

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

10 ES	11 12	NUMERO 485830	10 AI
22 FECHA DE PRESENTACION			

El presente Registro de acuerdo con lo establecido en el artículo 17 de la Ley de Patentes de 1984 y en el artículo 17 de la Ley de Patentes de 1984, se publica en el presente Boletín de Patentes de acuerdo con lo establecido en el artículo 17 de la Ley de Patentes de 1984.

PATENTE DE INVENCION

60 PRIORIDADES: 61 NUMERO			62 FECHA			63 PAIS		
138402/78 73064/79			11- Noviembre -1978 12- Junio -1979			Japón Japón		
47 FECHA DE PUBLICIDAD		51 CLASIFICACION INTERNACIONAL			64 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA			
		C07H 17/04, A61K 31/70						
54 TITULO DE LA INVENCION								
PROCESO PARA LA PRODUCCION DE UN DERIVADO SELECTIVAMENTE ACILADO N-PROTEGIDO, DE UN ANTIBIOTICO AMINOGLICOSIDICO.								
71 SOLICITANTE (S)								
La Sociedad Japonesa: ZAIJAN HOJIN HISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE								
14-23, Kami Osaki 3-chome Shinagawa-ku - TOKYO (Japón)								
72 INVENTOR (ES)								
(todos japoneses) 1.- Hambo UMEZAWA 4.- Yasushi TAKAGI 2.- Sumio UMEZAWA 5.- Tomo JIKIHARA 3.- Teitomu TSUCHIYA								
73 TITULAR (ES)								
74 REPRESENTANTE								
D. FRANCISCO GARCIA CABRERIZO Ref.: O.G. 35.986/PP								

CAMPO DE LA INVENCION

- Esta invención se refiere a ciertos nuevos procesos para la producción de un derivado N-acilado, selectivamente protegido, de un antibiótico aminoglicosídico en el --
5. que algunos grupos amino o alquilamino en determinadas posiciones de la molécula de aminoglicósido han sido protegidos selectivamente o bloqueados con un grupo acilo. Esta invención se refiere pues a nuevos procesos para proteger selectivamente algunos grupos amino o alquilamino en posiciones determinadas del antibiótico aminoglicosídico. Esta invención encuentra sus principales usos en la producción de un derivado N-acilado, selectivamente protegido, del antibiótico aminoglicosídico que comprende una mitad de desoxiestreptamina que --
10. tiene un grupo 3"-aminoglicosilo enlazado con el grupo 6-hidroxilo de la mitad de desoxiestreptamina en la molécula de aminoglicósido. El antibiótico aminoglicosídico al que es -- aplicable esta invención puede ser definido más específicamente como un antibiótico aminoglicosídico consistente en --
15. una 6-O-(3"-amino ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina que puede tener opcionalmente un sustituyente de 4-O-(6'-aminoglicosilo), y son ejemplos típicos las kanamicinas, gentamicinas, sisomicina, netilmicina y verdamicina. Esta invención incluye también una aplicación de estos --
20. nuevos procesos en la producción de antibióticos 1-N-(α -hidroxi-W-aminoalcanoil)-amino-glicosídicos que son conocidos como unos útiles agentes antibacterianos, semisintéticos, activos contra las bacterias resistentes a las drogas.

TECNICA ANTERIOR

- Los antibióticos aminoglicosídicos tales como la --
30. kanamicina son la sustancia que contiene varias funciones --

- amino y funciones hidroxilo que tienen grados de reactividad relativamente altos y variados. Se ha sintetizado muchas clases de antibióticos aminoglicosídicos semisintéticos derivados de los antibióticos aminoglicosídicos de origen. En la
5. semi-síntesis de estos derivados, es a menudo necesario o -- preferible asegurar que algunos grupos amino y/o algunos grupos hidroxilo del antibiótico aminoglicosídico de partida -- hayan sido protegidos selectivamente o bloqueados con uno o más grupos protectores apropiados.
10. Para la protección selectiva de los grupos amino - y/o grupos hidroxilo en el antibiótico aminoglicosídico, se han desarrollado varios métodos con éxito que son disponibles en lo que atañe a la protección selectiva del grupo hidroxilo. Sin embargo, para la protección selectiva de algunos grupos
15. amino en particular entre los muchos grupos amino existentes del antibiótico aminoglicosídico, los métodos de que se dispone actualmente para este fin son difíciles de poner en práctica o bien precisan algunas operaciones complicadas. Esto es debido a que todos los grupos amino del antibiótico
20. aminoglicosídico no presentan gran diferencia en su reactividad. Como ejemplo demostrativo puede citarse el grupo 6^aamino de la kanamicina A, no obstante, tal grupo amino o metilamino que está ligado con un cierto átomo de carbono que está enlazado, a su vez, con un solo átomo de carbono en la molé-
25. cula de aminoglicósido presenta una mayor reactividad que la del grupo amino o metilamino que está ligado con un cierto - átomo de carbono que está enlazado con dos o más átomos de - carbono en esta molécula de aminoglicósido. Por esta razón, el tipo anterior de grupo amino o metilamino es capaz de reac-
30. cionar de manera mucho más preferencial con un reactivo de -

- acilación que tenga un grupo acilo a introducir como grupo amino-protector, en comparación con el último tipo de grupo amino o metilamino, por lo que el derivado N-prottegido que tiene el tipo anterior de grupo amino o metilamino bloqueado preferencialmente con el grupo acilo puede ser producido con un rendimiento superior que los derivados N-prottegidos de otro modo. Hace algunos años, algunos de los presentes inventores descubrieron que un grupo amino y un grupo hidroxilo están próximos entre sí en un par en la configuración estérica de la molécula del antibiótico aminoglicosídico, estos grupos amino e hidroxilo pueden combinarse selectivamente entre sí bajo la forma de un carbamato cíclico por tratamiento con hidruro sódico, por lo que el par de grupos amino e hidroxilo puede ser bloqueado simultáneamente en el carbamato cíclico sin bloquear los otros grupos amino presentes en la misma molécula (véase el "Journal of Antibiotics", 25, Nº 12, 741-742 (1972); patentes estadounidenses núms. 3.925.354 y 3.965.089).

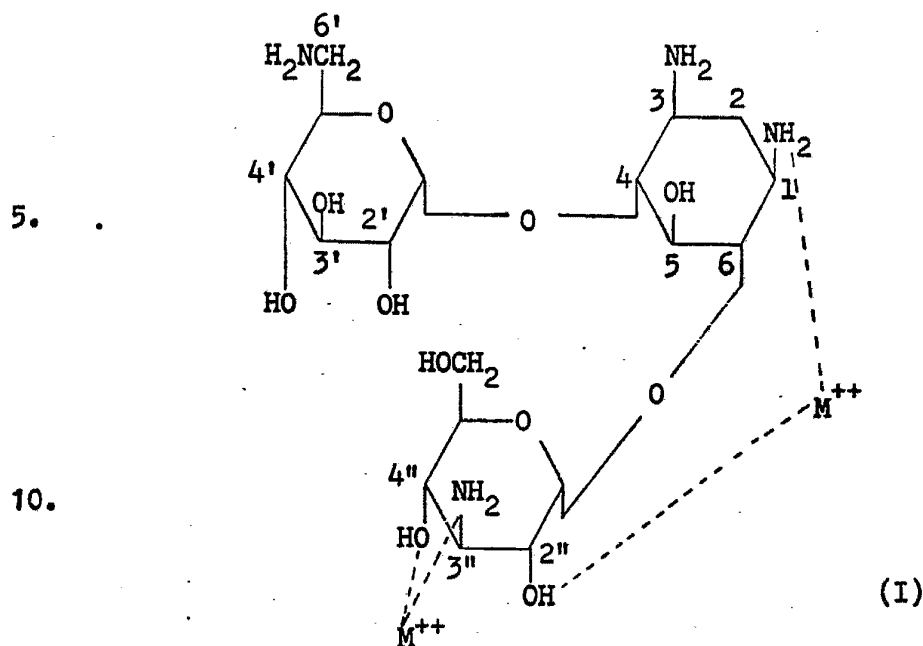
- En un año reciente, Nagabhushan y otros han descubierto que cuando se hace reaccionar a una sal de un metal de transición divalente (M^{++}) seleccionado del grupo consistente en cobre (II), níquel (II), cobalto (II) y cadmio (II) en un disolvente orgánico inerte con un antibiótico aminoglicosídico que pertenezca a la clase de las 4-O-(aminoglicosil)-6-O-(aminoglicosil)-2-desoxiestreptaminas representadas por las kanamicinas, gentamicinas y sisomicina, este catión de metal de transición divalente es acomplejado con un par de grupos amino e hidroxilo que existen en las posiciones determinadas de relación "vecinal" en la molécula de aminoglicosido, con lo que se forma el complejo de catión metálico de

- transición-antibiótico aminoglicosídico (véase la Pre-publicación de la solicitud de patente japonesa Sho-52-153944 y la solicitud de patente estadounidense SN. 697.297 ahora concedida bajo la patente estadounidense nº 4.136.254 publicada el 23 de Enero de 1979). En este complejo de catión metálico de transición-antibiótico aminoglicosídico, el grupo amino-acomplejado está siendo bloqueado con el catión de metal de transición divalente. Cuando se hace reaccionar posteriormente a este complejo con un reactivo de acilación que tiene un grupo acilo, únicamente los grupos amino no-acomplejados -- del complejo metálico que no están bloqueados por el catión de metal divalente pueden ser acilados principalmente, con lo que se consigue la N-protección selectiva con el grupo -- acilo. Esto es ilustrado más adelante con referencia a la ka namicina A como ejemplo. Así, cuando se hace reaccionar a un catión de metal de transición divalente (M^{++}) elegido entre los cationes de cobre (II), níquel (II), cobalto (II) y cadmio (II) con la kanamicina A, se produce la reacción de formación de complejos del catión de metal divalente (M^{++}) entre el grupo 1-amino y el grupo 2"-hidroxi y entre el grupo 3"-amino y el grupo 4"-hidroxilo de la molécula de kanamicina A, mostrada por la fórmula (I) que sigue.

25.

30.

.../... (Continúa en fórmula I).



Por consiguiente, en la reacción de formación de -

15. complejos que precede, se ve que se precisa al menos 2 moles de la sal de metal de transición por 1 mol de kanamicina A. En el complejo metálico resultante, los grupos 1-amino y - - 3''-amino son bloqueados al mismo tiempo. Cuando se trata este complejo de la fórmula (I) con un reactivo de acilación -

20. que tenga un grupo acilo que sea disponible como un grupo -- amino-protector conocido en la síntesis convencional de los polipéptidos, los grupos 3-amino y 6'-amino no acomplejados solamente son acilados principalmente para dar el derivado -

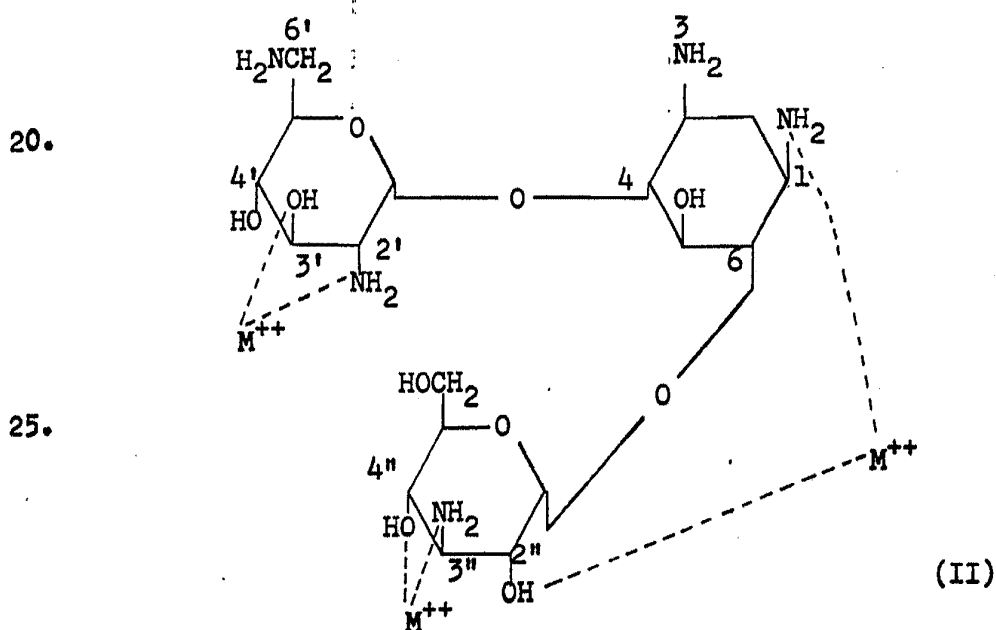
25. 3,6'-di-N-acilado (véase el "Journal of American Chemical Society" 100, 5253-5254 (1978)).

Hemos reconocido el hecho antes citado tal como es relatado, pero hemos hecho además investigaciones propias sobre la interacción de otros diversos cationes metálicos con

30. kanamicina B así como derivados semisintéticos de los anti--

bióticos aminoglicosídicos. Como resultado hemos descubierto ahora que aunque el catión de zinc divalente tiene comportamientos notablemente diferentes de los de los cationes de níquel, cobalto, cobre y cadmio divalente antes citados, el catión de zinc es finalmente capaz de acomplejar fuertemente y bloquear tanto el grupo 1-amino (ó 1-alquilamino) como el grupo 3"-amino (ó 3"-alquilamino) de un compuesto de aminoglicósido (tal como la kanamicina A, B ó C) que comprende una mitad de desoxiestreptamina que tiene un grupo 3"-amino-glicosilo ó 3"-alquilaminoglicosilo enlazada con el grupo 6-hidroxilo de dicha mitad de desoxiestreptamina.

De acuerdo con Nagabhusban y otros, podría esperarse que cuando se hace reaccionar al catión de níquel, cobalto, cobre o cadmio divalente con la kanamicina B, por ejemplo, se formase un complejo de sal metálica-kanamicina B de la siguiente fórmula (II):



- Esta esperanza es sostenida por la descripción hecha por Nagabhushan y otros en la mencionada publicación -- "Journal of American Chemical Society" de acuerdo con la -- cual los pares de grupos vecinales amino-hidroxilo deberían
5. formar complejos reversibles con los cationes de metal de -- transición divalente, en vista del hecho de que la kanamicina B contiene tres pares de grupos amino-hidroxilo vecinales entre las posiciones 1 y 2", entre las posiciones 2' y 3' y entre las posiciones 2" y 3" de la molécula de kanamicina B.
 10. No obstante, se ha descubierto ahora que cuando se hace reaccionar a la kanamicina B con un catión de metal divalente, -- catión de zinc, el complejo de sal de zinc-kanamicina B formado realmente contiene grupos 2'-amino y 3'-hidroxilo libres que no están bloqueados por el catión de zinc, al contrario
 15. que la propuesta de Nagabhushan. Incluso si se produce la -- reacción de formación de complejos del catión de zinc con el grupo 2'-amino y 3'-hidroxilo, la fuerza de la reacción formadora de complejos es muy baja, por lo que en realidad prácticamente no son bloqueados los grupos 2'-amino y 3'-hidroxilo.
 20. lo. Por consiguiente, cuando se acila posteriormente el complejo de catión de zinc-kanamicina B por reacción, por ejemplo con N-benciloxicarboniloxisuccinimido, para introducir -- el grupo benciloxicarbonilo como el grupo acilo amino-protector, se produce el derivado tri-3,2',6'-N-acilado en el que
 25. han sido acilados tres grupos 3-, 2'- y 6'-amino, en realidad, en un mayor rendimiento que los derivados N-acilados de otro modo, pero entonces no puede obtenerse realmente el derivado 3,6'-di-N-acilado (remitirse al Ejemplo 19 facilitado más adelante). Este hecho experimental sugiere que el catión
 30. de zinc muestra un comportamiento diferente de los de los ca

tiones de los cuatro metales de transición particularmente ya que el catión de zinc no forma complejos con el par de grupos 2'-amino y 3'-hidroxilo vecinales.

- Como ejemplo adicional, cuando se hace reaccionar
5. a la kanamicina A con el catión de zinc seguido de la acilación con el grupo benciloxicarbonilo (remitirse a la fórmula (I) que precede), se observa el hecho de que se forma 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A como producto de acilación principal en caso de proporcionar el catión de zinc justamen-
 10. te en una cantidad que supere ligeramente 1 mol por mol de kanamicina A. En este caso, debe observarse que esta reacción de acilación da lugar a la formación del derivado 1,3,6',3"-tetra-N-benciloxicarbonilo de la kanamicina A y a la forma-
 15. ción de kanamicina A inicial, no acilada, simultáneamente en cierto grado, pero realmente produce la formación del deriva-
 - do tri-N-benciloxicarbonilo de la kanamicina A sólo con un bajo rendimiento, a pesar de que la elucidación de Naga-
 20. bhushan y otros del mecanismo de reacción podría hacer esperar que pudiera formarse el derivado tri-N-benciloxicarboni-
 - lo con un rendimiento más elevado que los otros derivados --
 - N-acilados (remitirse al Ejemplo 7 facilitado más adelante). En la descripción y particularmente en la 4ª reivindicación
 - de la patente estadounidense nº 4.136.254, Nagabhushan y otros
 - han indicado al efecto que es necesario emplear una sal de --
 25. un metal de transición divalente tal como el cobre (II), níquel (II), cobalto (II), etc., en una cantidad total de por
 - lo menos 2 moles por mol de kanamicina A para la formación -
 - del complejo de sal de metal de transición-kanamicina A, según se verá por la fórmula (I) facilitada anteriormente. Nue-
 30. tro experimento ha revelado que, en contraste con los cuatro

- cationes de metal de transición, el catión de zinc es capaz de lograr el efecto de bloqueo del grupo 1-amino y 3"-amino de la kanamicina A cuando se emplea el catión de zinc en una cantidad total de por lo menos 1 mol por mol de kanamicina -
5. A. De acuerdo con nuestro ensayo, se ha descubierto que cuando se hace reaccionar a la sal de zinc en una cantidad que - rebase ligeramente 1 mol por 1 mol de kanamicina A seguido - de la acilación del complejo de sal de níquel-kanamicina A - resultante con el grupo benciloxicarbonilo, se obtiene sólo-
10. mente en un rendimiento muy bajo 3,6'-di-N-benciloxicarbonil kanamicina A que podría obtenerse con un rendimiento impor-- tante cuando se acila el complejo de sal de zinc-kanamicina A (véase el Ejemplo 7/facilitado más adelante). A la vista de los hechos mencionados anteriormente, se concluye que el ca-
15. tión de zinc (II) muestra un mecanismo de formación de com-- plejos con un aminoglicósido que es diferente del mecanismo formador de complejos del catión de níquel (II), cobalto (II), cobre (II) y cadmio (II), y que el complejo de catión de zinc-aminoglicósido tiene una estabilidad de formación de comple-
20. jos que es diferente de la del complejo del aminoglicósido - con el catión de níquel (II), cobalto (II), cobre (II) ó -- cadmio (II). Para acomplejar el catión de zinc con el anti-- biótico aminoglicosídico, el catión de zinc puede suministrarse bajo la forma de una sal de zinc que es ventajosamente po-
25. co costosa y poco probable de constituir una fuente de conta minación para el medio ambiente.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

- En consecuencia, nosotros, los presentes invento-- res, hemos descubierto que cuando se hace reaccionar al ca--
30. tión de zinc en un disolvente orgánico inerte con un antibió

- tico aminoglicosídico que contenga una mitad de desoxiestreptamina que tenga un grupo 3-aminoglicosilo ó 3-alkilamino--glicosilo enlazado con el grupo 6-hidroxilo de la mitad de de soxiestreptamina y teniendo posiblemente un grupo aminoglico
5. silo enlazado con el grupo 4-hidroxilo de la mitad de deso--xiestreptamina, el catión de zinc es acomplejado y bloqueado con pares amino-hidroxilo situados en determinadas posicio--nes que pueden variar dependiendo de la naturaleza del anti--biótico aminoglicosídico; y que cuando se hace reaccionar al
10. complejo de catión de zinc-antibiótico aminoglicosídico así formado con un reactivo de acilación que tenga un grupo acilo, que es usado convencionalmente para la introducción de - un grupo amino-protector en la síntesis de los polipéptidos, este reactivo de acilación acila al menos uno de tales gru--
15. pos amino en el antibiótico aminoglicosídico que no son acomplejados con el mismo y por tanto no bloqueados por el catión de zinc, por lo que el grupo amino así acilado queda protegi--do; y también que cuando se trata el producto de acilación - resultante (es decir el complejo de catión de zinc-antibióti--
20. co aminoglisídico que tiene uno o más grupos amino acilados) con un reactivo apropiado que retire el catión de zinc de dicho producto de acilación, se destruye el complejo de - zinc, dando un derivado N-acilado, selectivamente protegido, del antibiótico aminoglicosídico cuyo grupo o grupos amino -
25. no acomplejados inicialmente de zinc han sido protegidos selectivamente con el grupo acilo.

De acuerdo con un primer aspecto de esta invención, se proporciona, por consiguiente, un proceso para la producción de un derivado N-prottegido, selectivamente acilado, de

30. un antibiótico aminoglicosídico, comprendiendo este antibió-

tico aminoglicosídico una mitad de desoxiestreptamina que --
 tiene un grupo 3-aminoglicosilo ó 3-alquilaminoglicosilo en-
 lazado con el grupo 6-hidroxilo de la mitad de desoxiestrep-
 tamina, y teniendo el derivado N-protegido, selectivamente -
 5. acilado, alguno de sus grupos selectivamente protegido con --
 un grupo acilo, que comprende los pasos consistentes en:

(a) hacer reaccionar a un reactivo de acilación --
 que tiene un grupo acilo a introducir como grupo amino-pro--
 tector, con un complejo de catión de zinc-antibiótico amino-
 10. glicosídico que haya sido formado por reacción del antibióti-
 co aminoglicosídico con una sal de zinc en un disolvente or-
 gánico inerte, para producir un complejo de cationes de zinc
 con el derivado N-acilado selectivamente del antibiótico ami-
 noglicosídico que tenga acilados los grupos amino inicialmen-
 15. te no acomplexados.

(b) y hacer reaccionar al complejo de cationes de
 zinc con el derivado N-acilado selectivamente del antibióti-
 co aminoglicosídico, con un reactivo que retire los cationes
 de zinc de dicho complejo, para producir el derivado N-prote-
 20. gido, selectivamente acilado, deseado del antibiótico amino-
 glicosídico.

El proceso de acuerdo con este primer aspecto de --
 la invención es útil para preparar tal derivado N-protegido,
 selectivamente acilado, de un antibiótico aminoglicosídico --
 25. acilando algunos de los grupos amino que no sean los grupos
 1- y 3"-amino del antibiótico aminoglicosídico de partida, y
 tal derivado N-protegido selectivamente es útil en la sínte-
 sis química de los derivados 1-N-aminoacilados de los anti-
 bióticos aminoglicosídicos tales como las kanamicinas, inclui-
 30. da la amikacina ("Journal of Antibiotics" 25, 695-708 (1972))

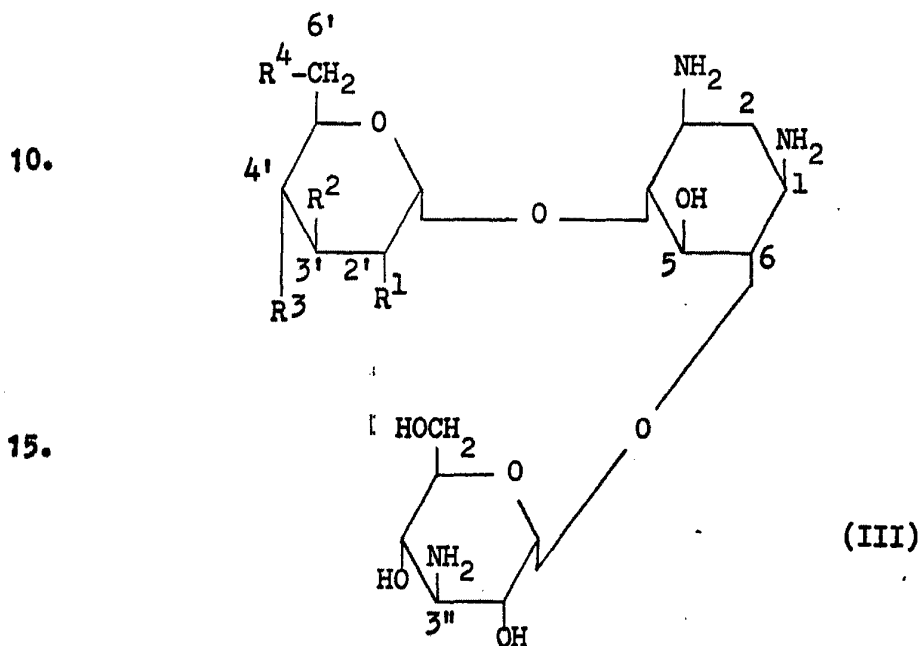
- que ha demostrado ser en los últimos años una eficaz droga antibacteriana. Estos derivados 1-N-aminoacilados de los antibióticos aminoglicosídicos incluyen los derivados de una extensa gama de aminoglicósidos tales como la kanamicina A,
5. kanamicina B, kanamicina C, gentamicinas, sisomicina y otros así como varios desoxi-derivados de los mismos, pero todos ellos son comunes por el hecho de que su grupo 1-amino es acilado con un grupo α -hidroxi- ω -aminoalcanoilo (véase las patentes estadounidenses Nos 3.781.268, 3.939.143, 3.940.382
10. y 4.001.208). Mediante esta 1-N-aminoacilación, se da a los antibióticos aminoglicosídicos una actividad antibacteriana contra tales bacterias resistentes para las que no son activos los antibióticos aminoglicosídicos de partida, y también se da a los antibióticos aminoglicosídicos una actividad antibacteriana mejorada contra una más amplia variedad de ce-
15. pas de bacterias, en comparación con los antibióticos aminoglicosídicos de partida.

