

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo
con los datos que figuran en la pre-
sente descripción y
tenido de la memoria

DIVISIONAL I

20 ENE. 1979

(11) ES	(12) 472270	(10) A I
(13)	(14)	(15)
(16)	(17)	(18)
(19)	(20)	(21)
(22)	FECHA DE PRESENTACION 1.8.1978	

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO 114,306/76	(32) FECHA 23.9.1976	(33) PAIS Japón
--	-------------------------	--------------------

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL Co 7 D	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA 462.603 del 23.9.77
--------------------------	--	---

(63) TITULO DE LA INVENCION UN PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE DERIVADOS 4-N-SUSTITUIDOS DE FORTIMICINA B.
--

(71) SOLICITANTE (S) KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.
--

(72) INVENTOR (ES) Moriyuki Sato y Yasuki Mori.
--

(73) TITULAR (ES) El mismo solicitante.
--

(74) REPRESENTANTE DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU.
--

1

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a ciertos nuevos derivados 4-N-sustituídos del antibiótico fortimicina B y a los procedimientos para su producción. En el aspecto de procedimiento de esta invención, se incluye un nuevo método para la producción semisintética del antibiótico fortimicina C.

5

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Esta invención se refiere en general a derivados 4-N-sustituídos de fortimicina B, a sus sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables y a un procedimiento para la producción de las mismas, así como a nuevos procesos de síntesis para la producción de los compuestos fortimicina A y fortimicina C.

10

15

Las fortimicinas (A, B y C) son compuestos clasificados como pseudodisacáridos que contienen 1,4-diaminociclitol. Las propiedades físicas y las actividades antibacterianas de estos compuestos y los procedimientos para su producción por fermentación están descritos en las patentes estadounidenses 3.931.400, 3.976.768 y 4.048.015, cuyas descripciones se incorporan aquí.

20

25

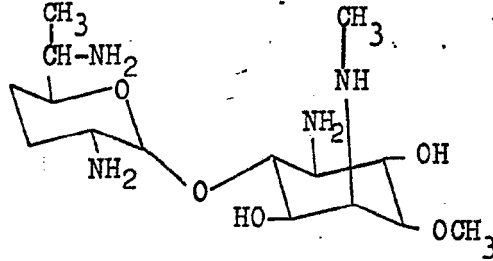
Las fórmulas estructurales planas de las fortimicinas conocidas se dan en las memorias de las patentes estadounidenses antes mencionadas. Como resultado de nuevos estudios, se ha hallado que las fórmulas estructurales de la fortimicina B, fortimicina A y fortimicina C son las indicadas por las siguientes fórmulas:

30

1

Fortimicina B

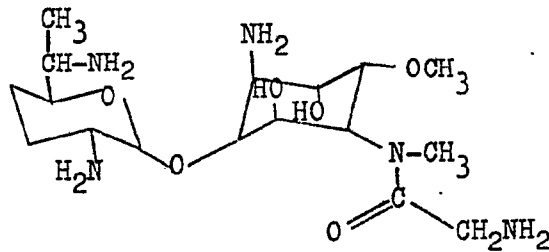
5



10

Fortimicina A

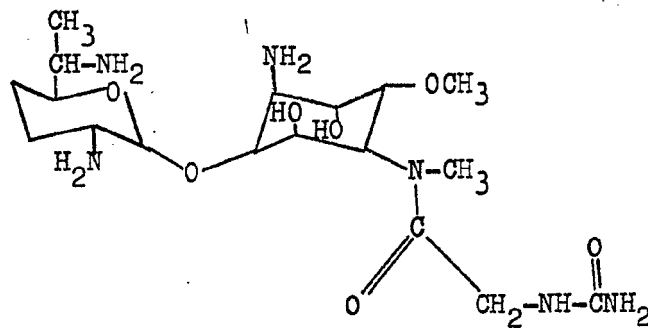
15



20

Fortimicina C

25



Las estructuras de las fortimicinas A, B y C son descritas a continuación:

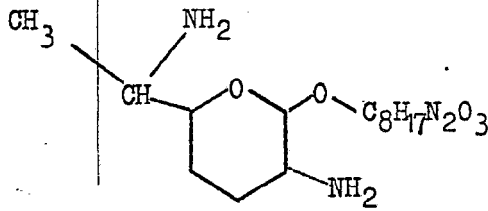
30

1) Fortimicina B

Los resultados del espectro de masas de la fortimi-

1 cina B son los siguientes:

m/e 349(M⁺ + 1), 348(M⁺), 331, 313, 305, 235, 217, 207, 143, 126. Se deduce de los resultados del espectro de masas que la fortimicina B presenta la siguiente fórmula estructural parcial conteniendo purpurosamina B:



10

Purpurosamina B

Los resultados del análisis del espectro RMP y RMC de la fortimicina B en óxido de deuterio son los siguientes:

15	RMP	δ (ppm)	Patrón interno	DSS
	H-1'	5,03	H-1	2,96
	H-2'	~2,9	H-2	3,68
	CH ₂ -3',4'	1,2-1,9	H-3	3,62
	H-5'	~3,6	H-4	3,06
20	H-6'	2,80	H-5	3,96
	CH ₃ -6'	1,00	H-6	3,42
			OCH ₃	3,42
			NCH ₃	2,36
	J _{1',2'}	3,8	J _{1',2'}	9,5
25	J _{5',6'}	7	J _{2',3}	~3
			J _{3',4}	3
			J _{4',5}	4,5
			J _{5',6}	9,5
30			J _{1',6}	9,5

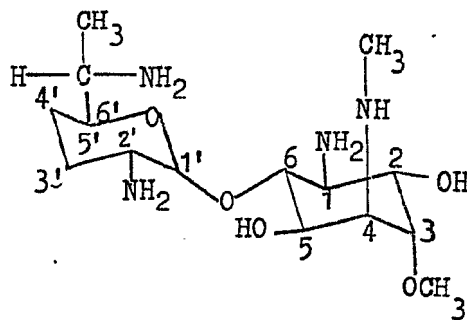
RMC	δ (ppm)	Patrón interno	Dioxano (67,4 ppm)
C-1'	102,4	C-1	53,8
2'	50,6	2	71,1
3'	27,1	3	79,9
4'	27,4	4	60,8
5'	75,1	5	71,1
6'	50,4	6	84,1
6'-CH ₃	18,7	OCH ₃	59,3
		NCH ₃	36,0

10

Teniendo en cuenta estos resultados del RMP y del RMC y los resultados espectrofotométricos de los complejos de cobre de la fortimicina B, del derivado dietiltioacetal de la porción purpurosamina B y del derivado metilglicósido preparado por procedimientos convencionales, se ha determinado que la estructura absoluta de la fortimicina B es la siguiente:

15

siguiente:



20

25

Otros valores físicos de la fortimicina B son:

p.f. 101-103°C

$[\alpha]_D^{23} = +30,3^\circ$ (c = 1,0, agua).

Análisis elemental para C₁₅H₃₂N₄O₅·H₂O:

30

Calculado : C, 49,15; H, 8,80; N, 15,29

Encontrado: C, 49,36; H, 8,77; N, 15,38.

1 2) Fortimicina A

Espectro de masas: m/e 406 ($M^+ + 1$), 405 (M^+), 388, 370, 362, 292, 274, 263, 246, 143, 126.

5 RMP (óxido de deuterio): δ (ppm), 1,06 (3H, d), 1,2-1,9 (4H, m), \sim 2,8 (1H, señal ancha), 2,86 (1H, m), 3,05 (3H, s), 3,44 (3H, s), \sim 3,5 (2H, señal ancha), 3,52 (2H, s), 3,88 (1H, q), 4,08 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,36 (1H, t), 4,84 (1H, d), 4,95 (1H, q).

10 RMC (óxido de deuterio): δ (ppm), 18,7, 27,1, 27,3, 32,3, 41,6, 50,2, 50,5, 52,5, 55,0, 56,4, 71,1, 73,0, 73,6, 75,1, 78, 4, 100,1, 169,5.

Otras constantes físicas de fortimicina A son:

p.f. superior a 200°C (desc.).

15 $[\alpha]_D^{25} = +26,0^\circ$ (c = 0,2, agua).

Análisis elemental para $C_{17}H_{35}N_5O_6$:

Calculado : C, 50,35; H, 8,70; N, 17,27

Encontrado: C, 50,23; H, 8,67; N, 17,49.

20 Teniendo en cuenta los datos anteriores y el hecho de que la hidrólisis de fortimicina A produce fortimicina B y glicina, se ha confirmado que la estructura de la fortimicina A es la de 4-N-glicilfortimicina B (Ia).

3) Fortimicina C

25 Espectro de masas con desorción de campo (DF)*: m/e 449 ($M^+ + 1$).

Espectro de masas**: m/e 406, 387, 375, 325, 292, 274, 264, 246, 235, 228, 217, 207, 200, 143.

30 RMP (óxido de deuterio): δ (ppm), 1,08 (3H, d), 1,2-1,9 (4H, m), \sim 2,8 (1H, señal ancha), 2,85 (1H, m), 3,10 (3H, s), 3,43 (3H, s), \sim 3,5 (2H, señal ancha), 3,87 (1H, q), 4,00 y 4,04 (2H conjuntamente, s individualmente), 4,07 (1H,

1 q), 4,18 (1H, t), 4,38 (1H, t), 4,84 (1H, d), 4,92 (1H, q).

RMC (óxido de deuterio): δ (ppm), 17,5, 26,3, 27,5, 32,5, 44,1, 50,0, 51,1, 52,7, 55,5, 56,4, 71,0, 72,7, 73,1, 73,4, 77,9, 99,1, 161,7, 172,7.

5 * Espectro de masas donde es probable que aparezca M^+ .

** M^+ no aparece en el espectro de masas ordinario (espectro de masas IE).

Otras constantes físicas de la fortimicina C son:
p.f. 153-157°C (desc.).

10 $[\alpha]_D^{25} = +84,3^\circ$ (c = 0,1, agua).

Análisis elemental para $C_{18}H_{36}N_6O_7 \cdot 2H_2O$:

Calculado : C, 45,00; H, 8,33; N, 17,50

Encontrado: C, 44,84; H, 8,19; N, 17,36.

15 Teniendo en cuenta los datos anteriores y el hecho de que la hidrólisis de la fortimicina C produce fortimicina B y ácido hidantoico, se ha hallado que la estructura de la fortimicina C es la de 4-N-hidantoinfortimicina B (IIb) (las fortimicinas A y C han sido obtenidas por síntesis a partir de fortimicina B como se indica en los ejemplos y después se han confirmado las estructuras).

20 Todas las fortimicinas (A, B y C) presentan actividad antibacteriana pero la actividad antibacteriana de B no es tan buena como la de los otros factores y A y C son ligeramente inestables en condiciones fuertemente alcalinas. Por lo tanto, se requieren compuestos con propiedades más adecuadas.

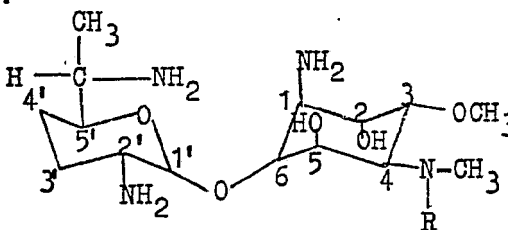
25 Como resultado de diversos estudios, hemos encontrado que ciertos derivados 4-N-sustituídos de la fortimicina B presentan actividad antibacteriana mejorada y buena estabilidad incluso en condiciones fuertemente alcalinas. Además, los derivados de 4-N-alkilfortimicina B pueden utilizarse como

30

1 materiales de partida para obtener otros derivados modifica-
dos, por ejemplo introducir otros grupos en el grupo amino o
hidroxi de la primera.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

5 Los compuestos de esta invención son derivados 4-N-sus-
tituidos de la fortimicina B representados por la fórmula
general (I):



(donde R es un grupo representado por $-C(=O)-R_1$ o $-CH_2-R_2$, donde

15 R_1 representa un grupo alquilo de 2 a 8 átomos de carbono,
un grupo hidroxialquilo de 1 a 5 átomos de carbono, un gru-
po aminoalquilo de 2 a 8 átomos de carbono o un grupo carba-
moxilaminoalquilo de 3 a 9 átomos de carbono y R_2 representa
20 un grupo alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, un grupo hidro-
xialquilo de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo aminoalquilo
de 1 a 8 átomos de carbono, un grupo carbamoilaminoalquilo
de 2 a 9 átomos de carbono, un grupo N-alquilaminoalquilo de
2 a 10 átomos de carbono, un grupo aminohidroxialquilo de 2
25 a 8 átomos de carbono, un grupo aminoalquilo N-sustituido
(donde el grupo aminoalquilo contiene 2 a 5 átomos de carbo-
no y el N-sustituyente es un grupo aminoalquilo de 1 a 5 áto-
mos de carbono) o un grupo N-alquilaminohidroxialquilo de
2 a 8 átomos de carbono) y sus sales de adición de ácido no
30 tóxicas y farmacéuticamente aceptables.

Los derivados 4-N-sustituidos de la fortimicina B obte

1 tenidos a partir del compuesto representado por la fórmula
general (IV), es decir, los compuestos de esta invención,
están ilustrados en la siguiente Tabla I junto con sus cons-
tantes físicas. También se incluyen como referencia las pro-
5 piedades físicas de las fortimicinas B y A.

En la Tabla II, están indicados los valores de la R_f
de la cromatografía en capa fina (CCF) de estos compuestos,
desarrolladas sobre una placa de gel de sílice utilizando
varios disolventes. Para una capa desarrollada, se utiliza
10 una placa de gel de sílice (Merck DC-Fertigplatten Kieselgel
60 F 254) y se colorea con ninhidrina o yodo. El sistema di-
solvente dado en la tabla es el siguiente:

- 15 A: isopropanol-amoniaco acuoso al 28 %-cloroformo
(2:1:1 en volumen)
B: metanol:cloroformo (5:95 en volumen)
C: metanol:cloroformo (1:9 en volumen).

La actividad antibacteriana (CMI) de los compuestos
de esta invención está indicada en las Tablas III-1 y III-2.
La medida se realizó por el método de dilución en agar, uti-
lizando un medio a pH 8,0 o la Norma Japonesa de Medicamentos
20 Antibióticos, empleando un medio a pH 7,2. Las unidades son
mcg/ml.

Los microorganismos utilizados en la Tabla III-2 y sus
abreviaturas se dan a continuación:

- 25 S.A.: Staphylococcus aureus KY4279 ATCC 6538P
B.S.: Bacillus subtilis KY4273
E.C.: Escherichia coli KY4271 ATCC 26
P.V.: Proteus vulgaris KY4277 ATCC 6897
S.S.: Shigella sonnei KY4281 ATCC 9290
30 S.T.: Salmonella typhosa KY4278 ATCC 9992

1 K.P.: Klebsiella pneumoniae KY4275 ATCC 10031.

Los números de identificación de los compuestos en la Tablas III-1 y III-2 son los mismos que en la Tabla I.

5 La estabilidad de los derivados de 4-N-acilfortimicina B en condiciones acuosas alcalinas es mala. Por ejemplo, si la base libre fortimicina A se deja en reposo en una solución acuosa (pH 10) a la temperatura ambiente durante 2 semanas o a 100°C durante 4 horas, se descompone casi por completo. Si la 4-N-(γ -amino- α -hidroxibutiril)fortimicina B y la 4-N-(δ -amino-n-valeril)fortimicina se dejan en reposo en soluciones acuosas (pH 10), se descomponen casi completamente al cabo de 1 hora a la temperatura ambiente. Por lo tanto, no resulta práctico purificar estos compuestos en condiciones básicas (por ejemplo, cromatografía en columna con Amberlite CG-50, eluyendo con amoniaco acuoso).

10
15
20
25
30
Contrastando con la inestabilidad de los derivados de 4-N-acilfortimicina B, los derivados de 4-N-alkilfortimicina B son tan estables que no se produce descomposición ni siquiera en una solución acuosa de hidróxido bórico a la temperatura de reflujo durante 18 horas. Por lo tanto, en el caso de la 4-N-alkilfortimicina B, puede introducirse cualquier sustituyente en la posición 4-N de la fortimicina B incluso aunque estos sustituyentes no puedan ser introducidos como tipo acílico en dicha posición debido a la inestabilidad antes mencionada.



TABLA I

Compues to n°	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis elemental (%) Línea superior: Calculado Línea inferior: Encontrado	[α] _D del sulfato
1	H	fortimicina B	para C ₁₅ H ₃₂ N ₄ O ₅ ·H ₂ O C, 49,15; H, 8,80; N, 15,29 49,36; 8,77 15,38	Nota 1) *1 +30,3° (c = 1,0, agua)
2	-C-CH ₂ -NH ₂ O	fortimicina A	para C ₁₇ H ₃₅ N ₅ O ₆ C, 50,35; H, 8,70; N, 17,27 50,23 8,67 17,49	Nota 1) *2 +26,0° (c = 0,2, agua)
3	-C-CH ₂ -NH-CONH ₂ O	fortimicina C	para C ₁₈ H ₃₆ N ₆ O ₇ ·2H ₂ O C, 45,00; H, 8,33; N, 17,50 44,84 8,19 17,36	Nota 1) *2 +84,3° (c = 0,1, agua)
4	-C-CH ₂ -OH O	4-N-glicolilfortimicina B	para C ₁₇ H ₃₄ N ₄ O ₇ ·1,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O C, 36,95; H, 7,34; N, 9,07 36,70 7,44 8,93	*2 +89,3° (c = 1,0, agua)
5	-C-CH ₃ O	4-N-acetilfortimicina B	-	*2 +139,2° (c = 1,0, agua)
6	-C-CH ₂ -CH ₃ O	4-N-propionilfortimicina B	-	*2 +136,8° (c = 1,0, agua)
7	-C-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ O	4-N-(n-butilil)fortimicina B	-	*2 +131,0° (c = 1,0, agua)
8	-C-(CH ₂) ₃ -CH ₃ O	4-N-(n-valeril)fortimicina B	-	*2 +116,3° (c = 1,0, agua)
9	-C-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂ O	4-N-(β-alanil)fortimicina B	para C ₁₈ H ₃₇ N ₅ O ₆ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2,5H ₂ O C, 33,14; H, 7,51; N, 9,66 32,96 7,41 9,71	*1 + 80,6° (c = 1,0, agua)
10	-C-(CH ₂) ₃ -NH ₂ O	4-N-(γ-amino-n-butil)fortimicina B	para C ₁₉ H ₃₉ N ₅ O ₆ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·4H ₂ O C, 33,73; H, 7,68; N, 9,36 33,66 7,44 9,30	*1 +81,8° (c = 1,0, agua)
11	-C-(CH ₂) ₄ -NH ₂ O	4-N-(δ-amino-n-valeril)fortimicina B	-	*1 +89,5° (c = 1,0, agua) (solamente en este caso, medido como hidrato)

TABLA I

Compues to n°	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis elemental Línea superior: C Línea inferior: H
1	H	fortimicina B	para C ₁₅ H ₃₂ N ₄ O C, 49,15; H, 8 49,36;
2	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	fortimicina A	para C ₁₇ H ₃₅ N ₅ O C, 50,35; H, 8 50,23
3	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-NH-CONH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	fortimicina C	para C ₁₈ H ₃₆ N ₆ O C, 45,00; H, 8 44,84
4	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-OH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-glicolilforti- micina B	para C ₁₇ H ₃₄ N ₄ O C, 36,95; H, 7 36,70
5	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-acetilfortimi- cina B	
6	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-propionilfor- timicina B	
7	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(n-butiril)for- timicina B	
8	$\begin{array}{c} \text{-C-(CH}_2)_3\text{-CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(n-valeril)for- timicina B	
9	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(β-alanil)forti- micina B	para C ₁₈ H ₃₇ N ₅ O C, 33,14; H, 8 32,96
10	$\begin{array}{c} \text{-C-(CH}_2)_3\text{-NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(γ-amino-n-butil)for- timicina B	para C ₁₉ H ₃₉ N ₅ O C, 33,73; H, 8 33,66
11	$\begin{array}{c} \text{-C-(CH}_2)_4\text{-NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(δ-amino-n-valeril) fortimicina B	

