de un aminoglicósi-
do fosforilado (donde el grupo hidroxilo que ha de ser elimi-
nado se ha convertido en un grupo fosfonoxi), para produ-
cir el correspondiente aminoglicósido donde el grupo hidroxilo
15 se ha convertido en halógeno y reducir el compuesto haloge-
nado para producir el correspondiente desoxiaminoglicósido.
Antes de halogenar el aminoglicósido fosforilado, todos sus
grupos funcionales son preferiblemente protegidos mediante
20 grupos sililo o acilo.

Esta invención proporciona un procedimiento mejorado
para la preparación de antibióticos de 1-N-(ω -amino- γ -hidro-
xialcanoil)aminoglicósido. El uso de un aminoglicósido poli-
sililado como material de partida produce una gran solubi-
lidad en el sistema disolvente orgánico, permitiendo así la
25 reacción a altas concentraciones. Aunque la reacción se lle-
va a cabo habitualmente en soluciones que contienen alrede-
dor de 10 a 20 % de aminoglicósido polisililado de partida,
se han obtenido excelentes resultados a concentraciones de
30

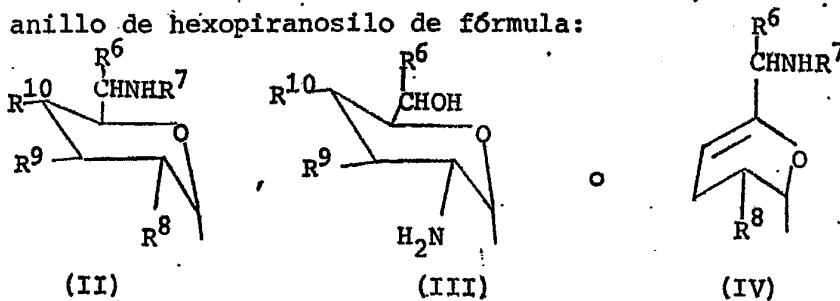
1 alrededor del 50 % en peso/volumen (es decir, 50 g/100 ml
de solución).

5 Como en el caso de los procedimientos de la técnica
anterior, el procedimiento de esta invención da lugar a una
mezcla de productos acilados y el producto deseado se sepa-
ra de los otros por cromatografía. Sin embargo, la posición
de sustitución es mucho más selectiva cuando se utiliza es-
ta invención, obteniéndose así menores cantidades de produc-
tos indeseables, lo que a la vez aumenta el rendimiento de
10 producto deseado y simplifica la purificación cromatográ-
fica. Así, en la preparación de 1-(L-(-)- γ -amino- α -hidróxi-
butiril]kanamicina A, amikacina, por diversos procedimien-
tos de la técnica anterior, típicamente también se obtiene
el producto 3"-N-acilado (BB-K11), el producto 3-N-acilado
15 (BB-K29), el producto 6'-N-acilado (BB-K6) y un material
poliacilado, así como kanamicina A sin reaccionar. En la
producción comercial de amikacina por acilación de 6'-N-
carbobenciloxikanamicina A en un medio acuoso, seguido de
separación del grupo protector, hemos encontrado que habi-
20 tualmente se pierde alrededor del 10 % de la amikacina de-
seada (2,5 kg en un lote de 25 kg), debido a la presencia
de BB-K11 como coproducto. Cualquier material 3"-N-acilado
que se produzca da lugar a un pérdida de aproximadamente
una cantidad igual del producto 1-N-acilado deseado, debido
25 a la gran dificultad de separación de este último del pri-
mero. La selectividad de sustitución de este procedimiento
es ilustrada por la cantidad extraordinariamente baja de pro-
ducto 3"-N-acilado indeseable que se obtiene cuando se pre-
para BB-K8 por este procedimiento. Típicamente no se detec-
30 ta BB-K11 en la mezcla de reacción.

1 Esta invención proporciona un procedimiento para la
preparación de antibióticos de 1-N-(ω-amino-α-hidroxi-
alcanoil) aminoglicósido de fórmula I:

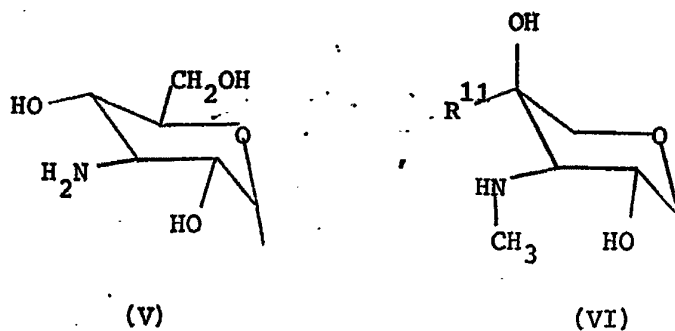


10 o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable
del mismo, donde n es un número entero de 0 a 4; R² es un
anillo de hexopiranosilo de fórmula:

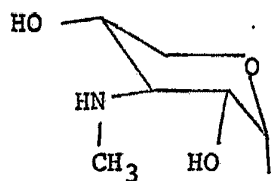


20 donde R⁶ es H o CH₃, R⁷ es H o CH₃, R⁸ es OH o NH₂, R⁹ es
H u OH y R¹⁰ es H u OH;

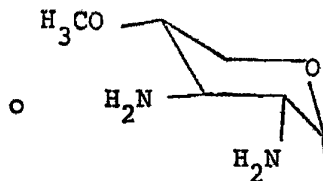
R³ es H o un anillo de hexopiranosilo de fórmula:



1



(VII)



(VIII)

5

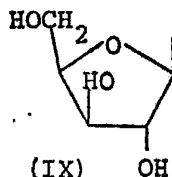
donde

R^{11} es H o CH_3 ;

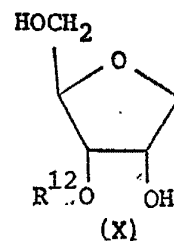
R^5 es H u OH y

R^4 es H, OH o un anillo de pentofuranosilo de fórmula:

10



(IX)

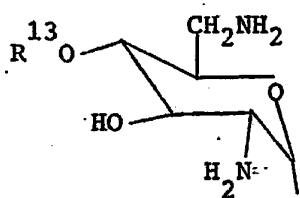


(X)

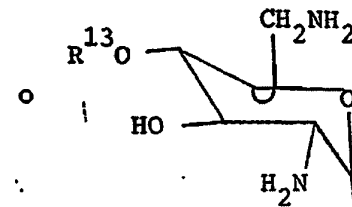
15

donde R^{12} es H o un anillo de hexopiranosilo de fórmula:

20



(XI)



(XII)

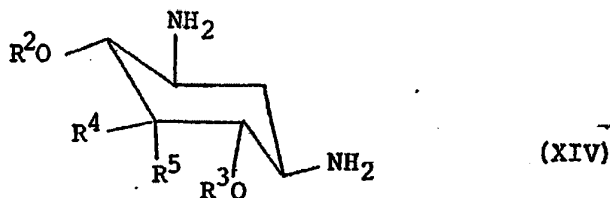
25

donde R^{13} es H o α -D-mannopiranosilo;

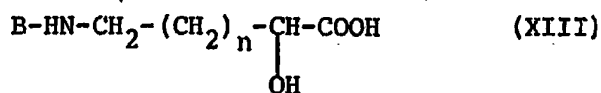
con la condición de que cuando R^3 es distinto de H, uno de los radicales R^4 o R^5 es H y el otro es OH y con la condición de que, cuando R^3 es H, R^5 es H y R^4 es un anillo de pentofuranosilo de fórmula IX o X;

30

cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un aminoglicósido polisililado preparado a partir de un aminoglicósido de fórmula XIV:



donde R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son los definidos anteriormente y que opcionalmente contiene de 1 a 3 grupos de bloqueo del amino distintos de sililo sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1, en un disolvente orgánico esencialmente anhidro, con un derivado acilante de un ácido de fórmula:



donde B es un grupo de bloqueo del amino y n es el definido anteriormente, y posteriormente separar todos los grupos de bloqueo.

El grupo amino del ácido acilante de fórmula XII debe ser protegido por un grupo de bloqueo del amino durante la reacción de acilación. Esto se consigue normalmente empleando un grupo convencional de bloqueo del amino. Estos mismos grupos convencionales de bloqueo del amino pueden ser utilizados para proteger los grupos aminos distintos del grupo amino C-1 del aminoglicósido. Estos grupos de bloqueo convencionales para la protección de grupos amino primarios son muy conocidos por los expertos en este campo. Los grupos de bloqueo adecuados comprenden los grupos alcoxycarbonilo como t-butoxicarbonilo y t-amiloxicarbonilo; grupos aralcoxycarbonilo como benciloxicarbonilo; grupos cicloalquilocarbonilo como ciclohexilocarbonilo; grupos haloalcoxycarbonilo como tricloroetoxicarbonilo; grupos acilo como ftaloilo y o-nitrofenoxiacetilo; grupos haloacetilo como trifluoracetilo y otros

1 grupos de bloqueo muy conocidos como el grupo o-nitrofenil-
tio, el grupo tritilo, etc.

5 El ácido acilante de Fórmula XIII contiene un átomo
de carbono asimétrico y puede presentarse en su forma (+) o
(-) o con una mezcla de las mismas (la forma d,l) produciendo
así el correspondiente compuesto de Fórmula I donde el grupo
1-N-(ω -amino- γ -hidroxialcanofilo) se encuentra en su forma
(+) {o (R)} o su forma (-) {o (S)} o una mezcla de ambas.
10 Estas dos formas ópticamente activas así como sus mezclas
están incluidas dentro de los límites de esta invención, pe-
ro se prefiere la forma (-).

15 La acilación del aminoglicósido polisililado (con y
sin 1 a 3 grupos de bloqueo del amino distintos del sililo
en los grupos amino distintos del grupo amino C-1) puede
efectuarse en general en un disolvente orgánico donde el ma-
terial de partida sea suficientemente soluble. Estos mate-
riales de partida son muy solubles en la mayoría de los di-
solventes orgánicos comunes. Los disolventes adecuados son,
20 por ejemplo, acetona, dietilcetona, metil-n-propilcetona,
metilisobutilcetona, metiletilcetona, heptano, glima, digli-
ma, dioxano, tolueno, tetrahidrofurano, ciclohexanona, piri-
dina, cloruro de metileno, cloroformo y tetracloruro de car-
bono. La elección del disolvente depende de los materiales
de partida particulares empleados. Las cetonas son generalmen-
25 te los disolventes preferidos. El disolvente más conveniente
para la combinación particular de reactivos utilizada puede
ser determinada fácilmente por experimentación rutinaria.

30 Los agentes sililantes adecuados para uso en la prepa-
ración de los aminoglicósidos polisililados de partida aquí
utilizados son los de fórmula:

1 silano, N-etiltriethylsililamina, hexaetildisilazano, trife-
nilsililamina, tri-n-propilsililamina, tetraetildimetilsila-
zano, hexafenildisilazano, hexa-p-tolildisilazano, etc. Tam-
5 bién son útiles los hexaalquilociclotrisilazanos y octaalquil
ciclotetrasilazanos. Otros agentes sililantes adecuados son
las sililamidas (como trialkilsililacetamidas y bis-trial-
quilsililacetamidas), las sililureas (como trimetilsilil-
ureas) y los sililureidos. También puede utilizarse el trime-
10 tilsililimidazol.

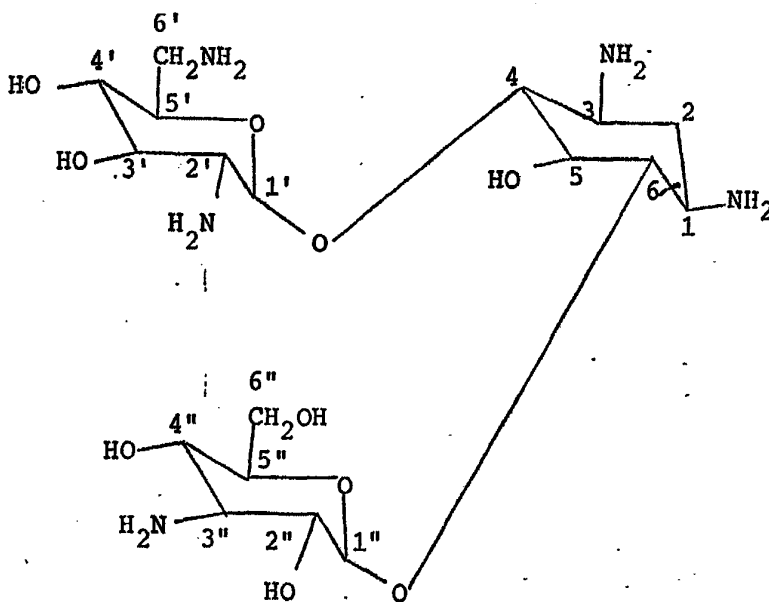
10 Un grupo sililo preferido es el grupo trimetilsililo
y los agentes alquilantes preferidos para introducir el gru-
po trimetilsililo son hexametildisilazano, bis(trimetilsilil)
acetamida, trimetilsililacetamida y trimetilclorosilano. El
más preferido es el hexametildisilazano.

15 La polisililación de los aminoglicósidos cambia el
orden normal de actividad de los grupos amino que contienen.
Así, el grupo 6'-amino de las kanamicinas es el más activo.
Si la kanamicina A o B sin proteger es acilada, los productos
principales son las 6'-N-acilkanamicinas. Por esta razón,
20 los procedimientos de la técnica anterior para la preparación
de 1-N-acilkanamicinas requerían la protección del radical 6'-
N-amino (v.g. con carbobenciloxi) para obtener buenos rendi-
mientos del producto 1-N-acilado. Sin embargo, cuando se aci-
lan las kanamicinas polisililadas, los productos principales
25 son las 1-N-acil-kanamicinas. Se cree que esto es debido a
efectos estéricos de grupos hidroxilados adyacentes (o
próximos) (así como a ligandos glicósido adyacentes), que
impiden la acilación en los grupos amino normalmente más
activos. Pero esto es solamente una explicación teórica y no
30 forma parte de la invención.

1

La kanamicina B responde a la fórmula:

5



10

15

Cuando la kanamicina B con todos los grupos hidroxilados se considera a la vista de la teoría anterior de operación, se observa que el radical 3"-amino está estéricamente impedido por los grupos adyacentes 2"- y 4"-hidroxilados. Se cree que es por esta razón que normalmente no se detecta ningún aducto 3"-acilado en la acilación de kanamicina B polisililada (o de las kanamicinas A o C polisililadas estructuralmente similares), aunque se obtienen molestos productos 3"-N-acilados en los procedimientos de la técnica anterior. Análogamente, el radical 6'-amino se encuentra estéricamente impedido por los grupos 4'- y 3'-hidroxilados próximos. El radical 2'-amino es impedido por el grupo 3'-hidroxilado adyacente y el ligando glicósido adyacente.

20

25

30

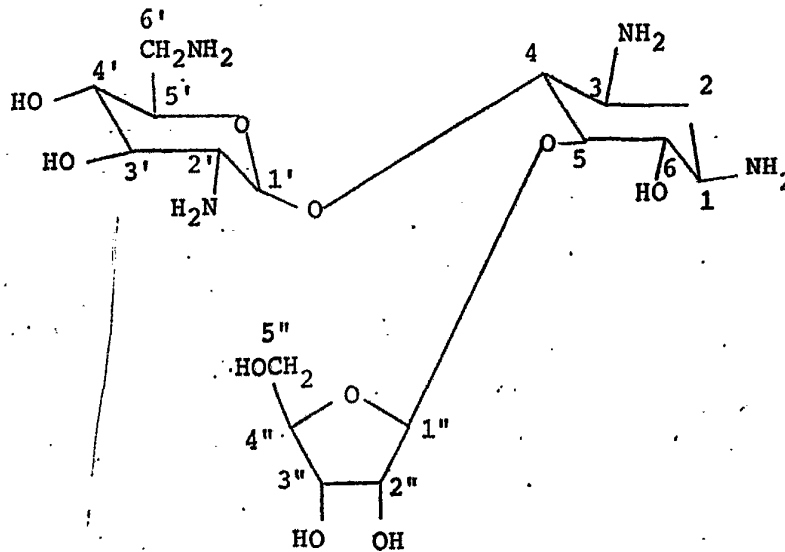
Otros aminoglicósidos que están estructuralmente relacionados con las kanamicinas y que, cuando se polisililan, forman fundamentalmente el producto 1-N-acilado son, por ejemplo, 3'-desoxikanamicina A, 3'-desoxikanamicina B (tobra-

1 micina), las 6'-N-alquilkanamicinas A, las 6'-N-alquilkanami-
cinas B, las 3'-desoxi-6'-N-alquilkanamicinas A, las 3'-deso-
xi-6'-N-alquilkanamicinas B, las gentamicinas A, B, B₁ y X₂,
5 seldomicina factores 1 y 3 y los aminoglicósidos NK-1001 y
NK-1012-1. Todos estos, y otros aminoglicósidos estructural-
mente similares, forman fundamentalmente el producto 1-N-sus-
tituído cuando se acilan en forma de su derivado polisilila-
do. Sin embargo, se forman pequeñas cantidades de productos
6'-N- y 3-N-sustituídos y uno o los dos de estos radicales
10 amino pueden ser protegidos, si se desea, por ejemplo con un
grupo carbobenciloxi.

