



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

84486

C (11) 1985:101
Dated 10.10.85

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07H 15/236

(21) Patentihakemus - Patentansökning 872621
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 12.06.87
(24) Alkuperäisyys - Löpdag 14.10.86
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 12.06.87
(44) Nähtäväsipanon ja kuul.julkaisun pvm. -
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 30.08.91
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan US86/02122
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet
15.10.85 US 787193 P

(71) Hakija - Sökande

1. Schering Corporation, 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, N.J., USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Tann, Chou-Hong, 48 Holly Glen Lane South, Berkley Heights, N.J., USA, (US)
2. Thiruvengadam, Tiruvettipuram Kannappan, 81C Golden Square, Woodbridge, N.J., USA, (US)
3. Chiu, John Sze-Hung, 12 Ferndale Drive, Parsippany, N.J., USA, (US)
4. Colon, Cesar, 408 Faitoute Avenue, Roselle Park, N.J., USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Leitzinger Oy

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Netilmisiinin valmistusmenetelmä ja siinä käytetyt lähtöaineet
Förfarande för framställning av netilmicin och där använda utgångsämnen

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

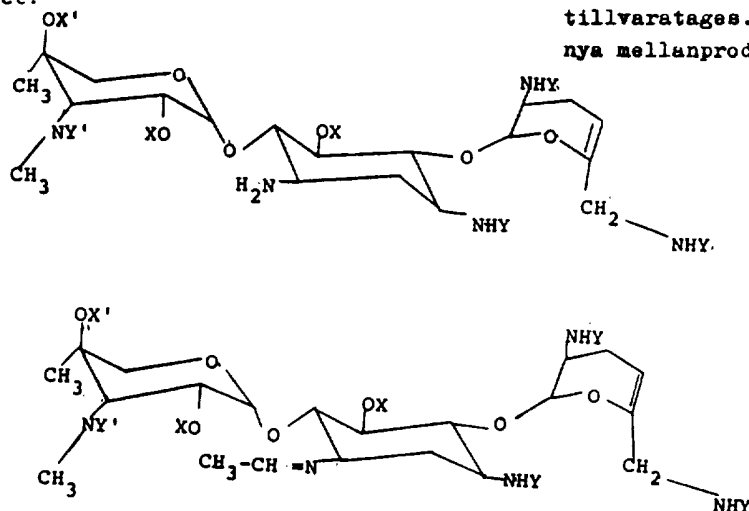
FI A 782369 (C 07H 15/22), NO B 154697 (C 07H 15/234), US A 4230847 (C 07H 15/22)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Kuvauksen kohteena on korkeasaantoinen menetelmä, jolla 3,2',6'-tri-N-asetyyli-sisomisiini muunnetaan netilisiiniksi. Menetelmä käsittää vaiheen, jossa lähtöaine silyloidaan 5,2''-asemissa ja valinnaisesti 4''-asemassa, 1-aminosubstituentit muunnetaan 1-N-imino-substituentiksi, imino muunnetaan etyyliaminoksi, yhdisteistä poistetaan suojaus ja netilmisiini otetaan talteen. Kuvauksen kohteena ovat myös uudet välituotteet.

Uppfinningen avser ett förfarande med högt utbyte, med vilket 3,2',6'-tri-N-asetylisicomisin överföres till netilmicin.

Förfarandet omfattar ett skede, där utgångsmaterialet silyliseras i 5,2''-ställning och valbart i 4''-ställning, 1-aminosubstituenterna överföres till 1-N-imino-substituent, imino överföres till etylamino, från föreningarna avlägsnas skyddet och netilmicin tillvaratages. Uppfinningen avser även nya mellanprodukter.

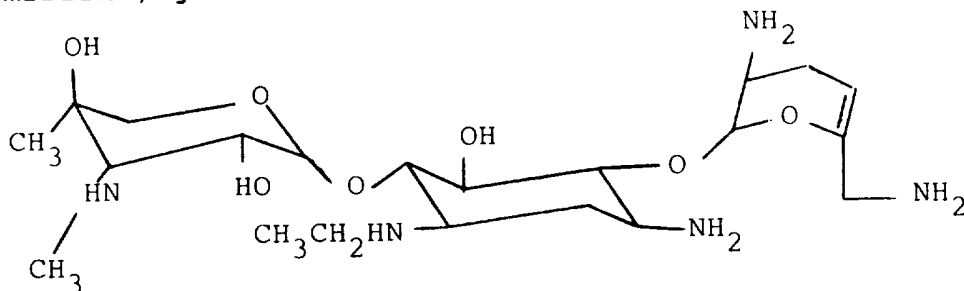


Netilmisiinin valmistusmenetelmä ja siinä käytetyt lähtöaineet
Förfarande för framställning av netilmicin och där använda
utgångsämnen

Tämän keksinnön kohteena on entistä parempi menetelmä, jolla
sisomisiini muunnetaan netilmisiiniksi (1-N-etyyli-sisomi-
siini).

Tarkemmin sanoen tämän keksinnön kohteena on menetelmä, jolla
selektiivisesti salvattu sisomisiini muunnetaan 1-N-imiinijoh-
dokseksi, sen jälkeen pelkistetään imiini 1-N-etyylijohdokseksi
(netilmisiini) olosuhteissa, jotka johtavat halutun yhdisteen
hyvin korkeisiin saantoihin ja häiritsevien sivutuotteiden
hyvin alhaisiin saantoihin.

Netilmisiini, jolla on kaava



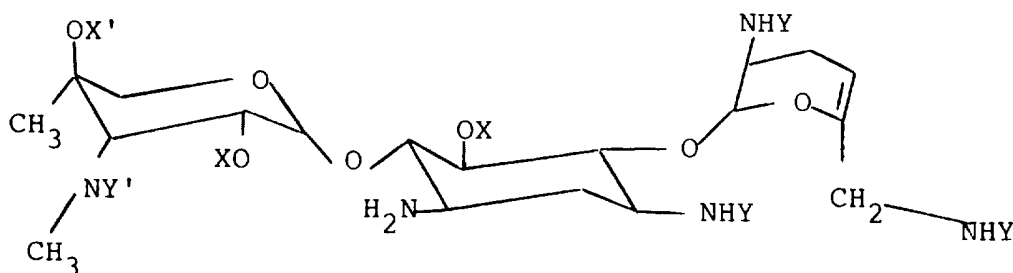
on yleisesti tunnettu aminoglykosidi-antibiootti. Tämä anti-
biootti ja sen valmistus on kuvattu US-patenteissa 4.002.742;
4.029.882; 4.230.847 ja 4.337.335. Netilmisiini valmistettiin
alkuaan saattamalla sisomisiinisulfaatti reagoimaan asetalde-
hydriin kanssa pelkistävässä olosuhteissa. Koska sisomisiinillä
on kuitenkin viisi aminoryhmää, tämän menetelmä johti epäta-
vallisen korkeisiin ei-toivottujen tuotteiden prosenttimääriin,
ja kokonaissaanto oli vain noin 10 - 11 %. US-patentissa
4.320.847 kuvattu menetelmä merkitsi huomattavaa parannusta.
Käyttämällä kuparikomplekseja voitiin salvata selektiivisesti
sisomisiinin 3,2' ja 6' aminoryhmät.

