

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

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

ES

|                            |          |
|----------------------------|----------|
| (11) NUMERO                | 485.096  |
| (22) FECHA DE PRESENTACION | 17-10-79 |

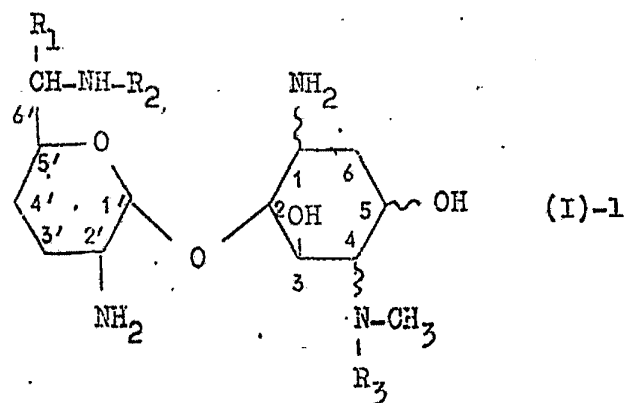
AI

PATENTE DE INVENCION

|   |                                  |  |            |
|---|----------------------------------|--|------------|
| (30) PRIORIDADES:   |                                  | (32) FECHA                             | (33) PAIS  |
| (31) NUMERO   |                                  |  |            |
| 127.388/78<br>76.768/79                                   |                                  | 18-10-78<br>20-6-79                    | Japón<br>" |
| (47) FECHA DE PUBLICIDAD                                  | (51) CLASIFICACION INTERNACIONAL | (63) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA |            |
|   | C07H 3/06 // A61K 31/70          |  |            |
| (54) TITULO DE LA INVENCION                               |                                  |  |            |
| "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR AMINOGLICCSIDOS"          |                                  |  |            |
| (71) SOLICITANTE (S)                                      |                                  | (F7/27-K20 (Kowa)ES)                   |            |
| KOWA COMPANY, LTD.  |                                  |  |            |
| DOMICILIO DEL SOLICITANTE                                 |                                  |  |            |
| 6-29, 3-chome, Nishiki, Naka-ku, Nagoya, Aichi-ken, Japón |                                  |  |            |
| (72) INVENTOR (ES)  |                                  |  |            |
| Isamu WATANABE, Akio IWASAKI y Toshihito MORI             |                                  |  |            |
| (73) TITULAR (ES)   |                                  |  |            |
|   |                                  |  |            |
| (74) REPRESENTANTE  |                                  | (P.- 73.201)                           |            |
| DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ                           |                                  |  |            |

1 Esta invención se refiere a nuevos aminoglicósidos útiles como antibióticos, a un procedimiento para su producción y al uso de los mismos.

5 Más específicamente, esta invención se refiere a compuestos de la fórmula siguiente:

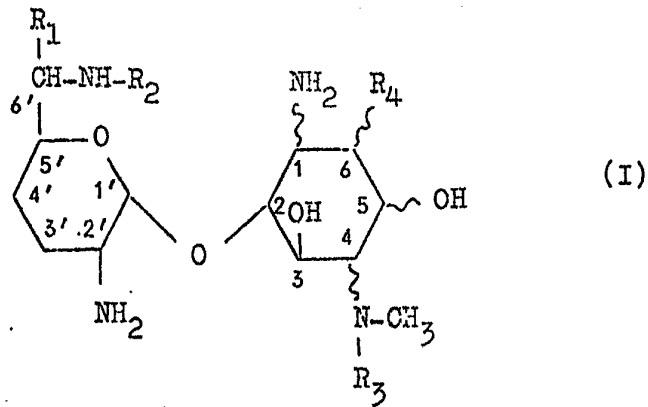


15 en donde  $R_1$  y  $R_2$  son idénticos o diferentes y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,  $R_3$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo aminoacilo substituido facultativamente, que posee de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo, y cuando todos,  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son átomos de hidrógeno, el grupo metilamino en la posición 4 no está orientado en trans respecto a los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5; y sus sales de adición de ácido.

25 La invención se refiere también a un procedimiento para producir compuestos de la fórmula siguiente:

1

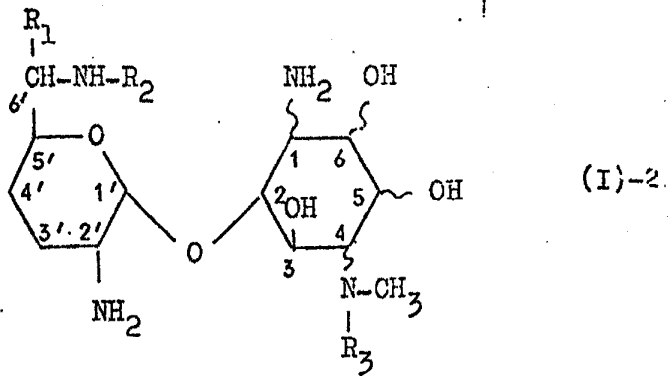
5



10

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son como se ha definido anteriormente, y  $R_4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo, que incluyen aminoglicósidos conocidos de la fórmula siguiente:

15



20

25

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son como se ha definido anteriormente, además de los nuevos aminoglicósidos de fórmula (I)-1, con rendimientos elevados, mediante un número disminuido de etapas del proceso, con ventaja comercial. La invención se refiere además al uso de los compuestos de fórmula (I)-1 como antibióticos.

30

Los presentes inventores han encontrado ahora que los nuevos compuestos de fórmula (I)-1 que tienen un grupo hidroxilo en la posición 5 exhiben una mayor actividad antibiótica que los compuestos de fórmula (II)-1 que

1 tienen  $-OCH_3$  en la posición 5, y que los compuestos de fórmula (I)-1 pueden ser obtenidos ventajosamente con rendimientos elevados, mediante menos etapas del proceso, tratando los compuestos de fórmula (I)-1 que poseen un grupo metoxi en la posición 5, con ácidos fuertes, seguido facultativamente por acilación.

5  
10 Se ha encontrado también que los aminoglicósidos de fórmula (I)-2, que son derivados des-0-metilo de un antibiótico conocido como fortimicina, pueden prepararse con facilidad mediante menos etapas de tratamiento con rendimientos mucho mayores que los métodos convencionales mediante el mismo tratamiento con ácidos fuertes y acilación facultativa, como se ha indicado antes.

15 Es un objeto de esta invención proporcionar nuevos compuestos útiles como antibióticos, un procedimiento para su producción, y el uso de los mismos.

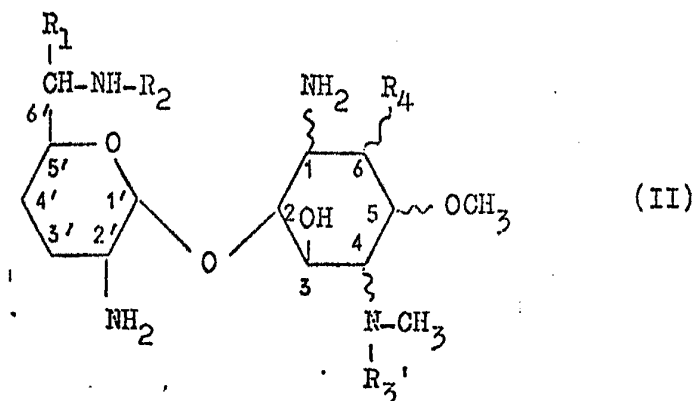
Otro objeto es proporcionar un procedimiento mejorado para producir los aminoglicósidos conocidos de fórmula (I)-2.

20 Los objetos anteriores y otros, así como ventajas de esta invención llegarán a ser evidentes de la descripción siguiente.

25 El aminoglicósido de partida usado para producir el compuesto de fórmula (I) se expresa mediante la fórmula siguiente:

1

5



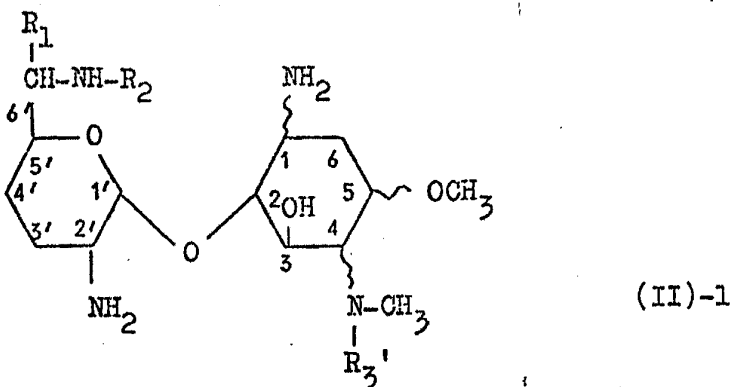
10

en donde  $R_1$  y  $R_2$  son idénticos o diferentes, y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,  $R_3'$  representa un resto seleccionado del grupo que consta de un átomo de hidrógeno,  $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NHCONH}_2$  y  $-\text{COCH}_2\text{NHCHO}$ , y  $R_4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo.

15

Algunos de los compuestos de la fórmula siguiente:

20



25

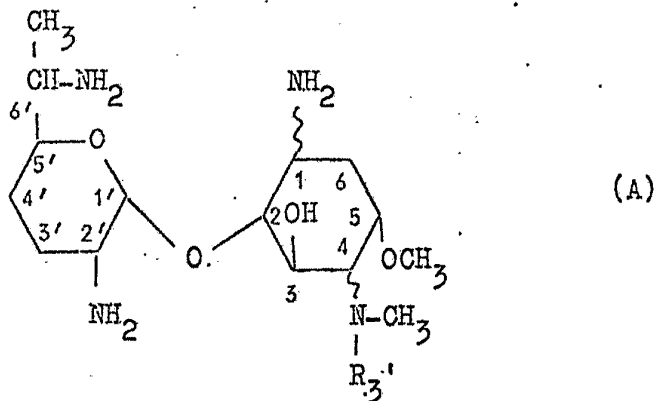
en donde todos los símbolos son como los definidos en la fórmula (II), que caen dentro de los compuestos de fórmula (II), son conocidos. Específicamente, entre los compuestos de partida de fórmula (II)-1, los de la fórmula siguiente

30

05021

1

5



10

en donde  $R_3'$  representa un resto seleccionado del grupo que consta de hidrógeno,  $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NHCONH}_2$  y  $-\text{COCH}_2\text{NHCHO}$ ; y sus sales de adición de ácido, son conocidos como el antibiótico KA-6606 o esporaricina (por ejemplo, DOS No. 2813021, publicada el 5 de Octubre de 1978).

15

20

Según se ha descrito en detalle en la Memoria Descriptiva de la Patente Alemana, los compuestos de fórmula (A) pueden ser producidos mediante un procedimiento que comprende cultivar una cepa que produce el antibiótico KA-6606, del género Saccharopolyspora, y aislar el antibiótico KA-6606 del caldo de cultivo. Una cepa típica es la cepa Saccharopolyspora hirsuta KC-6606. Esta cepa fue depositada como FERM-P No. 3912 en el Fermentation Research Institute, Agencia de Ciencia Industrial y Tecnología, Japón; como ATCC Número 20501 en la Colección de Cultivos Tipo Americana; y como DSM 1238 en la Colección Alemana de Microorganismos (Deutsche Sammlung von Microorganismen).

