

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 465 743

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21) **N° 80 20601**

(54) Nouveaux dérivés 2-substitués de désoxy-2 fortimicines A et B, utiles notamment comme médicaments antibiotiques, et intermédiaires et procédé de leur préparation.

(51) Classification internationale (Int. Cl. 3). C 07 H 15/20; A 61 K 31/71.

(22) Date de dépôt..... 25 septembre 1980.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : EUA, 26 septembre 1979, n° 079.145.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 13 du 27-3-1981.

(71) Déposant : Société dite : ABBOTT LABORATORIES, résidant aux EUA.

(72) Invention de : Jerry Roy Martin, John Solomon Tadanier, Paulette Johnson et Alex Michael Nadzan.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Beau de Loménie,
55, rue d'Amsterdam, 75008 Paris.

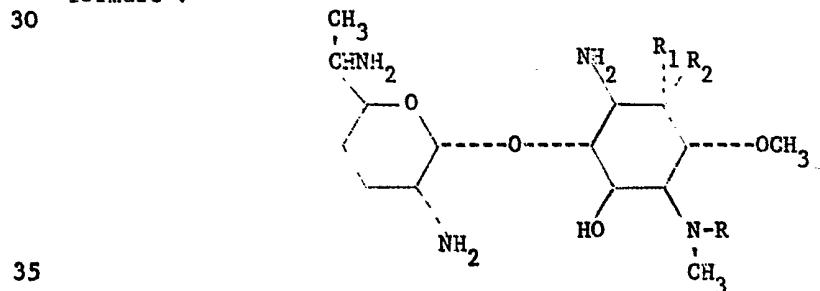
La présente invention concerne de nouveaux dérivés 2-substitués de désoxy-2 fortimicines A et B utiles notamment comme médicaments antibiotiques.

Récemment, on a identifié une nouvelle famille d'antibiotiques aminoglycosidiques, les fortimicines. Les brevets des Etats-Unis d'Amérique n° 3 976 768 et n° 3 931 400 décrivent les antibiotiques parents, la fortimicine A et la fortimicine B. On sait que, dès qu'un antibiotique aminoglycosidique a reçu un emploi clinique pendant un certain temps, des micro-organismes résistants apparaissent. Dans de nombreux cas, la résistance est liée au facteur R et on l'attribue à la capacité que présentent les bactéries à modifier par voie enzymatique les radicaux amino ou hydroxy de l'antibiotique aminoglycosidique. On sait que, dans les antibiotiques aminoglycosidiques que sont les fortimicines naturelles, le blocage du radical hydroxy-2 inactive l'antibiotique. La demande de brevet français 78 36 000 du 21/12/78 et le brevet belge n° 872 912 du 20/6/1979 décrivent respectivement la désoxy-2 fortimicine A et la désoxy-2 fortimicine B.

L'invention concerne de nouveaux dérivés 2-substitués de désoxy-2 fortimicines A et B ainsi que leurs sels, utiles notamment comme médicaments antibiotiques, des intermédiaires et des procédés pour préparer ces composés et des compositions thérapeutiques et formes pharmaceutiques les contenant.

On administre les composés de l'invention par voie parentérale à des doses journalières d'environ 10 à environ 200 mg/kg de poids corporel.

Plus particulièrement, l'invention concerne des dérivés 2-substitués de désoxy-2 fortimicines A et B répondant à la formule :



où R représente un atome d'hydrogène, ou un radical glycycle, β -alanyle, acétyle ou β -aminoalkyle inférieur, R_1 représente un atome d'hydrogène ou un radical amino, azido, halogéno, glycylamido, β -alanylarnido ou O-méthanesulfonyl-2 et R_2 représente un atome 5 d'hydrogène ou un radical halogéno, et leurs sels convenant en pharmacie.

On entend par "radical alkyle inférieur", un radical alkyle droit ou ramifié comportant 1 à 6 atomes de carbone, tel qu'un radical méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, sec-butyle, tert-butyle, pentyle, hexyle et similaires.

On entend par "sels convenant en pharmacie", les sels d'addition d'acides non toxiques préparés par réaction de la base avec un acide organique ou minéral approprié. On peut citer comme exemples caractéristiques de sels, les chlorhydrates, bromhydrates, sulfates, bisulfates, acétates, oxalates, valérates, oléates, palmitates, stéarates, laurates, borates, benzoates, lactates, phosphates, tosylates, citrates, maléates, fumarates, succinates, tartrates, napsylates et similaires.

L'invention concerne en particulier les désoxy-2 for-20 timicines 2-substituées, les désoxy-2 fortimicines 2-épi-substituées et les N-alkyl-2 désoxy-2 fortimicines 2- substituées à activité antibactérienne. Les désoxy-2 chloro-2 fortimicines, les désoxy-2 épi-chloro-2 fortimicines, les désoxy-2 amino-2 fortimicines, les désoxy-2 azido-2 fortimicines, les N-alkyl-2 désoxy-2 amino-2 forti-25 micines et leurs sels d'addition d'acides non toxiques convenant en pharmacie possédant une activité antibactérienne présentent un intérêt particulier.

L'invention concerne également des composés chimiques utiles comme intermédiaires pour la préparation des désoxy-2 fortimicines 2-substituées, ces intermédiaires ayant une structure pseudo-diglycosidique. Parmi eux figurent les dérivés de type O-hydrocarburesulfonyl-2 ainsi que les dérivés de type O-hydrocarbure-sulfonyl-2 dont tous les radicaux amino primaires sont protégés par un radical alcanoyle inférieur, carbobenzoyloxy, thioalcanoyle inférieur, thioaroyle, ou alkylthiocarbamoyle inférieur. Le radical méthylamino secondaire et le groupe voisin dans la série de la

fortimicine B peuvent également être protégés par un aldéhyde pour former un cycle oxazolidine.

Les procédés de l'invention concernent de façon générale le remplacement du radical hydroxy en C₂ du fragment fortamine des fortimicines par un radical halogéné, azido ou amino ayant ou non la configuration naturelle en C₂ pour obtenir un nouveau dérivé de fortimicine ayant une activité antibactérienne.

En résumé, selon un procédé, on transforme le radical hydroxy en C₂ de la fortimicine en un ester hydrocarbure sulfonique en C₂ que l'on transforme en une fonction azido ou épi-halogéné. On transforme facilement la fonction azido en radical amino par réduction catalytique.

Plus particulièrement, selon ce procédé, on fait réagir une fortimicine B ayant une fonction hydroxy en C₂, dont les radicaux amino primaires sont protégés par un radical carbobenzyl oxy, alcanoyle inférieur, thioalcanoyle inférieur, thioaroyle ou alkyl-thiocarbamoyle inférieur et le radical méthylamino secondaire en C₄ et le radical hydroxy voisin sont protégés par un cycle oxazolidine avec un halogénure ou anhydride d'hydrocarburesulfonyle comportant jusqu'à 16 atomes de carbone pour former un intermédiaire de type O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimicine que l'on traite ensuite avec un acide minéral pour hydrolyser le cycle oxazolidine et former une O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimicine B 1,2',6'-tri-N-protégée.

Selon un procédé, on élimine les groupes N-protecteurs de l'O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimicine B 1,2',6'-tri-N-protégée selon des procédés classiques pour former ainsi une O-hydrocarbure-sulfonyl-2 fortimicine B que l'on réarrange en conditions basiques pour former une désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine B. On traite la désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine B avec une solution aqueuse saturée d'acide d'azide de sodium ou avec de l'acide chlorhydrique dans un mélange de méthanol et d'eau pour former respectivement une azido-2 désoxy-2 fortimicine B ou une chloro-2 désoxy-2 fortimicine B. Pour transformer le dérivé de fortimicine B en un dérivé de fortimicine A, on protège sélectivement les radicaux amino primaires du dérivé de désoxy-2 fortimicine B 2-substitué par transformation en fonctions N-carboxybenzyl oxy. On acyle la fonction méthylamino libre en C₄ avec

un ester actif ou selon un autre procédé classique connu dans l'art. L'hydrogénolyse catalytique des groupes N-protecteurs dans un milieu acide forme les désoxy-2 N-acyl-4 fortimicines 2-substituées.

- Selon un autre procédé, on fait réagir une N-acyl-4
- 5 O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimicine per-N-protégée avec un agent nucléophile tel qu'un ion chlorure ou azide dans un solvant approprié. Lorsque l'agent nucléophile est l'ion chlorure, on obtient une épi-chloro-2 désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine per-N-protégée. Lorsque l'agent nucléophile est l'ion azide, on isole l'azido-2 désoxy-2 N-acyl-4
- 10 fortimicine per-N-protégée. On élimine, selon des procédés appropriés, les groupes N-protecteurs des désoxy-2 N-acyl-4 fortimicines 2-substituées per-N-protégées, de préférence dans un milieu acide pour obtenir les désoxy-2 N-acyl-4 fortimicines 2-substituées.

- On prépare également de façon pratique les désoxy-2
- 15 chloro-2 ou les désoxy-2 azido-2 N-acyl-4 fortimicines à partir des désoxy-2 épimino-1,2 N-acyl-4 fortimicines appropriées par traitement avec l'acide chlorhydrique dans un mélange de méthanol et d'eau ou avec une solution aqueuse saturée acide d'azide de sodium, pour former respectivement une chloro-2 désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine ou une
- 20 azido-2 désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine. On prépare la désoxy-2 épimino-1,2 N-acyl-4 fortimicine par élimination catalytique des groupes N-protecteurs d'une O-hydrocarburesulfonyl-2 N-acyl-4 fortimicine per-N-protégée et on laisse le dérivé de fortimicine débarrassé des groupes N-protecteurs séjourner à un pH basique pour produire la fonction
- 25 épimino-1,2.

- On prépare de façon pratique les désoxy-2 amino-2 di-N-acyl-2,4- fortimicines par réduction sélective en radical amino de la fonction azido-2 de l'azido-2 désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine per-N-protégée correspondante. On effectue de façon pratique cette
- 30 dernière réduction par voie catalytique avec du charbon palladié. On acylique ensuite la fonction amino-2 selon des procédés classiques et on élimine les groupes N-protecteurs dans un milieu acide comme précédemment.

- Les composés de l'invention sont utiles comme anti-
- 35 biotiques à action générale lorsqu'on les injecte par voie parentérale, c'est-à-dire par voie intramusculaire, intraveineuse, intra-

péritonéale ou sous-cutanée. On peut également administrer les composés par voie orale lorsqu'il est souhaitable de désinfecter les voies intestinales et on peut, de plus, les administrer localement ou par voie rectale.

5 Parmi les formes solides convenant à l'administration orale figurent les capsules, les comprimés, les pilules, les poudres et les granules. Dans ces formes solides d'administration, le composé actif est mélangé à au moins un diluant inerte tel que le saccharose, le lactose ou l'amidon. Ces formes d'administration peuvent également contenir, comme il est habituel, des substances additionnelles autres que des diluants inertes, par exemple des lubrifiants comme le stéarate de magnésium. Dans le cas des capsules, des comprimés et des pilules, les formes d'administration peuvent également contenir des tampons. On peut de plus préparer des comprimés ou des pilules à 15 délitage intestinal.

Parmi les formes liquides d'administration orale, figurent les émulsions, solutions, suspensions, sirops et élixirs, convenant en pharmacie, contenant des diluants inertes couramment utilisés dans l'art, tels que l'eau. En plus de ces diluants inertes, 20 ces compositions peuvent également contenir des adjuvants tels que des agents mouillants, des émulsifiants, des agents de mise en suspension, des édulcorants, des arômes et des parfums.