TABLA I

Nombre del compuesto	Análisis elemental (%)		[α] _D del sulfato
	Línea superior: Calculado	Línea inferior: Encontrado	
	para C ₁₅ H ₃₂ N ₄ O ₅ ·H ₂ O		
fortimicina B	C, 49,15; H, 8,80; N, 15,29 49,36; 8,77 15,38		Nota 1) *1 +30,3° (c = 1,0, agua)
	para C ₁₇ H ₃₅ N ₅ O ₆		
fortimicina A	C, 50,35; H, 8,70; N, 17,27 50,23 8,67 17,49		Nota 1) *2 +26,0° (c = 0,2, agua)
	para C ₁₈ H ₃₆ N ₆ O ₇ ·2H ₂ O		
fortimicina C	C, 45,00; H, 8,33; N, 17,50 44,84 8,19 17,36		Nota 1) *2 +84,3° (c = 0,1, agua)
	para C ₁₇ H ₃₄ N ₄ O ₇ ·1,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O		
4-N-glicolilfortimicina B	C, 36,95; H, 7,34; N, 9,07 36,70 7,44 8,93		*2 +89,3° (c = 1,0, agua)
4-N-acetilfortimicina B	-		*2 +139,2° (c = 1,0, agua)
4-N-propionilfortimicina B	-		*2 +136,8° (c = 1,0, agua)
4-N-(n-butiril)fortimicina B	-		*2 +131,0° (c = 1,0, agua)
4-N-(n-valeril)fortimicina B	-		*2 +116,3° (c = 1,0, agua)
	para C ₁₈ H ₃₇ N ₅ O ₆ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2,5H ₂ O		
4-N-(β-alanil)fortimicina B	C, 33,14; H, 7,51; N, 9,66 32,96 7,41 9,71		*1 + 80,6° (c = 1,0, agua)
	para C ₁₉ H ₃₉ N ₅ O ₆ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·4H ₂ O		
4-N-(γ-amino-n-butiril)fortimicina B	C, 33,73; H, 7,68; N, 9,36 33,66 7,44 9,30		*1 +81,8° (c = 1,0, agua)
4-N-(δ-amino-n-valeril)fortimicina B	-		*1 +89,5°(c = 1,0, agua) (solamente en este caso, medido como hidrato)

TABLA I (continuación)

Compu- sto n°	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis elemental (%) Línea superior: Calculado Línea inferior: Encontrado	[α] _D del sulfato *1: 23°C *2: 25°C *3: 24°C
12	$-(CH_2)_5-NH_2$	4-N-(ε-amino-n caproil)forti- micina B	para C ₂₁ H ₄₃ N ₅ O ₇ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2H ₂ O C, 37,34; H, 7,76; N, 9,47 37,20	*1 +74,9° (c = 1,0, agua)
13	$-(CH_2)_2-NH_2$	4-N-glicilgli- cilfortimicina B	para C ₁₉ H ₃₈ N ₆ O ₇ ·2H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2H ₂ O C, 33,24; H, 7,17; N, 11,07 33,27	*2 +70,1° (c = 1,0, agua)
14	$-(CH_2)_2-NH_2$	4-N-[α-(-)-γ- amino-α-hidroxí- butiril]fortimi- cina B	-	-
15	$-(CH_2)_2-NH_2$	4-N-(2-aminoetil) fortimicina B	para C ₁₇ H ₃₇ N ₅ O ₅ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O C, 32,56; H, 7,21; N, 9,99 32,55	*2 +77,8° (c = 1,0, agua)
16	$-CH_2-CH_3$	4-N-etilfortimi- cina B	-	-
17	$-CH_2-CH_2-CH_3$	4-N-(n-propil)for- timicina B	-	-
18	$-(CH_2)_3-CH_3$	4-N-(n-butil)for- timicina B	-	-
19	$-(CH_2)_4-CH_3$	4-N-(n-pentil)for- timicina B	-	-
20	$-(CH_2)_3-NH_2$	4-N-(3-amino-pro- pil)fortimicina B	para C ₁₈ H ₃₉ N ₅ O ₅ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2H ₂ O C, 31,99; H, 7,52; N, 9,33 32,04	*1 +71,9° (c = 1,0, agua)
21	$-(CH_2)_4-NH_2$	4-N-(4-aminobutil) fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ O ₅ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·3H ₂ O C, 32,98; H, 7,64; N, 9,16 32,74	*1 +72,8° (c = 1,0, agua)
22	$-(CH_2)_5-NH_2$	4-N-(β-aminopentil) fortimicina B	-	*1 +67,3° (c = 1,0, agua)
23	$-(CH_2)_6-NH_2$	4-N-(6-aminohexil) fortimicina B	para C ₂₁ H ₄₅ N ₅ O ₅ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·2H ₂ O C, 35,65; H, 7,80; N, 9,04 35,74	*1 +71,3° (c = 1,0, agua)
24	$-CH_2-CH_2-OH$	4-N-(2-hidroxietil) fortimicina B	-	*1 +77,4° (c = 1,0, agua)

TABLA I (continuación)

Compues- to n°.	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis element Línea superior: Línea inferior:
5	12	$\begin{array}{c} \text{-C-(CH}_2\text{)}_5\text{-NH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	4-N-(ε-amino-n caproyl)forti- micina B para C ₂₁ H ₄₃ N ₅ O C, 37,34; H, 7 37,20
	13	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-NH} \\ \parallel \quad \\ \text{O} \quad \text{C-CH}_2\text{NH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	4-N-glicilgli- cilfortimicina B para C ₁₉ H ₃₈ N ₆ O C, 33,24; 33,27
10	14	$\begin{array}{c} \text{-C-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	4-N-[L-(-)-γ- amino-α-hidroxi- butiril]fortimi- cina B para C ₁₇ H ₃₇ N ₅ O
	15	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	4-N-(2-aminoetil) fortimicina B C, 32,56; 32,55
15	16	$\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	4-N-etilfortimi- cina B
	17	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	4-N-(n-propil)for- timicina B
	18	$\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$	4-N-(n-butil)for- timicina B
	19	$\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_3$	4-N-(n-pentil)for- timicina B
20	20	$\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH}_2$	4-N-(3-aminopro- pil)fortimicina B para C ₁₈ H ₃₉ N ₅ O C, 31,99; 32,04
	21	$\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_2$	4-N-(4-aminobutil) fortimicina B para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ O C, 32,98; 32,74
25	22	$\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-NH}_2$	4-N-(5-aminopentil) fortimicina B para C ₂₁ H ₄₅ N ₅ O C, 35,65; 35,74
	23	$\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-NH}_2$	4-N-(6-aminohexil) fortimicina B
30	24	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	4-N-(2-hidroxi- etil)fortimicina B

TABLA I (continuación)

$[\alpha]_D$ del sulfato

*1: 23°C

*2: 25°C

*3: 24°C

Nombre del compuesto	Análisis elemental (%) Línea superior: Calculado Línea inferior: Encontrado	$[\alpha]_D$ *1 +74,9° (c = 1,0, agua)
4-N-(ε-amino-n capro-il)forti micina B	para $C_{21}H_{43}N_5O_6 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$ C, 37,34; H, 7,76; N, 9,47 37,20 7,62 9,45	*1 +74,9° (c = 1,0, agua)
4-N-glicilgli cilfortimicina B	para $C_{19}H_{38}N_6O_7 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$ C, 33,24; H, 7,17; N, 11,07 33,27 7,11 10,81	*2 +70,1° (c = 1,0, agua)
4-N-[L-(-)-γ- amino-α-hidroxi- butiril]fortimi- cina B	para $C_{17}H_{37}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$ C, 32,56; H, 7,21; N, 9,99 32,55 7,19 9,93	*2 +77,8° (c = 1,0, agua)
4-N-etilfortimi cina B	-	-
4-N-(n-propil)for timicina B	-	-
4-N-(n-butil)for- timicina B	-	-
4-N-(n-pentil)for timicina B	-	-
4-N-(3-aminopro- pil)fortimicina B	para $C_{18}H_{39}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$ C, 31,99; H, 7,52; N, 9,33 32,04 7,80 8,99	*1 +71,9° (c = 1,0, agua)
4-N-(4-aminobutil) fortimicina B	para $C_{19}H_{41}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 3H_2O$ C, 32,98; H, 7,64; N, 9,16 32,74 7,69 8,91	*1 +72,8° (c = 1,0, agua)
4-N-(5-aminopentil) fortimicina B	-	*1 +67,3° (c = 1,0, agua)
4-N-(6-aminohexil) fortimicina B	para $C_{21}H_{45}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$ C, 35,65; H, 7,80; N, 9,04 35,74 7,77 8,78	*1 +71,3° (c = 1,0, agua)
4-N-(2-hidroxi-etil) fortimicina B	-	*1 +77,4° (c = 1,0, agua)

TABLA I (continuación)

[] D del sulfato

*1: 23°C
*2: 25°C
*3: 24°C

Compuesto n°	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis elemental (%) Línea superior: Calculado Línea inferior: Encontrado	[] D del sulfato
25	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 \end{array}$	4-N-[2-(2-aminoetil)aminoetil]fortimicina B	-	-
26	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3$	4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B	-	*2 +68,0° (c = 1,0, agua)
27	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxibutil]fortimicina B	para $\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97 C, 32,82	*2 +78,6° (c = 1,0, agua)
28	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-4-metilamino-2-hidroxibutil]fortimicina B	para $\text{C}_{20}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ C, 34,65; H, 7,65; N, 8,93 C, 34,82	*1 +77,50 (c = 1,0, agua)
29	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(R,S)-4-amino-2-hidroxibutil]fortimicina B	para $\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ C, 31,57; H, 7,57; N, 8,76 C, 31,44	*3 +92,5° (c = 0,2, agua)
30	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(R,S)-4-metilamino-2-hidroxibutil]fortimicina B	-	-
31	$-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	4-N-[(S)-3-amino-2-hidroxibutil]fortimicina B	para $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ C, 32,87; H, 7,17; N, 9,58 C, 32,85	*1 +86,5° (c = 0,2, agua)
32	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-3-metilamino-2-hidroxipropil]fortimicina B	para $\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97 C, 32,48	*1 +74,5° (c = 0,2, agua)
33	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-5-amino-2-hidroxipentil]fortimicina B	para $\text{C}_{20}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_6 \cdot 2,5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ C, 34,82; H, 7,44; N, 9,22 C, 34,78	*3 +75,5° (c = 0,2, agua)

Nota 1): Medido en forma de base libre.

1 TABLA I (continuac

Compues- to n°	R en la fórmula general (I)	Nombre del compuesto	Análisis ele Línea superior: Línea inferior:
5	25 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 \end{array}$	4-N-[2-(2-amino etil)aminoetil] fortimicina B	-
	26 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3$	4-N-(2-metilami- noetil)fortimici- na B	-
10	27 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-4-amino- 2-hidroxibutil] fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ C, 32,30; H, 32,62
	28 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-4-metil amino-2-hidroxib- util] fortimici- na B	para C ₂₀ H ₄₃ N ₅ C, 34,65; H, 34,82
15	29 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(R,S)-4-ami- no-2-hidroxibutil] fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ C, 31,57; H, 31,44
	30 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(R,S)-4-metil amino-2-hidroxibu- til] fortimicina B	para C ₁₈ H ₃₉ N ₅ C, 32,87; H, 32,85
20	31 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-3-amino-2- hidroxibutil] forti- micina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ C, 32,30 :H, 32,48
	32 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-3-metilami- no-2-hidroxipropil- fortimicina B	para C ₂₀ H ₄₃ N ₅ C, 34,82; H 34,78
25	33 $\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	4-N-[(S)-5-amino-2- hidroxipentilforti- micina B	

Nota 1): Medido en forma de base libre.

TABLA I (continuación)

f)	Nombre del compuesto	Análisis elemental (%)		[] _D del sulfato
		Línea superior: Calculado	Línea inferior: Encontrado	
	4-N-[2-(2-aminoetil)aminoetil]fortimicina B	-	-	-
	4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B	-	-	+68,0° (c = 1,0, agua)
	4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butyl]fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·3H ₂ O C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97 32,62 7,84 8,64	-	+78,6° (c = 1,0, agua)
	4-N-[(S)-4-metilamino-2-hidroxi-butyl]fortimicina B	para C ₂₀ H ₄₃ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O C, 34,65; H, 7,65; N, 8,93 34,82 7,44 9,22	-	+77,50 (c = 1,0, agua)
	4-N-[(R,S)-4-amino-2-hidroxi-butyl]fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·4H ₂ O C, 31,57; H, 7,57; N, 8,76 31,44 7,98 8,48	-	+92,5° (c = 0,2, agua)
	4-N-[(R,S)-4-metilamino-2-hidroxi-butyl]fortimicina B	-	-	-
	4-N-[(S)-3-amino-2-hidroxi-butyl]fortimicina B	para C ₁₈ H ₃₉ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O C, 32,87; H, 7,17; N, 9,58 32,85 6,93 9,23	-	+86,5° (c = 0,2, agua)
	4-N-[(S)-3-metilamino-2-hidroxi-propil]fortimicina B	para C ₁₉ H ₄₁ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·3H ₂ O C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97 32,48 7,40 8,71	-	+74,5° (c = 0,2, agua)
	4-N-[(S)-5-amino-2-hidroxi-pentil]fortimicina B	para C ₂₀ H ₄₃ N ₅ O ₆ ·2,5H ₂ SO ₄ ·C ₂ H ₅ OH·H ₂ O C, 34,82; H, 7,44; N, 9,22 34,78 7,72 8,98	-	+75,5° (c = 0,2, agua)

re.

1

TABLA II

<u>Compues</u> <u>to n°</u>	<u>Nombre del compuesto</u>	<u>Sistema di</u> <u>solvente</u>	<u>Valor</u> <u>Rf</u>	<u>Reacción</u> <u>coloreada</u>
5	1 fortimicina B	A	0,56	ninhidrina
	2 fortimicina A	A	0,47	"
	3 fortimicina C	A	0,43	"
	4 4-N-glicilfortimicina B	A	0,46	yodo
	5 4-N-acetilfortimicina B	A	0,43	"
10	6 4-N-propionilfortimicina B	A	0,46	"
	7 4-N-(n-butiril) fortimicina B	A	0,48	"
	8 4-N-(n-valeril) fortimicina B	A	0,49	"
	9 4-N-(β-alanil) fortimicina B	A	0,41	"
	10 4-N-(γ-amino-n-butiril) forti- micina B	A	0,44	"
15	11 4-N-(δ-amino-n-valeril) forti- micina B	A	0,47	"
	12 4-N-(ε-amino-n-caproil) forti- micina B	A	0,42	"
	13 4-N-glicilglicilfortimicina B	A	0,42	"
20	14 4-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxiibu- tiril] fortimicina B	A	0,41	"
	15 4-N-(2-aminoetil) fortimicina B	A	0,41	"
	16 4-N-etilformiticina B	A	0,60	"
	17 4-N-(n-propil) fortimicina B	A	0,66	"
	18 4-N-(n-butil) fortimicina B	A	0,71	"
25	19 4-N-(n-pentil) fortimicina B	A	0,72	"
	20 4-N-(3-aminopropil) fortimi- cina B	A	0,43	"
	21 4-N-(4-aminobutil) fortimicina B	A	0,43	"
	22 4-N-(5-aminopentil) fortimicina B	A	0,47	"
	23 4-N-(6-aminohexil) fortimicina B	A	0,49	"
30	24 4-N-(2-hidroxietil) fortimicina B	A	0,46	"

TABLA II (continuación)

Compuesto n°	Nombre del compuesto	Sistema de solvente	Valor Rf	Reacción coloreada	
1	25	4-N-[2-(2-aminoetil)aminoetil]fortimicina B	A	0,36	yodo
5	26	4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B	A	0,43	"
	27	4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	A	0,27	"
	28	4-N-[(S)-4-metilamino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	A	0,34	"
10	34	1,2',6'-tri-N-carbobenzoxi-fortimicina B	C	0,47	"
	35	1,2',6'-tri-N-t-butoxicarbonil-fortimicina B	C	0,31	"
	36	tetra-N-carbobenzoxi-fortimicina B	A B	0,66	"
	37	tetra-N-carbobenzoxi(4-N-glicil-glicilfortimicina B)	B	0,54	"
15	38	tetra-N-carbobenzoxi{4-N-[L-(-)-γ-amino-α-hidroxi-butiril]fortimicina B}	B	0,78	"
	39	1,2',6'-tri-N-carbobenzoxi-4-N-etilfortimicina B	C	0,49	"
	40	tetra-N-carbobenzoxi-[4-N-(2-aminoetil)fortimicina B]	C	0,70	"
20	41	tri-N-carbobenzoxi-[4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B]	C	0,15	"
	29	4-N-[(R,S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	A	0,27	"
	30	4-N-[(R,S)-4-metilamino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	A	0,34	"
25	31	4-N-[(S)-3-amino-2-hidroxi-propil]fortimicina B	A	0,35	"
	32	4-N-[(S)-3-metilamino-2-hidroxi-propil]fortimicina B	A	0,40	"
	33	4-N-[(S)-5-amino-2-hidroxi-pentil]fortimicina B	A	0,34	"
30					

TABLA III-1.
Concentración mínima de inhibición (CMI mcg/ml, pH 7,2)

Número del compuesto Nombre de la cepa	Número del compuesto									
	1	2	3	4	15	KA*	27	28	29	
Staphylococcus aureus 209-P	>100	0,78	3,12	3,12	0,78	0,4	0,4	0,78	0,4	
" Smith (A)	100	0,78	6,25	3,12	0,78	0,4	0,4	0,4	0,4	
" 226	100	0,78	6,25	12,5	0,4	0,78	0,4	0,4	0,78	
Escherichia coli NIH7C-2	>100	3,12	12,5	12,5	3,12	1,56	3,12	1,56	3,12	
" GN2411-5	>100	6,25	25	12,5	3,12	3,12	6,25	6,25	6,25	
" 3100	100	6,25	12,5	12,5	6,25	3,12	12,5	12,5	12,5	
Klebsiella pneumoniae KY4274	100	3,12	12,5	25	6,25 >100	3,12	3,12	3,12	6,25	
Proteus vulgaris JJ	>100	3,12	12,5	25	6,25	1,56	3,12	3,12	3,12	
Salmonella enteritidis G-14	100	6,25	25	25	25	3,12	3,12	3,12	6,25	
Shigella sonnei ATCC 9290	>100	6,25	25	25	6,25	3,12	3,12	6,25	6,25	
Pseudomonas aeruginosa BMH#1	>100	12,5	100	50	12,5	25	6,25	12,5	12,5	
Escherichia coli 76-2 1**	>100	3,12	12,5	6,25	3,12 >100	6,25	6,25	3,12	3,12	
" 57R/W677 1**	>100	12,5	25	25	12,5 >100	12,5	12,5	12,5	12,5	
" R12 Z-338 1**	>100	12,5	6,25	25	6,25 100	100	12,5	6,25	12,5	
" R18 KY8321 2**	>100	3,12	6,25	6,25	3,12 >100	6,25	6,25	12,5	12,5	
" R17 Z343 3**	>100	1,56	3,12	6,25	0,78 12,5	3,12	3,12	3,12	3,12	
" R19 KY8348 4**	>100	>100	>100	>100	>100	1,56 >100	>100	>100	>100	
" R20 KY8349 5**	>100	3,12	12,5	12,5	3,12 >100	1,25	1,25	1,25	3,12	
Pseudomonas aeruginosa UCLA 4184	>100	25	50	100	12,5 >100	25	25	50	25	
" R9 KY8516 3**	>100	50	>100	100	25 >100	25	25	50	50	
" R4 KY8511 4**	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100	
" R5 KY8512 6**	>100	12,5	50	50	12,5 >100	6,25	6,25	12,5	12,5	
Providencia esp. 164 7**	>100	25	100	100	12,5 >100	25	25	25	25	
Serratia marcescens 1065 3**	>100	6,25	50	50	6,25 100	6,25	6,25	6,25	6,25	
Klebsiella pneumoniae 3020 Y-60 1**	>100	12,5	100	>100	50 >100	50	12,5	12,5	25	

* KA: kanamicina A
 ** 1: gentamicina, productora de adenilintetasa. 2: gentamicina, productora de adenilintetasa y neomicinofosforasa tipo II. 3: kanamicina, productora de acetiltransferasa. 4: gentamicina, productora de acetiltransferasa tipo I. 5: neomicina, productora de fosfotransferasa tipo I. 6: neomicina, productora de fosfotransferasa tipo I y tipo II. 7: gentamicina, productora de acetiltransferasa tipo II. Las bacterias inactivan a los antibióticos mediante el citado enzima.