Tämän välituotteen alkylointi asetaldehydin avulla pelkistimen läsnäollessa paransi oleellisesti saantoa (saanto laboratoriossa 60 %, 49 % kaupallisessa valmistuksessa).

Tämä parannettu menetelmä kuitenkin myös johtaa siihen, että kokonaissaantoa alentavia ei-toivottavia tuotteita muodostuu huomattava prosentuaalinen määrä. Suurin määrä ei-toivotuista sivutuotteista muodostuu 1,1-N-dimetyyli-sisomisiinistä. Olosuhteissa, joissa käytetään edellä mainitussa menetelmässä, so. saatetaan reagoimaan asetaldehydin kanssa pelkistimen läsnäollessa, reagoimaan tai ylimääräinen asetaldehydi näyttää reagoivan jo muodostuneen 1-N-etyloidun sisomisiinin kanssa muodostaen 1,1-dietyloidun tuotteen.

Tämän keksinnön avulla parannetaan edellä mainittua menetelmää ja päästään pienempiin sivureaktioihin ja siten korkeimpiin saantoihin. Tämän keksinnön mukaisessa menetelmässä:

a) selektiivisesti salvattu sisomisiinijohdos, jonka yleiskaava on



jossa kukin X on organosilyyliryhmä $\text{Si} \begin{matrix} \diagup & \text{R}^1 \\ \text{---} & \text{R}^2 \\ \diagdown & \text{R}^3 \end{matrix}$

jolloin $\text{R}^1 - \text{R}^3$ ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyylit tai fenyylialempiaralkyyli;

X' on vety tai edellä määritelty organosilyyliryhmä;

kukin Y on aminoryhmän salpausryhmä, joka on asetyyli, formyylili, propionyyli tai aryyli ja Y' on vety tai edellä määritelty Y,

saatetaan reagoimaan asetaldehydinin kanssa inertissä aproottisessa orgaanisessa liuotuksessa vedettömissä olosuhteissa, jolloin muodostuu vastaava 1-N-etylideenijohdos;

b) reaktioseoksessa mahdollisesti läsnäoleva ylimääräinen reagoimaton asetaldehydi pelkistetään metallihydridipelkistimellä, kuten natriumboorihydridillä, aminoboraaneilla tai litiumalumiinihydridillä huoneen lämpötilassa korkeintaan 30 minuuttia;

c) 1-N-etylideeniryhmä pelkistetään etyyliaminoryhmäksi vesipitoisissa olosuhteissa ympäröivässä lämpötilassa korkeintaan 2 tuntia metallihydridipelkistimellä säätämällä reaktion pH arvoon 7 - 12;

d) kaikki suojaryhmät poistetaan; ja

e) netilmisiini eristetään vapaana emäksenä tai happoadditiivisuolana.

Sisomisiinijohdos saatetaan reagoimaan aminoryhmän salpausyhdisteiden kanssa 3,2',6' ja valinnaisesti 3"-asemassa. Parhaina pidettyjä aminoryhmän salpaussubstituentteja ovat asetyyli-, formyylili-, propionyyli- ja aroyyliryhmät, jolloin erityisen hyvinä pidetään asetyyli- ja aroyyliryhmät lisätään sisomisiiniin on esitetty US-patentissa 4.337.335, joka tässä yhteydessä mainitaan viitteenä. Formyyli- ja aroyyliryhmät voidaan lisätä saattamalla sisomisiini reagoimaan epäsymmetrisen muurashappohydridin kanssa.

3,2',6'-tri-N-asetyyli-sisomisiinin (jäljempänä yhdiste

1) muodostuminen sisomisiinistä on myös esitetty US-patenteissa 4.320.848 ja 4.136.254. Kummassakin patentin esimerkissä 16C (1) on esitetty kupari(II)asetatti-

hydraatin reaktio sisomisiin kanssa ja senjälkeinen reaktio etikkahappoanhydridin ja tämän jälkeen reaktio rikkivetykaasun kanssa. Tuote otetaan talteen ioninvaihtohartsista hydroksidisyklissä. Tässä yhteydessä on annettu viitteenä spesifinen esimerkki.

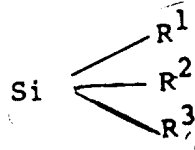
Toinen menetelmä, jolla voidaan valmistaa 3,2',6'-tri-N-asetyyllisisomisiini sisomisiinistä, on seuraavanlainen. Kupari(II)asetattiin, joka on suspendoitu N,N-dimetyyli-formamidin ja veeen noin 6:2-seokseen, lisätään sisomisiini-konsentraattia. pH säädetään arvoon 8,5 - 10,5 lisäämällä trietyyliamiinia. Suspensio jäädytetään noin 5°C:een ja 0 - 10°C:ssa lisätään vähitellen etikkahappoanhydridin liuosta N,N-dimetyyli-formamidissa samalla tehokkaasti sekoittaen. Reaktioseoksen pH pidetään arvossa välillä 8,5 - 10,5 lisäämällä tarvittaessa lisää trietyyliamiinia. Vaihtoehtoisesti lisätään kuvatulla tavalla ensin noin 90 % etikkahappoanhydridiliuoksesta N,N-dimetyyli-formamidissa. Liuoksen loput 10 % laimennetaan noin 6 tilavuudella N,N-dimetyyli-formamidia ja lisätään tämän jälkeen. Reaktion menemistä loppuun seurataan ohutlevykromatografian avulla. Jos reaktio ei ole täydellinen, voidaan reaktion loppuun saattamiseksi lisätä vähitellen etikkahappoanhydridiliuosta N,N-dimetyyli-formamidissa. Reaktion tapahduttua loppuun seos väkevöidään alipaineessa. Konsentraatti laimennetaan vedellä, jäädytetään noin 4 tuntia 0 - 10°C:ssa ja kiintoaines suodatetaan. Tuote otetaan jälleen talteen ioninvaihtohartsista osittaisessa ammoniumsyklissä.