25

30

Como se ha descrito en la DOS No. 2813021, el antibiótico conocido KA-6606 puede ser separado además en cuatro antibióticos KA-6606 I, KA-6606 II, KA-6606 III y KA-6606 IV, y el KA-6606 I, KA-6606 III y KA-6606 IV, pue-

1 den ser convertidos con facilidad en KA-6606 II por trata-  
 miento con álcalis o ácidos. Otros antibióticos, KA-6606 V  
 y KA-6606 VI, pueden ser separados del antibiótico KA-6606.  
 Las fórmulas moleculares y rotaciones específicas de  
 5 KA-6606 I a VI, que pertenecen a los compuestos de partida  
 de fórmula (A), se indican a continuación

| <u>Antibióticos</u> | <u>Fórmula molecular</u> | <u>Rotación específica</u>                 |
|---------------------|--------------------------|--|
| KA-6606I            | $C_{17}H_{35}O_5N_5$     | $[\alpha]_D^{27} + 104^\circ (c1, H_2O)$   |
| 10 KA-6606II        | $C_{15}H_{32}O_4N_4$     | $[\alpha]_D^{27} + 139,5^\circ (c1, H_2O)$ |
| KA-6606III          | $C_{18}H_{36}O_6N_6$     | $[\alpha]_D^{27} + 103^\circ (c1, H_2O)$   |
| KA-6606IV           | $C_{18}H_{35}O_6N_5$     | $[\alpha]_D^{27} + 101^\circ (c1, H_2O)$   |
| KA-6606V            | $C_{15}H_{32}O_4N_4$     | $[\alpha]_D^{25} + 103^\circ (c1, H_2O)$   |
| KA-6606VI           | $C_{15}H_{32}O_4N_4$     | $[\alpha]_D^{25} + 54^\circ (c1, H_2O)$    |

15 Los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3'$  de KA-6606 I a VI en  
 la fórmula (II)-1 está tabulados a continuación.

|              | <u><math>R_1</math></u> | <u><math>R_2</math></u> | <u><math>R_3'</math></u>              |
|--------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| KA-6606I     | CH <sub>3</sub>         | H                       | COCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>     |
| 20 KA-6606II | CH <sub>3</sub>         | H                       | H                                     |
| KA-6606III   | CH <sub>3</sub>         | H                       | COCH <sub>2</sub> NHCONH <sub>2</sub> |
| KA-6606IV    | CH <sub>3</sub>         | H                       | COCH <sub>2</sub> NHCHO               |
| KA-6606V     | CH <sub>3</sub>         | H                       | H                                     |
| KA-6606VI    | CH <sub>3</sub>         | H                       | H                                     |

25 KA-6606II, V y VI se diferencian en configura-  
 ciones estéricas en las posiciones 1 y 4.

La Memoria Descriptiva de la DOS 2813021 des-  
 cribe en detalle la separación de KA-6606 I a IV correspon-  
 30 diente a la fórmula (A). KA-6606 V y VI pueden ser separa-

1 dos similarmente durante la separación de KA-6606 I a IV  
del KA-6606 crudo obtenido del modo descrito en la Memoria  
Descriptiva Alemana antes descrita. Por ejemplo, se hace  
que el KA-6606 crudo sea adsorbido en un adsorbente tal  
5 como una resina de cambio catiónico de tipo débilmente  
ácido, CM-Sephadex o CM-celulosa, y eluido mediante un mé-  
todo de gradiente o un método por etapas usando amoniaco  
acuoso, una solución acuosa de carbonato de amonio, una so-  
lución acuosa de formiato de amonio, etc. En primer lugar  
10 se eluyen varios componentes que se encuentran en cantida-  
des muy pequeñas y el KA-6606 IV y después el KA 6606 III  
se eluyen al estado de bases libres. Por elución posterior  
se separan sucesivamente las sustancias KA-6606 I, VI y  
II, y finalmente se separa la KA-6606 V.

15 Estos componentes obtenidos pueden ser purifi-  
cados combinando apropiadamente cromatografía sobre celulo-  
sa, gel de sílice, etc, y cromatografía sobre serie de Se-  
phadex tal como LH20. Por ejemplo, estos compuestos pueden  
ser purificados mediante cromatografía con cloroformo/meta-  
20 nol/solución de amoniaco al 17% (1:8:3) sobre una columna  
de gel de sílice.

Las bases libres obtenidas se cargan después  
sobre una columna de una resina de cambio aniónico del ti-  
po de base fuerte tal como Dowex LX2 (un producto de la  
25 Compañía Química Dow) y se eluye con agua, por ejemplo.  
Las fracciones activas fueron recogidas y liofilizadas ob-  
teniendo bases libres puras. Estas bases libres puras pue-  
den ser convertidas en las sales de adición de ácido corres-  
pondientes del modo habitual, añadiendo ácidos inorgánicos  
tales como el ácido clorhídrico, el ácido sulfúrico, el  
30

1 ácido bromhídrico o el ácido carbónico u ácidos orgánicos  
tales como el ácido acético o el ácido oxálico.

Otros compuestos de fórmula (II)-1 usados co-  
mo materiales de partida en esta invención se describen en  
5 la Solicitud de Patente Española pendiente No. 482.443.

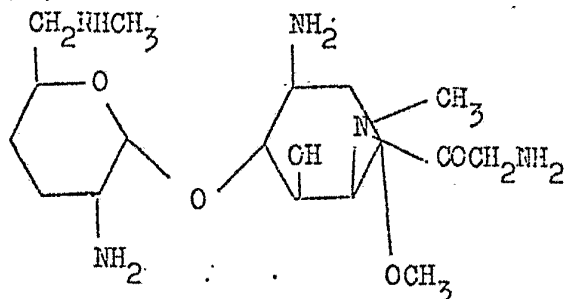
Estos compuestos se denominan antibióticos  
KA-7038 ó sannamicina. Los antibióticos KA-7038 pueden ser  
producidos mediante un procedimiento que comprende culti-  
var una cepa que produce la substancia antibiótica KA-7038  
10 que pertenece al género Streptomyces, y aislar la substan-  
cia antibiótica KA-7038 del caldo de cultivo. Una cepa tí-  
pica es Streptomyces sp. KC-7038. Esta cepa KC-7038 fue de-  
positada como FERM-P No. 4388 en Fermentation Research Ins-  
titute, Agencia de Ciencia Industrial y Tecnología, Japón;  
15 como ATCC número 31530 en la Colección Americana de Culti-  
vos Tipo; y como DSM No. 1594 en la Colección Alemana de  
Microorganismos.

La substancia KA-7038 puede ser separada adi-  
cionalmente en siete antibióticos, KA-7038I, KA-7038II,  
20 KA-7038III, KA-7038IV, KA-7038V, KA-7038VI y KA-7038VII,  
y pueden ser convertidos con facilidad en sus sales de adi-  
ción de ácido por tratamiento con ácidos.

Las fórmulas y propiedades físicas y químicas  
de las substancias de partida KA-7038 I a VII se indican  
25 seguidamente.

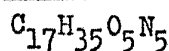
1

## Substancia KA-7038I:-



5

Fórmula molecular:



Rotación específica:

$$[\alpha]_D^{25} + 120,5^\circ$$

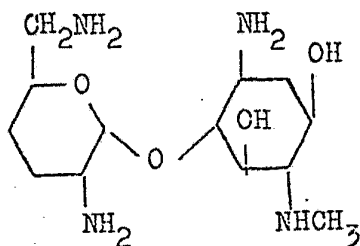
(c 1, H<sub>2</sub>O)

10

Punto de fusión:

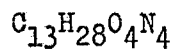
83 - 90°C

## Substancia KA-7038II:-



15

Fórmula Molecular:



Rotación específica:

$$[\alpha]_D^{25} + 61^\circ$$

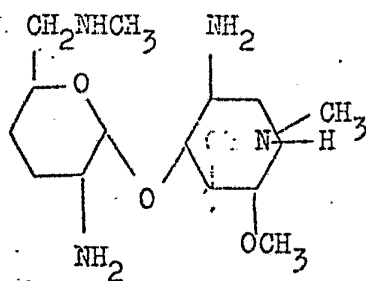
(c, H<sub>2</sub>O)

20

Punto de fusión:

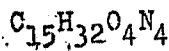
85 - 102°C

## Substancia KA-7038III:-



25

Fórmula molecular:



Rotación específica:

$$[\alpha]_D^{25} + 78^\circ$$

(c 0,5, H<sub>2</sub>O)

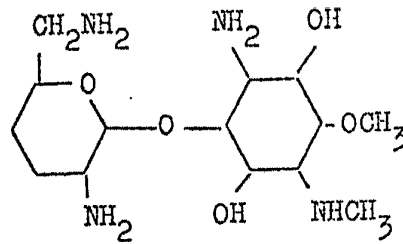
30

Punto de fusión:

74 - 83°C

1

Substancia KA-7038IV:-



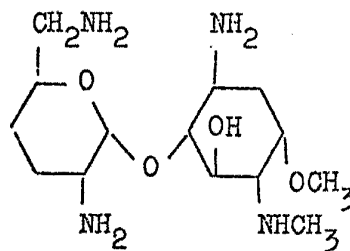
5

Fórmula molecular:  $C_{14}H_{30}O_5N_4$ Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 115^\circ$  (c 0,1, H<sub>2</sub>O)

Punto de fusión: 78 - 82°C

10

Substancia KA-7038V:-

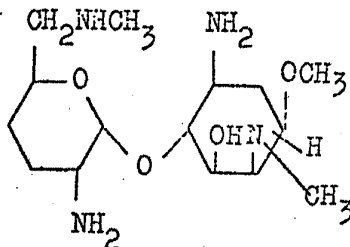


15

Fórmula molecular:  $C_{14}H_{30}O_4N_4$ Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 98^\circ$  (c 0,5, H<sub>2</sub>O)

20

Substancia KA-7038VI:-



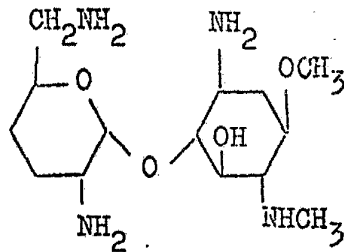
25

Fórmula molecular:  $C_{15}H_{32}O_4N_4$ Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 58^\circ$  (c 1, H<sub>2</sub>O)

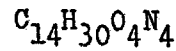
30

05020

## Substancia KA-7038VII:-



Fórmula molecular:



Rotación específica:

$$[\alpha]_D^{25} + 59^\circ (c 1, H_2O)$$

En la presente invención, los antibióticos KA-7038 pueden ser obtenidos cultivando una cepa que produce el KA-7038, tal como la cepa FERM-P No. 4388 ó la cepa ATCC 31535, en un medio nutritivo que contiene una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno y minerales, y separando el KA-7038 del caldo de cultivo.

Medios de cultivo adecuados para usar en la fermentación de la cepa que produce la substancia KA-7038, del género streptomyces comprenden fuentes de carbono y nitrógeno y como ingredientes facultativos, sales inorgánicas (minerales) muy pequeñas cantidades de metales pesados, etc.

Pueden usarse diversas fuentes de carbono, y son ejemplos de fuentes de carbono preferidas glucosa, almidón, sacarosa, fructosa, dextrina, melazas y glicerina, que pueden ser usados tanto solos como en mezclas adecuadas. También pueden ser usados hidrocarburos, alcoholes, ácidos orgánicos y aceites vegetales, si la cepa usada puede utilizarse como fuente de carbono.

Son ejemplos de fuentes de nitrógeno, harina

1 de soja, extracto de levadura, levadura desecada, peptona,  
extracto de carne, líquido de macerado de maiz, Acido Casa  
mino, solubles de Destilador, cloruro de amonio, sulfato  
de amonio, nitrato de amonio, urea y nitrato de sodio, que  
5 pueden ser usados o bien aisladamente o como mezclas ade-  
cuadas. Ejemplos de sales inorgánicas incluyen cloruro de  
sodio, nitratos, carbonato de calcio, cloruro de potasio,  
cloruro cobaltoso y sulfato ferroso..

También pueden añadirse al medio de cultivo,  
10 según sea necesario, substancias inorgánicas y substancias  
orgánicas (por ejemplo aminoácidos) que ayudan al creci-  
miento de la cepa y favorecen la producción de la substan-  
cia KA-7038. Cuando se emplea un método de cultivo de airea  
ción puede añadirse también al medio de cultivo un anties-  
pumante tal como aceites de ácidos grasos, aceites de sili-  
15 cona, aceite de semilla de algodón y parafinas.