TABLA III-1

Concentración mínima de inhibición

Número del compuesto					
Nombre de la cepa		1	2	3	4
5	Staphylococcus aureus 209-P	>100	0,78	3,12	3,12
	" Smith (A)	100	0,78	6,25	3,12
	" 226	100	0,78	6,25	12,5
	Escherichia coli NIHTC-2	>100	3,12	12,5	12,5
	" GN2411-5	>100	6,25	25	12,5
10	" 3100	100	6,25	12,5	12,5
	Klebsiella pneumoniae KY4274	100	3,12	12,5	25
	Proteus vulgaris JJ	>100	3,12	12,5	25
	Salmonella enteritidis G-14	100	6,25	25	25
	Shigella sonnei ATCC 9290	>100	6,25	25	25
15	Pseudomonas aeruginosa BMH#1	>100	12,5	100	50
	Escherichia coli 76-2 1**	>100	3,12	12,5	6,25
	" 57R/W677 1**	>100	12,5	25	25
	" R12 Z-338 1**	>100	12,5	6,25	25
	" R18 KY8321 2**	>100	3,12	6,25	6,25
20	" R17 Z343 3**	>100	1,56	3,12	6,25
	" R19 KY8348 4**	>100	>100	>100	>100
	" R20 KY8349 5**	>100	3,12	12,5	12,5
	Pseudomonas aeruginosa UCLA 4184	>100	25	50	100
	" R9 KY8516 3**	>100	50	>100	100
	" R4 KY8511 4**	>100	>100	>100	>100
25	" R5 KY8512 6**	>100	12,5	50	50
	Providencia esp. 164 7**	>100	25	100	100
	Serratia marcescens 1065 3**	>100	6,25	50	50
	Klebsiella pneumoniae 3020 Y-60 1**	>100	12,5	100	>100

* KA: kanamicina A

** 1: gentamicina, productora de adenilsintetasa. 2: gentamicina, productora de fosfotransferasa tipo II. 3: kanamicina, productora de acetiltransferasa. 4: gentamicina, productora de acetiltransferasa tipo I. 5: neomicina, productora de fosfotransferasa tipo I. 6: gentamicina, productora de acetiltransferasa tipo I y tipo II. 7: gentamicina, productora de acetiltransferasa tipo I y tipo II.

30

bióticos mediante el citado enzima.

TABLA III-1

Concentración mínima de inhibición (CMI mcg/ml, pH. 7,2)

1	2	3	4	15	KA*	27	28	29
>100	0,78	3,12	3,12	0,78	0,4	0,4	0,78	0,4
100	0,78	6,25	3,12	0,78	0,4	0,4	0,4	0,4
100	0,78	6,25	12,5	0,4	0,78	0,4	0,4	0,78
>100	3,12	12,5	12,5	3,12	1,56	3,12	1,56	3,12
>100	6,25	25	12,5	3,12	3,12	6,25	6,25	6,25
100	6,25	12,5	12,5	6,25	3,12	12,5	12,5	12,5
100	3,12	12,5	25	6,25	>100	3,12	3,12	6,25
>100	3,12	12,5	25	6,25	1,56	3,12	3,12	3,12
100	6,25	25	25	25	3,12	3,12	3,12	6,25
>100	6,25	25	25	6,25	3,12	3,12	6,25	6,25
>100	12,5	100	50	12,5	25	6,25	12,5	12,5
>100	3,12	12,5	6,25	3,12	>100	6,25	3,12	3,12
>100	12,5	25	25	12,5	>100	12,5	12,5	12,5
>100	12,5	6,25	25	6,25	100	12,5	6,25	12,5
>100	3,12	6,25	6,25	3,12	>100	6,25	12,5	12,5
>100	1,56	3,12	6,25	0,78	12,5	3,12	3,12	3,12
>100	>100	>100	>100	>100	1,56	>100	>100	>100
>100	3,12	12,5	12,5	3,12	>100	1,25	1,25	3,12
>100	25	50	100	12,5	>100	25	50	25
>100	50	>100	100	25	>100	25	50	50
>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100
>100	12,5	50	50	12,5	>100	6,25	12,5	12,5
>100	25	100	100	12,5	>100	25	25	25
>100	6,25	50	50	6,25	100	6,25	6,25	6,25
>100	12,5	100	>100	50	>100	12,5	12,5	25

ilsintetasa. 2: gentamicina, productora de adenilsintetasa y neomicinofstrans-
 ductora de acetiltransferasa. 4: gentamicina, productora de acetiltransfera-
 a de fosfotransferasa tipo I. 6: neomicina, productora de fosfotransferasa
 productora de acetiltransferasa tipo II. Las bacterias inactivan a los anti-

1

TABLA III-2 (continuación)

Compuesto n°	Microor- ganismo						
	SA	BS	EC	PV	SS	ST	KP
5 27	0,04	0,04	0,16	0,32	1,25	0,16	0,32
28	0,04	0,04	0,08	0,32	0,63	0,08	0,32
29	0,08	0,04	0,16	0,32	0,63	0,16	0,63
30	0,08	0,02	0,32	0,16	0,63	0,08	0,32
31	0,16	0,32	2,5	1,25	2,5	0,63	2,5
10 32	0,16	0,63	2,5	2,5	2,5	0,63	5
33	0,32	0,32	1,25	2,5	5,	1,25	10

Nota: El compuesto n°11 es inestable en condiciones alcalinas (pH 8,0) y no puede ser medido.

15

Como resulta evidente de los datos anteriores, los compuestos de esta invención presentan buena actividad antibacteriana contra diversos microorganismos y, por lo tanto, son útiles como agentes antibacterianos o antisépticos.

20

Análogamente, las sales de adición de ácido no tóxicas de estos compuestos presentan un amplio espectro antibacteriano y son útiles como agentes antibacterianos, etc. En el sentido utilizado aquí, el término "sales de adición de ácido no tóxicas" se refiere a las monosales, disales, trisales y tetrasales obtenidas por reacción de una molécula del compuesto representado por la fórmula general (I) con 1 a 6 equivalentes de ácidos no tóxicos y farmacéuticamente aceptables. Los ácidos adecuados son los ácidos inorgánicos como sulfúrico; clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, carbónico, nítrico, etc y los ácidos orgánicos como acético, fumárico, málico, cítrico, mandélico, succínico, ascórbico, etc; aminoácidos como ácido aspártico, etc y similares. Por lo tanto,

25

30

1 las composiciones del aspecto de materia de esta invención
también incluyen estas sales de adición de ácido no tóxicas
y farmacéuticamente aceptables.

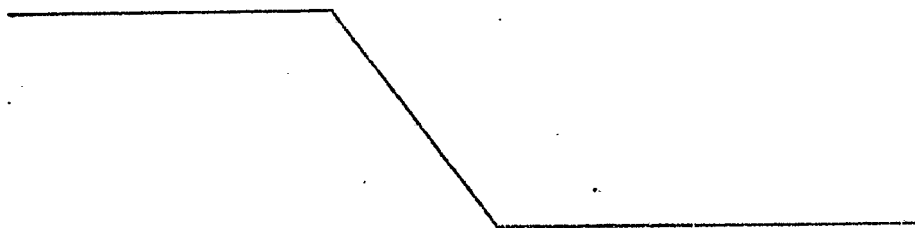
5 Los procedimientos para la síntesis de los compuestos
de la invención están ilustrados en general en el siguiente
diagrama de flujo I. Como ilustra este diagrama, los compues-
tos son sintetizados por las vías siguientes: (1) etapa 1,
etapa 2 y etapa 3; (2) etapa 1, etapa 5 y etapa 7 o (3) eta-
pa, 1, etapa 2, etapa 6 y etapa 7.

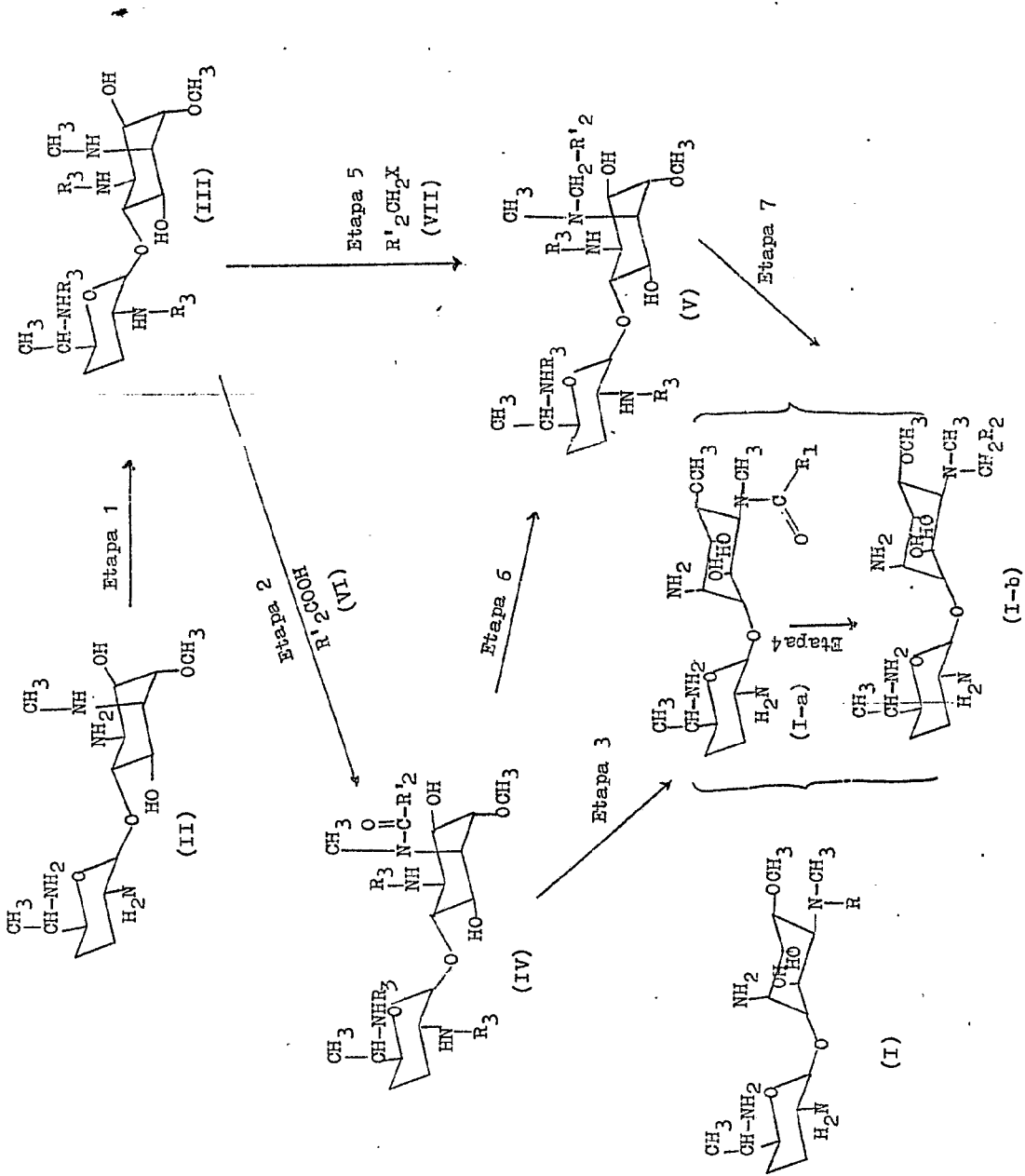
10 Más especialmente, cuando el compuesto deseado represen-
tado por la fórmula general (I) es un compuesto donde $R =$
 $\begin{array}{c} \text{---C---R}_1 \\ | \\ \text{O} \end{array}$, se sintetiza vía etapa 1 → etapa 2 → etapa 3. Cuando
el compuesto deseado representado por la fórmula general (I)
es un compuesto donde $R = -\text{CH}_2\text{R}_2$, es sintetizado vía etapa
15 1 → etapa 2 → etapa 3 → etapa 4 o vía etapa 1 → etapa 5 →
etapa 7 o vía etapa 1 → etapa 2 → etapa 6 → etapa 7.

Entre los compuestos representados por la fórmula gene-
ral (I) así obtenidos, aquéllos donde $R = \text{CH}_2\text{R}_2$ son más esta-
bles en condiciones fuertemente alcalinas que los compuestos
20 donde $R = \text{COR}_1$.

Las etapas individuales del procedimiento anterior se-
rán descritas con detalle a continuación. En la descripción,
los compuestos representados por las fórmula generales (I),
(Ia), (Ib), (II)... (VII) son denominados algunas veces com-
25 puestos (I), (Ia), (Ib), (II)... (VII), respectivamente.

30





1

5

10

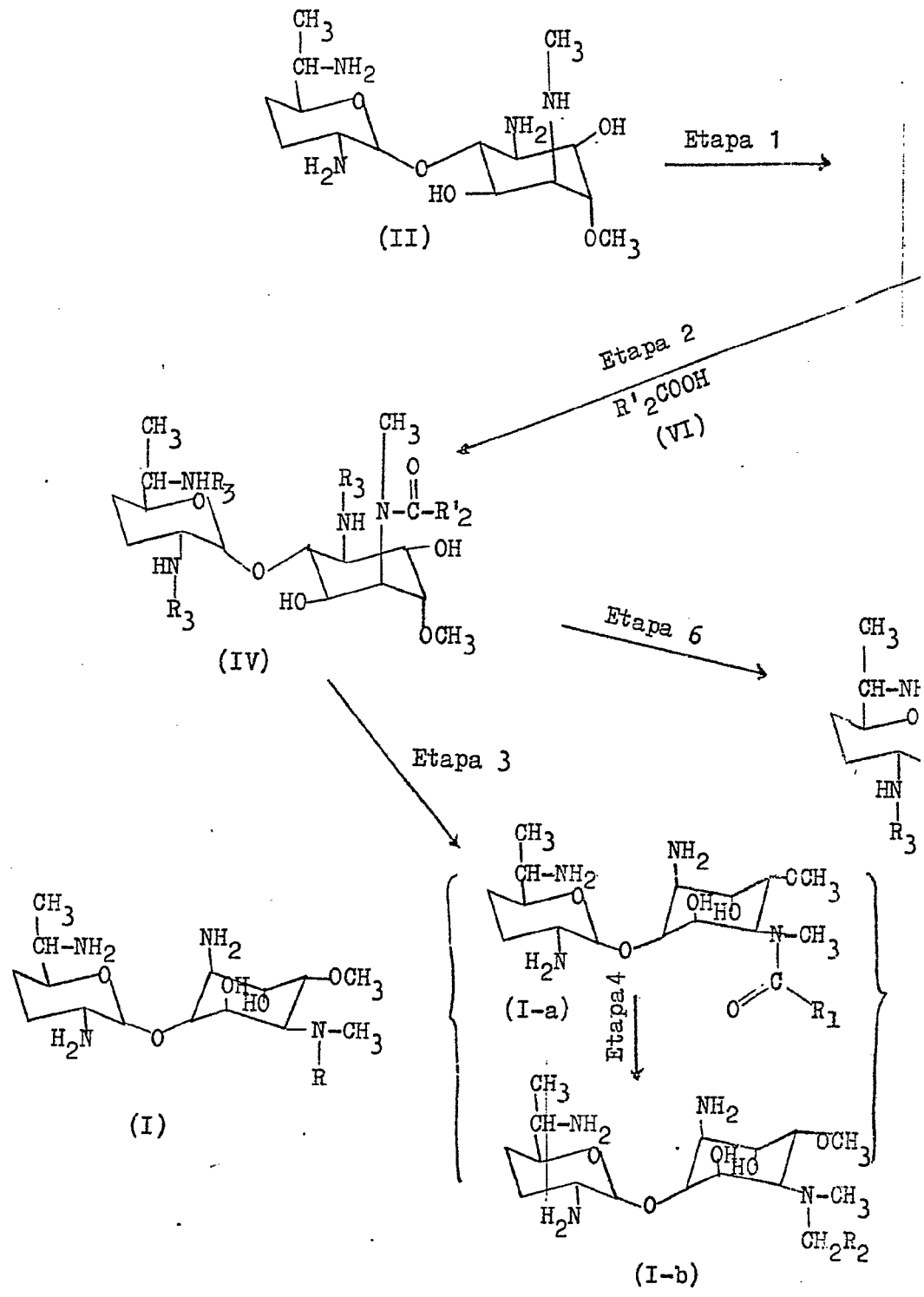
15

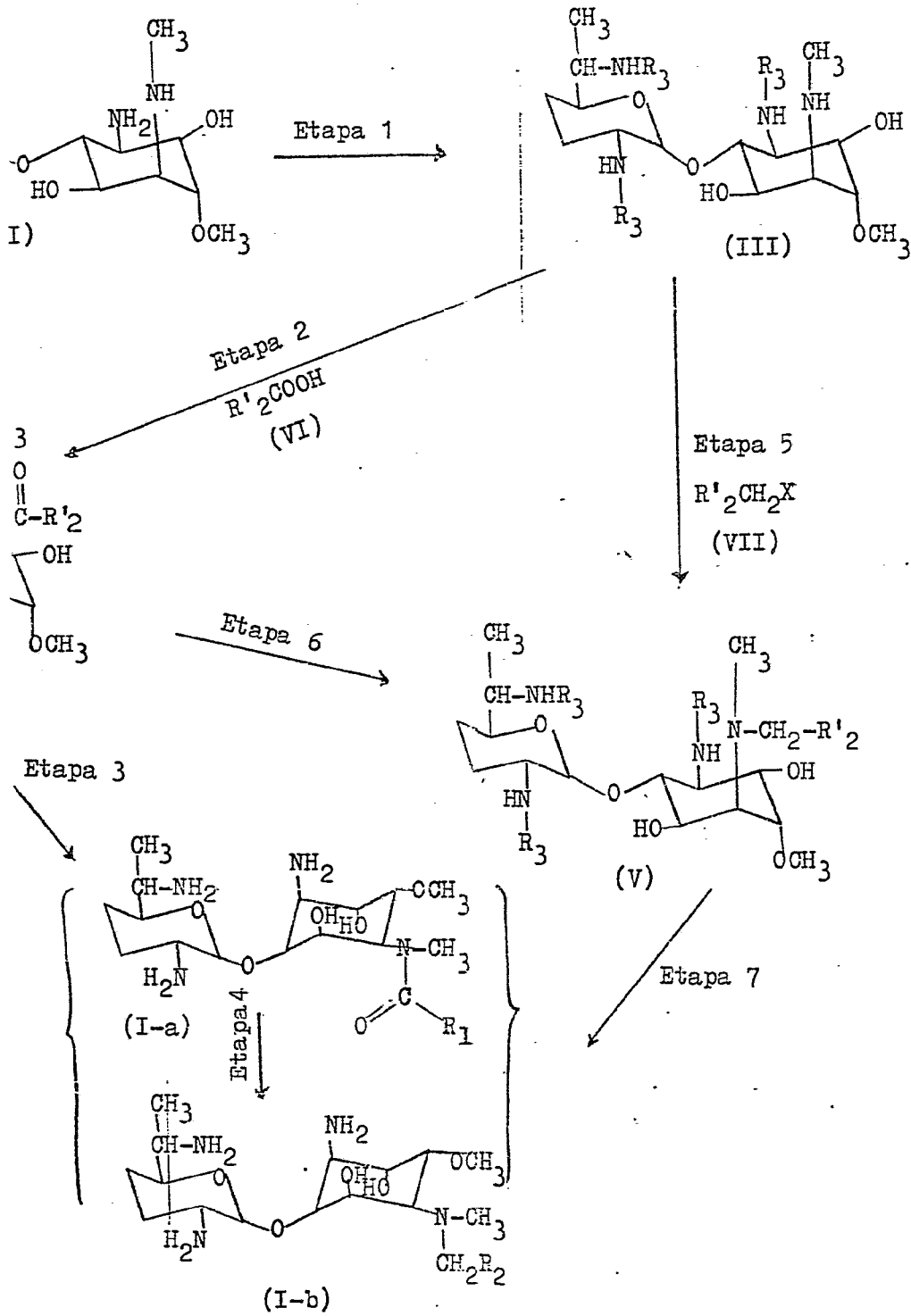
20

25

30

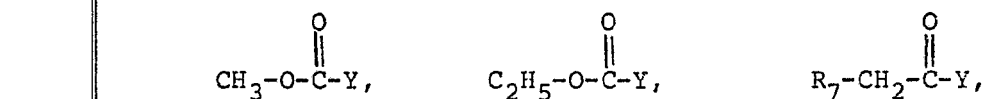
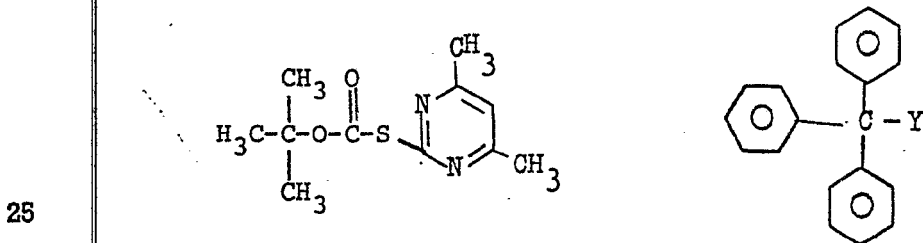
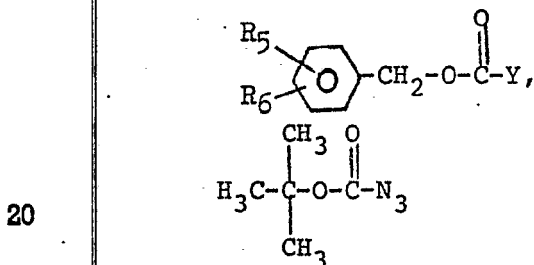
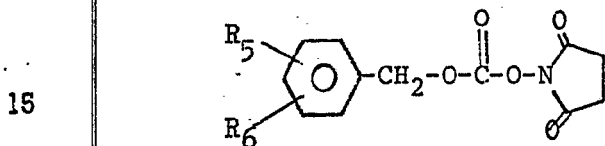
1
5
10
15
20
25
30