Parmi les préparations de l'invention convenant à l'administration parentérale, figurent les solutions, suspensions 25 ou émulsions stériles aqueuses ou non aqueuses. On peut citer comme exemples de solvants ou véhicules non aqueux, le propylèneglycol, le polyéthylèneglycol, les huiles végétales, telles que l'huile d'olive, et les esters organiques injectables, tels que l'oléate d'éthyle. Ces formes d'administration peuvent contenir aussi des 30 adjuvants tels que des conservateurs, des agents mouillants, des émulsifiants et des agents dispersifs. On peut les stériliser par exemple par filtration sur un filtre retenant les bactéries ou par incorporation d'agents stérilisants. On peut également les préparer sous forme de compositions solides stériles que l'on peut dissoudre 35 immédiatement avant l'emploi dans de l'eau stérile ou dans un autre milieu injectable stérile.

Les compositions convenant à l'administration rectale sont, de préférence, des suppositoires qui peuvent contenir, en plus de la substance active, des excipients tels que le beurre de cacao ou une cire pour suppositoire.

5 La quantité d'ingrédient actif que contiennent les compositions de l'invention peut varier; cependant, il est nécessaire que la quantité d'ingrédient actif soit telle qu'on obtienne une forme d'administration appropriée. La posologie choisie dépend de l'effet thérapeutique désiré, de la voie d'administration et
10 de la durée du traitement. Généralement, on administre à un mammifère, atteint d'une infection provoquée par un micro-organisme sensible, une dose journalière comprise entre 10 et 200 mg/kg de poids corporel.

On prépare de façon appropriée les dérivés 2-substitués de désoxy-2 N-alkyl-4 fortimicine B par traitement d'une désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine 2-substituée per-N-protégée, préparée comme précédemment, avec un agent réducteur de type hydrure de bore, puis élimination des groupes N-protecteurs.

L'invention est illustrée par les exemples non limitatifs suivants.

EXEMPLE 1

Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' fortimicine B (1)

A une solution agitée de 2,0 g de fortimicine B, 30 ml d'eau et 60 ml de méthanol, refroidie au bain-marie glacé, on ajoute 25 4,44 g de N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide. On poursuit l'agitation à 0°C pendant 3 h, puis à la température ordinaire pendant 22 h. On évapore sous pression réduite la majeure partie du méthanol et on agite le résidu avec un mélange de chloroforme et d'eau. On lave la solution chloroformique à l'eau et on sèche sur sulfate de magnésium anhydre. On évapore le chloroforme et on chromatographie le résidu sur gel de silice. On élue avec un système solvant constitué d'un mélange chloroforme-méthanol-hydroxyde d'ammonium concentré (23,4/1,4/0,1 en volumes) pour obtenir 1,05 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' fortimicine B.
35 $[\alpha]_D^{25} +16,5^\circ$ ($c = 1,0, \text{CH}_3\text{OH}$); IR (CDCl_3) 1712 et 1507 cm^{-1} ; RMN (CDCl_3) δ : 1,03 ($\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 6,0 \text{ Hz}$), 2,32 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,41 ($\text{C}_3\text{-OCH}_3$).

Analyse théorique pour $C_{39}H_{50}N_4O_{11}$: C 62,39; H 6,71; N 7,46%
trouvée : C 62,16; H 6,76; N 7,43%

EXEMPLE 2Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' salicylaldéhyde-oxazolidino-4,55 fortimicine B (2)

On traite une solution de 22 g de tri-N-benzyloxy-carbonyl-1,2',6' fortimicine B dans 396 ml de méthanol avec 3,96 ml de salicylaldéhyde et on porte à reflux pendant 1 h. On évapore le mélange réactionnel sous pression réduite pour obtenir 26 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' salicylaldéhyde-oxazolidino-4,5 fortimicine B sous forme d'un solide jaune brunâtre :

RMN ($CDCl_3$) δ : 0,94 (C_6 - CH_3 , $J_{6',7'} = 7,0$ Hz), 2,34 (C_4 - NCH_3), 3,49 (C_3 - OCH_3), 7,31 (Cbz-aromatique).

EXEMPLE 315 Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' (0-méthanesulfonyl-2 salicylaldéhyde)-oxazolidino-4,5 0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B (3)

On traite une solution agitée de 26 g de tri-N-benzyl-oxy carbonyl-1,2',6' salicylaldéhyde-oxazolidino-4,5 fortimicine B dans 154 ml de pyridine anhydre avec 12,26 ml de chlorure de méthanesulfonyle fraîchement distillé. Après 20 h d'agitation, on verse le mélange réactionnel dans 2 000 ml d'une solution à 5% de bicarbonate de sodium et on extrait deux fois avec des portions de 1 000 ml de chloroforme. On lave les extraits chloroformiques combinés avec 1 000 ml de bicarbonate de sodium à 5%, puis deux fois avec des portions de 1 000 ml d'eau. On évapore le chloroforme sous pression réduite et on chasse la pyridine par codistillation répétée avec du benzène pour obtenir 31,2 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' (0-méthanesulfonyl-2 salicylaldéhyde) oxazolidino-4,5 0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B :

30 RMN ($CDCl_3$) δ : 1,0 (C_6 - CH_3 , $J_{6',7'} = 7,0$ Hz), 2,19 (C_4 - NCH_3), 2,94 (C_2 - OSO_2CH_3), 3,15 (Ar- OSO_2CH_3), 3,60 (C_3 - OCH_3), 7,33 (Cbz-aromatique).

EXEMPLE 4Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' 0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B (4)

35 On traite une solution agitée de 31,2 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' (0-méthanesulfonyl-2 salicylaldéhyde) oxazolidino-4,5 0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B dans 1 000 ml de tétra-

- hydrofuranne avec 262 ml d'acide chlorhydrique 0,4 N. Après 4 h d'agitation, on verse le mélange réactionnel dans 5 700 ml d'une solution 6 N d'hydroxyde d'ammonium et on extrait deux fois avec des portions de 1 400 ml de chloroforme. On lave les extraits chloroformiques combinés avec 5 700 ml d'une solution à 7% de bisulfite de sodium, puis deux fois avec des portions de 1 180 ml d'eau. On chasse le chloroforme sous pression réduite pour obtenir 27,35 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' O-méthanesulfonyl-2 fortimicine B brute. On chromatographie le produit brut sur une colonne (6,0 x 80 cm) de gel Sephadex LH-20 préparée et éluée avec de l'éthanol à 95%. On combine les fractions contenant la matière désirée et on concentre à sec sous pression réduite pour obtenir la tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' O-méthanesulfonyl-2 fortimicine B sous forme d'un produit vitreux :
- 15 $[\alpha]_D^{23} + 18,5^\circ$ ($c = 1,0$; CH_3OH); IR (CDCl_3) 3436, 3350, 1703, 1502, 1354 et 1173 cm^{-1} ; RMN (CDCl_3) δ : 1,07 ($\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 2,34 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 2,87 (OSO_2CH_3), 3,48 ($\text{C}_3\text{-OCH}_3$). Analyse théorique pour $\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{S}$: C 57,96; H 6,32; N 6,76% trouvée : C 57,65; H 6,52; N 6,62%

20 EXEMPLE 5

Tétrra-N-benzyloxycarbonyl O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A (5)

- On traite pendant 20 h avec 1,005 g d'ester N-hydroxysuccinimidique de la N-benzyloxycarbonylglycine, une solution agitée de 2,267 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' O-méthanesulfonyl-2 fortimicine B dans 14 ml de tétrahydrofuranne anhydre. On évapore le tétrahydrofuranne sous pression réduite pour obtenir un solide jaune citron. On chromatographie le solide sur une colonne (3,0 x 74 cm) de gel de silice préparée et éluée avec un système solvant constitué d'un mélange benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes). On évapore à sec les éluats ne contenant que le produit principal pour obtenir 1,789 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A :
- 15 $[\alpha]_D^{24} + 40,7^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol); IR (CDCl_3) 3427, 1710, 1635 et 1495 cm^{-1} ; RMN (CDCl_3) δ : 1,15 (d, $\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 2,81 (s, $\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,02 (s, $\text{C}_2\text{-OSO}_2\text{CH}_3$), 3,50 (s, $\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 7,25 (m, Cbz-aromatique).

Analyse théorique pour $C_{50}H_{61}N_5O_{16}S$: C 58,87; H 6,03; N 6,87; S 3,14%
trouvée : C 58,70; H 6,04; N 6,62; S 2,89%

EXEMPLE 6

Tétrachlorhydrate de O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A (6)

5 On hydrogénolyse pendant 4 h sous 3 bars d'hydrogène, en présence de 5,0 g de charbon palladié à 5%, une solution préparée à partir de 5,0 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2'' O-méthane-sulfonyl-2 fortimicine A et 425 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On élimine le catalyseur par filtration et on évapore
10 le méthanol sous pression réduite. On élimine l'eau résiduelle et l'excès d'acide par codistillation répétée sous pression réduite avec du méthanol pour obtenir 2,753 g de tétrachlorhydrate de O-méthane-sulfonyl-2 fortimicine A :

15 $[\alpha]_D^{25} + 79,8^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol); IR (KBr) 3420, 2930, 1640, 1590, 1485, 1332 et 1143 cm^{-1} ; RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,81 (d, C_6 - CH_3 , $J_{6',7'} = 7,0$ Hz), 3,61 (s, C_4 - NCH_3), 3,83 (s, C_2 - OSO_2CH_3), 4,07 (s, C_3 - OCH_3), 5,81 (d, $H_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,0$ Hz); spectre de masse ($M^+ - \text{SO}_2\text{CH}_2$) m/e 405.

EXEMPLE 7

Désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine A (7)

On fait passer à travers une colonne d'une résine échangeuse d'anions de type ammonium quaternaire-styrène, par exemple la résine AG2 X8 (0,30-0,15 mm), forme hydroxyle, vendue par Bio-Rad Laboratories, suffisante pour éliminer les ions chlorures, une solution préparée à partir de 1,40 g de tétrachlorhydrate de O-méthane-sulfonyl-2 fortimicine A. On combine les éluats basiques et on les laisse reposer à la température ordinaire pendant 120 h. Après évaporation de la majeure partie de l'eau, on fait à nouveau passer la solution à travers une colonne de résine échangeuse d'anions du type précédemment décrit, suffisante pour éliminer l'acide méthanesulfonique produit par la formation du cycle épimino-1,2. On combine les éluats basiques et on les concentre à sec sous pression réduite pour obtenir 1,121 g de désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine A :
35 RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,12 (C_6 - CH_3 , $J_{6',7'} = 7,0$ Hz); 3,51 (s, C_4 - NCH_3), 3,96 (s, C_3 - OCH_3), 5,41 (d, $H_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,0$ Hz).

EXEMPLE 8Tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine A (8)

On laisse séjourner pendant 0,5 h, une solution préparée à partir de 0,5 g de désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine A et 100 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On évapore le méthanol sous pression réduite. On chasse l'eau résiduelle et l'excès d'acide par codistillation sous pression réduite avec du méthanol pour obtenir le tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine A :

IR (KBr) 3420, 1640, 1595 et 1490 cm^{-1} ; RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,82 (d, $\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 3,61 (s, $\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,98 (s, $\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 5,80 (d, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,0 \text{ Hz}$).