- Vamos a describir seguidamente de una forma más completa el modo de llevar a la práctica el proceso del primer aspecto de la invención.
- 20.

- El antibiótico aminoglicosídico que ha de reaccionar con el catión de zinc para formar el complejo de zinc (que puede llamarse también sal compleja de zinc) de acuerdo con esta invención incluye: los antibióticos aminoglicosídicos que comprenden una mitad de desoxiestreptamina cuyo grupo 6-hidroxilo está sustituido por un grupo 3-aminoglicosilo ó 3-alkilamino-glicosilo y cuyo grupo 4-hidroxilo puede ser sustituido ocasionalmente por un grupo aminoglicosilo. Más particularmente, el antibiótico aminoglicosídico disponible
- 25.
30. en esta invención para la formación del complejo de catión

- de zinc puede ser definido como aquel que comprende 6-O-(3"-amino- ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina teniendo opcionalmente un grupo 4-O-(amino-glicosilo). Igualmente, el antibiótico aminoglicosídico puede ser un - -
5. 1-N-alquilaminoglicósido, como la netilmicina. Como ejemplos de los antibióticos aminoglicosídicos de la clase disponible en esta invención, puede citarse los antibióticos del grupo de la kanamicina A incluyendo la misma kanamicina A, 6'-N-alquilkanamicina A, particularmente la 6'-N-metilkanamicina A,
 10. 3'-desoxikanamicina A, 6'-N-metil-3'-desoxikanamicina A, 4'-desoxikanamicina A, 6'-N-metil-4'-desoxikanamicina A, 3',4'-didesoxikanamicina A (véase la solicitud de patente japonesa nº 11402/79) y 6"-desoxi- ó 4",6"-didesoxikanamicina A (véase la solicitud de patente japonesa nº 54.733/79); antibióti
 15. cos del grupo de la kanamicina B incluyendo la misma kanamicina B, 3'-desoxikanamicina B (es decir la tobramicina), 4'-desoxikanamicina B, 3',4'-didesoxikanamicina B (es decir dibekacina), 3',4'-didesoxi-3'-eno-kanamicina B, 6'-N-metil-3',4'-didesoxi-kanamicina B; antibióticos del grupo de la ka
 20. namicina C incluyendo la misma kanamicina C, 3'-desoxikanamicina C, 3',4'-didesoxikanamicina C; gentamicinas A, B y C; -verdamicina; sisomicina y netilmicina (es decir, 1-N-etilsisomicina) así como los otros aminoglicósidos conocidos. Natu
 25. ralmente, el proceso del primer aspecto de la invención es aplicable no sólo a cualquier nuevo antibiótico amino--glicosídico que no sea conocido hasta la presente y sea descubierto en el futuro, sino también a los nuevos derivados - de antibióticos aminoglicosídicos semi-sintéticos que sean - producidos en el futuro por transformación química de anti--
 30. bióticos aminoglicosídicos conocidos.

Ejemplos típicos de los antibióticos aminoglicosídicos, a los que es aplicable la presente invención, incluyen la kanamicina A, kanamicina B, kanamicina C; y desoxi-derivados de estas kanamicinas así como sus derivados 6'-N-alkilo todos los cuales están representados por la siguiente fórmula general (III):



20. en la que R^1 es un grupo hidroxilo o grupo amino, R^2 y R^3 son cada uno un átomo de hidrógeno o grupo hidroxilo, y R^4 es un grupo hidroxilo o grupo amino o un grupo alquilamino que contenga un alquilo de 1-4 átomos de carbono, particularmente un grupo metilamino.

30. Con el fin de formar el complejo de catión de zinc-antibiótico aminoglicosídico por reacción del antibiótico aminoglicosídico con el catión de zinc de acuerdo con la invención, se puede disolver o suspender un antibiótico aminoglicosídico particular, ya sea bajo la forma de base libre o

- bien bajo la forma de una sal de adición ácida de la misma, en un disolvente orgánico apropiado o un disolvente orgánico acuoso, y añadir a la solución o suspensión resultante una -
5. sal de zinc apropiada en una cantidad de por lo menos 1 mol por mol del antibiótico aminoglicosídico empleado. Puede emplearse con tal fin cualquier disolvente orgánico corriente, con tal que el complejo de zinc formado después de la adición de la sal de zinc sea por lo menos parcialmente soluble en -
10. él. No obstante, debería evitarse preferiblemente el uso de un gran volumen de un disolvente orgánico polar y particularmente de mayor volumen de agua, porque la presencia del disolvente orgánico polar y del agua es probable que reduzca -
15. la estabilidad del complejo de catión de zinc-antibiótico -- aminoglicosídico resultante formado, por lo que la reacción de acilación subsiguiente para la introducción del grupo ami-
- no-protector es probable que dé un resultado poco satisfactorio.

- Así, es deseable usar un disolvente orgánico de alto poder disolvente tal como dimetil-sulfóxido para el disol-
20. vente en que ha de formarse el complejo de zinc, pero es factible emplear dimetilsulfóxido acuoso, dimetilformamida, dimetilformamida acuosa, una mezcla de dimetilformamida y dimetilsulfóxido, tetrahydrofurano, tetrahydrofurano acuoso, e -
25. incluso un alcohol inferior tal como metanol, etanol y metanol acuoso.

- El catión de zinc puede ser suministrado bajo la forma de una sal de zinc al sistema de reacción donde se ha de formar el complejo de zinc. Puede usarse para el fin de -
30. la presente invención cualquier sal de zinc que sea formada por reacción del catión de zinc con un ácido orgánico o inor-

- gánico ordinario. No obstante, en general es deseable emplear una sal de zinc de un ácido débil, tal como acetato de zinc, ya que es usual que entre los complejos metálicos que contienen el grupo amino, un complejo de grupo amino no cuaternario con una sal metálica sea más estable que un complejo de una amina del tipo amonio con una sal metálica, y que el uso de la sal de zinc de un ácido débil no conduce normalmente a la formación del complejo de metal relativamente inestable que contiene la amina del tipo amonio.
5. Cuando se emplea una sal de zinc de un ácido fuerte, por ejemplo cloruro de zinc, puede formarse también el complejo de zinc deseado, pero es preferido añadir una sal débilmente alcalina, tal como acetato de sodio, además de la sal de zinc, para la neutralización del medio. De un modo similar, es deseable añadir una cantidad de acetato de sodio o hidróxido de sodio como agente neutralizante cuando se usa el antibiótico aminoglicosídico de partida bajo la forma de su sal de adición ácida con un ácido fuerte tal como ácido clorhídrico. No obstante, en este caso, hay que tener cuidado para evitar el uso de una cantidad innecesariamente excesiva del agente neutralizante, pues de otro modo se precipitaría hidróxido de zinc perturbando la formación del complejo. Por ejemplo, cuando se usa un tetraclorhidruro de antibiótico aminoglicosídico para la formación de complejos, debería añadirse preferiblemente 4 moles de hidróxido de sodio para neutralizar la mezcla de reacción.
- Con tal que la cantidad molar total de sal de zinc usada sea por lo menos igual a la cantidad molar del antibiótico aminoglicosídico, puede progresar la reacción formadora de complejos. No obstante, es preferible usar la sal de zinc en una cantidad de sustancialmente más de 1 mol por mol del
- 30.

- antibiótico aminoglicosídico, de tal modo que el equilibrio de la reacción de formación de complejos se desplace a favor de la formación del complejo. Se puede obtener un rendimiento favorable del complejo de zinc cuando se usa la sal de --
5. zinc en una cantidad de aproximadamente 2,3-6 moles por mol del aminoglicósido, pero en la práctica es más preferible -- usar la sal de zinc en una cantidad de 4-5 moles por mol del aminoglicósido. El tiempo necesario para la reacción completa de formación de complejos después de la adición de la sal.
 10. de zinc puede variar dependiendo de la naturaleza del disolvente orgánico usado, y puede estar comprendido dentro de la gama que incluye "instantáneamente" (cuando se usa disolvente orgánico acuoso) y 20 horas. La reacción de formación de complejos puede progresar normalmente a temperatura ambiente,
 15. pero puede efectuarse calentamiento o enfriamiento.

De este modo, se prepara una solución o suspensión que contiene el complejo de zinc del antibiótico aminoglicosídico, a la que se añade después un reactivo de acilación -- que tiene un grupo acilo a introducir como el grupo amino-pro

20. tector.

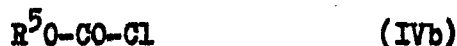
El reactivo de acilación empleado de acuerdo con -- esta invención puede ser un reactivo amino-protector usual, y éste es usado para asegurar que los grupos amino libres no -- acomplexados del complejo de catión de zinc-antibiótico aminoglicosídico resultante sean acilados y bloqueados con el --

25. grupo acilo del reactivo de acilación. El grupo acilo puede ser un grupo alcanilo, un grupo aroilo, un grupo alcoxicarbonilo, un grupo aralquiloxicarbonilo, un grupo ariloxicarbonilo, un grupo alquilsulfonilo, un grupo aralquilsulfonilo o
30. un grupo arilsulfonilo todos los cuales son el grupo amino-

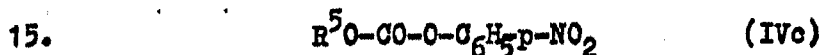
protector convencional. El reactivo de acilación disponible para este fin puede ser un ácido carboxílico de la fórmula general siguiente (IV):



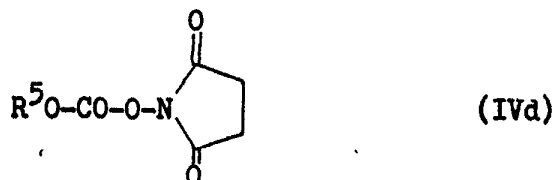
5. en la que R^5 es hidrógeno, un grupo alquilo, particularmente un grupo alquilo de 1-6 átomos de carbono, un grupo arilo, particularmente fenilo, o un grupo aralquilo, especialmente bencilo, y siendo estos grupos ocasionalmente sustituidos de forma adicional, o un halogenuro de ácido, un anhídrido de ácido o un éster activo de dicho ácido carboxílico (IVa); o
10. un cloroformato de la siguiente fórmula general (IVb):



o un carbonato de p-nitrofenilo de la siguiente fórmula general (IVc):



o éster activo de N-hidroxisuccinimida de la siguiente fórmula (IVd):

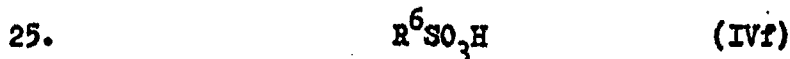


20.

o un azidoformato de la siguiente fórmula (IVe):



donde R^5 es tal como ha sido definido más arriba; o un ácido sulfónico de la siguiente fórmula general (IVf):



donde R^6 es un hidrógeno, un grupo alquilo, especialmente un grupo alquilo de 1-6 átomos de carbono, un grupo arilo, particularmente fenilo, o un grupo aralquilo, especialmente un grupo fenilalquilo tal como bencilo, y estos grupos pueden

30. ser ocasionalmente sustituidos de forma adicional, o un halo

- genuro de ácido, anhídrido de ácido o éster activo de dicho ácido sulfónico. En consecuencia, es evidente que la reacción de acilación para la protección de los grupos amino de acuerdo con esta invención es una acilación de un amplio significado, incluyendo, por ejemplo, la formilación, acetilación, propionilación, trifluoroacetilación, benciloxicarbonilación, p-metoxibenciloxicarbonilación, t-butoxicarbonilación, fenoxicarbonilación, tosilación, mesilación y otras equivalentes.

- Ejemplos particulares del reactivo de acilación --
10. disponible incluyen el acetoxiformilo, formato de p-nitrofenilo, anhídrido acético, cloruro acético, anhídrido propiónico, éster de p-nitrofenol de ácido trifluoroacético, éster de ácido trifluoroacético, N-benciloxicarboniloxisuccinimida (un éster activo representativo), N-benciloxicarboniloxiftalimida,
 15. cloruro de benciloxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarboniloxi-p-nitrofenilo, t-butoxicarbonilazida, cloruro de fenoxicarbonilo, cloruro de tosilo, cloruro de mesilo y otros.

- El reactivo de acilación, bien como tal o bien como solución en un disolvente tal como tetrahidrofurano y dimetilsulfóxido o en una mezcla de estos disolventes, puede --
20. ser añadido a la solución o suspensión que contiene el complejo de zinc-antibiótico aminoglicosídico. La cantidad molar del reactivo de acilación añadido puede ser usualmente igual a/o un poco superior al número de los grupos amino no acom--
 25. plejados con los que ha de reaccionar el reactivo de acilación. En algunos casos, no obstante, la cantidad molar del -- reactivo de acilación añadido puede llegar hasta una canti--
 30. dad molar aproximadamente 3 veces superior que el número de los grupos amino no acomplejados. El reactivo de acilación -- puede ser añadido ya sea de una vez o bien en porciones len-

tamente en el curso de una duración de 2-3 horas, aunque puede añadirse usualmente durante un tiempo de 30 minutos a 1 hora. La acilación puede ser conducida a una temperatura de -20°C a 100°C pero puede efectuarse normalmente a una temperatura comprendida entre 0°C y la temperatura ambiente. En ciertos casos, la temperatura de reacción puede mantenerse baja al tiempo de adición del reactivo de acilación y ser elevada después gradualmente según avanza la acilación. Normalmente, la reacción de acilación puede ser efectuada in situ en el disolvente orgánico en que se formó el complejo de catión de zinc-antibiótico aminoglicosídico. Esta acilación del complejo de zinc produce el complejo de zinc N-acilado, es decir el complejo de cationes de zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente.

De acuerdo con el proceso del primer aspecto de la invención, el paso de la acilación del complejo de catión de zinc-antibiótico amino-glicosídico va seguido por el paso de retirada del catión de zinc del complejo de zinc N-acilado (a saber, la destrucción del complejo de zinc) para dar el derivado N-acilado selectivamente protegido del antibiótico aminoglicosídico que está libre de cationes de zinc.

Para retirar el catión de zinc del complejo de zinc N-acilado, es necesario tratar el complejo de zinc N-acilado con un reactivo apropiado que retire el catión de zinc de dicho complejo de zinc N-acilado. Para tal fin, se dispone de muchos métodos. El primer método consiste en hacer reaccionar a un agente precipitador de zinc, que es capaz de convertir el catión de zinc en un compuesto de zinc insoluble en el agua tal como sulfuro de zinc, hidróxido de zinc o carbonato de zinc mientras que el complejo de zinc N-acilado perma-

nece todavía disuelto en la mezcla de la reacción de acilación donde ha sido acilado el complejo de catión de zinc-antibiótico aminoglicosídico, o es transferida después a una nueva solución en un nuevo volumen de un disolvente orgánico procedente de dicha mezcla de la reacción de acilación.

El agente precipitador del zinc disponible en el primer método incluye el sulfuro de hidrógeno, un sulfuro de metal alcalino tal como sulfuro de sodio, sulfuro de amonio, un sulfuro de metal alcalinotérreo tal como sulfuro de calcio y un carbonato de metal alcalino tal como carbonato de sodio o hidróxido de amonio. En algunos casos, la retirada de los cationes de zinc del complejo de zinc N-acilado puede ser efectuada simplemente por adición de agua. De acuerdo con este primer método, la adición del agente precipitador del zinc a la solución del complejo de zinc N-acilado produce una precipitación comparativamente rápida del compuesto de zinc insoluble formado a partir de los cationes de zinc, y el precipitado puede ser retirado por filtración. El derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado que permanece entonces en la solución del filtrado puede ser recuperado por concentración de la solución o por extracción a partir de la solución, y si es necesario puede purificarse posteriormente. Para la purificación, por ejemplo, es útil la cromatografía de columna con gel de sílice. Un segundo método consiste (i) en concentrar o concentrar hasta la sequedad por evaporación del disolvente o (ii) en diluir con un diluyente líquido la mezcla de la reacción de acilación antes citada o la nueva solución del complejo de zinc N-acilado transferido al nuevo volumen del disolvente orgánico con el fin de dar un depósito, concentrado o residuo oleoso o sólido, seguido de

la recuperación del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado a partir de dicho depósito, concentrado o residuo de cualquier modo. El diluyente líquido disponible - en este segundo método es agua o un líquido orgánico en el -

5. que el complejo de zinc N-acilado como un todo o la mitad -- del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado de di- cho complejo de zinc N-acilado no tenga solubilidad o ésta - sea baja.

De acuerdo con el segundo método antes citado, pri-

10. meramente se concentra o concentra a la sequedad la mezcla - de la reacción de acilación que contiene el complejo de zinc N-acilado (o la nueva solución del complejo de zinc N-acila- do transferida a un disolvente orgánico) para dar un depósi- to o residuo sólido u oleoso. Cuando se empleó un disolvente

15. orgánico difícilmente vaporizable tal como dimetilsulfóxido etc., como medio de reacción para la N-acilación del comple- jo de zinc, es posible que la mezcla de reacción de acilación que contiene el complejo de zinc N-acilado esté mezclada con un líquido orgánico diluyente tal como etiléter con el fin -

20. de que el medio disolvente orgánico difícilmente vaporizable se disuelva en (o diluya con) el diluyente, con lo que se de- posita un sólido o un aceite que comprende el complejo de -- zinc N-acilado a partir del mismo. De estos modos, se obtie- ne un depósito o residuo oleoso o sólido, que es normalmente

25. una mezcla compuesta por (i) el complejo de zinc N-acilado, es decir, el complejo de cationes de zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado, (ii) el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado liberado por destruc- ción de la asociación formadora de complejos en una porción

30. del complejo de zinc N-acilado debido a la ausencia sustan--

- cial del medio disolvente orgánico, (iii) una cantidad de la sal de zinc inorgánica formada por la destrucción de la asociación formadora de complejos en la porción del complejo de zinc N-acilado, (iv) una cantidad de la sal de zinc que fue añadida inicialmente como un exceso y que permaneció sin reaccionar en la reacción formadora de complejos, y posiblemente (v) alguna cantidad residual del disolvente orgánico empleado en las operaciones precedentes.

- El depósito o residuo oleoso o sólido antes citado
10. (la mezcla antes citada) puede ser tratado posteriormente -- por cualquiera de los procedimientos (a), (b) y (c) expuestos más adelante.

- (a) Se mezcla el depósito o residuo oleoso o sólido (la mezcla antes citada) con agua o una clase de disolvente orgánico polar, disolvente orgánico polar acuoso o disolventes orgánicos polares mezclados que sea(n) líquido(s) orgánico(s) polar(es) que tienen por efecto destruir la asociación formadora de complejos de los cationes de zinc en el -- complejo de zinc N-acilado presente en dicho depósito o residuo y en la que son solubles cantidades de la sal de zinc liberada e inicialmente presente sin reaccionar, pero el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado es insoluble. De este modo, se destruya el complejo de zinc N-acilado para liberar del mismo los cationes de zinc, con el fin
15. de permitir la disolución de los cationes de zinc y la extracción de los mismos como la sal de zinc con el agua o disolvente(s) orgánico(s) (acuosos) y dejar el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado como un residuo insoluble a recuperar. Este residuo puede ser purificado opcionalmente por re-disolución en un disolvente orgánico. El di-
- 20.
- 25.
- 30.

solvente orgánico polar disponible en este procedimiento (a) incluye, por ejemplo, metanol, etanol, amoníaco líquido, etilamina y trietilamina. Estos disolventes orgánicos polares y el agua sirven por consiguiente de reactivo retirador del ca
 5. tión de zinc.

(b) Alternativamente, se mezcla el depósito o residuo oleoso o sólido (la mezcla antes citada) con otra clase de disolvente orgánico polar, en forma bien anhidra o bien acuosa, que tenga el efecto de destruir la asociación formadora de complejos de los cationes de zinc en el complejo de zinc N-acilado presente en dicho depósito o residuo y en la que no sea soluble la sal de zinc liberada pero sea soluble el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado, por lo que se destruye el complejo de zinc N-acilado para liberar del mismo el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado y permitir su disolución y extracción con dicho disolvente orgánico polar y por consiguiente su separación de la sal de zinc que es liberada pero permaneciendo sin disolver en dicho disolvente orgánico polar. De este modo, -
 10. se recupera la solución del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado en el disolvente orgánico polar y, si se desea, puede purificarse por ejemplo cromatográficamente, se
 15. guido de la concentración de la solución purificada para el aislamiento del producto N-acilado deseado.

(c) También alternativamente, el depósito o residuo oleoso o sólido (la mezcla antes citada) tal como es obtenido en el segundo método antes citado puede disolverse nuevamente como un todo en un disolvente orgánico apropiado que contenga una proporción de agua, si todo el depósito o -
 20. residuo es soluble o sustancialmente soluble en agua. La so-
 30.

- lución así obtenida puede ser sometida después a un procedimiento de cromatografía durante el cual puede recuperarse -- por separado la sal de zinc liberada y el derivado de anti-- biótico aminoglicosídico N-acilado liberado a partir de la --
5. solución. Hemos descubierto que para este procedimiento cro-- matográfico son útiles varias clases de resinas cambiadoras de cationes, resinas cambiadoras de aniones, resinas cambia-- doras de quelatos y polimeros superiores insolubles en el -- agua que contengan grupos funcionales capaces de combinarse
 10. con un metal, tal como quitina o quitosano. Las calidades -- disponibles de resina cambiadora de cationes para tal fin in-- cluyen las que contienen grupos carboxilo (-COOH) como fun-- ciones de intercambio, y las que contienen grupos sulfonilo (-SO₃H) como funciones de intercambio. Cuando se usa una re--
 15. sina cambiadora de cationes que contenga funciones carboxíli-- cas para el procedimiento cromatográfico antes citado, se di-- suelve el depósito o residuo oleoso o sólido antes citado -- (la mezcla antes citada) en un disolvente orgánico acuoso -- apropiado, por ejemplo, una mezcla de agua y metanol conte--
 20. niendo opcionalmente de 10 a 90% en volumen de agua o una -- mezcla de agua y dioxano conteniendo opcionalmente de 10 a -- 90% en volumen de agua, y la solución resultante es cargada dentro de una columna de dicha resina cambiadora de cationes. La columna es lavada posteriormente con otra cantidad del di--
 25. solvente orgánico acuoso antes citado, seguido del revelado usando como eluyente una cantidad del disolvente orgánico -- acuoso antes mencionado que contiene además una cantidad de un ácido o una base. Como este ácido puede usarse un ácido -- orgánico débil tal como ácido acético, o un ácido inorgánico
 30. diluido tal como ácido clorhídrico diluido. Como base puede

- usarse hidróxido de amonio para la mayoría de los casos. La concentración del ácido o base en el disolvente de revelado (el eluyente) puede ser convenientemente de 0,01 a 5% en peso del disolvente de revelado. El derivado de antibiótico --
5. aminoglicosídico N-acilado deseado puede ser separado de los cationes de zinc a complejantes durante el proceso del revelado, porque la resina cambiadora de cationes usada ejerce diferentes afinidades de adsorción contra el aminoglicósido -- N-acilado deseado y los cationes de zinc por lo que la fuerza del primero a asociar con la resina es diferente de la --
 10. fuerza del segundo a asociar con la resina. De este modo, el eluido puede recogerse en fracciones para dar fracciones que contienen el aminoglicósido N-acilado deseado libre de la -- sal de zinc, que puede ser concentrada entonces para dar el
 15. derivado N-acilado del antibiótico aminoglicosídico deseado.
- Quando se usa una resina cambiadora de cationes -- que contenga funciones sulfonilo para el procedimiento cromatográfico antes citado, puede efectuarse la separación y recuperación del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado del mismo modo que en el caso anterior, porque
20. se presenta enteramente el mismo mecanismo en la separación del aminoglicósido N-acilado a partir de los cationes de zinc a complejantes. Por otra parte, cuando se usa una resina cambiadora de aniones débil o fuertemente básica para el procedimiento cromatográfico, la porción del aminoglicósido N-acilado del complejo de zinc N-acilado que contiene uno o más --
 25. grupo(s) amino no acilados no será normalmente adsorbida por la resina cambiadora de aniones débil o fuertemente básica debido a la repelencia iónica entre ellas, por lo que el revelado de la columna de resina cambiadora de aniones con un di
 - 30.

solvente orgánico acuoso apropiado permite que sea eluido el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado de la columna mientras que los cationes de zinc permanecen en la columna.