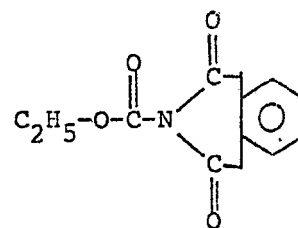
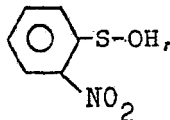
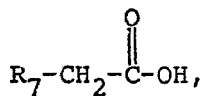




1 Etapa 1 - Síntesis de los compuestos representados por la
fórmula (III) a partir de fortimicina B

5 Puede obtenerse un compuesto representado por la fórmula
(III), donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo amino
unido a los átomos de carbono de las posiciones 1, 2' y
6' de la fortimicina B está enmascarado con un grupo enmas-
carador del amino (R_3), por reacción de fortimicina B en for-
ma de base libre con un reactivo enmascarador del amino en
un disolvente apropiado. Para esta etapa, pueden utilizarse
10 los reactivos enmascaradores del amino habitualmente emplea-
dos en la síntesis de péptidos. Son ejemplos de reactivos
adecuados enmascaradores del amino los siguientes:





5 [donde R_5 y R_6 pueden ser iguales o diferentes y representan, H, OH, NO_2 , Cl, Br, I, grupos alquilo (de 1 a 5 átomos de carbono) o grupos alcoxi (de 1 a 5 átomos de carbono); R_7 representa H, F, Cl, Br, I o un grupo alquilo (de 1 a 5 átomos de carbono) e Y representa Cl, Br o I].

10 Los disolventes adecuados para la reacción son dimetilformamida, dimetilacetamida, tetrahydrofurano, dioxano, 1,2-dimetoxietano, metanol, etanol, acetona, agua o mezclas de los mismos. Entre estos disolventes, se prefiere especialmente el metanol.

15 La concentración de fortimicina B en la reacción es adecuadamente de 1 a 250 milimoles/l y especialmente 10 a 100 milimoles/l. La concentración del reactivo enmascarador del amino es apropiadamente 4 milimoles/l a 1 mol/l, siendo preferibles de 30 a 400 milimoles/l. La cantidad del reactivo

20 enmascarador del amino utilizada en la reacción es apropiadamente de 1 a 5 moles y se prefiere de 3 a 4 moles por mol de fortimicina B. En ese caso, no es favorable que la cantidad del reactivo enmascarador del amino sea superior a 5 moles, porque el átomo de hidrógeno del grupo amino unido al átomo

25 de carbono de la posición 4 de la fortimicina B también es enmascarado por el grupo enmascarador del amino y disminuye el rendimiento del compuesto de fórmula (III) deseado. Por otra parte, tampoco es favorable que la cantidad del reactivo enmascarador del amino sea inferior a 1 mol, porque también disminuye el rendimiento del compuesto de fórmula (III).

30

1 . La temperatura de reacción es de 0 a 60°C y preferiblemente de 0°C a la temperatura ambiente. En estas condiciones, el tiempo de reacción es habitualmente de 2 a 18 horas.

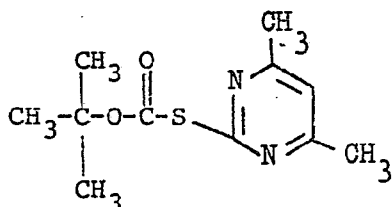
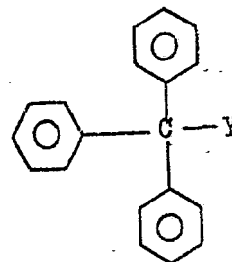
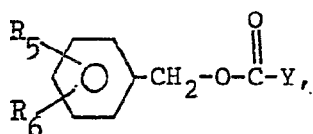
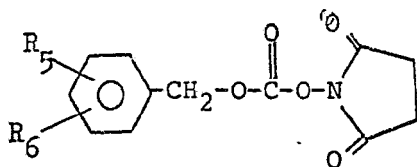
5 El compuesto representado por la fórmula (III) sintetizado de acuerdo con el procedimiento anterior puede utilizarse directamente en la etapa sucesiva tal como se encuentra en la mezcla de reacción o puede ser aislado y purificado y a continuación empleado en la siguiente etapa.

10 La purificación y aislamiento del compuesto representado por la fórmula (III) a partir de la mezcla de reacción puede ser realizada de acuerdo con el siguiente procedimiento. Se separa el disolvente por destilación de la mezcla de reacción, obteniéndose un residuo. Este se tritura con un disolvente orgánico como cloroformo o acetato de etilo para disolver las materias extraíbles. Después el extracto disuelto
15 resultante se somete a cromatografía en columna empleando gel de sílice (por ejemplo Kieselgel 60 fabricada por E. Merck, etc). Luego se realiza la elución con un disolvente orgánico como cloroformo-metanol o acetato de etilo-etanol, etc y las fracciones que presentan un valor de la Rf específico se recogen y concentran a sequedad, con lo que se
20 obtiene el material deseado en forma de polvo blanco.

25 El compuesto representado por la fórmula (III) así obtenido puede ser utilizado como sustancia de partida para la preparación de los compuestos representados por las fórmulas (Ia) y (Ib), útiles como agentes antibacterianos, etc.

30 El compuesto representado por la fórmula (Ia) es inestable en condiciones alcalinas y, por lo tanto, es conveniente, en la preparación del compuesto representado por la fórmula (III), seleccionar un reactivo enmascarador del amino que no

1 requiera condiciones alcalinas para eliminar el grupo enmas-
carador. Son ejemplos de reactivos enmascaradores del ami-
no que satisfacen estas condiciones los siguientes:



(donde R_5 , R_6 e Y tienen el significado dado anteriormente).

20 El compuesto representado por la fórmula (Ib) es estable en condiciones ácidas y alcalinas y, cuando se utiliza el compuesto representado por la fórmula (III) como sustancia de partida para la preparación del compuesto representado por la fórmula (Ib), puede emplearse cualquier reactivo enmas-
carador del amino.

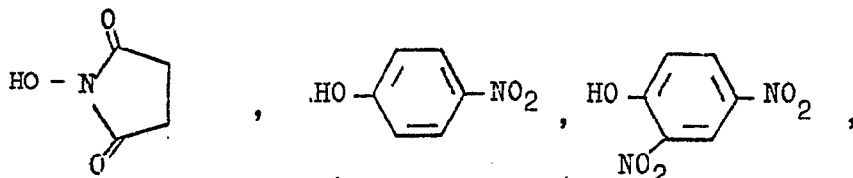
25 Etapa 2 - Preparación del compuesto (IV) a partir del com-
puesto (III)

El compuesto (IV) se obtiene por acilación del compuesto (III) con un agente acilante normal, en un disolvente apropiado.

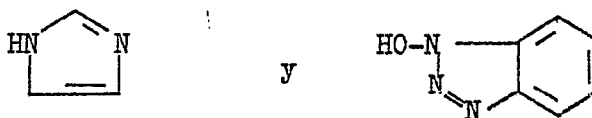
30 Como agentes acilantes pueden utilizarse aquí los ácidos carboxílicos representados por la fórmula general (VI), R'_2COOH [donde R'_2 representa un grupo alquilo, hidroxialqui-

1 lo, carbamoilaminoalquilo, N-alquilaminoalquilo, N-alquil-
aminohidroxialquilo, aminoalquilo sustituido (el sustituyen-
te es un grupo enmascarador del amino), aminohidroxialquilo
5 sustituido (el sustituyente es un grupo enmascarador del ami-
no), aminoalquilo N-sustituido (el sustituyente es un grupo
aminometilcarbonilo sustituido cuyo sustituyente es un gru-
po enmascarador del amino), donde el grupo enmascarador del
amino puede ser igual o diferente de dicho R₃ o derivados
10 de ácidos carboxílicos funcionalmente equivalentes a éstos,
es decir, anhídridos de los ácidos carboxílicos representa-
dos por la fórmula general (VI), ésteres activos de dichos
ácidos carboxílicos con un compuesto seleccionado entre el
grupo formado por

15

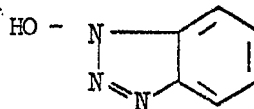


20



pr e feriblemente

25



o haluros de ácido, etc, de dichos ácidos carboxílicos.

30

Quando el agente acilante aquí utilizado contiene un gru-
po amino libre, es necesario enmascarar el grupo amino con

1 un grupo apropiado siguiendo procedimientos conocidos. Naturalmente, es preferible utilizar los mismos grupos enmascaradores que los de las posiciones 1, 2' y 6' del compuesto (III). Los grupos amino son enmascarados de la misma
5 forma que en la etapa I.

La concentración del compuesto (III) utilizado está comprendida entre 1 y 250 mM, preferiblemente 10 a 100 mM. Se utiliza un número igual o superior de moles del agente acilante con respecto al compuesto (III). Cuando se emplea
10 un anhídrido como agente acilante, es preferible utilizar 1 a 5 moles del anhídrido por mol del compuesto (III). Cuando se emplea un éster activo como agente acilante, es preferible utilizar 1 a 1,5 moles del éster activo por mol del compuesto (III).

15 Los disolventes adecuados son dimetilformamida, dimetilacetamida, tetrahidrofurano, dioxano, 1,2-dimetoxietano, metanol, etanol, agua o mezclas de los mismos. Se emplea preferiblemente tetrahidrofurano cualquiera que sea el agente acilante utilizado.

20 La reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 0 y 70°C, preferiblemente entre 0°C y la temperatura ambiente, durante 15 minutos a 20 horas y preferiblemente 1 a 18 horas.

25 Además del procedimiento anterior, puede aplicarse a la etapa de acilación un método DCC o similar.

30 Así, se forma en la solución reaccionante el compuesto (IV) y esta solución tal como está puede utilizarse en la preparación del compuesto (Ia) o bien puede aislarse el compuesto (IV) y después utilizarse en la preparación del compuesto (Ia).

1

El aislamiento y la purificación del compuesto (IV) de la solución reaccionante se lleva a cabo separando primero el disolvente por destilación de la solución reaccionante. El residuo resultante se mezcla con un disolvente orgánico como cloroformo, acetato de etilo, etc, para extraer las partes solubles. Después el extracto se somete a cromatografía en columna, empleando una columna rellena de gel de sílice como Kieselgel 60 (nombre comercial de E. Merck) o similar. La elución se realiza con un sistema disolvente orgánico de cloroformo-metanol, acetato de etilo-etanol, etc y se recogen las fracciones que contienen los compuestos (IV). Después se separa el disolvente y se obtiene el compuesto (IV).

5

10

15

Etapa 3 - Preparación del compuesto (Ia) a partir del compuesto (IV)

20

25

30

El grupo R_3 enmascarador del grupo amino del compuesto (IV) obtenido en la Etapa 2 se separa por procedimientos conocidos para obtener el compuesto (Ia). Por ejemplo, cuando el grupo enmascarador es un grupo benciloxicarbonilo, puede ser eliminado por hidrogenólisis catalítica en presencia de un catalizador metálico de paladio/carbón, platino, rodio, etc y en presencia de un ácido como clorhídrico, bromhídrico, acético, etc, en un disolvente como agua, tetrahidrofurano, dimetilacetamida, dimetiformamida, alcoholes inferiores, dioxano, éter dimetílico de etilenglicol o combinaciones de los mismos, etc, preferiblemente en metanol a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica, mientras se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la mezcla de reacción.

Habitualmente se emplea de 1 a 10 % en peso del cata

1 lizador metálico sobre el peso de compuesto (IV) y la con-
centración de compuesto (IV) es normalmente de 1 a 200 mM,
preferiblemente alrededor de 50 mM.

5 El ácido se agrega a la mezcla de reacción de mane-
ra que se mantenga un pH de 4 o menos. El final de la reac-
ción puede ser confirmado por el cese del desprendimiento
de dióxido de carbono o por cromatografía en capa fina y
similares.

10 Cuando el grupo enmascarador es un grupo t-butoxicar-
bonilo, su eliminación puede realizarse en presencia de áci-
do clorhídrico o ácido trifluoracético en un disolvente no
acuoso, por ejemplo diclorometano, cloroformo, tricloroetile-
no y acetato de etilo. En este caso, el compuesto (IV) se
15 utiliza a una concentración de 1 a 200 mM, preferiblemente
alrededor de 50 mM y se emplea una cantidad equivalente o
más del ácido. Se confirma que la reacción ha terminado por
cromatografía en capa fina, etc.

20 Cuando el grupo enmascarador es un grupo trifenilme-
tilo, puede ser eliminado por tratamiento con ácido acético
o ácido trifluoracético por procedimientos conocidos y quan-
do el grupo enmascarador es un grupo orto-nitrofenilsulfoni-
lo, el tratamiento se realiza con ácido acético o ácido clor-
hídrico de acuerdo con un procedimiento conocido para sepa-
rar el grupo enmascarador.

25 La separación y purificación del producto deseado se
realizan por procedimientos conocidos, empleando una resina
cambiadora de ión, cromatografía en columna de gel de síli-
ce o similar. Por ejemplo, siguiendo un procedimiento con
resina cambiadora de ión, se filtra la mezcla de reacción,
30 si es necesario, y el filtrado resultante se evapora a se-

1 quedad. El residuo se disuelve en agua y, después de ajustar el pH a 6 aproximadamente con un álcali, por ejemplo hidróxido sódico, la solución resultante se pasa por una columna de, por ejemplo, Amberlite CG-50 (en forma de sal amónica) para adsorber el producto deseado. Después la columna se somete a elución con una concentración apropiada de amoníaco para dividir el eluato en fracciones. Las fracciones con actividad antibacteriana se combinan y evaporan para separar el disolvente. El producto deseado se obtiene en forma de polvo.

5
10 Etapa 4 - Preparación del compuesto (Ib) a partir del compuesto (Ia)

15 El compuesto (Ia) obtenido en la Etapa 3, o fortimicina A y fortimicina C obtenidas por métodos conocidos, se reduce en un disolvente apropiado en presencia de un agente reductor para convertir el grupo carbonilo del grupo amido en un grupo metileno, a la temperatura ambiente o a la temperatura de reflujo del disolvente, con lo que se obtiene el compuesto (Ib).

20 Son disolventes apropiados el tetrahidrofurano, dioxano, éter dietílico, etc. Como agente reductor, se utiliza un exceso, habitualmente de 10 veces o más, de hidruro de litio y aluminio, diborano, etc.

25 La purificación del producto deseado se realiza, por ejemplo, con una resina cambiadora de ión de la siguiente forma. Después de que se ha descompuesto el exceso de agente reductor en la mezcla de reacción con acetato de etilo, agua o similares, se destila la mayor parte del disolvente a presión reducida. El residuo resultante en estado semisólido se mezcla con agua para extraer los componentes solubles en agua

30

1 y el extracto resultante se somete a cromatografía en colum-
na rellena de una resina cambiadora de ion débilmente áci-
da (por ejemplo Amberlite CG-50). La columna se lava con
5 agua y después se eluye con amoníaco acuoso. Se recogen las
fracciones que contienen el compuesto (Ib) y se separa el
amoníaco por evaporación para obtener el compuesto (Ib) en
forma de polvo blanco.

La separación y purificación también pueden reali-
zarse por otros procedimientos conocidos, como cromatografía
10 en gel de sílice, etc.

Etapá 5 - Preparación del compuesto (V) a partir del com-
puesto (III)

El compuesto (V) puede prepararse haciendo reaccio-
nar el compuesto (III) con un compuesto representado por la
15 fórmula general (VII), R'_2CH_2X (donde R'_2 tiene el signifi-
cado dado anteriormente y X representa cloro, bromo, yodo,
un grupo éster metanosulfonílico o un grupo éster p-toluen-
sulfonílico) en un disolvente apropiado, para alquilar el
compuesto (III). La concentración del compuesto (III) utili-
20 zada en la reacción está comprendida entre 1 y 250 milimo-
les/l, preferiblemente entre 10 y 100 milimoles/l. La canti-
dad utilizada de compuesto (VII) es de 0,5 a 2 moles, prefe-
riblemente 0,8 a 1,2 moles, por mol de compuesto (III).

Los disolventes adecuados son metanol, etanol, pro-
panol, butanol, tetrahidrofurano, acetona o sus mezclas y
25 preferiblemente etanol.

La reacción se lleva a cabo a una temperatura compren-
dida entre 0 y 120°C, preferiblemente entre 10 y 80°C, duran-
30 te 2 a 4 horas, preferiblemente 10 a 20 horas. El producto
deseado así obtenido puede utilizarse como tal en la reacción

1 siguiente sin aislarlo o puede ser aislado primero y purificado de la siguiente forma.

5 Una vez completada la reacción, se destila el disolvente de la mezcla de reacción y el residuo se disuelve en un disolvente orgánico como acetato de etilo, cloroformo, etc. Después de lavar la solución orgánica con agua y secarla, se evapora el disolvente. A continuación se aplica el residuo a una columna cromatográfica de gel de sílice, utilizando, por ejemplo, Kieselgel 60 (nombre comercial de E. Merck Co.). Después se realiza la elución con un disolvente orgánico como cloroformo-metanol, acetato de etilo-etanol, etc y se recogen las fracciones que contienen el compuesto (V), comprobado por los valores de la Rf. Se separa el disolvente por destilación con lo que se obtiene el compuesto (V) en forma de polvo blanco.

15 Etapa 6 - Preparación del compuesto (V) a partir del compuesto (IV)

20 El compuesto (V) puede obtenerse por reducción del compuesto (IV) obtenido en la Etapa 2 en presencia de un agente reductor, para convertir el grupo carbonilo del grupo amido en un grupo metileno, en un disolvente no acuoso apropiado, a la temperatura ambiente o a la de reflujo del disolvente.

25 Para esta etapa, son disolventes adecuados el tetrahidrofurano, dioxano, éter dietílico, etc y sus combinaciones. Como agente reductor, se utilizan diborano, hidruro de litio y aluminio, etc. En esta reacción, el compuesto (IV) se emplea a una concentración de 1 a 250 mM, preferiblemente 10 a 100 mM y habitualmente se emplea un exceso de 10 veces o más del agente reductor. La reacción se termina habi-

30

1 tualmente en 10 minutos a 18 horas.