EXEMPLE 9Tétrachlorhydrate d'azido-2 désoxy-2 fortimicine A (25)

On ajuste à 5,0 avec de l'acide chlorhydrique le pH 15 d'une solution préparée à partir de 1,160 g d'épimino-1,2 fortimicine A et 72 ml d'une solution aqueuse saturée d'azide de sodium. Après séjour à la température ordinaire pendant 60 h, on concentre la solution à sec sous pression réduite. On fait passer le résidu à travers une colonne (2,2 x 100 cm) de Sephadex G-15 (vendue par Pharmacia 20 Fine Chemicals, Inc) préparée et éluée avec de l'acide acétique 0,1 N. On recueille les éluats contenant le composant principal et on les concentre à sec pour obtenir 0,446 g d'un résidu. On chromatographie rapidement le résidu sur une colonne (1,8 x 41 cm) de gel de silice préparée et éluée avec un système solvant constitué de la phase inférieure d'un mélange de chloroforme-méthanol-hydroxyde d'ammonium concentré (1/1/1 en volumes). On concentre à sec les fractions ne contenant que le composant principal et on dissout le résidu dans 50 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On évapore la solution à sec et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 0,381 g de tétrachlorhydrate d'azido-2 désoxy-2 fortimicine A.

IR (KBr) 3425, 2920, 2105, 1630, 1585 et 1428 cm^{-1} ; RMN (D_2O) δ : 1,83 (d, $\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 3,60 (s, $\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 4,04 (s, $\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 5,79 (d, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,5 \text{ Hz}$).

EXEMPLE 10Tétrachlorhydrate d'0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B (9)

On traite pendant 4 h avec 4,5 g de charbon palladié à 5% sous 3 bars d'hydrogène, une solution de 4,42 g de tri-N-benzyl-5 oxycarbonyl-1,2',6' 0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B dans 310 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On sépare le catalyseur par filtration et on le lave à l'éthanol. On concentre le filtrat à sec sous pression réduite et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 2,79 g de 10 tétrachlorhydrate d'0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B sous forme d'un produit blanc vitreux :

$[\alpha]_D^{25} + 91,7^\circ$ ($c = 1,01$, CH_3OH); IR (KBr) 3400, 2920, 1590, 1330 et 1165 cm^{-1} ; RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,82 ($\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 3,31 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,88 ($\text{C}_2\text{-OS}_2\text{CH}_3$), 4,07 ($\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 5,88 ($\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 4,0 \text{ Hz}$).

15

EXEMPLE 11Epimino-1,2 fortimicine B (10)

On fait passer à travers une colonne (2,2 x 20 cm) d'une résine échangeuse d'anions de type ammonium quaternaire-20 styrène, par exemple la résine AG 2-X8 (0,30-0,15 mm), sous la forme OH^- , vendue par Bio-Rad Laboratories, suffisante pour éliminer les ions chlorures, une solution préparée à partir de 2,8 g de tétrachlorhydrate d'0-méthanesulfonyl-2 fortimicine B dans 20 ml d'eau. On combine les éluats basiques et on les laisse reposer à la température ordinaire pendant 72 h. On évapore l'eau sous pression réduite pour obtenir 3,0 g d'épimino-1,2 fortimicine B : RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,55 ($\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 2,83 ($\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 4,02 ($\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 5,42 ($\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,0 \text{ Hz}$).

EXEMPLE 12Tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine B (11)

On laisse reposer à la température ordinaire pendant 5,5 h, une solution préparée à partir de 2,90 g d'épimino-1,2 fortimicine B dans 200 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On concentre le mélange réactionnel à sec sous pression réduite et on 35 chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 3,935 g de tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine B :

IR (KBr) 3400, 2940, 1590 et 1505 cm^{-1} ; spectre de masse, m/e : 366, 2057;

théorique pour $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{ClN}_4\text{O}_4$: 366,2033.

EXEMPLE 13

5 Chloro-2 désoxy-2 fortimicine B (12)

On applique une solution préparée à partir de 2,2 g de tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine B dans 10 ml d'eau à une colonne (2,2 x 11 cm) d'une résine échangeuse d'anions de type ammonium quaternaire-styrène, telle que la résine AG 2-X8 (0,30-0,15 mm), forme hydroxyle, vendue par Bio-Rad Laboratories. Après élution à l'eau, on concentre les éluats basiques à sec sous pression réduite pour obtenir 2,1 g de chloro-2 désoxy-2 fortimicine B :

15 RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,51 (d, $\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{1',2'} = 7,0$ Hz), 2,88 (s, $\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 4,00 (s, $\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 5,52 (d, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 4,0$ Hz).

EXEMPLE 14

Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' chloro-2 désoxy-2 fortimicine B (13)

On traite une solution agitée et refroidie au bain-marie glacé préparée à partir de 2,1 g de chloro-2 désoxy-2 fortimicine B, 23 ml d'eau et 46 ml de méthanol avec 3,45 g de N-(benzyl-oxy carbonyloxy)succinimide. On poursuit l'agitation à 0°C pendant 3 h, puis à la température ordinaire pendant 14 h. On évapore la majeure partie du méthanol sous pression réduite et on agite le résidu avec un mélange de 125 ml d'eau et 75 ml de chloroforme. On sépare le chloroforme et on agite à nouveau la portion aqueuse avec 75 ml de chloroforme. On sèche les extraits chloroformiques combinés sur du sulfate de magnésium anhydre. Après évaporation du chloroforme, on chromatographie le résidu sur une colonne de gel de silice. On élue avec un système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes) pour obtenir 1,237 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' chloro-2 désoxy-2 fortimicine B :

30 RMN (CDCl_3) δ : 1,07 (d, $\text{C}_6\text{-CH}_3$, $J_{6',7'} = 6,5$ Hz), 2,31 (s, $\text{C}_4\text{-NCH}_3$), 3,43 (s, $\text{C}_3\text{-OCH}_3$), 4,92 (d, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 4,0$ Hz), 7,33 (m, Cbz-aromatique).

EXAMPLE 15Tétra-N-benzyloxycarbonyl chloro-2 désoxy-2 fortimicine A (14)

On traite une solution agitée préparée à partir de 0,635 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6'chloro-2 désoxy-2 fortimicine B et 11 ml de tétrahydrofurane anhydre, avec 0,328 g de l'ester N-hydroxysuccinimidique de la N-benzyloxycarbonylglycine.

Après 18 h d'agitation à la température ordinaire, on évapore le tétrahydrofurane sous pression réduite pour obtenir un résidu qu'on applique à une colonne (2,0 x 65 cm) de gel de silice et on élue avec une système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes). On évapore à sec les éluats ne contenant que le produit principal pour obtenir 0,610 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl chloro-2 désoxy-2 fortimicine A.

15 EXAMPLE 16Tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine A (8)

On traite pendant 4 h une solution préparée à partir de 0,610 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl chloro-2 désoxy-2 fortimicine A dans 75 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol avec 0,61 g de charbon palladié à 5%, sous 3 bars d'hydrogène. On recueille le catalyseur sur un filtre et on le lave au méthanol. On évapore le filtrat à sec sous pression réduite et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 0,384 g de tétrachlorhydrate de chloro-2 désoxy-2 fortimicine A :

IR (KBr) 3420, 1640, 1595 et 1490 cm^{-1} ; RMN (D_2O , TMS externe) δ : 1,82 (d, $\text{C}_{6'}-\text{CH}_3$, $J_{6',7'} = 7,0 \text{ Hz}$), 3,61 (s, C_4-NCH_3), 3,98 (s, C_3-OCH_3), 5,80 (d, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 3,0 \text{ Hz}$).

EXAMPLE 1730 Tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' désoxy-2 épimino-2,4 fortimicine B

A une solution agitée de 2,0 g de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' O-méthanesulfonyl-2 fortimicine B dans 111 ml de diméthylformamide anhydre chauffée à 93°C au bain d'huile, on ajoute 2,0 g d'azide de sodium en poudre. On poursuit l'agitation à 93°C pendant 18 h. Après refroidissement à la température ordinaire, on verse le mélange réactionnel dans 1 100 ml d'eau et on extrait trois

fois avec des portions de 360 ml de chloroforme. On lave deux fois les extraits chloroformiques combinés avec des portions de 360 ml d'eau et on sèche sur sulfate de magnésium anhydre. On évapore le chloroforme sous pression réduite et on chasse le diméthylformamide 5 par codistillation répétée avec du toluène. On chromatographie le résidu sur une colonne de gel de silice avec un système solvant constitué d'acétate d'éthyle-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (9,5/0,5/0,05 en volumes). On rejette les premières fractions éluées. On combine les fractions suivantes et on évapore 10 à sec pour obtenir 0,381 g d'un composant principal constitué de tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' désoxy-2 épimino-2,4 fortimicine B : $[\alpha]_D^{23} + 40,6^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol); IR (CDCl₃) 3439, 1710 et 1500 cm⁻¹; RMN (CDCl₃) δ : 1,05 (d, C_{6'}-CH₃, J_{6',7'} = 6,0 Hz) 2,54 (s, C₄-NCH₃), 3,23 (s, C₃-OCH₃), 7,31 (m, Cbz-aromatique).

15 Analyse théorique pour C₃₉H₄₈N₄O₁₀ : C 63,92; H 6,60; N 7,65% trouvée : C 63,91; H 6,55; N 7,90%

EXEMPLE 18Tétrachlorhydrate d'O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A (6)

On hydrogénolyse sur 2,20 g de charbon palladié à 5% 20 pendant 4 h une solution de 2,236 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A dans 200 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N. On recueille le catalyseur sur un filtre et on lave au méthanol. On concentre le filtrat à sec et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol sous 25 pression réduite pour obtenir 1,40 g de tétrachlorhydrate d'O-méthane-sulfonyl-2 fortimicine A :

$[\alpha]_D^{25} + 79,8^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol); IR (KBr) 3420, 2930, 1640, 1590, 1485, 1332 et 1143 cm⁻¹; RMN (D₂O, TMS externe) δ : 1,81 (d, C_{6'}-CH₃, J_{6',7'} = 7,0 Hz), 3,61 (s, C₄-NCH₃), 3,83 (s, C₂-OSO₂CH₃) 4,07 30 (s, C₃-OCH₃), 5,82 (d, H_{1'}, J_{1',2'} = 3,0 Hz).

EXEMPLE 19Amino-2 désoxy-2 fortimicine A (19)

On hydrogène sur 0,20 g de charbon palladié pendant 4 h une solution préparée à partir de 0,174 g d'azido-2 désoxy-2 35 fortimicine A et 40 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On recueille le catalyseur sur un filtre et on le lave au méthanol.

On concentre le filtrat à sec et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol sous pression réduite pour obtenir 0,157 g d'amino-2 désoxy-2 fortimicine A sous forme du pentachlorhydrate :

- 5 $[\alpha]_D^{25} + 80,1^\circ$ ($c = 1,03$; méthanol); IR (KBr) 3410, 2940, 1645, 1590 et 1486 cm^{-1} ; spectre de masse m/e : 404,2744 (M^+); théorique pour $C_{17}H_{36}N_6O_5$: 404,2747.