El cultivo puede ser llevado a cabo en un me-  
dio sólido. Preferiblemente, sin embargo, se usa, al igual  
que en el procedimiento general de producción de antibióti-  
20 cos, un método de cultivo líquido, en especial un método  
de cultivo sumergido. El cultivo se lleva a cabo en condi-  
ciones aerobias, y la temperatura de cultivo está compren-  
dida preferiblemente entre aproximadamente 20 y aproximada-  
mente 35°C, más preferiblemente aproximadamente 24° a apro-  
25 ximadamente 27°C. Preferiblemente, durante el cultivo el pH  
del medio de cultivo se mantiene entre aproximadamente 4  
y aproximadamente 10. El periodo de cultivo está compendi-  
do por lo general entre aproximadamente 2 días y aproxima-  
damente 10 días.

Como resultado del cultivo, se produce la

30

05020

1        sustancia KA-7038 y se acumula en el caldo de cultivo.  
      Cuando la cantidad de la sustancia KA-7038 producida en  
      el caldo de cultivo alcanza un máximo, se detiene el culti-  
      vo. La sustancia KA-7038 puede ser recogida del caldo de  
5        cultivo.

      Dado que la sustancia KA-7038 es una substan-  
      cia básica pero difícilmente soluble en los disolventes  
      orgánicos comunes, puede ser separada del caldo de cultivo  
      utilizando los procedimientos que se usan habitualmente pa-  
10        ra aislar y purificar antibióticos básicos solubles en  
      agua. Por ejemplo, puede usarse un método de adsorción-de-  
      sorción usando una resina de cambio iónico, carbón activo,  
      etc.; un método de cromatografía en columna usando celulo-  
      sa, gel de sílice, alúmina, etc.; y un método de extracción  
15        con butanol, alcohol amílico, etc. usando un ácido graso  
      superior como coadyuvante.

      Por ejemplo, si el filtrado del caldo de cul-  
      tivo se carga en una columna de una resina de cambio ca-  
      tiónico débilmente ácida, la sustancia KA-7038 es adsorbi-  
20        da en ella. La sustancia KA-7038 se aísla entonces por  
      elución con un álcali o un ácido 0,1 - 3,0N. El eluato ac-  
      tivo resultante puede ser liofilizado obteniéndose un pol-  
      vo crudo de la sustancia KA-7038.

      Son ejemplos de la resina de cambio catiónico  
25        débilmente ácida usada para recuperar la sustancia KA-  
      -7038, Amberlite IRC-50, IRC-84 y CG-50 (Rohm and Haas  
      Co.); y Diaion WK-10 y WK-20 (Mitsubishi Chemical Co.,  
      Ltd.). Son ejemplos de álcalis que pueden ser usados para  
      la elución, solución de hidróxido de amonio, y una solu-  
      ción acuosa de hidróxido de sodio. Son ejemplos de los áci-  
30        aci

1 dos el ácido fórmico, el ácido clorhídrico y el ácido sul-  
fúrico. Otro ejemplo del método de recuperación compren-  
de ajustar el pH del filtrado del caldo de cultivo a 7 -  
5 - 9, poniendo en contacto el filtrado con carbón activo pa-  
ra hacer que la sustancia KA-7038 se adsorba en el carbón  
activo; y eluyendo la sustancia con agua acidulada.

La sustancia KA-7038 que puede ser aislada  
por los métodos antes descritos, puede ser separada en  
KA-7038 I, II, III, IV, V, VI y VII disolviéndolo en agua,  
10 cargándola en una columna de un adsorbente tal como una re-  
sina de cambio iónico débilmente ácida del tipo antes des-  
crito, o un cambiador iónico débilmente ácido, tal como  
CM-sephadex o CM-celulosa, para hacer que la sustancia  
sea adsorbida en el adsorbente, y eluyéndola después con  
15 una solución acuosa alcalina tal como solución diluida de  
hidróxido de amonio, o una solución acuosa de carbonato de  
amonio o formiato de amonio, mediante un método de gradien-  
te o un método por etapas. Según este procedimiento de se-  
paración, se separan sucesivamente al estado de bases li-  
20 bres la sustancia KA-7038 IV, la sustancia KA-7038 VII,  
la sustancia KA-7038 I, la sustancia KA-7038 II, la subs-  
tancia KA-7038 VI, la sustancia KA-7038 III y la substan-  
cia KA-7038 V.

Las sustancias resultantes KA-7038 I, II,  
25 III, IV, V, VI y VII separadas pueden estar en forma de  
polvo, concentrando el eluato y liofilizando el condensa-  
do. Ellos pueden ser purificados mediante cromatografía en  
columna, por ejemplo sobre celulosa, o una resina de cam-  
bio aniónico fuertemente básica. Por ejemplo, disolviendo  
el polvo en agua, haciendo que sea adsorbido en una resina  
30

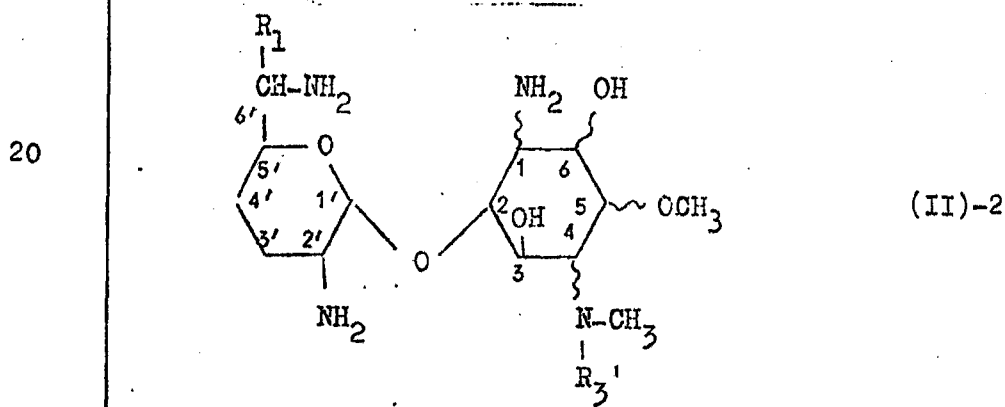
1 de cambio aniónico fuertemente básica tal como Dowex 1x2  
(Dow Chemical), eluyendo con agua desionizada, recogiendo  
las fracciones activas, y liofilizando las fracciones reco-  
5 gidas. Esta substancia KA-7038 obtenida al estado de base  
libre puede ser convertida en sus sales de adición de áci-  
do por tratamiento con ácidos inorgánicos u orgánicos far-  
macéuticamente aceptables. Son ejemplos de tales ácidos  
ácidos inorgánicos tales como el ácido sulfúrico, el ácido  
clorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido fosfórico, el  
10 ácido carbónico, el ácido nítrico, etc. y ácidos orgánicos  
tales como el ácido acético, el ácido fumárico, el ácido  
maleico, el ácido cítrico, el ácido mandélico y el ácido  
succínico.

15 La substancia KA-7038 III tiene la fórmula  
estructural de la substancia KA-7038 I en la que el grupo  
glicilo  $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$  está desdoblado. Por consiguiente, la  
substancia KA-7038 III puede ser obtenida también tratando  
la substancia KA-7038 I con álcalis o ácidos para descompo-  
ner la substancia KA-7038 I y convertirla en la substancia  
20 KA-7038 III. Esta conversión puede ser efectuada tratando  
la substancia KA-7038 I con una solución acuosa 0,1 - 4 N  
de un reactivo alcalino tal como el hidróxido de sodio o  
el hidróxido de bario, o con una solución acuosa 0,1 - 1N  
de un reactivo ácido tal como el ácido clorhídrico o el  
25 ácido sulfúrico.

En el caso de usar el reactivo alcalino, pue-  
de añadirse una resina de cambio aniónico fuertemente bási  
ca (p.e., Amberlite IRA 400 (forma  $\text{OH}^-$ ) o Dowex 1x2 (forma  
 $\text{OH}^-$ ), y la reacción puede llevarse a cabo en estado suspen-  
30 dido. Asimismo, cuando se usa el reactivo ácido, puede aña

1 dirse una resina de cambio catiónico fuertemente ácida tal  
 como Amberlite IR 120 (forma  $H^+$ ) o Dowex 50x8 (forma  $H^+$ ),  
 y la reacción puede llevarse a cabo en estado suspendido.  
 La reacción puede efectuarse habitualmente a una temperatu  
 5 ra comprendida entre 30 y 100°C durante un tiempo compren-  
 dido entre aproximadamente 0,5 y 3 horas.

Según la invención, se proporciona un nuevo  
 procedimiento comercialmente ventajoso, para producir los  
 antibióticos conocidos des-O-metil-fortimicinas (Patente  
 10 de Estados Unidos No. 4.124.756) de la fórmula (I)-2 dada  
 en lo que antecede a partir de los antibióticos fortimici-  
 nas conocidos (descritos por ejemplo en las patentes de  
 EE.UU. 3.931.400, 3.976.768 y 4.048.015 y las solicitudes  
 de patentes alemanas publicadas 2.418.349 y 2.748.530, y  
 15 la publicación de patente japonesa expuesta a inspección  
 pública No. 95548/79



en donde  $R_1$  y  $R_3$ , son como se ha definido anteriormente,  
 partiendo de fortimicinas conocidas (descritas, por ejem-  
 plo, en las Patentes de Estados Unidos Nos. 3.931.400,  
 3.976.768 y 4.048.015, las DOS Nos. 2.418.349 y 2.748.530,  
 30 y la Publicación de la Patente Japonesa de libre disposi-

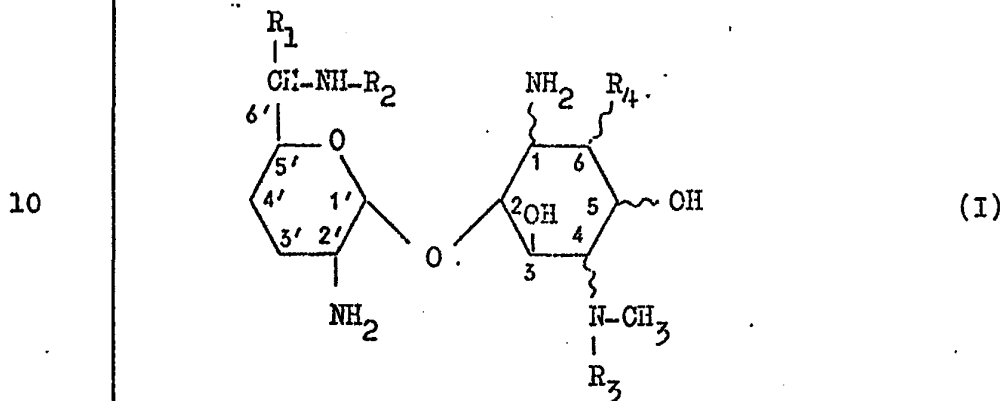
1 ción No. 95548/79) de la fórmula (II)-2 dada anteriormente  
en esta Memoria.

5 Según el método descrito en la Patente de Es-  
tados Unidos No. 4.124.756 para producir los derivados  
des-O-metilo [fórmula((I)-2)] de las fortimicinas de  
fórmula (II)-2, la fortimicina B (que corresponde a la fór-  
mula (II)-2 es la que  $R_1$  es metilo y  $R_3'$  es hidrógeno), por  
ejemplo, se hace reaccionar con una cantidad en exceso de  
10 litio metálico en un disolvente tal como etilamina o eti-  
lenodiamina para formar la des-O-metil-fortimicina B (que  
corresponde a la fórmula (I)-2 en la que  $R_1$  es metilo y  
 $R_3'$  es hidrógeno). Cuando el grupo amino primario de la  
des-O-metil-fortimicina B se protege y se acila el grupo  
metilamino en la posición 4, seguido de desdoblamiento del  
15 grupo protector del grupo amino, se obtiene un compuesto  
que corresponde a la fórmula (I)-2 en la que  $R_3'$  es, por  
ejemplo, un grupo glicilo  $-COCH_2NH_2$ , que es la des-O-metil-  
fortimicina A. La reducción de este compuesto proporciona  
la des-O-metil-4-N-( $\beta$ -aminoetil)fortimicina B que corres-  
20 ponde a la fórmula (I)-2 en la que  $R_3'$  es un grupo  $\beta$ -ami-  
noetilo.