Otro grupo de aminoglicósidos, aunque por lo demás
estructuralmente similares a los tipos de kanamicina antes
descritos, no contienen grupos 3'-hidroxi o 4'-hidroxi (es de-
15 cir, son compuestos 3',4'-didesoxi). Cuando se polisililan,
no presentan impedimento estérico al radical 6'-amino (o al
radical 2'-amino si está presente) y los principales produc-
tos de acilación son los compuestos 6'-N-sustituídos (o 2',6'-
di-N-sustituídos). En estos aminoglicósidos, es necesario pro-
20 teger el radical 6'-amino (y el radical 2'-amino, si está
presente) con un grupo de bloqueo del amino distinto del si-
lilo (v.g. con carbobenciloxi) y acilar el aminoglicósido
polisililado 6'-N-bloqueado (o 2',6'-di-N-bloqueado). Los
aminoglicósidos comprendidos dentro de este grupo son, por
25 ejemplo, 3',4'-didesoxikanamicina A, 3',4'-didesoxikanamicina
B, las 6'-N-alquil-3',4'-didesoxikanamicinas A, las 6'-N-alquil-
3',4'-didesoxikanamicinas B, las gentamicinas C₁, C_{1a}, C₂ y
C_{2a}, el aminoglicósido XK-62-2, el aminoglicósido 66-40D,
30 la verdamicina y la sisomicina.

Otra clase de aminoglicósidos son aquéllos donde la

1 unión glicósido se encuentra en las posiciones 4 y 5 del
anillo de desoxiestreptamina, en lugar de encontrarse en las
posiciones 4 y 6 como en los aminoglicósidos del tipo de ka-
namicina antes descritos. Estos pueden ser ilustrados por la
5 ribostamicina de fórmula:



10

15

20

25

30

En los aminoglicósidos del tipo de la ribostamicina, la polisililación produce impedimento estérico en el radical 1-N-amino deseado en lugar de en el radical 3-N-amino indeseado (los otros grupos amino están impedidos en la forma antes descrita para los tipos de kanamicina). Así, los antibióticos polisililados del tipo de ribostamicina forman fundamentalmente por acilación el producto 3-N-sustituído y, por lo tanto, es necesario proteger el radical 3-amino con un grupo de bloqueo del amino como carbobenciloxi, para obtener el producto 1-N-sustituído por acilación del material de partida polisililado. Otros aminoglicósidos comprendidos dentro de esta clase son, por ejemplo, las neomicinas B y C, las paromomicinas I y II, las lividomicinas A y B, el aminoglicósido 2230-C y la xilostasina, así como sus derivados 3'-

1 desoxi. Las variantes 6'-N-alquilo y 3'-desoxi-6'-N-alquilo
de cualquiera de los antibióticos del tipo de ribostamicina
anteriores que contienen un grupo 6'-amino también están
5 incluídas dentro de esta clase. Algunos de los aminoglicósidos
de esta clase contienen un grupo 6'-hidroxi en lugar de
un grupo 6'-amino.

Otro grupo de aminoglicósidos son los del tipo de ri-
bostamicina antes descritos, pero 3',4'-didesoxi. Como en
el caso de los aminoglicósidos del tipo de 3',4'-didesoxika-
10 namicina antes descritos, los radicales 2'- y 6'-amino (de
los aminoglicósidos de esta clase que contienen un radical
6'-amino) no presentan impedimento estérico por polisilila-
ción. Por consiguiente, con compuestos como 3',4'-didesoxi-
ribostamicina, 3',4'-didesoxineomicina B y C y 3',4'-dideso-
15 xixilostasina, así como con sus análogos 6'-N-alquílicos,
es necesario proteger los radicales 2'-, 3-y 6'-amino con
un grupo de bloqueo del amino como carbobenciloxi, para que
la acilación del material de partida polisililado forme funda-
mentalmente el producto 1-N-acilado. En los aminoglicósidos
20 de esta clase que contienen un grupo 6'-hidroxi en lugar de
un grupo 6'-amino (v.g. 3',4'-didesoxiparomomicinas I y II
y 4'-desoxilividomicinas A o B), solamente es necesario pro-
teger los radicales 2'- y 3-amino.

25 Cuando se utiliza como material de partida un aminogli-
cósido polisililado que contiene de 1 a 3 grupos de bloqueo
del amino distintos de sililo sobre grupos amino distintos del
grupo amino C-1, este material de partida puede prepararse
por polisililación del aminoglicósido N-bloqueado deseado o
por introducción del grupo de N-bloqueo deseado en el amino-
30 glicósido polisililado (después de desililación parcial por

1 hidrólisis o solvolisis, si es necesario).

Los métodos de introducción de grupos sililo en com-
puestos orgánicos, incluidos ciertos aminoglicósidos, son
conocidos. Las kanamicinas polisililadas (con o sin grupos
5 de bloqueo distintos del sililo en radicales amino distintos
del grupo amino C-1) pueden prepararse por métodos conocidos
o como se describe en esta memoria.

En el sentido utilizado aquí, el término aminoglicó-
sido polisililado no incluye un aminoglicósido persililado.
10 Así, por ejemplo, el término kanamicina A polisililada inclu-
ye la kanamicina A que contiene de 2 a 10 grupos sililo (en
la molécula hay un total de 11 centros (4 grupos amino y
7 grupos hidroxil) que pueden ser sililados).

15 El número exacto de grupos sililo (o su posición) en
el aminoglicósido polisililado de partida (con o sin 1 a 3
grupos de bloqueo del amino distintos de sililo sobre grupos
amino distintos del radical amino C-1) no es conocido. Hemos
encontrado que tanto la sobre-sililación como la sub-silila-
ción reducen el rendimiento del producto deseado y aumentan
20 el rendimiento de otros productos. En el caso de intensas
sub o sobre-sililaciones, puede formarse poco o nada del pro-
ducto deseado. El grado de sililación que producirá el mayor
rendimiento de producto deseado depende de los reactivos
particulares utilizados en la etapa de acilación. El grado
25 más ventajoso de sililación utilizando cualquier combinación
de reactivos puede ser determinado fácilmente por experimenta-
ción rutinaria.

30 Se cree que el número medio preferido de grupos sililo
en el aminoglicósido polisililado de partida estará compren-
dido habitualmente entre un límite inferior de 4 y un límite

1 superior que es igual a una unidad más que el número total
de grupos hidroxí en la molécula de aminoglicósido y que
estos límites superior e inferior son reducidos en uno por
5 cada grupo de bloqueo del amino presente en la molécula de
aminoglicósido. Pero esta explicación es solo teórica y no
se considera parte esencial de la invención.

Los aminoglicósidos polisililados que contienen el nú-
mero deseado de grupos sililo pueden prepararse o bien uti-
lizando una cantidad de agente sililante que solamente sea
10 suficiente para agregar el número deseado de grupos sililo
o bien utilizando un exceso de agente sililante para persi-
lilar el aminoglicósido y después desililar parcialmente por
hidrólisis o solvolisis.

15 Así, por ejemplo, cuando se prepara 1-N-(L-(-)- γ -amino-
 α -hidroxibutiril)kanamicina A por acilación de kanamicina A
polisililada con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido
L-(-)- γ -benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico en solución
acetónica, hemos encontrado que se obtienen buenos rendimien-
20 tos del producto deseado utilizando kanamicina polisililada
que ha sido preparada por reacción de unos 4 a 5,5 moles de
hexametildisilazano por mol de kanamicina A. Pueden utilizar-
se cantidades mayores o menores de hexametildisilazano pero
el rendimiento de producto deseado en la etapa de acilación
25 subsiguiente disminuye considerablemente. En el procedimien-
to específico antes descrito, preferimos utilizar alrededor
de 4,5 a 5,0 moles de hexametildisilazano por mol de kanami-
cina, con objeto de obtener el máximo rendimiento de produc-
to en la etapa de acilación.

30 Se observará que cada mol de hexametildisilazano es
capaz de introducir dos equivalentes del grupo trimetilsililo

1 en la kanamicina A o B. Tanto la kanamicina A como la B con-
tienen un total de 11 puntos (grupos NH_2 y OH) que pueden
5 ser sililados, mientras que las kanamicinas A y B que con-
tienen un grupo de bloqueo distinto del sililo en el radical
amino C-1: contienen un total de 10 de estos puntos. Así, con
5,5 moles de hexametildisilazano por mol de kanamicina A o
B pueden sililarse teóricamente por completo todos los radi-
cales OH y NH_2 de la kanamicina, mientras que 5,0 moles de
hexametildisilazano pueden sililar por completo un mol de
10 kanamicina A o B que contiene un grupo de bloqueo distinto
del sililo en el radical amino C-1. Sin embargo, creemos que
no tiene lugar esta extensa sililación con estas relaciones
molares durante tiempos de reacción razonables, aunque se
obtienen grados mayores de sililación en un tiempo de reac-
15 ción dado cuando se agrega un catalizador de sililación.

Los catalizadores de sililación aceleran considera-
blemente la velocidad de sililación. Los catalizadores de
sililación adecuados son muy conocidos en este campo e inclu-
20 yen, entre otros, los sulfatos de amina (v.g. sulfato del
aminoglicósido, ácido sulfámico, imidazol y trimetilclorosila-
no. Generalmente los catalizadores de sililación provocan
un grado de sililación mayor que el requerido en el proce-
dimiento de esta invención. Sin embargo, puede utilizarse
aminoglicósidos sobre-sililados como material de partida si
25 primero se trata con un agente desililante para reducir el
grado de sililación antes de efectuar la reacción de aci-
lación.

Así, por ejemplo, se obtienen buenos rendimientos del
30 producto deseado cuando se acila la kanamicina A polisilila-
da preparada empleando una relación molar de 5,5:1 de hexame-

1 tildisilazano a kanamicina A. Sin embargo, cuando la kanami-
cina A sililada con una relación molar de 7:1 de hexametil-
disilazano (o con una relación molar de 5,5:1 en presencia
5 de un catalizador de sililación) se acila en acetona con el
éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -benciloxi-
carbonilamino- α -hidroxibutírico, se obtiene un rendimiento
inferior al 1 % del producto deseado. Sin embargo, cuando
esta misma kanamicina A "sobre-sililada" se acila con el
mismo agente acilante en solución acetónica a la que se ha
10 agregado agua (21 moles de agua por mol de kanamicina; 2,5 %
de agua en peso/volumen), como agente desililante, una hora
antes de la acilación, se obtiene un rendimiento de aproxima-
damente el 40 % del producto deseado. Se obtienen los mismos
resultados si el agua se sustituye por metanol o por otro
15 compuesto de hidrógeno activo capaz de efectuar la desilila-
ción, v.g. etanol, propanol, butanodiol, metilmercaptano,
etilmercaptano, fenilmercaptano o similares.

Aunque es habitual utilizar disolventes secos cuando
se trabaja con materiales sililados, hemos encontrado sor-
20 prendentemente que, incluso en ausencia de "sobre-sililación"
la adición de agua al disolvente de reacción antes de la aci-
lación frecuentemente produce rendimientos igualmente buenos
y algunas veces da mayores rendimientos del producto deseado
que en un disolvente seco. Así, por ejemplo, en las reacciones
25 de acilación efectuadas en acetona a las concentraciones habi-
tuales de 10-20 % en peso/volumen de kanamicina A polisilila-
da, hemos encontrado que se obtienen excelentes rendimientos
de 1-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril]kanamicina A cuando
se agregan hasta 28 moles de agua por mol de kanamicina A
30 polisililada; a una concentración del 20 %, 28 moles por mol

1 representan aproximadamente un 8 % de agua. Con otras com-
binaciones de sustancias reaccionantes y disolventes, pueden
tolerarse o incluso ser beneficiosas cantidades aún mayores
de agua. La reacción de acilación puede efectuarse en disol-
5 vientes que contienen hasta alrededor del 40 % de agua, aun-
que a concentraciones tan altas de agua deben utilizarse
tiempos cortos de acilación para evitar una desililación
excesiva del aminoglicósido polisililado de partida. Por con-
siguiente, en el sentido utilizado aquí y en las reivindica-
10 ciones, el término "disolvente orgánico esencialmente anhi-
dro" incluye los disolventes que contienen hasta alrededor
del 40 % de agua. Se prefiere una proporción de alrededor
del 20 %, todavía mejor hasta alrededor del 8 % y aún mejor
hasta alrededor del 4 % de agua.

15 Salvo en el caso antes descrito de disolventes que
contienen proporciones muy altas de agua, la duración de la
reacción de acilación no es crítica. Pueden utilizarse tem-
peraturas comprendidas entre -30°C y unos 100°C para tiem-
pos de reacción que oscilan aproximadamente entre una hora
20 y un día o más. La reacción habitualmente transcurre bien
a la temperatura ambiente y, por comodidad, puede efectuarse
a dicha temperatura. Sin embargo, para obtener máximos ren-
dimientos y una acilación selectiva, es preferible efectuar
la acilación alrededor de 0 a 5°C .

25 La acilación del radical 1-amino de aminoglicósido
polisililado (con o sin un grupo de bloqueo distinto de si-
lilo en un radical amino distinto del grupo amino C-1) pue-
de efectuarse con un derivado acilante cualquiera del ácido
de Fórmula XIII del que se sepa que es adecuado para la aci-
30 lación de un grupo amino primario. Son ejemplos de derivados

1 acilantes adecuados del ácido libre los correspondientes
anhídridos, anhídridos mixtos, por ejemplo anhídridos alco-
xifórmicos, haluros de ácido, azidas, ésteres activos y tio-
ésteres activos. El ácido libre puede copularse con el ami-
5 noglicósido polisililado de partida después de reaccionar
primero dicho ácido libre con cloruro de N,N-dimetilclorofo-
rminio {véase la patente británica 1.008.170 y Novak y
Weichet, *Experientia* XXI, 6, 360 (1965)} o empleando N,N'-
carbonildiimidazol o un N,N'-carbonilditriazol (véase pa-
10 tente sudafricana 63/2684) o un reactivo de carbodiimida
{especialmente N,N'-díciclohexilcarbodiimida, N,N'-diisopro-
pilcarbodiimida o N-ciclohexil-N'-(2-morofolinoetil)carbo-
diimida: véase Sheehan y Hess, *J.A.C.S.*, 77, 1967 (1955)},
o un reactivo de alquinilamina {véase R. Buijle y H.G. Viehe,
15 *Agew.Chem.International Edition*, 3, 582 (1964)} o un reacti-
vo de sal de isoxazolio {véase R.B. Woodward, R.A. Olofson
y H. Mayer, *J.Amer.Chem.Soc.*, 83, 1010 (1961)} o un reactivo
de cetenimina {véase C.L. Stevens y M.E. Munk, *J.Amer.Chem.*
Soc., 80, 4065 (1958)} o hexaclorociclotrifosfatriazina o
20 hexabromociclotrifosfatriazina (patente estadounidense núm.
3.651.050) o difenilfosforilazida {DDPA, *J.Amer.Chem.Soc.*,
94, 6203-6205 (1972)} o un cianuro de dietilfosforilo {DEPC;
Tetrahedron Letters n° 18, págs. 1595-1598 (1973)} o fosfito
de difenilo {*Tetrahedron Letters* n° 49, págs. 5047-5050
25 (1972)}. Otro equivalente del ácido es la correspondiente
azolida, es decir, una amida del ácido correspondiente cuyo
nitrógeno amídico es un miembro de un anillo pentagonal casi-
aromático que contiene por lo menos 2 átomos de nitrógeno,
es decir, imidazol, pirazol, los triazoles, bencimidazol,
30 benzotriazol y sus derivados sustituidos. Como observarán

1 los expertos en este campo, algunas veces puede ser conve-
niente o necesario proteger el grupo hidroxilo del derivado
5 acilante del ácido de Fórmula XIII, por ejemplo cuando se
emplean derivados acilantes como un haluro de ácido. La pro-
tección del grupo hidroxilo puede realizarse por medios cono-
cidos en este campo, por ejemplo empleando un grupo carboben-
ciloxi, por acetilación, por sililación o similares.