EXEMPLE 20

Azido-2 tri-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6' désoxy-2 fortimicine B (17)

10 On traite une solution agitée et refroidie au bain-marie glacé préparée à partir de 2,0 g d'azido-2 désoxy-2 fortimicine B, 20 ml d'eau et 40 ml de méthanol avec 3,30 g de N-(benzyl-oxy carbonyl)succinimide. On poursuit l'agitation à froid pendant 3 h, puis à la température ordinaire pendant 16 h. On évapore sous 15 pression réduite la majeure partie du méthanol et on agite le résidu avec un mélange de 60 ml de chloroforme et 125 ml d'eau. On extrait la portion aqueuse avec 60 ml additionnels de chloroforme. On séche les extraits chloroformiques combinés sur du sulfate de magnésium anhydre et on évapore. On chromatographie le résidu sur une colonne 20 de gel de silice. On élue avec un système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes) pour obtenir de l'azido-2 tri-N-benzyl-oxy carbonyl-1,2',6' désoxy-2 fortimicine B.

EXEMPLE 21

25 Azido-2 désoxy-2 fortimicine B (16)

On ajuste à 5,0 avec de l'acide chlorhydrique le pH d'une solution préparée à partir de 2,035 g de désoxy-2 épimino-1,2 fortimicine B et 120 ml d'une solution aqueuse saturée d'azide de sodium et on laisse séjourner à la température ordinaire pendant 30 48 h. On chasse l'eau sous pression réduite et on chromatographie le résidu sur une colonne (1,8 x 51 cm) de gel de silice préparée et éluée avec un système solvant constitué de la phase inférieure d'un mélange de chloroforme-méthanol-hydroxyde d'ammonium concentré (1/1/1 en volumes). On concentre les éluats à sec pour obtenir 35 1,71 g de résidu. On chromatographie le résidu sur une colonne

- (2,0 x 41 cm) de résine échangeuse de cations telle que la résine Bio-Rex 70 de Bio-Rad Laboratories (0,15-0,074 mm), forme NH₄⁺ et on élue avec un gradient allant de l'eau à l'hydroxyde d'ammonium 1 N.
- On concentre à sec les fractions contenant le composé principal pour 5 obtenir un résidu qu'on dissout dans l'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On évapore le méthanol et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol sous pression réduite, pour obtenir l'azido-2 désoxy-2 fortimicine B qu'on isole sous forme du tétrachlorhydrate :
- 10 IR (KBr) 2100, 1583 et 1490 cm⁻¹; RMN (D₂O, TMS externe) δ : 1,84 (d, C_{6'}-CH₃, J_{6',7'} = 6,5 Hz), 3,32 (s, C₄-NCH₃), 4,07 (s, C₃-OCH₃), 5,89 (d, H_{1'}, J_{1',2'} = 3,5 Hz).

EXEMPLE 22Pentachlorhydrate d'amino-2 désoxy-2 N-glycyl-2 fortimicine A (24)

- 15 On traite pendant 4 h, avec 0,080 g de charbon palladié à 5% sous 3 bars d'hydrogène, une solution préparée à partir de 0,081 g d'amino-2 penta-N-benzyloxycarbonyl désoxy-2 N-glycyl-2 fortimicine A, 10 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol et 20 ml de méthanol. On recueille le catalyseur sur un filtre et 20 on le lave avec plusieurs petites portions de méthanol. On évapore le filtrat à sec sous pression réduite pour obtenir un solide blanc. On chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 0,045 g de pentachlorhydrate d'amino-2 désoxy-2 N-glycyl-2 fortimicine A :

- 25 [α]_D²⁴ + 54° (c = 1,0; méthanol); IR (KBr) 3410, 2930, 1680, 1640, 1570 et 1480 cm⁻¹; RMN (D₂O, TMS externe) δ : 1,78 (d, C_{6'}-CH₃, J_{6',7'} = 7,0 Hz), 3,57 (s, C₄-NCH₃), 3,87 (s, C₃-OCH₃), 5,80 (d, H_{1'}, J_{1',2'} = 3,0 Hz); spectre de masse, m/e : 461, 2936; théorique pour C₁₉H₃₉N₇O₆ : 461,2962.

EXEMPLE 23Amino-2 penta-N-benzyloxycarbonyl désoxy-2 N-glycyl-2 fortimicine A (23)

- On traite pendant 18 h une solution agitée de 0,171 g d'amino-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A 35 dans 3,0 ml de tétrahydrofurane anhydre avec 0,067 g de l'ester N-hydroxysuccinimidique de la N-benzyloxycarbonylglycine. On évapore

le tétrahydrofurane sous pression réduite pour obtenir un résidu blanc qu'on chromatographie sur une colonne (1,3 x 57 cm) de gel de silice préparée et éluée avec un système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré

5 (23,4/1,4/2,0/0,2 en volumes). On concentre à sec les fractions contenant le produit principal et on rechromatographie le résidu sur le même système que précédemment. On évapore les éluats contenant uniquement le produit principal pour obtenir 0,177 g d'amino-2 pentan-N-benzyloxycarbonyl désoxy-2 N-glycyl-2 fortimicine A :

10 $[\alpha]_D^{24} + 39^\circ$ (c : 1,0; méthanol); IR (CDCl₃) 3405, 3350, 1700, 1633 et 1497 cm⁻¹; RMN (CDCl₃) δ : 1,13 (C₆,-CH₃, J_{6',7'} = 7,0 Hz), 2,70 (s, C₄-NCH₃), 3,26 (s, C₃-OCH₃), 7,34 (m, Cbz-aromatique). Analyse théorique pour C₅₉H₆₉N₇O₁₆ : C 62,59; H 6,14; N 8,66% Trouvée : C 62,19; H 6,15; N 8,42%

15 EXEMPLE 24

Tétrachlorhydrate de désoxy-2 épi-chloro-2 fortimicine A (21)

On traite pendant 4 h une solution de 0,192 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl désoxy-2 épi-chloro-2 fortimicine A dans 20 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol avec 0,20 g

20 de charbon palladié à 5% sous 3 bars d'hydrogène. On recueille le catalyseur sur un filtre et on le lave au méthanol. On évapore le filtrat à sec sous pression réduite et on chasse l'excès d'acide chlorhydrique par codistillation répétée avec du méthanol pour obtenir 0,116 g de désoxy-2 épi-chloro-2 fortimicine A qu'on isole

25 sous forme du tétrachlorhydrate :

$[\alpha]_D^{24} + 51^\circ$ (c = 1,02; CH₃OH); IR (KBr) 3410, 2950, 1635, 1585 et 1480 cm⁻¹; RMN (D₂O, TMS externe) δ : 1,86 (d, C₆,-CH₃, J_{6',7'} = 7,5 Hz), 3,70 (s, C₄-NCH₃), 4,12 (s, C₃-OCH₃), 5,89 (d, H_{1'}, J_{1',2'} = 4,0 Hz); spectre de masse (M⁺⁺) : 423,2229; théorique

30 pour C₁₇H₃₄C₁N₅O₅ : 423,2249.

EXEMPLE 25

Tetra-N-benzyloxycarbonyl désoxy-2 épi-chloro-2 fortimicine A (20)

On chauffe à 93°C une solution agitée préparée à partir de 3,093 g de tétra-N-benzyloxycarbonyl O-méthanesulfonyl-2

35 fortimicine A et 162 ml de diméthylformamide anhydre et on la traite avec 3,092 g de chlorure de lithium en poudre fine. Après 52 h

d'agitation à 93°C, puis 20 h à la température ordinaire, on verse le mélange réactionnel dans 1 620 ml d'eau et on extrait trois fois avec des portions de 540 ml de chloroforme. On lave deux fois les extraits chloroformiques combinés avec des portions de 540 ml d'eau
 5 et on sèche sur sulfate de magnésium anhydre. On évapore le chloroformé sous pression réduite et on chasse le diméthylformamide par codistillation répétée avec du toluène pour obtenir 2,713 g d'un résidu. On chromatographie le résidu sur une colonne (2,1 x 75 cm) de gel de silice avec un système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes). On évapore les éluats ne contenant que le produit principal pour obtenir 0,869 g de tétra-N-benzyl-oxycarbonyl désoxy-2 épি-chloro-2 fortimicine A :
 10 $[\alpha]_D^{24} + 37^\circ$ (c : 1,04; méthanol); IR (CDCl₃) 3440, 1710, 1638 et 1503 cm⁻¹; RMN (CDCl₃) δ : 1,17 (d, C₆-CH₃, J_{6',7'} = 7,0 Hz), 2,85 (s, C₄-NCH₃), 3,46 (s, C₃-OCH₃), 7,31 (m, Cbz-aromatique). Analyse théorique pour C₄₉H₅₈N₂O₁₃Cl : C 61,28; H 6,09; N 7,29; Cl 3,69% Trouvée : C 61,36; H 6,21; N 7,00; Cl 3,97%

EXEMPLE 26

20 Amino-2 tétra-N-benzylloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A
 (22)

On traite pendant 17 h une solution de 3,619 g d'azido-2 tétra-N-benzylloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A dans 250 ml de méthanol avec 3,6 g de charbon palladié à 5% sous une pression d'hydrogène de 3 bars. On sépare le catalyseur par filtration et on le lave à l'éthanol. On concentre le filtrat à sec sous pression réduite pour obtenir 2,60 g d'un résidu. On chromatographie le résidu sur une colonne de gel de silice avec un système solvant constitué de dichloroéthane-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (18/2,0/0,04 en volumes) pour obtenir 1,345 g d'amino-2 tétra-N-benzylloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A :
 30 $[\alpha]_D^{24} + 52^\circ$ (c = 1,02; méthanol); IR (CDCl₃) 3415, 1710, 1635 et 1495 cm⁻¹; RMN (CDCl₃) δ : 1,15 (d, C₆-CH₃, J_{6',7'} = 6,0 Hz), 2,84 (s, C₄-NCH₃), 3,26 (s, C₃-OCH₃), 7,29 (m, Cbz-aromatique).
 35 Analyse théorique pour C₄₄H₆₀N₂O₁₃ : C 62,54; H 6,43; N 8,93% Trouvée : C 62,20; H 6,53; N 8,68%

EXEMPLE 27Azido-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A
(18)

5 A une solution agitée de 3,0 g de tétra-N-benzyloxy-carbonyl-1,2',6',2" O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A dans 167 ml de diméthylformamide chauffée à 93°C au bain d'huile, on ajoute 3,0 g d'azide de sodium finement divisé. On poursuit l'agitation à 93°C pendant 18 h. Après refroidissement à la température ordinaire, on verse le mélange réactionnel dans 1 665 ml d'eau et on extrait trois fois avec des portions de 555 ml de chloroforme. On lave l'extrait chloroformique avec trois portions de 555 ml d'eau et on sèche sur sulfate de magnésium anhydre. On évapore le chloroforme sous pression réduite et on chasse le diméthylformamide par codistillation répétée avec du toluène. On chromatographie le résidu sur du gel de silice.

10 On élue avec un système solvant constitué de benzène-méthanol-éthanol à 95%-hydroxyde d'ammonium concentré (23,5/1,4/2,0/0,2 en volumes) pour obtenir 1,712 g d'azido-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A :

15 $[\alpha]_D^{23} + 34^\circ$ ($c = 1,05$; méthanol); IR (CDCl₃) δ : 1,17 (d, C₆-CH₃, J_{6',7'} = 6,0 Hz), 2,78 (s, C₄-NCH₃), 3,34 (s, C₃-OCH₃), 7,34 (m, Cbz-aromatique).

