

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET  
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159788 B



(21) Patentansøgning nr.: 5541/76

(51) Int.Cl.<sup>5</sup> C 07 H 15/234

(22) Indleveringsdag: 09 dec 1976

(41) Alm. tilgængelig: 10 jun 1977

(44) Fremlagt: 03 dec 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 09 dec 1975 JP 145930/75 10 dec 1975 JP 146345/75

(71) Ansøger: \*ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI; 14-23, 3-chome; Kami-Osaki; Shinagawa-ku; Tokyo, JP

(72) Opfinder: Hamao \*Umezawa; JP, Sumio \*Umezawa; JP, Shigeo \*Seki; JP, Shunzo \*Fukatsu; JP, Shuntaro \*Yasuda; JP

(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

(54) **Fremgangsmåde til fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B og beskyttede kanamycin B-derivater til anvendelse som udgangsmateriale ved fremgangsmåden**

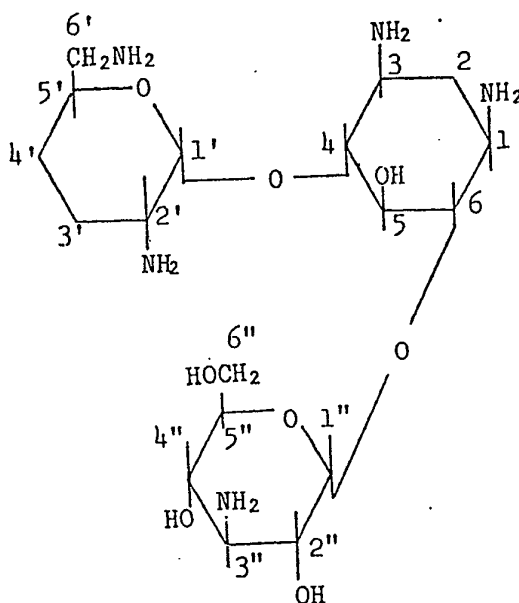
(56) Fremdragne publikationer

DK 159788 B

Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B og kanamycin B-derivatmellemprodukter. 3',4'-dideoxykanamycin B er antibakterielt virksomt mod en mængde forskellige gram-positive og gram-negative bakterier, og er specielt effektivt til hæmning af kanamycin-resistente organismer, såsom kanamycin-resistente Staphylococci og kanamycin-resistente Escherichia coli.

3',4'-dideoxykanamycin B med strukturformlen:

10



15

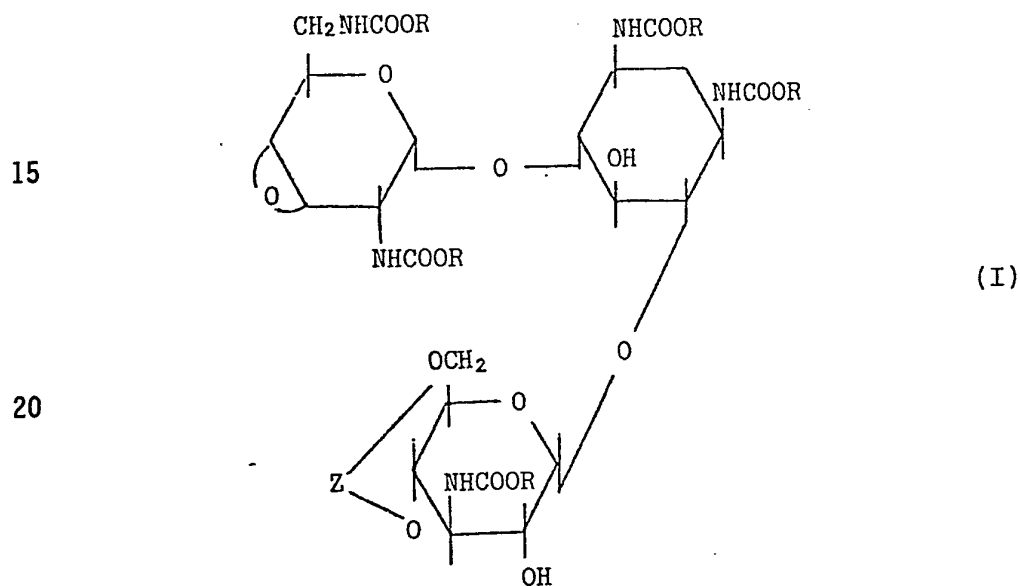
20

er hidtil blevet fremstillet ved en fremgangsmåde, som omfatter beskyttelse af de 5 aminogruyper og alle eller en del af hydroxylgrupperne, bortset fra 3'- og 4'-hydroxylgrupperne, i kanamycin B ved en konventionel fremgangsmåde, sulfonylering af 3'- og 4'-hydroxylgrupperne til dannelse af et derivat med 3'- og 4'-disulfonsyreestergrupper, fjernelse af 3'- og 4'-disulfonsyreestergrupperne ved kendte fremgangsmåder til dannelse af en 3',4'-umættet forbindelse, reduktion af den 3',4'-umættede forbindelse og fjernelse af de resterende beskyttende grupper. Den kendte fremgangsmåde kræver 9 trin fra kanamycin B til 3',4'-dideoxykanamycin B (se britisk patentskrift nr. 1.349.302). Yderligere kræver fremgangsmåden anvendelse af natriumiodid og zinkpulver i store mængder i trinnet til fjernelse af 3'- og 4'-disulfonsyreestergrupperne, hvad der således involverer spørgsmål om iodressourcer og om forurening af omgivelserne, hidrørende fra bortskaffelse af biprodukter. Derfor har udviklingen af en ny og mere fordelagtig fremgangsmåde til syntese af 3',4'-dideoxykanamycin B været ivrigt ønsket ud fra et industrielt synspunkt.

Det er den foreliggende opfindelses formål at tilvejebringe nye forløb for den syntetiske fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B, hvilke er fordelagtige overfor den kendte teknik ved, at de ikke anvender et alkalimetald bromid eller -iodid og zinkpulver, men anvender andre og mindre kostbare reagenser.

Ifølge et aspekt af opfindelsen tilvejebringes der derfor en fremgangsmåde til fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B eller dets syreadditionssalte, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at man

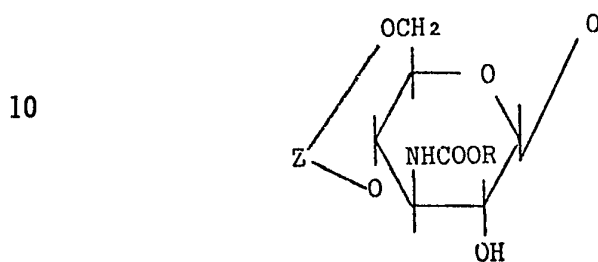
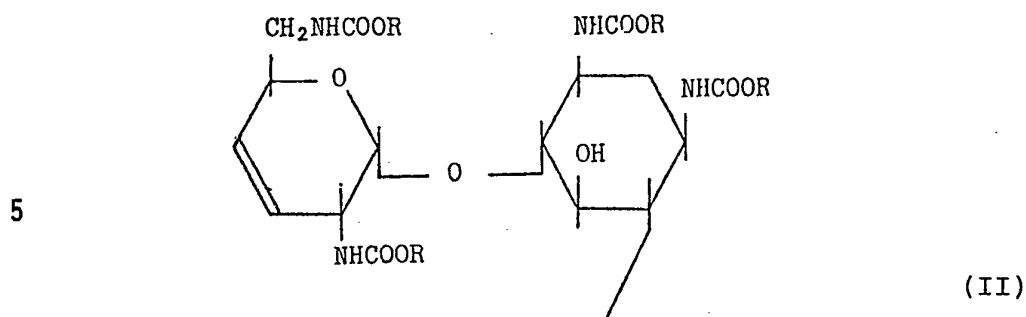
1) omsætter et 3',4'-epoxy-derivat af et amino- og hydroxylbeskyttet kanamycin B, som har den almene formel:



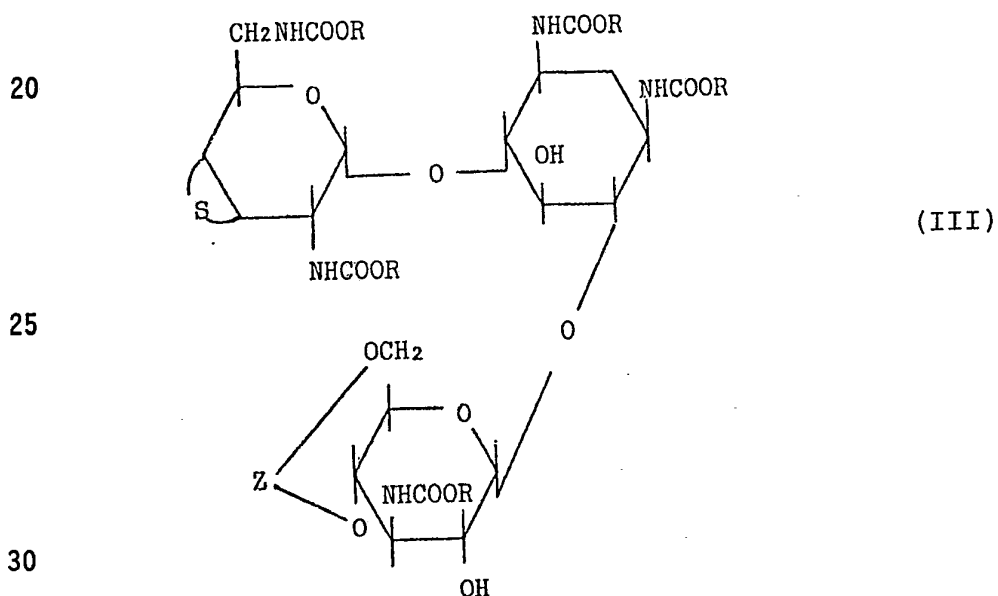
25 hvori R betegner en alkyl- eller arylgruppe, Z betegner en alkyliden-, aryliden-, cyclohexyliden- eller tetrahydropyranylidengruppe, og 3',4'-epoxygruppen er i  $\alpha$ - eller  $\beta$ -stilling, med et alkalimetallxanthat i et organisk opløsningsmiddel ved en temperatur fra 50-100°C, til dannelse

30 af et 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B-derivat, som har den almene formel:

3

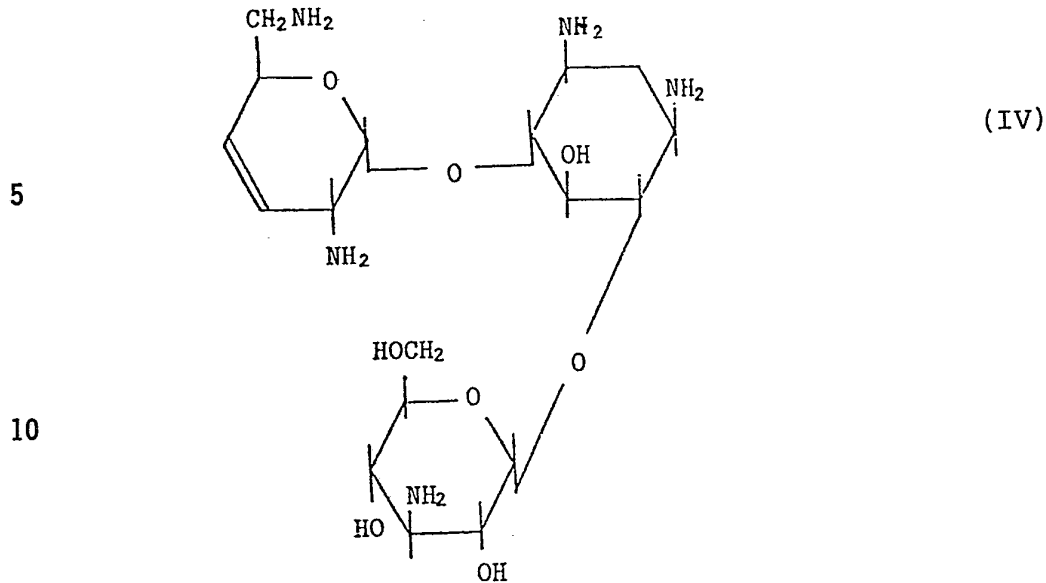


15 hvori R og Z har de ovenfor anførte betydninger, sammen med et 3',4'-episulfido-kanamycin B-derivat, som har den almene formel:



hvori R og Z har de ovenfor anførte betydninger, og 3',4'-episulfidgruppen er i  $\alpha$ - eller  $\beta$ -stilling; og

35 2) derefter omdanner forbindelserne med formel II og III hver for sig eller sammen, ved en konventionel fremgangsmåde til dannelselse af 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B, som har formelen:



15 og

3) hydrogenerer den således dannede forbindelse med formel (IV) ved en konventionel fremgangsmåde til dannelselse af 3',4'-kanamycin B, og om ønsket omdanner den således dannede forbindelse til et syre-additionssalt deraf.

20 Trinet 1) i fremgangsmåden ifølge opfindelsen, dvs. behandlingen af et penta-N- og 4",6"-di-O-beskyttet 3',4'-epoxy-derivat af kanamycin B, som har formlen (I) i enten  $\alpha$ - eller  $\beta$ -form, med et alkalimetalexanthat, kan udføres i et organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis ved en tempera-  
 25 tur på 50 til 100°C. Det organiske opløsningsmiddel kan fortrinsvis være en lavalkanol, såsom methanol eller ethanol. Xanthatet, som skal anvendes til denne behandling, kan være et sådant, som har den almene formel  $R'OCSSMe$ , hvor  $R'$  er en lavalkylgruppe, Me er et alkalimetal, såsom natrium eller kalium. Denne omsætning giver et 3',4'-dideoxy-3'-eno-derivat med formlen (II) som hovedprodukt i blanding med et 3',4'-epi-  
 30 sulfid-derivat med formlen (III) som biprodukt.

Mekanismen for omsætning mellem 3',4'-epoxy-derivatet som har form-  
 len (I), og xanthatet er endnu ikke blevet klarlagt, men en formodet  
 mulighed er den, at omdannelsen af 3',4'-epoxyderivatet til det tilsva-  
 rende 3',4'-dideoxy-3'-eno-derivat, som har formlen (II), forløber via  
 35 det tilsvarende 3',4'-episulfidderivat, som har formlen (III).

Isoleringen af det første og det andet produkt med hhv. formel II og III fra trinet 1) fra hinanden, kan fortrinsvis udføres ved chroma-  
 tografi, f.eks. silicagel-tyndtlags-chromatografi på sædvanlig måde,  
 f.eks. under anvendelse af en blanding (f.eks. 1:1 efter volumen) af

carbontetrachlorid og acetone som udviklingsmiddel. Blandingen af produkterne kan dog også anvendes som sådan ved næste trin i fremgangsmåden.

I fremgangsmådetrin (2) overføres forbindelserne med de almene  
5 formler (II) og (III) ved fraspaltning af beskyttelsesgrupperne til 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B med formel (IV), der i fremgangsmådetrin (3) hydreres til 3',4'-dideoxykanamycin B og eventuelt omdannes til et salt.

Omdannelsesforløbet af den i fremgangsmådetrin (1) opnåede blanding  
10 af forbindelserne med de almene formler (II) og (III) til 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B med den almene formel (IV) i fremgangsmådetrin (2) afhænger af, om episulfidoforbindelsen med den almene formel (III) isoleres og derefter frasepareres til videre behandling, eller om blandingen af (II) og (III) underkastes videre behandling.