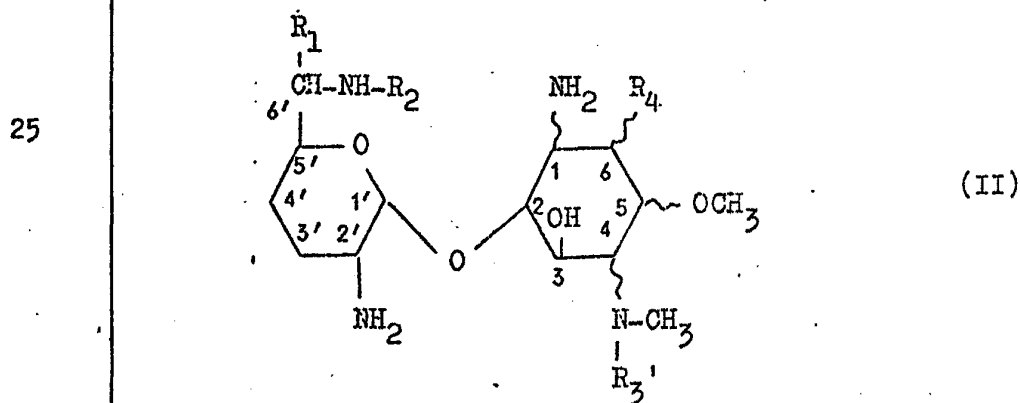
No obstante, este método es comercialmente des-  
ventajoso debido a que la primera etapa de disociación del  
éter metílico es sólo de aproximadamente 1,3%. Según esta  
25 invención pueden obtenerse productos des-O-metilo con ren-  
dimientos comercialmente factibles a partir de fortimici-  
nas y de las substancias KA-6606 y KA-7038 que tienen es-  
tructura similar a ellas. Específicamente, los compuestos  
de fórmula (II)-2 pueden ser obtenidos con un rendimiento  
30 tan elevado como más de 10 veces el obtenido en el método

1 antes citado, tratando el compuesto de fórmula (II) con  
ácidos fuertes.

5 La presente invención proporciona también un  
procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula si-  
guiente



15 en donde  $R_1$  y  $R_2$  son idénticos o diferentes, y cada uno de  
ellos representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,  
 $R_3$  representa un átomo de hidrógeno, o un grupo aminoacilo  
que tiene de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo,  
estando substituído facultativamente dicho grupo aminoaci-  
20 lo, y  $R_4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidro-  
xilo, o una de sus sales de adición de ácido, que compren-  
de tratar un compuesto de la fórmula siguiente



30

05020

1 en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_4$  son como se ha definido anteriormen-  
te, y  $R_3$  representa un resto seleccionado del grupo que  
consta de un átomo de hidrógeno,  $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NHCONH}_2$   
y  $-\text{COCH}_2\text{NHCHO}$ , con un ácido fuerte, y cuando se obtiene  
5 un compuesto de fórmula (I) en donde  $R_3$  es un átomo de hi-  
drógeno, proteger el grupo amino o metilamino en las posi-  
ciones 1, 2' y 6' del compuesto resultante, acilarle enton-  
ces con un aminoácido substituído facultativamente que po-  
see de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo y un  
10 grupo amino protegido o un derivado reactivo del mismo, y  
después retirar el grupo protector, y, si se desea, conver-  
tir el producto en una sal de adición de ácido.

De los compuestos de fórmula (I) aquellos de  
fórmula (I)-1 dados anteriormente o sus sales de adición  
15 de ácido, son antibióticos nuevos.

En la práctica del proceso de esta invención,  
el compuesto de fórmula (II) o su producto protegido en  
los grupos amino o metilamino en las posiciones 1, 2' y  
6', se hace reaccionar con un ácido fuerte en presencia o  
ausencia de un disolvente. Esta reacción induce la disocia-  
20 ción del éter metílico en la posición 5 y el desdoblamien-  
to del  $R_3$ , unido al grupo metilamino en la posición 4 cuan-  
do es un grupo acilo. Así, puede ser obtenido un compuesto  
de fórmula (I) en que se encuentra presente un grupo hidro-  
xilo en la posición 5 y  $R_3$  es un átomo de hidrógeno.

Ejemplos del ácido fuerte son ácidos minera-  
les fuertes tales como ácido bromhídrico, ácido clorhídri-  
co, ácido yodhídrico, ácido fluorhídrico, ácido sulfúrico  
y ácido fosfórico; ácidos orgánicos fuertemente ácidos ta-  
les como el ácido p-toluenosulfónico y el ácido trifluoro-

1 metanosulfónico; y ácidos de Lewis tales como el tricloru-  
ro de boro y el trifluoruro de boro. Cuando se usa un áci-  
do de Lewis, la reacción se lleva a cabo preferiblemente  
5 en condiciones anhidras. En otros casos, la reacción se lle-  
va a cabo preferiblemente en solución acuosa. Por ejemplo,  
el diclorometano puede ser usado como disolvente anhidro.

La reacción puede ser llevada a cabo, por ejem-  
plo, a temperatura ambiente y hasta aproximadamente 200°C.  
Habitualmente la reacción concluye en un tiempo compendi-  
do entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 30 días.  
10 El producto puede ser separado y purificado mediante un méto-  
do ordinario de cromatografía en columna, por ejemplo,  
usando una resina de cambio catiónico. La acilación del  
grupo metilamino en la posición 4 del compuesto resultante  
15 de fórmula (I) en donde  $R_3$  es un átomo de hidrógeno propor-  
ciona un compuesto de fórmula (I) en donde  $R_3$  es un grupo  
acilo. Un grupo acilo preferido representado por  $R_3$  es un  
grupo aminoacilo que puede tener un sustituyente y en el  
que el resto de acilo tiene de 2 a 4 átomos de carbono.  
20 Son ejemplos del sustituyente grupos alcohol inferior,  
un grupo formilo (-CHO), y un grupo carbamoilo (-CONH<sub>2</sub>).

Al efectuar la acilación son protegidos los  
grupos amino o metilamino en las posiciones 1, 2' y 6' del  
compuesto de fórmula (I) en donde  $R_3$  es un átomo de hi-  
25 drógeno, y el -OH presente en la posición 5, son protegi-  
dos, y entonces se hace que actúe sobre el compuesto prote-  
gido un aminoácido facultativamente sustituido (preferible-  
mente protegido) o su derivado reactivo, para formar el  
grupo acilo deseable, para acilar el grupo metilamino en  
30 la posición 4. Por desprotección subsiguiente puede obte-

1 nerse el compuesto de fórmula (I) al estado de base libre.  
Si se desea, el producto se trata con un ácido para conver-  
tirle en un producto de adición de ácido.

5 Los grupos protectores de un grupo amino o  
metilamino pueden ser los usados ordinariamente en la sín-  
tesis de péptidos. Por ejemplo, cuando se usa un éster ac-  
tivo tal como un éster fenílico sustituido (p.e. monoben-  
cil-carbonato), éster de N-oxisuccinimida o éster de N-oxif-  
talimida, sólo los grupos amino o metilamino en las posicio-  
10 nes 1, 2' y 6' son protegidos por un grupo benciloxicarbo-  
nilo. Se prefiere la presencia de un compuesto metálico tal  
como acetato de níquel, acetato cobaltoso y acetato de co-  
bre durante la reacción de protección. También pueden usar-  
se como grupos protectores grupos benciloxicarbonilo subs-  
15 tituidos y el grupo terc-butoxi-carbonilo. Cuando el grupo  
metilamino en la posición 4 es protegido a la vez, puede  
ser liberado haciendo reaccionar el producto con un álcali  
para formar un carbamato cíclico con el grupo hidroxilo  
adyacente al grupo metilamino en la posición 4, y después  
20 hidrolizándole.

La introducción antes citada de un grupo pro-  
tector en los grupos amino o metilamino, puede ser efec-  
tuada, por ejemplo, haciendo que el éster activo actúe so-  
bre el compuesto de fórmula (I) en donde  $R_3$  es hidrógeno,  
25 a una temperatura comprendida entre aproximadamente 0 y  
aproximadamente 100°C, preferiblemente en presencia de un  
compuesto metálico, estando comprendida la cantidad del  
éster activo entre aproximadamente 3 y aproximadamente 10  
moles por mol del compuesto de fórmula (I). La reacción  
30 puede terminarse habitualmente entre aproximadamente 0,5

1 y aproximadamente 20 horas.

5 Según el método de esta invención, se introduce un grupo acilo, si se desea, en el grupo metilamino en la posición 4 del compuesto de fórmula (I) en que  $R_3$  es hidrógeno y los grupos amino o metilamino en las posiciones 1, 2' y 6' se protegen. La acilación puede ser llevada a cabo usando una técnica de síntesis de péptidos convencional. La acilación se lleva a cabo usando un aminoácido protegido u otro ácido carboxílico sustituido, o uno de sus derivados reactivos. Son ejemplos del derivado reactivo, 10 haluros de ácido, ésteres activos tales como ésteres fenílicos, éster cianometílico, éster N-oxisuccinimídico o éster N-oxiftalimido, azidas de ácido, anhídridos de ácido, anhídridos de ácido mixto, y otros compuestos que se usan 15 en la síntesis de péptidos. Los grupos protectores para el grupo amino del aminoácido pueden ser los mismos que los puestos de ejemplo anteriormente en esta Memoria para los grupos amino o metilamino del compuesto de fórmula (I) en que  $R_3$  es hidrógeno. Preferiblemente, debe usarse bastante 20 los mismos grupos protectores.

25 La reacción de acilación puede ser llevada a cabo, por ejemplo, a una temperatura comprendida entre aproximadamente 0 y aproximadamente 100°C en un disolvente tal como metanol, dioxano, acetonitrilo y diclorometano, usando entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 moles 30 de un agente de acilación por mol del compuesto que ha de ser acilado. Habitualmente, la reacción puede ser terminada entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 20 horas.

30 Preferiblemente, los grupos protectores de los grupos amino son retirados del compuesto protegido de

1 fórmula (I) preferiblemente mediante un método de reducción catalítica. Catalizadores adecuados para este fin incluyen paladio, platino, níquel Raney, rodio, rutenio y níquel.

5 La retirada de los grupos protectores mediante reducción catalítica puede ser llevada a cabo, por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto protegido en un disolvente tal como el ácido acético en presencia de un catalizador a una temperatura comprendida entre 0 y aproximadamente 80°C durante un tiempo comprendido entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 horas. La presión de hidrógeno en este momento debe ser normal o presión atmosférica, o una presión elevada.

10

Si se requiere además, el grupo acilo del producto acilado puede ser reducido para producir un compuesto en el que  $R_3$  es un grupo alcoholo sustituido. Preferiblemente, la reacción de reducción se lleva a cabo antes de retirar los grupos protectores de los grupos amino. Pueden ser utilizados métodos de reducción usando agentes reductores tales como hidruro de litio y aluminio, borohidruro de sodio y diborano.

15

20

En la presente invención, el compuesto de fórmula (I) que puede ser obtenido a partir del compuesto de fórmula (II) del modo anterior, puede ser aislado y purificado del modo habitual. Se prefiere cromatografía en columna. Los adsorbentes preferidos para este fin son resinas de cambio catiónico tales como CM-Sephadex, Amberlite IRC 50, Amberlite IRC-94, Amberlite CG-50, y carboximetilcelulosa. El desarrollo puede ser efectuado mediante un método de gradiente o un método por etapas usando una solución acuosa alcalina tal como una solución acuosa de amoníaco.

25

30

1 co o una solución acuosa de formiato amónico como disolvente  
te de desarrollo. Las fracciones activas se recogen de los  
eluatos, y se liofilizan para obtener el compuesto de fórmu-  
mula (I) en forma pura.