Jommalla kummalla menetelmällä valmistettu 3,2',6'-tri-N-asetyyllisisomisiini spray-kuivataan tämän jälkeen veden poistamiseksi.

Tämän keksinnön mukaisella menetelmällä saadaan netilmi-siiniä noin 85 - 90 % saannolla tai enemmän laskettuna

lähtöaineesta (yhdiste 1) reagoimattoman sisomisiinimäärän ollessa noin 3 - 7 %, yleensä noin 5 %, ja reaktion sivutuotteita ollessa mitätön määrä.

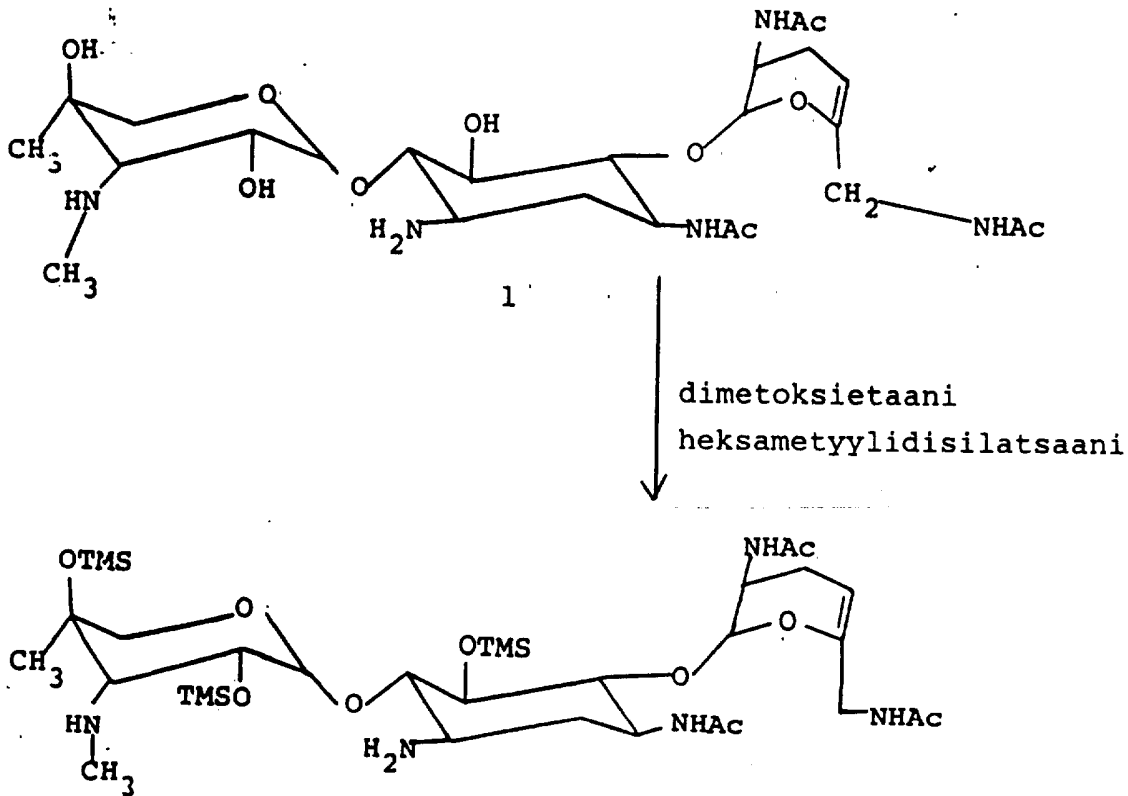
Tämän keksinnön mukaisen menetelmän ensimmäisessä vaiheessa silyloidaan 3,2',6'-tri-N-asetyyllisisomisiini (yhdiste 1). Potentiaalisten reaktiokohtien salpaamisen lisäksi silylointi myös parantaa sisomisiinijohdoksen liukoisuutta liuottimeen. Silylointiaineisiin kuuluvat organosilyyliyhdisteet, jotka reagoivat hydroksyylikohtien kanssa ja johtavat yleiskaavan



mukaisiin organosilyylisubstituentteihin, jossa kaavassa $\text{R}^1 - \text{R}^3$ ovat alempialkyyli, fenyylili tai fenyylialempi-alkyyli. Parhaina pidettyjä substituentteja ovat trialempi-alkyyllisilyylit ja erityisen hyvinä pidetään trimetyyli-silyylisubstituentteja.

Kolme hydroksyylikohtaa, so. 5,2" ja 4" voidaan silyloida. Keksinnön piiriin kuuluu kuitenkin myös se, että voidaan silyloida vain kaksi kohtaa, so. 5 ja 2" kohdat. Tämä voidaan suorittaa valitsemalla sopivalla tavalla silylointiaine, silylointiolosuhteet ja säätelämällä lisätyn silylointiaineen määrää. Sisomisiinijohdoksen silyloitumisen määrää voidaan seurata NMR:llä. Silylointimenetelmän yksinkertaistamiseksi ja liukoisuuden parantamiseksi on suositeltavaa silyloida kaikki kolme hydroksyylikohtaa. Jäljempänä kuvatussa parhaana pidetyssä menetelmässä silyloidaan 3,2',6'-tri-N-asetyyllisisomisiini 3,2',6'-tri-N-asetyyli-5,2",4"-trimetyyllisilyyllisominiiksi (yhdiste 2) seuraavan reaktiokaavion mukaisesti.