5 Cuando el grupo amino del compuesto (IV) utilizado en esta etapa está enmascarado con un grupo benciloxicarbonilo, es preferible emplear diborano como agente reductor porque el grupo carbonilo del grupo amido se convierte en el grupo metileno sin perturbar al grupo benciloxicarbonilo del compuesto (IV). Por consiguiente, el compuesto (V) puede obtenerse con buen rendimiento. [W.V. Curran y R.M. Angier: J.Org.Chem., 31, 3867 (1966)].

10 Cuando el radical R'₂ del compuesto (IV) utilizado contiene un grupo amino enmascarado en esta etapa 6, se forman compuestos similares, además del compuesto (V), que dependen del grupo enmascarador, de las condiciones de reacción y del agente reductor. Es decir, cuando se emplea diborano como agente reductor y el grupo enmascarador en el grupo amino enmascarado del radical R'₂ del compuesto (IV) es un grupo benciloxicarbonilo o un grupo t-butiloxicarbonilo, se obtiene el compuesto (V) y compuestos donde el grupo enmascarador del grupo amino del radical R'₂ del compuesto (V) ha sido reducido a un grupo metilo. Si el tiempo de reacción es más corto, se forma principalmente el primero y si el tiempo de reacción se prolonga, aumenta el rendimiento del último.

25 El producto de reacción resultante puede utilizarse como materia prima para la Etapa 7 tal como está, sin aislar el compuesto (V). Alternativamente, puede aislarse el compuesto (V) de la siguiente forma. Se separa el disolvente por destilación de la mezcla de reacción y después el residuo se mezcla con agua para descomponer el hidruro residual. Se
30 agrega después un disolvente orgánico como acetato de etilo,

1 cloroformo, etc, para extraer los componentes solubles. Una
vez separada la capa acuosa, la capa de disolvente orgánico
se lava con agua, se seca con sulfato sódico anhidro, etc y
se destila el disolvente. El residuo se disuelve en un di-
5 solvente orgánico como cloroformo, etc y el producto desea-
do se obtiene por cromatografía en columna de gel de sílice.

Cuando aparecen dos productos finales, estos dos
productos pueden obtenerse por separado por fraccionamiento
de los eluatos y, si es necesario, cambiando el disolvente
10 eluyente.

Etapa 7 - Preparación del compuesto (Ib) a partir del com-
puesto (V)

De acuerdo con esta etapa, el grupo R₃ enmascarador
del amino de la 1,2',6'-tri-N-enmascarado-4-N-alquil(o al-
15 quil sustituido)fortimicina B [compuesto (V)] obtenido en
la Etapa 5 o 6 se elimina siguiendo el procedimiento cono-
cido, basándose en la Etapa 3 en la que se emplea el com-
puesto (V) en lugar del compuesto (IV), obteniéndose la 4-
N-alquil(o alquil sustituido)fortimicina B [compuesto (Ib)].

20 La sal de adición de ácido del compuesto (I) así
preparado puede obtenerse por el siguiente procedimiento.
Primero se disuelve el compuesto en agua y después se mezcla
con un ácido. Después se agrega un disolvente capaz de redu-
cir la solubilidad del compuesto (I), por ejemplo etanol,
25 etc, para formar un precipitado. El precipitado se filtra y
seca, obteniéndose un polvo blanco o gris de la sal de adi-
ción de ácido del compuesto (I).

Los valores de la DE₅₀ y DL₅₀ de algunos de estos
30 compuestos están indicados a continuación.

1

1) DE₅₀

5

En este experimento, se utiliza un grupo formado por ratones de la variedad ddY. En cada animal se inoculan los microorganismos indicados a continuación. Una hora después de la inoculación, los compuestos de ensayo disueltos en agua destilada para inyección se inyectan intraperitonealmente en los animales experimentales mediante un pinchazo. Se observan los animales experimentales una semana después de la inyección y se calcula la DE₅₀ siguiendo el método de Behrens-Kärber. Los resultados obtenidos son los siguientes:

10

Número del compuesto de ensayo	Compuesto de ensayo	DE ₅₀ (mg/kg)	
		KP*1	EC*2
2	Sulfato de fortimicina A	2,06	5,06
27	Sulfato de 4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	1,88	2,81

15

*1 KP significa Klebsiella pneumoniae 8045. Se inoculan $1,3 \times 10^5$ células en cada ratón.

*2 EC significa Escherichia coli Juhl. Se inoculan $2,1 \times 10^4$ células en cada ratón.

20

2) DL₅₀

En este experimento, se utiliza un grupo formado por 5 ratones de la variedad ddY. Los compuestos de ensayo disueltos en 0,2 ml de agua destilada para inyección se inyectan intravenosamente en cada animal en 10 segundos. La DL₅₀ se calcula por el método Behrens-Kärber. Los resultados obtenidos son los siguientes:

25

Núm. del compuesto de ensayo	Compuesto de ensayo	DL ₅₀ (mg/kg)
2	Sulfato de fortimicina A	330
27	Sulfato de 4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B	135

30

1 Esta invención incluye dentro de sus límites las
composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente
activo, por lo menos uno de los compuestos de esta invención
que presenta actividad antimicrobiana en asociación con el
5 vehículo o diluyente farmacéutico. Los compuestos de esta
invención pueden ser administrados por las vías oral o paren-
teral, es decir, vías de administración intramuscular, intra-
venosa o subcutánea, o por vía rectal y pueden ser formulados
en formas de dosificación adecuadas para la vía de administra-
10 ción.

 Las formas de dosificación sólidas para administra-
ción oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y
gránulos. En estas formas de dosificación sólidas, el compues-
to activo se mezcla por lo menos con un diluyente inerte co-
15 mo sacarosa, lactosa o almidón. Estas formas de dosificación
también pueden contener, como es práctica habitual, sustan-
cias adicionales distintas de los diluyentes inertes, v.g.
agentes lubricantes como estearato magnésico. En el caso de
las cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación
20 también pueden contener agentes reguladores del pH. Las table-
tas y píldoras pueden prepararse asimismo con recubrimientos
entéricos.

 Las formas de dosificación líquidas para administra-
ción oral incluyen las emulsiones, soluciones, suspensiones,
25 jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen
los diluyentes inertes comúnmente utilizados en este campo,
por ejemplo agua. Además de los diluyentes inertes, estas com-
posiciones también pueden contener coadyuvantes, tales como
agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores y
30 agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

1 Los preparados de acuerdo con esta invención para
administración parenteral incluyen las soluciones, suspensio-
nes o emulsiones acuosas ó no acuosas, esterilizadas. Son
ejemplos de disolventes o vehículos no acuosos el propilen-
5 glicol, polietilenglicol, aceites vegetales como el aceite
de oliva y ésteres orgánicos inyectables como el oleato de
etilo. Estas formas de dosificación también pueden contener
coadyuvantes como agentes preservativos, humectantes, emulgen-
tes y dispersantes. Pueden ser esterilizadas, por ejemplo,
10 por filtración a través de un filtro que retiene las bacte-
rias, por incorporación de agentes esterilizantes a las com-
posiciones, por irradiación de las mismas o por calefacción.
También pueden fabricarse en forma de composiciones sólidas
que se disuelven en agua estéril o en algún otro medio inyec-
15 table estéril inmediatamente antes de su uso.

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

20 La dosis de ingredientes activos en las composicio-
nes de esta invención puede variar; sin embargo, es neces-
ario que la cantidad de ingredientes activos sea tal que se
obtenga una dosis adecuada. La dosis seleccionada depende del
efecto terapéutico deseado, de la vía de administración y de
25 la duración del tratamiento.

 A continuación se incluyen ejemplos de esta inven-
ción, donde los Ejemplos 1-2 ilustran las realizaciones de pues-
ta en práctica de la etapa 1. Los Ejemplos 3-10 y 27 ilustran
las realizaciones de puesta en práctica de la etapa 2. Los
30 Ejemplos 11-18 ilustran las realizaciones de puesta en prácti-

1 ca de la etapa 3, los Ejemplos 19-21 ilustran las realiza-
ciones de puesta en práctica de la etapa 4, el Ejemplo 22
ilustra una realización de puesta en práctica de la etapa 5,
5 los Ejemplos 23 y 28 ilustran realizaciones de puesta en
práctica de la etapa 6 y los Ejemplos 24, 25, 26 y 29 ilus-
tran realizaciones de puesta en práctica de la etapa 7.

EJEMPLO 1

Preparación de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B

10 Se disuelven 1,8 g (5,2 milimoles) de fortimicina
B y 3 ml de trietilamina en 100 ml de metanol y se agrega
gota a gota y agitando una solución de 4,0 g. (16,0 milimoles)
de N-(benciloxicarboniloxi)succinimida en 50 ml de tetrahi-
drofurano, mientras se enfría con hielo (3-5°C) durante un
15 periodo de 1,5 horas. Una vez completada la adición, la so-
lución se agita durante 2 horas mientras se enfría con hie-
lo (3-5°C) y después se evapora el disolvente a presión
reducida. El residuo (materia sólida) así obtenida se disuel-
ve en 200 ml de cloroformo y la solución resultante se lava
20 sucesivamente con 100 ml de una solución acuosa de bicarbona-
to sódico al 5 % y 100 ml de agua. Después de lavada, la so-
lución clorofórmica se seca sobre sulfato sódico anhidro y
se concentra a sequedad a presión reducida. El residuo só-
lido resultante se disuelve después en una pequeña cantidad
de cloroformo y la solución clorofórmica se carga en una co-
25 lumnula rellena con 200 g de gel de sílice (Kieselgel 60, nom-
bre comercial, E. Merck Co.). En esta etapa, la elución se
realiza con una mezcla disolvente de metanol y cloroformo
(3:97 en volumen) y se recoge el eluato en fracciones de
30 60 ml. Se combinan las fracciones 23 a 50 que contienen com-
puestos con una $R_f = 0,47$ en el sistema disolvente C de la

1 Tabla II. Estas fracciones se concentran a sequedad a presión reducida. Se obtienen 2,3 g de un polvo blanco.

Punto de fusión: 79-82°C

5 Espectro RMP (metanol-d₄): δ (ppm) 1,02 (3H, d), 1,2-1,6 (4H, m), 2,30 (3H, s), 2,90 (1H, t), 3,42 (3H, s), 3,5-4,0 (8H, m), 5,02 (6H, s), 5,36 (1H, d), 7,24 (15H, s).

$[\alpha]_D^{23} = +20,3^\circ$ (c = 1,0, metanol).

Análisis elemental para C₃₉H₅₀N₄O₁₁:

Encontrado : C, 62,68; H, 6,93; N, 7,17 %

10 Calculado : C, 62,38; H, 6,71; N, 7,46 %.

Por los datos anteriores se confirma que el producto obtenido es la 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B (3,1 milimoles, rendimiento: 59,6 %).

EJEMPLO 2

Preparación de 1,2',6'-tri-N-t-butoxicarbonil-fortimicina B

15 Se disuelven 348 mg (1,0 milimoles) de fortimicina B en 15 ml de metanol y se mezclan con 960 mg (4,0 milimoles) de S-4,6-dimetilpirimidin-2-il-tiocarbonato de t-butilo sintetizado de forma similar a la descrita en Bull.Chem.Soc.,
20 Japón, 46, 1269 (1973) por T. Nagasawa y colaboradores. La mezcla de reacción se deja en reposo a la temperatura ambiente durante 5 días con moderada agitación. La mezcla de reacción así obtenida se concentra después a sequedad a presión reducida. Después se añaden 30 ml de acetato de etilo y 20 ml
25 de agua al residuo y se agita la mezcla. La capa de acetato de etilo se lava dos veces con 20 ml de agua y después se seca sobre sulfato sódico anhidro. Después de secar, se evapora el acetato de etilo a presión reducida para obtener un residuo sólido. El residuo sólido resultante se disuelve en
30 una pequeña cantidad de cloroformo y la solución clorofórmi-

1 ca se carga en una columna rellena con 20 g de gel de sílice.

En esta etapa la elución se realiza con una mezcla
disolvente de metanol y cloroformo (3:97 en volumen) y el
eluatado se recoge en fracciones de 6 ml. Se combinan las frac-
5 ciones 20-60 que contienen compuestos con una Rf = 0,31 en
el sistema disolvente C de la Tabla II. Estas fracciones se
concentran a sequedad a presión reducida. Así se obtienen
175 mg de un polvo blanco.

Espectro RMP (metanol-d₄): δ (ppm) 1,10 (3H, d), 1,2-
10 1,6 (4H, m), 1,59 (27H, s), 2,35 (3H, s), 3,5-4,0 (8H, m),
5,33 (1H, d).

Análisis elemental para C₃₀H₅₆N₄O₁₁:

Encontrado: C, 55,24; H, 8,70; N, 8,59

Calculado : C, 55,54; H, 8,70; N, 8,64.

15 Por los datos descritos se confirma que el producto
es la 1,2,6'-tri-N-t-butoxicarbonil-fortimicina B (0,27 mil-
moles, rendimiento: 27 %).

EJEMPLO 3

20 Se disuelve 1 ml de N,N-dimetilformamida, 33 mg (0,28
milimoles) de ácido hidantoico y 38 mg (0,28 milimoles) de
1-hidroxibenzotriazol. Se añaden 58 mg (0,28 milimoles) de
N,N'-diciclohexilcarbodiimida y la mezcla de reacción se agi-
ta durante 2 horas mientras se enfría con hielo (3-5°C).

25 La solución resultante se mezcla con 164 mg (0,25 mi-
limoles) de 1,2,6'-tri-N-t-butoxicarbonil-fortimicina B obte-
nida en el Ejemplo 2 y se deja en reposo a la temperatura
ambiente durante 2 días, con agitación. Después la materia
insoluble depositada se separa por filtración y el filtrado
30 se concentra a presión reducida para dar un residuo sólido
blanco amarillento (1,2',6'-tri-N-t-butoxicarbonil-4-N-hidan-

1 toil-fortimicina B).

EJEMPLO 4

5 Se disuelven 751 mg (1,0 milimoles) de 1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonil-fortimicina B, obtenida por un método si-
milar al del Ejemplo 1, en 20 ml de metanol y se añaden
0,5 ml (5,0 milimoles) de anhídrido acético. La mezcla de
reacción resultante se deja en reposo a la temperatura
ambiente durante 16 horas. Después la solución resultante
se concentra a presión reducida, el residuo se disuelve en
10 20 ml de acetato de etilo y la solución se lava después
sucesivamente con 10 ml de una solución acuosa de bicarbona-
to sódico al 5 % y 10 ml de agua y después se deshidrata
con sulfato sódico anhidro. Después de secar, la solución
de acetato de etilo se evapora a presión reducida y al re-
siduo se agregan 10 ml de n-hexano con agitación para lavar-
lo. Se separa el n-hexano por decantación para obtener un
residuo sólido blanco amarillento pálido de (1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonil-4-N-acetil-fortimicina B).

EJEMPLO 5

20 En este ejemplo se llevan a cabo las reacciones uti-
lizando el método del Ejemplo 4 empleando el anhídrido in-
dicado en la Tabla A para obtener un residuo que contiene
el compuesto (IV) indicado en dicha Tabla A. Sin embargo,
se utilizan cantidades equimoleculares del anhídrido de la
25 Tabla A en lugar del anhídrido acético empleado en el Ejem-
plo 4.

30



1

TABLA A

<u>Compuesto empleado en lugar del anhídrido acético</u>	<u>Compuesto (IV)</u>
Anhídrido propiónico	1,2',6'-Tri-N-benciloxicarbonil-4-N-propionil-fortimicina B
5 Anhídrido n-butírico	1,2',6'-Tri-N-benciloxicarbonil-4-N-(n-butiril)fortimicina B
Anhídrido n-valérico	1,2',6'-Tri-N-benciloxicarbonil-4-N-(n-valeril)fortimicina B

EJEMPLO 6

10

En 10 ml de tetrahidrofurano se disuelven 230 mg (1,1 milimoles) de N-benciloxicarbonilglicina, 148 mg (1,1 milimoles) de 1-hidroxibenzotriazol y 227 mg (1,1 milimoles) de N,N'-díciclohexilcarbodiimida y la mezcla de reacción resultante se agita y se enfría con hielo (3-5°C) durante una hora. Después se añaden 750 mg (1,0 milimoles) de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B, obtenida de forma similar a la descrita en el Ejemplo 1. La mezcla resultante se agita a la temperatura ambiente durante 18 horas. Después la materia insoluble se separa por filtración y el disolvente del filtrado se separa a presión reducida. El concentrado resultante, disuelto en una pequeña cantidad de cloroformo (2 ml), se carga en una columna rellena con 50 g de un gel de sílice. La elución se realiza con una mezcla disolvente de cloroformo y metanol (98:2 en volumen) y el eluato se recoge en fracciones de 6 ml.

15

20

25

30

Se combinan las fracciones 24-40 que contienen los compuestos con una $R_f = 0,66$ en el sistema disolvente B de la Tabla II. Estas fracciones se concentran a sequedad a presión reducida. Así se obtienen 612 mg de un polvo blanco con el siguiente espectro de RMP (metanol- d_4): δ (ppm) 1,12 (3H, d), 1,2-1,9 (4H, señal ancha), 2,98 y 3,06 (3H conjunto, s,

1 cada uno), 3,33 (3H, s), 3,2-4,5 (11H, señal ancha), 4,95 (1H, d), 5,02 (8H, s), 7,20 (20H, s).

Así se confirma que el producto es la tetra-N-benciloxycarbonil-fortimicina A (0,67 milimoles, rendimiento: 67 %).

5 EJEMPLO 7

De forma similar a la descrita en el Ejemplo 6, se llevan a cabo las mismas reacciones utilizando los derivados de N-benciloxycarbonilo indicados en la Tabla B para obtener los compuestos (IV) indicados en la misma tabla, en cuya reacción se utilizan cantidades equimoleculares de los derivados N-benciloxycarbonílicos mostrados en la Tabla B en lugar de la N-benciloxycarbonilglicina utilizada en el Ejemplo 6.

15 TABLA B

Compuesto utilizado en lugar de la N-benciloxycarbonilglicina	Compuesto (IV)
N-benciloxycarbonil- β -alanina	tetra-N-benciloxycarbonil [4-N-(β -alanilfortimicina B)]
Acido N-benciloxycarbonil- γ -amino-n-butírico	tetra-N-benciloxycarbonil-[4-N-(γ -amino-n-butiril-fortimicina B)]
20 Acido N-benciloxycarbonil- δ -amino-n-valérico	tetra-N-benciloxycarbonil-[4-N-(δ -aminovaleril-fortimicina B)]
Acido N-benciloxycarbonil- ϵ -amino-n-caproico	tetra-N-benciloxycarbonil-[4-N-(ϵ -amino-n-capropil-fortimicina B)]

25 EJEMPLO 8

En 5 ml de tetrahidrofurano se disuelven 183 mg (1,1 milimoles) de ácido O-bencilglicónico y 148 mg (1,1 milimoles) de 1-hidroxibenzotriazol y la mezcla de reacción resultante se agita mientras se enfría con hielo (3-5°C). Después se añaden 227 mg (1,1 milimoles) de N-N'-diciclohexilcarbodiimida y, después de agitar enfriando con hielo (3-5°C) duran

1 te 3 horas, se agregan 751 mg (1,0 milimoles) de 1,2',6'-
tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B obtenida de forma simi-
lar a la del Ejemplo 1. Después la mezcla resultante se agi-
ta a la temperatura ambiente durante 17 horas. La materia
5 insoluble depositada se separa por filtración y el disolven-
te del filtrado se elimina a presión reducida. Así se obtie-
ne un residuo sólido blanco amarillento pálido de 1,2',6'-
tri-N-benciloxicarbonil-4-N-(O-bencilglicolil)fortimicina B.