5. Cuando se conduce el procedimiento cromatográfico usando una resina cambiadora de quelatos que sea capaz de combinarse con cationes de zinc por la habilidad queladora de los metales de esta resina, se carga una solución del depósito o residuo oleoso o sólido antes citado (la mezcla antes citada) en un disolvente orgánico acuoso en una columna de la resina cambiadora de quelatos, que es posteriormente revelada con un disolvente de revelado apropiado para permitir que el aminoglicósido N-acilado deseado sea eluido preferencialmente a partir de la columna, mientras que los cationes de zinc permanecen ligados en la resina cambiadora de quelatos. El polímero superior insoluble en el agua que contiene las funciones capaces de combinarse con un metal, por ejemplo, la quitina y el quitosano, puede ser empleado del mismo modo que cuando se usa la resina cambiadora de quelatos.
- 10.
- 15.
20. tos.

- (d) Igualmente, es posible un tercer método, en el que la mezcla de la reacción de acilación antes citada donde se condujo la acilación del complejo de zinc para la protección de los grupos amino es cargada directamente en una columna de una resina cambiadora de cationes o de aniones, resina cambiadora de quelatos, o un polímero superior insoluble en el agua que contenga las funciones combinadoras de metales, de tal modo que el complejo de zinc N-acilado sea adsorbido por la resina o polímero superior. La columna puede ser lavada posteriormente con un disolvente orgánico acuoso,
- 25.
- 30.

- si es necesario, y puede ser revelada después con un disolvente orgánico acuoso que contenga o no un ácido o una base como se ha mencionado en el procedimiento anterior (c), seguido de operaciones similares a las del procedimiento (c),
5. con lo que se consigue la retirada de los cationes de zinc a partir del complejo de zinc N-acilado así como la recuperación del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado.

- (e) Igualmente, es también posible un cuarto método para la recuperación del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado, método en el que se trata inmediatamente la mezcla de reacción de acilación antes citada que contiene el complejo de zinc N-acilado con agua por mezcla con el agua, en caso de que el derivado mismo del antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado sea insoluble o prácticamente insoluble en el agua. Puede mencionarse la 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonildibekacina como ejemplo del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado que es prácticamente insoluble en el agua. En este caso, cuando la
10. mezcla de reacción de acilación que contiene el complejo de zinc N-acilado comprendiendo un derivado de aminoglicósido N-acilado sustancialmente insoluble en el agua es mezclada inmediatamente con agua, se rompe la asociación acomplejante del zinc en el complejo de zinc N-acilado para permitir la
15. precipitación del derivado de aminoglicósido N-acilado insoluble en el agua como un sólido, mientras que la sal de zinc formada a partir de los cationes de zinc liberados permanece en solución, con lo que puede recuperarse el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado deseado como un producto
20. sustancialmente puro por separado de la sal de zinc.
- 25.
- 30.

- Como se ha indicado anteriormente, la N-acilación, a saber la reacción amino-protectora es conducida con el complejo de zinc del antibiótico aminoglicosídico de acuerdo -- con el proceso del primer aspecto de la invención, y el complejo de cationes de zinc con el derivado de aminoglicósido mono-, di-, tri- o poli-N-acilado así formado es aquel en el que los cationes de zinc usados son complejos asociados con la estructura del derivado de aminoglicósido N-acilado. Por consiguiente, cuando el derivado de aminoglicósido N-acilado deseado es insoluble o escasamente soluble en agua, una simple operación de mezcla del agua con la mezcla de reacción de acilación que contiene el complejo de zinc N-acilado hace que se precipite el derivado de aminoglicósido N-acilado insoluble en el agua como un sólido mientras que los cationes de zinc liberados son retirados de la misma por disolución en el agua (como en el caso del cuarto método descrito en el párrafo precedente (e)). El precipitado insoluble en el agua así obtenido puede ser empleado inmediatamente como un material inicial para reacciones subsiguientes para la producción semisintética de un producto final deseado. Más genéricamente, no obstante, el mismo derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado es con frecuencia soluble en agua o parcialmente soluble en agua, y por consiguiente el derivado de aminoglicósido N-acilado deseado puede ser recuperado solamente en un rendimiento considerablemente más reducido si se adopta el sencillo tratamiento consistente en mezclar agua inmediatamente con la mezcla de la reacción de acilación. -- Por estas razones, puede obtenerse un mejor resultado cuando se aplica uno cualquiera de los procedimientos antes mencionados (b) y (c) en el que el complejo de zinc N-acilado (es
- 5.
 - 10.
 - 15.
 - 20.
 - 25.
 - 30.

- decir, el complejo de cationes de zinc con el derivado del -
antibiótico aminoglicosídico N-acilado formado a partir de -
la reacción de N-acilación) es separado primeramente de la -
mezcla de la reacción de acilación, después de lo cual se di-
5. suelve el complejo de zinc N-acilado, así separado, en agua
o en un disolvente orgánico acuoso y la solución resultante
es posteriormente tratada para retirar de ella los cationes
de zinc. Mientras tanto, uno de los métodos sencillos para -
retirar los cationes de zinc que son generalmente obvios es
10. aquel en el que se hace reaccionar sulfuro de hidrógeno o un
sulfuro alcalino como agente de precipitación con cationes -
de zinc para precipitar estos últimos como sulfuro de zinc -
(como un modo del primer método expuesto en el párrafo ante-
rior (a)). No obstante, el sulfuro de zinc se precipita fre-
15. cuentemente como un depósito coloidal que es difícil de sepa-
rar por filtración, y además, el sulfuro de hidrógeno y un -
sulfuro alcalino tienen un olor objetable y no son apropia--
dos para ser usados en la realización comercial del proceso.
Así, hemos realiz-ado una profunda investigación en un inten-
20. to para proporcionar un método práctico de retirar los catio-
nes de zinc del complejo de zinc sin apoyarse en el uso de -
un sulfuro, y hemos logrado desarrollar ahora los métodos fá-
ciles y eficientes para retirar los cationes de zinc usando
las resinas cambiadoras antes citadas u otro material políme-
25. ro (como en el caso de los procedimientos (c) y (d)). Estos
procedimientos (c) y (d) son comercialmente mucho más venta-
josos y valiosos ya que son fáciles de poner en práctica, --
dan una alta eficiencia de separación de los cationes de zinc
y proporcionan un alto rendimiento del derivado de antibióti-
30. co aminoglicosídico N-acilado deseado.

Después de todo, los diversos métodos y procedimientos antes descritos para el tratamiento del complejo de zinc N-acilado con el reactivo retirador de los cationes de zinc pueden resumirse como sigue:

5. (i) El complejo de cationes de zinc con el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente es separado una vez de la mezcla de la reacción de acilación antes de hacerle reaccionar con un reactivo de retirada de los cationes de zinc de este complejo.
10. (ii) El complejo de cationes de zinc con el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente es separado de la mezcla de la reacción de acilación por extracción con un disolvente orgánico, por evaporación del medio disolvente orgánico a partir de la mezcla de la reacción de acilación o por dilución de la mezcla de la reacción de acilación con un disolvente orgánico diluyente, antes de hacerle reaccionar con un reactivo de retirada de los cationes de zinc.
15. (iii) El complejo de cationes de zinc con el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente una vez separado es mezclado con agua o un disolvente orgánico polar, ya sea anhidro o bien acuoso, que sirve de reactivo retirador de los cationes de zinc. Este disolvente orgánico polar puede ser aquel en el que es soluble la sal de zinc pero en el que es insoluble el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, o bien aquel en el que es insoluble la sal de zinc pero en el que es soluble el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado.
20. (iv) El complejo de cationes de zinc con el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado una vez separa
- 25.
- 30.

do es de nuevo disuelto enteramente en un disolvente orgánico que contiene una proporción de agua, y la solución resultante es sometida a un procedimiento cromatográfico, usando una resina cambiadora de cationes, una resina cambiadora de aniones, una resina cambiadora de quelatos o un polímero insoluble en el agua que contenga grupos funcionales capaces de combinarse con un metal, que sirva de reactivo retirador de los cationes de zinc.

(v) La mezcla de la reacción de acilación es pasada directamente a través de una columna de una resina cambiadora de cationes, una resina cambiadora de aniones, resina cambiadora de quelatos o un polímero insoluble en el agua -- que contenga las funciones combinadoras de metales para la adsorción del complejo de cationes de zinc con el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, y la columna es revelada posteriormente con un disolvente orgánico acuoso -- que contenga o no una cantidad de ácido o base, y el eluido es recogido en fracciones, seguido de la recuperación de las fracciones que contienen el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente, deseado pero no conteniendo cationes de zinc.

(vi) Cuando el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, deseado es insoluble o sustancialmente insoluble en el agua, la mezcla de la reacción de acilación es mezclada inmediatamente con agua, de tal modo que dicho derivado se precipite por separado de la sal de zinc que permanece disuelta en el agua.

(vii) La mezcla de la reacción de acilación es tratada inmediatamente con sulfuro de hidrógeno, un sulfuro de metal alcalino o sulfuro de metal alcalino-térreo que preci-

pita los cationes de zinc como sulfuro de zinc, o con hidróxido de amonio que precipita los cationes de zinc como hidróxido de zinc.

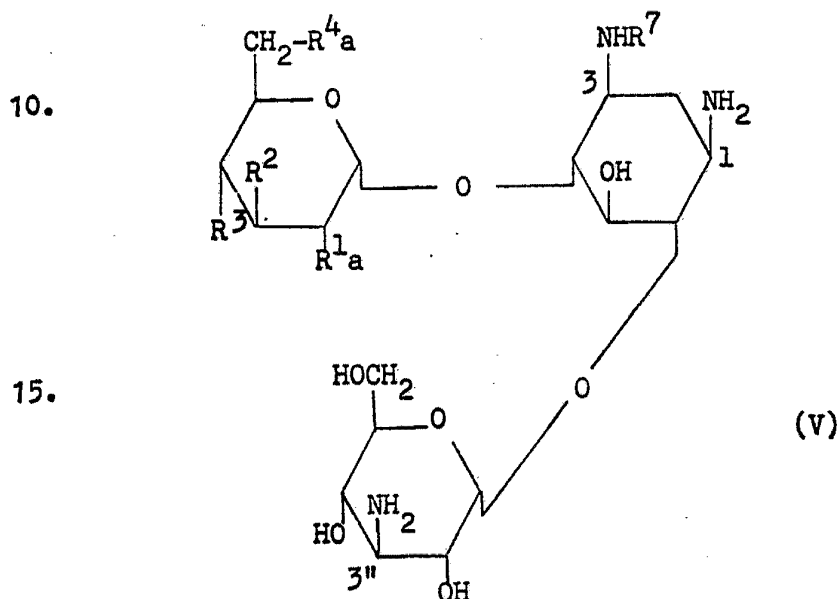
- En el complejo de zinc utilizado en el proceso del
5. primer aspecto de la invención, los cationes de zinc son --
acomplejados principalmente con grupos 1-amino y 3"-amino --
del antibiótico aminoglicosídico, y por consiguiente la N-
acilación del complejo de cationes de zinc-antibiótico ami-
noglicosídico seguida de la retirada de los cationes de zinc
 10. del mismo da normalmente el derivado del antibiótico amino-
glicosídico N-acilado en el que los grupos amino y/o alqui-
lamino distintos de los grupos 1-amino y 3"-amino están pro-
tegidos por el grupo acilo. Cuando el derivado del antibió-
tico aminoglicosídico N-acilado así obtenido a partir del --
 15. proceso del primer aspecto de la invención es posteriormen-
te 1-N-acilado con un ácido α -hidroxi- ω -aminoalcanoico de --
un modo conocido como se ha expuesto en las patentes esta-
dounidenses antes citadas núms. 3.781.268 y 3.939.143, por
ejemplo, seguido de la retirada de los grupos amino-protec-
tores residuales del producto 1-N-acilado resultante, se da
 20. un antibiótico aminoglicosídico 1-N-acilado, semi-sintético
que es conocido como un útil agente antibacteriano.

- La síntesis de los antibióticos aminoglicosídicos
1-N-acilados va a ser descrita ahora con referencia a un --
25. uso ilustrativo de la kanamicina A como material de partida.
Cuando se usa la kanamicina A como material inicial en el --
proceso del primer aspecto de la invención, los grupos 1-amí-
no y 3"-amino de la kanamicina A son inicialmente bloquea-
dos acomplejándolos con cationes de zinc previa formación --
 30. de su complejo de zinc. En consecuencia, cuando es acilado

- el complejo de cationes de zinc-kanamicina A con un reactivo de acilación apropiado de acuerdo con la invención o con otra clase de agente amino-bloqueador, los grupos 3-amino y 6'-amino no acomplejados de la molécula de kanamicina A pueden ser protegidos por el grupo acilo del reactivo de acilación empleado o por otra clase de grupo amino-bloqueador. -
5. Después de la retirada subsiguiente de los cationes de zinc acomplejantes del complejo de cationes de zinc-kanamicina A N-acilada, se hace reaccionar al derivado de la kanamicina
10. A N-acilada con un agente de acilación que tiene un grupo acilo a introducir en el grupo 1-amino de la molécula de kanamicina A. Después, este grupo acilo reacciona sólo con los grupos 1-amino y 3"-amino no bloqueados de la kanamicina A. En este momento, el grupo 1-amino es normalmente
15. un poco más reactivo que el grupo 3"-amino, por lo que se puede obtener el deseado derivado de la kanamicina A 1-N-acilada con un rendimiento un poco más elevado que el derivado de la kanamicina A 3"-N-acilada. La N-desprotección subsiguiente del derivado de la kanamicina A 1-N-acilada así obtenido da la kanamicina A 1-N-acilada como producto final deseado. Por consiguiente, cuando se utiliza el proceso del primer aspecto de la invención, resultará obvio que la deseada 1-N-acilkanamicina A puede ser obtenida con un rendimiento más elevado, en comparación a cuando se hace reaccionar inmediatamente a la kanamicina A no protegida o kanamicina A 6'-N-protegida con un agente acilante para lograr la 1-N-acilación de la kanamicina A. Si se hace reaccionar a una kanamicina sin N-protección alguna con un agente 1-N-acilante, se observa que se forman los productos N-acilados
20. mezclados que contienen una proporción muy pequeña (usual-
25. 30.

mente del 1% a un poco %) del producto deseado 1-N-acilado.

- En caso de aplicar el proceso del primer aspecto de la invención a una kanamicina de la fórmula general antes citada (III), algunos o la totalidad de los grupos amino distintos de los grupos 1- y 3"-amino de la kanamicina usada son protegidos para dar un derivado de kanamicina N-acilada representado por la siguiente fórmula general (V):



20. en la que R^{1a} es un grupo hidroxilo, grupo amino ($-\text{NH}_2$), un grupo $-\text{NHCOR}^5$, o un grupo $-\text{NHCO}\cdot\text{OR}^5$ o un grupo $-\text{NHSO}_2\text{R}^6$; R^{4a} es un grupo hidroxilo, un grupo $-\text{NHCOR}^5$, un grupo $-\text{N}\begin{matrix} \text{R}^8 \\ \text{COR}^5 \end{matrix}$, un grupo $-\text{NHCO}\cdot\text{OR}^5$, un grupo $-\text{N}\begin{matrix} \text{R}^8 \\ \text{CO}\cdot\text{OR}^5 \end{matrix}$, un grupo $-\text{NHSO}_2\text{R}^6$ o un grupo $-\text{N}\begin{matrix} \text{R}^8 \\ \text{SO}_2\text{R}^6 \end{matrix}$; R^2 y R^3 son definidos cada uno como en la fórmula general (III); R^7 es un grupo $-\text{COR}^5$, un grupo $-\text{CO}\cdot\text{OR}^5$ o un grupo $-\text{SO}_2\text{R}^6$; R^5 y R^6 son tal como han quedado definidos en las fórmulas (IVa) a (IVf); y R^8 es un grupo alquilo, especialmente de 1-4 átomos de carbono.
- 25.
- 30.

- Así, en caso de aplicar el proceso del primer aspecto de la invención a una kanamicina, se obtiene usualmente un derivado de kanamicina N-protegida de la fórmula (V) en la que todos los grupos amino distintos de los grupos --
5. amino y/o alquilamino presentes en las posiciones 1 y 3" de la molécula de kanamicina están bloqueados. No obstante, si el grupo acilo a introducir como grupo amino-bloqueador es relativamente grande en su tamaño estérico, por ejemplo, --
 10. con grupo t-butoxicarbonilo, o si la cantidad molar del reactivo de acilación usado es menor que la cantidad estequiométricamente necesaria para acilar todos los grupos amino no acoplejados de la molécula de kanamicina incluso si el grupo acilo del reactivo de acilación empleado es de un tamaño ordinario, o si se interrumpe la reacción de acilación en --
 15. una etapa intermedia, se obtiene un derivado de la kanamicina N-protegida en el que el número de los grupos aminoacilados de la molécula de kanamicina es menor que en el caso anterior, y luego en casos particulares se obtiene un derivado de la kanamicina N-acilada de forma limitada en el que --
 20. el grupo 6'-amino o 6'-alquilamino está exclusivamente acilado, debido a que el grupo 6'-amino o 6'-alquilamino es -- más reactivo que los otros grupos amino de la molécula de kanamicina.

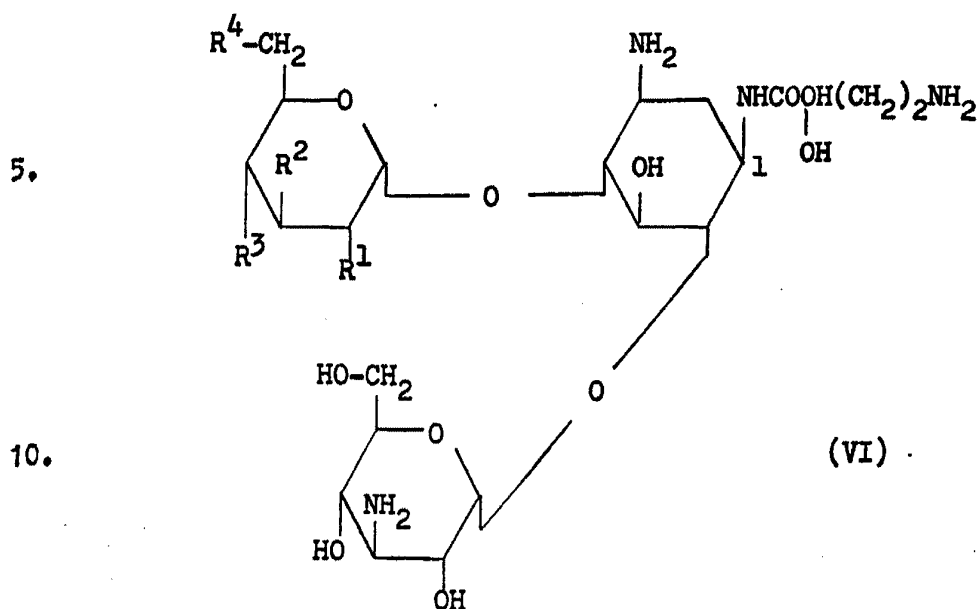
- El derivado de la kanamicina N-acilada de la fórmula general (V) es un importante producto intermedio útil
25. en la producción semisintética de diversas clases de derivados de la kanamicina. El compuesto de la fórmula (V) tiene un valor incrementado como material intermedio para síntesis químicas, por ejemplo, particularmente cuando se desarrolla la misma en un proceso de producción de antibióticos
 - 30.

- aminoglicosídicos 1-N-acilados semi-sintéticos que son activos contra las bacterias resistentes a la kanamicina, por acilación del grupo 1-amino del compuesto (V) con un ácido α -hidroxil- ω -aminoalcanoico y retirando después los grupos protectores de los grupos amino y/o alquilamino bloqueados del producto de 1-N-acilación resultante.

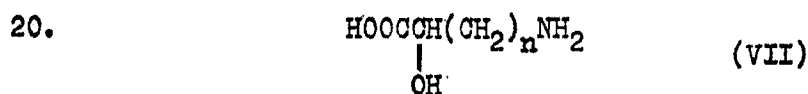
- Como ejemplo, cuando el compuesto intermedio (V) ha de ser acilado con un grupo acilo, por ejemplo, con el grupo (S)-4-benciloxi-carbonilamino-2-hidroxitirilo, el compuesto (V) puede reaccionar en un disolvente orgánico apropiado tal como tetrahidrofurano acuoso con un ácido butírico correspondientemente sustituido o su derivado reactivo equivalente tal como un éster activo, por ejemplo, éster de N-hidroxi-succinimida, éster de N-hidroxitftalimida o éster de p-nitrofenol, con lo que se forma el producto de 1-N-acilación. Posteriormente, se puede efectuar la retirada del grupo benciloxicarbonilo y el grupo protector (R^7) en la fórmula (V) del producto de 1-N-acilación por una técnica N-desprotectora convencional, por ejemplo, bien sea por hidrólisis con ácido o base, o bien por reducción con metal reductor, o por hidrogenolisis catalítica con hidrógeno, o por reducción radical con sodio en amoníaco líquido, para dar un derivado de kanamicina semi-sintética que tiene el grupo (S)-4-amino-2-hidroxitirilo ligado con el grupo 1-amino de la kanamicina que es activo contra las bacterias resistentes y está representado por la siguiente fórmula general (VI):

30.

.../... (continúa en Fórmula VI)



15. en la que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 tienen cada uno los mismos significados que han sido definidos en la fórmula (III). En el proceso anterior, generalmente, se puede emplear un derivado N-prottegido de un ácido α -hidroxil-(ω)-aminoalcanoico de la fórmula (VII):



en la que n es un entero de 1, 2 ó 3, en vez del ácido (S)-4-benciloxi-carbonilamino-2-hidroxibutírico, para dar un derivado de 1-N-((S)- α -hidroxi- ω aminoalcanoil)-kanamicina.

25. Igualmente, la invención incluye también un proceso para la producción de un derivado N-acilado selectivamente protegido de un antibiótico aminoglicosídico que comprende una mitad 6-O-(3"-amino- ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina teniendo posiblemente un grupo --
30. 4-O-(aminoglicosilo) derivado en el que todos los grupos --

(incluyendo el grupo 3"-amino) distintos del grupo 1-amino de la molécula de aminoglicósido están bloqueados o protegidos por los mismos grupos acilo o por grupos diferentes.