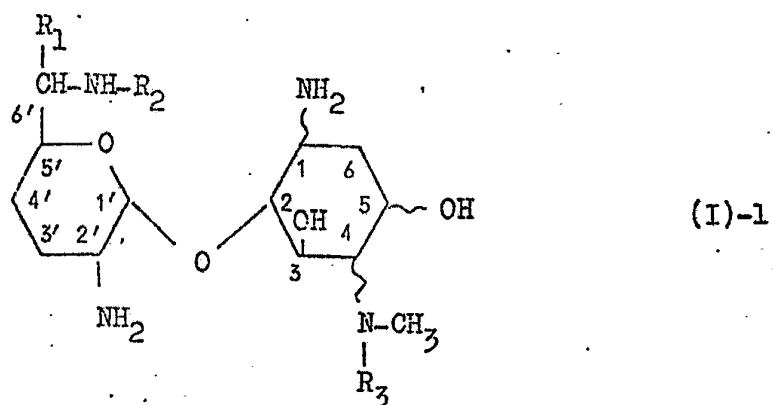
5 Dependiendo de la operación de purificación,  
el producto deseado (I) puede ser obtenido también en for-  
ma de una sal de adición de ácido. El compuesto (I) al es-  
tado de base libre, puede convertirse en una sal de adición  
de ácido del mismo, preferiblemente una sal de adición de  
10 un ácido farmacéuticamente aceptable, del modo habitual.  
Los ácidos para este fin incluyen, por ejemplo, ácidos inor-  
gánicos tales como el ácido sulfúrico, el ácido clorhídri-  
co, el ácido bromhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido  
fosfórico, el ácido carbónico y el ácido nítrico, y ácidos  
15 orgánicos tales como el ácido acético, ácido fumárico, áci-  
do málico, ácido cítrico, ácido mandélico y ácido succíni-  
co.

Según el procedimiento de esta invención los  
compuestos deseados de fórmula (I) que poseen acción anti-  
20 bacteriana pueden ser obtenidos con facilidad y con buenos  
rendimientos a partir de fortimicinas o de sustancias  
KA-6606 y KA-7038 que poseen una estructura similar a la  
de las fortimicinas.

Los compuestos de fórmula (I)-1 son compues-  
25 tos no descritos hasta ahora en la bibliografía. Los com-  
puestos de fórmula (I), incluyendo los compuestos de fórmu-  
mula (I)-1, muestran una acción antibiótica superior, y  
son útiles en el campo de los medicamentos para el hombre  
y los animales, así como los intermedios para la síntesis  
30 de derivados.

1 Así, la presente invención puede proporcionar una composición antibiótica que comprende el nuevo compuesto de fórmula (I)-1.

5 Específicamente, según esta invención, se proporciona una composición antibiótica compuestos de (i) una cantidad efectiva como antibiótico de un compuesto que tiene la fórmula siguiente



15 en donde  $R_1$  y  $R_2$  son idénticos o diferentes, y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, y  $R_3$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo aminoacilo sustituido facultativamente, que tiene de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo, y cuando  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son átomos de hidrógeno, el grupo metilamino en la posición 4 no está orientado en trans respecto a los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, y (ii) un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

25

La cantidad del compuesto (I)-1 está comprendida, por ejemplo, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 99,5% en peso, basado en el peso de la composición.

La composición antibiótica de esta invención

30

1 puede presentarse en cualquiera de las formas de administración habitualmente empleadas, pero se prefieren en especial preparaciones inyectables y en cápsulas.

5 Preferiblemente, a semejanza de los antibióticos básicos solubles en agua conocidos, se prepara un inyectable llenando un polvo liofilizado del antibiótico en viales, preferiblemente junto con un estabilizador, y, al usarle, el contenido de los viales se disuelve en un líquido disolvente para su administración.

10 El diluyente o excipiente incluye, por ejemplo, diluyentes líquidos tales como agua destilada para inyección y solución isotónica de suero fisiológico, y también excipientes sólidos tales como lactosa, almidón, azúcar blanca, glucosa, celulosa cristalina, carbonato de calcio, caolín, D-manitol, aluminato metasilicato de magnesio, sulfato de calcio, fosfato de calcio y bentonita. La adición de estabilizadores tales como bisulfito de sodio ácido, es asimismo preferida.

20 La dosis de la substancia antibiótica de esta invención puede ser seleccionada adecuadamente, y está comprendida, por ejemplo, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg/día.

25 Así, según esta invención, pueden proporcionarse composiciones antibióticas para animales distintos del hombre, tales como aves de corral, animales domésticos y peces cultivados, y composiciones antibióticas para el hombre. Estas composiciones son útiles como agentes antibacterianos que poseen un amplio espectro antibacteriano.

30 La Tabla 1 que figura a continuación, resume los espectos antibacterianos de varios ejemplos del com-

1 puesto de fórmula (I)-1 y materiales de partida para ellos

Tabla 1

|    |  | Des-0-<br>metil | 4-N-<br>glicil | Des-0-<br>metil<br>-4-N-<br>glicil | Des-0-<br>metil |              |
|----|--|-----------------|----------------|------------------------------------|-----------------|--------------|
| 5  | KA-<br>6606I   | KA-<br>6606I    | KA-<br>6606VI  | KA-<br>6606VI                      | KA-<br>7038I    | KA-<br>7038I |
|    | Staphylococcus aureus 209P   | 0,2             | 0,2            | 0,39                               | 0,39            | 0,39         |
|    | Bacillus subtilis ATCC 6633  | 0,2             | <0,1           | 0,20                               | 0,20            | 0,20         |
| 10 | Bacillus cereus  | 1,56            | 0,78           | 0,78                               | 0,78            | 1,56         |
|    | Bacillus anthracis   | 0,2             | <0,1           | 0,20                               | 0,20            | 0,20         |
|    | Streptococcus faecalis   | 25              | 25             | 25                                 | 25              | 50           |
| 15 | Escherichia coli NIHJ  | 1,56            | 1,56           | 1,56                               | 1,56            | 3,13         |
|    | Escherichia coli ML1410  | 1,56            | 1,56           | 3,13                               | 3,13            | 1,56         |
|    | Escherichia coli ML1410R-81<br>(resistente a la Kanamicina, estreptomycin, y lividomicina) | 3,13            | 1,56           | 6,25                               | 3,13            | 6,25         |
| 20 | Escherichia coli ML1410R-82<br>(resistente a la Kanamicina, estreptomycin y butirosina)    | 3,13            | 3,13           | 6,25                               | 6,25            | 12,5         |
| 25 | Escherichia coli ML1410R-101<br>(resistente a la gentamicina, tobramicina y kanamicina)    | 1,56            | 1,56           | 3,13                               | 3,13            | 6,25         |
| 30 | Proteus vulgaris OX-19   | 0,78            | 0,78           | 1,56                               | 1,56            | 3,13         |

(continúa)

1

Tabla - 1 - (continuación)

|    |   |      |      |      |      |      |      |
|----|---|------|------|------|------|------|------|
|    | Klebsiella pneumoniae PCI 602   | 0,78 | 0,78 | 0,78 | 0,78 | 1,56 | 0,78 |
| 5  | Pseudomonas aeruginosa Shibata  | 3,13 | 0,78 | 6,25 | 1,56 | 6,25 | 1,56 |
|    | Pseudomonas aeruginosa A <sub>3</sub>   | 3,13 | 0,78 | 6,25 | 3,13 | 12,5 | 3,13 |
| 10 | Pseudomonas aeruginosa No. 12   | 0,39 | 0,39 | 0,78 | 0,78 | 1,56 | 0,78 |
|    | Pseudomonas aeruginosa TI-13  | 3,13 | 0,78 | 3,13 | 3,13 | 6,25 | 1,56 |
|    | Pseudomonas aeruginosa K-11 (resistente a la kanamicina)                              | 6,25 | 1,56 | 6,25 | 6,25 | 12,5 | 3,13 |
| 15 | Pseudomonas aeruginosa No. 157  | 6,25 | 1,56 | 3,13 | 1,56 | 6,25 | 1,56 |
|    | Pseudomonas aeruginosa No. 315 (resistente a la gentamicina, tobramicina y amikacina) | 6,25 | 3,13 | 12,5 | 6,25 | 25   | 6,25 |
| 20 | Proteus inconstans  | 1,56 | 1,56 | 1,56 | 1,56 | 6,25 | 6,25 |
|    | Serratia marcescens   | 3,13 | 1,56 | 0,78 | 1,56 | 1,56 | 0,78 |

25

30

05020

1 Los ejemplos siguientes muestran la producción  
de los compuestos de esta invención y la producción de  
des-O-metil-fortimicina conocida, mediante el procedimiento  
de esta invención

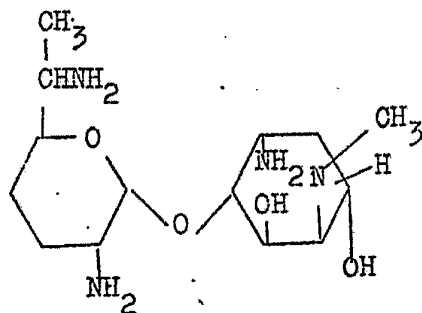
5

Ejemplo 1

Des-O-metil-KA-6606 II:-

Se disolvió KA-6606 II al estado de base li-  
bre (1,1 g) en 100 ml de ácido bromhídrico de 48%, y la  
10 solución se calentó en un tubo cerrado a 90°C durante 4 ho-  
ras. La mezcla de reacción se concentró a sequedad a pre-  
sión reducida. El residuo se disolvió en agua y se neutra-  
lizó con solución acuosa concentrada de amoníaco. La solu-  
ción se cargó en una columna rellena con 400 ml de CM-Sepha-  
15 dex C-25 (forma  $\text{NH}_4^+$ ), y se eluyó con una solución acuosa  
de amoníaco de concentración que variaba gradualmente des-  
de 0,05N a 0,5 N. Las fracciones que contenían des-O-metil-  
-KA-6606 II fueron recogidas y se trataron del modo habi-  
tual obteniéndose 620 mg de des-O-metil-KA-6606 II como un  
20 compuesto incoloro que tenía la siguiente fórmula:

25



30

1 Notación específica:  $\overline{Z} \overline{7}_D^{25} + 140^\circ$  (c 2, H<sub>2</sub>O)

RMN:  $\delta$  D<sub>2</sub>O ppm

1,53 (3H, d, J=6,3 Kz, C-CH<sub>3</sub>)

2,88 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

5 5,46 (1H, d, J=3,4 Kz, H anómero)

Análisis elemental para C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O

Calculado (%): C, 49,98; H, 9,59; N, 16,65

Encontrado (%): C, 49,69; H, 9,73; N, 16,48

10 Ejemplo 2

(a) Tetraquis-N-benciloxicarbonil-des-O-metil-KA-6606 I:-

Se disolvió en 5 ml de metanol des-O-metil-KA-6606 II al estado de base libre (60 mg), y a -10°C se añadieron 75 mg de N-benciloxicarboniloxi-succinimida. La mezcla se agitó. Al cabo de 1 hora y 2 horas respectivamente, se añadieron 30 mg y 20 mg del éster activo antes citado. La mezcla se agitó adicionalmente a la misma temperatura durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en 10 ml de cloroformo, se lavó con agua, y se secó, seguido por destilación del disolvente.

El residuo se disolvió en 3,5 ml de dioxano, y se añadieron 0,2 ml de trietilamina y 100 mg de N-hidroxi succinimidil-N-benciloxicarbonil-glicina. La mezcla se calentó a 60°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en 10 ml de cloroformo, se lavó con agua y se secó, seguido de destilación del disolvente. El residuo se cromatografió sobre una columna de gel de sílice usando cloroformo-metanol (50:1) como eluyente, y se terminó del modo habitual, obteniéndose

1 62 mg de tetraquis-N-benciloxicarbonil-des-O-metil-KA-6606 I en forma de un sólido incoloro.