Analyse théorique pour C₄₄H₅₈N₈O₁₃ : C 60,86; H 6,05; N 11,59%
Trouvée : C 60,55; H 6,21; N 11,49%

EXEMPLE 28Tétrabenzyl-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" fortimicine A (27)

25 On dissout 12,0 g (17 millimoles) de sulfate de fortimicine A brut dans 40 ml d'eau distillée et on traite avec 8,1 g (80 millimoles) de triéthylamine, puis 200 ml d'acetonitrile. Avec une bonne agitation, on ajoute 25 g (100 millimoles) de N-benzyloxy-carbonyloxy-succinimide et on agite le mélange pendant 6 h. On chasse le solvant sous vide pour obtenir un sirop qu'on dissout dans 150 ml de chlorure de méthylène et qu'on traite avec deux portions de 50 ml de carbonate de sodium aqueux à 5% et 50 ml d'eau, puis qu'on sèche sur sulfate de magnésium. On filtre et on chasse le solvant pour obtenir une mousse claire qu'on chromatographie sur du gel de silice avec un gradient étagé de chlorure d'éthylène-éthanol (100/0 à 95/5).

La concentration des fractions appropriées fournit 15,3 g (16,2 millimoles; 95,5%) de tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" fortimicine A :

IR (CDCl_3) 3460-3250, 2940, 1705, 1630, 1500, 1220, 1040 et
 1015 cm^{-1} ; RMN ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100°) 1,12 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, $\text{C}_6,-\text{CH}_3$), 1,30-2,02

- 5 (m, $\text{C}_3,\text{H}_2-\text{C}_4,\text{H}_2$), 2,99 (s, $\text{N}-\text{CH}_3$), 3,16 (s, OCH_3), 4,98-5,10
(m, CH_2 benzylique), et 7,04-7,33 (m, CH aromatique); RMC (CD_3SOCD_3 ,
100°) 17,36, 23,81, 26,67, 30,99, 42,74, 49,81, 50,17, 52,86, 55,59,
65,31-65,78 (4 carbones), 68,45, 70,44, 71,72, 73,37, 76,47, 96,63,
127,44-128,20 (plusieurs carbones), 136,97-137,43 (4 carbones),
10 155,14-156,03 (4 carbones) et 169,35 ppm.

Analyse théorique pour $\text{C}_{49}\text{H}_{59}\text{N}_5\text{O}_{14}$: C 62,48; H 6,31; N 7,43%
Trovée : C 62,30; H 6,34; N 7,48%

EXEMPLE 29

Tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A

15 (5)

On refroidit entre 0 et 5°C une solution de 7,0 g (7,7 millimoles) de tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" fortimicine A dans 60 ml de pyridine anhydre et on introduit goutte à goutte, en 7 min, 1,41 g (12,3 millimoles) de chlorure de méthanesulfonyle.

- 20 Après 5 h d'agitation entre 0 et 5°C, on traite le mélange réactionnel avec une seconde portion (160 mg; 1,4 millimole) de chlorure de méthanesulfonyle et on agite pendant encore 2 h. On arrête la réaction par addition d'un fragment de glace et on chasse le solvant sous vide pour obtenir un sirop qu'on reprend dans 80 ml de chlorure de méthylène et qu'on lave successivement avec deux portions de 20 ml d'acide chlorhydrique aqueux à 5%, deux portions de 20 ml de bicarbonate de sodium aqueux à 5% et 20 ml d'eau. On sèche la couche organique sur sulfate de magnésium, on filtre et on concentre pour obtenir 1'-O-méthanesulfonate-2 contenant comme impureté 10 à 15% de tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" O-diméthanesulfonyl-2,5 fortimicine A.
30 On purifie le méthanesulfonate brut par chromatographie sur une colonne de gel de silice avec un gradient de toluène-isopropanol (98/2 à 97/3). Les propriétés de la tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" O-méthanesulfonyl-2 fortimicine A sont les suivantes :
35 IR (CDCl_3) : 3475-3300, 2952, 1717, 1640, 1502, 1365, 1222, 1175 et
 1042 cm^{-1} ; RMN ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 110°) δ : 1,27 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}$, $\text{C}_6,-\text{CH}_3$),

1,40-2,20 (m, C₃,H₂-C₄,H₂), 3,13 (s, N-CH₃), 3,18 (s, O₂S-CH₃), 3,40 (s, OCH₃), 5,12-5,26 (m, CH₂ benzylique), et 7,16-7,48 (m, CH aromatique); RMC (CD₃SOCD₃, 100°) 17,36, 23,62, 26,71, 31,51, 37,53, 38,35, 42,73, 49,80, 50,15, 52,84, 53,66, 56,87, 65,36-66,17
5 (4 carbones), 70,56, 71,19, 72,01, 75,57, 77,61, 96,57, 126,9-128,78 (plusieurs carbones), 136,67-137,41 (4 carbones), 155,08-156,01 (4 carbones) et 169,52 ppm.

Analyse théorique pour C₅₀H₆₁N₅O₁₆S : C 58,87; H 6,03; N 6,86; S 3,14% Trouvée : C 58,85; H 6,19; N 6,86; S 2,85%

10 EXEMPLE 30

Azido-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimidine A (18)

On dissout dans 250 ml de diméthylformamide 5,0 g (4,9 millimoles) de tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" O-méthane-15 sulfonyl-2 fortimidine A et on chauffe à 93°C. On ajoute, avec une bonne agitation, 5,0 g (76,9 millimoles) d'azide de sodium et on agite le mélange réactionnel à 93°C pendant 4 h. Après refroidissement à 25°C, on traite la suspension avec 250 ml d'éther pour précipiter l'excès d'azide de sodium. On filtre, puis on concentre le 20 filtrat sous vide pour obtenir une masse semi-solide qu'on reprend dans 80 ml de chlorure de méthylène, qu'on lave avec 3 portions de 20 ml d'eau, puis qu'on sèche sur sulfate de magnésium. On filtre et on concentre sous pression réduite pour obtenir un sirop partiellement solidifié qu'on chromatographie sur gel de silice avec 25 un gradient étagé de toluène-isopropanol (98/2 à 97/3). Par concentration des fractions appropriées, on obtient 2,96 g (3,06 millimoles; 62%) d'azido-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimidine A :

IR (CDCl₃) 3480-3170, 2955, 2112, 1715, 1640, 1502, 1222 et 1040 cm⁻¹; 30 RMN (C₅D₅N, 110°) δ : 1,27 (d, J = 7 Hz, C₆,-CH₃), 1,40-2,20 (m, C₃,H₂-C₄,H₂), 3,12 (s, N-CH₃), 3,35 (s, OCH₃), 5,18-5,30 (m, CH₂ benzylique) et 7,18-7,48 (m, C-H aromatique); RMC (CD₃SOCD₃, 100°) 17,20, 23,69, 26,48, 31,70, 42,79, 49,75, 50,27, 53,03, 53,67, 56,61, 60,58, 65,36-66,00 (4 carbones), 70,51, 71,16, 74,13, 76,41, 96,57, 35 127,45-128,78 (plusieurs carbones); 136,80-137,37 (4 carbones), 155,15-156,02 (4 carbones) et 169,52 ppm.

Analyse théorique pour $C_{49}H_{58}N_8O_{13}$: C 60,86; H 6,05; N 11,59%
 Trouvée : C 61,14; H 6,32; N 11,62%

EXEMPLE 31Sulfate d'amino-2 désoxy-2 fortimicine A

On traite sous 3 bars d'hydrogène, sur 2,54 g de charbon palladié à 5%, pendant 5 h, une solution de 2,54 g (2,63 millimoles) d'azido-2 tétra-N-benzyloxycarbonyl-1,2',6',2" désoxy-2 fortimicine A dans 263 ml d'acide chlorhydrique 0,2 N dans le méthanol. On sépare le catalyseur par filtration et on le lave au méthanol. On concentre le filtrat à sec et on chasse l'acide chlorhydrique résiduel par distillation répétée sous vide avec du méthanol pour obtenir 1,6 g de pentachlorhydrate d'amino-2 désoxy-2 fortimicine A sous forme d'un hydrate. On fait passer une solution aqueuse du chlorhydrate sur une colonne de résine échangeuse d'ions AG 1X2 (sulfate) pour transformer le chlorhydrate en sulfate. Le sulfate d'amino-2 désoxy-2 fortimicine A a les propriétés suivantes : IR (Kbr) 3660-3330, 2950, 2650, 1635, 1524 et 1120-960 cm^{-1} ; RMN (D_2O) : 1,47 (d, $J = 6,5$ Hz) (C_6 , -CH₃), 1,56-2,31 (m, C_3, H_2-C_4, H_2), 3,27 (s, NCH₃), 3,68 (s, OCH₃) et 5,48 (d, $J = 3$ Hz, C_1 , -H); RMC (D_2O) 14,85, 21,45, 26,26, 31,74, 41,33, 49,35 (2 carbones), 51,26 (2 carbones), 51,85, 58,28, 69,97, 70,80, 71,14, 73,55, 96,27 et 168,94 ppm; spectre de masse, base libre, (m/e) 404 (M^+): 245, 143; $[\alpha]_D^{23} + 69^\circ$ (c : 1,02, eau).

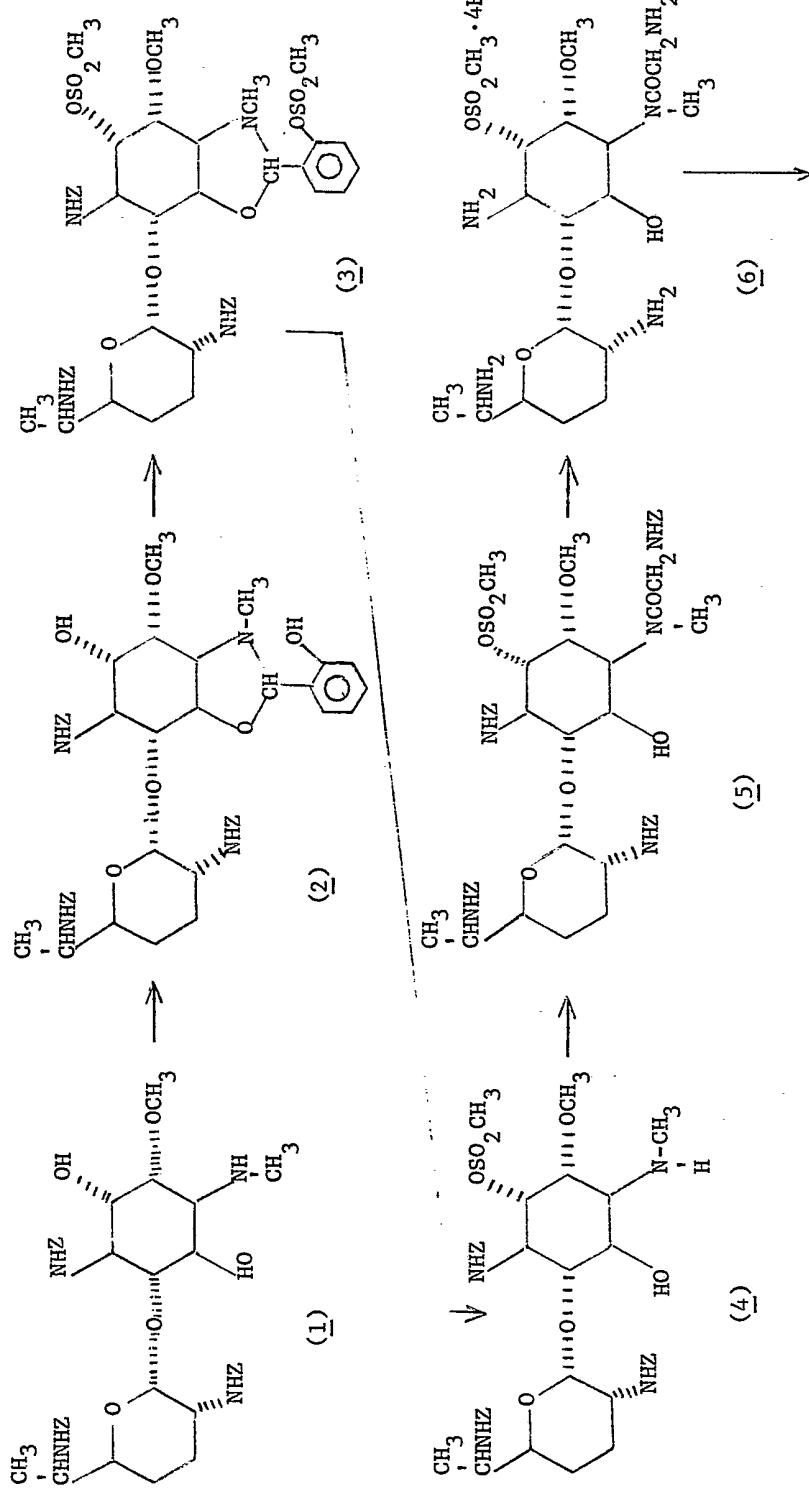
Analyse théorique pour $C_{17}H_{36}N_6O_5 \cdot 5/2 H_2SO_4 \cdot 3/2 H_2O$:

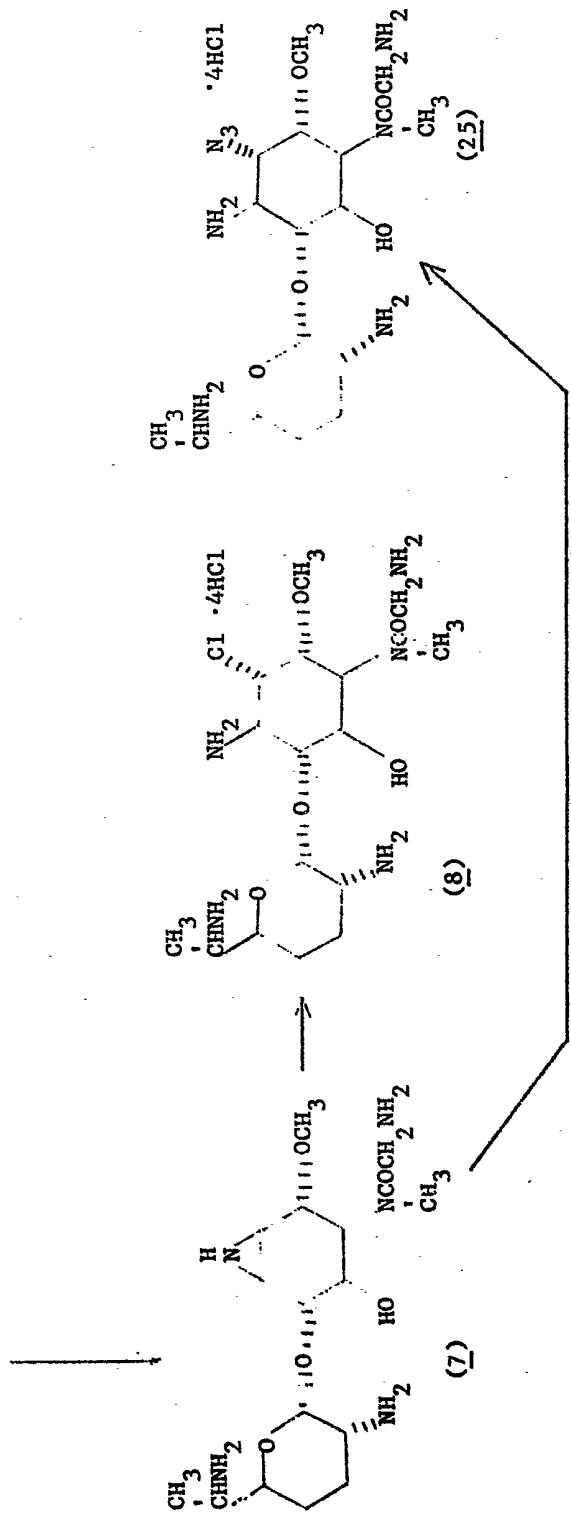
Trouvée : C 30,17; H 6,55; N 12,42; S 11,85%
 Trouvée : C 29,97; H 6,45; N 12,33; S 11,44%

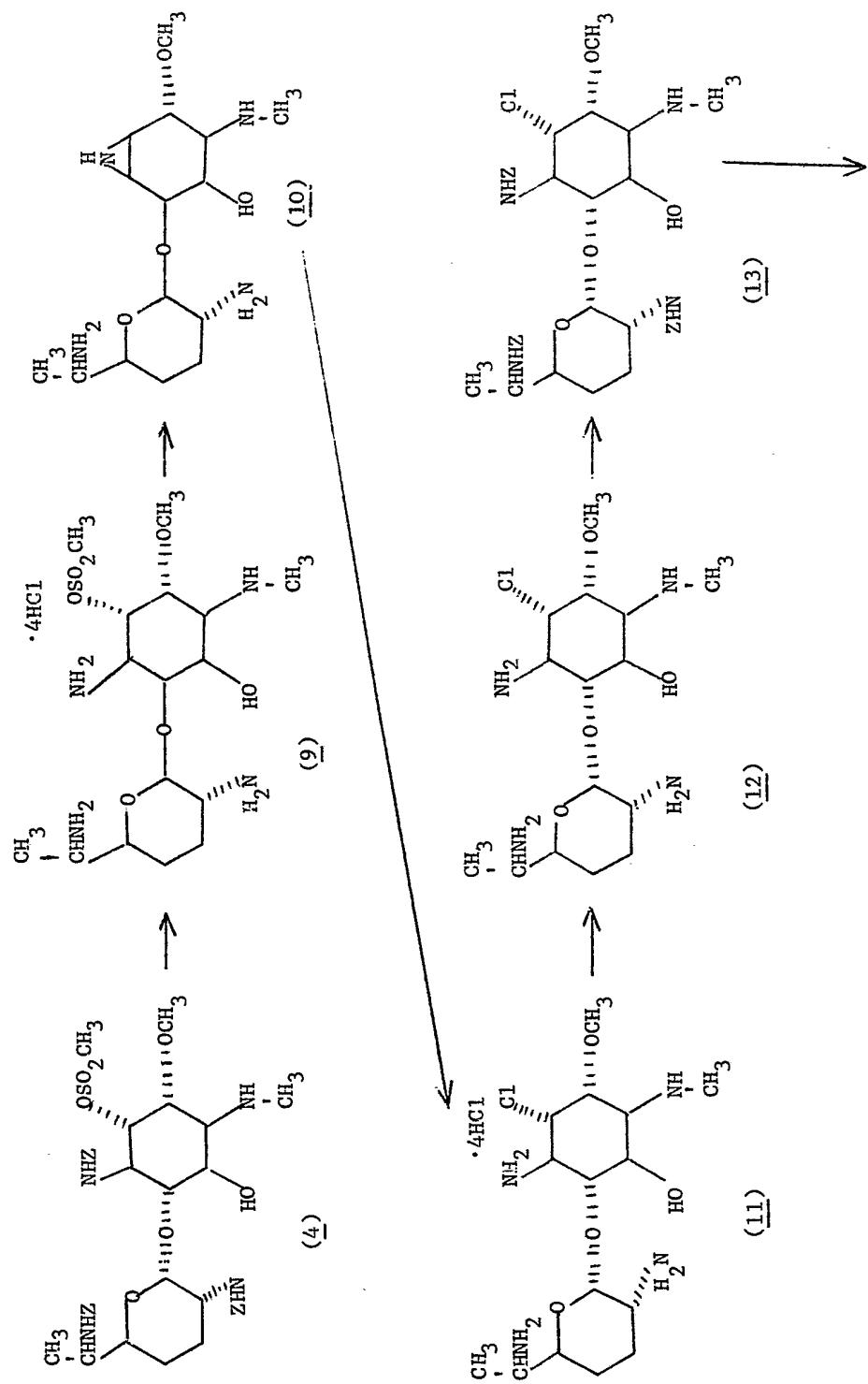
On détermine l'activité antibiotique *in vitro* des composés de l'invention selon une méthode de dilution de raison 2 sur gélose avec 10 ml de gélose de Mueller-Hinton par boîte de Petri. On ensemente la gélose avec une anse (anse de 0,001 ml d'une dilution au 1/10 d'un bouillon de culture de 24 h du micro-organisme d'étude indiqué et on incube à 37°C pendant 24 h. Les activités figurent dans le tableau ci-après. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est exprimée en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

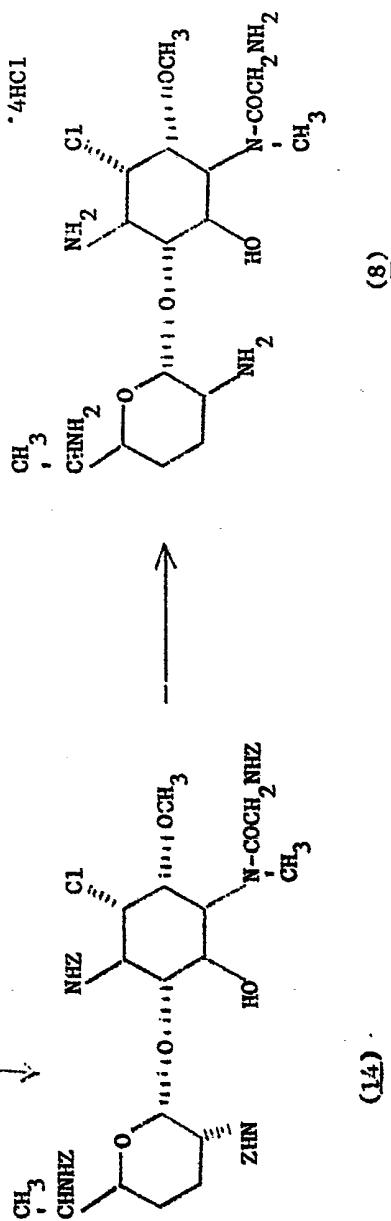
Bien entendu, diverses modifications peuvent être apportées par l'homme de l'art aux dispositifs ou procédés qui viennent d'être décrits uniquement à titre d'exemples non limitatifs sans sortir du cadre de l'invention.