I tilfælde af isolering af episulfidoforbindelsen med den almene  
15 formel (III) overføres denne efter fraskillelse, f.eks. ved tyndtlagschromatografi, med en syre, fortrinsvis en ikke-oxiderende mineralsyre, f.eks. en hydrogenhalogenidsyre, i 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B med den almene formel (IV), der derefter hydreres som beskrevet ovenfor.

Adskillelse af blandingen i produkterne (II) og (III) er imidlertid  
20 ikke nødvendig i alle tilfælde. Blandingen af produkterne (II) og (III) kan også afsvovles ved behandling med hydrazin eller Raney-nikkel, hvorved forbindelsen (III) omdannes til forbindelsen (II). Produktet, der derefter udelukkende består af forbindelsen (II) befries derefter som  
25 anført for beskyttelsesgrupperne og hydreres. 3',4'-dideoxy-kanamycin B, der fremkommer som slutprodukt, kan eventuelt omdannes til et salt.

Den ovenfor beskrevne fremgangsmådevariant er - selv om det på en måde er en omvej (III→II→IV) i mange tilfælde fordelagtig, idet den giver større udbytte.

Fjernelsen af de amino-beskyttende grupper -COOR og den hydroxyl-  
30 beskyttende gruppe Z kan udføres ved sædvanlig fremgangsmåde. F.eks. kan fjernelsen af den hydroxylbeskyttende gruppe Z først udføres ved en mild hydrolyse med en fortyndet saltsyre eller en vandig eddikesyre, og derefter kan de amino-beskyttende grupper fjernes ved hydrolyse med barium-  
35 hydroxid eller ved hydrogenolyse i nærværelse af en palladiumkatalysator. Trinnet 3) i den omhandlede fremgangsmåde, kan udføres ved en kendt fremgangsmåde. Således kan fortrinsvis en katalytisk reduktion med hydrogen i nærværelse af en kendt hydrogeneringskatalysator, indeholdende et platingruppemetal, såsom platin eller palladium, være anvendelig. Raney-

nikkelkatalysator kan også anvendes til dette formål.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er fordelagtig overfor den ovenfor anførte i teknikken kendte fremgangsmåde ved, at:

dannelsen af 3',4'-dobbelbindingen kan opnås uden afhængighed af omsætningen, som indbefatter anvendelse af et alkalimetabromid eller -iodid og zinkpulver;

som den endelige mellemproduktforbindelse, som i det sidste trin kan omdannes til det ønskede produkt 3',4'-dideoxykanamycin B, kan 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B, dvs. forbindelsen med formlen (IV), fri for enhver beskyttende gruppe opnås;

i det sidste trin kan den katalytiske hydrogenering opnås forholdsvis let med meget færre urenheder hidrørende fra anvendte reagenser, således at rensningen af slutproduktet kræves kun i en mindre udstrækning end i den i teknikken kendte fremgangsmåde, hvori trinnet til fjernelse af amino- og hydroxyl-beskyttende grupper udføres efter trinnet til hydrogeneringen.

Det er dog indlysende, at rækkefølgen af trinene 2) og 3) i den omhandlede fremgangsmåde om ønsket kan ombyttes, således at den velkendte rækkefølge, som den i teknikken kendte fremgangsmåde vælger at bruge, følges.