10 En una realización preferida de la invención, el de-
rivado acilante del ácido de Fórmula XIII es un éster acti-
vo y preferiblemente su éster activo con N-hidroxisuccinimi-
da, N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida o N-hidroxipta-
limida. En otra realización preferida, el derivado acilante
del ácido de Fórmula XIII es un anhídrido mixto y preferi-
blemente su anhídrido mixto con ácido pivalico, ácido ben-
zoico, ácido isobutilcarbónico o ácido bencilcarbónico.

15 Una vez completada la reacción de acilación del ami-
noglicósido polisililado, se separan todos los grupos de
bloqueo por métodos conocidos per se para dar el producto de
20 seado de Fórmula I. Los grupos sililo pueden ser separados
fácilmente, por ejemplo, por hidrólisis con agua, preferi-
blemente a pH bajo. Los grupos de bloqueo del amino de la
molécula de aminoglicósido (si están presentes) o de la ca-
dena lateral acílica también pueden ser separados por méto-
dos conocidos. Así, un grupo t-butoxicarbonilo puede sepa-
25 rarse empleando ácido fórmico, un grupo carbobenciloxi por
hidrogenación catalítica, un grupo 2-hidroxi-1-naftocarboni-
lo por hidrólisis ácida, un grupo tricloroetoxicarbonilo por
tratamiento con cinc en polvo en ácido acético glacial, el
grupo ftaloílo por tratamiento con hidrato de hidrazina en
30 etanol mientras se calienta, el grupo trifluoracetilo por

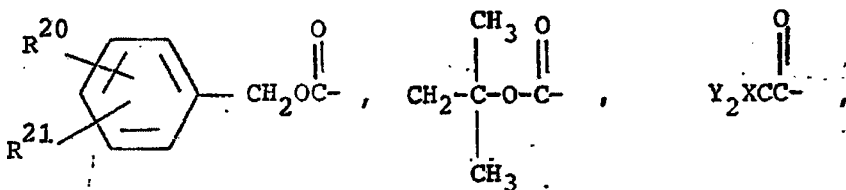
1

tratamiento con NH_4OH , etc.

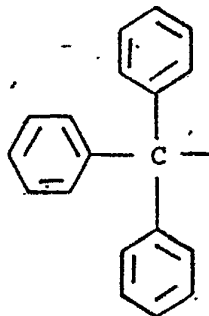
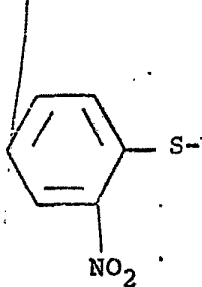
5

Los grupos de bloqueo del amino preferidos, útiles para proteger los grupos amino de la molécula de aminoglicósido así como el grupo amino del ácido acilante de Fórmula XIII, son los de fórmulas:

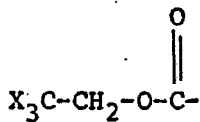
10



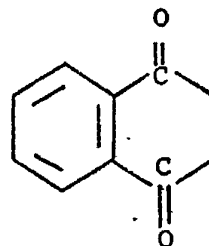
15



20



y



25

donde R^{20} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa H, F, Cl, Br, NO_2 , OH, alquilo inferior o alcoxi inferior; X es Cl, Br, F o I e Y es H, Cl, Br, F o I. Un grupo de bloqueo del amino especialmente preferido para uso en la molécula de aminoglicósido es el grupo carbobenciloxi. Son grupos de bloqueo del amino especialmente preferidos para uso en el ácido acilante de Fórmula XIII los grupos carbobenciloxi, trifluoracetilo y t-butiloxycarbonilo.

30

Algunos de los compuestos de Fórmula I contienen un

1 doble enlace (es decir, donde el sustituyente R² tiene la
estructura IV). Estos son los compuestos derivados de amino-
glicósidos como la sisomicina, verdamicina, G-52, 66-40B y
5 66-40D. Cuando se utilizan estos compuestos, los expertos
en este campo observarán que debe evitarse cualquier técni-
ca reductiva que reduzca al doble enlace. Así, por ejemplo,
deben utilizarse grupos de bloqueo del amino que son separa-
bles por hidrólisis o mediante un metal alcalino en amonia-
co líquido, con objeto de evitar la reducción del doble en-
10 lace que ocurriría con técnicas tales como hidrogenolisis
catalítica.

 Los rendimientos de producto se determinaron por
diversos métodos. Después de separar todos los grupos de blo-
queo y cromatografiar en una columna de CG-50 (NH₄⁺), el
15 rendimiento puede ser determinado aislando el sólido cris-
talino de las fracciones apropiadas o por análisis micro-
biológico (turbidimétrico o placa) de las fracciones apro-
piadas. Otra técnica que hemos utilizado es la cromatografía
de líquidos de alto rendimiento de la mezcla de acilación
20 sin reducir, es decir, la solución acuosa obtenida después
de hidrolizar los grupos silylo y separar el disolvente
orgánico pero antes de la hidrogenolisis para eliminar los
grupos de bloqueo restantes. Este análisis no es un análisis
directo del producto final sino de los correspondientes com-
25 puestos N-bloqueados.

 El instrumento utilizado fué un cromatógrafo de lí-
quido de alta presión de la Waters Associates modelo 440,
con un detector de la absorbancia y una columna μ -Bondapak
30 C-18 de 30 cm x 3,9 mm de diámetro interno, bajo las siguien-
tes condiciones:

1 Fase móvil : 25 % de 2-propanol
75 % de acetato sódico 0,01M,pH 4,0
Caudal : 1 ml/minuto
Detector : UV a 254 nm
5 Sensibilidad : 0,04 AUFS
Diluyente : dimetilsulfóxido
Cantidad inyectada: 5 µl
Concentración : 10 mg/ml

10 La velocidad del gráfico variaba pero era típica una velocidad de 2 minutos/pulgada. Las condiciones anteriores dieron trazos ultravioleta con picos fáciles de medir cuantitativamente. Los resultados de los análisis anteriores son denominados en la memoria análisis CLAP.

15 Para evitar la repetición de complejos nombres químicos, algunas veces se utilizan en esta memoria las siguientes abreviaturas:

AAHB	ácido L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butírico
ABHB	derivado N-carbobenciloxi del AAHB
HONB	N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboxamida
20 NAE (o ABHB-"ONB")	éster activo de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida de ABHB
HONS	N-hidroxisuccinimida
SAE (o ABHB-"ONS")	éster activo de N-hidroxisuccinimida de ABHB
25 DCC	diciclohexilcarbodiimida
DCU	diciclohexilurea
HMDS	hexametildisilazano
BSA	bis(trimetilsilil)acetamida
MSA	trimetilsililacetamida
30 TFA	trifluoracetilo
t-BOC	t-butiloxicarbonilo.

1 "Dicalite" es una marca comercial de la Great Lakes Carbon Corporation para la tierra de diatomeas.

5 "Amberlite CG-50" es una marca comercial de la Rohm & Haas Co. para la calidad cromatográfica de una resina cambiadora catiónica débilmente ácida del tipo carboxílico-polimetacrílico.

" μ -Bondapak" es una marca comercial de la Waters Associates para una serie de columnas de cromatografía de líquidos de alto rendimiento.

10 Todas las temperaturas sedan aquí en grados centígrados.

En el sentido utilizado aquí, los términos "alquilo inferior" y "alcoxi inferior" se refieren a grupos alquilo o alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono.

15 En el sentido utilizado aquí y en las reivindicaciones, el término "sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" de un compuesto de Fórmula I significa una mono-, di-, tri- o tetra-sal o una sal superior, formada por interacción de una molécula de un compuesto de Fórmula I con uno
20 o más equivalentes de un ácido no tóxico farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con el compuesto particular de Fórmula I. Se observará que puede formarse una sal de adición de ácido en cada grupo amino de la molécula, tanto en el núcleo de aminoglicósido como en la cadena lateral acílica. Entre
25 estos ácidos se encuentran los ácidos acético, clorhídrico, sulfúrico, maleico, fosfórico, nítrico, bromhídrico, ascórbico, málico y cítrico y los otros ácidos comúnmente utilizados para formar sales de productos farmacéuticos aminados.

30 La mayoría de los aminoglicósidos utilizados como materiales de partida en esta invención son compuestos conoci-

1 dos. Cualquier aminoglicósido individual que no sea cono-
cido por sí mismo (es decir, un derivado 6'-N-metilico no
descrito anteriormente de un aminoglicósido conocido) pue-
de ser preparado fácilmente por métodos conocidos para la
5 preparación de compuestos análogos.

Los compuestos de Fórmula I producidos mediante esta
invención son activos contra las bacterias Gram-positivas y
Gram-negativas y se utilizan de forma análoga a la de otros
aminoglicósidos conocidos. Muchos de los compuestos de Fór-
10 mula I son conocidos por sí mismos.

En otro aspecto, esta invención proporciona aminogli-
cósidos polisililados de Fórmula XIV o aminoglicósidos poli-
sililados de Fórmula XIV que contienen de 1 a 3 grupos de
bloqueo del amino distintos de sililo en radicales amino
15 distintos del grupo amino C-1.

DESCRIPCION DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

EJEMPLO 1

Preparación de 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}kanamici-
20 na A, amikacina, por acilación selectiva de poli(trimetilsil-
lil)-6'-N-carbobenciloxikanamicina A en dietilcetona anhidra

Se suspenden 15 g (24,24 milimoles) de 6'-N-carboben-
ciloxikanamicina en 90 ml de acetonitrilo seco y se calienta
a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Se añaden lentamente
25 17,5 g (108,48 milimoles) de hexametildisilazano, a lo largo
de 30 minutos y la solución resultante se calienta a reflujo
durante 24 horas. Después de separar el disolvente a vacío
(40°) y secar por completo a vacío (10 mm), se obtienen
27,9 g de un sólido amorfo blanco (90,71 % calculado como
30 6'-N-carbobenciloxikanamicina A (sililo)₉).

Este sólido se disuelve en 150 ml de dietilcetona

1 seca a 23°. Se añaden lentamente, con buena agitación a lo
largo de media hora, 11,05 g (26,67 milimoles) del éster de
N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- γ -
5 benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico (NAE) disueltos
en 100 ml de dietilcetona seca a 23°. La solución se agita
a 23° durante 78 horas. La solución amarilla transparente
(pH 7,0) se diluye con 100 ml de agua. El pH de la mezcla
se ajusta a 2,8 (HCl 3N) y se agita fuertemente a 23° du-
10 rante 15 minutos. Se separa la fase acuosa y la fase orgá-
nica se extrae con 50 ml de agua a pH 2,8. Las fracciones
acuosas combinadas se lavan con 50 ml de acetato de etilo.
La solución se introduce en un frasco Parr de 500 ml junto
con 5 g de catalizador de paladio al 5 % en carbón (Engelhardt)
y se reduce a 50 psi (3,5 kg/cm²) de hidrógeno durante 2 ho-
15 ras a 23°. La mezcla se filtra a través de una guata de
Dicalite que después se lava con 30 ml adicionales de agua.
El filtrado incoloro se concentra a vacío (40-45°) hasta
50 ml. La solución se carga en una columna cambiadora de
ion CG-50 (NH₄⁺) de 5 x 100 cm. Después de lavar con 1000 ml
20 de agua, se eluye la kanamicina A que no ha reaccionado,
la 3-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}kanamicina A (BB-K29)
y la amikacina con hidróxido amónico 0,5N. El material poli-
acílico se recupera con hidróxido amónico 3N. Para seguir el
proceso de la elución se utilizaron bioanálisis, cromatogra-
25 fía en capa fina y rotación óptica. El volumen y la rotación
óptica observada en cada fracción de eluato, así como el
peso y el porcentaje de rendimiento del sólido aislado de
cada fracción por evaporación a sequedad, se encuentran en
30 la siguiente tabla.

Material	Volumen (ml)	α 578	Peso (g)	Rendimiento, %
kanamicina A	1000	+0,115	0,989	9,15
BB-K29	1750	+0,24	4,37	32,00
Amikacina	2000	+0,31	6,20	47,4
Poliacilos	900	+0,032	0,288	2,0

Por cromatografía de líquidos de alto rendimiento se demuestra que la capa de dietilcetona agotada contiene un 3-5 % adicional de amikacina.

Se disuelven 6,20 g de amikacina cruda en 20 ml de agua y se diluye con 20 ml de metanol, añadiéndose 20 ml de isopropanol para inducir la cristalización. Se obtienen 6,0 g (45,8 %) de amikacina cristalina.

EJEMPLO 2

Preparación de 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}kanamicina A, amikacina, por acilación selectiva de poli(trimetilsilil)kanamicina A, empleando bloqueo in situ

A. Poli(trimetilsilil)kanamicina A

Se suspenden 18 g de kanamicina A en forma de base libre (actividad 37,15 milimoles) en 200 ml de acetonitrilo seco y se calienta a reflujo. Se añaden a lo largo de 30 minutos 29,8 g (184,6 milimoles) de hexametildisilazano y la mezcla se agita a reflujo durante 78 horas para dar una solución transparente amarilla pálida. Por separación del disolvente a vacío se obtienen 43 g (94 %) de un residuo sólido amorfo {calculado como kanamicina A (sililo)₁₀}.

B. 1-N-{L-(-)- γ -Amino- α -hidroxibutiril}kanamicina A

Se suspenden 5,56 g (20,43 milimoles) de ácido p-(benziloxicarboniloxi)benzoico en 50 ml de acetonitrilo seco a 23°. Se añaden con buena agitación 8,4 g (41,37 milimoles) de N,O-bis-trimetilsililacetamida. La solución se mantiene

1 durante 30 minutos a 23° y después se agrega a lo largo de
3 horas, con intensa agitación, a una solución de 21,5 g de
poli(trimetilsilil)kanamicina A (17,83 milimoles), calculado
5 como compuesto (sililo)₁₀ en 75 ml de acetonitrilo seco a
23°. La mezcla se agita durante 4 horas, se separa el disol-
vente a vacío (40°) y el residuo oleoso se disuelve en 50 ml
de acetona seca a 23°C.

A la solución anterior se añaden, a lo largo de 5 mi-
nutos, 8,55 g (20,63 milimoles) del éster de N-hidroxi-5-nor-
10 bornen-2,3-dicarboximida de ácido L-(-)-γ-benciloxycarbonil-
amino-α-hidroxi-butírico (NAE) en 30 ml de acetona. La mez-
cla se mantiene a 23°C durante 78 horas. La solución se di-
luye con 100 ml de agua y el pH (7,0) se reduce a 2,5 (HCl
6N). La mezcla se introduce en un frasco Parr de 500 ml jun-
15 to con 3 g de catalizador de paladio al 5 % en carbón
(Engelhard) y se reduce a 40 psi (2,8 kg/cm²) de hidrógeno,
durante 2 horas a 23°. La mezcla se filtra por una capa de
tierra de diatomeas que después se lava con 20 ml de agua.
Por análisis microbiológico frente a E.coli se determina
20 que el filtrado y las aguas de lavado combinadas (168 ml)
contienen aproximadamente 11.400 mcg/ml (rendimiento: 19 %) de amikacina.

EJEMPLO 3

25 Preparación de 1-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butiril] kanamici-
na A, amikacina, por acilación selectiva de poli(trimetilsil-
lil)kanamicina A

A. Poli(trimetilsilil)kanamicina A

30 Se calienta a reflujo durante 72 horas una suspensión
de 10 g (20,6 milimoles) de kanamicina A en 100 ml de aceto-
nitrilo seco y 25 ml (919 milimoles) de 1,1,1,3,3,3-hexame-

1 tildisalazano. Se obtiene una solución transparente amarilla
pálida. La solución se destila a sequedad a vacío a 30-40°C.
Se obtienen 21,3 g de poli(trimetilsilil)kanamicina A en
5 forma de polvo amorfo tostado pálido (rendimiento: 85 %, calculado como kanamicina A (sililo)₁₀).

B. 1-N-{L-(-)-γ-Amino-α-hidroxi-butiril}kanamicina A

A una solución de 2,4 g (2,0 milimoles) de poli(trimetilsilil)kanamicina A en 30 ml de acetona seca se añaden
lentamente 2,0 milimoles del éster de N-hidroxi-5-norbornen-
10 2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-butírico (NAE) en 10 ml de acetona seca a 0-5°C.
La mezcla de reacción se agita a 23°C durante una semana y después se evapora a sequedad a vacío a una temperatura del
baño de 30-40°C. Después se agregan 60 ml de agua al residuo,
15 seguidos de 70 ml de metanol para obtener una solución. La solución se acidula con HCl 3N hasta pH 2,0 y después se reduce a 50 psi (3,5 kg/cm²) de hidrógeno durante 2 horas, empleando 500 mg de catalizador de paladio al 5 % en carbón.
Se filtra el material y por análisis microbiológico frente
20 a E.coli se determina que el filtrado y las aguas de lavado combinados contienen un rendimiento del 29,4 % de amikacina.