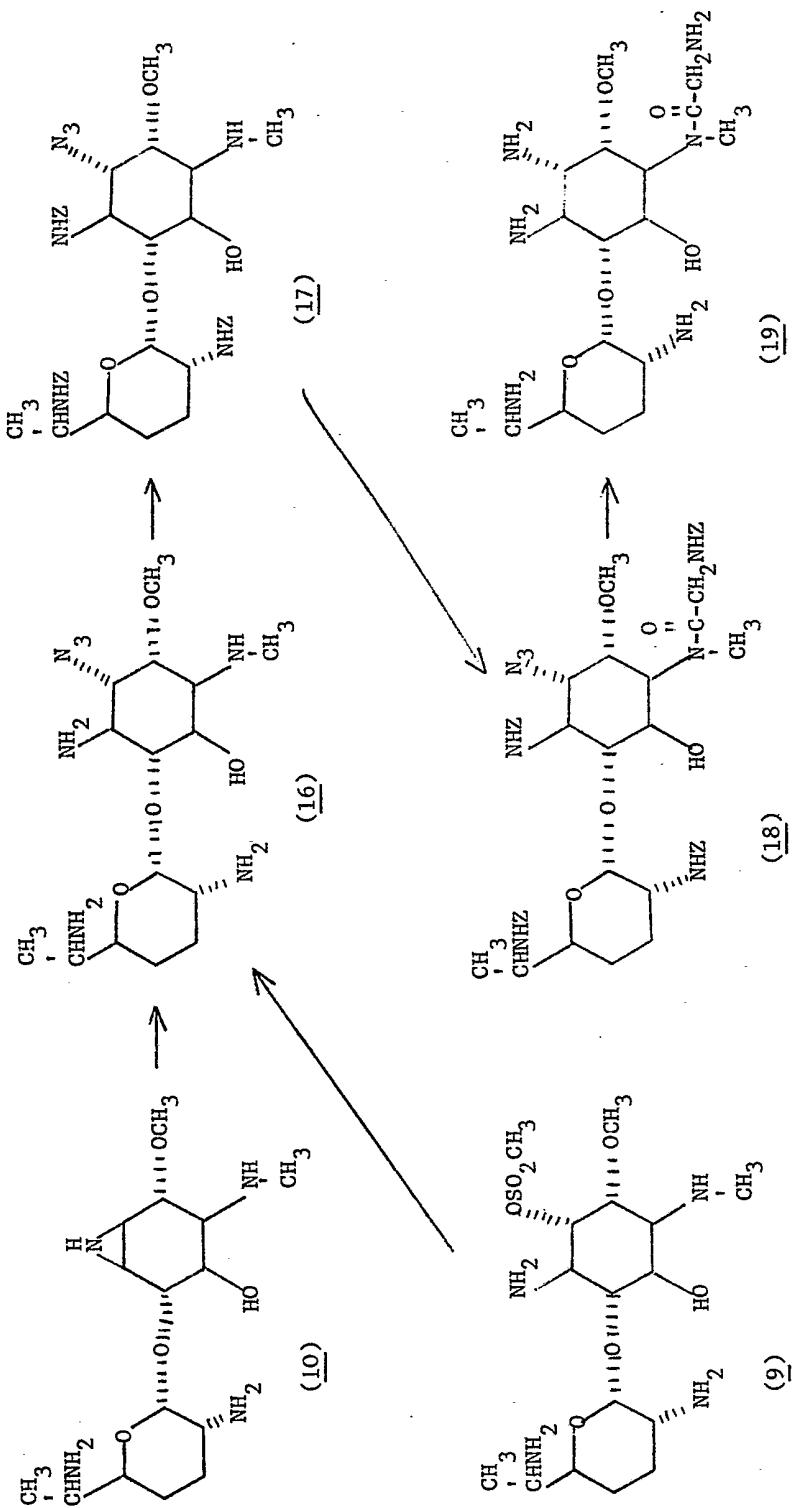
23

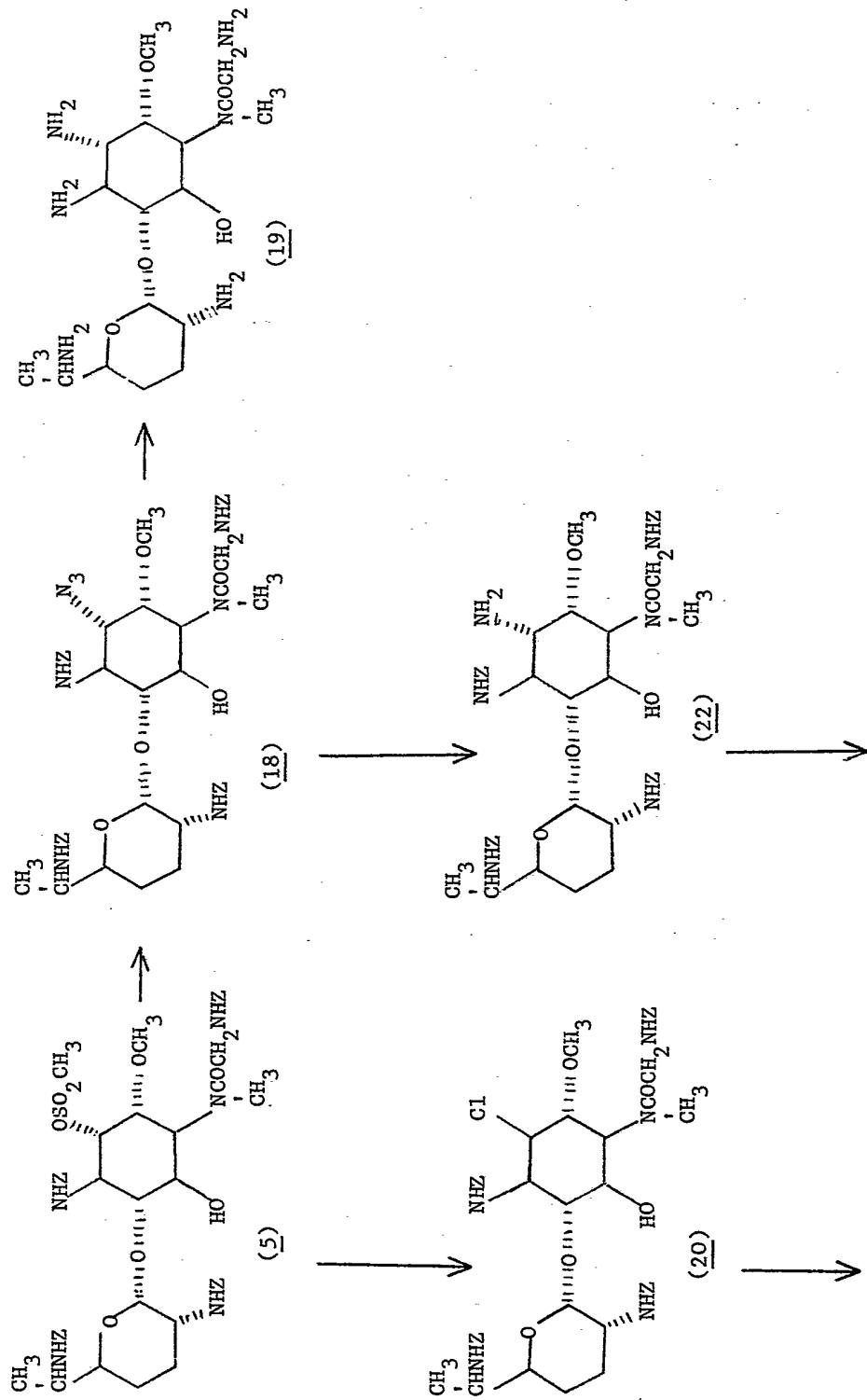


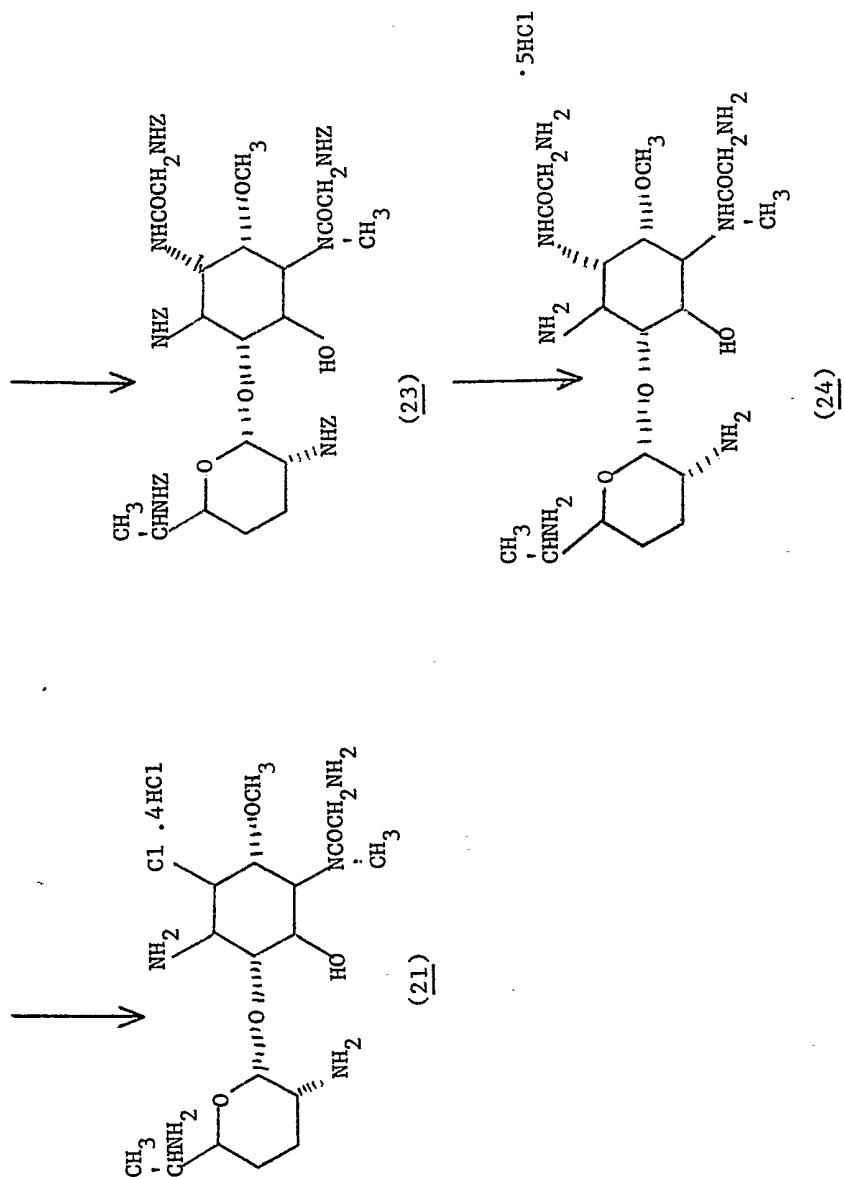


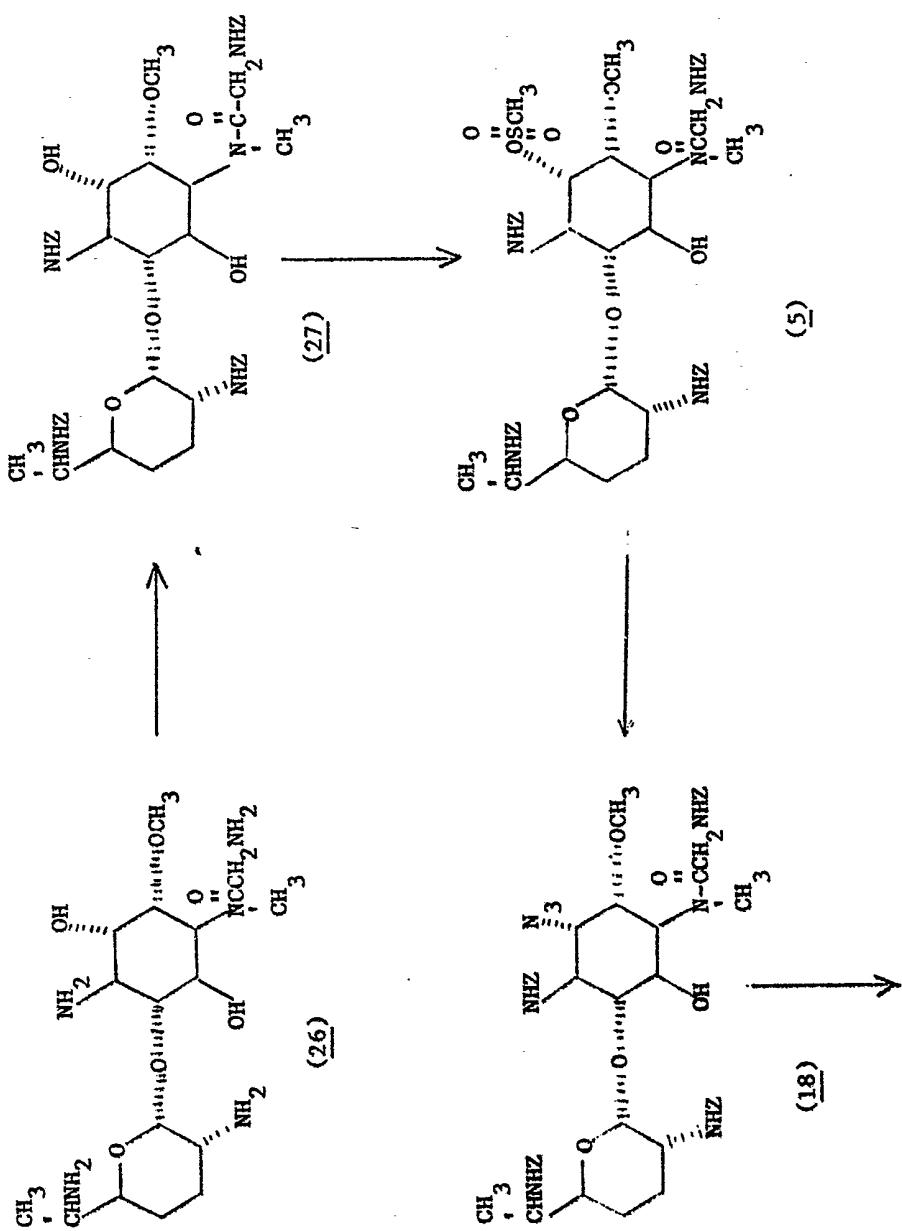


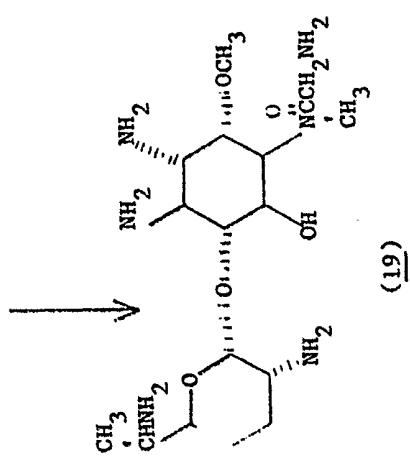












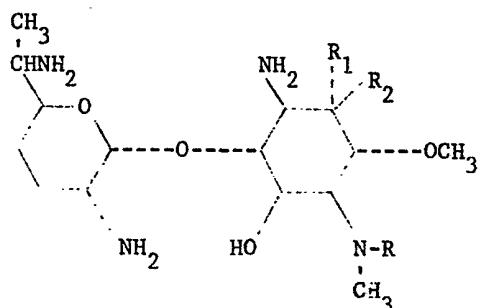
T A B L E A U
Activité antibiotique in vitro de composés de l'invention

Micro-organismes	Forti-micine A		Forti-HCl		Forti-micine A		Forti-HCl		Forti-micine A		Forti-HCl	
	SO ₄	témoin	6	7	8	25	19	24	2	3,1	1,56	3,1
<u>Staph. aureus Smith</u>	0,78	1,56	25	25	12,5	3,1	1,56	3,1	1,56	3,1	1,56	3,1
<u>Strep. faecalis 1054;</u>	50	50	>100	>100	100	100	100	>100	100	>100	100	50
<u>Enterobacter aerogenes</u> 13048	3,1	6,2	>100	>100	100	25	6,2	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
<u>E. coli Juhl</u>	6,75	6,2	100	100	25	12,5	50	50	50	50	50	25
<u>E. coli BL 3676 (Res)</u>	25	25	>100	>100	100	50	50	100	100	100	100	25
<u>Kleb. pneumoniae</u> 10031	1,56	3,1	>100	>100	100	50	3,1	6,2	50	50	50	50
<u>Kleb. pneumoniae</u> KY 4262	6,2	6,2	>100	>100	100	100	12,5	25	25	50	50	32
<u>Providencia</u> 1577	1,56	3,1	>100	>100	100	50	6,2	25	25	25	25	25
<u>Pseudo. aeruginosa</u> BMH n° 10	0,78	1,56	25	25	12,5	3,1	1,56	3,1	1,56	3,1	1,56	3,1
<u>Pseudo. aeruginosa</u> KY 8512	12,5	25	>100	>100	100	100	50	50	50	50	50	100
<u>Pseudo. aeruginosa</u> KY 8516	50	100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Pseudo. aeruginosa</u> 209	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Pseudo. aeruginosa</u> 27853	12,5	12,5	>100	>100	>100	100	100	50	50	50	50	>100
<u>Sal. typhimurium</u> Ed. n° 9	1,56	3,1	100	100	50	6,2	6,2	25	25	25	25	12,5
<u>Serratia marcescens</u> 4003	1,56	3,1	>100	>100	50	12,5	3,1	12,5	12,5	12,5	12,5	6,2
<u>Shigella sonnei</u> 9290	12,5	12,5	100	100	100	25	12,5	25	25	25	25	12,5
<u>Proteus rettgeri</u> U6333	12,5	25	>100	>100	>100	>100	25	>100	>100	>100	>100	50
<u>Proteus vulgaris</u> JJ	6,2	6,2	100	100	100	25	6,2	25	25	25	25	25
<u>Proteus mirabilis</u> Fin n° 9	6,2	12,5	100	50	>100	25	12,5	50	50	50	50	50

R E V E N D I C A T I O N S

1 - Nouveaux composés, caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule :

5



- 10 où R représente un atome d'hydrogène ou un radical glycyle, β -alanyle, acétyle ou β -aminoalkyle inférieur, R_1 représente un atome d'hydrogène ou un radical amino, azido, halogéno, glycylamido, β -alanyl amido ou O-méthanesulfonyl-2, R_2 représente un atome d'hydrogène ou un radical halogéno et leurs sels convenant en pharmacie.
- 15 2 - Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que R représente un atome d'hydrogène ou un radical glycyle, R_1 représente un atome d'hydrogène ou un radical amino, azido, chloro, glycylamido ou O-méthanesulfonyl-2 et R_2 représente un atome d'hydrogène ou un radical chloro.
- 20 3 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycyle, R_1 représente un radical glycylamido et R_2 représente un atome d'hydrogène.
- 25 4 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycyle, R_1 représente un radical amino et R_2 représente un atome d'hydrogène.
- 30 5 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycyle, R_1 représente un atome d'hydrogène et R_2 représente un radical chloro.
- 30 6 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycyle, R_1 représente un radical azido et R_2 représente un atome d'hydrogène.

7 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un atome d'hydrogène, R₁ représente un radical azido et R₂ représente un atome d'hydrogène.

5 8 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycycle, R₁ représente un radical chlоро et R₂ représente un atome d'hydrogène.

9 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un atome d'hydrogène, R₁ représente un radical chlоро et R₂ représente un atome d'hydrogène.