KAAVIO A

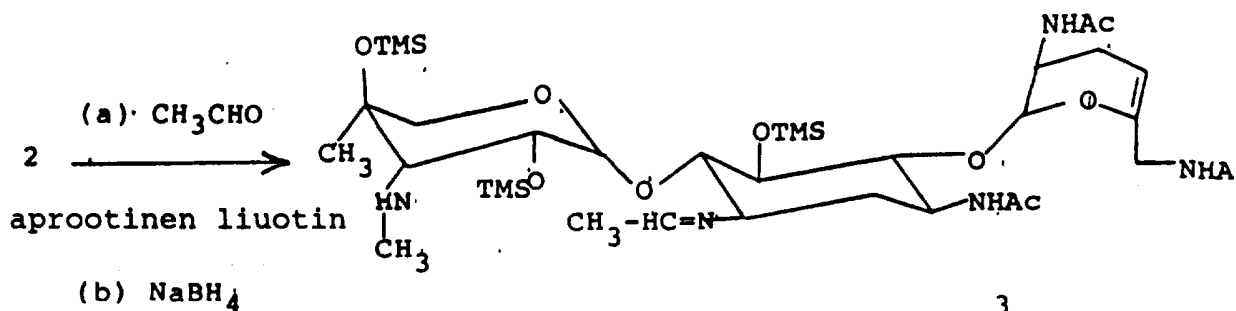


Kaaviossa A kuvattu reaktio suoritetaan vedettömissä olosuhteissa refluksoiden, parhaiten katalyytin, kuten sulfaattisuolan; ammoniumsuolan, kuten ammoniumkloridin tai ammoniumsulfaatin; rikkihapon; tai trimetyylisilyyli-kloridin läsnäollessa. Eräs hyvänä pidetty katalyytti on yhdisteen 1 sulfaattisuola, so. 3,2",6'-tri-N-asetyyli-sisomisiinisulfaatti. Yhdisteen 1 (jonka kanssa on sekoitettu hyvin pieni määrä sen sulfaattisuolaa) ja silylointiaineen, esimerkiksi trimetyyli-silylointiaineen, kuten heksametyylidisilatsaanin, bis(trimetyylisilyyli)asetamidin (BSA), mono(trimetyylisilyyli)asetamidin (MSA), trimetyylikloorisilaanin (TMCS) tai muun vastaavan silylointiaineen välinen reaktio suoritetaan inertissä orgaanisessa liuottimessa, so. orgaa-

nisessa liuottimessa, joka on inertti reaktio-olosuhteille, esimerkiksi asetonitriilissä, tolueenissa, 1,2-dimetoksietaanissa ja vastaavassa. Eräs hyvänä pidetty liuotin on 1,2-dimetoksietaani (DME). Silyloinnin etenemistä seurataan ¹H-NMR:n avulla. Reaktio tapahtuu loppuun noin 5 tunnissa. Silyloitua substituuttia käytetään salpaamaan alkyloituminen 3'-amiiniryhmässä trimetyyli-silyloitujen 2"- ja valinnaisesti 4"-asemien steerisen estymisen avulla.

Sen jälkeen muunnetaan yhdisteen 2 1-aminoryhmä N-iminoksi seuraavan reaktiokaavion mukaisesti parhaiten vedettömissä olosuhteissa. Veden läsnäolo N-iminon muodostamisvaiheen aikana voi johtaa epätäydellisiin reaktioihin 1-asemassa.

KAAVIO B

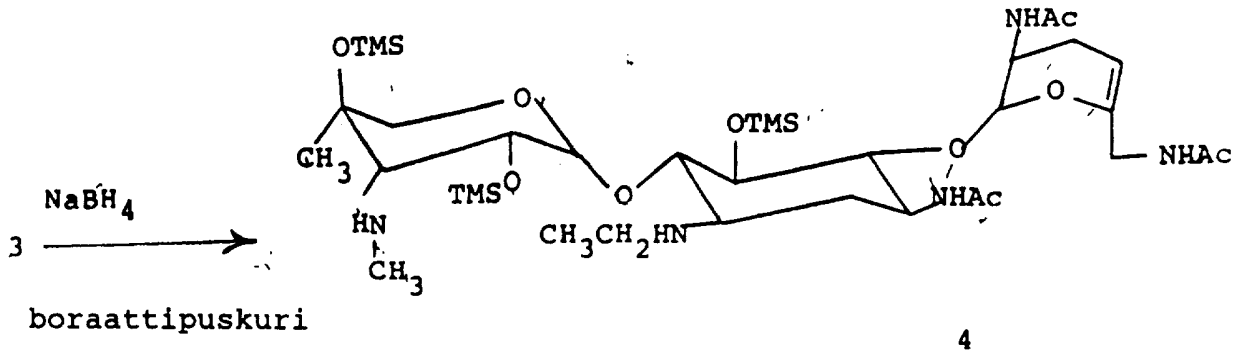


Tämän imiinin muodostamisreaktio on avainreaktio tämän keksinnön mukaisessa monivaiheisessa menetelmässä. Yhdisteen 2 reaktio asetaldehydin kanssa suoritetaan lämpötiloissa välillä noin 10°C ja huoneen lämpötila

(noin 25°C), parhaiten noin 15°C:ssa orgaanisessa aproottisessa liuottimessa, joka on inertti reaktion olosuhteille, esimerkiksi 1,2-dimetoksietaanissa, asetonitriilissä, tolueenissa, heksaanissa, metyleenikloridissa, tetrahydrofuraanissa ja vastaavissa. Eräs hyvänä pidetty liuotin on metyleenikloridi. Sen jälkeen, kun reaktio on edennyt noin 30 minuuttia, lisätään seokseen metallihydridi-pelkistintä, jolloin parhaiten yhä ylläpidetään vedettömät olosuhteet, jotta mahdollinen ylimääräinen asetaldehydi saataisiin reagoimaan täydellisesti ja siten estettäisiin mahdolliset ei-toivotut sivureaktiot. Suositeltaviin pelkistimiin kuuluvat natriumboorihydridi, amiiniboraanit, litiumalumiinihydridi. Näistä erityisen hyvänä pidetään natriumboorihydridiä. Natriumboorihydridi lisätään ja reaktioseos lämmitetään noin huoneen lämpötilaan ja saatetaan reagoimaan noin 10 - 15 minuuttia. Imiinin muodostumista seurataan ¹H-NMR:n avulla. Reaktion ensimmäinen vaihe tapahtuu loppuun noin 30 minuutissa. Natriumboorihydridi pelkistää mahdollisen reagoimattoman asetaldehydin ja estää näin ei-toivotut sivureaktiot.

Sen jälkeen, kun ylimääräinen asetaldehydi on poistettu, voidaan aminosubstituentti pelkistää etyyliamino-funktioksi pelkistimellä, kuten jo kuvatuilla pelkistimillä, vesipitoisissa tai vedettömissä olosuhteissa. Parhaiten lisätään puskurointiainetta ja pH pidetään välillä noin 7 - 12, parhaiten noin 9,5 - 10. Kun tässä vaiheessa käytetään pelkistimenä natriumboorihydridiä, mukana on parhaiten protonointiainetta, kuten vettä ja/tai puskurointiainetta. Tämä reaktio on esitetty seuraavassa kaaviona C.