EJEMPLO 4

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en tetrahydrofurano con el anhídrido mixto de ácido piválico y ABHB

25

A. Preparación del anhídrido mixto

30

Se disuelven 5,066 mg (20,0 milimoles) de ABHB, 4,068 g (20,0 milimoles) de BSA y 2,116 g (22,0 milimoles) de trietilamina en 200 ml de tetrahydrofurano secado en tamices.
La solución se calienta a reflujo durante 2 horas 15 minutos

1 y después se enfría a -10°C . Se añaden 2,412 g (20,0 milimoles) de cloruro de pivaloilo a lo largo de 2-3 minutos, con agitación y se continúa agitando durante 2 horas a -10°C . Después se deja que la temperatura ascienda a 23°C .

5 B. Acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A

Se disuelven 5,454 g de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 1 (4,97 milimoles calculada como 6'-Cbz-kanamicina A (sililo)₉) en 50 ml de tetrahidrofurano seco (tamices moleculares) a 23°C . Se añade con agitación, a lo largo de 20 minutos, la mitad de la solución de anhídrido mixto preparado en la Etapa A anterior (10,0 milimoles) y se continúa agitando durante 7 días.

15 Después se añaden a la mezcla de reacción 100 ml de agua y el pH (5,4) se ajusta a 2,0 con H_2SO_4 3M. Se continúa agitando durante una hora y la solución se extrae con acetato de etilo. Comienza a cristalizar el material poliacilado, de manera que se filtra la mezcla de reacción. Después de secar sobre P_2O_5 , el sólido recuperado pesa 0,702 g. La extracción de la mezcla de reacción se prosigue durante un total de cuatro veces con 75 ml de acetato de etilo, después de lo cual el exceso de acetato de etilo se separa de la capa acuosa. Una parte alícuota de la solución acuosa se somete a análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento. La curva resultante indica un rendimiento de 26,4 % de di-Cbz-amikacina.

25 Después la capa acuosa se hidrogena en un aparato Parr a una presión de hidrógeno de 50 psi ($3,5 \text{ kg/cm}^2$), durante 2 horas, empleando 0,5 g de catalizador de paladio al 10 % en carbón. Se filtra el material y se determina frente a E. coli que el filtrado y las aguas de lavado combinados

30

1 contienen un rendimiento del 31,2 % de amikacina. Relación
de amikacina/BB-K29, aproximadamente 9-10:1; hay presentes
trazas de kanamicina A poliacilada y sin reaccionar.

EJEMPLO 5

5 Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en acetona con el anhídrido mixto de ABHB y ácido isobutilcarbónico

A. Preparación del anhídrido mixto

10 Se agitan a 23°C 1,267 g (5,0 milimoles) de ABHB y
1,313 g (10,0 milimoles) de N-trimetilsililacetamida (MSA)
en 20 ml de acetona secada en tamices moleculares y se añaden
0,70 ml (5,0 milimoles) de trietilamina (TEA). La mezcla
se calienta a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante
2,5 horas. Se enfría la mezcla a -20°C y se añaden 0,751 g
15 (0,713 ml, 5,50 milimoles) de cloroformiato de isobutilo.
Inmediatamente comienza a separarse el hidrocloruro de
trietilamina. La mezcla se agita durante una hora a -20°C.

B. Acilación

20 Se disuelven 6,215 g de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-
kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 1 (4,9 milimoles,
calculado como el compuesto (silílico)₉) en 20 ml de acetona
secada en tamices moleculares, con agitación, a 23°C. Se
enfría la solución a -20°C y la solución de anhídrido mixto
fría de la Etapa A se agrega lentamente a lo largo de un pe-
25 ríodo de 30 minutos. La mezcla de reacción se agita durante
hora y media más a -20°C y después durante 17 horas a 23°C.
Después la mezcla de reacción se vierte en 150 ml de agua a
23°C con agitación, el pH (7,75) se ajusta a 2,5 con HCl 3N
y se continúa agitando durante 15 minutos. Después se separa
30 la acetona a vacío a 40°C. Una parte alícuota de la solución

1 acuosa resultante se somete a análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento. La curva resultante indica un rendimiento del 34,33 % de di-Cbz-amikacina.

5 La mayor parte de la solución acuosa se reduce a una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) a 23°C durante 3 horas 15 minutos, utilizando 2,0 g de catalizador de paladio en carbón. Se separa el catalizador por filtración y se determina por análisis microbiológico frente a E. coli que el filtrado y las aguas de lavado combinados contienen un rendimiento del 35,0 % de amikacina.

10 EJEMPLO 6

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en ciclohexanona anhidra durante tiempos variables

15 A. Se acilan durante 20 horas a 23°C, 2,537 g de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 1 (2,0 milimoles, calculada como 6'-N-Cbz-kanamicina A (sililo)₉) en 300 ml de ciclohexanona seca con una solución de NAE en ciclohexanona seca (10,8 ml de solución de 0,1944 milimoles/ml, 2,10 milimoles). Después la mezcla de reacción se agrega a 150 ml de agua con agitación y el pH (5,6) se ajusta a 2,5 con HCl 3N. La ciclohexanona se separa a vacío a 40°C y se toma una parte alícuota de la fase acuosa residual para análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento. La porción principal de la fase acuosa se reduce bajo una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) durante 3 horas a 23°C, empleando 1,0 g de catalizador de paladio al 10 % en carbón. El catalizador se separa por filtración y el filtrado combinado con las aguas de lavado se analiza microbiológicamente para determinar la amikacina

20

25

30

1 B. Se repite la reacción A anterior, a excepción de que la acilación se prosigue durante 115 horas en lugar de 20 horas.

Rendimientos

6

	Análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (di-Cbz-amikacina)	Análisis microbiológico de amikacina	
		<u>Turbidimetría</u>	<u>Placa</u>
Reacción A	49,18 %	42,87 %	39,16 %
Reacción B	56,17 %	55,39 %	38,45 %

10

EJEMPLO 7

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en tetrahydrofurano anhidro durante tiempos variables

15

A. Se repite el Ejemplo 6 A a excepción de que se utiliza tetrahydrofurano seco como disolvente en lugar de ciclohexanona seca.

B. Se repite el Ejemplo 6 B a excepción de que se utiliza tetrahydrofurano seco como disolvente en lugar de ciclohexanona seca.

20

Rendimientos

	Análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (di-Cbz-amikacina)	Análisis microbiológico de amikacina	
		<u>Turbidimetría</u>	<u>Placa</u>
Reacción A	29,27 %	28,34 %	28,18 %
Reacción B	33,39 %	21,52 %	28,63 %

25

EJEMPLO 8

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en dioxano anhidro durante tiempos variables

30

A. Se repite el Ejemplo 6 A a excepción de que la aci-

1 lación se prosigue durante 44 horas, utilizando dioxano se-
co como disolvente.

5 B. Se repite el Ejemplo 6 B a excepción de que la
acilación se prosigue durante 18,5 horas, utilizando dioxa-
no seco como disolvente.

	<u>Rendimientos</u>		
	<u>Análisis por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (di-Cbz-amikacina)</u>	<u>Análisis microbiológico de amikacina</u>	
		<u>Turbidimetría</u>	<u>Placa</u>
10 Reacción A	39,18 %	43,27 %	33,36 %
Reacción B	42,82 %	22,55 %	33,37 %

EJEMPLO 9

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A en dietilcetona anhidra a 75°C

15 A una solución agitada de 2,537 g de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 1 (2,0 milimoles, calculada como 6'-N-Cbz-kanamicina A (sililo)₉) en 32 ml de dietilcetona secada sobre tamices moleculares a 75°C, se añaden 10,8 ml de una solución de NAE en
20 dietilcetona (0,1944 milimoles/ml, 2,10 milimoles), a lo largo de un periodo de 15 minutos. Se continúa agitando a 75°C durante 3 horas más, transcurridas las cuales la mezcla se vierte en 150 ml de agua. El pH se ajusta a 2,8 con HCl 3N y la dietilcetona se destila a vacío a 40°C. El análisis
25 por cromatografía de líquidos de alto rendimiento de una parte alícuota de la fase acuosa indica un rendimiento del 39,18 % de di-Cbz-amikacina.

30 La porción principal de la fase acuosa se reduce bajo una presión de hidrógeno de 49,8 psi (3,4 kg/cm²) durante 3 horas 15 minutos a 23°C, empleando 1,0 g de catalizador

1 de paladio en carbón. El catalizador se separa por filtra-
ción y el filtrado combinado con las aguas de lavado se ana-
liza microbiológicamente para determinar la amikacina. El
análisis turbidimétrico indica un rendimiento del 27,84 %
5 y el análisis en placa indica un rendimiento del 28,6 %.

EJEMPLO 10

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-kanamicina A con NAE a 0-5° después de retro-hidroli-
zar con agua

10 A. Sililación de kanamicina A empleando HMDS con TMCS como catalizador

Se llevan a reflujo en atmósfera de nitrógeno 10 g de
kanamicina A (97,6 % de pureza, 20,14 milimoles) en 160 ml
de acetonitrilo secado en tamices moleculares. Se añade a
15 la mezcla de reacción a reflujo, a lo largo de 10 minutos,
una mezcla de 22,76 g de HMDS (141 milimoles, 7 moles por
mol de kanamicina A) y 1 ml de TMCS (0,856 g, 7,88 milimoles).
Se continúa refluendo durante 4 horas 45 minutos y después
la mezcla se enfría, se concentra a vacío hasta un jarabe
viscoso amarillo y se seca bajo alto vacío durante 2 horas.
20 El rendimiento de producto es de 23,8 g (97,9 %, calculado
como kanamicina (sililo)₁₀).

B. Acilación

25 Se disuelven 23,8 g (20,14 milimoles) de poli(trimetilsilil)kanamicina A, preparada en la Etapa A anterior,
en 250 ml de acetona secada sobre tamices moleculares, a
23° y después se enfría a 0-5°. Se añaden con agitación 3,63
ml de agua (201,4 milimoles, 10 moles por mol de kanamicina
A polisililada) y la mezcla se deja en reposo bajo moderado
30 vacío durante 30 minutos. Después se añaden a lo largo de

1 menos de 1 minuto 19,133 milimoles de NAE (0,95 moles por
mol de kanamicina A polisililada) en 108,3 ml de acetona.
La mezcla se agita a 0-5° durante una hora, se diluye con
5 agua, se ajusta el pH a 2,5 y después se separa la acetona
a vacío. Después la solución acuosa se reduce bajo una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) a 23°, durante 2,5 horas, empleando 2,0 g de paladio al 2 % en carbón como catalizador. La mezcla de reacción reducida se filtra a través de Dicalite, se concentra hasta unos 100 ml a vacío a 40° y después se carga en una columna CG-50 (NH₄⁺) (6 litros de resina, 5 x 100 cm). Se lava con agua y después se eluye con NH₄OH 0,6N-1,0N-3N. Se obtienen 60,25 % de amikacina, 4,37 % de BB-K6, 4,35 % de BB-K29, 26,47 % de kanamicina A y 2,18 % de poliacilos.

15 EJEMPLO 11

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A con SAE a 0-5° después de retro-
metanolisis

20 A. Sililación de 6'-N-Cbz-kanamicina A

Se llevan a reflujo en atmósfera de nitrógeno 20,0 g (32,4 milimoles) de 6'-N-Cbz-kanamicina A en 200 ml de acetónitrilo secado en tamices moleculares. Se añaden a lo largo de 10 minutos 47,3 ml de HMDS (226,8 milimoles, 7 moles por mol de 6'-N-Cbz-kanamicina A) y se continúa calentando a reflujo durante 20 horas. Después la mezcla se enfría, se concentra a vacío y se seca bajo alto vacío durante 2 horas para dar 39,1 g de un sólido amorfo blanco (rendimiento 95,4 %, calculado como 6'-N-Cbz-kanamicina A (sililo)₉).

25 B. Acilación

30 Se disuelven agitando a 23° 39,1 g (32,4 milimoles)

1 de poli(trimetilsilil)-6'-N-Cbz-kanamicina A, preparada en
la Etapa A anterior, en 400 ml de acetona seca. Se añaden
6,6 ml de metanol (162 milimoles, 5 moles por mol de 6'-N-
Cbz-kanamicina A polisililada) y la mezcla se agita a 23°
5 durante una hora bajo una intensa corriente de nitrógeno.
La mezcla se enfría a 0-5° y se añade una solución de 11,35 g
(32,4 milimoles) de SAE en 120 ml de acetona seca previamente
enfriada. La mezcla se agita durante 3 horas más a 0-5° y
después se introduce en un recinto frío a 4° durante una se-
10 mana. Se añaden 300 ml de agua, se ajusta el pH a 2,0, se
agita la mezcla durante una hora y después se separa la ace-
tona a vacío. La solución acuosa resultante se reduce a una
presión de hidrógeno de 54,0 psi (3,8 kg/cm²) durante 17 ho-
ras a 23°, empleando 3,0 g de paladio al 10 % en carbón como
15 catalizador. Después se filtra a través de Dicalite, se con-
centra a vacío a 75-100 ml, se carga en una columna de CG-
50 (NH₄⁺) y se eluye con agua y NH₄OH 0,6N. Se obtienen
52,52 % de amikacina, 14,5 % de BB-K29, 19,6 % de kanamici-
na A y 1,71 % de poliacilos.

20

EJEMPLO 12

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)kanamicina A con SAE a 0-5° después de retro-hidrólisis

con agua

25

A. Sililación de kanamicina A con TMCS en acetonitrilo, em-
pleando tetrametilguanidina como aceptor de ácido

30

Se suspenden 4,88 g (10,07 milimoles) de kanamicina A en 100 ml de acetonitrilo secado en tamices moleculares, agitando a 23°. A la suspensión agitada se añaden 16,234 g de tetrametilguanidina (TMG) (140,98 milimoles, 14 moles por mol de kanamicina A). La mezcla se calienta a reflujo y se

1 añaden a lo largo de 15 minutos 15,32 g de TMCS (140,98 mi-
limoles, 14 moles por mol de kanamicina A). Se forma un
precipitado blanco de TMG.HCl después de haber agregado
alrededor de la mitad de la TMCS. La mezcla se enfría a la
5 temperatura ambiente, se concentra hasta un residuo pegajo-
so y se seca bajo alto vacío durante 2 horas. El sólido se
tritura con 100 ml de tetrahidrofurano seco y el TMG.HCl
insoluble se separa por filtración y se lava cinco veces
con 20 ml de THF. El filtrado combinado con las aguas de
10 lavado se concentra a vacío a 40° hasta un residuo pegajoso
y se seca bajo alto vacío durante 2 horas. Se obtienen
10,64 g de un residuo pegajoso color crema pálido (rendi-
miento 87,6 %, calculado como kanamicina A (sililo)₁₀).

B. Aclilación

15 Se disuelven 10,64 g (10,07 milimoles) de poli(trim-
tilsilil)kanamicina A, preparada en la Etapa A anterior, en
110 ml de acetona secada en tamices moleculares, agitando
a 23° y la solución se enfría a 0-5°. Se añaden 1,81 ml de
agua (100,7 milimoles, 10 moles por mol de kanamicina A po-
20 lisililada) y la solución se agita durante 30 minutos bajo
un vacío moderado. Se añaden a lo largo de menos de 1 minu-
to 3,70 g de SAE (10,57 milimoles, exceso del 5 %) en 40 ml
de acetona seca previamente enfriada y la mezcla se agita
durante una hora. La mezcla se trata siguiendo el procedi-
25 miento general del Ejemplo 11 B para dar aproximadamente
50 % de amikacina, 10 % de BB-K29, 5-8 % de BB-K6, 20 % de
kanamicina A y 5-8 % de poliacilos.

30

EJEMPLO 13

Preparación de poli(trimetilsilil)kanamicina A, empleando trietilclorosilano con trietilamina como aceptor de ácido

Se suspenden 5,0 g de kanamicina A (pureza 97,6 %, 10,07 milimoles) en 100 ml de acetonitrilo secado sobre tamices moleculares, a 23°. Se añaden 33,8 ml de trietilamina (TEA) (24,5 g, 241,7 milimoles) y la suspensión se lleva a reflujo. Se añade a lo largo de 20 minutos una solución de 23,7 ml de tricloroetilsilano (21,3 g, 140,98 milimoles) en 25 ml de acetonitrilo seco. Se continúa refluendo durante 7 horas más y después la mezcla se enfría a la temperatura ambiente con lo que se separan largas agujas finas de TEA.HCl. La mezcla se deja en reposo a la temperatura ambiente durante unas 16 horas, se concentra a vacío a 40° hasta formar un sólido pegajoso y se seca durante 2 horas bajo alto vacío para dar un sólido pegajoso de color naranja intenso. El sólido se tritura con 100 ml de tetrahidrofurano seco a 23° y el TEA.HCl insoluble se separa por filtración, se lava cinco veces con 20 ml cada vez de tetrahidrofurano y se seca para dar 16,0 g de TEA.HCl. El filtrado combinado con las agujas de lavado se concentra a vacío hasta dar un sólido que se seca bajo alto vacío durante 2 horas. Se obtienen 19,3 g de poli(trimetilsilil)kanamicina A en forma de jarabe viscoso de color naranja intenso.