EJEMPLO 9

10 En 30 ml de tetrahidrofurano se disuelven 546 mg
(2,1 milimoles) de N-benciloxicarbonilglicilglicina y 279 mg
(2,1 milimoles) de 1-hidroxibenzotriazol y la mezcla de
reacción resultante se agita mientras se enfría con hielo
(3-5°C). Después se añaden 426 mg (2,1 milimoles) de N,N'-
15 dicitclohexilcarbodiimida y, después de agitar y enfriar con
hielo (3-5°C) durante 2 horas, se agregan 1,50 g (2,0 mili-
moles) de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B ob-
tenida de forma similar a la descrita en el Ejemplo 1. La
mezcla de reacción resultante se agita a la temperatura
20 ambiente durante 18 horas. La materia insoluble depositada
se separa por filtración y el disolvente del filtrado se
elimina a presión reducida. El concentrado resultante, di-
suelto en una pequeña cantidad de cloroformo (2 ml), se car-
ga en una columna rellena con 100 g de gel de sílice. En es-
25 ta etapa, se utilizan 450 ml de una mezcla disolvente de me-
tanol y cloroformo (2:98 en volumen) para lavar la columna
y la elución también se realiza con el mismo disolvente. El
eluato se recoge en fracciones de 17 ml. Se combinan las
30 fracciones 18-60 en las que están contenidos los compuestos
con una Rf = 0,54 en el sistema disolvente B de la Tabla II.

1 Estas fracciones se concentran para obtener 1,25 g de un polvo blanco.

Análisis elemental para $C_{51}H_{62}N_6O_{15}$:

Encontrado: C, 61,02; H, 6,15; N, 8,41 %

5 Calculado: C, 61,31; H, 6,26; N, 8,41 %

Así se confirma que el producto obtenido es la tetra-N-benciloxicarbonil(4-N-glicilglicil-fortimicina B) (1,3 milimoles, rendimiento: 60 %).

EJEMPLO 10

10 En 20 ml de tetrahidrofurano se disuelven 557 mg (2,2 milimoles) de ácido L(-)- γ -benciloxicarbonilamino- α -hidroxibutírico y 297 mg (2,2 milimoles) de 1-hidroxibenzo-triazol y la mezcla de reacción resultante se agita mientras se enfría con hielo (3-5°C). Después se añaden 454 mg
15 (2,2 milimoles) de N,N'-diciclohexilcarbodiimida y, después de agitar y enfriar con hielo (3-5°C) durante una hora, se agregan 1,52 g (2,0 milimoles) de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B, obtenida de forma similar a la descrita en el Ejemplo 1. La mezcla de reacción resultante se
20 agita a la temperatura ambiente durante 16 horas. La materia insoluble depositada se separa por filtración y el disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. El concentrado resultante, disuelto en una pequeña cantidad de cloroformo (2 ml), se carga en una columna rellena con
25 100 g de gel de sílice. En esta etapa, se utilizan 350 ml de una mezcla disolvente de metanol y cloroformo (2:98 en volumen) para lavar la columna y la elución se realiza también con la misma mezcla disolvente. El eluato se recoge en fracciones de 15 ml. Se combinan las fracciones 15-45 en la
30 que están contenidos los compuestos con una $R_f = 0,78$ en el

1 sistema disolvente B de la Tabla II. Estas fracciones se
concentran para obtener 792 mg de un polvo blanco que pre-
senta los siguientes valores del RMP (metanol- d_4), δ (ppm):
1,12 (3H, d), 1,2-2,0 (4H, señal ancha), 3,03 (3H, s), 3,33
5 (3H, s), 5,05 (8H, s), 7,26 (20H, s).

Así se confirma que el producto es la tetra-N-bencil-
oxicarbonil-{4-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril]fortimicina
B} (0,8 milimoles, rendimiento: 40 %).

EJEMPLO 11

10 Se disuelve el residuo sólido (1,2',6'-tri-N-t-buto-
xicarbonil-4-N-hidantoinfortimicina B) obtenido en el Ejem-
plo 3 en 10 ml de una mezcla disolvente de ácido trifluoracé-
tico y diclorometano (1:1 en volumen) y la mezcla de reac-
ción resultante se continúa agitando a la temperatura
15 ambiente durante 16 horas. Se separa el disolvente a pre-
sión reducida. Después se agregan 5 ml de agua al concentra-
do resultante y la materia insoluble se separa por filtra-
ción. El filtrado, ajustado a pH 6 con hidróxido sódico 1N,
se carga en una columna rellena con 10 ml de Amberlite CG-50
20 (forma NH_4^+ , nombre comercial de la Rohm and Haas Company).
Después se utilizan 50 ml de agua para lavar la columna y
la elución se realiza con amoníaco acuoso 0,15N. El eluato
se recoge en fracciones de 2 ml. Se combinan las fracciones
25 31-45 que contienen los compuestos con una $R_f = 0,43$ en el
sistema disolvente A de la Tabla II. Estas fracciones se
concentran para obtener 67 mg de un polvo blanco.

El punto de fusión, el espectro de RMP, el espectro
de masas, la $[\alpha]_D$ y la R_f de la cromatografía en capa fina
del compuesto así obtenido son totalmente idénticos a los
30 de la fortimicina C. Por lo tanto, el compuesto obtenido se

1 identifica como 4-N-hidantoil-fortimicina B (fortimicina C).
Rendimiento: 60 %.

EJEMPLO 12

5 Se diluye 60 veces ácido clorhídrico concentrado 12N
con metanol para formar una solución metanólica 0,2N de
ácido clorhídrico. Las soluciones metanólicas de ácido clor-
hídrico de diferentes normalidades utilizadas más adelante
se preparan de forma similar.

10 En 20 ml de la solución metanólica de ácido clorhídri-
co 0,2N se disuelve el residuo sólido obtenido en el Ejemplo
5 (1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-4-N-acetil-fortimicina B)
y se añaden 40 mg de paladio al 10 % en carbón. A continua-
ción se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la mezcla
de reacción a la temperatura ambiente y a la presión atmos-
15 férica durante 16 horas. Una vez completada la reacción de
hidrogenación se separa el catalizador por filtración y el
disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. El
concentrado resultante, disuelto en 5 ml de agua, se carga
en una columna rellena con 20 ml de Amberlite CG-50 (forma
20 NH_4^+) después de ajustar la solución resultante a pH 6 con
hidróxido sódico 1N. Después de cargada, la columna se lava
con 60 ml de agua y la elución se realiza con amoniaco acuo-
so a 0,15N. El eluato se recoge en fracciones de 5 ml. Se
25 combinan las fracciones 16-31 en la que se encuentra el com-
puesto con una $R_f = 0,43$ en el sistema disolvente A de la
Tabla II. Se concentran estas fracciones para obtener 300 mg
de un polvo blanco con las siguientes propiedades físicas.

30 Espectro de masas m/e: 391 ($M^+ + 1$), 390 (M^+), 373,
355, 347, 310, 299, 277, 259, 249, 231, 181, 143, 97, 43.

Espectro de RMP (óxido de deuterio) δ (ppm) 1,04 (3H,

1 d), 1,2-1,9 (4H, m), 2,18 (3H, s), 2,8 (3H, señal ancha),
3,12 (3H, s), 3,44 (3H, s), 3,5 (2H, señal ancha), 3,86 (1H,
q), 4,08 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,36 (1H, t), 4,80 (1H, d),
4,90 (1H, q).

5 Mediante los datos anteriores se identifica el com-
puesto como 4-N-acetil-fortimicina B. Rendimiento: 77 %. Des-
pués se disuelven 250 mg (0,64 milimoles) de la 4-N-acetil-
fortimicina B obtenida anteriormente en 2 ml de agua y la
solución se ajusta a pH 2 con ácido sulfúrico 5N. La solu-
10 ción así obtenida se vierte en 20 ml de etanol para precipi-
tar a la temperatura ambiente. Después de filtrar y secar,
se obtienen 352 mg (0,57 milimoles) de sulfato de 4-N-acetil-
fortimicina B. Rendimiento: 85 %. $[\alpha]_D^{25} = +139,2^{\circ}$ (c = 1,0
agua).

15 EJEMPLO 13

Se repiten las reacciones, aislamientos y purificacio-
nes del Ejemplo 12, a excepción de que se utilizan respecti-
vamente los residuos que contienen 1,2',6'-tri-N-bencil-oxi-
carbonil-4-N-propionil-fortimicina B, 1,2',6'-tri-N-bencilo-
20 xicarbonil-4-N-(n-butililo)-fortimicina B, y 1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonil-4-N-(n-valeril)fortimicina B, obtenidos
en el Ejemplo 5, en lugar del material de partida, es decir,
en lugar del residuo que contiene 1,2',6'-tri-N-benciloxica-
bonil-4-N-acetil-fortimicina B, utilizado en el Ejemplo 12.
25 Así se obtienen 266 mg, 314 mg y 260 mg de un polvo blanco
(en forma de base libre). Las propiedades físicas de los
compuestos así obtenidos son las siguientes.

30 Producto obtenido cuando se utiliza 1,2',6'-tri-N-
benciloxi-carbonil-4-N-propionil-fortimicina B como material
de partida:

Espectro de masas m/e: 405 ($M^+ + 1$), 404 (M^+), 387,

1 369, 361, 331, 324, 299, 291, 273, 263, 245, 227, 212, 195,
143, 126, 97.

5 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, d), 1,08,
1,2-1,9 (4H, m), 2,46 (2H, q), 2,8 (2H, señal ancha), 3,13
(3H, s), 3,45 (3H, s), 3,5 (2H, señal ancha), 3,87 (1H, q),
4,10 (1H, q), 4,17 (1H, t), 4,33 (1H, t), 4,79 (1H, d),
4,91 (1H, q).

Sulfato: $[\alpha]_D^{25} = +136,8^\circ$ (c = 1,0, agua).

10 A partir de estas propiedades físicas, el compuesto
se identifica como 4-N-propionil-fortimicina B (0,66 milimo-
les, rendimiento: 66 %).

Producto obtenido cuando se utiliza 1,2',6'-tri-N-
benciloxicarbonil-4-N-(n-butilril)fortimicina B como mate-
rial de partida:

15 Espectro de masas m/e: 419 ($M^+ + 1$), 418 (M^+), 338,
305, 299, 287, 277, 259, 241, 226, 209, 143, 126, 97, 43.

20 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 0,98 (3H, t), 1,00
(3H, d), 1,2-1,9 (6H, señal ancha), 2,42 (2H, q), 2,18 (2H,
señal ancha), 3,02 y 3,14 (3H, s), 3,42 (3H, s), 3,5 (2H,
señal ancha), 3,85 (1H, q), 4,10 (1H, q), 4,16 (1H, m), 4,35
(1H, t), 4,80 (1H, d), 4,89 (1H, q).

Sulfato: $[\alpha]_D^{25} = +131,0^\circ$ (c = 1,0, agua).

25 A partir de estas propiedades físicas, el compuesto
se identifica como 4-N-(n-butilril)fortimicina B (0,75 mili-
moles, rendimiento: 75 %).

Producto obtenido cuando se utiliza 1,2',6'-tri-N-ben-
cilocarbonil-4-N-(n-valeril)fortimicina B como material
de partida:

30 Espectro de masas m/e: 433 ($M^+ + 1$), 432 (M^+), 415,
319, 301, 299, 291, 273, 233, 171, 143, 97, 43.

1 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 0,96 (3H, t), 1,02
(3H, d), 1,1-1,9 (8H, señal ancha), 2,40 (2H, señal ancha),
2,90 (2H, señal ancha), 3,00 y 3,18 (3H, s), 3,43 (3H, s),
3,45 (2H, señal ancha), 3,90 (1H, q), 4,18 (1H, m), 4,33
5 (1H, m), 4,82 (1H, d), 4,90 (1H, q).

Sulfato: $[\alpha]_D^{25} = 116,3^\circ$ (c = 1,0, agua).

A partir de estas propiedades físicas, el compuesto se identifica como 4-N-(n-valeril)fortimicina B (0,60 milimoles, rendimiento: 60 %).

10 EJEMPLO 14

En 20 ml de solución metanólica de ácido clorhídrico 0,2N se disuelven 500 mg (0,53 milimoles) de tetra-N-benciloxicarbonil-fortimicina A obtenida en el Ejemplo 6 y se añaden unos 30 mg de paladio al 10 % en carbón. Después se
15 hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica durante 18 horas. Una vez completada la reacción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtración y el disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. El concentrado resultante, disuelto en 5 ml de agua, se carga en una
20 columna rellena con 5 ml de Dowex 1x4 (forma OH⁻, producto de la Dow Chemical Co., Ltd., Estados Unidos). Después de cargada, se emplean 15 ml de agua para lavar la columna.

25 Se concentran los eluatos combinados para obtener 212 mg (0,50 milimoles) de un polvo blanco. Este polvo es totalmente idéntico a la fortimicina A patrón en punto de fusión, espectro RMP, espectro de masas, $[\alpha]_D$ y Rf de la cromatografía en capa fina.

30 Se disuelven 170 mg (1,40 milimoles) de la fortimicina A así obtenida en 2 ml de agua y se ajusta a pH 2 con

1 ácido sulfúrico 5N. La solución resultante se agrega gota a
gota a 20 ml de etanol y, después de filtrar el precipita-
do resultante, se obtienen 225 mg (0,33 milimoles) de sul-
fato de fortimicina A (rendimiento: 83 %).

5 Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +85,9^\circ$ (c = 1,0, agua).

EJEMPLO 15

Se utilizan reacciones, aislamientos y purificacio-
nes similares a las del Ejemplo 14, a excepción de que se
emplean 0,50 milimoles de cada uno de los siguientes com-
puestos: tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(α -alanil)fortimi-
10 cina B], tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(γ -amino-n-butiril)
fortimicina B], tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(δ -amino-n-
valeril)fortimicina B] y tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(ϵ -
amino-n-capropil)fortimicina B], obtenidos en el Ejemplo 7,
15 respectivamente, en lugar del material de partida. Así se
obtienen 235 mg (base libre), 298 mg (base libre), 310 mg
(hidrocloruro) (solamente este compuesto se aísla en forma
de hidrocloruro ya que se produce descomposición durante la
etapa de preparación del sulfato siguiendo un método simi-
20 lar al descrito en el Ejemplo 14) y 308 mg (base libre) res-
pectivamente. Las propiedades físicas de los distintos pro-
ductos están indicadas a continuación.

Producto obtenido cuando se utiliza tetra-N-bencil-
oxicarbonil-[4-N-(β -alanil)fortimicina B] como material de
25 partida:

Espectro de masas m/e: 419 (M^+), 402, 306, 288, 278,
271, 260, 235, 231, 214, 207, 143, 126, 97, 86.

Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +80,6^\circ$ (c = 1,0, agua).

Análisis elemental para $C_{18}H_{37}N_5O_6 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2,5H_2O$:

30 Encontrado: C, 32,96; H, 7,41; N, 9,71

1

Calculado: C, 33,14; H, 7,51; N, 9,66.

A partir de estas propiedades físicas, el compuesto se identifica como 4-N-(β -alanil)fortimicina B. (Rendimiento: 96 %).

5

Producto obtenido cuando se utiliza tetra-N-bencil-oxycarbonil- 4-N-(γ -amino-n-butiril)fortimicina B como material de partida:

Espectro de masas m/e: 434 ($M^+ + 1$), 433 (M^+), 415, 390, 349, 331, 320, 302, 274, 235, 217, 207, 202, 189, 143, 126, 97, 86.

10

Sulfato $[\alpha]_D^{23^\circ} = +81,8^\circ$ (c = 1,0, agua).

Análisis elemental para $C_{19}H_{39}N_5O_6 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 4H_2O$:

Encontrado: C, 33,66; H, 7,44; N, 9,30

Calculado: C, 33,73; H, 7,68; N, 9,36.

15

A partir de estas propiedades físicas, el compuesto se identifica como 4-N-(γ -amino-n-butiril)fortimicina B. (Rendimiento: 93 %).

Producto obtenido cuando se utiliza tetra-N-bencil-oxycarbonil-[4-N-(δ -amino-n-valeril)fortimicina B] como material de partida:

20

Hidrocloreuro: $[\alpha]_D^{23^\circ} = +89,5^\circ$ (c = 1,0, agua).

Se supone que el compuesto es la 4-N-(δ -amino-n-valeril)fortimicina B.

25

Producto obtenido cuando se utiliza tetra-N-benciloxycarbonil[-4-N-(ϵ -amino-n-capropil)fortimicina B] como material de partida:

Espectro de masas m/e: 461 (M^+), 444, 348, 330, 320, 302, 271, 235; 207, 189, 143, 126, 114, 97, 86.

Sulfato: $[\alpha]_D^{23^\circ} = +74,9^\circ$ (c = 1,0, agua).

30

Análisis elemental para $C_{21}H_{43}N_5O_6 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$:

Encontrado: C, 37,20; H, 7,62; N, 9,45

Calculado: C, 37,34; H, 7,76; N, 9,47.

A partir de estas propiedades físicas, el compuesto se identifica como 4-N-(ϵ -amino-n-capropil)fortimicina B. (Rendimiento: 93 %)

EJEMPLO 16

En 10 ml de solución metanólica de ácido clorhídrico 0,1N se disuelve el residuo sólido obtenido en el Ejemplo 8 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil- γ -4-N-(O-bencilglicolil)fortimicina B γ y se agregan 40 mg de paladio al 10 % en carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica durante 8 horas. Una vez terminada la reacción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtración y el disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. El concentrado resultante, disuelto en 5 ml de agua, se carga en una columna rellena con 15 ml de Amberlite CG-50 (forma NH_4^+) después de ajustar la solución resultante a pH 6 con hidróxido sódico 1N. Después de cargada, se emplea 40 ml de agua para lavar la columna y a continuación se realiza la elución con amoníaco acuoso 0,2N. El eluato se recoge en fracciones de 5 ml. Se combinan las fracciones 8-14 que contienen los compuestos con una $R_f = 0,46$ en el sistema disolvente A de la Tabla II. Estas fracciones se concentran para obtener 154 mg de un polvo blanco.

Espectro de masas m/e: 406 (M^+), 389, 331, 247, 235, 207, 143, 126, 97, 86.

A partir de los datos anteriores, el producto se identifica como 4-N-glicolil-fortimicina B.

En 2 ml de agua se disuelven 103 mg (0,25 milimoles) de la 4-N-glicolil-fortimicina B y se ajusta a pH 2 con áci-

1 do sulfúrico 5N. La solución resultante se agrega gota a gota a 20 ml de etanol y, después de filtrar el precipitado resultante, se obtienen 91 mg (0,16 milimoles) de sulfato de 4-N-glicolil-fortimicina B.

5 Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +89,3^\circ$ (c = 1,0, agua).

Análisis elemental como $C_{17}H_{34}N_4O_7 \cdot 1,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$:

Encontrado: C, 36,70; H, 7,44; N, 8,93

Calculado: C, 36,95; H, 7,34; N, 9,07.

EJEMPLO 17

10 Se disuelven 1,22 g de tetra-N-benciloxicarbonil-(4-N-glicilglicil-fortimicina B) obtenida en el Ejemplo 9 en 35 ml de una solución metanólica de ácido clorhídrico 0,2N y se añaden alrededor de 50 mg de paladio al 10 % en carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica durante 16 horas. Una vez completada la reacción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtración y el disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. El concentrado resultante, disuelto en 10 ml de agua y ajustado a pH 6 con hidróxido sódico 1N, se carga en una columna rellena con 30 ml de Amberlite CG-50 (forma NH_4^+). Después de cargada, se emplean 150 ml de agua para lavar la columna y a continuación se eluye con amoníaco acuoso 0,3N. El eluato se recoge en fracciones de 5 ml. Se combinan las fracciones 13-24 que contienen los compuestos con una $R_f = 0,42$ en el sistema disolvente A de la Tabla II. Estas fracciones se concentran para obtener 514 mg de un polvo blanco.

25
30 En 2 ml de agua se disuelven 100 mg (0,25 milimoles) del compuesto así obtenido y se ajusta a pH 2 con ácido sulfúrico 5N. La solución resultante se agrega gota a gota a

1 20 ml de etanol y, después de filtrar el precipitado resul-
tante, se obtienen 123 mg de un polvo blanco. Las propiedades
físicas del compuesto son las siguientes:

$$[\alpha]_D^{25} = +70,1^\circ \quad (c = 1,0, \text{ agua}).$$

5 Análisis elemental para $C_{19}H_{38}N_6O_7 \cdot 2H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$:

Encontrado: C, 33,27; H, 7,11; N, 10,81

Calculado: C, 33,24; H, 7,17; N, 11,07.