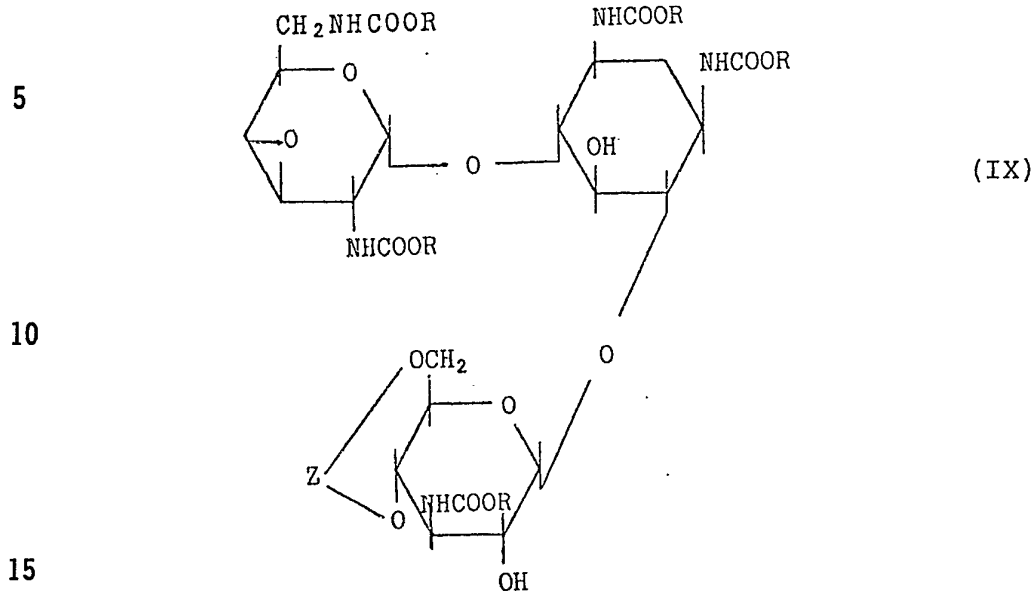
Slutproduktet 3',4'-dideoxykanamycin B i fri baseform kan om ønsket omdannes til et fra en uorganisk eller organisk syre afledt syreadditionssalt. F.eks. kan sulfat af 3',4'-dideoxykanamycin B opnås ved tilsætning af fortyndet svovlsyre til en vandig opløsning af den frie base til indstilling af pH-værdien til 6,8, behandling af opløsningen med aktiv kul, filtrering af opløsningen og frysetørring af filtratet.

3',4'-episulfid-derivatet kan behandles med en syre i en lavalkanol til dannelsen af 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B med formlen (IV), og -3',4'-episulfid-derivatet kan ved behandling med hydrazin eller Raney-nikkel omdannes til et 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B-derivat med formlen (II).

Behandlingen af 3',4'-episulfid-derivatet, som har formlen (III) med en syre kan fortrinsvis udføres i en lavalkanol, såsom methanol eller ethanol, under anvendelse af en hydrogenhalogenidsyre, såsom koncentreret saltsyre eller hydrogenbromidsyre. Almindeligvis kan imidlertid en ikke-oxiderende mineralsyre, f.eks. svovlsyre, anvendes til denne behandling. Fortrinsvis kan behandlingen udføres ved en temperatur på 0 til 30°C.

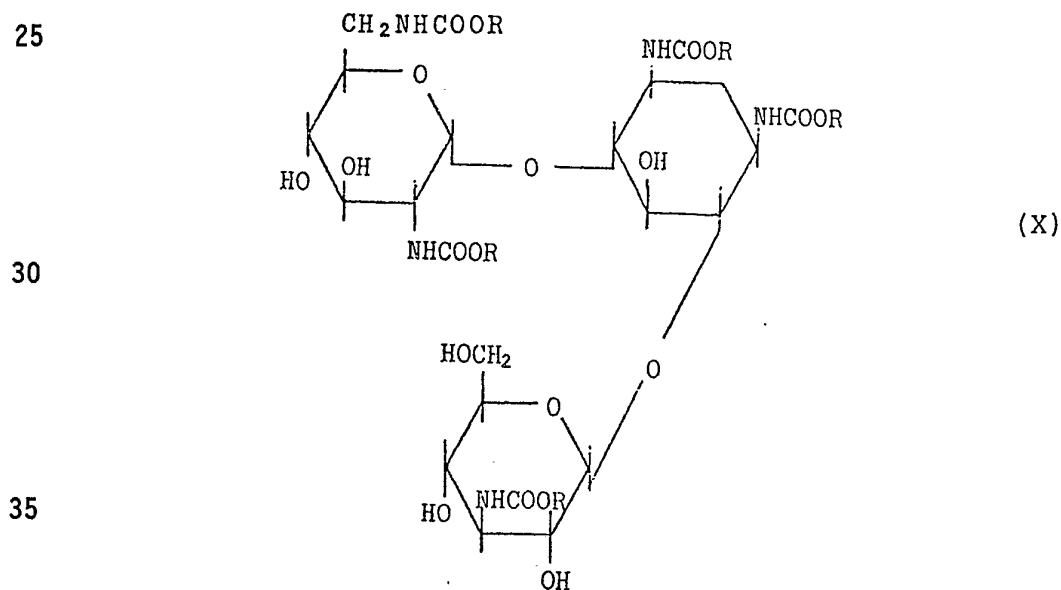
Det penta-amino-beskyttede og 4",6"-di-O-beskyttede, 3',4'- $\beta$ -epoxy-