EJEMPLO 14

Preparación de poli(trimetilsilil)kanamicina A empleando bis-trimetilsililurea

Se suspenden 10,0 g de kanamicina A (pureza 99,7 %, 20,58 milimoles) en 200 ml de acetonitrilo secado con tamices moleculares, con agitación, a 23°. A la suspensión se

1 añaden 29,45 g (144,01 milimoles, 7 moles por mol de kanami-
cina) de bis-trimetilsililurea (BSU) y la mezcla se lleva a
reflujo en atmósfera de nitrógeno. Se continúa refluendo
5 durante 17 horas y la mezcla de reacción se enfría después
a la temperatura ambiente. Una pequeña cantidad de materia
insoluble presente se separa por filtración, se lava tres
veces con 10 ml de acetonitrilo y se seca (1,1381 g). El
espectro infrarrojo indica que este material es BSU más
una pequeña cantidad de kanamicina A que no ha reaccionado.
10 El filtrado combinado con las aguas de lavado se enfría a
4° durante 16 horas. Se separa un sólido adicional que se
recupera como antes (7,8 g), demostrándose por análisis
infrarrojo que es BSU más urea. El filtrado amarillo pálido
15 junto con las aguas de lavado se concentra a vacío a 40°
y se seca bajo alto vacío para dar 27,0 g de un sólido
blanco que es parcialmente pegajoso y parcialmente cristales
aciculares finos. El sólido se trata con 150 ml de heptano
a 23°, se separa la materia insoluble por filtración, se
20 lava dos veces con 50 ml cada vez de heptano y se seca, pa-
ra dar 6,0 g de agujas blancas (por análisis infrarrojo se
demuestra que están constituidas por BSU más urea). El fil-
trado combinado con las aguas de lavado se concentra a vacío
a 40° y se seca bajo alto vacío durante 2 horas para dar
25 20,4 g de agujas blancas, cuyo espectro infrarrojo es típico
de la kanamicina A polisililada. Los cálculos demuestran que
el producto contiene por término medio 7,22 grupos trimetil-
sililo.

1

EJEMPLO 15

Preparación de amikacina por acilación de per(trimetilsilil)kanamicina A después de desililación parcial con 1,3-butanodiol

5

A. Preparación de per(trimetilsilil)kanamicina A

10

Se suspenden 10,0 g (20,639 milimoles) de kanamicina A en 100 ml de acetonitrilo secado con tamices moleculares, agitando a 23°. La suspensión se lleva a reflujo bajo corriente de nitrógeno y se añaden a lo largo de 10 minutos 23,322 g de HMDS (144,5 milimoles, 7 moles por mol de kanamicina A). Se continúa refluendo durante 16 horas y después la mezcla se enfría a la temperatura ambiente, se concentra a vacío y se seca durante 2 horas bajo alto vacío. Se obtienen 24,3 g de un residuo pegajoso blanco (rendimiento 92,1 %, calculado como kanamicina A (sililo)₁₁).

15

B. Acilación

20

Se disuelven 24,3 g de per(trimetilsilil)kanamicina A preparada en la Etapa A anterior en 240 ml de acetona secada en tamices moleculares, agitando a 23°. A esta solución se añaden 9,25 ml de 1,3-butanodiol (103,2 milimoles, 5 moles por mol de per(trimetilsilil)kanamicina A). La mezcla se agita a 23° durante 2 horas bajo corriente de nitrógeno y después se enfría a 0-5°. Se añaden a lo largo de 1 minuto aproximadamente 7,23 g (20,64 milimoles) de SAE en 70 ml de acetona previamente enfriada. La mezcla se agita a 0-5° durante 3 horas y después se deja en reposo en un recinto frío a 4° durante unas 16 horas. Se añaden 200 ml de agua, se ajusta el pH a 2,5 y la solución amarilla transparente se agita a 23° durante 30 minutos. La acetona se destila a vacío y la solución acuosa se reduce a una presión de hidróge-

25

30

1 no de 55,0 psi (3,8 kg/cm²) a 23° durante 2 horas, empleando
3,0 g de paladio al 10 % en carbón como catalizador. La so-
lución reducida se filtra a través de Dicalite y se cromato-
5 grafía como en el Ejemplo 11 B para dar 47,50 % de amikaci-
na, 5,87 % de BB-K29, 7,32 % de BB-K6, 24,26 % de kanamici-
na A y 7,41 % de poliacilos.

EJEMPLO 16

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsil-
10 lil)kanamicina A preparada en THF, empleando SAE en ácido
sulfámico como catalizador

15 A una mezcla a reflujo de 5,0 g (10,32 milimoles) de
kanamicina A en 50 ml de tetrahidrofurano (THF) secado en
tamices moleculares se añaden 100 mg de ácido sulfámico y
12,32 g (76,33 milimoles) de HMDS. La mezcla se calienta a
reflujo durante 18 horas, produciéndose la disolución com-
pleta al cabo de 6 horas. La solución se enfría a 23°, se
trata con 0,1 ml de agua y se mantiene a 23° durante 30 mi-
20 nutos. Se añade a lo largo de 30 minutos una solución de
3,61 g (10,3 milimoles) de SAE en 36 ml de tetrahidrofurano.
Después de agitar durante 3 horas, la mezcla se diluye con
100 ml de agua y el pH se ajusta a 2,2 con H₂SO₄ al 10 %.
Se agita durante 30 minutos a 23° y después se concentra a
vacío para separar el tetrahidrofurano. La solución acuosa
25 resultante se reduce a una presión de hidrógeno de 50 psi
(3,5 kg/cm²) durante 2 horas a 23°, empleando paladio al
10 % en carbón como catalizador. La solución reducida se
filtra a través de Dicalite y el sólido se lava con agua. Por
análisis microbiológico frente a E. coli del filtrado combina-
do con las aguas de lavado (150 ml) se determina que contie-
30 ne 1225 mcg/ml (rendimiento 31,5 % de actividad) de amikacina.

EJEMPLO 17

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)kanamicina A con el éster de N-hidroxisuccinimida de di-carbobenciloxi-AAHB

A. Preparación del éster de N-hidroxisuccinimida del ácido dicarbobenciloxi-L-(-)- α -amino- α -hidroxibutírico

Se disuelven 8 g (20,65 milimoles) de ácido dicarbobenciloxi-L-(-)- α -amino- α -hidroxibutírico y 2,37 g (20,65 milimoles) de N-hidroxisuccinimida en 50 ml de acetona seca a 23°. Se añaden 4,25 g (20,65 milimoles) de dicitclohexilcarbodiimida disueltos en 20 ml de acetona seca y la mezcla se agita a 23° durante 2 horas. Se filtra la dicitclohexilurea, se lava la torta del filtro con 10 ml de acetona seca y el filtrado y las aguas de lavado se combinan.

B. Acilación

En 100 ml de acetona seca se disuelve poli(trimetilsilil)kanamicina A, preparada por el procedimiento general del Ejemplo 15 a partir de 10,0 g (20,639 milimoles) de kanamicina A. La solución se enfría a 0-5°, se añaden 3,7 ml de agua desionizada y la solución se agita a 0-5° durante 30 minutos a vacío moderado.

A esta solución se agrega la solución del agente acilante di-Cbz-bloqueado preparado en la Etapa A y la mezcla se agita a 0-5° durante 30 minutos. Se diluye la mezcla con agua, se ajusta el pH a 2,2 y se separa la acetona a vacío. La solución acuosa se reduce por el procedimiento general del Ejemplo 16 y después se filtra a través de Dicalite. La cromatografía indica que se ha obtenido 40-45 % de amikacina, alrededor de 10 % de BB-K29, trazas de BB-K6, alrededor del 30 % de kanamicina A y una pequeña cantidad de poliacilos.

1

EJEMPLO 18

Preparación de poli(trimetilsilil)kanamicina A, empleando HMDS con imidazol como catalizador

5

Se calientan a reflujo 11 g (22,7 milimoles) de kanamicina A y 100 mg de imidazol en 100 ml de acetonitrilo secado en tamices moleculares, bajo corriente de nitrógeno. Se añaden a lo largo de 30 minutos 18,44 g de HMDS (114,5 milimoles, 5 moles por mol de kanamicina A) y la mezcla se calienta a reflujo durante 20 horas. Se produce la disolución completa en unas 2,5 horas. La solución se enfría a 23° y el disolvente se separa a vacío para dar 21,6 g de poli(trimetilsilil)kanamicina A como espuma residual (rendimiento 93,1 %, calculado como kanamicina (sililo)₁₁).

10

EJEMPLO 19

15

Preparación de 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}kanamicina B (BB-K26) por acilación de poli(trimetilsilil)kanamicina B con SAE

A. Preparación de poli(trimetilsilil)kanamicina B empleando HMDS con TMCS como catalizador

20

Se calientan a reflujo bajo corriente de nitrógeno 25 g (51,7 milimoles) de kanamicina B en 250 ml de acetonitrilo secado sobre tamices moleculares. Se añaden a lo largo de 30 minutos 62,3 g de HMDS (385,81 milimoles, 7,5 moles por mol de kanamicina B), seguidos de 1 ml de TMCS como catalizador. La mezcla se calienta a reflujo durante 21 horas con disolución completa al cabo de una hora. Después se separa el disolvente a vacío a 60° y el residuo oleoso se mantiene a 60° bajo alto vacío durante 3 horas. Se obtienen 53,0 g de poli(trimetilsilil)kanamicina B (rendimiento 85,2 %, calculado como kanamicina B (sililo)₁₀).

25

30

1 B. Acilación

5 Se disuelven 53,0 g de la poli(trimetilsilil)kanamicina B preparada en la Etapa A anterior en 500 ml de acetona seca a 0-5°, se añaden 20,9 ml de metanol y la mezcla se
10 agita a vacío durante 30 minutos a 0-5°. Se agrega a lo largo de menos de 1 minuto una solución de 18,1 g (51,67 milimoles) de SAE en 200 ml de acetona seca previamente enfriada y la mezcla se agita durante 30 minutos a 0-5°. La mezcla se trata por el procedimiento general del Ejemplo 22
15 y después se carga en una columna de CG-50 (NH₄⁺) (8 x 120 cm). Se eluye con un gradiente de NH₄OH de 0,6N a 3N. Se obtiene 38 % de BB-K26, 5 % de la correspondiente kanamicina B 6'-N-acilada (BB-K22), 10 % de la correspondiente kanamicina B 3-N-acilada (BB-K46), 14,63 % de kanamicina B y una pequeña cantidad de kanamicina B poliacilada.

EJEMPLO 20

Preparación de poli(trimetilsilil)kanamicina A, empleando

HMDS con sulfato de kanamicina A como catalizador

20 Se llevan a reflujo 19,5 g (40,246 milimoles) de kanamicina A y 0,5 g (0,858 milimoles) de sulfato de kanamicina A (total = 20,0 g, 41,0 milimoles) en 200 ml de acetonitrilo secado con tamices moleculares. Se añaden lentamente
25 60,3 ml de HMDS (287,7 milimoles, 7 moles por mol de kanamicina A) y la mezcla se calienta a reflujo durante 28 horas. Después se destila a sequedad en un evaporador rotatorio y se seca bajo vacío del inyector de vapor de agua. Se obtienen 47,5 g de poli(trimetilsilil)kanamicina A como aceite amarillo pálido (rendimiento 95,82 %, calculado como kanamicina A (sililo)₁₀).

30

EJEMPLO 21

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)kanamicina A con éster de N-hidroxisuccinimida de AAHB
bloqueado con N-trifluoracetilo

A. Preparación de N-trifluoracetil-AAHB y conversión en su éster de N-hidroxisuccinimida

A una suspensión de 5,0 g (42 milimoles) de AAHB en 100 ml de tetrahidrofurano se añaden 40 g (191 milimoles) de anhídrido trifluoracético, con agitación, a lo largo de 10 minutos. La solución se agita durante 18 horas a 23° y después se concentra a sequedad a vacío a 50°. El residuo se disuelve en 100 ml de metanol acuoso (1:1) y se agita durante una hora. Después se concentra a sequedad a vacío y se redisuelve en 50 ml de agua. La solución acuosa se extrae tres veces con 50 ml de metilisobutilcetona y, después de secar sobre sulfato sódico, el extracto se concentra a un aceite. Las trazas de disolvente se eliminan agregando y destilando 4 ml de agua. Dejando en reposo, el aceite se transforma en un sólido cristalino céreo (2,5 g, rendimiento 28 %).

Se disuelven 2,4 g (11,3 milimoles) de N-trifluoracetil-AAHB en 50 ml de acetona seca y se añaden a la solución 1,30 g (11,31 milimoles) de N-hidroxisuccinimida. Se añade lentamente una solución de 2,33 g de dicitclohexilcarbodiimida en 20 ml de acetona seca. La mezcla de reacción se agita durante 2 horas a 23°C y la dicitclohexilurea precipitada se separa por filtración y se lava con una pequeña cantidad de acetona. El filtrado combinado con las aguas de lavado (una solución del éster de N-hidroxisuccinimida del N-trifluoracetil-AAHB) se utiliza en la siguiente etapa sin aislarlo.

1 B. Acilación

5 A una solución de 11,31 milimoles de poli(trimetilsilil)kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 20, en 54 ml de acetona se añaden 2,0 ml (113,4 milimoles) de agua y la
mezcla se agita a vacío a 0-5° durante 30 minutos. Se añaden
10 a la mezcla 11,31 milimoles del éster de N-hidroxisuccinimida del N-trifluoracetil-AAHB preparado en la Etapa A anterior y después se mantiene a 5° durante una hora. Después se ajusta el pH a 2,0 aproximadamente con H₂SO₄ al 20 %, se agita la mezcla durante 30 minutos y a continuación se
15 eleva el pH hasta 6,0 aproximadamente con NH₄OH. Después la mezcla se evapora a sequedad en un evaporador rotatorio para dar 14,4 g de un sólido blanquecino pegajoso. El sólido se disuelve en 100 ml de agua, se eleva el pH desde 5,5 hasta 11,0 con NH₄OH 10N y la solución se calienta en un baño de aceite a 70° durante una hora. Después el pH (9,5) se reduce a 7,0 con HCl, la solución se filtra para eliminar una pequeña cantidad de materia insoluble y el filtro se lava con agua. El filtrado combinado con las aguas de lavado (188 ml) se aplica a una columna CG-50 (NH₄⁺) (8 x 90 cm) se lava con 2 litros de agua y se eluye con un gradiente de NH₄OH (0,6N-1,0N-concentrado). Se obtiene 28,9 % de amikacina, 5,0 % de BB-K6, 5,7 % de BB-K29, 43,8 % de kanamicina A, 3,25 % de poliacilos más 14,3 % de un material desconocido que se encontraba en la primera fracción de la columna.

20 EJEMPLO 22

Preparación de amikacina por acilación de poli(trimetilsilil)kanamicina A con el éster de N-hidroxisuccinimida del AAHB bloqueado con t-butilóxicarbonilo

25 A. Preparación de t-BOC-AAHB y conversión en su éster de

30

1 N-hidroxisuccinimida

5 Una solución de 5,0 g (42 milimoles) de AAHB en 100 ml de agua y 20 ml de acetona se ajusta a pH 10 con NaOH 10N. A lo largo de un periodo de 3-4 minutos, se añaden 11,6 g (53 milimoles) de dicarbonato de di-t-butilo y la solución se agita durante 35 minutos mientras se mantiene el pH a 10 mediante la adición periódica de NaOH 10N. La acetona se separa a vacío y la fase acuosa se lava con 40 ml de acetato de etilo. El pH de la solución acuosa se reduce a 2,0 con HCl 3N y después se extrae tres veces con 30 ml cada vez de metilisobutilcetona. Los extractos combinados de metilisobutilcetona se secan sobre sulfato sódico y se concentran a un residuo oleoso transparente (8,2 g, 89 %).