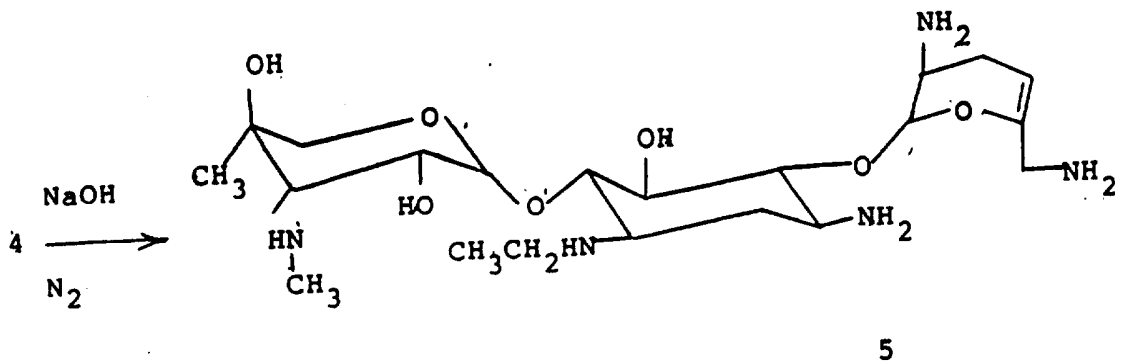
KAAVIO C



Mikä tahansa tavanomainen puskuri, joka pitää pH:n arvossa noin 7 - 12, on sopiva, esimerkiksi fosfaatti-, sitraatti- tai boraattipuskuri. Parhaina pidetään boraattipuskureita. Puskuri lisätään nopeasti reaktioseokseen, jota sen jälkeen sekoitetaan ympäristön lämpötiloissa noin 15 - 120 minuuttia, kunnes imiinin pelkistysreaktio on tapahtunut loppuun. Reaktion etenemistä voidaan seurata $^1\text{H-NMR}$:n avulla.

Asetyyli- ja trimetyylisilyyliryhmät poistetaan yhdisteestä 4 hydrolysoimalla, jolloin saadaan netilmisiiniä, yhdistettä 5, kuten on havainnollistettu seuraavassa reaktiokaaviossa.

KAAVIO D



Ennenkuin salpaus poistetaan yhdisteestä 4 hydrolysoimalla, natriumhydroksidi aluksi deaktivoidaan lisäämällä riittävästi natriumhydroksidia ja sen jälkeen liuotin poistetaan reaktioseoksesta. Tämä tulisi tehdä heti reaktion tapahduttua loppuun. Salpauksen poistaminen hydrolysoimalla on tavanomainen menetelmä. On havaittu, että kun sen jälkeen lisätään emästä, parhaiten 10-prosenttista natriumhydroksidia ja hydrolyysireaktio suoritetaan refluksoiden tyyppien alla noin 10 - 20 tunnin ajan, saadaan hyvä tulos. Reaktion etenemistä voidaan seurata ohutlevykromatografian avulla. Saatua hydrolysaattia tehdään happameksi pH-arvoon 6 ja netilmisiini otetaan talteen noin 85 - 90 % saannolla.

Seuraavat menetelmät havainnollistavat keksintöä. Esimerkeissä HPLC on suuren suorituskyvyn nestekromatografia ja NMR on ydinmagneettinen resonanssi.

ESIMERKKI 1

Tri-silyloitu tri-N-asetyylisisomisiini

a) 15,0 g (26,2 millimoolia; HPLC:n perusteella puhtaus 83 %) 3,2',6'-tri-N-asetyylisisomisiiniä, 0,750 g (1,12 millimoolia 3,2',6'-tri-N-asetyylisisomisiinisulfaattia, 150 ml 1,2-dimetoksietaania (DME) ja 25 ml heksametyyldisilatsaania (118,5 millimoolia) lisätään 500 ml:n kolmikaulaiseen pyöreäpohjaiseen kolviin, joka on varustettu yläpuolisella mekaanisella sekoituslaitteella, palautusjäähdyttimellä, jossa on kuivausputki, ja lämpömittarilla. Seosta kuumennetaan öljyhauteessa (ulkoisen öljyhauteen lämpötila 105°C) 5 tuntia ja silyloitumisen edistymistä seurataan ¹H-NMR:n avulla. Silylointireaktio tapahtuu loppuun 5,2" ja 4" kohdissa noin 3 - 8 tunnin kuluessa.

Silyloitu 1-N-etyyli 3,2",6'-tri-N-asetyyllisisomisiini

b) Lisätään 150 ml metyleenikloridia vedettömään reaktio-seokseen osasta (a) huoneen lämpötilassa. Seos jäädytetään noin 15°C:een, ennenkuin siihen lisätään 3,0 ml kylmää asetaldehydiä (53,6 millimoolia). Sekoittamista jatketaan 30 minuuttia ja sen jälkeen lisätään 1,9 g jauhemaista natriumboorihydridiä (50,2 millimoolia). Reaktioseos lämmitetään takaisin huoneen lämpötilaan ja sekoitetaan 10 - 15 minuuttia, jotta voitaisiin täydellisesti poistaa mahdollinen ylimääräinen asetaldehydi. Sen jälkeen lisätään 30 ml 0,5M vesipitoista boraattipuskuria (pH 9,75) seokseen tiputtaen nopeasti toisesta suppilosta ja annetaan sekoittua ympäristön lämpötilassa 2 tuntia ja näin pelkistetään imiini vastaavaksi etyyliaminosubstituentiksi.

Netilmisiini

30 ml 10-prosenttista vesipitoista natriumhydroksidiliuosta lisätään osasta (b) saatuun reaktioseokseen natriumboorihydridin deaktivoimiseksi. Liuotinseos (DME/CH₂Cl₂, poistetaan alipaineessa. Sen jälkeen lisätään 200 ml 10-prosenttista natriumhydroksidivesiliuosta ja seosta kuumennetaan refluksoiden öljyhauteessa (103°C) 20 tuntia lievän typpikaasuvirran alla. Reaktiion edistymistä seurataan ohutlevykromatografian (TLC) avulla käyttämällä kehitysliuottimena 1:1:1-kloroformi:metanoli:väkevä ammoniumhydroksidi-seoksen alempaa faasia.

Hydrolysaatti jäädytetään jäähauteella, tehdään happameksi pH-arvoon 6 lisäämällä 25-prosenttista rikkihappoa ja sakka erotetaan suodattamalla. Näyte suodoksesta laimennetaan HPLC-määrityksen sopivaan konsentraatioon. Netilmisiinin korjattu HPLC-saanto on 88 %.