- De acuerdo con el proceso del primer aspecto de
5. la invención (a veces llamado en lo que sigue proceso "acomplejador del zinc"), es factible preparar tal derivado N-acilado selectivamente pero parcialmente protegido del antibiótico aminoglicosídico, derivado en el que todos los grupos amino distintos de los dos grupos 1-amino y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) de la molécula de aminoglicósido están protegidos por un grupo acilo y por consiguiente los grupos 1-amino y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) permanecen -- sin proteger. Incluso cuando se hace reaccionar a este derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado parcial--
 10. mente protegido con un ácido α -hidroxi- ω -aminoalcanoico o su equivalente reactivo con el fin de efectuar la 1-N-acilación como se ha mencionado más arriba, es cierto que se dan productos de acilación mezclados comprendiendo (i) el producto 1-N-acilado en el que sólo el grupo 1-amino de la
 20. molécula de aminoglicósido ha sido acilado con el ácido -- α -hidroxi- ω -aminoalcanoico, (ii) el producto 3"-N-acilado en el que sólo el grupo 3"-amino (ó 3"-alquilamino) ha sido acilado, (iii) ambos grupos 1-amino y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) han sido acilados, y (iv) el material que no
 25. ha reaccionado en el que ninguno de los grupos 1- y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) han sido acilados. Con el fin de obtener el producto de 1-N-acilación finalmente deseado a -- partir de los productos de acilación mezclados antes citados, es siempre necesario, por consiguiente, llevar a cabo
 30. una operación adicional en la que se consigue aislar el --

- producto de 1-N-acilación por cromatografía o por cualquier otro método de aislamiento. Como el grupo 1-amino esafortunadamente más reactivo que el grupo 3"-amino (ó 3"-alquilamino), el rendimiento real del producto de 1-N-acilación deseado es usualmente del 40 al 60% aproximadamente y rebasa un rendimiento teóricamente máximo del 25% que sería calculado suponiendo que la reactividad de los grupos 1- y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) fuese enteramente igual entre sí. No obstante, incluso si las condiciones de reacción para la 1-N-acilación son ajustadas a su valor más favorable, es inevitable que se formen subproductos indeseablemente N-acilados, y siempre es necesaria una operación adicional para retirar los subproductos N-acilados indeseados sometiendo los productos acilados mezclados cuidadosamente a una cromatografía de columna.

- Con el fin de eliminar esta desventaja, es obviamente necesario preparar un derivado N-acilado selectivamente protegido del antibiótico aminoglicosídico en el que hayan sido protegidos todos los grupos amino que no sean el grupo 1-amino. Con el fin de lograr esta exigencia, hemos realizado investigaciones adicionales en un intento de proporcionar un proceso que sea capaz de proteger selectivamente el grupo 3"-amino (ó 3"-alquilamino) del derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado parcialmente protegido conteniendo grupos 1- y 3"-amino libres como se obtiene a partir del proceso "acomplejador del zinc" antes citado, mientras que el grupo 1-amino permanece sin bloquear.

- Como resultado de ello, hemos logrado descubrir ahora que cuando se hace reaccionar al derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado parcialmente protegido, tal

- como se obtiene a partir del proceso "acomplejador del zinc" con un agente acilante seleccionado de los ésteres de ácido fórmico, ésteres de ácido dihalo- ó trihalo-alcanoico, N-formilimidazol, el grupo 3"-amino ó 3"-alquilamino puede ser -
5. acilado preferencialmente para fines de bloqueo sin acilar el grupo 1-amino. Este proceso 3"-N-protector selectivo puede combinarse con el proceso antes citado "acomplejador del zinc" (es decir, el proceso del primer aspecto de la invención) por lo que se produce de una manera fácil y eficiente
 10. el derivado N-acilado selectivamente protegido del antibiótico aminoglicosídico que comprende una mitad de 6-O-(3"-amino- ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina derivado en el que todos los grupos amino distintos del grupo 1-amino de la molécula de aminoglicósido han sido pro-
 15. tegidos selectivamente con el mismo o diferentes grupos acilo. En la combinación del proceso "acomplejador del zinc" - con el grupo 3"-N-protector selectivo, se consigue la ventaja de que puede producirse el derivado finalmente deseado - 1-N-no protegido pero también otro N-completamente protegido
 20. do del antibiótico aminoglicosídico a partir del material - antibiótico aminoglicosídico de origen con un rendimiento - total del 70% o más. Cuando se emplea este derivado 1-N-no protegido pero también otro N-completamente protegido para la 1-N-acilación del antibiótico aminoglicosídico, se pro-
 25. porciona otra ventaja consistente en que no se forman sustancialmente subproductos indeseablemente N-acilados, por lo que se facilita mucho la recuperación y purificación del producto de 1-N-acilación deseado.

De acuerdo con el segundo aspecto de esta invención se proporciona, por consiguiente, un proceso para la -

30. ción se proporciona, por consiguiente, un proceso para la -

- producción de un derivado N-acilado selectivamente protegido de un antibiótico aminoglicosídico que comprende una mitad de 6-O-(3"-amino- ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina teniendo opcionalmente un grupo 4-O-
5. (aminoglicosilo), derivado en el que el grupo 1-amino de la mitad de desoxiestreptamina no está protegido pero todos -- los demás grupos amino de la molécula de aminoglicósido están protegidos con los mismos o distintos grupos acilo; comprendiendo el proceso un paso consistente en:
10. (a) hacer reaccionar un éster de ácido alcanoico de la fórmula (VIII)



- en la que R^a es un átomo de hidrógeno o un grupo dihaloalqui
15. lo o trihaloalquilo de 1-6 átomos de carbono, y R^b es un grupo alquiloxi de 1-6 átomos de carbono, un grupo aralquiloxi, especialmente grupo benciloxi, un grupo ariloxi, especialmente grupo feniloxi, o un N-formilimidazol como agente acilan
20. te en un disolvente orgánico inerte con un derivado N-acilado parcialmente protegido del antibiótico aminoglicosídico en el que los grupos 1-amino y 3"-amino ó 3"-alquilamino no están protegidos y todos los otros grupos amino están protegidos con un grupo acilo como grupo aminoprotector, para --
25. efectuar la acilación selectiva del grupo 3"-amino ó 3"-alquilamino del derivado N-acilado parcialmente protegido con el grupo acilo $R^a CO-$ de dicho agente acilante y dar así el deseado derivado 1-N-no protegido y otro N-acompletamente-
30. protegido del antibiótico aminoglicosídico.

Los antibióticos aminoglicosídicos que son disponibles en el proceso de acuerdo con el segundo aspecto de --

esta invención son los mismos que son disponibles en el proceso del primer aspecto de la invención y mencionados anteriormente.

- Las realizaciones del proceso de acuerdo con el -
5. segundo aspecto de la invención van a ser descritas ahora - de forma más completa.

- El derivado del antibiótico aminoglicosídico parcialmente protegido N-acilado que ha de reaccionar con el - agente acilante de la fórmula (VIII) de acuerdo con el se--
10. gundo aspecto de la invención y del que todos los grupos -- amino distintos de los grupos 1-amino y 3"-amino (ó 3"-al-- quilamino) de la molécula de aminoglicósido están protegi-- dos puede ser el que es producido por el proceso "acompleja dor del zinc" antes citado de acuerdo con el primer aspecto
15. de la invención. Por consiguiente, el grupo acilo original- mente presente en el derivado del antibiótico aminoglicosí- dico parcialmente protegido, N-acilado, usado en el segundo aspecto de la invención es el mismo que el grupo acilo (gru po R^5CO- , R^5OCO- ó R^6SO_2- en la fórmula IV_{a-e}) del reactivo
20. de acilación empleado en el primer aspecto de la invención y puede ser generalmente un grupo alcancilo, un grupo arci- lo, un grupo alcoxicarbonilo, un grupo aralquilocarbonilo, un grupo ariloxicarbonilo, un grupo alquilsulfonilo, un gru po aralquilsulfonilo o un grupo arilsulfonilo conocido como
25. el grupo amino-protector convencional. Igualmente, el deri- vado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, parcialmen te protegido, empleado como material de partida puede ser - también el que ha sido preparado por el método antes citado de Nagabhushan y otros de acuerdo con la patente estadouni-
30. dense nº 4.136.254.

- Para llevar a la práctica el proceso del segundo aspecto de la invención, el derivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, parcialmente protegido que tiene los grupos 1- y 3"-amino (ó 3"-alquilamino) sin proteger es usado como material de partida y se disuelve o suspende en un disolvente orgánico inerte que sea apropiado. A la solución o suspensión resultante se le añade un éster de ácido alcanoico de la fórmula (VIII) o N-formilimidazol como agente acilante en una cantidad que sea por lo menos equimolar del material de partida usado. El disolvente orgánico inerte --
5. puede ser preferiblemente tal que muestre un alto poder de disolución para el material de partida, por ejemplo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida y triamida hexametilfosfórica, pero es posible usar tetrahidrofurano, dioxano, acetoni-
10. trilo, nitrometano, sulfolano, dimetilacetamida, cloroformo, diclorometano, metanol, etanol, n-butanol y t-butanol, así como los acuosos de estos disolventes. Puede usarse el benceno, tolueno y etiléter como disolvente del medio de reacción, aunque éstos no son muy apropiados ya que dan un ren-
15. dimiento más bajo del producto deseado. Con el agente acilante de la fórmula (VIII), R^a puede ser preferiblemente un grupo dihaloalquilo o tri-haloalquilo, particularmente diclorometilo, trifluorometilo o triclorometilo, y R^b puede ser preferiblemente un grupo alquiloxi tal como metoxi o --
20. etoxi. Cuando R^b es un grupo ariloxi, puede ser fenoxi. Ejemplos particulares del agente acilante (VIII) incluyen el --
25. formato de metilo, formato de etilo, formato de butilo, formato de bencilo, formato de fenilo, dicloroacetato de metilo, tricloroacetato de metilo, tricloroacetato de fenilo, --
30. trifluoroacetato de metilo, trifluoroacetato de etilo y tri

- fluoroacetato de fenilo. Usando esta clase de agente acilante, el grupo 3"-amino del material de partida puede ser preferencialmente formilado, dicloroacetilado, tricloroacetilado o trifluoroacetilado. El éster del ácido trifluoroacético, especialmente el trifluoroacetato de etilo es el más --
5. preferido. Esta clase del grupo acilo es ventajosa ya que -- es muy fácilmente retirable en el paso N-desprotector subsiguiente por un método de desprotección convencional. Si el éster alquílico del ácido alcanico de la fórmula (VIII) no
10. es empleado como agente acilante sino que, en su lugar, se emplea un anhídrido de ácido alcanico correspondiente o un éster activo del mismo, tal como el éster de N-hidroxisuccinimida, para el proceso de acilación (no de acuerdo con el segundo aspecto de la invención), no puede lograrse la aci-
15. lación selectiva del grupo 3"-amino pero se produce la subformación del producto 1-N-acilado y/o la formación de productos de acilación mezclados que comprenden principalmente el producto 1-N-acilado. Es digno de atención el hecho de -- que la acilación selectiva perseguida del grupo 3"-amino no
20. puede ser lograda cuando se usa un anhídrido de ácido o éster activo del mismo ácido alcanico para el agente acilante.

- Los agentes acilantes de la fórmula (VIII) disponibles en el segundo aspecto de la invención son de diferente reactividad y su reactividad está comprendida dentro de
25. una amplia gama de "fuerte" a "débil". Cuando se emplea un agente acilante de una reactividad fuerte, puede conducirse la reacción de acilación durante un breve tiempo de reacción bajo enfriamiento. Mientras que, cuando se emplea un agente
30. acilante de una reactividad débil, puede efectuarse la reac

ción de acilación bien sea bajo calentamiento o bien durante un tiempo de reacción prolongado. En general, no obstante, la temperatura de reacción puede ser convenientemente - del orden de -30 a $+120^{\circ}\text{C}$ y el tiempo de reacción puede ser

5. apropiadamente del orden de 30 minutos a 24 horas o incluso a 48 horas.

El producto selectivamente 3"-N-acilado deseado - así obtenido puede ser recuperado a partir de la mezcla de reacción de un modo conocido, por ejemplo, por evaporación

10. del disolvente o por precipitación con adición de agua, si es necesario, seguido de la purificación posterior del producto.

El mecanismo de reacción por el que puede conseguirse la 3"-N-acilación selectiva de acuerdo con el proceso del segundo aspecto de la invención no ha sido todavía -

15. completamente elucidado. Una interpretación posible es que el agente acilante de la fórmula (VIII) acila primeramente un grupo hidroxilo del material de partida para formar un -

20. producto de éster de forma intermedia y este grupo acilo -- O-esterificante es posteriormente desplazado o migrado a un grupo amino (correspondiendo el grupo 3"-amino o 3"-alquilo amino en el caso del presente proceso) cuando este grupo amino está próximo al hidroxilo esterificado formado de manera intermedia, por lo que resulta la acilación de dicho grupo

25. amino. Si se sigue esta suposición, es posible explicar la razón por la que el grupo 1-amino que no tiene grupo hidroxilo vecino no puede ser acetilado en el proceso del segundo aspecto de la invención. Además, está el hecho de que el producto de éster intermedio no puede ser obtenido cuando -

30. se conduce la trifluoroacetilación o formilación de acuerdo

- con el proceso del segundo aspecto de la invención. La razón por la que no se puede recuperar el producto del éster mediante trifluoroacetilación o formilación, es probablemente que el grupo O-trifluoroacetilo o el grupo O-formilo es
5. inestable y que una cantidad del grupo O-acilo inestable -- que no ha sufrido la desviación al grupo amino (a saber, la conocida migración $O \rightarrow N$ acilo) es retirado del grupo hidroxilo acilado en el curso de la recuperación y purificación del producto de 3"-N-acilación con el fin de restaurar el
 10. grupo hidroxilo libre. No obstante, esta invención no se limita a la interpretación precedente del mecanismo de reacción que se desarrolla en el presente proceso. De todos modos, parece que entre los compuestos que son disponibles como agente acilante de la fórmula (VIII) de acuerdo con el
 15. segundo aspecto de esta invención, son más apropiados para el fin del segundo aspecto de la invención los que tienen un grupo acilo que es más probable que dé un producto de éster más inestable cuando este grupo acilo es transformado en un grupo O-acilo por reacción con el grupo hidroxilo y
 20. dando así el producto de éster. Mientras tanto, es muy interesante destacar que cuando se lleva a cabo el proceso del segundo aspecto de la invención en vez del N-formilimidazol un N-alcanoilimidazol tal como N-acetil-imidazol, N-propionil-imidazol y N-butirol-imidazol, el grupo 3"-amino ó 3"-alquilamino del derivado de antibiótico aminoglicosídico --
 25. N-acilado, parcialmente protegido no es acilado pero un grupo hidroxilo vecino de dicho grupo 3"-amino ó 3"-alquilamino puede ser esterificado por el grupo alcanoilo del N-alcanoil-imidazol empleado para dar un producto de O-esterifica
 30. ción intermedio. Cuando es tratado posteriormente este pro-

- ducto de O-esterificación o la totalidad de la mezcla de --
 reacción que contiene este producto de O-esterificación con
 un reactivo alcalino tal como hidróxido de amonio a tempera
 tura ambiente, el grupo alcancilo O-esterificante se ve obli
 5. gado a desplazarse o migrar al grupo 3"-amino ó 3"-alquila-
 mino vecino, dando como resultado una acilación selectiva y
 por tanto la protección del grupo 3"-amino ó 3"-alquilamino.
 Así, la mezcla de reacción procedente de la reacción del de
 rivado del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, parcial-
 10. mente protegido con un N-alcancil-imidazol, en principio no
 parece contener el deseado producto 3"-N-acilado, pero a --
 partir de dicha mezcla de reacción puede recuperarse el de-
 seado producto 3"-N-acilado solamente una vez que se ha vuel
 to alcalina la mezcla de reacción por tratamiento con un --
 15. reactivo alcalino tal como amoníaco acuoso (véase el ejem--
 plo 71 dado más adelante).

- Como valiosa aplicación de los procesos del prime
 ro y segundo aspectos de esta invención, es posible propor
 cionar un proceso de alto rendimiento para la producción --
 20. del antibiótico aminoglicosídico 1-N-acilado que es conoci-
 do como agente antibacteriano semisintético. Así, esta in--
 vención incluye además un proceso para la producción de un
 antibiótico aminoglicosídico de 1-N-(α -hidroxi- ω -aminoalca
 noilo) partiendo del antibiótico aminoglicosídico de origen,
 25. comprendiendo el proceso una combinación del paso consisten
 te en preparar por el proceso antes citado de "acomplejado
 del zinc" del primer aspecto de la invención el derivado --
 del antibiótico aminoglicosídico N-acilado, parcialmente --
 protegido en el que los grupos 1-amino y 3"-amino ó 3"-al--
 30. quilamino no están protegidos y todos los otros grupos ami-

- no están protegidos; el paso consistente en preparar el derivado 1-N-no protegido y otro N-completamente-protegido -- por el proceso de 3"-N-acilación selectiva del segundo aspecto de la invención, el paso consistente en acilar el grupo 1-amino del derivado 1-N-no protegido y otro N-completamente-protegido obtenido por el paso de 3"-N-acilación precedente, con un ácido α -hidroxi- ω -aminoalcanoico, especialmente el ácido 3-amino-2-hidroxi-propiónico (isoserina) o -- ácido 4-amino-2-hidroxi-butírico; y finalmente el paso consistente en desproteger el producto de 1-N-acilación así obtenido.

- Más particularmente, de acuerdo con el tercer aspecto de la invención, se proporciona un proceso mejorado -- de producción de un derivado 1-N-(α -hidroxi- ω -aminoalcanoilo) de un antibiótico aminoglicosídico que comprende una
15. mitad de 6-O-(3"-amino- ó 3"-alquilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxiestreptamina que tiene opcionalmente un grupo 4-O-(aminoglicosilo), comprendiendo el proceso los pasos consecutivos consistentes en:

20. (a) hacer reaccionar cationes de zinc con el antibiótico aminoglicosídico en un disolvente orgánico inerte -- para producir el complejo de cationes de zinc con el antibiótico aminoglicosídico,

- (b) hacer reaccionar un reactivo de acilación --
25. que tiene un grupo acilo a introducir como grupo amino-protector, con el complejo de antibiótico aminoglicosídico-cationes de zinc formado en el paso anterior (a) *in situ* en el disolvente orgánico inerte, para producir un complejo de cationes de zinc con el derivado selectivamente N-acilado del
30. antibiótico aminoglicosídico que tiene los grupos amino ini

cialmente no-acomplejados acilados,

- (c) reaccionar el complejo de derivado de antibiótico aminoglicosídico-cationes de zinc selectivamente N-acilado obtenido en el paso anterior (b), con un reactivo que
5. retire los cationes de zinc del complejo de zinc N-acilado, para dar un derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado, parcial y selectivamente protegido que esté libre de cationes de zinc y en el que los grupos 1-amino y 3"-amino ó 3"-alquilamino no están protegidos pero todos los otros -
10. grupos amino de la molécula de aminoglicósido están protegidos por el grupo acilo.

(d) reaccionar el derivado N-acilado, parcial y selectivamente protegido obtenido en el paso (c) que precede con un éster de ácido alcanoico de la fórmula (VIII):

15.

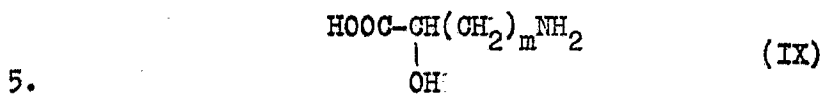


- en la que R^a es un átomo de hidrógeno o un grupo dihaloalquilo o trihaloalquilo de 1-6 átomos de carbono y R^b es un
20. grupo alquiloxi de 1-6 átomos de carbono, un grupo aralquiloxi de 1-6 átomos de carbono, particularmente un grupo benciloxi o un grupo ariloxi, particularmente grupo fenoxi, o N-formilimidazol como grupo acilante en un disolvente orgánico inerte para acilar selectivamente el grupo 3"-amino ó
25. 3"-alquilamino con el grupo acilo R^aCO- de dicho agente acilante y para dar así el derivado 1-N-no protegido y otro N-completamente-acilado-protegido del antibiótico aminoglicosídico en el que todos los grupos amino distintos del grupo 1-amino están protegidos con el grupo acilo.

30.

(e) reaccionar el derivado 1-N-no protegido y otro

N-completamente-prottegido obtenido en el paso (d) precedente con un ácido α -hidroxi- ω -aminoalcanoico de la fórmula (IX):



5.

en la que m es 1 ó 2 ó un derivado reactivo equivalente del mismo, cuyo grupo amino esté no protegido o bien protegido, para acilar el grupo 1-amino de dicho derivado 1-N-no protegido,

10.

(f) y retirar después los grupos amino-protectores residuales del producto de 1-N-acilación obtenido en el paso (e) que precede, por un método desprotector convencional.

15.

Describimos a continuación de forma más completa el modo de llevar a la práctica el proceso del tercer aspecto de esta invención.

20.

Los antibióticos aminoglicosídicos que son disponibles como material inicial en el primer paso (a) del presente proceso son los mismos que los descritos anteriormente con respecto al proceso del primer aspecto de esta invención, y la reacción de acomplejado de los cationes de zinc con el antibiótico aminoglicosídico es lograda también del mismo modo que se ha descrito anteriormente. La acilación del complejo de antibiótico aminoglicosídico-cationes de --

25.

zinc así obtenido en el primer paso (a) puede efectuarse en el segundo paso (b) del presente proceso del mismo modo que se ha descrito anteriormente con respecto al proceso del -- primer aspecto de la invención. La retirada de los cationes de zinc del complejo de antibiótico aminoglicosídico selec-

30.

tivamente N-acilado y de cationes de zinc así obtenido pue-

- de conducirse en el tercer paso (c) del presente proceso de varios modos como se ha descrito anteriormente, con lo que se obtiene un derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado parcial y selectivamente protegido que está libre -
5. de cationes de zinc y en el que los grupos 1-amino y 3"-ami-
no o 3"-alquilamino no están protegidos pero todos los otros
grupos amino de la molécula de aminoglicósido están bloquea-
dos con el grupo acilo del reactivo de acilación empleado -
en el paso (b) del presente proceso. Este derivado N-acila-
10. do, parcial y selectivamente protegido del antibiótico ami-
noglicosídico reacciona posteriormente con un éster de áci-
do alcanoico de la fórmula (VIII) o N-formilimidazol en el
paso (d) del presente proceso del mismo modo que se ha des-
crito anteriormente con respecto al proceso del segundo as-
15. pecto de esta invención, para obtener la 3"-N-acilación se-
lectiva del derivado del antibiótico aminoglicosídico par-
cialmente N-protegido sin acilación del grupo 1-amino del -
mismo.

- En el quinto paso (e) del presente proceso, se ha
20. ce reaccionar el derivado 1-N-no protegido y otro N-comple-
tamente-protegido del antibiótico aminoglicosídico obtenido
en el paso (d) precedente con un ácido α -hidroxi- ω -aminoal-
canoico de la fórmula (X), particularmente ácido 3-amino-2-
hidroxipropiónico (como DL-isoserina, D-isoserina o L-ise-
25. rina) o ácido L-4-amino-2-hidroxi-butírico para acilar el --
grupo 1-amino del antibiótico aminoglicosídico con el grupo
3-amino-2-hidroxi-propionilo ó 4-amino-2-hidroxi-butirilo. -
Esta 1-N-acilación puede conducirse generalmente como se ha
descrito en la patente británica nº1.426.908 ó en la paten-
30. te estadounidense nº 4.001.208 de acuerdo con cualquier mé-

- todo conocido de síntesis de amidas por reacción del derivado del antibiótico aminoglicosídico protegido con una isoserina o ácido L-4-amino-2-hidroxi-butírico, ya sea en su forma ácida libre o bien en la forma de su equivalente reactivo tal como un éster activo, por ejemplo el éster de dicitclohexilcarbodiimida, anhídrido de ácido mezclado, azida de ácido en un disolvente orgánico inerte tal como dioxano, dimetoxietano, dimetilformamida, tetrahydrofurano o estos disolventes acuosos. La isoserina y el ácido L-4-amino-2-hidroxi-butírico pueden ser tales que el grupo amino haya sido bloqueado con un grupo amino-protector. Puede ser un grupo amino-protector apropiado para este fin el mismo o diferente del que fue usado en el derivado del antibiótico aminoglicosídico 1-N-no protegido pero también otro N-completamente-prottegido a 1-N-acilar. El grupo t-butoxicarbonilo es un grupo amino-protector preferido, ya que puede retirarse fácilmente por tratamiento con un ácido diluido tal como ácido trifluoroacético acuoso, ácido acético acuoso y ácido clorhídrico diluido. El grupo benciloxicarbonilo que es retirado por hidrogenólisis catalítica convencional sobre catalizador de óxido de paladio o platino, así como el grupo ftaloilo que es retirado fácilmente por hidrólisis con hidracina son muy convenientes como grupo amino-protector para tal fin.
25. La reacción de acilación del paso de 1-N-acilación (e) del proceso del cuarto aspecto de la invención puede conducirse preferiblemente en un disolvente orgánico acuoso usando un éster activo del ácido α -hidroxi- ω -aminoalcanóico (X). El éster activo apropiado puede ser el éster de N-hidroxisuccinimida de isoserina o ácido L-4-benciloxicarbo-

nilamino-2-hidroxi-butírico, y este éster activo puede ser empleado en una cantidad de 1 a 2 moles, favorablemente de 1 a 1,5 moles por mol del aminoglicósido a 1-N-acilar. El disolvente orgánico miscible con el agua para usar en el medio de reacción puede ser preferiblemente dioxano, dimetoxietano, dimetilformamida, tetrahydrofurano.