10 10 - Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que R représente un radical glycycle, R₁ représente un radical O-méthanesulfonyl-2 et R₂ représente un atome d'hydrogène.

11 - Procédé pour la préparation des composés selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on fait réagir une fortimidine B ayant une fonction hydroxy en C₂, dont les radicaux amino primaires sont protégés par un radical carbobenzylxy, alcanoyle inférieur, thioalcanoyle inférieur, thioaroyle ou alkylthiocarbo- moyle inférieur et le radical méthylamino secondaire en C₄ et le radical hydroxy voisin sont protégés par un cycle oxazolidine, 20 avec un halogénure ou anhydride d'hydrocarburesulfonyle comportant jusqu'à 16 atomes de carbone pour former un intermédiaire de type O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimidine que l'on traite ensuite avec un acide minéral pour hydrolyser le cycle oxazolidine et former une O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimidine B 1,2',6'-tri-N-protégée; on élimine les groupes N-protecteurs pour former une O-hydrocarbure- sulfonyl-2 fortimidine B que l'on réarrange en conditions basiques en désoxy-2 épimino-1,2 fortimidine B et on traite cette dernière par l'azide de sodium aqueux saturé ou l'acide chlorhydrique hydro- méthanolique pour former l'azido-2 ou chlоро-2 désoxy-2 fortimidine 30 B; on transforme, si on le désire, le dérivé de fortimidine B en dérivé de fortimidine A en protégeant sélectivement les restes amino primaires sous la forme N-carbobenzoxy et en acyulant la fonction 4-méthylamino libre, puis on élimine les groupes N-protecteurs par hydrogénolyse pour former les désoxy-2 N-acyl-4 fortimi- 35 cines B 2-substituées.

12 - Procédé pour la préparation des composés N-acyl-4 selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait réagir une N-acyl-4 O-hydrocarburesulfonyl-2 fortimicine per-N-protégée avec un ion chlorure ou azide et on élimine les groupes N-protecteurs.

5 13 - Procédé pour la préparation des désoxy-2 chloro ou azido-2 N-acyl-4 fortimicines selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on traite les désoxy-2 épimino-1,2 N-acyl-4 fortimicines appropriées par l'acide chlorhydrique hydro-méthanolique ou l'azide de sodium aqueux saturé.

10 14 - Procédé pour la préparation des désoxy-2 amino-2 di-N-acyl-2,4 fortimicines selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on réduit sélectivement la fonction azido de l'azido-2 désoxy-2 N-acyl-4 fortimicine per-N-protégée correspondante sur charbon palladié, on acyle la fonction amino-2 et on élimine en milieu acide 15 les groupes N-protecteurs.

15 16 - Nouveaux composés à structure pseudo-diglucosidique utiles comme intermédiaires dans la préparation des désoxy-2 fortimicines 2-substituées selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils comportent un reste O-hydrocarburesulfonyl-2.

20 16 - Composés selon la revendication 15, caractérisés en ce que tous les restes amino primaires sont protégés par un radical alcanoyle inférieur, carbobenzylxy, thioalcanoyle inférieur, thioaroyle ou alkylthiocarbamoyle inférieur.

25 17 - Composés selon la revendication 15 ou 16, caractérisés en ce que le reste 4-méthylamino et le reste 5-hydroxy dans la série B sont protégés par un aldéhyde sous forme d'un cycle oxazolididine.

30 18 - Nouveaux médicaments utiles notamment comme antibiotiques, caractérisés en ce qu'ils comportent comme ingrédient actif au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

19 - Compositions pharmaceutiques caractérisées en ce qu'elles sont conditionnées de façon à être administrées à un mammifère par voie parentérale, orale, locale ou rectale à des doses journalières comprises entre environ 10 et 200 mg/kg de poids corporel.