ESIMERKKI II2",5-disilyyli-3,2',6'-tri-N-asetyyლისისომისიინის valmistaminen

4,4 ml heksametyylidisilatsaania lisättiin sekoitettuun suspensioon, joka sisälsi 4,0 g (6,04 millimoolia) HPLC-puhtaus 86,6 %) 3,2',6'-tri-N-asetyyლისისომისიინia ja 0,04 g (0,06 millimoolia) 3,2',6'-tri-N-asetyyლისისომისიინისულfaatia 40 ml:ssa 1,2-dimetoksietaania (DME), ja seosta kuumennettiin refluksoiden 3 tuntia öljyhauteessa. Reaktioseos muuttui kirkkaaksi homogeeniseksi liuokseksi ja reaktio pysäytettiin tässä vaiheessa (¹H-NMR:n perusteella seos sisälsi pääosaltaan 2",5-disilyloitua tri-N-asetyyლისისომისიინia).

Imiinin muodostaminen, pelkistäminen ja hydrolyysi suoritettiin esimerkissä I kuvatulla tavalla.

Korjattu HPLC-saanto netilmisiinille on 83 %.

ESIMERKKI IIINetilmisiin valmistaminen 3,2',6',3"-tetra-N-asetyyლისისომისიინista

Tässä tutkimuksessa käytetty puhdistettu 3,2',6',3"-tetra-N-asetyyლისისომისიინi saatiin asetyloimalla 3,2',6'-tri-N-asetyyლისისომისიინin 3"-aminoryhmä N-asetyyლისიმידატსოლიilla ja eristämällä silikageelipylvään avulla.

4 g tätä lyofilisoitua tetra-N-asetyyლისისომისიინia suspendoitiin 40 ml:aan 1,2-dimetoksietaania ja lisättiin 4,4 ml HMDS. Seosta kuumennettiin refluksoiden 7 tuntia. ¹H-NMR:n perusteella silylointireaktio oli tapahtunut loppuun.

Imiinin muodstaminen, pelkistäminen ja hydrolyysi suoritettiin esimerkissä I kuvatulla tavalla. Netilmisiin korjattu HPLC-saanto on 83,5 %.

3,2',6'-tri-N-asetyyli-5,2'',4''-trimetyylisisomisiin ja 3,2',6'-tri-N-asetyyli 5,2'',4''-1-N-etylideenisomisiin ¹H-NMR-arvot on esitetty seuraavassa taulukossa I.

TAULUKKO I

A. Tri-silyloitu tri-N-asetyyლისomisiini:

¹H-NMR (CD₂Cl₂) δ = 0,118 /S, 9H, Si-(CH₃)₃/, 0,124 /S, 9H, Si-(CH₃)₃/, 0,165 /S, 9H, Si-(CH₃)₃/, 1,38 (S, 3H, CH₃ C-4'':ssa 1,93 (S, 3H, CH₃-C-N), 1,96 (S, 3H,

CH₃-C-N), 1,98 (S, 3H, CH₃-C-N), 2,45 (S, 3H, CH₃-N

C-3'':ssa), 4,69 (dd, 1H, J = 3,29 ja 4,02 Hz, CH C-4'':ssa), 5,01 (d, 1H, J = 2,19 Hz, CH C-1'':ssa), 5,08 (d, 1H, J = 1,82 Hz, CH C-1':ssa), 6,03 (d, 1H, J = 6,99 Hz, NH-C-), 6,47 (dd, 1H, J = 5,11 ja 6,96 Hz, CH₂ NH-C-),

ja 7,1 ppm (d, 1H, J = 9,13 Hz, NH-C-).

B. Silyloitu 1-N-etylideeni 3,2'-6'-tri-N-asetyyლისomisiini

¹HNM (CD₃CN) δ = 0,08 /S, 9H, Si-(CH₃)₃/, 0,102 /S, 9H, Si-(CH₃)₃/, 0,140 /S, 9H, si-(CH₃)₃/, 1,5 (S, 3H, CH₃ C-4'':ssa, 1,83 (S, 3H, CH₃-C-N), 1,86 (S, 3H,

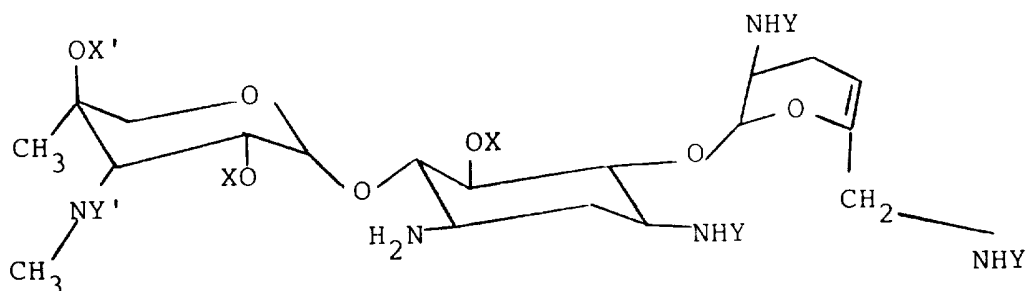
CH₃-C-N), 1,89 (d, 3H, J = 4,76 Hz, CH₃CH=N), 1,93 (S, 3H,

CH_3 $\overset{\text{O}}{\parallel}$ CN), 2,36 (s, 3H, CH_3 -N C-3'':ssa), 4,71 (bm, 2H, CH's
 C-4':ssa ja C-1''), 5,19 (d, 1H, J = 1,46 Hz, CH C-1':ssa),
 6,37 (d, 1H, J = 8,04, NH-C), 6,77 (d, 1H, J = 8,4 Hz,
 NH-C-), 6,99 (t, 1H, J = 5,48 Hz, CH_2 -N-C-) ja 7,69 ppm
 (q, $\overset{\text{O}}{\parallel}$ 1H, J = 4,76 Hz $\text{CH}_3\text{CH}=\text{N}$). $\underset{\text{H}}{\text{N}} \text{O}$

CNMR (CD_3CN) δ = 162,04 (N = CHCH_3) ja 22,46 ppm (N=CH-
 CH_3).