10 Se disuelven 4,25 g (19,4 milimoles) de t-BOC-AAHB en 15 50 ml de acetona y se añaden 2,23 g (19,4 milimoles) de N-hidroxisuccinimida. Se añade lentamente una solución de 4,00 g (19,4 milimoles) de diciclohexilcarbodiimida en 20 ml de acetona y la mezcla se agita durante 2 horas a 23°. La diciclohexilurea precipitada se separa por filtración y se lava con una pequeña cantidad de acetona. El filtrado combinado con las aguas de lavado (una solución del éster de N-hidroxisuccinimida de t-BOC-AAHB) se utiliza en la siguiente etapa sin aislarlo.

20 B. Acilación

25 A una solución de 41,28 g milimoles de poli(trimetilsilil)kanamicina A, preparada como en el Ejemplo 20, en 94 ml de acetona se añaden 3,5 ml (194 milimoles) de agua y la mezcla se agita a vacío a 0-5° durante 30 minutos. Se añaden 19,4 milimoles del éster de N-hidroxisuccinimida de t-BOC-AAHB preparado en la Etapa A anterior y la mezcla se de-

30

1 ja en reposo a 5° durante una hora. Se añaden 200 ml de
agua y el pH (7,0) se reduce a 2,0 con H₂SO₄ al 20 %. Al
cabo de 30 minutos de agitación, el pH se eleva hasta 6,0
aproximadamente con NH₄OH y la mezcla se evapora a sequedad
5 a vacío para dar 36,3 g de un aceite dorado. El aceite se
disuelve en 200 ml de ácido trifluoracético, se deja en
reposo durante 15 minutos y se evapora a sequedad en un eva-
porador rotatorio. El aceite se lava con agua y el agua se
evapora instantáneamente. Se agrega NH₄OH concentrado hasta
10 pH 6,0 y después se evapora instantáneamente. El sólido re-
sultante se disuelve en agua, se filtra y el filtro se lava
con agua. El filtrado combinado con las aguas de lavado
(259 ml) se carga en una columna CG-50 (NH₄⁺) (8 x 92 cm),
se lava con 4 litros de agua y se eluye con un gradiente
15 de NH₄OH (0,6N-1,0N-concentrado). Se obtiene 40,32 % de
amikacina, 4,58 % de BB-K6, 8,32 % de BB-K29, 30,50 % de ka-
namicina A y 7,43 % de poliacilos.

EJEMPLO 23

20 Se repite el procedimiento general del Ejemplo 10, a
excepción de que la kanamicina A allí utilizada se sustituye
por una cantidad equimolecular de:

- 25 3'-desoxikanamicina A,
6'-N-metilkanamicina A,
3'-desoxi-6'-N-metilkanamicina A,
kanamicina B,
6'-N-metilkanamicina B,
tobramicina (3'-desoxikanamicina B),
6'-N-metiltobramicina,
aminoglicósido-NK-1001
30 3'-desoxi-aminoglicósido NK-1001,

1 6'-N-metil-aminoglicósido NK-1001,
3'-desoxi-6'-N-metil-aminoglicósido NK-1001,
gentamicina A,
3'-desoxigentamicina A,
5 gentamicina B,
3'-desoxigentamicina B,
6'-N-metilgentamicina B,
3'-desoxi-6'-N-metilgentamicina B,
gentamicina B₁,
10 3'-desoxigentamicina B₁,
6'-N-metilgentamicina B₁,
3'-desoxi-6'-N-metilgentamicina B₁,
gentamicina X₂,
seldomicina factor 1 y
15 seldomicina factor 2, respectivamente,
produciéndose así:
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3'-desoxikanamicina A,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metilkanamicina A,
20 1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3'-desoxi-6'-N-metil-
kanamicina A,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}kanamicina B,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metilkanamicina B,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}tobramicina,
25 1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metiltobramicina,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}aminoglicósido-NK-1001,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3'-desoxi-aminoglicó-
sido-NK-1001,
1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metil-aminoglicósi-
do NK-1001,
30 1-N-{L(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3'-desoxi-6'-N-metil-

1

aminoglicósido NK-1001,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}gentamicina A,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxigentamicina A,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}gentamicina B,

5

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxigentamicina B,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilgentamicina B,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxi-6'-N-metilgen-
tamicina B₁,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}gentamicina B₁,

10

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxigentamicina B₁,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilgentamici-
na B₁,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxi-6'-N-metilgen-
tamicina B₁,

15

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}gentamicina X₂,

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}seldomicina factor 1 y

1-N-{L(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}seldomicina factor 2,

respectivamente.

20

La reacción de cada uno de los aminoglicósidos de par-
tida antes citados, de la misma forma, con el éster de N-hi-
droxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L(-)- β -bencil-
oxycarbonilamino- α -hidroxipropiónico en lugar del éster de
N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L(-)- γ -
benciloxycarbonilamino- α -hidroxibutírico, produce los co-
rrespondientes 1-N-{L(-)- β -amino- α -hidroxipropionil}amino-
glicósidos.

25

30

La reacción de cada uno de los aminoglicósidos de par-
tida citados anteriormente, de la misma manera, con el éster
de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L(-)-
 δ -benciloxycarbonilamino- α -hidroxivalérico en lugar del éster

1 de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-
γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-β-butyrico, produce los
correspondientes 1-N-{L-(-)-δ-amino-α-hidroxi-β-valeril}amino-
glicósidos.

5 EJEMPLO 24

Se repite el procedimiento general del Ejemplo 10 a
excepción de que el éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-di-
carboximida del ácido L-(-)-γ-benciloxicarbonilamino-α-hidro-
xi-β-butyrico allí utilizado se sustituye por:

10 éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido

L-(-)-β-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-β-propiónico y

éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido

L-(-)-δ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-β-valérico,

respectivamente y se obtienen así:

15 1-N-{L-(-)-β-amino-α-hidroxi-β-propionil}kanamicina A y

1-N-{L-(-)-δ-amino-α-hidroxi-β-valeril}kanamicina A, respec-
tivamente.

EJEMPLO 25

20 Se repite el procedimiento general del Ejemplo 1, a
excepción de que la 6'-N-carbobenciloxikanamicina A allí
utilizada se sustituye por una cantidad equimolecular de:

6'-N-carbobenciloxi-3',4'-didesoxikanamicina A,

6'-N-carbobenciloxi-3',4'-didesoxi-6'-N-metilkanamicina A,

25 2',6'-di-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxikanamicina B,

2',6'-di-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxi-6'-N-metilkana-
micina B,

2',6'-di-(N-carbobenciloxi)gentamicina C₁,

2*,6'-di-(N-carbobenciloxi)gentamicina C_{1a},

2',6'-di-(N-carbobenciloxi)-6'-N-metilgentamicina C_{1a},

30 2',6'-di-(N-carbobenciloxi)gentamicina C₂,

1 2',6'-di-(N-carbobenciloxi)-6'-N-metilgentamicina C₂ y
2',6'-di-(N-carbobenciloxi) aminoglicósido-XK-62-2,
respectivamente y se obtienen así:
5 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3',4'-didesoxikanami-
cina A,
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3',4'-didesoxi-6'-N-
metilkanamicina A,
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3',4'-didesoxikanami-
cina B,
10 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-3',4'-didesoxi-6'-N-
metilkanamicina B,
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril} gentamicina C₁,
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril} gentamicina C_{1a},
15 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metilgentamici-
na C_{1a},
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril} gentamicina C₂,
1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril}-6'-N-metilgentamicina
C₂ y
20 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxitiril} aminoglicósido-XK-62-2,
respectivamente.

25 La reacción de cada uno de los aminoglicósidos de par-
tida antes citados, de la misma manera, con el éster de N-
hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-β-ben-
ciloxicarbonilamino-α-hidroxi-β-propiónico en lugar del éster
de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-
γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxitirílico, produce los co-
rrespondientes 1-N-{L-(-)-β-amino-α-hidroxi-β-propiionil} amino-
glicósidos.

30 La reacción de cada uno de los aminoglicósidos de par-
tida antes citados, de la misma manera, con el éster de N-

1 hidroxí-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- δ -ben-
ciloxicarbonilamino- α -hidroxivalérico en lugar del éster de
N-hidroxí-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- γ -
5 benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico, produce los co-
rrespondientes 1-N-{1-(-)- δ -amino- α -hidroxivaleril}aminogli-
cósidos.

EJEMPLO 26

10 Se suspende 2',6'-di-(N-trifluoracetil)sisomicina en aceto-
nitrilo seco y se calienta a reflujo en atmósfera de nitró-
geno. Se añade hexametildisilazano (4 moles por mol de 2',6'-
di-(N-trifluoracetil)sisomicina) a lo largo de un período
de 30 minutos y la solución resultante se calienta a reflu-
jo durante 24 horas. Por separación del disolvente a vacío
se obtiene 2',6'-di-(N-trifluoracetil)sisomicina polisilila-
15 da sólida.

La 2',6'-di-(N-trifluoracetil)sisomicina polisililada
se acila con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)-
 γ -trifluoracetilamino- α -hidroxibutírico siguiendo el procedi-
miento general del Ejemplo 21 B y se trata como en el Ejem-
20 plo 21 B para dar 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}siso-
micina.

EJEMPLO 27

25 Se repite el procedimiento general del Ejemplo 26 a
excepción de que la 2',6'-di-(N-trifluoracetil)sisomicina
allí utilizada se sustituye por una cantidad equimolecular de:
2',6'-di-(N-trifluoracetil)-5-episisomicina,
2',6'-di-(N-trifluoracetil)-6'-N-metilsisomicina,
2',6'-di-(N-trifluoracetil)-6'-N-metil-5-episisomicina,
2',6'-di-(N-trifluoracetil)verdamicina,
30 2',6'-di-(N-trifluoracetil)-5-epiverdamicina,

1 2',6'-di-(N-trifluoracetil)-6'-N-metilverdamicina,
2',6'-di-(N-trifluoracetil)-6'-N-metil-5-epiverdamicina y
2',6'-di-(N-trifluoracetil)aminoglicósido-66-40D,
respectivamente y se obtienen así:

5 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-5-episisomicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilsisomicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-5-episiso-
micina,

10 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}verdamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-5-epiverdamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilverdamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-5-epiverda-
micina y

15 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}aminoglicósido-66-40D,
respectivamente.

La reacción de cada uno de los 2',6'-di-(N-trifluor-
acetil)aminoglicósidos de partida antes citados, de la misma
forma, con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)-
20 β -trifluoracetilamino- α -hidroxipropiónico en lugar del éster
de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -trifluoracetilami-
no- α -hidroxibutírico produce los correspondientes 1-N-{L-(-)-
 β -amino- α -hidroxipropionil}aminoglicósidos.

La reacción de cada uno de los 2',6'-di-(N-trifluorace-
25 til)aminoglicósidos de partida antes citados, de la misma
forma, con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)-
 δ -trifluoracetilamino- α -hidroxivalérico en lugar del éster
de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -trifluoracetilami-
no- α -hidroxibutírico produce los correspondientes 1-N-{L-(-)-
30 δ -amino- α -hidroxivaleril}aminoglicósidos.

EJEMPLO 28

Se repite el procedimiento general del Ejemplo 26 a excepción de que el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-(-)- γ -trifluoracetilamino- α -hidroxibutírico se sustituye por una cantidad equimolecular de los ésteres de N-hidroxisuccinimida de

ácido L-(-)- β -trifluoracetilamino- α -hidroxipropiónico y ácido L-(-)- δ -trifluoracetilamino- α -hidroxivalérico, respectivamente y se obtienen así

1-N-{L-(-)- β -amino- α -hidroxipropionil}sisomicina y 1-N-{L-(-)- δ -amino- α -hidroxivaleril}sisomicina, respectivamente.

EJEMPLO 29

Se repite el procedimiento general del Ejemplo 1 a excepción de que la 6'-N-carbobenciloxikanamicina A allí utilizada se sustituye por una cantidad equimolecular de

3-N-carbobenciloxi-ribostamicina,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxi-ribostamicina,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metil-ribostamicina,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metil-3'-desoxi-ribostamicina,
3-N-carbobenciloxineomicina B,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxineomicina B,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metilneomicina B,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metil-3'-desoxineomicina B,
3-N-carbobenciloxineomicina C,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxineomicina C,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metilneomicina C,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metil-3'-desoxineomicina C,
3-N-carbobenciloxixilostasina,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxixilostasina,

- 1 3-N-carbobenciloxi-6'-N-metilxilostasina,
3-N-carbobenciloxi-6'-N-metil-3'-desoxixilostasina,
3-N-carbobenciloxiparomomicina I,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxiparomomicina I,
5 2',3-di-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxiparomomicina I,
3-N-carbobenciloxiparomomicina II,
3-N-carbobenciloxi-3'-desoxiparomomicina II,
2',3-di-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxiparomomicina II,
3-N-carbobenciloxi-aminoglicósido 2230-C,
10 3-N-carbobenciloxi-3'-desoxi-aminoglicósido 2230-C,
3-N-carbobenciloxilividomicina A y
3-N-carbobenciloxilividomicina B,
respectivamente y se obtienen así:
15 1-N-{1-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril} ribostamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxi-ribostamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-ribostamicina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-3'-desoxi-
ribostamicina,
20 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril} neomicina B,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxineomicina B,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilneomicina B,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-3'-desoxineo-
micina B,
25 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril} neomicina C,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxineomicina C,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilneomicina C,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-3'-desoxi-
neomicina C,
30 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril} xilostasina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxixilostasina,

- 1 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metilxilostasina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-6'-N-metil-3'-desoxi-
xilostasina,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}paromomicina I,
5 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxiparomomicina I,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3',4'-didesoxiparomo-
micina I,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}paromomicina II,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxiparomomicina II,
10 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3',4'-didesoxiparomo-
micina II,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}aminoglicósido 2230-C,
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}-3'-desoxi-aminoglicósi-
do 2230-C,
15 1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}liyidomicina A y
1-N-{L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril}liyidomicina B, respec-
tivamente.

La reacción de cada uno de los aminoglicósidos protegidos con carbobenciloxi de partida antes citados, de la misma
20 manera, con el éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- β -benciloxicarbonilamino- α -hidroxipropiónico en lugar del éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- γ -benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico produce los correspondientes 1-N-{L-(-)- β -amino- α -hidroxipropionil}aminoglicósidos.
25

La reacción de cada uno de los aminoglicósidos protegidos con carbobenciloxi de partida antes citados, de la misma forma, con el éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)- δ -benciloxicarbonilamino- α -hidroxivalérico en lugar del éster de N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarbo-
30

1 ximida del ácido L-(-)-γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-
butírico produce los correspondientes 1-N-{L-(-)-δ-amino-α-hi-
droxivaleril}aminoglicósidos.

EJEMPLO 30

5 Se repite el procedimiento general del Ejemplo 1 a
excepción de que la 6'-N-carbobenciloxikanamicina A allí
utilizada se sustituye por una cantidad equimolecular de
2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxi-ribostamicina,
10 2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxineomicina B,
2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxineomicina C y
2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi)-3',4'-didesoxixilostásina
respectivamente y se obtienen así

15 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-
butiril}-3',4'-didesoxi-ribos-
bostamicina,

1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-
butiril}-3',4'-didesoxineomi-
cina B,

20 1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-
butiril}-3',4'-didesoxineomici-
na C y

1-N-{L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-
butiril}-3',4'-didesoxixilosta-
sina,

25 respectivamente.

La reacción de cada uno de los aminoglicósidos protegi-
dos con 2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi) de partida antes cita-
dos de la misma manera, con el éster de N-hidroxi-5-norbornen-

30

1 2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-β-benciloxicarbonilami-
no-α-hidroxi-β-ionico en lugar del éster de N-hidroxi-5-
norboren-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-γ-benciloxi-
5 bonilamino-α-hidroxi-β-ionico produce los correspondientes
1-N-{L-(-)-β-amino-α-hidroxi-β-ionico}aminoglicósidos.

10 La reacción de cada uno de los aminoglicósidos pro-
tegidos con 2',3,6'-tri-(N-carbobenciloxi) de partida antes
citados, de la misma manera, con el éster de N-hidroxi-5-
norboren-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-δ-benciloxi-
carbonilamino-α-hidroxi-β-ionico en lugar del éster de N-
15 hidroxi-5-norboren-2,3-dicarboximida del ácido L-(-)-γ-
benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-β-ionico produce los co-
rrespondientes 1-N-{L-(-)-δ-amino-α-hidroxi-β-ionico}amino-
glicósidos.