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 37^\circ$  (c 2, CHCl<sub>3</sub>)

RMN: CDCl<sub>3</sub>, ppm

5 1,01 (3H, d, J=6,5 Hz, C-CH<sub>3</sub>)

2,91 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

IR:  $\nu_{\text{máx}}$  CHCl<sub>3</sub> cm<sup>-1</sup> 1640 (amida I)

Análisis elemental para C<sub>48</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub>

Calculado (%): C, 63,22; H, 6,30; N, 7,68

10 Encontrado (%): C, 63,28; H, 6,35; N, 7,55.

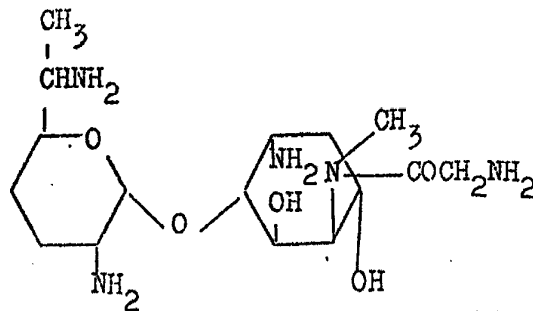
(b) Des-O-metil-KA-6606 I:-

El tetraquis-N-benciloxicarbonil-des-O-metil-KA-6606 I (60 mg) obtenido en (a) anterior se disolvió en 1,2 ml de ácido acético, y se sometió a hidrogenólisis en presencia de 30 mg de negro de paladio, a temperatura ambiente y presión atmosférica. El catalizador se separó por filtración, y el filtrado se diluyó con 100 ml de agua y se neutralizó con solución acuosa concentrada de amoníaco. La solución se cargó en una columna rellena con 10 ml de 15 CM-Sephadex C-25 (forma NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y se eluyó mediante un método de gradiente usando solución acuosa de amoníaco de una concentración que variaba gradualmente desde 0,05N a 0,5N. Las fracciones que contenían el compuesto deseado fueron 20 recogidas y se liofilizó obteniéndose 21 mg de des-O-metil-KA-6606 I en forma de un sólido incoloro que tenía un punto de fusión de 172 a 175°C (descompone) y la fórmula siguiente:

25

1

5



10

Análisis elemental para  $C_{16}H_{33}N_5O_5 \cdot H_2CO_3 \cdot H_2O$

Calculado (%): C, 44,83; H, 8,19; N, 15,38

Encontrado (%): C, 44,47; H, 8,38; N, 15,05.

El clorhidrato de este producto obtenido mediante un método convencional, tiene las propiedades siguientes.

15

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 110^\circ$  (c 2,  $H_2O$ )

RMN:  $\delta$   $D_2O$  ppm

1,83 (3H, d,  $J=6,6$  Hz, C- $\underline{CH_3}$ )

3,63 (3H, s, N- $\underline{CH_3}$ )

6,03 (1H, d,  $J=3,6$  Hz, H anómero)

20

### Ejemplo 3

Des-O-metil-fortimicina B:-

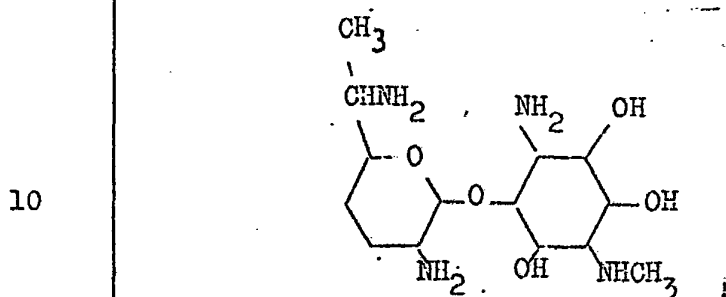
25

Se disolvió fortimicina B al estado de base libre (100 mg) en 5 ml de ácido yodhídrico en 52%, y se hizo reaccionar en un tubo cerrado a  $37^\circ C$  durante 10 días. Después de la reacción, el ácido yodhídrico se destiló. El residuo se diluyó con agua, y se neutralizó con solución acuosa de amoníaco. La solución se cargó en una columna de CM-Sephadex C-25 (forma  $NH_4^+$ ), y se eluyó mediante un método de gradiente de concentración usando solución acuosa

30

05020

1 de amoníaco de una concentración que variaba gradualmente  
 desde 0,05 N a 0,5 N. Las fracciones que contenían el pro-  
 ducto deseado fueron recogidas, y se concentró a sequedad  
 obteniéndose 16 mg de des-O-metil-fortimicina B al estado  
 5 de base libre, que tenía la fórmula siguiente.



15 Rotación específica:  $[\alpha]_D^{23} + 43^\circ$  (c 1, H<sub>2</sub>O)

RMN:  $\delta$  D<sub>2</sub>O ppm

1,50 (3H, d, J=6,5 Hz, CH-CH<sub>3</sub>)

2,83 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

5,54 (1H, d, J=3,5 Hz, H anómero)

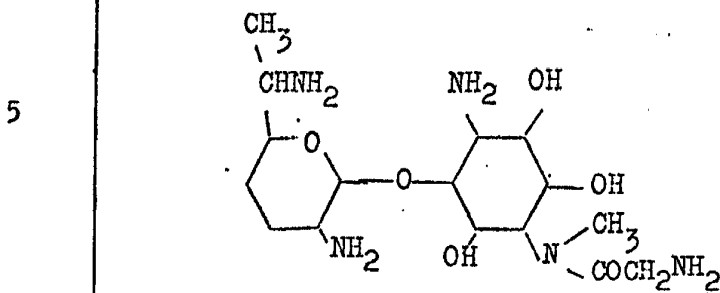
20 Ejemplo 4

Des-O-metil-fortimicina A:-

25 Se repitió el mismo procedimiento que el del  
 Ejemplo 2 (a) fue repetido excepto que se usaron 30 mg de  
 des-O-metil-fortimicina B al estado de base libre. Se obtu-  
 vieron 34 mg de tetraquis-N-benciloxycarbonil-des-O-metil-  
 -fortimicina A en forma de un sólido incoloro.

30 El producto se disolvió en 1,0 ml de ácido  
 acético, y se sometió a hidrogenólisis y purificó del mis-  
 mo modo que en el Ejemplo 2, (b) obteniéndose 10 mg de  
 des-O-metil-fortimicina A en forma de un sólido incoloro

1 que tiene la siguiente fórmula:



10 Análisis elemental para  $C_{16}H_{33}N_5O_6 \cdot H_2O$

Calculado (%): C, 46,93; H, 8,62; N, 17,10

Encontrado (%): C, 46,66; H, 8,47; N, 16,81

El clorhidrato producido a partir de la base libre, del modo habitual, tenía las propiedades siguientes.

15 Rotación específica:  $[\alpha]_D^{23} + 82^\circ$  (c 1,  $H_2O$ )

RMN:  $\delta$   $D_2O$  ppm

1,80 (3H, d,  $J=6,5$  Hz, C-CH<sub>3</sub>)

3,60 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

5,78 (1H, d,  $J=3,5$  Hz, H anómero)

20

### Ejemplo 5

Des-O-metil-KA-6606 II:-

25 Se suspendió KA-6606 II al estado de base libre (100 mg) en 5 ml de diclorometano, y se añadieron a -80°C, 5 g de tricloruro de boro. La mezcla se dejó en reposo a la misma temperatura durante 1 hora. Después, a temperatura ambiente, se dejó en reposo durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a sequedad y se añadió metanol al residuo. La mezcla se concentró de nuevo a sequedad. Esta operación se repitió tres veces.

30

05020

1 El residuo resultante se disolvió en 10 ml  
de agua, y la solución se cargó en una columna rellena con  
40 ml de CM-Sephadex C-25 (forma  $\text{NH}_4^+$ ), y se eluyó median-  
te un método de gradiente de concentración usando solución  
5 acuosa de amoníaco de una concentración que variaba gra-  
dualmente desde 0,05N a 0,5N. Se recogieron las fracciones  
que contenían des-O-metil-KA-6606 II y se concluyó del mo-  
do habitual, obteniendo 15 mg de una sustancia incolora.  
Las propiedades de este producto eran idénticas a las de  
10 del des-O-metil-KA-6606 II obtenido en el Ejemplo 1.

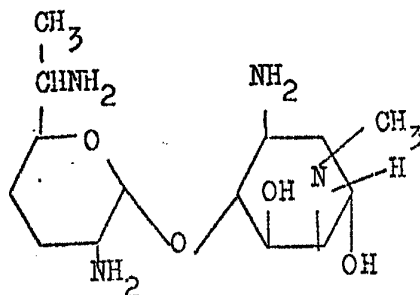
#### Ejemplo 6

Des-O-metil-KA-6606 VI:-

15 Se disolvió en 3,5 ml de ácido yodhídrico de  
56% KA-6606 VI al estado de base libre (350 mg), y se ca-  
lentó a 60°C en tubo cerrado durante 4 horas. La mezcla de  
reacción se concentró a sequedad a presión reducida. El re-  
siduo se disolvió en agua, y se neutralizó con solución  
acuosa concentrada de amoníaco. La solución se cargó en  
20 una columna rellena con 30 ml de CM-Sephadex C-25 (forma  
 $\text{NH}_4^+$ ) y se eluyó con solución acuosa de amoníaco de una  
concentración que variaba gradualmente desde 0,25N a  
0,35 N. Las fracciones que contenían el producto deseado  
fueron recogidas, y se concentró a sequedad obteniendo  
25 265 mg de des-O-metil-KA-6606 VI que tenía la fórmula si-  
guiente.

1

5



10

Análisis elemental para  $C_{14}H_{30}N_4O_4 \cdot H_2O$

Calculado (%): C, 49,98; H, 9,59; N, 16,65

Encontrado (%): C, 49,65; H, 9,44; N, 16,61

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{23} + 87^\circ$  (c 1,  $H_2O$ )

RMN:  $\delta$   $D_2O$  ppm

1,54 (3H, d,  $J=6,5$  Hz,  $C-CH_3$ )

15

2,85 (3H, s,  $N-CH_3$ )

5,56 (1H, d,  $J=3,5$  Hz,  $H$  anómero)

### Ejemplo 7

20

(a) 1,2',6'-tris-N-benciloxycarbonil-4-N-benciloxycarbonil  
glicil-des-O-metil-KA-6606 VI:-

25

Se disolvió en 5 ml de metanol des-O-metil-  
-KA-6606 VI (163 mg) y se añadieron 273 mg de acetato de  
níquel. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante  
30 minutos, y después se añadieron 454 mg de N-benciloxicar  
boniloxisuccinimida. La mezcla se agitó a la misma tempera  
tura durante 2 horas. Se añadió a la mezcla de reacción so  
lución acuosa concentrada de amoníaco (2,5 ml) y la mezcla  
se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se concen  
tró a presión reducida y el residuo se disolvió en 20 ml  
de cloroformo y amoníaco acuoso 3N. La solución se agitó

30

1 fuertemente. Se separó la capa clorofórmica, se lavó dos veces con amoníaco acuoso 3N y dos veces con agua, y se secó, seguido por destilación del disolvente.

5 El residuo se disolvió en 9 ml de dioxano y se añadieron 330 mg de éster 2,4-dinitrofenílico de N-benciloxicarbonilglicina y 0,3 ml de trietilamina, y la mezcla se calentó a 60°C durante 1 hora. A la mezcla de reacción se añadió 1 ml de solución acuosa concentrada de amoníaco, y la mezcla se dejó en reposo durante 1 hora. Se  
10 destiló el disolvente. El residuo se disolvió en 20 ml de cloroformo y se lavó tres veces con solución acuosa de hidróxido de sodio 0,5 N y dos veces con agua, y se secó, seguido de destilación del disolvente. El residuo se cromatografió sobre una columna de gel de sílice usando cloroformo/metanol (50:1) como eluyente. Se recogieron las fracciones  
15 que contenían el producto deseado y se concentró obteniéndose 288 mg de 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4-N-benciloxicarbonilglicil-des-O-metil-KA-6606 VI como un sólido incoloro.