Posteriormente al paso anterior (e), se lleva a cabo el paso N-desprotector (f) del presente proceso para retirar todos los grupos amino-protectores residuales del producto de 1-N-acilación obtenido en el paso anterior (e). La retirada del grupo amino-protector residual puede ser llevada a cabo por una técnica N-desprotectora convencional. El grupo amino-protector residual que es de un tipo alcoxicarbonilo puede ser retirado por hidrólisis con una solución acuosa de ácido trifluoroacético o ácido acético o con una solución de ácido diluido tal como ácido clorhídrico diluido. El grupo amino-protector residual que es de un tipo aralquiloalcoxicarbonilo, por ejemplo benciloxicarbonilo, es retirado fácilmente por hidrogenólisis catalítica convencional. Cuando todos los grupos amino-protectores residuales son retirados del producto de 1-N-acilación del paso (e) del presente proceso, se obtiene el deseado antibiótico 1-N-(2-hidroxi-3-aminopropionil)- ó 1-N-(2-hidroxi-4-aminobutiril)-aminoglicósido con un alto rendimiento.

Algunos ejemplos del antibiótico 1-N-(α -hidroxi- ω -aminoalcanoil)-aminoglicósido que es producido por el proceso del cuarto aspecto de la invención son relacionados a continuación:

.../...

30.

.../...

- (1) 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-kanamicina A
 (2) 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3'-desoxikanamicina A
 (3) 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3',4'-didesoxikana--
 micina A
 5. (4) 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-tobramicina
 (5) 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-dibekacina
 (6) 1-N-(3-amino-2-hidroxi-propionil)-dibekacina.

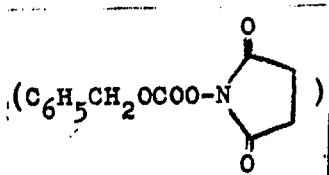
Otra aplicación de los procesos del primero y se--
 gundo de los aspectos de esta invención es producir antibió--
 10. tico 1-N-alquilaminoglicosídico a partir de todos los deriva--
 dos aminoglicosídicos N-acilados que contienen el grupo 1-ami--
 no no protegido, y un ejemplo de esta aplicación es producir
 netilmicina o sus 1-N-alquil-análogos a partir de sisomicina
 por alquilación con un aldehído alifático inferior y cianobo--
 15. rohidruro.

Esta invención será también ilustrada pero no lími--
 tada por los siguientes Ejemplos.

Ejemplo 1

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

20. (i) Se suspendieron 2,0 gr. (4,13 m moles) de kanamici--
 na A (base libre en una mezcla de dimetilsulfóxido (50 ml) y
 tetrahidrofurano (20 ml) y 4 gr. (18,1 m moles) de zinc (II),
 se añadió dihidrato de acetato a la suspensión, seguido de --
 la agitación a temperatura ambiente hasta que la mezcla de --
 25. reacción formó una solución homogénea. Tardó aproximadamente
 4-5 horas para formar un complejo de zinc de kanamicina A y
 disolverse. La solución resultante fue enfriada entonces a --
 0°C, y se le añadió lentamente durante una hora aproxima--
 damente una solución enfriada a (0°C) de 2,37 gr. (9,5 m moles)
 30. de N-benciloxicarboniloxisuccinimida (-----.../...)



- (C₆H₅CH₂OCOO-N) disuelta en una mezcla (40 ml) de tetrahydrofurano-dimetilsulfóxido (1 : 1 en volumen). La solución de reacción fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 4 horas, tiempo durante el cual el complejo de zinc de la kanamicina A sufrió benciloxycarbonilación (la acilación de acuerdo con el primer aspecto de la invención).

- Una muestra tomada de la solución de reacción así obtenida fue sometida a la cromatografía de capa delgada de gel de sílice usando como disolvente de revelado la fase líquida inferior de una mezcla de cloroformo-metanol-28% de amoníaco acuoso (1 : 1 : 1 en volumen), lo que dió una mancha principal del producto deseado a R_f = 0,23 y dos o tres manchas menores atribuidas a los subproductos en puntos superiores.

- (ii) Se vertió la solución de reacción antes citada en 500 ml. de éter de etilo y el aceite separado fue lavado varias veces con otros volúmenes de éter de etilo para dar 8,8 gr. de un material siruposo espeso.

- (iii) La retirada del catión de zinc del material siruposo (comprendiendo sustancialmente el complejo de zinc) fue realizada por uno de los siguientes procedimientos diferentes:

- (A) Usando una resina cambiadora de cationes débilmente ácida que lleva el grupo carboxilo (-COOH) como grupo funcional (comercialmente disponible como resina "Amberlite" CG 50 (forma H⁺) de Rohm & Haas Co., EE.UU.).

- Se saturaron primeramente, de forma completa, 60 ml. de resina Amberlite CG 50 (forma H⁺) con una mezcla de agua-dioxano (2 : 1) y luego se introdujeron en una columna.

- Se pasó una solución de 1 gr. de la sustancia siruposa (disuelta en 20 ml. de agua-dioxano (1 : 1) a través de la columna, que fue posteriormente revelada con agua-dioxano (2 : 1) conteniendo 1% de ácido acético. El eluado fue recogido -
5. en fracciones. La 3,6-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A deseada que era positiva a la reacción con ninhidrina fue eluida primeramente de la columna, y posteriormente se eluyó acetato de zinc que era sensible a la coloración por difenilcarbocida. Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad. El
10. residuo fue lavado con éter de etilo para dar 340 mg. (81%) de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A como sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} + 76^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

15. Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{15} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:
- C, 51,23; H, 6,56; N, 6,29%
- Hallado: C, 51,02; H, 6,71; N, 6,22%

- (B) Usando una resina cambiadora de cationes débil portadora del grupo carboxilato como grupo funcional (comercialmente disponible como resina "Amberlite" CG 50 (forma NH_4^+) - de Rohm & Haas Co.).
20. Se disolvió 1 gr. del material siruposo obtenido en el Ejemplo anterior 1 (ii) en 20 ml. de agua-dioxano (1 : 1) y la solución fue pasada a través de una columna de 60 ml. de resina Amberlite CG 50 (forma NH_4^+) y fue sometida a elución de gradiente lineal con agua-dioxano (1 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 0,1 N. No se eluyó el catión de zinc pero sí se eluyó el producto deseado, 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A. Las fracciones del eluado que contenía el producto de benciloxicarbonilación deseado fueron concentradas
- 25.
- 30.

hasta la sequedad para dar 328 mg (89%) del producto deseado como un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} = +86^{\circ}$ (c 1, agua, dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental:

5. Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{15} \cdot 1/2H_2CO_3$:
 C, 52,87; H, 6,30; N, 7,15%
 Hallado: C, 52,50; H, 6,59; N, 7,00%
- (C) Usando una resina cambiadora de cationes portadora del grupo funcional fuertemente ácido $-SO_3H$ (comercialmente disponible como resina "Dowex" 50W X 2 de Dow Chemical Co.).
10. Se echaron en una columna 30 ml. de resina Dowex -50W X 2 (forma H^+) que había sido sumergida en agua-dioxano (2 : 1), a través de la cual se pasó después una solución de 1 gr. del material siruposo obtenido en el Ejemplo 1 (ii) en
15. 20 ml. de agua-dioxano (2 : 1). La columna fue lavada con -- agua-dioxano (2 : 1) hasta que el efluente de la columna mos tró una naturaleza neutra, y luego se realizó la elución de gradiente lineal con agua-dioxano (2 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 1 N. Las fracciones del eluado conteniendo la 3,6'-
20. di-N-benciloxycarbonilkanamicina A deseada fueron concentra-das hasta la sequedad bajo presión reducida para dar 311 mg (84%) de un sólido de color blanco que era idéntico al obte-nido en el Ejemplo 1 (iii) (B).
- (D) Procedimiento alternativo usando Dowex 50W X 2
25. Una solución de 1 gr. del material siruposo obteni-do en el Ejemplo 1 (ii) en 20 ml. de agua-metanol (3 : 1) -- fue cargada en una columna de 30 ml. de Dowex 50W X 2 (forma H^+) previamente humectada con agua-metanol (3 : 1). La colum-na fue bien lavada con agua-metanol (3 : 1), realizando des-
30. pués la elución de gradiente con agua-metanol (3 : 1) conte-

niendo ácido clorhídrico 0 a 6 N. Las fracciones activas -- que contenían la 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A deseada fueron recogidas y mezcladas con una resina cambiadora de aniones fuertemente básica, resina Dowex 1 X 2 (forma OH) en una cantidad suficiente para hacer la mezcla ligeramente ácida.

La mezcla fue filtrada y el filtrado fue concentrado hasta la sequedad para dar 285 mg (72%) del producto deseado bajo la forma de diclorhidruro. $[\alpha]_D^{25} + 79^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

(E) Usando una resina cambiadora de aniones portadora del grupo amonio cuaternario funcional fuertemente básico -- (comercialmente disponible como resina Dowex 1 X 2 de Dow Chemical Co.).

15. Se dispuso una solución de 1 gr. del material siruposo obtenido en el Ejemplo 1 (ii) en agua-dioxano (1 : 1) en una columna de 30 ml. de resina Dowex 1 X 2 (forma OH) -- previamente impregnada con agua-dioxano (1 : 1), y después se reveló la columna con agua-dioxano (1 : 1) a una velocidad relativamente alta. Las fracciones del eluado que contenían el producto deseado fueron recogidas y concentradas -- hasta la sequedad para dar 305 mg (84%) de un sólido incoloro que era idéntico al del Ejemplo 1 (iii) (B).

(F) Usando una resina cambiadora de aniones portadora del grupo funcional débilmente básico (comercialmente disponible como resina Dowex WGR, un producto de Dow Chemical -- Co.).

25. Se disolvió 1 gr. del material siruposo obtenido -- en el Ejemplo 1 (ii) en 20 ml. de agua-dioxano (2 : 1) y la 30. solución fue pasada a través de una columna de 50 ml. de re

sina Dowex WGR (forma de base) previamente saturada con - -
 agua-dioxano (2 : 1), seguido de la elución con agua-dioxa-
 no (2 : 1). La 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A dese-
 seada fue eluida en ciertas fracciones junto con una traza
 5. de catión de zinc arrastrado. Estas fracciones fueron combi-
 nadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar --
 450 mg de un sólido incoloro. El sólido podría ser usado -
 directamente como material de partida para la producción de
 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxitiril) kanamicina A de acuerdo
 10. con el método de 1-N-acilación del Ejemplo 31 dado más ade-
 lante, en el que la traza de catión de zinc restante en el
 material de partida sólido no tiene influencia adversa so-
 bre la reacción de acilación efectuada en el Ejemplo 31.

(G) Usando una resina cambiadora de quelatos portado-
 15. ra del grupo funcional débilmente ácido (comercialmente dis-
 ponible como resina Dowex A 1, un producto de Dow Chemical
 Co., EE.UU.).

Se introdujo una solución de 1 gr. del material -
 siruposo obtenido en el Ejemplo 1 (ii) en agua-dioxano - -
 20. (1 : 1) dentro de una columna de 50 ml. de resina Dowex A 1
 que había sido saturada con agua-dioxano (1 : 1) contien-
 do 1% de amoníaco, seguido de la elución de gradiente con -
 mezclas de agua-dioxano (1 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 1
 N. Las fracciones del eluado conteniendo la 3,6'-di-N-benci-
 25. loxicarbonilkanamicina A deseada que fueron eluidas solamen-
 te en una fase posterior como efluente de la columna, fue-
 ron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad pa-
 ra dar 272 mg (74%) del producto deseado como un sólido de
 color blanco.

30.

.../...

(H) Usando Quitosano (un polímero insoluble en el agua que contiene grupos funcionales capaces de combinarse con un metal, comercialmente disponible como un producto de To-ko Kasei Koyo Co., Ltd. Japón).

5. Se impregnaron completamente 100 ml. de Quitosano con agua-metanol (3 : 1) y se colocaron en una columna, a través de la cual se pasó después una solución de 1 gr. del material siruposo obtenido en el Ejemplo 1 (ii) en agua-metanol (3 : 1). La columna fue sometida a revelado con agua-metanol (3 : 1), cuando se eluyó primeramente la 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A deseada y se eluyó el acetato de zinc mucho después. Las fracciones del eluado que contenían el primer producto fueron combinadas y concentradas hasta la sequedad para dejar un residuo, que fue disuelto en agua-dioxano (1 : 1) y la solución fue colocada en una columna de resina Amberlite CG 50 (forma NH_4^+) pretratada con agua-dioxano (1 : 1). La columna fue bien lavada con agua-dioxano (1 : 1) y luego sometida a la elución de gradiente con agua-dioxano (1 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 0,1 N. Las fracciones sensibles a la reacción de ninhidrina fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 301 mg (82%) de un sólido incoloro que era idéntico al obtenido en el Ejemplo 1 (iii) (B).

- (I) Usando un polímero superior portador de grupos funcionales carboxilo (comercialmente disponible como "CM-Sephadex" G-25, que es un agente de filtración de gel de intercambio iónico consistente en un gel de dextrano carboximetil-sustituido, un producto de Pharmacia Fine Chemical Co. Suecia).

30. Una solución de 1 gr. del material siruposo obte-

- nido en el Ejemplo 1 (ii) en agua-dioxano (1 : 1) fue pasado a través de una columna de 40 ml. de CM-Sephadex C-25 -- (forma NH_4^+) que había sido bien saturada con agua-dioxano (1 : 1). La columna fue lavada con 200 ml. de agua-dioxano
5. (1 : 1) y posteriormente sometida a elución de gradiente -- usando agua-dioxano (1 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 0,1 N. No se eluyó catión de zinc de la columna sino que solamente se eluyó la 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A deseada. El eluado fue concentrado hasta la sequedad para dar 303 mg
10. (82%) de un sólido incoloro idéntico al del Ejemplo 1 (iii) (B).

(J) Usando sulfuro de hidrógeno como agente precipitador del zinc.

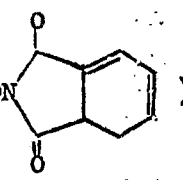
- Se disolvió 1 gr. del material siruposo obtenido
15. en el Ejemplo 1 (ii) en 20 ml. de agua-metanol (1 : 1), a lo que se añadió después amoníaco acuoso, seguido de la introducción de una cantidad suficiente de sulfuro de hidrógeno. La mezcla de reacción conteniendo el precipitado de sulfuro de zinc formado fue filtrada sobre un filtro de vidrio
20. que fue llenado con material filtrante "Celite", y el filtrado fue concentrado bajo presión reducida para dejar un material siruposo, que fue bien lavado con éter de etilo para dar un residuo sólido. Este residuo fue recogido en un volumen de agua-dioxano (1 : 1) y la solución fue cromato-
25. grafiada en una columna de 30 ml. de Amberlite IRA 900 (forma OH, resina fuertemente básica, un producto de Rohm & Haas Co.) usando agua-dioxano (1 : 1) como disolvente de revelado. El eluado fue recogido en fracciones, y las fracciones que contenían 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A -
30. fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad

para dar 235 mg (64% de un sólido incoloro que era idéntico al del Ejemplo 1 (iii) (B).

Ejemplo 2

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

5. Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 15 ml. de dimetilsulfóxido, a la que se añadieron después 420 mg (3,09 m moles) de cloruro de zinc y 840 mg (6,18 m moles) de trihidrato de acetato sódico). Después de la agitación de la mezcla a temperatura ambiente durante 10 horas, a la mezcla conteniendo el complejo de kanamicina A-zinc formado se le añadió durante media hora aproximadamente una solución de 675 mg (2,27 m moles)

15. de N-benciloxicarboniloxiftalimida ($C_6H_5-CH_2-OCOON$ )

disuelta en 10 ml. de dimetilsulfóxido. La mezcla resultante fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 4 horas.

20. Posteriormente, la mezcla de reacción fue tratada del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) (I) para dar 598 mg. (74%) de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A bajo la forma de un sólido incoloro.

Ejemplo 3

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

25. Se agitaron durante una hora 600 mg. (0,95 m moles) de tetraclorhidruro de kanamicina A y 150 mg. (3,8 m moles) de hidróxido de sodio en 15 ml. de dimetilsulfóxido, a lo que se añadió después 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc, seguido de la agitación continuada -
- 30.

- durante 5 horas más. A la mezcla que contenía el complejo de kanamicina A-zinc formado se añadió durante 30 minutos una solución de 545 mg (2,2 m moles) de N-benciloxicarboniloxi--succinimida disuelta en 5 ml. de dimetilsulfóxido-tetrahydro
5. furano (1 : 1). Después de agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche, se añadió a la misma éter de etilo para depositar el complejo de zinc N-acilado bajo la forma de un precipitado. El precipitado fue posteriormente tratado siguiendo el mismo procedimiento que se ha descrito
10. to en el Ejemplo 1 (iii) (H) para dar 581 mg (78%) de un sólido incoloro del compuesto del título.

Ejemplo 4

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

- (i) Se disolvieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 20 ml. de una mezcla de agua-dimetilsulfóxido (1 : 9), a la que se añadieron después 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc y posteriormente 590 mg (2,4 m moles) de B-benciloxicarboniloxisuccinimida. Después de dejar la mezcla en reposo a temperatura ambiente durante la noche, se añadió una gran cantidad de éter de etilo a la mezcla, dando como resultado la separación de una capa siruposa acuosa, que fue lavada varias veces con éter de etilo para dar una capa siruposa espesa.
15. (ii) El material siruposo así obtenido fue disuelto en agua-metanol (3 : 1) y la solución fue pasada a través de una columna de 200 ml. de Quitosano. La columna fue eluida con agua-metanol (3 : 1) y el eluido fue recogido en fracciones. Las fracciones positivas a la reacción de ninhidrina fueron combinadas entre sí y concentradas en un pequeño volumen. El concentrado fue colocado en una columna de resina Am
20. 25. 30.

- berlite CG 50 (forma NH_4^+) y la columna fue bien lavada con una mezcla de agua-dioxano (1 : 1) y posteriormente sometida a la elución de gradiente con agua-dioxano (1 : 1) conteniendo amoníaco 0 a 0,1 N. Las fracciones del eluado que --
5. contenían el producto deseado fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 494 mg (61%) de un sólido incoloro que era idéntico al obtenido en el Ejemplo 1 (iii) (B).

Ejemplo 5

10. Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

- Se disolvieron 500 mg (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 20 ml. de una mezcla de agua-tetrahi--
15. drofurano (1 : 3), a la que se añadió después 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc, seguido de la adi--
20. ción de 590 mg (2,4 m moles) de N-benciloxicarboniloxisucci--
nimida. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambien--
te durante la noche y la solución de reacción así obtenida fue concentrada bajo presión reducida. El residuo fue pasa--
do a través de una columna de 200 ml. de Quitosano y el --
20. efluente procedente de la columna fue tratado posteriormen--
te del mismo modo que en el Ejemplo 4 (ii) para dar 414 mg (51%) de un sólido incoloro del compuesto del título.

Ejemplo 6

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

25. (i) Se disolvieron 500 mg (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 15 ml. de una mezcla de agua-metanol --
- (1 : 7), a la que se añadieron después 1,5 gr. (6,8 m moles) de dihidrato de acetato de zinc, seguido de la adición de --
30. 590 mg (2,4 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida --
en 7 ml. de tetrahidrofurano. La mezcla fue dejada en repo--

- so a temperatura ambiente durante la noche y la solución de reacción así obtenida fue concentrada bajo presión reducida. El residuo fue pasado a través de una columna de 200 ml. de Quitosano y el efluente procedente de la columna fue tratado posteriormente del mismo modo que en el Ejemplo 4 (ii) para dar 442 mg (55%) de un sólido incoloro del compuesto del título.

Ejemplo 7

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A

10. Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 20 ml. de dimetilsulfóxido y se añadieron 272 mg. (1,24 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 10 horas para formar una solución sustancialmente transparente, a la que se añadieron después por pequeñas porciones, durante aproximadamente 2 horas, 540 mg. (2,17 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. Después de dejar en reposo la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche, se añadió un gran volumen de éter de etilo y el material oleoso separado fue recogido y lavado varias veces con éter de etilo para dar un material siruposo espeso.

25. La cromatografía en capa delgada de gel de sílice de una muestra cogida del material siruposo usando cloroformo-metanol-amoniaco acuoso al 28% (1 : 1 : 1 en volumen, fase inferior) como disolvente de revelado indicó las siguientes manchas:

30. --pequeña mancha a R_f 0,4 de 1,3,6',3"-tetra-N-benciloxicarbonilkanamicina A (que desarrolló un color al ser pulverizada con ácido sulfúrico y

calentándola posteriormente);

--débil mancha a R_f 0,28;

--mancha principal a R_f 0,23 del producto deseado:

3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A;

5. --pequeña mancha a R_f 0,12 de 6'-N-benciloxicarbonilkanamicina A; y
- mancha extremadamente débil a R_f 0 de kanamicina A sin reaccionar.

No se observó prácticamente mancha alguna corres-

10. pondiente a la tri-N-benciloxicarbonilkanamicina A que debería aparecer R_f 0,28 a 0,4.

El material siruposo espeso antes citado fue disuelto en agua-dioxano (1 : 1) y la solución fue pasada a través de una columna de 100 ml. de resina CM-Sephadex C-25 (forma

15. NH_4^+) previamente humectada con agua-dioxano (1:1). Posteriormente, la columna fue sometida al proceso de elución del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 1 (iii) (I), por lo que se retiró el catión de zinc y se separó el producto deseado de los otros productos para dar 412 mg (51%) del compuesto del título como un sólido incoloro.
- 20.

A título de comparación, se repitió el procedimiento que se acaba de mencionar pero sustituyendo el dihidrato de acetato de zinc por 308 mg (1,24 m moles) de tetrahidrato de acetato de níquel (II), con el resultado de que se obtuvo

25. la 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A deseada bajo la forma de un sólido incoloro solamente con un pobre rendimiento de 59 mg (7,3%).

30.

.../... (Continúa en Ejemplo 8).

Ejemplo 8Preparación de 3,6'-di-N-(p-metoxibenciloxicarbonil)kanamicina A.

- Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que se formó una solución homogénea, a la que se añadió después, durante aproximadamente 30 minutos, una solución de 789 mg (2,6 m moles) de éster de p-metoxicarbобензоxi p-nitrofenilo ($p\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{OCOO}\text{C}_6\text{H}_4\text{p-NO}_2$) disuelta en 10 ml. de dimetilsulfóxido. La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente y fue tratada posteriormente del mismo modo que en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) (B) para dar 722 mg (83%) de un sólido incoloro del compuesto del título. $[\alpha]_D^{25} + 87^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1:2).

Análisis elemental

Calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{17} \cdot 1/2\text{H}_2\text{CO}_3$:

C, 51,95; H, 6,33; N, 6,64%

20. Hallado: C, 51,56; H, 6,41; N, 6,53%

Ejemplo 9Preparación de 6'-N-(t-butoxicarbonil)kanamicina A.

- Siguiendo el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 8 con la excepción de que se sustituyó el éster de p-metoxi-carbобензоxi p-nitrofenilo por 220 mg. (1,54 m moles) de t-butoxicarbonilazida, se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro. Rendimiento 627 mg $[\alpha]_D^{25} = + 96^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 10).