A partir de estas propiedades físicas, el compuesto
se identifica como sulfato de 4-N-glicilglicil-fortimicina B.

10 Rendimiento: 78 %.

EJEMPLO 18

15 Se disuelven 100 mg (0,19 milimoles) de tetra-N-ben-
ciloxicarbonil-[4-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril] fortimi-
cina B} en 10 ml de solución metanólica de ácido clorhídrico
0,1N y se añaden alrededor de 10 mg de paladio al 10 % en
carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través
de la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la
presión atmosférica durante 7 horas. Una vez completada la
reacción de hidrogenación, se separa el catalizador por fil-
20 tración y el disolvente del filtrado se elimina a presión
reducida para obtener 62 mg (0,14 milimoles) de hidrocioruro
de 4-N-[L-(-)- γ -amino- α -hidroxibutiril] fortimicina B.

EJEMPLO 19

25 Se suspenden 2,0 g (4,9 milimoles) de la fortimicina
A obtenida de forma similar a la descrita en el Ejemplo 14
en 200 ml de tetrahidrofurano y se agregan 2,0 g (53,0 mili-
moles) de hidruro de litio y aluminio. La mezcla de reacción
resultante se calienta a la temperatura de reflujo con agi-
tación durante 46 horas. Una vez completada la reacción, la
30 mezcla se enfría a la temperatura ambiente y se agregan gota

1 a gota 30 ml de acetato de etilo para descomponer el exceso
de hidruro de litio y aluminio. El acetato de etilo se sepa-
ra a presión reducida. Al residuo resultante se añaden 50 ml
de agua y la materia insoluble de la mezcla resultante se
5 separa por filtración. Se combinan el filtrado y el agua uti-
lizada para lavar el filtro. Se separa el disolvente de la
solución combinada a presión reducida y después se agregan
al concentrado 200 ml de una solución acuosa saturada de hi-
dróxido bórico y la solución se calienta a reflujo durante
10 una hora.

Se deja enfriar la solución resultante y después se
neutraliza por adición de hielo seco. Después se filtra la
solución y el filtrado se carga en una columna rellena con
100 ml de Amberlite CG-50 (forma NH_4^+). Después de cargada,
15 se emplean 400 ml de agua y 600 ml de amoníaco acuoso 0,3N
para lavar la columna y a continuación se eluye con amonia-
co acuoso 0,5N. El eluato se recoge en fracciones de 20 ml.
Se combinan las fracciones 6-20 que contienen los compuestos
con una $R_f = 0,41$ en el sistema disolvente A de la Tabla II.
20 Estas fracciones se concentran para obtener 608 mg de un pol-
vo blanco. Las propiedades físicas del compuesto son las si-
guientes:

Espectro de masas m/e: 392 ($M^+ + 1$), 341, 282, 278,
250, 143, 126.

25 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, d), 1,2-1,9
(4H, m), 2,38 (3H, s), 2,4 (1H, señal ancha), 2,70 (4H, s),
2,76 (1H, m), 3,09 (1H, q), 3,16 (1H, t), 3,40 (3H, s), 3,5
(1H, señal ancha), 3,74 (1H, t), 3,85 (1H, q), 4,06 (1H, q),
4,16 (1H, q), 4,92 (1H, d).

30 RMC (óxido de deuterio) δ (ppm): 18,6, 27,0, 27,3, 39,2,

1 : 40,6, 50,3, 50,5, 54,9, 57,5, 58,0, 60,7, 71,3, 71,8, 75,1,
76,9, 80,6, 100,6.

5 A partir de los datos anteriores, el compuesto se
identifica como 4-N-(2-aminoetil)fortimicina B. Rendimien-
to: 32,7 %.

10 En 2 ml de agua se disuelven 390 mg (1,0 milimoles)
de 4-N-(2-aminoetil)fortimicina B y se ajusta a pH 2 con
ácido sulfúrico 5N. La solución resultante se agrega gota
a gota a 20 ml de etanol y, después de filtrar el precipita-
do resultante, se obtienen 637 mg (0,91 milimoles) de sul-
fato de 4-N-(2-aminoetil)fortimicina B.

$$[\alpha]_D^{25} = +77,8^\circ \quad (c = 1,0, \text{ agua}).$$

Análisis elemental para $C_{17}H_{37}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$:

15 Encontrado: C, 32,55; H, 7,19; N, 9,93

Calculado: C, 32,56; H, 7,21; N, 9,99.

EJEMPLO 20

20 Se suspenden 200 mg (0,49 milimoles) de fortimicina
A, obtenida de forma similar a la descrita en el Ejemplo 14,
en 10 ml de tetrahidrofurano y 10 ml de una solución tetra-
hidrofuránica que contiene 1 mol/l de diborano (10,0 mili-
moles). Después la mezcla de reacción resultante se agita a
la temperatura ambiente durante 2 horas. Una vez completada
la reacción, se agrega 1 ml de agua para descomponer el ex-
ceso de diborano. La mezcla de reacción resultante se con-
25 centra a sequedad a presión reducida. Después se agregan al
residuo 20 ml de solución de hidrazina al 80 % y la mezcla
de reacción se calienta a reflujo durante 16 horas y des-
pués se concentra a sequedad a presión reducida. El concen-
30 trado resultante, disuelto en 10 ml de agua y ajustado a
pH 6 con ácido clorhídrico 1N, se carga en una columna re-

1 llena con 10 ml de Amberlite CG-50 (forma NH_4^+).

5 Después de cargada, se utilizan 50 ml de agua y 90 ml de amoniaco acuoso 0,3N para lavar la columna y después se eluye con amoniaco acuoso 0,5N. El eluato se recoge en fracciones de 2 ml. Se combinan las fracciones 9-36 y se concentran para obtener 146 mg de un polvo blanco. Las propiedades físicoquímicas del polvo son idénticas a la del compuesto obtenido en el Ejemplo 18. El compuesto así obtenido es 4-N-(2-aminoetil)fortimicina B. Rendimiento: 75,5%.

10

EJEMPLO 21

Se repite el procedimiento del Ejemplo 20 a excepción de que se emplean 0,5 milimoles de 4-N-acil (o acil sustituido)fortimicina B, descrito en la siguiente Tabla D, en lugar de fortimicina A.

15

TABLA D

<u>Ejemplo núm.</u>	<u>Compuesto utilizado</u>
21-1	4-N-acetil-fortimicina B
21-2	4-N-propionil-fortimicina B
20 21-3	4-N-(n-butiril)fortimicina B
21-4	4-N-(n-valeril)fortimicina B
21-5	4-N-(β -alanil)fortimicina B
21-6	4-N-(γ -amino-n-butiril)fortimicina B
21-7	4-N-(δ -amino-n-valeril)fortimicina B
25 21-8	4-N-(ϵ -amino-n-capropil)fortimicina B
21-9	4-N-glicolil-fortimicina B
21-10	4-N-glicilglicil-fortimicina B.

A partir de las propiedades físicas respectivas, se determina que se han obtenido los siguientes productos.

30 (1) Nombre del compuesto,

- 1 (2) Cantidad,
(3) Rendimiento y
(4) Propiedades físicas del polvo así obtenido.

EJEMPLO 21-1

- 5 (1) 4-N-etil-fortimicina B
(2) 125 mg (0,33 milimoles)
(3) 66 %
(4) espectro de masas m/e: 377, ($M^+ + 1$), 376, (M^+), 359,
344, 327, 314, 299, 286, 273, 263, 235, 217, 215, 202,
10 143, 114
RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, d), 1,08 (3H,
t), 1,2-1,9 (4H, m), 2,40 (3H, s), 2,6-3,0 (4H, m), 3,12
(1H, q), 3,18 (1H, t), 3,42 (3H, s), 3,40 (1H, señal
ancha), 3,74 (1H, t), 3,85 (1H, q), 4,08 (1H, q), 4,17
15 (1H, t), 4,92 (1H, d).

EJEMPLO 21-2

- (1) 4-N-(n-propil)fortimicina B
(2) 136 mg (0,35 milimoles)
(3) 70 %
20 (4) espectro de masas m/e: 390 (M^+), 373, 361, 358, 344,
341, 328, 287, 277, 249, 231, 229, 219, 202, 143, 128.

EJEMPLO 21-3

- (1) 4-N-(n-butil)fortimicina B
(2) 137 mg (0,34 milimoles)
25 (3) 68 %
(4) espectro de masas m/e: 404 (M^+), 372, 361, 342, 301,
291, 286, 263, 219, 202, 143, 142.

EJEMPLO 21-4

- 30 (1) 4-N-(n-pentil)fortimicina B
(2) 167 mg (0,40 milimoles)

1

(3) 80 %

(4) espectro de masas m/e: 419 ($M^+ + 1$), 418 (M^+), 386, 369, 361, 356, 344, 331, 326, 315, 305, 277, 259, 219, 207, 202, 156, 143.

5

EJEMPLO 21-5

(1) 4-N-(3-Aminopropil)fortimicina B

(2) 117 mg (0,29 milimoles)

(3) 58 %

10

(4) espectro de masas m/e: 406 ($M^+ + 1$), 373, 338, 328, 292, 264, 231, 228, 219, 202, 196, 172, 143, 126, 100, 89, 58.

RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,04 (3H, d), 1,2-1,9 (6H, m), 2,42 (3H, s), 2,5-3,0 (6H, m), 3,14 (1H, q), 3,20 (1H, t), 3,44 (3H, s), ~3,4 (1H, m), 3,79 (1H, t), 3,88 (1H, q), 4,06 (1H, q), 4,18 (1H, t), 4,94 (1H, d).

15

Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +71,9^\circ$ (c = 1,0, agua)

Análisis elemental para $C_{18}H_{39}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$:

Encontrado: C, 32,04; H, 7,80; N, 8,99

Calculado: C, 31,99; H, 7,52; N, 9,33.

20

EJEMPLO 21-6

(1) 4-N-(4-Aminobutil)fortimicina B

(2) 75 mg (0,18 milimoles)

(3) 35 %

25

(4) espectro de masas m/e: 240 ($M^+ + 1$), 419 (M^+), 370, 352, 342, 306, 278, 219, 210, 207, 186, 157, 143, 103, 72.

RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, d), 1,2-1,9 (8H, m), 2,42 (3H, s), 2,5-3,0 (6H, m), 3,06 (1H, t), 3,09 (1H, t), 3,44 (3H, s), ~3,4 (1H, m), 3,78 (1H, q), 3,86 (1H, q), 4,04 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,93 (1H, d).

30

Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +72,8^\circ$ (c = 1,0, agua)

1 Análisis elemental para $C_{19}H_{41}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 3H_2O$:
Encontrado: C, 32,74; H, 7,69; N, 8,91
Calculado: C, 32,98; H, 7,64; N, 9,16

EJEMPLO 21-7

5 (1) 4-N-(5-Aminopentil)fortimicina B
(2) 22 mg (0,05 milimoles)
(3) 10 %
(4) espectro de masas m/e: 434 ($M^+ + 1$), 433 (M^+), 384, 366,
320, 292, 271, 224, 219, 171, 143, 126, 117, 89, 86.
10 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,04 (3H, d), 1,2-1,9 (10H,
m), 2,44 (3H, s), 2,5-3,0 (6H, m), 3,14 (1H, t), 3,20 (1H,
t), 3,40 (1H, m), 3,44 (3H, s), 3,80 (1H, t), 3,84 (1H,
q), 4,07 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,96 (1H, d).
Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +67,3^\circ$ (c = 1,0, agua).

15 EJEMPLO 21-8

(1) 4-N-(6-Aminohexil)fortimicina B
(2) 147 mg (0,33 milimoles)
(3) 66 %
(4) espectro de masas m/e: 448 ($M^+ + 1$), 447 (M^+), 429, 402,
20 398, 380, 370, 361, 334, 320, 306, 288, 285, 238, 222,
219, 199, 185, 143, 131, 126, 112, 98.
RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, s), 1,2-1,9 (12H,
m), 2,40 (3H, s), 2,5-3,0 (6H, m), 3,12 (1H, t), 3,16
(1H, t), 3,43 (3H, s), 3,4 (1H, m), 3,73 (1H, t), 3,84
25 (1H, q), 4,04 (1H, q), 4,14 (1H, t), 4,86 (1H, d).
Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +71,3^\circ$ (c = 1,0, agua)
Análisis elemental para $C_{21}H_{45}N_5O_5 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 2H_2O$:
Encontrado: C, 35,74; H, 7,77; N, 8,78
Calculado: C, 35,65; H, 7,80; N, 9,04.

30

EJEMPLO 21-9

- 1
- (1) 4-N-(2-Hidroxietil)fortimicina B
- (2) 106 mg (0,27 milimoles)
- (3) 54 %
- 5 (4) espectro de masas m/e: 393 ($M^+ + 1$), 374, 361, 344, 331, 279, 259, 251, 235, 219, 207, 202, 143, 130, 126, 100, 97, 86.

RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,01 (3H, d), 1,2-1,9 (4H, m), 2,44 (3H, s), 2,78 (2H, t), 2,4-3,0 (2H, m), 3,14 (1H, t), 3,18 (1H, t), ~3,4 (1H, m), 3,44 (1H, s), 3,64 (2H, t), 3,76 (1H, t), 3,87 (1H, q), 4,06 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,96 (1H, d).

10 Sulfato: $[\]_D^{24^\circ} = +77,4^\circ$ (c = 1,0, agua).

EJEMPLO 21-10

- 15 (1) 4-N-[2-(2-Aminoetil)aminoetil] fortimicina B
- (2) 121 mg (0,28 milimoles)
- (3) 57 %
- (4) espectro de masas m/e: 435 ($M^+ + 1$), 417, 404, 361, 344, 219, 143, 126, 100

20 RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,00 (3H, d), 1,2-1,9 (4H, m), 2,40 (3H, s), 2,6-3,0 (10H, m), 3,08 (1H, q), 3,16 (1H, t), 3,40 (3H, s), 3,4 (1H, m), 3,74 (1H, t), 3,86 (1H, q), 4,08 (1H, q), 4,16 (1H, t), 4,94 (1H, d).

EJEMPLO 22

25 Se disuelven 151 mg (0,20 milimoles) de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-fortimicina B en 10 ml de etanol y se añaden 0,02 ml (0,25 milimoles) de yoduro de etilo. La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 17 horas y después se concentra a sequedad a presión reducida. El concentrado resultante se disuelve en 20 ml de acetato de etilo y se añaden 10 ml

30

1 de solución acuosa de bicarbonato sódico al 5 % y 10 ml de
agua. Después de sacudir, se separa la capa de acetato de
5 etilo empleando un embudo de decantación y se seca con sulfa-
to sódico anhidro y a continuación se concentra a sequedad a
presión reducida.

El residuo sólido resultante se disuelve en una peque-
ña cantidad de cloroformo y la solución clorofórmica se carga
en una columna rellena con 25 g de gel de sílice (Kieselgel
10 60). En esta etapa, la elución se realiza con una mezcla di-
solvente de metanol y cloroformo (2:98 en volumen) y el elua-
to se recoge en fracciones de 10 ml. Se combinan las fraccio-
nes 29-54 que contienen el compuesto con una $R_f = 0,49$ en el
sistema disolvente C de la Tabla II. Estas fracciones se con-
centran a sequedad a presión reducida, obteniéndose 30 mg de
15 un polvo blanco.

Las propiedades físicas del compuesto son las siguientes:

RMP (metanol- d_4) δ (ppm): 1,08 (3H, t), 1,02 (3H, d),
1,2-1,9 (4H, m), 2,48 (3H, s), 2,90 (2H, q), 3,43 (3H, s),
20 5,02 (6H, s), 7,28 (15H, s).

A partir de las propiedades físicas antes descritas,
de identifica el compuesto como 1,2',6'-tri-N-benciloxycarbo-
nil-4-N-etil-fortimicina B. Rendimiento: 19 %.

EJEMPLO 23

25 Se disuelven 942 mg (1,0 milimoles) de tetra-N-bencil-
oxycarbonil-fortimicina A, obtenida por un método similar al
descrito en el Ejemplo 6, en 10 ml de tetrahidrofurano y se
añaden 10 ml de diborano en tetrahidrofurano (concentración:
1 mol/litro). Después la mezcla de reacción resultante se agi-
ta durante 2 horas a la temperatura ambiente.

30 Una vez completada la reacción, se agrega a la mezcla

1 1 ml de agua para descomponer cualquier exceso de diborano
y la mezcla de reacción se concentra a sequedad a presión
reducida. El concentrado resultante se disuelve en 20 ml de
acetato de etilo y después se añaden 10 ml de solución acuosa
5 de bicarbonato sódico al 5 %. Después de sacudir la mezcla
resultante, la capa de acetato de etilo se lava dos veces
con 10 ml de agua. Después la capa de acetato de etilo se se-
para y se seca con sulfato sódico anhidro y se concentra a
sequedad a presión reducida. El concentrado resultante, di-
10 suelto en una pequeña cantidad de cloroformo, se carga en
una columna rellena con 40 g de gel de sílice (Kieselgel 60).

La elución se realiza con una mezcla disolvente de me-
tanol-cloroformo (2:98 en volumen) y el eluato se recoge en
fracciones de 6 ml. Se combinan las fracciones 6-19 que con-
15 tienen el compuesto con una $R_f = 0,70$ en el sistema disolven-
te C de la Tabla II y estas fracciones se concentran a pre-
sión reducida para obtener 318 mg de polvo blanco.

Las propiedades físicas del compuesto están indicadas
a continuación:

20 Espectro de RMP (metanol- d_4) δ (ppm): 1,08 (3H, d), 1,2-
1,9 (4H, m), 2,35 (3H, s), 3,34 (3H, s), 5,02 (8H, s), 7,28
(20H, s).

A partir de los datos anteriores, se identifica el com-
25 puesto como tetra-benciloxicarbonil-[4-N-(2-aminoetil)fortimi-
cina B].

Se realiza una elución adicional con 250 ml de una mez-
cla disolvente de metanol-cloroformo (1:9 en volumen) para ob-
tener fracciones que contienen un compuesto con una $R_f = 0,15$
en el sistema disolvente C de la Tabla II. Las fracciones se
30 concentran a presión reducida para obtener 266 mg de un polvo

1 blanco.

Las propiedades físicas son las siguientes:

Espectro de RMP (metanol-d₄) δ (ppm): 1,08 (3H, d),
1,2-1,9 (4H, m), 2,37 (3H, s), 2,42 (3H, s), 3,40 (3H, s),
5 5,08 (6H, s), 7,28 y 7,34 (15H total, s, respectivamente).

A partir de los datos anteriores, se identifica el compuesto como 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B.

EJEMPLO 24

10 Se disuelven 30 mg (0,039 milimoles) de 1,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-(4-N-etil)fortimicina B, obtenida en el Ejemplo 22, en 10 ml de una solución metanólica de ácido clorhídrico 0,1N y se añaden alrededor de 2 mg de paladio en carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de la
15 mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica durante 8 horas. Una vez completada la reacción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtración. El disolvente del filtrado se elimina a presión reducida. Así se obtienen 21 mg de un polvo blanco.

20 Las propiedades físicas del compuesto así obtenido son idénticas a las del compuesto obtenido en el Ejemplo 21-1 y se identifica como hidrocloreuro de 4-N-etil-fortimicina B. Rendimiento: 97 %.

EJEMPLO 25

25 Se disuelven 310 mg (0,33 milimoles) de la tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(2-aminoetil)fortimicina B], obtenida en el Ejemplo 23, en 20 ml de solución metanólica de ácido clorhídrico 0,1N y se añaden unos 20 mg de paladio al 10 % en carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través de
30 la mezcla de reacción, a la temperatura ambiente y a la pre-

1 sión atmosférica durante 18 horas. Una vez completada la reac-
ción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtra-
ción. El disolvente se separa del filtrado a presión reduci-
da. El concentrado resultante, disuelto en 5 ml de agua, se
5 carga en una columna rellena con Amberlite CG-50 (forma NH_4^+)
después de ajustarlo a pH 6 con hidróxido sódico 1N. Después
de cargada, se emplean 50 ml de agua y 100 ml de amoníaco acu-
so 0,3N para lavar la columna y después se eluye con amoníaco
acuoso 0,5N. El eluato se recoge en fracciones de 5 ml. Se
10 combinan las fracciones 6-43 que contienen el compuesto con
una $R_f = 0,41$ en el sistema disolvente A de la Tabla II. Estas
fracciones se concentran para obtener 123 mg de un polvo
blanco.