20

Análisis elemental para  $C_{45}H_{57}N_5O_{13}$

Calculado (%): C, 63,22; H, 6,30; N, 7,68

Encontrado (%): C, 63,43; H, 6,21; N, 7,44

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{23} + 32^\circ$  (c 1,  $CHCl_3$ )

RMN:  $\delta$   $CDCl_3$  ppm

25

2,92 (3H, s, N- $\underline{CH_3}$ )

1,21 (3H, d, J=6 Hz, CH- $\underline{CH_3}$ )

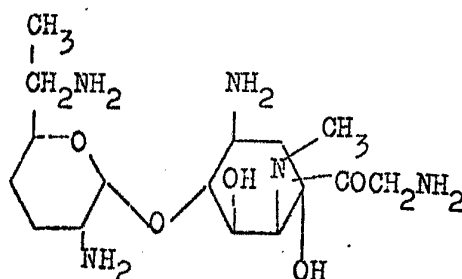
(b) Des-O-metil-4-N-glicil-KA-6606 VI:-

EL 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4N-benciloxicarbonilglicil-des-O-metil-KA-6606 VI (288 mg) obtenido en (a) anterior, se disolvió en 4 ml de ácido acético, y se añadió

30

1 ron 50 mg de negro de palacio. El compuesto anterior se  
 redujo después catalíticamente a temperatura ambiente. Se  
 filtró la mezcla de reacción. El filtrado se diluyó con  
 400 ml de agua y se neutralizó con amoníaco acuoso. La so-  
 5 lución se cargó en una columna de CM-Sephadex C-25 (forma  
 $\text{NH}_4^+$ ) y se eluyó mediante un método de gradiente de concen-  
 tración usando amoníaco acuoso de una concentración que  
 variaba gradualmente desde 0,05 N a 0,35 N. Las fracciones  
 que contenían en producto deseado fueron recogidas y se  
 10 liofilizó obteniéndose 105 mg de des-O-metil-4-N-glicil-  
 -KA-6606 VI en forma de un sólido incoloro que tenía la  
 fórmula siguiente.

15



20

Análisis elemental para  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Calculado (%): C, 48,84; H, 8,97; N, 17,80

Encontrado (%): C, 48,55; H, 8,83; N, 17,48

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{23} + 115^\circ$  (c 1,  $\text{H}_2\text{O}$ )

25

RMN:  $\delta$   $\text{D}_2\text{O}$  ppm

1,52 (3H, d,  $J=6,5$  Hz, C- $\text{CH}_3$ )

3,62 (3H, s, N- $\text{CH}_3$ )

5,40 (1H, d,  $J=3$  Hz, H anómero).

30

05020

1 Ejemplo 8

Des-O-metil-KA-6606 VI:-

5 Se disolvió en 5 ml de ácido bromhídrico de 48%, KA-6606 VI (100 mg) y se dejó que la solución permaneciera en reposo a 37°C durante 10 días. La mezcla de reacción se concentró a sequedad por debajo de 37°C. El residuo se disolvió en 50 ml de agua y se neutralizó con amoníaco acuoso. La solución se cargó en una columna de CM-Sephadex C-25 (forma  $\text{NH}_4^+$ ), y se eluyó mediante un método de gradiente de concentración usando amoníaco acuoso de 10 una concentración que variaba gradualmente desde 0,05N a 0,5N obteniéndose 19 mg de des-O-metil-KA-6606 VI. Las propiedades del producto eran idénticas a las del des-O-metil-KA-6606 VI obtenido en el Ejemplo 6.

15

Ejemplo 9

1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4-N-benciloxicarbonilglicil-des-O-metil-KA-6606 VI:-

20 Se disolvió en 0,8 ml de metanol des-O-metil-KA-6606 VI (19 mg), y se añadieron 90 mg de p-nitrofenilcarbonato de bencilo. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se añadió 0,1 ml de una solución etanólica de metilamina al 30%, y la mezcla se agitó después durante 1 hora más. Después, 25 la mezcla de reacción se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en cloroformo, se lavó con agua, y se secó. El producto se disolvió en 1 ml de dioxano, y se añadieron 0,05 ml de trietilamina y 35 mg de N-hidroxisuccinimidil-N-benciloxicarbonil-glicina, y la mezcla se calentó a 30 80°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se concentró

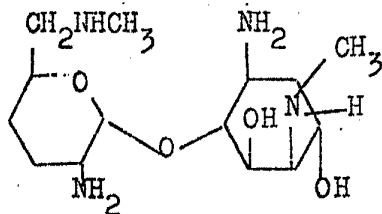
1 a sequedad. El residuo se disolvió en cloroformo, y la  
 materia insoluble se separó por filtración. La capa cloro-  
 fórmica se lavó con agua y se secó, seguido por destila-  
 ción del disolvente. El residuo se separó y se purificó me-  
 5 diante cromatografía preparativa en gel de sílice (cloro-  
 formo/metanol en una proporción de 15:1) obteniéndose 23  
 mg de 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4-N-benciloxicarbo-  
 nilglicil-des-O-metil-KA-6606 VI en forma de un sólido in-  
 coloro. Las propiedades del producto eran idénticas a las  
 10 del compuesto obtenido en el Ejemplo 7, (a).

### Ejemplo 10

Des-O-metil-KA-7038 III:-

15 KA-7038 III al estado de base libre (302 mg)  
 se hizo reaccionar del mismo modo que en el Ejemplo 6. Al  
 purificar se obtuvieron 220 mg de des-O-metil-KA-7038 III  
 en forma de un polvo incoloro que tiene la fórmula siguien-  
 te.

20



25

Análisis elemental para  $C_{14}H_{30}N_4O_4 \cdot H_2O$

Calculado (%): C 49,98; H, 9,59; N, 16,65

Encontrado (%): C, 49,71; H, 9,73; N, 16,33

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 40^\circ$  (c 0,5,  $H_2O$ )

30

1

RMN:  $\delta$  D<sub>2</sub>O ppm2,80 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)2,84 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

5,53 (1H, d, J=3,3 Hz, H anómero)

5

Ejemplo 11

(a) Tetraquis-N-benciloxycarbonil-des-O-metil-KA-7038 I:-

10

Se hizo reaccionar des-O-metil-KA-7038 III (190 mg) del mismo modo que en el Ejemplo. 7,(a). Al purificar se obtuvo 350 mg de 1,2',6'-tris-N-benciloxycarbonil-4-N-benciloxycarbonilglicil-des-O-metil-KA-7038 III, es decir, tetraquis-N-benciloxycarbonil-des-O-metil-KA-7038 I, en forma de un sólido incoloro.

15

Análisis elemental para C<sub>48</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub>

Calculado (%): C, 63,22; H, 6,30; N, 7,68

Encontrado (%): C, 63,01; H, 6,49; N, 7,42

Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 55^\circ$  (c 1, CHCl<sub>3</sub>)RMN:  $\delta$  CDCl<sub>3</sub> ppm2,92 (6H, s, 2xN-CH<sub>3</sub>)

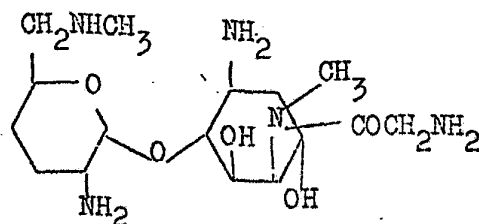
20

(b) Des-O-metil-KA-7038 I:-

25

Se trató tetraquis-N-benciloxycarbonil-des-O-metil-KA-7038 I (320 mg) del mismo modo que en el Ejemplo.), (b), obteniéndose 112 mg de des-O-metil-KA-7038 I en forma de un sólido incoloro que tiene la siguiente fórmula.

30



1                   Análisis elemental para  $C_{16}H_{33}N_5O_5 \cdot H_2O$   
 Calculado (%): C, 48,84; H, 8,97; N, 17,80  
 Encontrado (%): C, 48,54; H, 8,69; N, 17,98  
 Rotación específica:  $[\alpha]_D^{25} + 126^\circ$  (C 1, H<sub>2</sub>O)

5                   RMN:  $\delta$  D<sub>2</sub>O ppm  
                   2,83 (3H, s, 6' -N-CH<sub>3</sub>)  
                   3,63 (3H, s, 4-N-CH<sub>3</sub>)  
                   5,42 (1H, d, J=3 Hz, H anómero)

10                  Ejemplo 12

(a) 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4-N- $\gamma$ (S)-4-benciloxi  
 carbonilamino-2-hidroxibutilil-5-des-O-metil-KA-6606 II:-

15                   138 mg de 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-  
 -5-des-metil-KA-6606 II(1) se disolvió en 4 ml de dioxano,  
 y se añadieron 130 mg de éster de N-hidroxisuccinimida del  
 ácido (S)-4-N-benciloxicarbonilamino-2-hidroxibutírico y  
 0,1 ml de trietilamina. La mezcla se calentó a 55°C durante  
 3 horas. La mezcla de reacción se concentró a sequedad. El  
 residuo se disolvió en 20 ml de cloroformo, se lavó con agua  
 20                   y se secó, y después se destiló el disolvente. El residuo  
 se eluyó con cloroformo-metanol (30:1) mediante cromatogra  
 fía de columna de gel de sílice, y se terminó del modo ha-  
 bitual, obteniéndose 160 mg del producto deseado en forma  
 de un sólido incoloro.

25                   RMN:  $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, ppm  
                   3,04 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)  
                   1,03 (3H, d, J=7,0 Hz, C-CH<sub>3</sub>)  
 IR:  $\nu$  1625 cm<sup>-1</sup> (amida I)

30                   Análisis elemental para  $C_{50}H_{61}N_5O_{14}$   
 Calculado (%): C, 62,81; H, 6,43; N, 7,32

1

Encontrado (%): C, 62,55; H, 6,19; N, 7,48

(b) 1,2',6'-tris-N-benciloxicarbonil-4-N- $\gamma$ (S)-4-benciloxi  
carbonilamino-2-hidroxi**butil** $\gamma$ -5-des-O-metil-KA-6606 II:-

5

160 mg del producto obtenido en (a) anterior,  
se disolvieron en 3,2 ml de solución 1M de diborano-tetra  
hidrofurano, y se hizo reaccionar a temperatura ambiente  
durante 2 horas en una corriente de nitrógeno. Se añadió

10

agua (0,2 ml) a la mezcla de reacción, y la mezcla se con-  
centró a sequedad. El residuo se disolvió en 3 ml de solu-  
ción metanólica 0,2N de HCl, y la solución se dejó en re-  
poso durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de  
reacción se concentró a sequedad. El residuo se disolvió

15

en 15 ml de cloroformo, se lavó con una solución acuosa sa-  
turada de bicarbonato de sodio y después con agua, y se  
secó. Se destiló el disolvente. El residuo se eluyó con clo-  
roformo-metanol (20:1) mediante cromatografía de columna  
de gel de sílice, y se concluyó del modo habitual, obte-  
niéndose 85 mg del producto deseado, en forma de un sólido  
incoloro.

20

RMN:  $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, ppm

2,40 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

1,03 (3H, d, J=7,0 Hz, C-CH<sub>3</sub>)

IR: La absorción a 1625 cm<sup>-1</sup> había desapareci-  
do.

25

Análisis elemental para C<sub>50</sub>H<sub>63</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub>

Calculado (%): C, 63,75; H, 6,74; N, 7,43

Encontrado (%): C, 63,88; H, 6,48; N, 7,31

(c) 4-N- $\gamma$ (S)-4-amino-2-hidroxi**butil** $\gamma$ -5-des-O-metil-KA-  
-6606 II:-

30

80 mg del producto obtenido en (b) anterior se

1 disolvieron en 2 ml de ácido acético, y se añadieron 20 mg  
de paladio sobre carbón al 5%. Se redujo catalíticamente a  
temperatura ambiente. Se filtró la mezcla de reacción, y  
5 el filtrado se diluyó con 300 ml de agua, seguido de neu-  
tralización con amoníaco acuoso. La mezcla se cargó des-  
pués en una columna de CM-Sephadex C-25 (forma  $\text{NH}_4^+$ ) y se  
desarrolló mediante un método de gradiente con amoníaco  
acuoso que variaba gradualmente de concentración desde  
0,25 N a 0,60 N. Se recogieron las fracciones que conte-  
10 nían el producto deseado y se liofilizó, obteniéndose 21  
mg del producto deseado en forma de un polvo incoloro.