Ejemplo 10Preparación de 3,6'-di-N-trifluoroacetil-kanamicina A

- Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió
5. 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que se formó una solución homogénea, a la que se añadió -- después una solución de 1,2 gr. (5,1 m moles) de éster de --
10. p-nitrofenol del ácido trifluoroacético disuelto en 10 ml. de dimetilsulfóxido. La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente y fue tratada posteriormente con éter de etilo como se indica en el Ejemplo 1 (ii). El material siruposo insoluble en el éter fue tratado posteriormente del mismo modo que en el Ejemplo 1 (iii) (A)
15. para dar 590 mg (70%) del compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro. $\left[\alpha_D^{25} + 81^\circ \right]$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

- Calculado para $C_{22}H_{34}N_4O_{13}F_6 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:
20. C, 38,33; H, 5,44; N, 6,88; F, 13,99%
- Hallado: C, 38,03; H, 5,48; N, 6,54%

Ejemplo 11Preparación de 3,6'-di-N-fenoxicarbonilkanamicina A

- Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (Base libre) en una mezcla de dimetilsulfóxido (15 ml) y tetrahidrofurano (5 ml) y se añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión, seguido de la agitación a temperatura ambiente hasta que la mezcla de --
30. reacción formó una solución homogénea. La solución resultante fue entonces enfriada a 0°C, y se le añadió lentamente --

- una solución enfriada (a 0°C) de 400 mg (2,55 m moles) de --
 cloruro de fenoxicarbonilo (C_6H_5OCOCl) en 3 ml. de tetrahi--
 drofurano. La solución de reacción fue puesta a temperatura
 ambiente durante una hora y posteriormente dejada en reposo
 5. a tal temperatura durante 3 horas. Posteriormente, la mezcla
 de reacción fue tratada con éter de etilo como se ha mencio--
 nado en el Ejemplo 1 (ii) y el material siruposo insoluble --
 en el éter fue tratado después por el mismo procedimiento --
 que en el Ejemplo 1 (iii) (A) para dar 625 mg (70%) de un só
 10. lido incoloro del compuesto del título $[\alpha]_D^{25} + 73^\circ$ (c 1, --
 agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{32}H_{44}N_4O_{15} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 50,11; H, 6,31; N, 6,49%

15. Hallado: C, 49,77; H, 6,60; N, 6,11%

Ejemplo 12

Preparación de 3,6'-di-N-acetilkanamicina A

- La mezcla de reacción obtenida por el mismo proce--
 dimiento que en el Ejemplo 8, con la excepción de que se usó
 20. 260 mg. (2,6 m moles) de anhídrido acético en vez del éster --
 de p-metoxicarbobenzoxi p-nitrofenilo, fue tratada del mismo
 modo que se ha descrito en el Ejemplo 1 (iii) (A). Se prepa--
 raron de este modo 525 mg. (72%) del compuesto del título co
 25. mo un sólido incoloro $[\alpha]_D^{25} + 93^\circ$ (c 1, agua-dimetilforma--
 mida, 1 : 2).

Análisis

Calculado para $C_{22}H_{40}N_4O_{13} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 44,19; H, 7,13; N, 7,93%

Hallado: C, 44,20; H, 7,07; N, 7,85%

30. .../...

Ejemplo 13Preparación de 3,6'-di-N-formilkanamicina A

- Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió
5. a la suspensión 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó una solución homogénea, a la que se añadieron después 690 mg. (4,12 m moles) de p-nitrofenilformato ($\text{OHCOOC}_6\text{H}_4\text{-p-NO}_2$). La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la
10. noche a temperatura ambiente y posteriormente tratada del mismo modo que en el Ejemplo 1 (iii) (H). Las fracciones positivas a la reacción con ninhidrina fueron combinadas entre sí, borboteadas con dióxido de carbono gaseoso y después concentradas hasta la sequedad. Se obtuvieron de este modo
15. mg (67%) del compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} + 101^{\circ}$ (c 1, agua).

Análisis

Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{13} \cdot \text{H}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$:

C, 40,64; H, 6,50; N, 9,03%

20. Hallado: C, 40,43; H, 6,47; N, 8,83%

Ejemplo 14Preparación de 3,6'-di-N-tosilkanamicina A

- Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 15 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió
25. 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó una solución homogénea, a la que se añadió después, lentamente, una solución de 400 mg. (2,1 m moles) de cloruro de tosilo en 7 ml. de tetrahidrofurano. La mezcla
30. resultante fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante

- una hora, seguida de otra adición de 200 mg. de cloruro de -
tosilo disuelto en 3,5 ml. de tetrahidrofurano. La mezcla de
reacción fue dejada en reposo durante dos horas más y después
fue tratada por el procedimiento idéntico al descrito en el
5. Ejemplo 1 (ii) y (iii) (A), dando 270 mg. (28%) de un sólido
incolore del compuesto del título. $[\alpha]_D^{25} + 68^\circ$ (c 1, agua-
dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis

- Calculado para $C_{32}H_{48}N_4O_{15}S_2 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:
10. C, 46,44; H, 6,28; N, 6,02; S, 6,89%
- Hallado: C, 46,31; H, 5,98; N, 6,31; S, 6,55%

Cuando se repitió el procedimiento de reacción an-
terior pero omitiendo el acetato de zinc, no se recuperó can-
tidad sustancial alguna del sólido incoloro.

15. Ejemplo 15

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-6'-N-metilkanami-
cina A.

- Se suspendieron 500 mg. (1,0 m mol) de 6'-N-metil-
kanamicina A (base libre en 12 ml. de dimetilsulfóxido y se
20. añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc
a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambien-
te hasta que formó una solución homogénea, a la que se aña-
dió posteriormente, durante 30 minutos, una solución de 550
mg. (2,2 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida di- -
25. suelta en 5 ml. de dimetilsulfóxido-tetrahidrofurano (1 : 1).
La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la noche a
temperatura ambiente y seguidamente fue tratada del mismo mo-
do que en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) (A) para dar 720 mg.
(79%) de un sólido incoloro del compuesto del título.

30. $[\alpha]_D^{25} + 74^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 indicado más adelante dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-6'-N-metilkanamicina A.

5. Ejemplo 16

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxikanamicina A.

Se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro con un rendimiento de 765 mg. (82%) repitiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 15 pero partiendo de 500 mg. (1,07 m moles) de 3'-desoxikanamicina A -- (base libre) y usando 610 mg. (2,45 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. $[\alpha]_D^{25} = + 76^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

15. Análisis

Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{14} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 52,16; H, 6,68; N, 6,40%

Hallado: C, 51,99; H, 6,75; N, 6,20%

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3'-desoxikanamicina A.

Ejemplo 17

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-6'-N-metilkanamicina A.

Se obtuvo el compuesto del título con un rendimiento de 737 mg (80%) repitiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 15 pero partiendo de 500 mg. (1,04 m moles) de -- 3'-desoxi-6'-N-metilkanamicina A (base libre) y usando 595 -
30. mg. (2,4 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. - -

$[\alpha]_D^{25} + 73^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2)

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3'-desoxi-6'-N-me-

5. tilkanamicina A.

Ejemplo 18

Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-4'-desoxikanamicina A.

Partiendo de 500 mg. (1,07 m moles) de 4'-desoxika
10. namicina A base libre (véase "Journal of Antibiotics", Vol. 27, páginas 838-849 (1974); "Bulletin of the Chemical Society of Japan", Vol. 50, páginas 2362-2368 (1977)), se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro con un rendimiento de 666 mg. (71%) por el mismo procedimien
15. to que en el Ejemplo 15 con la excepción de que se añadieron lentamente 580 mg. (2,3 m moles) de N-benciloxicarbonilcxi--succinimida disuelta en 4 ml. de dimetilsulfóxido, en el cur
so de una hora, a la solución homogénea. $[\alpha]_D^{25} = + 77^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

20. Análisis

Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{18} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 52,16; H, 6,68; N, 6,40%

Hallado: C, 51,77; H, 6,79; N, 6,31%

Ejemplo 19

25. Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-kanamicina B.

Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamici
na B (base libre) en una mezcla de 12 ml. de dimetilsulfóxido y se añadieron a la suspensión 4 ml. de tetrahydrofurano y 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc). La
30. mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó --

- una solución homogénea, y luego fue enfriada a 0°C. A la solución enfriada se añadió lentamente, durante una hora, una solución fría de 825 mg. (3,3 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida disuelta en 10 ml. de tetrahydrofurano-dimetilsulfóxido (1 : 1). La mezcla resultante fue dejada en reposo a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche, después de lo cual se trató la mezcla del mismo modo que en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) (A) para dar 740 mg. (70%) del compuesto del título como un sólido incoloro.
5. $[\alpha]_D^{25} = + 63^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis

Calculado para $C_{42}H_{55}N_5O_{16} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 53,95; H, 6,40; N, 6,84%

Hallado: C, 53,66; H, 6,67; N, 6,63%

15. El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril) kanamicina B.

Ejemplo 20

Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarboniltobramicina.

20. Se suspendieron 480 mg. (1,03 m moles) de tobramicina (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante una hora para formar una solución homogénea a la que se añadió después, durante una hora aproximadamente, una solución de 850 mg. (3,4 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida disuelta en 10 ml. de tetrahydrofurano-dimetilsulfóxido (1 : 1). Después de dejar la mezcla en reposo a temperatura ambiente durante la noche, la solución de reacción obtenida fue tratada con un gran volumen de éter de etilo como
- 25.
- 30.

se ha mencionado en el Ejemplo 1 (ii) para dar un material -
siruposo espeso.

- El material siruposo fue tratado posteriormente --
del mismo modo que en el Ejemplo 1 (iii) (A) pero usando --
5. agua-dioxano (1 : 2 en vez de 2 : 1) para dar 810 mg. (78%)
del compuesto del título como un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} =$
+ 65° (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis

- Calculado para $C_{42}H_{55}N_5O_{15} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$:
10. C, 54,81; H, 6,50; N, 6,95%
Hallado: C, 54,77; H, 6,71; N, 6,88%

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título
lo por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31
dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-tobramicina.

15. Ejemplo 21

Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-6'-N-metiltobramicina.

- Se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de
un sólido incoloro con un rendimiento de 890 mg. (84%) repi-
20. tiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 20 pero par-
tiendo de 500 mg. (1,04 m moles) de 6'-N-metiltobramicina --
(base libre). $[\alpha]_D^{25} = + 63°$ (c 1, agua-dimetilformamida, -
1 : 2).

Ejemplo 22

25. Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-4'-desoxikana-
micina B.

- Partiendo de 480 mg. (1,03 m moles) de 4'-desoxika-
namicina B base libre (véase el "Bulletin of the Chemical So-
ciety of Japan", Vol. 50, páginas 2362-2368 (1977)), se obtu-
30. vo el compuesto del título bajo la forma de un sólido incolo

ro con un rendimiento de 815 mg. (79%) por el mismo procedimiento que en el Ejemplo 20. $[\alpha]_D^{25} + 63^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 23

5. Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonildibekacina.

- Se suspendieron 600 mg. (1,33 m moles) de dibekacina (3',4'-didesoxikanamicina B) (base libre) en 15 ml. de dimetilsulfóxido y la suspensión fue agitada para formar una solución, a la que se añadieron 1,4 gr. (6,4 m moles) de dihidrato de acetato de zinc, seguido de su posterior agitación. A la solución resultante se añadió lentamente, durante una hora aproximadamente, una solución de 1,1 gr. (4,4 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida en 12 ml. de dimetilsulfóxido, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Después, se mezcló un gran volumen de éter de etilo con la solución de reacción para separar un depósito oleoso (comprendiendo principalmente el complejo de dibekacina-zinc N-benciloxicarbonilado como el producto deseado y una proporción de dimetilsulfóxido), que fue lavado con éter de etilo para dar un material siruposo espeso.

- Este material siruposo fue lavado repetidamente con agua, con lo que se destruyó el complejo de zinc N-acilado con agua y el catión de zinc liberado fue retirado junto con el exceso inicialmente existente de acetato de zinc. Se obtubieron así 1,1 gr. de un sólido insoluble en el agua que comprendía la dibekacina N-acilada. El sólido fue sometido a la cromatografía en capa delgada de gel de sílice usando cloroformo-etanol-amoniaco acuoso al 18% (1 : 1 : 1, fase inferior) como disolvente de revelado para dar una sola mancha a R_F 0,3, indicadora de que el sólido consistía esencialmente

en 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonildibekacina con una traza de zinc.

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-dibekacina.

Para su posterior purificación, el producto crudo del compuesto del título, tal como fue obtenido anteriormente, fue lavado con solución de amoníaco 3M para dar el producto sin contaminación de ion zinc. $[\alpha]_D^{25} + 71^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 24

Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-6'-N-metildibekacina.

Se disolvieron 500 mg. (1,07 m moles) de 6'-N-metildibekacina (base libre) y 1,2 gr. (5,45 m moles) de dihidrato de acetato de zinc en 20 ml. de dimetilsulfóxido, a lo que se añadieron lentamente, durante 30 minutos aproximadamente, 910 mg. (3,6 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. La solución de reacción fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche y posteriormente tratada del mismo modo que se menciona en el Ejemplo 23, dando 910 mg. del compuesto del título que era sustancialmente puro.

El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-6'-N-metildibekacina.

Ejemplo 25

Preparación de 3,2'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina C.

Se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de un sólido de color con un rendimiento de 730 mg. (79%) siguientes

do los mismos procedimientos que se describen en el Ejemplo 1 (i), (ii) y (iii) A pero partiendo de 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina C (base libre). $[\alpha]_D^{25} + 75^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

5. El tratamiento subsiguiente del compuesto del título por el procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 31 dió la 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)-kanamicina C.

Ejemplo 26

Preparación de 6'-N-benciloxicarbonilkanamicina A.

10. Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 20 ml. de dimetilsulfóxido y se añadió 0,5 gr. (2,3 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la suspensión. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó una solución homogénea, a la que se añadieron -
15. después 283 mg. (1,13 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente y posteriormente tratada del mismo modo que en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) (I) para dar 556 mg. del compuesto del título bajo la forma de un sólido inco-
20. loro $[\alpha]_D^{25} = +92^\circ$ (c 1, agua).

Ejemplo 27

Preparación de 6'-N-benciloxicarbonildibekacina.

- Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 26, se obtuvieron 382 mg. del compuesto del título usando --
25. 500 mg. de dibekacina (base libre), 12 ml. de dimetilsulfóxido, 0,7 gr. de dihidrato de acetato de zinc y 305 mg. de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. $[\alpha]_D^{25} + 105^\circ$ (c 0,5, - agua).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 28).

Ejemplo 28Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxi-3'-enokanamicina B.

- Se disolvieron 500 mg. (1,11 m moles) de 3',4'-didesoxi-3'-enokanamicina B base libre (véase el "Bulletin of the Chemical Society of Japan", Vol. 50, páginas 1580-1583 - (1977)) en 12 ml. de dimetilsulfóxido, y se añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la solución, seguido de la agitación durante una hora. A la solución resultante se añadieron lentamente, durante 30 minutos, 870 mg. (3,49 m moles) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida. Después de dejar la mezcla en reposo a temperatura ambiente durante la noche, la solución de reacción obtenida fue tratada con un gran volumen de éter de etilo como se ha mencionado en el
5. Ejemplo 1 (ii) para dar un material siruposo espeso.

- El material siruposo fue tratado después del mismo modo que en el Ejemplo 1 (iii) (B) pero usando agua-dioxano (1 : 2 en vez de 2 : 1) para dar 784 mg. del compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} + 30^\circ$
10. (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 29Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilsisomicina.

- Se obtuvo el compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro con un rendimiento de 780 mg. siguiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 28 pero partiendo de 500 mg. (1,12 m moles) de sisomicina (base libre).
25. $[\alpha]_D^{25} = + 110^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 30).

Ejemplo 30.Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonilgentamicinas.

- Se obtuvieron 787 mg. del compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro siguiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 28 pero partiendo de 500 mg. de gentamicinas mezcladas (C, C_{1a}, C₂, etc.).

Ejemplo 31 (como referencia)Preparación de 1-N-((S)-4-amino-2-hidroxi-butiril)kanamicina A (amikacina).

10. Se disolvieron 55 mg. (0,062 m moles) de acetato de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A preparado como se describe en el Ejemplo 1 en 1,5 ml. de agua-tetrahidrofurano (2 : 5), a lo que se añadieron 13 mg. (0,12 m moles) de carbonato sódico anhidro y posteriormente 23 mg. (0,066 m moles)
15. de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido (S)-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-butírico. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 10 horas. La solución de reacción obtenida fue concentrada en un pequeño volumen y el concentrado fue recogido en 4 ml. de agua-dioxano (1 : 1).
20. Se añadió una pequeña cantidad de ácido acético a la solución para volverla débilmente ácida, y la solución fue sometida a hidrogenólisis pasando a través de ella gas de hidrógeno bajo presión atmosférica durante una hora en presencia de negro de paladio (para la retirada del grupo benciloxicarboni-
25. lo). La solución de reacción resultante fue filtrada y concentrada y el concentrado fue pasado a través de una columna de CM-Sephadex C-25 (forma NH₄⁺) (un producto de Pharmacia Fine Chemical Co., Suecia). La columna fue sometida a la elución de gradiente con amoníaco acuoso 0 a 0,5N. Las fraccio-
30. nes del eluado que contenían el producto deseado fueron com-

binadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 24 mg. (rendimiento 60%) del compuesto del título como su moncarbonato, cuyas propiedades físicas y potencia antibacteriana eran idénticas a las de una muestra auténtica.

5. Ejemplo 32 (como referencia)

Preparación de 1-N-(DL-isoseril)dibekacina.

- Se disolvieron 58 mg. (0,06 m moles) de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonildibekacina preparada como en el Ejemplo 23 en 1,5 ml. de agua-tetrahidrofurano (2 : 5), a lo que se añadieron 13 mg. (0,12 m moles) de carbonato sódico anhidro y después 21 mg. (0,063 m moles) de éster de N-hidroxi--succinimida de N-bencil-oxicarbonil-DL-isoserina. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente y posteriormente tratada por el procedimiento descrito en el Ejemplo 31 para dar 21 mg. (rendimiento 59%) del compuesto del título como su moncarbonato, cuyas propiedades físicas y potencia antibacteriana eran idénticas a las de una muestra auténtica.

Ejemplo 33

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se mezcló una solución de 504 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A (véase Ejemplo 1) en 4 ml. de dimetilsulfóxido con 220 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla obtenida fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Después se añadió un pequeño volumen de ácido trifluoroacético a la mezcla de reacción, la solución de reacción fue vertida en un gran volumen de éter de etilo y el material oleoso resultante que se depositó fue lavado perfectamente con éter de etilo para dar el material solidificado. Este material fue secado perfectamente para obte

ner 640 mg. del compuesto del título como una sustancia sólida. Rendimiento 99%, $[\alpha]_D^{25} + 98^\circ$ (c 1, piridina).

Análisis elemental

Calculado para $C_{36}H_{47}N_4O_{16}F_3 \cdot CF_3COOH$

5. C, 47,40; H, 5,02; N, 5,82%

Hallado: C, 47,13; H, 5,15; N, 5,79%

Ejemplo 34

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

10. Se mezcló una solución de 20 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en 0,4 ml. de dimetilsulfóxido con 6 mg. de trifluoroacetato de fenilo, y la mezcla obtenida -- fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla de reacción fue tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 24,8 mg. del producto del título que resultó ser idéntico al del Ejemplo 33. Rendimiento 97%.

Ejemplo 35

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se mezcló una solución de 10 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en 0,3 ml. de triamida hexametilfosfórica con 7 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla obtenida fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción fue mezclada con un pequeño volumen de ácido trifluoroacético y luego vertida en un gran volumen de éter de etilo. El material oleoso que se depositó fue bien lavado con éter de etilo y la sustancia sólida resultante fue secada para dar 11,7 mg. (rendimiento -- 91%) del producto del título como su mono-trifluoroacetato --
- 25.
- 30.

bajo la forma de un sólido.

Ejemplo 36

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

5. Se mezcló una suspensión de 10 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en 0,3 ml. de dimetilformamida con 7 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla obtenida fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción homogénea así obtenida fue mezclada
10. con un pequeño volumen de ácido trifluoroacético y después -vertida en un gran volumen de éter de etilo. El material ~~de~~so depositado fue bien lavado con éter de etilo para solidificarlo y la sustancia sólida resultante secada, dando 11,5 mg. (Rendimiento 90%) del producto del título como su mono-
15. trifluoroacetato bajo la forma de un sólido.

Ejemplo 37

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se mezcló una suspensión de 10 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en 0,35 ml. de sulfolano con 7 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue agitada durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, la --mezcla de reacción fue tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 12,0 mg. (Rendimiento 94%) del producto del título como el mono-trifluoroacetato bajo la forma de una sustancia sólida.

Ejemplo 38

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

30. Se mezcló una suspensión de 22 mg. de 3,6'-di-N-

- benciloxicarbonilkanamicina A en 0,8 ml. de tetrahidrofurano con 10 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue agitada durante 2 días. La solución de reacción homogénea resultante fue mezclada con 15 mg. de trifluoroacetato de etilo y
5. 8 mg. de carbonato sódico anhidro, agitada durante la noche y después dejada en reposo durante 2 días. La solución de -- reacción resultante fue concentrada en un pequeño volumen, y el concentrado fue lavado con agua y después secado para dar un material sólido. El material sólido fue suspendido en un
10. pequeño volumen de tetrahidrofurano junto con una pequeña -- cantidad de ácido trifluoroacético. La mezcla así obtenida -- fue agitada seguido de la adición de éter de etilo. El sólido precipitado fue separado por filtración, lavado con éter y secado, dando 21 mg. (Rendimiento 74%) del producto del título, es decir monotrifluoroacetato como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 98^{\circ}$ (c 1, piridina).
- 15.

Ejemplo 39

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se mezcló una solución de 10 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en agua-tetrahidrofurano (1 : 1, 0,3 ml) con una solución de 5 mg. de trifluoroacetato de etilo en 0,1 ml. de tetrahidrofurano, y la mezcla resultante -- fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante un día.
25. Posteriormente, se añadió una mezcla de trifluoroacetato de etilo (10 mg), carbonato sódico anhidro (4,4 mg) y tetrahidrofurano (0,1 ml) a la solución resultante a intervalos de 5 horas (cuatro veces en total) para efectuar la 3"-N-trifluoroacetilación. La solución de reacción fue concentrada y posteriormente tratada del mismo modo que en el Ejemplo 38 para
- 30.

dar 5,5 mg. (Rendimiento 43%) del producto del título, es decir mono-trifluoroacetato como una sustancia sólida.

Ejemplo 40

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

5. Se mezcló una solución de 10 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilkanamicina A en agua-etanol (2 : 3, 0,6 ml) -- con una solución de 5 mg. de trifluoroacetato de etilo en -- 0,1 ml. de tetrahidrofurano, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante un día. La solución de reacción fue tratada posteriormente del mismo modo que en el Ejemplo 38, dando 2,3 mg. (Rendimiento 18%) del producto del título, es decir monotrifluoroacetato como una sustancia sólida.

15. Ejemplo 41

Producción de 3,6'-di-N-t-butoxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

(a) Preparación de 3,6'-di-N-t-butoxicarbonilkanamicina A.

20. Se suspendieron 500 mg. (1,03 m moles) de kanamicina A (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido, y se añadió 1 gr. (4,55 m moles) de dihidrato de acetato de zinc a la -- suspensión obtenida. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó una solución homogénea, a la que se -- añadieron después 370 mg. (2,59 m moles) de azida de t-butoxicarbonilo. La mezcla resultante fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente y posteriormente fue tratada del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 1 (ii) y (iii) B para dar 590 mg. (80%) de un sólido incoloro del compuesto del título. $[\alpha]_D^{25} + 89^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).
- 25.
- 30.

(b) Producción de 3,6'-di-N-t-butoxicarbonil-3''-N-trifluoroacetilkanamicina A.