20

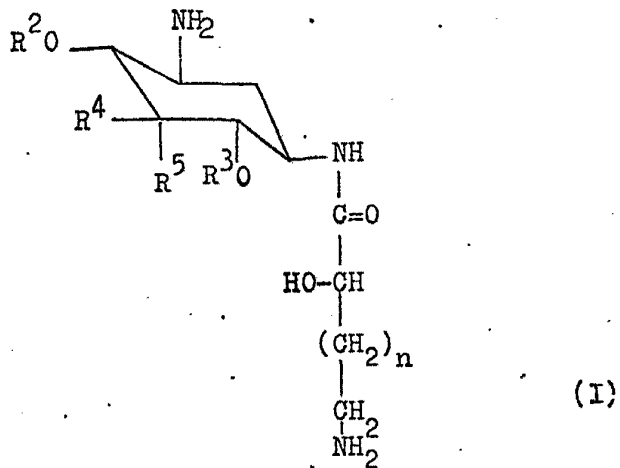
25

30

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

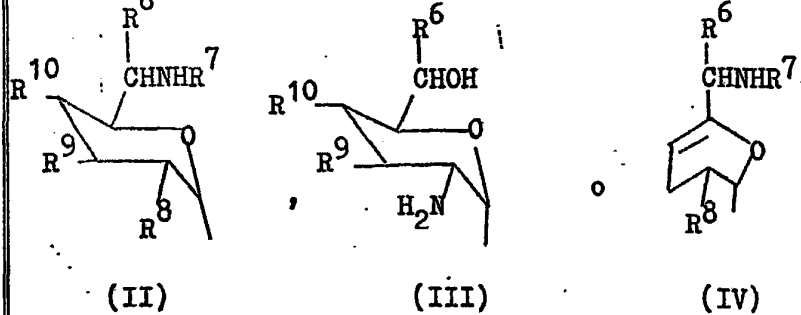
REIVINDICACIONES

5 1. Un procedimiento para la preparación de antibió-
ticos de 1-N-(ω -amino- α -hidroxialcanoil)aminoglicósido de
fórmula I:



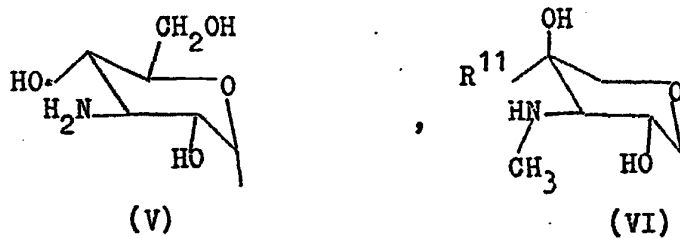
15 o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable
del mismo, donde n es un número entero de 0 a 4;

R^2 es un anillo hexopiranosilo de fórmula:

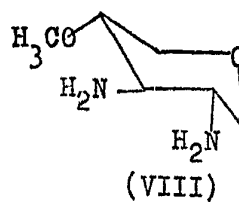
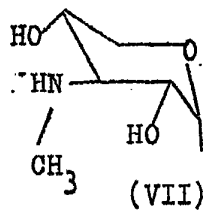


25 donde R^6 es H o CH_3 , R^7 es H o CH_3 , R^8 es OH o NH_2 , R^9 es
H u OH y R^{10} es H u OH;

R^3 es H o un anillo de hexopiranosilo de fórmula:



1



5

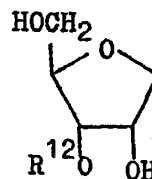
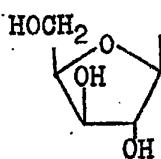
donde

R^{11} es H o CH_3 ;

R^5 es H u OH y

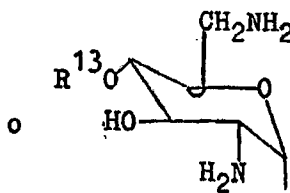
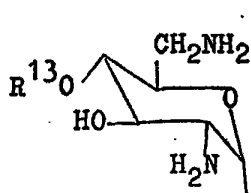
R^4 es H, OH o un anillo de pentofuranosilo de fórmula:

10



15

donde R^{12} es H o un anillo de hexopiranosilo de fórmula:



20

donde R^{13} es H o α -D-mannopiranosilo;

con la condición de que, cuando R^3 es distinto de H, uno de los radicales R^4 o R^5 es H y el otro es OH y

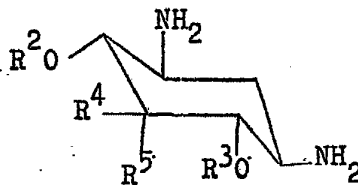
25

también con la condición de que, cuando R^3 es H, R^5 es H y R^4 es un anillo de pentofuranosilo de fórmula IX o X;

cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un aminoglicósido polisililado preparado a partir de un aminoglicósido de fórmula (XIV):

30

1

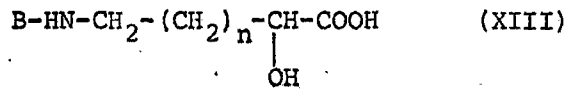


(XIV)

5

donde R², R³, R⁴ y R⁵ son los definidos anteriormente, y que opcionalmente contiene de 1 a 3 grupos de bloqueo del amino distintos del sililo sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1, en un disolvente orgánico esencialmente anhidro, con un derivado acilante de un ácido de fórmula:

10



15

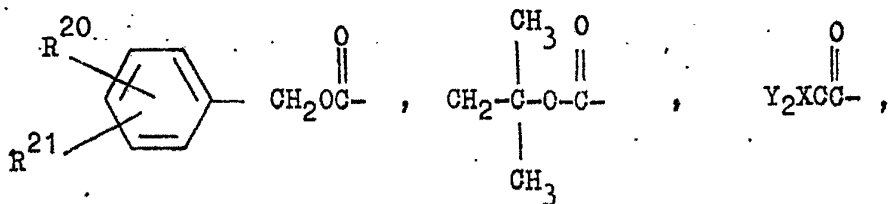
donde B es un grupo de bloqueo del amino y n es el definido anteriormente; y posteriormente eliminar todos los grupos de bloqueo.

20

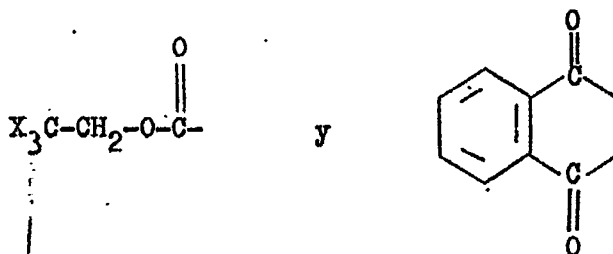
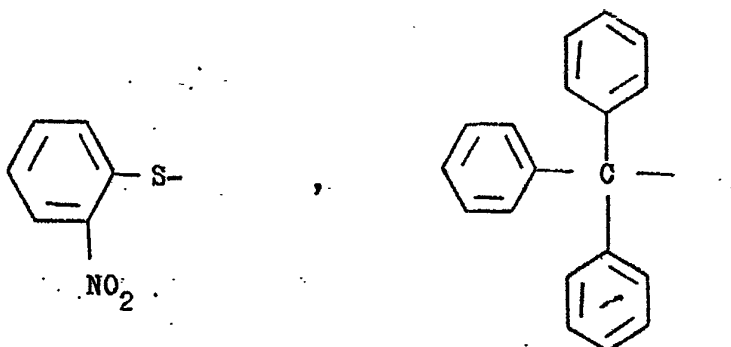
2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es un éster activo o un anhídrido mixto.

3. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 y 2, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII está seleccionado entre los de fórmulas:

25



30



donde R^{20} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa H, F, Cl, Br, NO_2 , OH, alquilo inferior o alcoxi inferior; X es Cl, Br, F o I e Y es H, Cl, Br, F o I.

4. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su éster activo con N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida o N-hidroxi-ftalimida.

5. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su anhídrido mixto con ácido piválico, ácido benzoico, ácido isobutilcarbónico o ácido bencilcarbónico.

6. Un procedimiento según las Reivindicaciones 4 o 5, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es carbobenciloxi, trifluoracetilo o t-butoxicarbonilo.

1

7. Un procedimiento según la Reivindicación 6, donde el aminoglicósido polisililado contiene de 1 a 3 grupos de bloqueo del amino, seleccionados entre carbobenciloxi y trifluoracetilo, sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1.

5

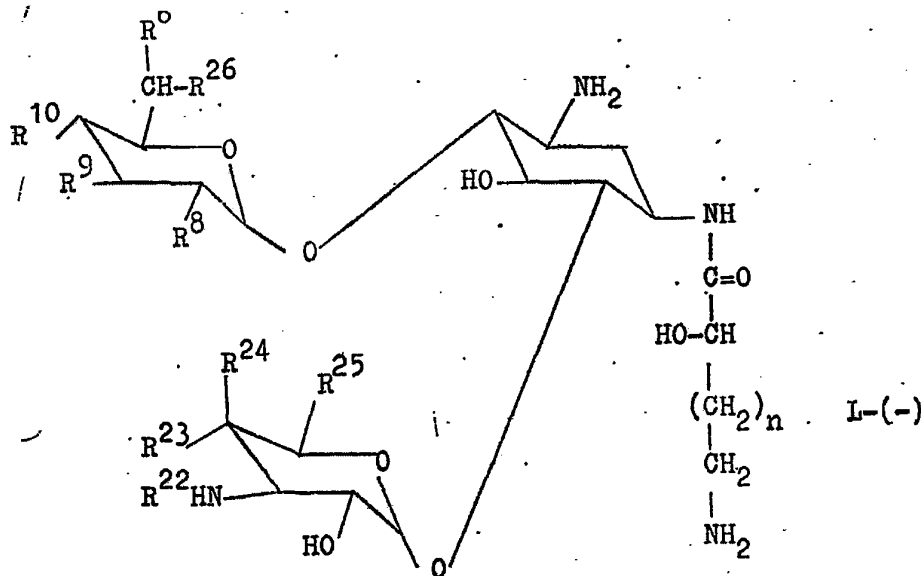
8. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, donde los grupos sililo son grupos trimetilsililo.

10

9. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el compuesto (I) tiene la fórmula:

15

20



25

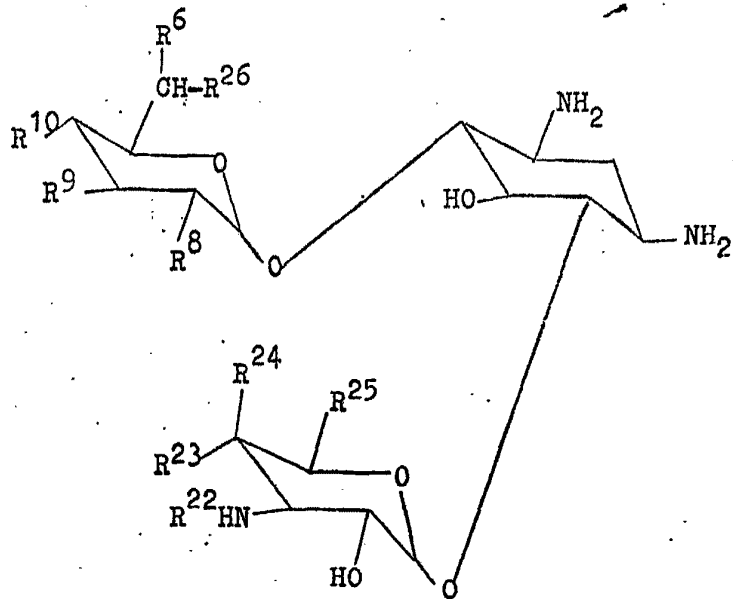
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde n es un número entero de 0 a 4, R⁶ es H o CH₃, R⁸ es OH o NH₂, R⁹ es H u OH, R¹⁰ es H u OH, R²² es H o CH₃, R²³ es OH o CH₃, R²⁴ es H u OH, R²⁵ es H o CH₂OH y R²⁶ es OH, NH₂ o NHCH₃; con la condición de que, cuando R²² es H, R²⁵ es CH₂OH y cuando R²² es CH₃, R²⁵ es H y también con la condición de que, cuando R²³ es OH, R²⁴ es H y cuando R²³ es CH₃, R²⁴ es OH;

30

1

el aminoglicósido (XIV) tiene la fórmula:

5



10

15

20

donde R⁶, R⁸, R⁹, R¹⁰, R²², R²³, R²⁴, R²⁵ y R²⁶ son los definidos anteriormente y el derivado acilante del ácido (XIII) es L(-).

25

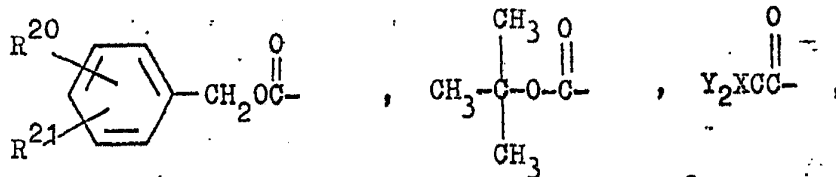
10.- Un procedimiento según la reivindicación 9, donde el derivado acilante del ácido de fórmula XIII es un éster activo o un anhídrido mixto.

30

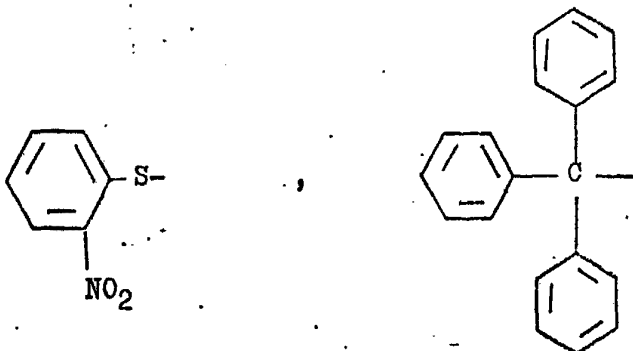
11.- Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de fórmula XIII está seleccionado entre los de fórmulas:

1

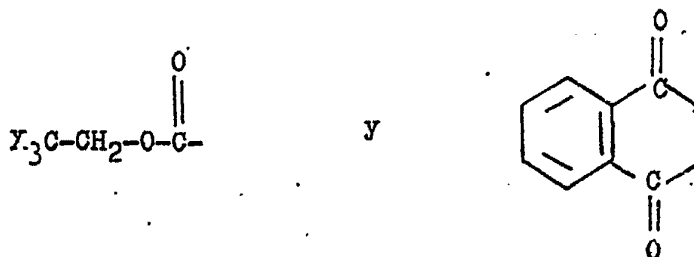
5



10



15



20

donde R^{20} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa H, F, Cl, Br, NO_2 , OH, alquilo inferior o alcoxi inferior; X es Cl, Br, F o I e Y es H, Cl, Br, F o I.

25

12. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 9 a 11, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su éster activo con N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida o N-hidroxiftalimida.

30

13. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 9 a 11, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su anhídrido mixto con ácido píválico,

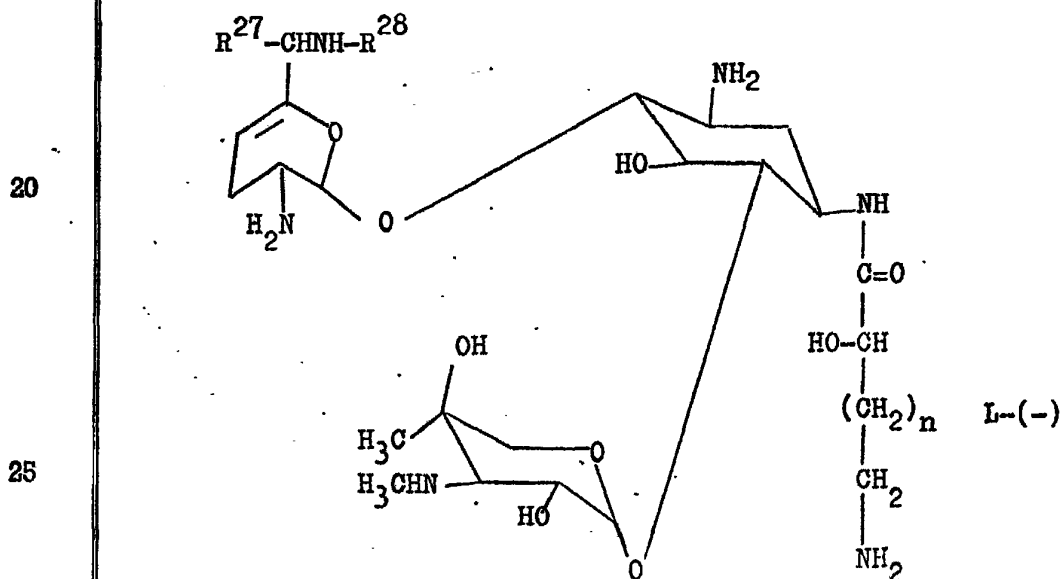
1 ácido benzoico, ácido isobutilcarbónico o ácido bencilcarbónico.