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä netilmisiinin valmistamiseksi 1-N-etyloimalla sisomisiini asetaldehydinin avulla, t u n n e t t u siitä, että a) selektiivisesti salvattu sisomisiinijohdos, jonka yleiskaava on



jossa kukin X on organosilyyliryhmä $\text{Si} \begin{matrix} \diagup \text{R}^1 \\ \text{---} \text{R}^2 \\ \diagdown \text{R}^3 \end{matrix}$

jolloin $\text{R}^1 - \text{R}^3$ ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyylit tai fenyylialkyyli;

X' on vety tai edellä määritelty organosilyyliryhmä;

kukin Y on aminoryhmän salpausryhmä, joka on asetyyli, formyylit, propionyylit tai aryyli ja Y' on vety tai edellä määritelty Y,

saatetaan reagoimaan asetaldehydinin kanssa inertissä aproottisessa orgaanisessa liuottimessa vedettömissä olosuhteissa, jolloin muodostuu vastaava 1-N-etylideenijohdos;

b) reaktioseoksessa mahdollisesti läsnäoleva ylimääräinen reagoimaton asetaldehydi pelkistetään metallihydridipelkistimellä, kuten natriumboorihydridillä, aminoboraaneilla tai litiumalumiinihydridillä huoneen lämpötilassa korkeintaan 30 minuuttia;

c) 1-N-etylideeniryhmä pelkistetään etyyliaminoryhmäksi vesipitoisissa olosuhteissa ympäröivässä lämpötilassa korkeintaan 2 tuntia metallihydridipelkistimellä säätämällä reaktion pH arvoon 7 - 12;

d) kaikki suojaryhmät poistetaan; ja
e) netilmisiini eristetään vapaana emäksenä tai happoadditio-
suolana.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että silylointia katalysoidaan katalyytillä, joka on valittu ryhmstä, johon kuuluvat sulfaattisuola, ammoniumsuola, rikkihappo, trimetyylisilyylikloridi ja niiden seokset.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n -
n e t t u siitä, että silylointi suoritetaan 3,2',6'-tri-N-
asetyyლისისომისისულfaatის ներկայությամբ.

4. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R¹, R² ja R³ ovat alempia alkyyleja.

5. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R¹, R² ja R³ ovat kukin metyyli.

6. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että X' on organosilyyliryhmä.

7. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että sisomisiinijohdos silyloidaan saattamalla tämä sisomisiinijohdos kosketukseen yhdisteen kanssa, joka on valittu ryhmästä, johon kuuluvat heksametyylidisilatsaani, bis(trimetyylisilyyli)asetamidi, mono(trimetyylisilyyli)asetamidi, trimetyylikloorisilaani ja niiden seokset.

8. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että sisomisiinijohdos

silyloidaan saattamalla kosketukseen heksametyylidisilatsaanin kanssa.

9. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että aproottinen liuotin on valittu ryhmästä, johon kuuluvat 1,2-dimetoksietaani, asetonitriili, tolueeni, heksaani, metyleenikloridi, tetrahydrofuraani ja niiden seokset.

10. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että aproottinen liuotin on dimetoksietaani.

11. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ylimääräinen tai reagoimaton asetaldehydi eliminoidaan lisäämällä metallihydridipelkistintä.

12. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ylimääräisen tai reagoimattoman asetaldehydinin eliminointiin käytetty metallihydridipelkistin on valittu ryhmästä, johon kuuluvat natriumboorihydridi, amiiniboraanit, litiumalumiinihydridi ja niiden seokset.

13. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 12 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ylimääräinen asetaldehydi saatetaan reagoimaan lisäämällä natriumboorihydridiä.

14. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ylimääräisen asetaldehydinin pelkistämisen jälkeen lisätään vesipitoista puskuria pH-arvon pitämiseksi välillä noin 7-12.

15. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 14 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että pH pidetään arvossa välillä noin 9,5 - 10 puskurin lisäämisen jälkeen.

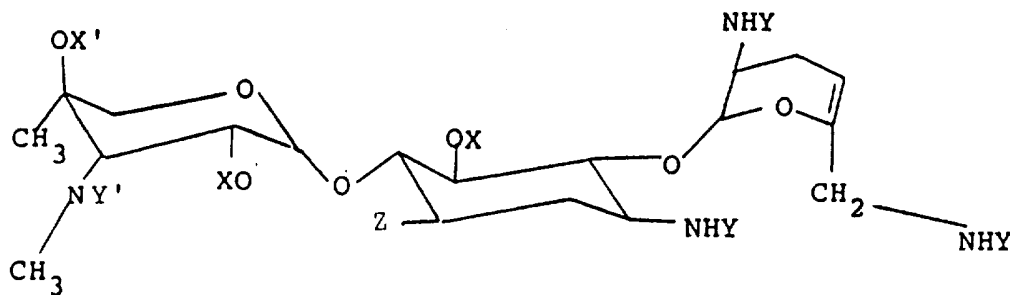
16. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 15 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että vesipitoinen puskuri on valittu boraatti-, fosfaatti-, sitraattipuskureista ja niiden seoksista.

17. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 16 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että puskuri on natriumboraatti.

18. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 17 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että 1-N-etylideeniryhmä pelkistetään etyyliaminoryhmäksi lisäämällä pelkistintä, joka on valittu ryhmästä, johon kuuluvat natriumboorihydridi, amiiniboraanit, litiumalumiinihydridi ja niiden seokset.

19. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 1 - 18 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että etylideenisubstituentti pelkistetään etyyliaminosubstituentiksi lisäämällä natriumboorihydriä.

20. Selektiivisesti salvattu sisomisiinijohdos, jonka yleiskaava on



jossa kukin X on organosilyyliryhmä $\text{Si} \begin{array}{l} \diagup \text{R}^1 \\ \text{---} \text{R}^2 \\ \diagdown \text{R}^3 \end{array}$

jolloin $\text{R}^1 - \text{R}^3$ ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyylit tai fenyylialempialkyyli;

X' on vety tai edellä määritelty organosilyyliryhmä;

kukin Y on aminoryhmän salpausryhmä, joka on asetyyli, formyylit, propionyyli tai aryyli;

Y' on vety tai edellä määritelty Y; ja

Z on H_2 tai $=\text{CH}-\text{CH}_3$.

21. Patenttivaatimuksen 20 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että kukin X on trimetyylisilyyli.

22. Patenttivaatimuksen 20 tai 21 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että kukin Y on asetyyli.

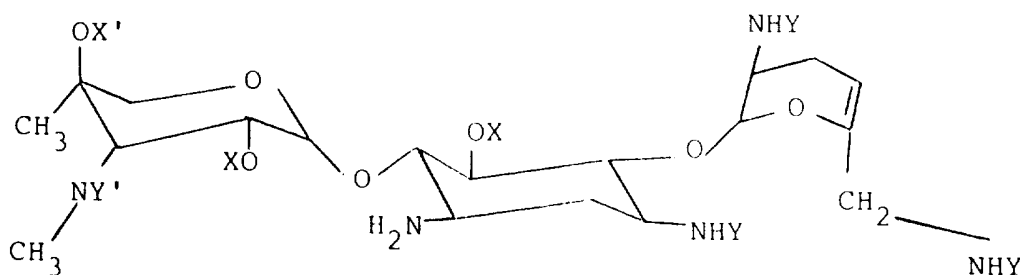
23. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen 20 - 23 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että Y' on vety.