- Se disolvió 3,6'-di-N-t-butoxicarbonilkanamicina A (60 mg) en 0,5 ml. de dimetilsulfóxido, y la solución resultante fue mezclada con 25 mg. de trifluoroacetato de etilo, después de lo cual se dejó reposar la mezcla obtenida, durante la noche, a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución de reacción fue tratada del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 33, dando 76,8 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título, trifluoroacetato como un sólido. - - -
5. $[\alpha]_D^{25} + 72^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).
10. $[\alpha]_D^{25} + 72^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{30}H_{51}N_4O_{16}F_3 \cdot CF_3COOH$:

C, 42,95; H, 5,86; N, 6,26%

15. Hallado: C, 42,77; H, 5,92; N, 6,38%

Ejemplo 42

Producción de 3,6'-di-N-(p-metoxibenciloxicarbonil)-3''-N-trifluoroacetilkanamicina A.

- Se mezcló una solución de 40 mg. de 3,6'-di-N-(p-metoxibenciloxicarbonil)kanamicina A (véase el Ejemplo 8 antes indicado) en 0,4 ml. de dimetilsulfóxido con 18 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, se trató la solución de reacción del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 49,3 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 78^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).
20. $[\alpha]_D^{25} + 78^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).
25. $[\alpha]_D^{25} + 78^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{38}H_{51}N_4O_{18}F_3 \cdot CF_3COOH$:

C, 46,97; H, 5,12; N, 5,48%

- 30.

Hallado: C, 47,18; H, 5,03; N, 5,31%

Ejemplo 43

Producción de 3,6',3"-tri-N-trifluoroacetilkanamicina A.

- Se mezclaron 75 mg. de 3,6'-di-N-trifluoroacetilkanamicina A (véase el Ejemplo 10 antes indicado) y trietilamina (12 mg.) con 0,6 ml. de dimetilsulfóxido y después con 35 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue agitada durante la noche para efectuar la 3"-N-trifluoroacetilación deseada. La solución de reacción fue tratada posteriormente --
10. del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 94,2 mg. (Rendimiento 96%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 76^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

- Calculado para $C_{24}H_{33}N_4O_{14}F_9 \cdot CF_3COOH$
15. C, 35,22; H, 3,87; N, 6,32%
- Hallado: C, 35,09; H, 3,99; N, 6,07%

Ejemplo 44

Producción de 3,6'-di-N-fenoxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se mezcló una solución de 53 mg. de 3,6'-di-N-fenoxicarbonilkanamicina A (véase el Ejemplo 11) y trietilamina (9 mg) en 0,5 ml. de dimetilsulfóxido con 23 mg. de trifluoroacetato de metilo, y la mezcla fue tratada posteriormente del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 65 mg. (Rendimiento 95%) del compuesto del título como un material sólido.
25. $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

- Calculado para $C_{34}H_{43}N_4O_{16}F_3 \cdot CF_3COOH$
30. C, 46,26; H, 4,74; N, 5,99%
- Hallado: C, 45,88; H, 4,96; N, 5,77%

Ejemplo 45Producción de 3,6',3"-tri-N-formilkanamicina A.

5. Se calentó una mezcla de 62 mg. de 3,6'-di-N-formilkanamicina A (véase el Ejemplo 13), 90 mg. de formato de etilo y 1 ml. de dimetilsulfóxido a 100°C durante 12 horas - en un tubo sellado para efectuar la 3"-N-formilación deseada. La solución de reacción fue mezclada con una pequeña cantidad de ácido fórmico, después de lo cual fue vertida en un gran volumen de éter de etilo, y tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 69 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título como un material sólido positivo a la ninhidrina. $[\alpha]_D^{25} + 109^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

15. Calculado para $C_{21}H_{36}N_4O_{14} \cdot HCOOH$
C, 43,00; H, 6,23; N, 9,12%
Hallado: C, 42,83; H, 6,19; N, 9,10%

Ejemplo 46Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-6'-N-metil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

20. Se trató una mezcla de 68 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-6'-N-metilkanamicina A (véase el Ejemplo 15), y trietilamina (11 mg), 30 mg. de trifluoroacetato de etilo y 0,7 ml. de dimetilsulfóxido del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 86 mg. (Rendimiento 99%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato como una sustancia sólida.
25. $[\alpha]_D^{25} + 65^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 47Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

30. Se mezcló una solución de 52 mg. de 3,6'-di-N-ben-

- ciloxycarbonil-3'-desoxikanamicina A (véase el Ejemplo 16) y trietilamina (11 mg) en 0,4 ml. de dimetilsulfóxido con 21 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución de reacción fue tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 64,8 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título como un material sólido. $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

10. Calculado para $C_{36}H_{47}N_4O_{15}F_3 \cdot GF_3COOH$
 C, 48,21; H, 5,11; N, 5,92%
 Hallado: C, 47,94; H, 5,35; N, 5,77%

Ejemplo 48

Producción de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil-3'-desoxi-3"-N-formilkanamicina A.

15. Se mezcló una solución de 78 mg. de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil-3'-desoxikanamicina A en 0,7 ml. de dimetilsulfóxido con 65 mg. de formato de fenilo, y la mezcla fue calentada durante la noche a 50°C para la 3"-N-formilación.
20. La solución de reacción fue mezclada con una pequeña cantidad de ácido fórmico, y elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 83 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título, es decir monoformato como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 84^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

25. Ejemplo 49

Producción de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil-3"-N-dicloroacetil-3'-desoxikanamicina A.

- Se mezcló una solución de 35 mg. de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil-3'-desoxikanamicina A en 0,5 ml. de dimetilsulfóxido con 12 mg. de dicloroacetato de metilo, y la mez-
- 30.

- cla fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción fue mezclada con un pequeño volumen de ácido dicloroacético y posteriormente tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 44,5 mg. (Rendimiento 96%) del compuesto del título como una sustancia sólida. - - $[\alpha]_D^{25} + 65^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{36}H_{48}N_4O_{15}Cl_2 \cdot CHCl_2COOH$

C 46,73; H 5,16; N 5,74; Cl 14,52%

10. Hallado: C 46,58; H 5,33; N 5,62; Cl 14,28%

Ejemplo 50

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3''-N-tricloroacetil-3'-desoxikanamicina A.

15. Se mezcló una solución de 58 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxikanamicina A en 0,7 ml. de dimetilsulfóxido con 25 mg. de tricloroacetato de metilo, y la mezcla fue dejada en reposo durante la noche a 50°C. La solución de reacción fue mezclada con un pequeño volumen de ácido tricloroacético y después tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 80,5 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título bajo la forma de una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 65^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{36}H_{47}N_4O_{15}Cl_3 \cdot CCl_3CO_2H$

25. C 43,65; H 4,63; N 5,36; Cl 20,34%

Hallado: C 43,44; H 4,77; N 5,30; Cl 20,19%

Ejemplo 51

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-3''-N-trifluoroacetil-6'-N-metilkanamicina A.

30. Se mezcló una solución de 72 mg. de 3,6'-di-N-ben-

- ciloxicarbonil-3'-desoxi-6'-N-metilkanamicina A en 1 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución de reacción fue tratada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 89,5 mg. - - (Rendimiento 97%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 52

10. Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-4'-desoxi-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

Se elaboró una solución de 71 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-4'-desoxikanamicina A (véase el Ejemplo 18 antes citado) trietilamina (12 mg. y 30 mg. de trifluoroacetato de etilo en 1 ml. de dimetilsulfóxido del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 90 mg. (Rendimiento 99%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 72^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

20. Ejemplo 53

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxi-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

Se trató una solución de 75 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxikanamicina A y 30 mg. de trifluoroacetato de etilo en 1 ml. de dimetilsulfóxido del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 96 mg. (Rendimiento 99%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 72^\circ$ (c 1, agua-dimetilsulfóxido, 1 : 2).

30. .../... (Continúa Ejemplo 53 en página siguiente)

Análisis elementalCalculado para $C_{36}H_{47}N_4O_{14}F_3 \cdot CF_3COOH$:

C, 49,03; H, 5,20; N, 6,02%

Hallado: C, 48,83; H, 5,46; N, 5,87%

5. Ejemplo 54Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxi-3"-N-formilkanamicina A.

Se disolvieron 75 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxikanamicina A y 65 mg. de formato de fenilo en 1 ml. de dimetilsulfoxido y la solución resultante fue -- elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 48, dando 80 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título, es decir monoformato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 80^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

15. Ejemplo 55Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxi-3"-N-dicloroacetilkanamicina A.

Se mezcló una solución de 68 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxikanamicina A en 0,9 ml. de dimetilsulfóxido con 25 mg. de dicloroacetato de metilo, y la -- mezcla fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción fue mezclada con una pequeña cantidad de ácido dicloroacético y después elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 88 mg. (Rendimiento - 25. 97%) del compuesto del título, es decir mono-dicloroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 67^\circ C$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 56).

Ejemplo 56Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina B.

- Se mezcló una solución de 78 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonilkanamicina B (véase el Ejemplo 19 antes citado) y trietilamina (11 mg.) en 1 ml. de dimetilsulfóxido con 35 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 92 mg. (rendimiento 95%) del compuesto del título, es decir monotrifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 60^{\circ}$ (c 1, -- -- agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 57Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3"-N-formiltobramicina.

15. Se mezcló una solución de 82 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-tobramicina (véase el Ejemplo 20 antes citado) y trietilamina (12 mg.) en 1,2 ml. de dimetilsulfóxido con 60 mg. de formato de fenilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 48, dando 86 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 71^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{43}H_{55}N_5O_{16} \cdot HCOOH$

C, 55,98; H, 6,09; N, 7,42%

25. Hallado: C, 55,50; H, 6,22; N, 7,28%

Ejemplo 58Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-6'-N-metil-3"-N-trifluoroacetiltobramicina.

30. Se mezcló una solución de 80 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-6'-N-metiltobramicina (véase el Ejemplo 21

- antes citado) y trietilamina (12 mg) en 1,2 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada posteriormente del mismo modo que en el -- Ejemplo 33, dando 97 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 60^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 59

Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3"-N-trifluoroacetildibekacina.

10. Se mezcló una solución de 82 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-dibekacina (véase el Ejemplo 23 antes citado) en 1 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 100 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 61^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $C_{44}H_{54}N_5O_{15}F_3 \cdot CF_3COOH$

C, 51,93; H, 5,21; N, 6,58%

20. Hallado: C, 51,84; H, 5,38; N, 6,47%

Ejemplo 60

Producción de 3,2',6',3"-tetra-N-trifluoroacetildibekacina.

25. Se dejó en reposo durante la noche, a 40°C, una mezcla de 71 mg. de 3,2',6'-tri-N-trifluoroacetil-dibekacina y 30 mg. de trifluoroacetato de etilo en 1 ml. de dimetilsulfóxido. Posteriormente, se elaboró la solución de reacción del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 90 mg. (Rendimiento 99%) del compuesto del título como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

- 30.

.../...

Análisis elementalCalculado para $C_{26}H_{33}N_5O_{12}F_{12} \cdot CF_3COOH$:

C, 35,42; H, 3,61; N, 7,38%

Hallado: C, 35,40; H, 3,89; N, 7,17%

5. Ejemplo 61Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-formildibekacina.

- Se elaboró una mezcla de 79 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-dibekacina y 60 mg. de formato de fenilo en 1,1 ml. de dimetilsulfóxido del mismo modo que en el Ejemplo 48, dando 84 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título, es decir monoformato, como una sustancia sólida. - - - $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 6215. Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-dicloroacetildibekacina.

- Se hizo reaccionar una solución de 84 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-dibekacina en 1,2 ml. de dimetilsulfóxido con 25 mg. de dicloroacetato de metilo del mismo modo que en el Ejemplo 49, dando 104 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título, es decir monodicloroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 59^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 6325. Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-6'-N-metil-3"-N-trifluoroacetildibekacina.

- Se mezcló una solución de 85 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-6'-N-metildibekacina (véase el Ejemplo 24) en 1 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el

Ejemplo 33, dando 103,5 mg. (Rendimiento 98%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 60^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 64

5. Producción de 3,2'-di-N-benciloxycarbonil-3"-N-formilkanamicina C.

Se mezcló una solución de 81 mg. de 3,2'-di-N-benciloxycarbonilkanamicina C (véase el Ejemplo 25) y trietilamina (14 mg.) en 1,5 ml. de dimetilsulfóxido con 90 mg. de formato de etilo, y la mezcla obtenida fue tratada del mismo modo que en el ejemplo 48, dando 85,5 mg. (Rendimiento 96%) del compuesto del título, es decir monoformato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 81^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

15. Ejemplo 65

Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3"-N-trifluoroacetilsisomicina.

Se mezcló una solución de 82 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-sisomicina (véase el Ejemplo 29 antes citado) en 1,5 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 99 mg. (Rendimiento 97%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 151^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 66

Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3"-N-trifluoroacetilnetilmicina.

Se mezcló una solución de 85 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-netilmicina en 1,3 ml. de dimetilsulfóxido

con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 103 mg. -- (Rendimiento 98%) del compuesto del título, es decir monotrifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 145^\circ$ --

5. (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 67

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilgentamicina B.

10. Se mezcló una solución de 72 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonilgentamicina B en 1,2 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 91 mg. (Rendimiento 99%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. $[\alpha]_D^{25} + 92^\circ$ (c 1, --
15. agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 68

Producción de mezcla de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilgentamicina G₁ y G_{1a}.

20. Se mezcló una solución de 84 mg. de mezcla de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-gentamicina G₁ y G_{1a} en 1,5 ml. de dimetilsulfóxido con 30 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla resultante fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 101 mg. del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. --
25. $[\alpha]_D^{25} + 87^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 69

Producción de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-didesoxi-3'-eno-3"-N-trifluoroacetilkanamicina B.

30. Se dejó en reposo durante la noche, a temperatura ambiente, una mezcla de 83 mg. de 3,2',6'-tri-N-benciloxicar

- bonil-3',4'-didesoxi-3'-eno-kanamicina B (véase el Ejemplo 28 antes citado) y 35 mg. de trifluoroacetato de etilo en 1,2 ml. de dimetilsulfóxido. Posteriormente, la solución de reacción fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 33, dando 99,5 mg. (Rendimiento 96%) del compuesto del título, es decir mono-trifluoroacetato, como una sustancia sólida. --
5. $[\alpha]_D^{25} + 26^{\circ}$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Ejemplo 70

Producción de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-3"-N-for-

10. milkanamicina A.

- Se mezcló una solución de 90 mg. de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxikanamicina A en 0,8 ml. de dimetilsulfóxido con 13 mg. de N-formilimidazol, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción fue mezclada con una pequeña cantidad de ácido fórmico y después tratada con éter de etilo como en el Ejemplo 33, dando 94 mg. (Rendimiento 95%) del compuesto del título, es decir monoformato, como una sustancia sólida.
- 15.

Ejemplo 71

20. Producción de 3,6',3"-tri-N-acetilkanamicina A.

- Una mezcla de 100 mg. de 3,6'-di-N-acetilkanamicina A y 20 mg. (1,03 proporción molar por 1 mol del material de partida) de N-acetilimidazol en 1 ml. de dimetilsulfóxido fue agitada bajo enfriamiento con hielo durante 3 horas y --
25. después dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción fue hecha alcalina por mezcla con 0,3 ml. de amoníaco acuoso al 28% y después dejada en reposo a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla de reacción resultante fue tratada con éter de etilo para dar un jarabe insoluble en éter. El jarabe fue recogido en agua y des
- 30.

- pués pasado a través de una columna de CM-Sephadex C-25 - - (forma NH_4^+) (un producto de Pharmacia Fine Chemicals Co., -- Suecia). La columna de resina fue revelada con amoníaco acuoso 0,05N. Las fracciones que contenían el producto deseado -
5. eluido fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad. El concentrado fue recogido en agua, y la solución acuosa fue neutralizada con ácido acético y nuevamente concentrada hasta la sequedad, dando 109 mg. (Rendimiento 90%) del compuesto del título como un producto sólido. $[\alpha]_D^{25}$
10. + 98° (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{14} \cdot \text{CH}_3\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$

C, 45,34; H, 7,02; N, 8,14%

Hallado: C, 45,22; H, 7,20; N, 8,11%

15. Ejemplo 72

Síntesis de la 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-kanamicina A (amikacina).

(a) Preparación de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil)-kanamicina A

- (i) Se mezcló una suspensión de 2,0 gr. (4,13 milimol) de kanamicina A (base libre) en un disolvente mezclado de dimetilsulfóxido (50 ml) y tetrahydrofurano (20 ml.) con 4 gr. (18,1 milimol) de dihidrato de acetato de zinc (II), y la mezcla resultante fue agitada a temperatura ambiente hasta que formó la mezcla de reacción una solución homogénea. -
20. Tardó aproximadamente 4-5 horas la kanamicina suspendida A - disuelta en formar un complejo de kanamicina A-cación de zinc. La solución resultante fue entonces enfriada a 0°C, y a esta solución se añadió gota a gota, durante una hora aproximadamente, una solución fría (a 0°C) de 2,37 gr. (9,5 milimol) de N-benciloxycarboniloxisuccinimida en 40 ml. de un di
- 30.

solvente mezclado de tetrahidrofurano-dimetilsulfóxido (1 : 1 en volumen). Después se dejó la solución de reacción en reposo durante 4 horas a temperatura ambiente. En el transcurso de este período de tiempo, el complejo de zinc de la kanamicina A fue sometido a la benciloxicarbonilación. La solución de reacción resultante fue sometida a la cromatografía en capa delgada de gel de sílice usando una capa inferior de cloroformo-metanol-amoniaco acuoso al 28% (1 : 1 : 1 en volumen) como agente de revelado, y se observó entonces que la placa de gel de sílice mostraba una mancha principal a R_f 0,23 y dos o tres manchas menores ligeramente perceptibles que se encuentran encima de la mancha principal y atribuibles a otros subproductos.

(ii) La solución de reacción conteniendo el complejo de kanamicina A N-benciloxicarbonilada-catión de zinc obtenido en el paso anterior (i), fue vertida en 500 ml. de éter de etilo, y el producto oleoso precipitado fue lavado seguidamente con éter de etilo varias veces para dar 8,8 gr. de un producto siruposo espeso que comprende el complejo N-benciloxicarbonilado.

(iii) La retirada del catión de zinc del producto complejo siruposo fue realizada del modo antes mencionado usando una resina cambiadora de cationes débilmente ácida que contenía funciones carboxílicas (-COOH) (resina Amberlite CG-50 (forma H^+), un producto de Rohm & Haas Co., EE.UU.).

Se saturó bien, previamente, 60 ml. de resina Amberlite CG-50 (forma H^+) con agua-dioxano (2 : 1 en volumen). Se llenó una columna con esta resina y después se pasó una solución de 1 gr. del producto complejo siruposo en agua-dioxano (1 : 1 en volumen) a través de la columna, que fue pos-

- teriormente revelada con agua-dioxano (2 : 1 en volumen) con-
teniendo 1% de ácido acético. Las fracciones del eluado que
contenían el producto deseado, la 3,6'-di-N-benciloxicarbo-
nil-kanamicina A positiva a la ninhidrina, salieron las pri-
5. meras, y después fueron recogidas las fracciones que contenían
acetato de zinc positivas a la coloración con difenilcarbaci-
da. Las primeras fracciones que contenían el producto desea-
do fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la seque-
dad, y el concentrado fue lavado con éter de etilo para dar
10. 340 mg. (Rendimiento 81%) de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-ka-
namicina A bajo la forma de un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} + 76^{\circ}$
(c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

- Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{15} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$
15. C, 51,23; H, 6,56; N, 6,29%
Hallado: C, 51,02; H, 6,71; N, 6,22%

(b) Preparación de trifluoroacetato de 3,6'-di-N-benciloxicar-
bonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A.

- El producto obtenido en el procedimiento (a) ante-
rior fue elaborado del mismo modo que en el Ejemplo 33 pero
20. con adición de 1,5 equivalente molar de trietilamina, dando
el compuesto del título.

(c) Preparación de 1-N-(L-4-amino-2-hidroxitiril)-kanami-
cina A.

25. Una solución de 60 mg. de trifluoroacetato de 3,6'-
di-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A obte-
nida en el procedimiento (b) anterior en 1,5 ml. de agua-te-
trahidrofurano (1 : 1 en volumen) fue mezclada con 7 mg. de
carbonato sódico anhidro seguido de la adición de 23 mg. de
30. éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-4-benciloxicarboni

lamino-2-hidroxibutírico, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 10 horas.

- La solución de reacción así obtenida fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con agua, dando un precipitado sólido. El sólido fue recogido en 3 ml. de amoníaco acuoso 2N-tetrahidrofurano (5 : 3 en volumen) y la solución fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente para efectuar la retirada del grupo 3^o-N-trifluoroacetilo. - La mezcla de reacción fue concentrada hasta la sequedad para dar un residuo sólido. Este residuo sólido fue disuelto en 4 ml. de agua-dioxano (1 : 1), y la solución fue hecha débilmente ácida por adición de un volumen muy pequeño de ácido acético y sometida a hidrogenolisis catalítica con hidrógeno a presión atmosférica durante una hora en presencia de catalizador de negro de paladio para efectuar la retirada de los grupos benciloxicarbonilo. La solución de reacción resultante fue filtrada y concentrada, y el concentrado fue pasado a través de una columna de CM-Sephadex C-25 (forma NH₄⁺) (un producto de Pharmacia Fine Chemicals Co., Suecia), que fue posteriormente revelada a gradiente con amoníaco acuoso 0 → 0,5N. Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 36 mg. (Rendimiento 89%) del monocarbonato del compuesto del título. Las propiedades fisico-químicas y las actividades antibacterianas de este producto resultaron ser perfectamente idénticas a las de una muestra auténtica.

30.

.../... (Continúa en Ejemplo 73)

Ejemplo 73Síntesis de la 1-N-[(L)-4-amino-2-hidroxi-3'-desoxi-kanamicina A.(a) Preparación de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-kanamicina A.5. namicina A.

Se mezcló una suspensión de 500 mg. (1,07 milimol) de 3'-desoxikanamicina A (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido con 1 gr. (4,55 milimol) de dihidrato de acetato de zinc, y la mezcla resultante fue agitada hasta formar una solución homogénea. A esta solución se le añadió una solución de 610 mg. (2,45 milimol) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida en 5 ml. de dimetilsulfóxido-tetrahidrofurano (1 : 1 en volumen), y la solución de reacción fue posteriormente dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente, la solución de reacción fue elaborada sustancialmente del mismo modo que en el Ejemplo 72 (a) (iii), dando 765 mg. (Rendimiento 82%) del compuesto del título antes indicado bajo la forma de un sólido incoloro. $[\alpha]_D^{25} + 76^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

20. Análisis elemental

Calculado para $C_{34}H_{48}N_4O_{14} \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$

C, 52,16; H, 6,68; N, 6,40%

Hallado: C, 51,99; H, 6,75; N, 6,20%

25. (b) Preparación de trifluoroacetato de 3,6'-di-N-benciloxicarbonil-3'-desoxi-3''-N-trifluoroacetilkanamicina A.

El producto obtenido en el procedimiento (a) anterior fue elaborado como en el Ejemplo 47 para dar el compuesto del título.

.../...

30.

.../...

(c) Preparación de 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3'-deso-xikanamicina A.

Una solución de 50 mg. de trifluoroacetato de 3,6'-di-N-benciloxycarbonil-3'-desoxi-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A obtenida en el procedimiento (b) anterior en 1,5 ml. de agua-tetrahidrofurano (1 : 2 en volumen) fue mezclada con 6 mg. de carbonato sódico anhidro, seguido de la adición de 20 mg. de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-4-benciloxycarbonil-amino-2-hidroxi-butírico. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 8 horas. La solución de reacción fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con agua, dando un precipitado sólido.

El sólido fue mezclado con 3 ml. de amoníaco acuoso 2N-tetrahidrofurano (1 : 1 en volumen) y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche para efectuar la retirada del grupo 3"-N-trifluoroacetilo. La solución de reacción fue concentrada hasta la sequedad para dar un residuo sólido, y este residuo fue mezclado con 4 ml. de agua-dioxano (1 : 1 en volumen). La solución fue hecha débilmente ácida por adición de un volumen muy pequeño de ácido acético y sometida a hidrogenolisis con hidrógeno bajo presión atmosférica durante una hora sobre catalizador de negro de paladio para efectuar la retirada de los grupos benciloxycarbonilo. Posteriormente la solución de la reacción de hidrogenolisis fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 72 (c), dando 30 mg. (Rendimiento 87%) del compuesto del título como su monohidrato de monocarbonato. $[\alpha]_D^{25} + 89^{\circ}$ (c 1, agua).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 74).

Ejemplo 74Síntesis de la 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-3',4'-didesoxianamicina A.