RMN  $\delta$   $\text{D}_2\text{O}$ , ppm

1,60 (3H, d,  $J=7,0$  Hz, C- $\underline{\text{CH}_3}$ )

3,00 (3H, s, N- $\underline{\text{CH}_3}$ )

15

5,46 (1H, d,  $J=3,5$  Hz, H anómero)

Análisis elemental para  $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Calculado (%): C, 51,04; H, 9,76; N, 16,54

Encontrado (%): C, 50,87; H, 9,92; N, 16,40

20

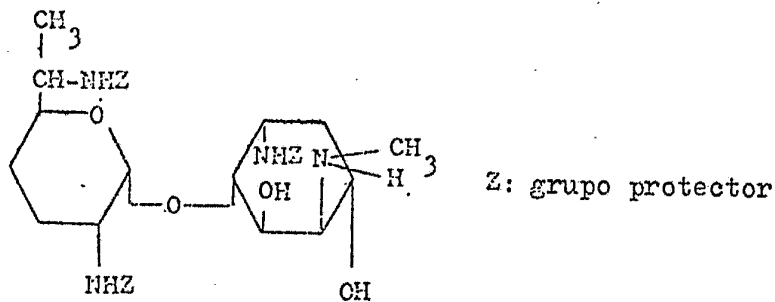
25

30

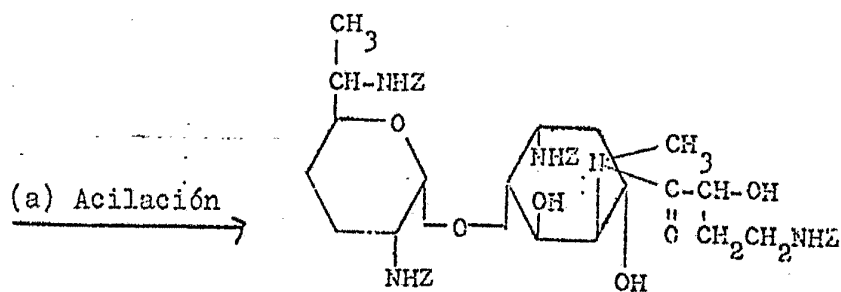
05020

1

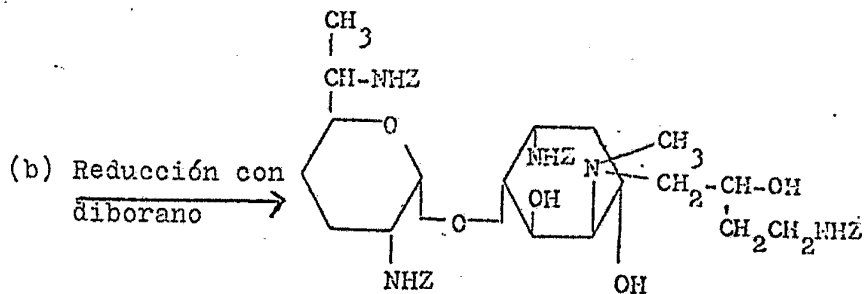
5



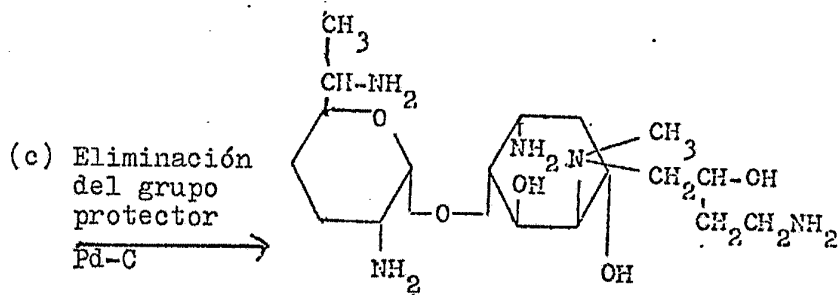
10



15



20



25

Ejemplo 13

(a) 1,2',6'-tris-N-benciloxycarbonil-4-N-(2-benciloxycarbonylaminoetil)-5-des-O-metil-KA-6606 II:-

500 mg del tetraquis-N-benciloxycarbonil-5-

30

05020

1 -des-O-metil-KA-6606 I obtenido en el Ejemplo 2, (a) se  
trataron del mismo modo del Ejemplo 12, (b) obteniéndose  
220 mg del producto deseado.

RMN:  $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, ppm

5 1,03 (3H, d, J=7,0 Hz, C-CH<sub>3</sub>)

2,43 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

Análisis elemental para C<sub>48</sub>H<sub>59</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>

Calculado (%): C, 64,20; H, 6,62; N, 7,80

Encontrado (%): C, 64,13; H, 6,73; N, 7,61.

10 (b) 4-N-(2-aminoetil)-5-des-O-metil-KA-6606 II:-

Se trataron 240 mg del producto obtenido en  
(a) anterior del mismo modo que en el ejemplo 12 (c) obte-  
niéndose 62 mg del producto deseado.

RMN:  $\delta$  D<sub>2</sub>O, ppm

15 1,53 (3H, d, J=7,0 Hz, C-CH<sub>3</sub>)

2,96 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>)

5,44 (1H, d, J=3,5 Hz, H anómero)

Análisis elemental para C<sub>16</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O

Calculado (%): C, 50,64; H, 9,83; N, 18,45

20 Encontrado (%): C, 50,29; H, 9,71; N, 18,18.

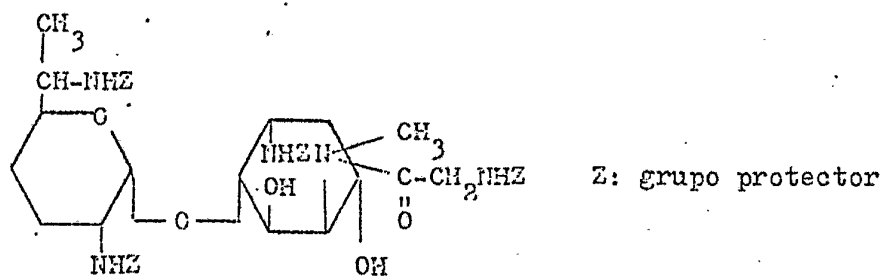
25

30

05020

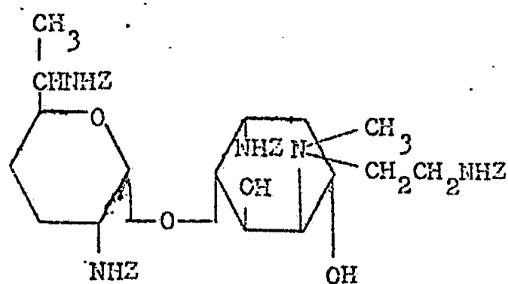
1

5



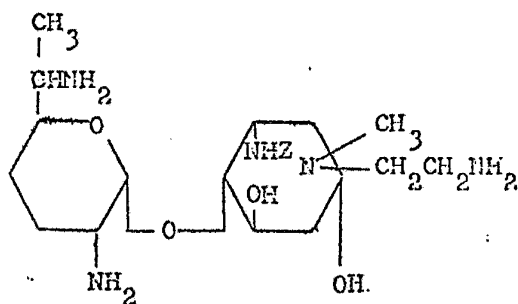
10

(a) Reducción con  
diborano



15

(b) Eliminación del  
grupo protector  
Pd-C



20

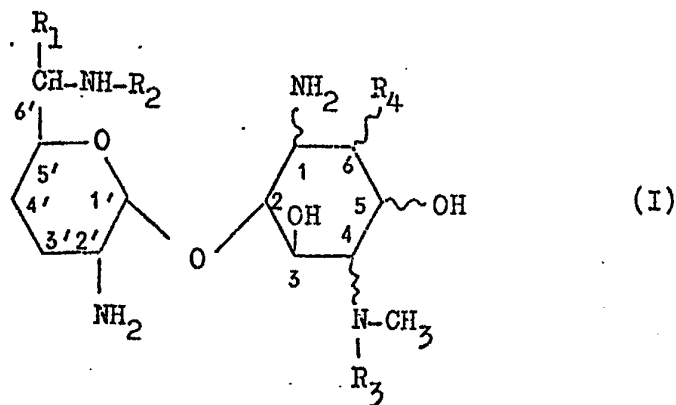
25

30

REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

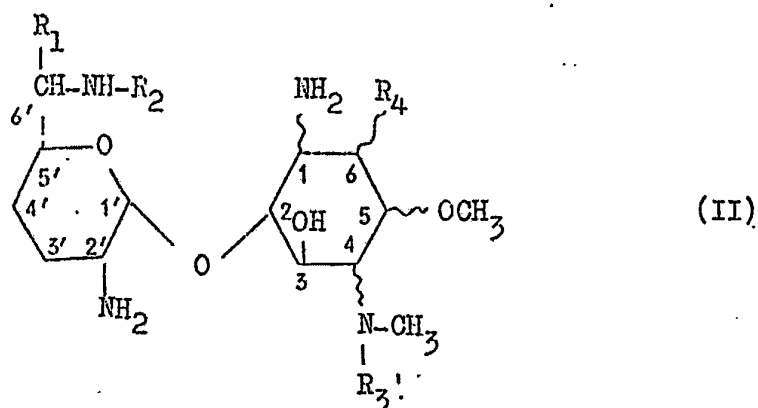
1ª.- Un procedimiento para preparar aminoglicósidos de la fórmula



en donde  $R_1$  y  $R_2$  son idénticos o diferentes, y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,  $R_3$  representa un átomo de hidrógeno, o un grupo aminoacilo de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo, estando dicho grupo aminoacilo substituído facultativamente, o un grupo alcohilo substituído que tiene 2 a 4 átomos de carbono, y  $R_4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo, o una de sus sales de adición de ácido, que comprende tratar un compuesto de la fórmula siguiente

1

5



10

15

20

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_4$  son como se ha definido anteriormente, y  $R'_3$  representa un resto seleccionado entre el grupo que consta de un átomo de hidrógeno,  $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{COCH}_2\text{NHCONH}_2$  y  $-\text{COCH}_2\text{NHCHO}$ , con un ácido fuerte, y cuando se obtiene un compuesto de fórmula (I) en donde  $R_3$  es un átomo de hidrógeno, proteger los grupos amino en las posiciones 1 y 2', o el grupo amino o metilamino en la posición 6' del compuesto resultante, acilarle después con un aminoácido sustituido facultativamente que tiene de 2 a 4 átomos de carbono en el resto de acilo y un grupo amino protegido o uno de sus derivados reactivos, después reducir o no reducir el producto acilado, y después retirar el grupo protector y, si se desea, convertir el producto en una sal de adición de ácido.

25

2ª.- Un procedimiento según la reivindicación 1ª, en donde el sustituyente del grupo aminoacilo en el compuesto de fórmula (I) es un grupo hidroxilo, formilo o carbamoilo.

3ª.- Un procedimiento para preparar aminoglicósidos.

30

Tal y como se ha descrito en la Memoria que

1 antecede y con los fines que se han especificado.

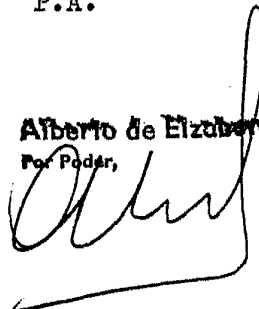
Esta Memoria consta de cincuenta hojas escritas a máquina por una sola cara

Madrid, 21.FEB.1980

5

P.A.

Alberto de Elizabere  
Por Poder,



10

15

20

25

30

05020

MTG