24. Patenttivaatimuksen 20 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että X' on trimetyylisilyyli.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av netilmicin med hjälp av 1-N-etylering av sisomicins acetaldehydin, k ä n n e t e c k n a t därav, att

a) ett selektivt blockerat sisomicinderivat med den allmänna formeln



där varje X är en organosilylgrupp $\text{Si} \begin{matrix} \diagup \text{R}^1 \\ \text{---} \text{R}^2 \\ \diagdown \text{R}^3 \end{matrix}$

varvid $\text{R}^1 - \text{R}^3$ är oberoende av varandra lägre alkyl, fenyl eller fenyllägrealkyl;

X' är väte eller en ovan definierad organosilylgrupp;

varje Y är en aminogrupper blockeringsgrupp, som är aetyl, formyl, propionyl eller aryl och Y' är väte eller ovan definierad Y, omsätts med acetaldehyd i ett inert aprotiskt organiskt lösningsmedel i vattenfria betingelser, varvid motsvarande 1-N-etylidenderivat bildas;

b) den i reaktionsblandningen eventuellt närvarande överskott av oreagerat acetaldehyd reduceras med metallhydridreduktionsmedel, såsom natriumborhydrid, aminoboran eller litiumaluminiumhydrid vid rumstemperatur under högst 30 minuter;

c) 1-N-etylidengruppen reduceras till en etylaminogrupp i vattenhaltiga betingelser vid omgivande betingelser under högst 2 timmar med metallhydridreduktionsmedel genom att reglera reaktionens pH-värde till 7 - 12;

d) alla skyddsgrupper avlägsnas; och

e) netilmicin separeras som en fri bas eller syraadditionssalt.

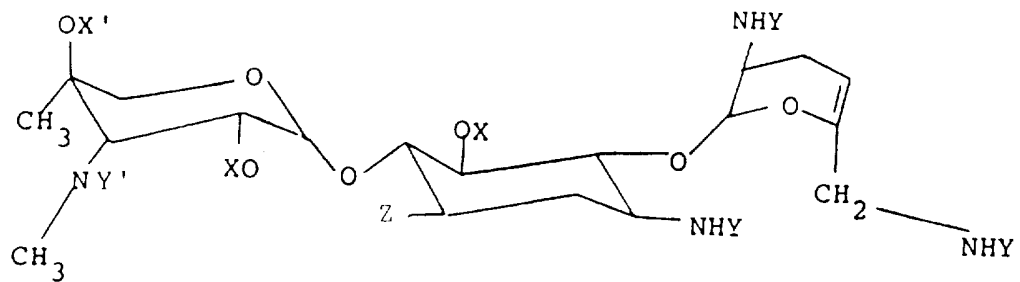
2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att silyleringen katalyseras med en katalyt, som är vald ur gruppen bestående av sulfatsalt, ammoniumsalt, svavelsyra, trimetylsilylklorid och deras blandningar.
3. Förfarande enligt patentkraven 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att silyleringen utförs i närvaro av 3,2',6'-tri-N-acetylsisomicinsulfat.
4. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 3, k ä n n e t e c k n a t därav, att R^1 , R^2 och R^3 är lägre alkyler.
5. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 4, k ä n n e t e c k n a t därav, att R^1 , R^2 och R^3 var och en är metyl.
6. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att X' är en organosilylgrupp.
7. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 6, k ä n n e t e c k n a t därav, att sisomicinderivatet silyleras genom att bringa detta sisomicinderivat i beröring med en förening, som valts ur gruppen bestående av hexametyldisilazan, bis(trimetylsilyl)acetamid, mono(trimetylsilyl)acetamid, trimetylklorsilan och deras blandningar.
8. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 7, k ä n n e t e c k n a t därav, att sisomicinderivatet silyleras genom att bringa det i beröring med hexametyldisilazan.
9. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 8, k ä n n e t e c k n a t därav, att det aprotiska lösningsmedlet valts ur en bestående av 1,2-dimetoxietan, acetontil, toluen, hexan, metylenklorid, tetrahydrofuran och deras blandningar.

10. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 9, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att aprotiska lösningsmedlet är dimetoxi-
etan.
11. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 10, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att överskottet av eller oreagerad
acetaldehyd elimineras genom tillsats av metallhydridreduk-
tionsmedel.
12. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 11, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att för eliminering av överskott av
eller oreagerad acetaldehyd det använda metallhydridreduk-
tionsmedlet är vald ur gruppen bestående av natriumborhydrid,
aminboran, litiumaluminiumhydrid och deras blandningar.
13. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 12, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att överskottet acetaldehyd omsätts
med tillsats av natriumborhydrid.
14. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 13, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att efter reduktionen av överskottet
av acetaldehyd tillsätts vattenhaltig buffert för att hålla
pH-värdet vid mellan 7-12.
15. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 14, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att pH hålls vid ett värde av mellan
ca 9,5 - 10 efter tillsatsen av buffert.
16. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 15, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att den vattenhaltiga bufferten valts
bland borat-, fosfat-, citratbuffert och deras blandningar.
17. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 16, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att bufferten är natriumborat.

18. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 17, k ä n n e t e c k n a t därav, att 1-N-etylidengruppen reduceras till en etylaminogrupp genom tillsats av ett reduktionsmedel, som valts ur gruppen bestående av natriumborhydrid, aminboran, litiumaluminiumhydrid och deras blandningar.

19. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 18, k ä n n e t e c k n a t därav, att etylidensubstituenten reduceras till en etylaminosubstituent genom tillsats av natriumborhydrid.

20. Selektivt blockerat sisomicinderivat med den allmänna formeln



där varje X är en organosilylgrupp $\text{Si} \begin{matrix} \diagup \text{R}^1 \\ \text{---} \text{R}^2 \\ \diagdown \text{R}^3 \end{matrix}$

varvid $\text{R}^1 - \text{R}^3$ är oberoende av varandra lägre alkyl, fenyl eller fenyllägrealkyl;

X' är väte eller en ovan definierad organosilylgrupp;

varje Y är en aminogrups blockeringsgrupp, som är acetyl, formyl, propionyl eller aryl;

Y' är väte eller ovan definierad Y ; och

Z är H_2 eller $=\text{CH}-\text{CH}_3$.

21. Förening enligt patentkravet 20, k ä n n e t e c k n a d därav, att varje X är trimetylsilyl.

22. Förening enligt patentkraven 20 eller 21, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att varje Y är acetyl.
23. Förening enligt något av patentkraven 20 - 23, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att Y' är väte.
24. Förening enligt patentkravet 20, k ä n n e t e c k n a d
därav, att X' är trimetylsilyl.