- Una solución de 70 mg. de trifluoroacetato de 3,6'-
5. di-N-benciloxycarbonil-3',4'-didesoxi-3"-N-trifluoroacetilkanamicina A obtenida en el Ejemplo 52 en 2 ml. de agua-tetrahidrofurano (1 : 2) fue mezclada con 9 mg. de carbonato sódico anhidro, seguido de la adición de 28 mg. de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido L-4-benciloxycarbonilamino-2-hidroxi-
10. droxi-butírico. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 10 horas. La reacción fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con agua para dar un precipitado sólido.

- El sólido fue mezclado con 4 ml. de un disolvente
15. mezclado de amoníaco acuoso 3N-tetrahidrofurano (1 : 2), y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción fue concentrada hasta la sequedad para dar un residuo sólido. El residuo fue mezclado con 6 ml. de agua-dioxano (1 : 3), y la solución fue
20. hecha débilmente ácida por adición de un volumen muy pequeño de ácido acético a presión atmosférica durante 1,5 horas sobre catalizador de negro de paladio añadido. Posteriormente, la solución de reacción fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 72 (c), dando 42 mg. (Rendimiento 91%) del compuesto del título como su monocarbonato. $[\alpha]_D^{25} + 91^\circ$
25. (c 1, agua).

30. .../... (Continúa en Ejemplo 75).

Ejemplo 75Síntesis de la 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)tobramicina.(a) Preparación de la 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-tobramicina.

5. Una suspensión de 480 mg. (1,03 milimol) de tobramicina (base libre) en 12 ml. de dimetilsulfóxido fue mezclada con 1 gr. (4,55 milimol) de dihidrato de acetato de zinc, y la mezcla fue agitada durante una hora. A la solución de reacción conteniendo el complejo de tobramicina-cación de zinc se le añadió gota a gota, durante una hora aproximadamente, una solución de 850 mg. (3,4 milimol) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida en 10 ml. de tetrahidrofurano-dimetilsulfóxido (1 : 1 en volumen), y la mezcla de reacción así formada fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción resultante fue tratada con un gran volumen de éter de etilo del mismo modo que en el Ejemplo 72 (a) (ii), dando un producto siruposo espeso que comprendía el complejo de tobramicina-zinc N-benciloxicarbonilado. Posteriormente, el producto complejo siruposo fue elaborado del mismo modo que en el Ejemplo 72 (a) (iii) con la excepción de que se cambió la relación de agua-dioxano (2 : 1) por 1 : 2 en volumen. Se obtuvieron 810 mg. (Rendimiento 78%) del compuesto del título bajo la forma de un sólido incoloro. $\text{C}_{42}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{O}_{15}$ + 65² (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

Análisis elemental

Calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{O}_{15} \cdot 2\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

C, 54,81; H, 6,50; N, 6,95%

Hallado: C, 54,77; H, 6,71; N, 6,88%

30.

.../...

(b) Preparación de monoformato de 3,2',6'-tri-N-benciloxicar
bonil-3"-N-formiltobramicina.

El producto obtenido en el procedimiento (a) anterior fue elaborado del mismo que en el Ejemplo 57 para dar -
5. el compuesto del título antes indicado.

(c) Preparación de 1-N-(L-4-amino-2-hidroxibutiril)-tobrami--
cina.

Una solución de 100 mg. de monoformato de 3,2',6'-
tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-formiltobramicina obtenida en -
10. el procedimiento (b) anterior en 3 ml. de agua-tetrahidrofu-
rano (1 : 3) fue mezclada con 12 mg. de carbonato sódico an-
hidro, seguido de la adición de 40 mg. de éster de N-hidroxi
succinimida del ácido (L)-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi
butírico. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura am- -
15. biente durante 10 horas. La solución de reacción así formada
fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con agua pa
ra depositar un precipitado sólido.

El sólido fue suspendido en 2 ml. de peróxido de -
hidrógeno acuoso al 10%, y la suspensión fue agitada vigoroso-
20. samente a 60°C durante 3 horas y posteriormente filtrada pa-
ra dar un residuo sólido que comprendía el derivado del de-N-
formilo. El residuo sólido fue recogido en 8 ml. de agua-dio
xano (1 : 3), y la solución fue hecha débilmente ácida por -
adición de un volumen muy pequeño de ácido acético y sometida
25. da a hidrogenolisis a presión atmosférica durante 1,5 horas
sobre catalizador de negro de paladio. Posteriormente, la so
lución de reacción fue elaborada del mismo modo que en el --
Ejemplo 72 (c) y pasada a través de la columna de CM-Sepha--
dex C-25, que fue posteriormente revelada a gradiente con --
30. amoníaco acuoso 0 → 1N. las fracciones que contenían el pro-

ducto deseado fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 67 mg. (Rendimiento 87%) del compuesto antes mencionado como su dihidrato de dicarbonato. --

$[\alpha]_D^{25} + 78^\circ$ (c 1, agua). Este producto fue coincidente --

5. con un producto auténtico.

Ejemplo 76

Síntesis de la 1-N-(L-4-amino-2-hidroxitiril)-dibekacina.

(a) Preparación de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-dibekacina.

10. Se mezclaron 600 mg. (1,33 milimol) de dibekacina (base libre) con 15 ml. de dimetilsulfóxido bajo agitación. La solución fue mezclada con 1,4 gr. (6,4 milimol) de dihidrato de acetato de zinc bajo agitación. A la solución se le añadió gota a gota, durante aproximadamente una hora, --
15. una solución de 1,1 gr. (4,4 milimol) de N-benciloxicarboniloxisuccinimida en 12 ml. de dimetilsulfóxido, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción resultante fue posteriormente mezclada con un gran volumen de éter de etilo para dar un --
20. depósito oleoso que comprendía principalmente el producto deseado y una proporción de dimetilsulfóxido. El depósito oleoso resultante fue separado de la fase líquida superior y posteriormente lavado con éter de etilo para dar un producto siruposo espeso.
25. El producto siruposo fue lavado repetidamente con agua. Con este tratamiento al agua, el exceso inicialmente existente de acetato de zinc fue retirado e igualmente el complejo de zinc N-benciloxicarbonilado fue destruido, dando 1,1 gr. de un residuo sólido insoluble en el agua. Este
30. sólido dió una sola mancha a Rf 0,13 en una cromatografía --

de gel de sílice en capa delgada revelada con la fase inferior de cloroformo-metanol-amoníaco acuoso al 18% (1 : 1 : 1 en volumen) como disolvente de revelado y comprendía 3,2', 6'-tri-N-benciloxicarbonil-dibekacina casi pura junto con -

5. una traza de zinc incorporada en la misma. $[\alpha]_D^{25} + 71^{\circ} - -$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2). No obstante, si se lavó el sólido con solución de amoníaco acuoso 3M, se obtuvo el producto puro sin contaminación de catión de zinc.

(b) Preparación de trifluoroacetato de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetildibekacina.

10.

El producto del procedimiento (a) anterior fue -- elaborado como en el Ejemplo 59 para dar el compuesto del -- título.

(c) Preparación de 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-dibekacina.

15.

Una solución de 170 mg. de trifluoroacetato de -- 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetildibekacina obtenida en el paso (b) anterior en 5 ml. de agua-te--trahidrofurano (1 : 3) fue mezclada con 18 mg. de carbonato

20. sódico anhidro, seguido de la adición de 60 mg. de éster de N-hidroxi-succinimida del ácido (S)-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxi-butírico, y la mezcla fue dejada en reposo a -- temperatura ambiente durante 9 horas. La solución de reac--ción fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con -

25. agua para depositar un precipitado sólido.

El sólido fue mezclado con 12 ml. de amoníaco acuoso 4N-tetrahidrofurano (1 : 3) y la mezcla fue dejada en re--poso durante la noche a temperatura ambiente. La solución -- de reacción fue posteriormente concentrada hasta la seque--

30. dad para dar un residuo sólido. El sólido resultante fue di

- suelto en 12 ml. de agua-dioxano (1 : 3), y la solución fue hecha débilmente ácida por adición de una cantidad muy pequeña de ácido acético y sometida a hidrogenólisis a presión atmosférica durante 1,5 horas sobre negro de paladio. Posteriormente, la solución de reacción fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 75 (c), dando 96 mg. (Rendimiento 89%) del compuesto del título como su dicarbonato. $[\alpha]_D^{25} + 86^{\circ} - - -$ (c 1, agua). Se observó que las propiedades físico-químicas y las actividades antibacterianas de este producto eran coincidentes con las de una muestra auténtica [Journal of Antibiotics Vol. 26, página 412 (1973)].

Ejemplo 77

Síntesis de la 1-N-(DL-3-amino-2-hidroxiopropionil)-dibekacina, es decir 1-N-DL-isoserildibekacina.

15. Se mezcló una solución de 150 mg. de trifluoroacetato de 3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetil dibekacina del Ejemplo 59 en 5 ml. de agua-tetrahidrofurano (1 : 3) con 16 mg. de carbonato sódico anhidro, seguido de la adición de 51 mg. de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido DL-3-benciloxicarbonilamino-2-hidroxiopropiónico (es decir, DL-3-benciloxicarbonilisoserina). La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 10 horas. Posteriormente, la solución de reacción fue elaborada del mismo modo que en el Ejemplo 76 (c), dando 82 mg. (Rendimiento 88%) del compuesto del título como su dicarbonato. $[\alpha]_D^{25} + 82^{\circ} - - -$ (c 0,32, agua).
- 20.
- 25.

Las propiedades físico-químicas y las actividades antibacterianas de este producto resultaron ser idénticas a las de una muestra auténtica.

30. .../...

Ejemplo 78Síntesis de la 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-dibekacina.(a) Preparación de 3,2',6'-tri-N-p-metoxibenciloxicarbonildibekacina.

5. Se suspendieron 500 mg. (1,11 m moles) de dibekacina (base libre) en 15 ml. de dimetilsulfóxido y la suspensión fue agitada para formar una solución, a la que se añadieron 1,2 gr. (5,5 m moles) de dihidrato de acetato de zinc bajo -
10. agitación. A la solución resultante se añadió gota a gota, durante 30 minutos aproximadamente, una solución de 1,17 gr. - (3,86 m moles) de éster de p-metoxi-carbobenzoxi-p-nitrofenilo disuelto en 10 ml. de dimetilsulfóxido, y la mezcla fue -
15. dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La solución resultante fue elaborada después del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 76 (a) para dar 893 mg. (Rendimiento 85%) del compuesto del título. $\left[\alpha \right]_D^{25} + 69^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

(b) Preparación de trifluoroacetato de 3,2',6'-tri-N-p-metoxibenciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetildibekacina.

20. Una solución de 160 mg. de 3,2',6'-tri-N-p-metoxibenciloxicarbonil-dibekacina en 2 ml. de dimetilsulfóxido -- fue mezclada con 48 mg. de trifluoroacetato de etilo, y la --
- mezcla fue elaborada del mismo modo que se ha descrito en el Ejemplo 33, dando 188 mg. (Rendimiento 96%) del compuesto --
25. del título como una sustancia sólida. $\left[\alpha \right]_D^{25} + 58^\circ$ (c 1, agua-dimetilformamida, 1 : 2).

(c) Preparación de 1-N-(L-4-amino-2-hidroxi-butiril)-dibekacina

- Una solución de 150 mg. de trifluoroacetato de 3, 2',6'-tri-N-p-metoxibenciloxicarbonil-3"-N-trifluoroacetildibekacina obtenida en la etapa (b) anterior, disuelta en 5 ml.
- 30.

de agua-tetrahidrofurano (1 : 3) fue mezclada con 14 mg. de carbonato sódico anhidro, seguido de la adición de 54 mg. de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido (S)-4-(p-metoxibenciloxicarbonil)amino-2-hidroxi-butírico, y la mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 8 horas. La solución de reacción fue concentrada en un pequeño volumen y mezclada con agua para depositar un precipitado sólido.

Al sólido se añadió una solución de 1N-HCl en metanol acuoso (1 : 3, 6 ml), y la mezcla fue calentada a 60°C - durante 4 horas para la retirada del grupo p-metoxibenciloxi carbonilo. La solución fue concentrada en un pequeño volumen, a lo que se añadió amoníaco acuoso 5N hasta que la solución mostró un pH de 10. La solución fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante la noche y la solución fue concentrada para dar un residuo. El residuo fue disuelto en agua y la solución cargada en una columna de CM-Sephadex C-25 (forma NH_4^+), que fue lavada con agua completamente y después revelada escalonadamente con amoníaco acuoso 0 \rightarrow 1N. Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas entre sí y concentradas hasta la sequedad para dar 77 mg. (Rendimiento 87%) del compuesto del título como su dicarbonato.

$$[\alpha]_D^{25} + 85^\circ \text{ (c 1, agua)}.$$

N O T A

La Patente de Invención que se solicita por veinte años para España, de acuerdo con la vigente legislación, deberá recaer sobre: "PROCESO PARA LA PRODUCCION DE UN DERIVADO SELECTIVAMENTE ACILADO N-PROTEGIDO, DE UN ANTIBIOTICO AMINO-GLICOSIDICO", con Prioridades de las solicitudes de Patentes Japonesas núms. 138402/78 de fecha 11 de Noviembre de 1978 y 73064/79 de fecha 12 de Junio de 1979, según las caracterís-

tics esenciales de las siguientes:

5.

10.

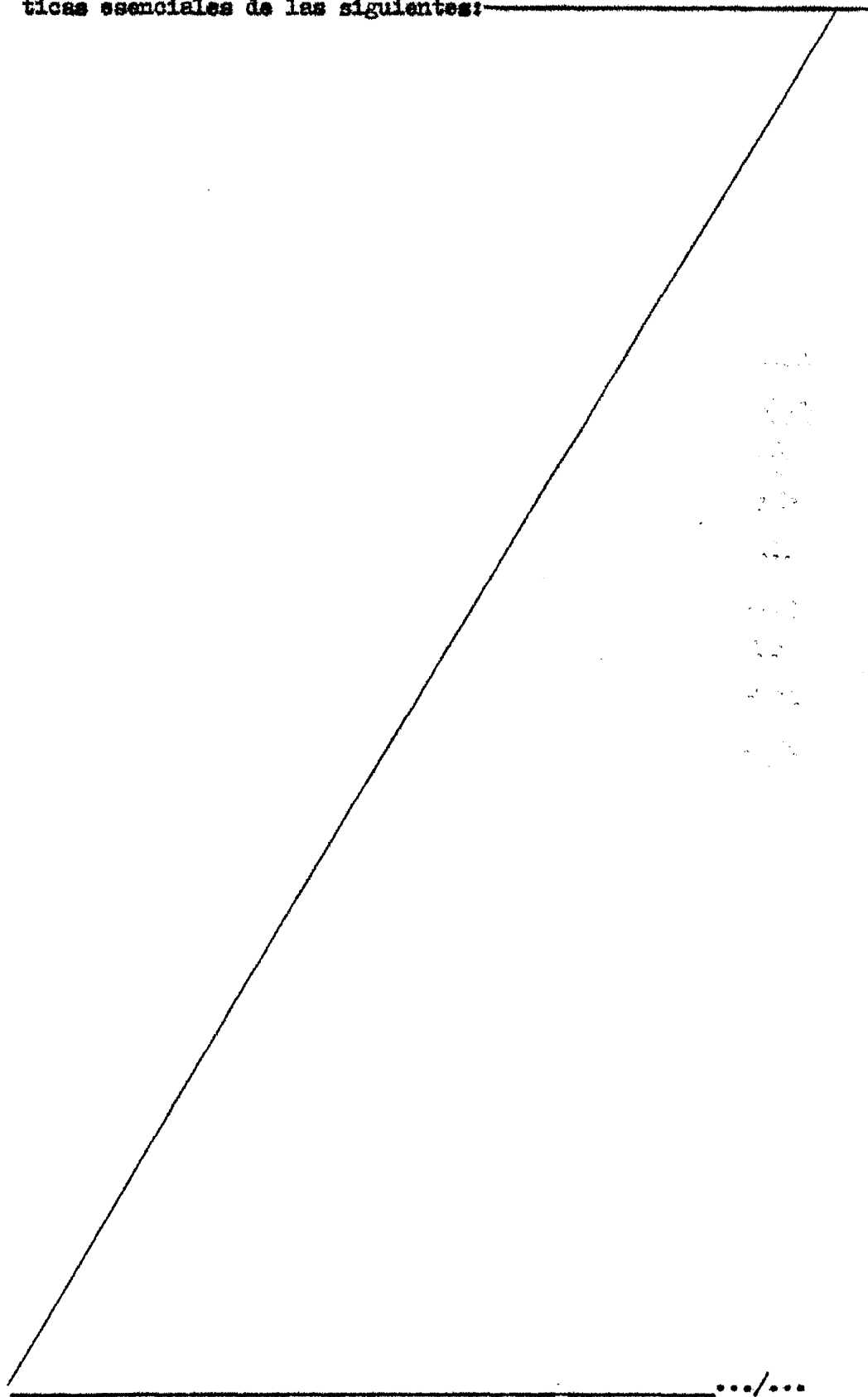
15.

20.

25.

30.

.../...



REIVINDICACIONES

1.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, comprendiendo este antibiótico aminoglicosídico una

5. mitad desoxiestreptamina que tiene un grupo 3-aminoglicosilo ó 3-alkilaminoglicosilo enlazado con el grupo 6-hidroxi de la mitad desoxiestreptamina, y teniendo el derivado selectivamente acilado, N-protegido algunos de sus grupos amino selectivamente protegidos con un grupo acilo, que comprende --

10. los pasos consistentes en:

(a) hacer reaccionar un reactivo de acilación que -- tiene un grupo acilo a introducir como el grupo amino-protector, con un complejo de antibiótico aminoglicosídico-cationes de zinc que ha sido formado por reacción del antibiótico

15. aminoglicosídico con una sal de zinc en un disolvente orgánico inerte, para producir un complejo de cationes de zinc con el derivado selectivamente N-acilado del antibiótico aminoglicosídico que tiene acilados los grupos amino inicialmente no acomplexados, y

20. (b) hacer reaccionar al complejo de cationes de -- zinc con el derivado selectivamente N-acilado del antibiótico aminoglicosídico, con un reactivo que retire los cationes de zinc de dicho complejo, para producir el deseado derivado selectivamente acilado, N-protegido del antibiótico aminogli

25. cosídico.

2.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el antibiótico aminoglicosídico a acomplexar con cationes de zinc es la --

30. 6-O-(3"-amino- ó 3"-alkilamino-3"-desoxiglicosil)-2-desoxieg

treptamina que tiene opcionalmente un grupo 4-O-(aminoglicosilo).

- 3.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el antibiótico aminoglicosídico es la kanamicina A, 6'-N-alquilkkanamicina A, 3'-desoxikanamicina A, 6'-N-metil-3'-desoxikanamicina A, 4'-desoxikanamicina A, 6'-N-metil-4'-desoxikanamicina A, 3', 4'-didesoxikanamicina A, 6''-desoxikanamicina A, 4'',6''-dideoxikanamicina A; kanamicina B, 3'-desoxikanamicina B, 4'-desoxikanamicina B, 3',4'-didesoxikanamicina B, 3',4'-didesoxi-3'-eno-kanamicina B, 6'-N-metil-3',4'-didesoxikanamicina B; kanamicina C, 3'-desoxikanamicina C, 3',4'-didesoxikanamicina C; gentamicina A, gentamicina B, gentamicina C; verdamicina; sisomicina o netilmicina.

- 4.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que se realiza la formación del complejo de antibiótico aminoglicosídico-cación de zinc por reacción del acetato de zinc o cloruro de zinc en una cantidad de 2,3 a 6 mol. por mol. del antibiótico aminoglicosídico en un disolvente orgánico inerte elegido entre el dimetilsulfóxido, dimetilsulfóxido acuoso, dimetilformamida, dimetilformamida acuosa, mezcla de dimetilsulfóxido y dimetilformamida, tetrahidrofurano, tetrahidrofurano acuoso, metanol, metanol acuoso, etanol y etanol acuoso en presencia o ausencia de acetato sódico añadido.

- 5.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el grupo acilo

del reactivo de acilación empleado es un grupo alcanilo, un grupo arilo, un grupo alcocarbonilo, un grupo aralquilo, un grupo ariloxycarbonilo, un grupo alquilsulfonilo, un grupo ariloxycarbonilo, un grupo alquilsulfonilo, o un grupo arilsulfonilo conocido como grupo amino-protector.

5. conocido como grupo amino-protector.

6.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el reactivo de acilación es empleado en una cantidad molar igual a/o ligeramente superior sobre el número de grupos amino a acilar en el complejo de antibiótico aminoglicosídico-cación de zinc.

7.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el complejo de cationes de zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico selectivamente N-acilado es separado una vez de la mezcla de reacción de acilación antes de hacerle reaccionar con un reactivo para retirar los cationes zinc de este complejo.

8. Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el complejo de cationes zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente es separado de la mezcla de reacción de acilación por extracción con un disolvente orgánico, por evaporación del medio disolvente orgánico de la mezcla de reacción de acilación o por dilución de la mezcla de reacción de acilación con un disolvente orgánico diluyente, antes de reaccionar con un reactivo para retirar los cationes zinc.

9.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado, N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el complejo de cationes zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente es separado de la mezcla de reacción de acilación por extracción con un disolvente orgánico, por evaporación del medio disolvente orgánico de la mezcla de reacción de acilación o por dilución de la mezcla de reacción de acilación con un disolvente orgánico diluyente, antes de reaccionar con un reactivo para retirar los cationes zinc.

30.

tivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el complejo de cationes zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado selectivamente una vez separado es mezclado con

5. agua o un disolvente orgánico polar, bien sea anhídrido o bien acuoso, que sirve de reactivo retirador de los cationes zinc.

10.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 9, en el que el disolvente orgánico polar es uno en el que la sal de zinc sea soluble - pero en el que sea insoluble el derivado antibiótico aminoglicosídico N-acilado, o bien uno en el que sea insoluble la sal de zinc pero en el que sea soluble el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado.

15. 11.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que el complejo de cationes zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado una vez separado es nuevamente disuelto total-

20. mente en un disolvente orgánico que contiene una proporción de agua, y la solución resultante es sometida a un procedimiento cromatográfico usando una resina de intercambio catiónico, una resina de intercambio aniónico, una resina de intercambio de quelatos o un polímero insoluble en el agua que

25. contiene grupos funcionales capaces de combinarse con un metal, que sirva de reactivo retirador de los cationes zinc.

12.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que la mezcla de

30. la reacción de acilación es pasada directamente a través de

- una columna de una resina de intercambio catiónico, una resina de intercambio aniónico, resina cambiadora de quelatos o un polímero insoluble en el agua que contenga las funciones combinadoras de metales para la adsorción del complejo de cationes zinc con el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado, y la columna es posteriormente revelada con un disolvente orgánico acuoso que contenga o no una cantidad de ácido o base, y el eluado es recogido en fracciones, seguido de la recuperación de las fracciones que contienen el derivado de antibiótico aminoglicosídico selectivamente N-acilado, deseado pero no conteniendo cationes zinc.

13.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que cuando el derivado de antibiótico aminoglicosídico N-acilado, deseado es insoluble o sustancialmente insoluble en agua, la mezcla de reacción de acilación es mezclada inmediatamente con agua, de tal modo que el citado derivado se precipite por separado de la sal de zinc restante que permanece disuelta en agua.

14.- Proceso para la producción de un derivado selectivamente acilado N-protegido, de un antibiótico aminoglicosídico, según la reivindicación 1, en el que la mezcla de reacción de acilación es tratada con sulfuro de hidrógeno, un sulfuro de metal alcalino o un sulfuro de metal alcalino-térreo que precipite los cationes zinc como sulfuro de zinc, o con hidróxido de amoníaco que precipite los cationes zinc como hidróxido de zinc.

15.- "PROCESO PARA LA PRODUCCION DE UN DERIVADO SELECTIVAMENTE ACILADO N-PROTEGIDO, DE UN ANTIBIOTICO AMINOGLICOSIDICO".

Según queda sustancialmente descrito en la presente Memoria que consta de ciento veinte hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

8 NOV. 1979

5.

Z Aidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyu Kai

P.P.

A handwritten signature in black ink, consisting of a vertical line on the left and a series of horizontal and curved strokes to the right, all contained within a rectangular box.