15 Las propiedades físicas del compuesto así obtenido son
idénticas a las del compuesto obtenido en el Ejemplo 19 y se
identifica como 4-N-(2-aminoetil)fortimicina B. Rendimiento:
94 %.

EJEMPLO 26

20 Se disuelven 261 mg (0,32 milimoles) de la 1,2',6'-tri-
N-benciloxicarbonil-4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B, obte-
nida en el Ejemplo 23, en 15 ml de solución metanólica de áci-
do clorhídrico 0,1N y se añaden unos 20 mg de paladio al 10 %
en carbón. Después se hace pasar hidrógeno gaseoso a través
de la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y a la pre-
25 sión atmosférica durante 17 horas. Una vez completada la reac-
ción de hidrogenación, se separa el catalizador por filtración
y el disolvente del filtrado se elimina a presión reducida.
El concentrado resultante, disuelto en 5 ml de agua y ajustado
a pH 6 con hidróxido sódico 1N, se carga en una columna relle-
30 na con 10 ml de Amberlite CG-50 (forma NH_4^+). Después de car-

1 gada, se emplean 50 ml. de agua y 90 ml. de amoniaco acuoso
0,3N para lavar la columna y después se eluye con amoniaco
acuoso 0,5N. El eluato se recoge en fracciones de 5 ml. Se
5 combinan las fracciones 6-18 que contienen el compuesto con
una Rf = 0,43 en el sistema disolvente A de la Tabla II. Es-
tas fracciones se concentran para obtener 92 mg de un polvo
blanco.

Las propiedades físicas del compuesto así obtenido son
las siguientes:

10 Espectro de masas m/e: 406 ($M^+ + 1$), 375, 355, 296,
292, 264, 219, 143, 126, 100.

RMP (óxido de deuterio) δ (ppm): 1,02 (3H, d), 1,2-1,9
(4H, m), 2,12 (3H, s), 2,41 (3H, s), 2,5-3,0 (6H, m), 3,08
15 (1H, q), 3,16 (1H, t), ~3,4 (1H, m), 3,41 (3H, s), 3,73 (1H,
t), 3,84 (1H, q), 4,05 (1H, q), 4,15 (1H, t), 4,92 (1H, d).

RMC (óxido de deuterio) δ (ppm): 18,6, 27,0, 27,3, 35,6
40,6, 49,1, 50,4, 50,5, 54,7, 54,9, 57,4, 60,5, 71,3, 71,8,
75,2, 76,7, 80,5, 100,6.

Sulfato: $[\alpha]_D^{25} = +68,0^\circ$ (c = 1,0, agua).

20 A partir de los datos anteriores, el compuesto se iden-
tifica como 4-N-(2-metilaminoetil)fortimicina B.

EJEMPLO 27

25 De forma similar al Ejemplo 10, se lleva a cabo la reac-
ción utilizando los derivados N-benciloxycarbonílicos indica-
dos en la Tabla E para obtener los compuestos (IV) indicados
en dicha tabla, en cuya reacción se utilizan cantidades equi-
moleculares de los derivados N-benciloxycarbonílicos indicados
en la Tabla E en lugar del ácido L-(-)- γ -benciloxycarbonilami-
no- α -hidroxibutírico.
30

1

TABLA E

Compuesto utilizado en lugar del ácido L-(-)-γ-benciloxi-carbonilamino-α-hidroxi-butírico

Compuesto (IV)

5

Acido DL-γ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-butírico

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-(DL-α-amino-γ-hidroxi-butiril)fortimicina B]

Acido L-β-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-propiónico

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-L-β-amino-α-hidroxi-propionil]fortimicina B]

Acido L-δ-benciloxicarbonilamino-α-hidroxi-valérico

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-(L-δ-amino-α-hidroxi-valeril)fortimicina B]

10

EJEMPLO 28

De forma similar a la descrita en el Ejemplo 24, se hacen reaccionar los derivados de tetra-N-benciloxicarbonil-(4-N-acil sustituido-fortimicina B) indicados en la Tabla F en lugar de la tetra-N-benciloxicarbonil-fortimicina A para obtener los compuestos (V) de dicha Tabla F.

15

TABLA F

Compuesto utilizado en lugar de la tetra-N-benciloxicarbonil-fortimicina A

Compuesto (V)

20

Tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(L-γ-amino-α-hidroxi-butiril)fortimicina B]

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butiril]fortimicina B] y tri-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(S)-4-metilamino-2-hidroxi-butiril]fortimicina B]

Tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(DL-γ-amino-α-hidroxi-butiril)fortimicina B]

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(R,S)-4-amino-2-hidroxi-butiril]fortimicina B] y tri-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(R,S)-4-metilamino-2-hidroxi-butiril]fortimicina B]

25

Tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(L-δ-amino-α-hidroxi-propionil)fortimicina B]

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(S)-3-amino-2-hidroxi-propionil]fortimicina B] y tri-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(S)-3-metilamino-2-hidroxi-propionil]fortimicina B]

30

Tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(L-δ-amino-α-hidroxi-valeril)fortimicina B]

tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-[(S)-5-amino-2-hidroxi-pentil]fortimicina B]

1

EJEMPLO 29

5

Se repite el método del Ejemplo 26 a excepción de que se utilizan los derivados de tetra- o tri-N-benciloxicarbonil-(4-N-alkil sustituido-fortimicina B) indicados en la siguiente Tabla G en lugar de la tetra-N-benciloxicarbonil-[4-N-(2-aminoetil)fortimicina B] del Ejemplo 26.

TABLA G

<u>Ejemplo n°</u>	<u>Compuesto empleado</u>
29-1	Tetra-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B}
29-2	Tri-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(S)-4-metil-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B}
29-3	Tetra-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(R,S)-4-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B}
29-4	Tri-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(R,S)-4-metil-amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B}
29-5	Tetra-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(S)-3-amino-2-hidroxi-propil]fortimicina B}
29-6	Tri-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(S)-3-metil-amino-2-hidroxi-propil]fortimicina B}
29-7	Tetra-N-benciloxicarbonil-{4-N-[(S)-5-amino-2-hidroxi-pentil]fortimicina B}

10

15

20

A partir de las respectivas propiedades físicas, se identifican los productos así obtenidos como los compuestos indicados más adelante.

A continuación se incluyen (1) el nombre de los compuestos y (2) las propiedades físicas de los polvos así obtenidos.

25

EJEMPLO 29-1

- (1) 4-N-[(S)-4-Amino-2-hidroxi-butil]fortimicina B
- (2) espectro de masas m/e: 436 ($M^+ + 1$), 417, 400, 387, 361, 344, 330, 322, 294, 259, 245, 235, 219, 207, 202, 143, 126, 119, 100.

30

1

5

10

15

20

25

30

RMC (óxido de deuterio) δ (ppm): 18,6, 27,0, 27,3,
37,7, 38,2, 40,4, 50,3, 50,5, 54,9, 57,3, 61,5, 67,7,
70,1, 71,7, 75,2, 76,5, 80,5, 100,6
Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +78,6^\circ$ (c = 1,0, agua)
Análisis elemental para $C_{19}H_{41}N_5O_6 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 3H_2O$:
Encontrado: C, 32,62; H, 7,84; N, 8,64
Calculado: C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97.

EJEMPLO 29-2

(1) 4-N- [(S)-4-Metilamino-2-hidroxiutil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 450 ($M^+ + 1$), 431, 400, 388, 374,
370, 361, 344, 336, 330, 308, 259, 245, 219, 207, 202,
143, 133, 126, 100
RMC (óxido de deuterio) δ (ppm): 18,6, 27,1, 27,3, 34,4,
35,4, 40,4, 48,0, 50,3, 50,5, 54,9, 57,3, 61,5, 61,8,
67,4, 68,0, 70,8, 71,7, 75,2, 76,5, 80,5, 100,6.
Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +77,5^\circ$ (c = 1,0, agua)
Análisis elemental para $C_{20}H_{43}N_5O_6 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$:
Encontrado: C, 34,82; H, 7,44; N, 9,22
Calculado: C, 34,65; H, 7,65; N, 8,93.

EJEMPLO 29-3

(1) 4-N- [(R,S)-4-Amino-2-hidroxiutil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 436 ($M^+ + 1$), 417, 400, 387, 361,
344, 330, 322, 294, 259, 245, 235, 219, 207, 202, 143,
126, 119, 100.
Sulfato: $[\alpha]_D^{24} = +92,5^\circ$ (c = 0,2, agua)
Análisis elemental para $C_{19}H_{41}N_5O_6 \cdot 2,5H_2O \cdot C_2H_5OH \cdot 4H_2O$:
Encontrado: C, 31,44; H, 7,98; N, 8,48
Calculado: C, 31,57; H, 7,57; N, 8,76.

1

EJEMPLO 29-4

- (1) 4-N-[(R,S)-4-Metilamino-2-hidroxi-butil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 450 ($M^+ + 1$), 431, 400, 388, 374, 370, 361, 344, 336, 330, 308, 259, 245, 219, 207, 202, 143, 133, 126, 100.

5

EJEMPLO 29-5

- (1) 4-N-[(S)-3-Amino-2-hidroxi-propil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 422, ($M^+ + 1$), 403, 391, 361, 344, 330, 308, 280, 259, 249, 231, 219, 207, 202, 159, 143, 126, 105, 100.

Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +86,5^\circ$ (c = 0,2, agua)

Análisis elemental para $C_{18}H_{39}N_5O_6 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$:

Encontrado: C, 32,85; H, 6,93; N, 9,23

Calculado: C, 32,87; H, 7,17; N, 9,58

10

EJEMPLO 29-6

- (1) 4-N-[(S)-3-Metilamino-2-hidroxi-propil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 436 ($M^+ + 1$), 417, 403, 391, 373, 361, 344, 330, 322, 313, 294, 219, 207, 202, 143, 126, 119, 99.

Sulfato: $[\alpha]_D^{23} = +74,5^\circ$ (c = 0,2, agua)

Análisis elemental para $C_{19}H_{41}N_5O_6 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot 3H_2O$:

Encontrado: C, 32,48; H, 7,40; N, 8,71

Calculado: C, 32,30; H, 7,49; N, 8,97.

15

20

EJEMPLO 29-7

- (1) 4-N-[(S)-5-Amino-2-hidroxi-pentil] fortimicina B
(2) espectro de masas m/e: 450 ($M^+ + 1$), 431, 387, 361, 344, 336, 330, 313, 308, 259, 219, 207, 202, 143, 133, 126, 100

Sulfato: $[\alpha]_D^{24} = +75,5^\circ$ (c = 0,2, agua)

Análisis elemental para $C_{20}H_{43}N_5O_6 \cdot 2,5H_2SO_4 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2O$:

Encontrado: C, 34,78; H, 7,72; N, 8,98

Calculado: C, 34,82; H, 7,44; N, 9,22

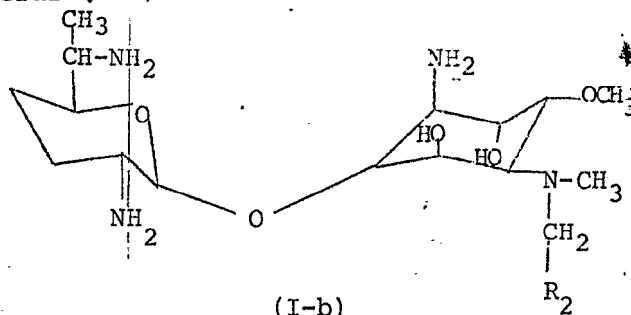
25

30

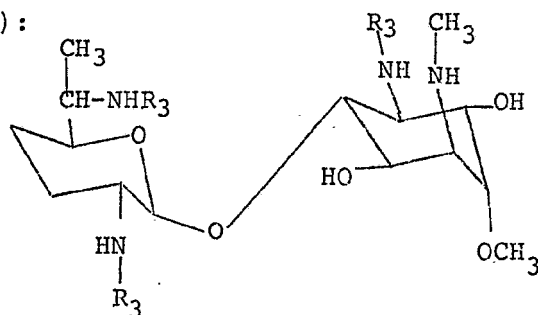
En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de derivados 4-N-sustituídos de fortimicina B representados por la fórmula general (I-b):



donde R_2 es un grupo alquilo, un grupo hidroxialquilo, un grupo aminoalquilo N-sustituído (donde el sustituyente es un grupo aminoalquilo o aminoalquilcarbonilo) o un grupo N-alquilaminohidroxialquilo, y sus sales de adición de ácido no tóxicas y farmacéuticamente aceptables; cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III):

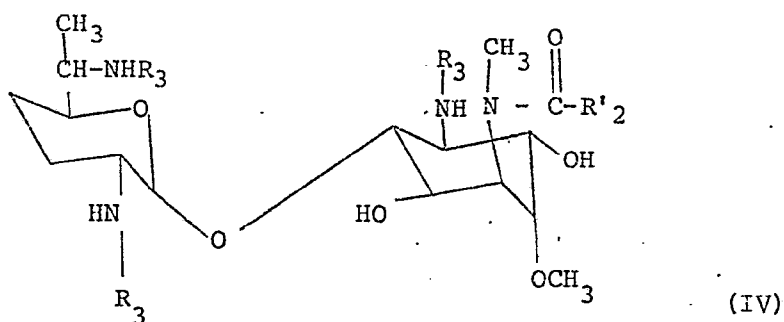


(donde R_3 es un grupo enmascarador del amino) con un agente acilante en un disolvente apropiado;

separar el grupo enmascarador R_3 del grupo amino del compuesto obtenido en la etapa anterior de fórmula general (IV):

1

5



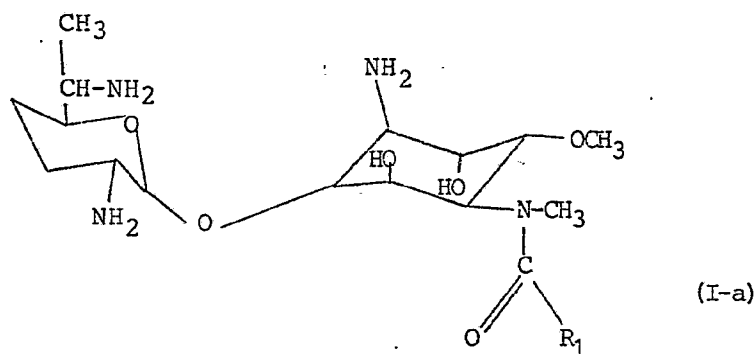
10

15

[donde R'₂ representa un grupo alquilo, un grupo hidroxialquilo, un grupo carbamoilaminoalquilo, un grupo N-alquilaminoalquilo, un grupo N-alquilaminohidroxi-alquilo, un grupo aminoalquilo sustituido (el sustituyente es un grupo enmascarador del amino), un grupo aminohidroxi-alquilo sustituido (el sustituyente es un grupo enmascarador del amino), o un grupo aminoalquilo N-sustituido (el sustituyente es un grupo aminometilcarbonilo sustituido donde a su vez el sustituyente es un grupo enmascarador del amino)];

reducir el grupo carbonilo del grupo amido del compuesto obtenido en la etapa anterior de fórmula (I-a):

20



25

30

(donde R₁ representa un grupo alquilo de 2 o más átomos de carbono, un grupo ω-aminoalquilo de 3 o más átomos de carbono, un grupo carbamoilaminoalquilo o un grupo hidroxialquilo), para formar un grupo metileno, en un disolvente apropiado y a la temperatura ambiente o a la temperatura de reflujo del disolvente y, si es necesario,

hacer reaccionar los derivados 4-N-sustituidos de fort

1 micina B obtenidos en la etapa anterior y representados por
la fórmula general (I-b) con un ácido no tóxico y farmacéuti-
camente aceptable.

5 2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde
el grupo enmascarador (grupo benciloxicarbonilo) se separa
por hidrogenólisis catalítica en presencia de un cataliza-
dor metálico y en presencia de un ácido o en un disolvente
apropiado a la temperatura ambiente y a la presión atmosfé-
rica en atmósfera de hidrógeno gaseoso.

10 3. Un procedimiento según la Reivindicación 2, donde
el catalizador metálico está seleccionado entre paladio, pla-
tino y rodio en carbón y el ácido está seleccionado entre
ácido clorhídrico, ácido bromhídrico y ácido acético.

15 4. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde
la separación del agente enmascarador (grupo ter-butoxicar-
bonilo) se realiza en presencia de un ácido en un disolven-
te no acuoso.

20 5. Un procedimiento según la Reivindicación 4, donde
el ácido está seleccionado entre ácido clorhídrico y ácido
trifluoracético.

6. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde
el grupo enmascarador (grupo trifenilmetilo) se separa por
tratamiento con un ácido.

25 7. Un procedimiento según la Reivindicación 6, donde
el ácido está seleccionado entre ácido acético y ácido tri-
fluoracético.

30 8. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde
el grupo enmascarador (grupo orto-nitrofenilsulfonilo) se
separa por tratamiento con un ácido.

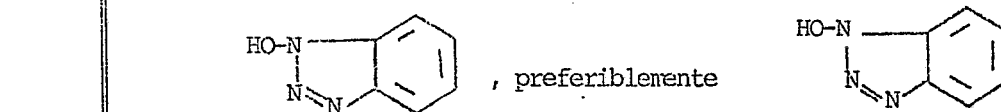
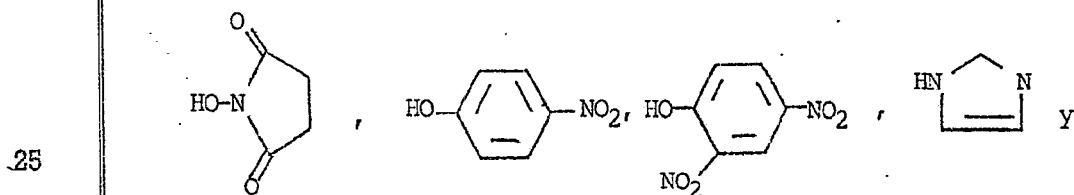
9. Un procedimiento según la Reivindicación 8, donde

1 el ácido está seleccionado entre ácido acético y ácido clor-
hídrico.

10. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde
el agente acilante está seleccionado entre los siguientes:

5 (1) ácidos carboxílicos representados por la fórmula
general (VI), $R'_2\text{COOH}$ [donde R'_2 es un grupo alquilo, un
grupo hidroxialquilo, un grupo carbamoilaminoalquilo, un
grupo N-alquilaminoetilo, un grupo N-alquilaminohidroxi-
10 alquilo, un grupo aminoalquilo sustituido (el sustituyente
es un grupo enmascarador del amino), un grupo aminohidroxi-
alquilo sustituido (el sustituyente es un grupo enmascara-
dor del amino), un grupo aminoalquilo N-sustituido (el sus-
tituyente es un grupo aminometilcarbonilo sustituido en el
que a su vez el sustituyente es un grupo enmascarador del
15 amino), donde el grupo enmascarador del amino puede ser
igual o diferente de R_3] y

(2) derivados de ácidos carboxílicos funcionalmente
equivalentes a éstos, que están seleccionados entre anhídri-
dos de los ácidos carboxílicos representados por la fórmula
20 general (VI), ésteres activos de dichos ácidos carboxílicos
con un compuesto seleccionado entre el grupo formado por



1 y halogenuros ácidos de dichos ácidos carboxílicos.

5 11. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde la reacción de acilación se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 0° y 70°C durante 15 minutos a 20 horas.

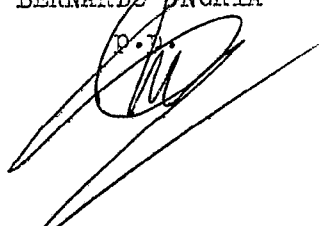
12. Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde la reacción de acilación se lleva a cabo por aplicación de un método DCC.

10 13. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE DERIVADOS 4-N-SUSTITUIDOS DE FORTIMINA B.

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

Madrid, 1 agosto 1.978

BERNARDO UNGRIA



20

25

30