5 14. Un procedimiento según las Reivindicaciones 12 o 13, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es carbobenciloxi, trifluoracetilo o t-butoxicarbonilo.

10 15. Un procedimiento según la Reivindicación 14, donde el aminoglicósido polisililado contiene de 1 a 3 grupos de bloqueo del amino seleccionados entre carbobenciloxi y trifluoracetilo, sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1.

15 16. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 9 a 15, donde los grupos sililo son grupos trimetilsililo.

20 17. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el compuesto (I) tiene la fórmula:

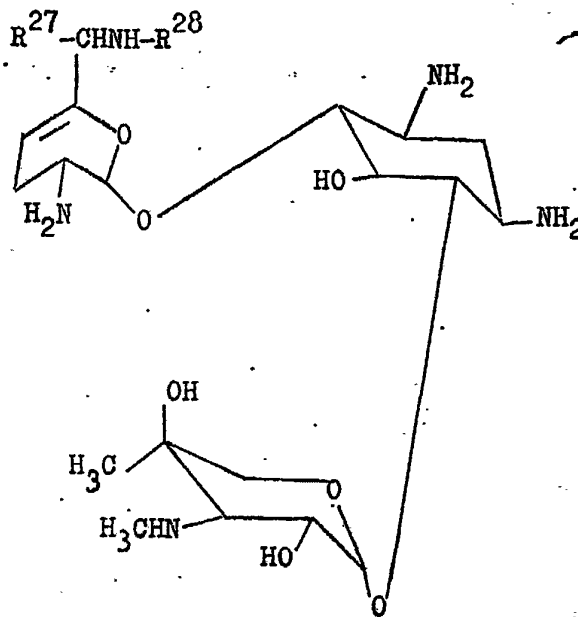


30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde n es un número entero de 0 a 4, R^{27} es H o CH_3 y R^{28} es H o CH_3 ;

1

el aminoglicósido (XIV) tiene la fórmula:

5



10

15

donde R²⁷ y R²⁸ son los definidos anteriormente y que contiene dos o tres grupos de bloqueo del amino distintos de silylo sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1, y el derivado acilante del ácido (XIII) es L-(-).

20

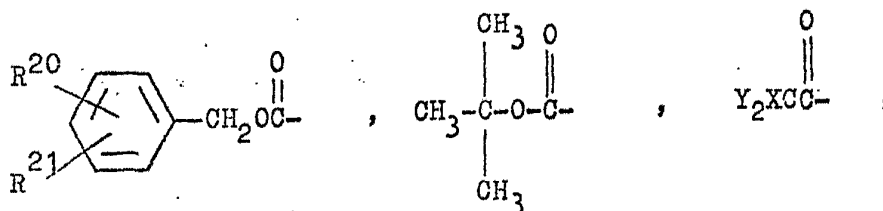
18. Un procedimiento según la reivindicación 17, donde el derivado acilante del ácido de fórmula XIII es un éster activo o un anhídrido mixto.

25

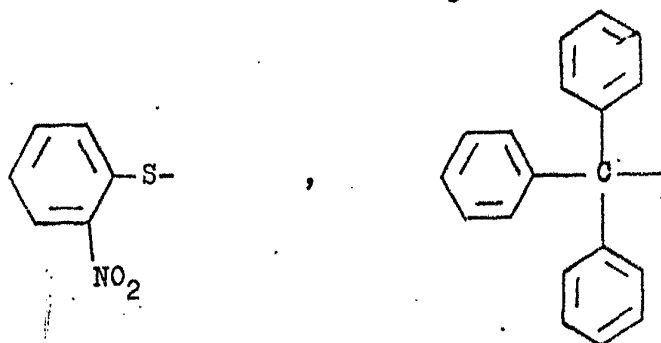
19. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 18, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de fórmula XIII está seleccionado entre los de fórmulas:

30

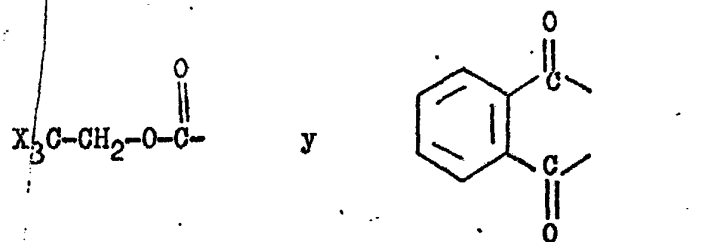
1



5



10



15

donde R^{20} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa H, F, Cl, Br, NO_2 , OH, alquilo inferior o alcoxi inferior; X es Cl, Br, F o I e Y es H, Cl, Br, F o I.

20

20. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 19, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su éster activo con N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboximida o N-hidroxiftalimida.

25

21. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 19, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su anhídrido mixto con ácido píválico, ácido benzoico, ácido isobutilcarbónico o ácido bencilcar-

30

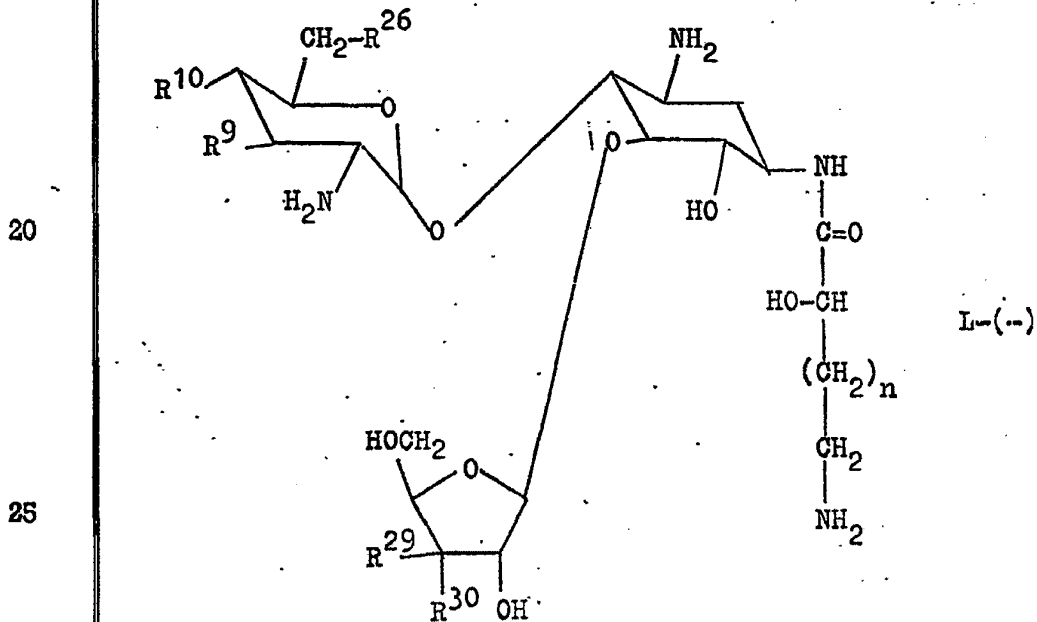
1 bónico.

5 22. Un procedimiento según las Reivindicaciones 20 o 21, donde el grupo de bloqueo del amino sobre el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es carbobenciloxi, trifluoracetilo o t-butoxicarbonilo.

10 23. Un procedimiento según la Reivindicación 22, donde el aminoglicósido polisililado contiene dos o tres grupos de bloqueo del amino seleccionados entre carbobenciloxi y trifluoracetilo, sobre grupos amino distintos del grupo amino C-1.

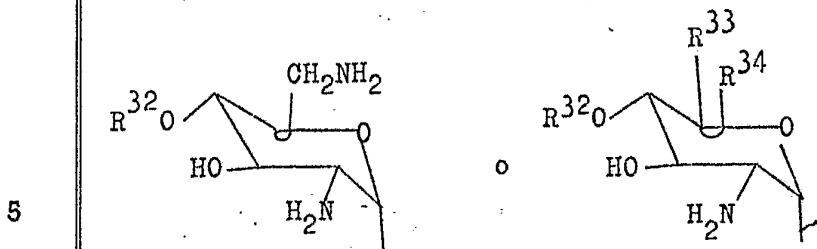
24. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 17 a 23, donde los grupos sílilo son grupos trimetilsililo.

15 25. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el compuesto (I) tiene la fórmula:



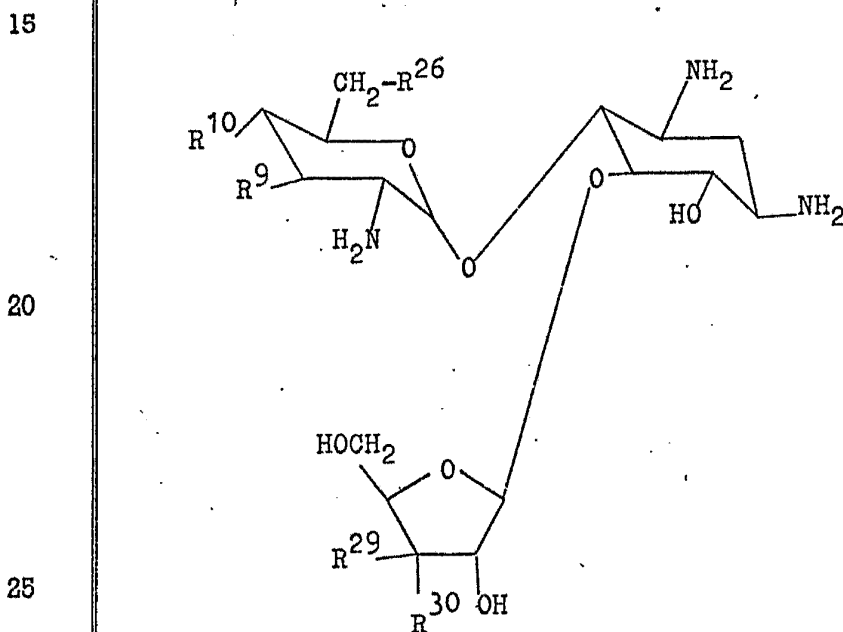
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde n, es un número entero de 0 a 4, R⁹ es H u OH, R¹⁰ es H u OH, R²⁶ es OH, NH₂ o NHCH₃, R²⁹ es H u OH, y R³⁰ es H, OH u

1 OR^{31} , donde R^{31} es un anillo de hexopiranosilo de fórmula:



10 donde R^{32} es H o α -D-mannopiranosilo y uno de los radicales R^{33} y R^{34} es H y el otro es CH_2NH_2 ; con la condición de que, cuando R^{29} es H, R^{30} es OH u OR^{31} y cuando R^{29} es OH, R^{30}

15 el aminoglicósido (XIV) tiene la fórmula:



25 donde R^9 , R^{10} , R^{26} , R^{29} y R^{30} son los definidos anteriormente,

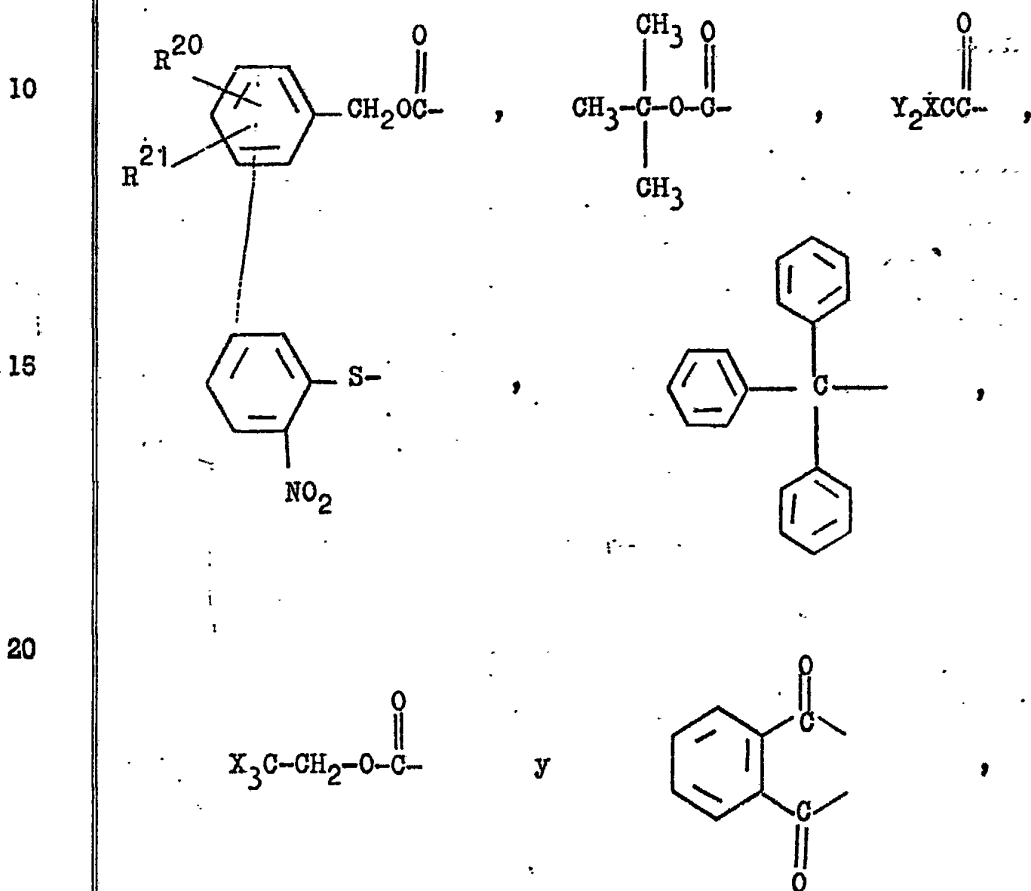
30 y el derivado acilante del ácido (XIII) es L-(-).

1

26. Un procedimiento según la Reivindicación 25, donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es un éster activo o un anhídrido mixto.

5

27. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 25 o 26, donde el grupo de bloqueo del amino del derivado acilante del ácido de Fórmula XIII está seleccionado entre los de fórmulas:



donde R^{20} y R^{21} son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa H, F, Cl, Br, NO_2 , OH, alquilo inferior o alcoxi inferior; X es Cl, Br, F o I e Y es H, Cl, Br, F o I.

1 28. Un procedimiento según la Reivindicación 27,
donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es su
éster activo con N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-5-norbornen-
2,3-dicarboximida o N-hidroxiftalimida.

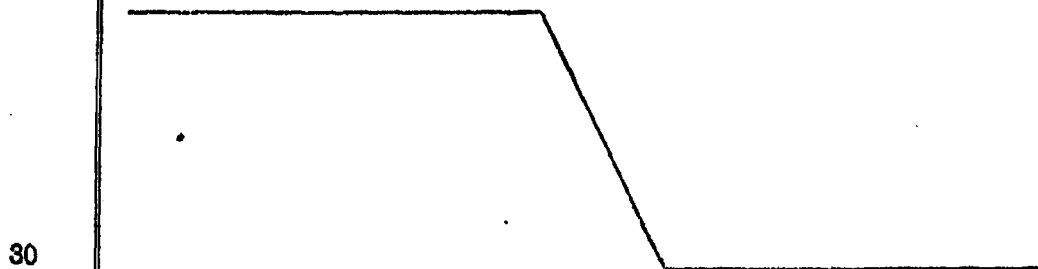
5 29. Un procedimiento según la Reivindicación 27,
donde el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es
su anhídrido mixto con ácido pivalico, ácido benzoico, áci-
do isobutilcarbónico o ácido bencilcarbónico.

10 30. Un procedimiento según cualquiera de las Reivin-
dicaciones 25 a 29, donde el grupo de bloqueo del amino so-
bre el derivado acilante del ácido de Fórmula XIII es car-
bobenciloxi, trifluoracetilo o t-butoxicarbonilo.

15 31. Un procedimiento según la Reivindicación 30,
donde el aminoglicósido polisililado contiene de 1 a 3 grupos
de bloqueo del amino seleccionados entre carbobenciloxi y
trifluoracetilo, sobre grupos amino distintos del grupo
amino C-1.

20 32. Un procedimiento según cualquiera de las Reivin-
dicaciones 25 a 31, donde los grupos sililo son grupos tri-
metilsililo.

25 33. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE ANTIBIOTICOS DE
1-N-(ω -AMINO- α - HIDROXIALCANOIL) AMINOGLICOSIDO.



1

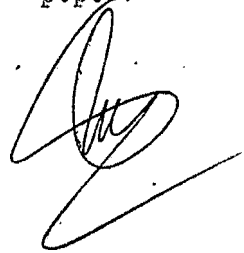
Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de ochenta páginas mecanografiadas.

5

Madrid, 28 abril 1.978

BERNARDO UNGRIA

P.P.



10

15

20

25

30