derivat af kanamycin B, hvilken forbindelse har den almene formel:



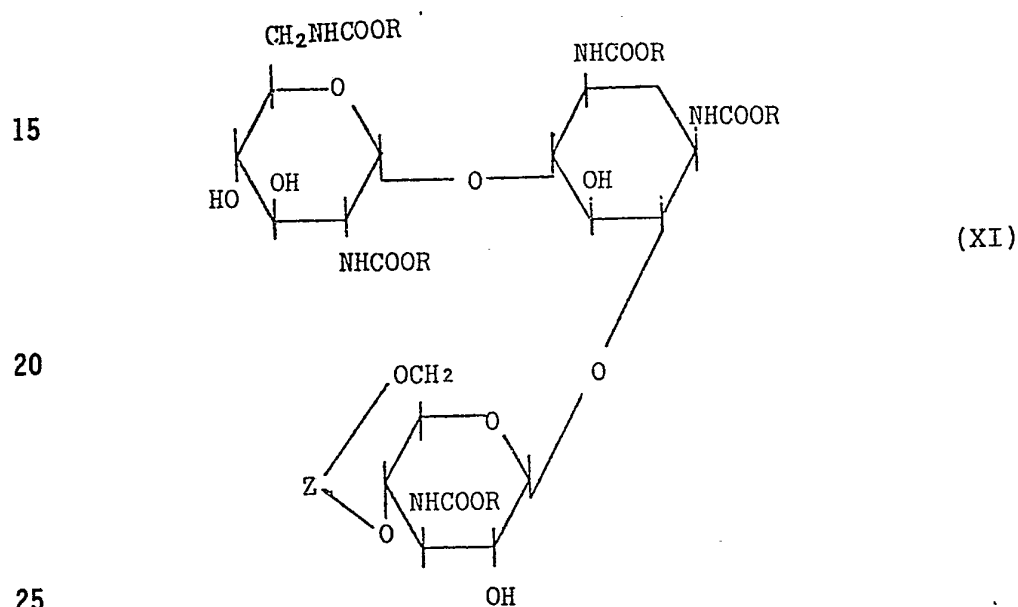
hvor i R og Z har de ovenfor anførte betydninger, og hvilken forbindelse skal anvendes som udgangsforbindelse i fremgangsmåden ifølge opfindelsen, kan afledes fra kanamycin B gennem adskillige omsætningstrin.

Dernæst beskyttes alle kanamycin B's 5 aminogrupper på konventionel måde, f.eks. som beskrevet i japansk fremlæggelsesskrift nr. 7595/75, til dannelselse af penta-N-beskyttet kanamycin B, som har den almene formel:



hvori R har den ovenfor anførte betydning.

Det næste trin er 4",6"-hydroxyl-beskyttelsestrin, som også udføres ved kendt fremgangsmåde. Typiske eksempler på et sådant hydroxyl-beskyttende middel er acetaldehyd, 2',2'-dimethoxypropan, anisaldehyd, benzaldehyd, dimethylacetal, tolualdehyd, 1,1-dimethoxycyclohexan og 1,1-dimethoxytetrahydropyran. Omsætningen kan fortrinsvis udføres i et polært organisk opløsningsmiddel, f.eks. dimethylformamid, i nærværelse af en katalytisk mængde p-toluensulfonsyre ved stuetemperatur, f.eks. 15 til 25°C, i 15 til 20 timer. Dette bevirker den selektive indføring af den hydroxyl-beskyttende gruppe i 4",6"-stillingerne, idet der således dannes 4",6"-O-beskyttet derivat, som har den almene formel:

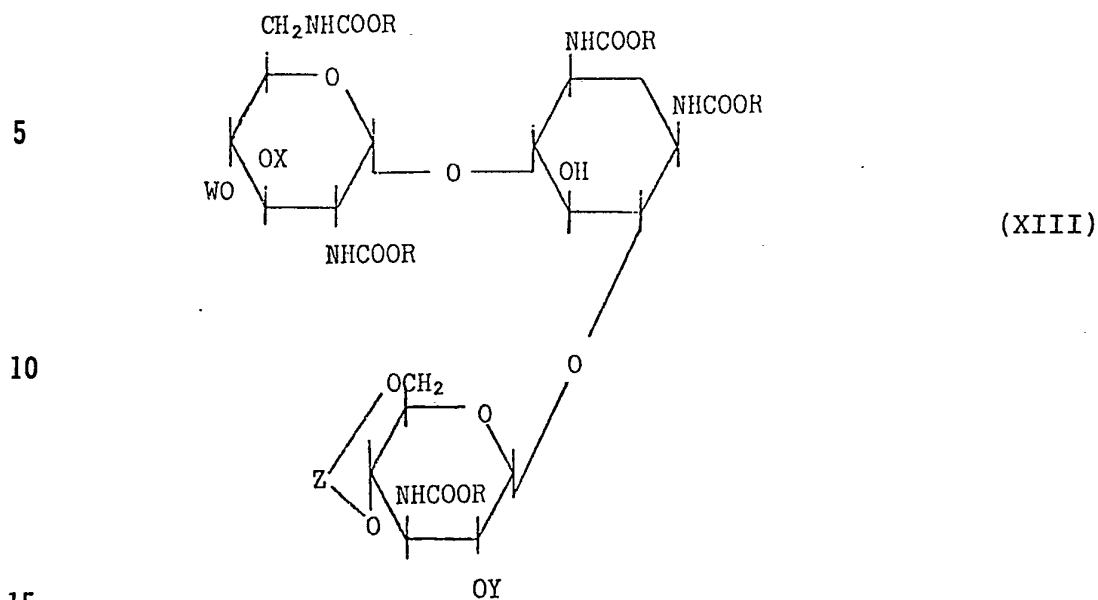


hvori R har den ovenfor anførte betydning, og Z betegner en alkyliden-, aryliden-, cyclohexyliden- eller tetrahydropyranylidengruppe. I denne selektive omsætning er det ønskeligt, at temperaturen holdes til ikke at overstige 30°C, fordi der også kan fremkomme angreb af det hydroxyl-beskyttende middel på 3'- og 4'-hydroxylgrupperne ved højere temperaturer.

Forbindelsen med formelen (XI) udsættes derefter for acylerings-omsætning med selektiv beskyttelse af 2"- og 3'-hydroxylgrupperne med hydroxyl-beskyttende gruppe af acyltype som formål. Acyleringstrinet kan sædvanligvis udføres ved opløsning af forbindelsen med formel (XI) i pyridin ved lav temperatur.

Diacylforbindelsen udsættes derefter for 4'-O-sulfonylering til

dannelse af 4'-0-sulfonyleret derivat, som har den almene formel:



hvor i R og Z har de ovenfor anførte betydninger, X og Y er hver en acyl-  
 gruppe, og W betegner en mesyl-, tosyl- eller benzylsulfonylgruppe.  
 Dette trin kan fortrinsvis udføres ved omsætning af diacylforbindelsen  
 20 med mesylchlorid, tosylchlorid eller benzylsulfonylchlorid i pyridin.  
 4'-0-sulfonyleringen kan udføres ved en temperatur på op til 50°C. Det  
 mest foretrukne sulfonyleringsmiddel er mesylchlorid.

Det således opnåede 4'-0-sulfonyleret derivat, som har formlen  
 (XIII), omdannes derefter til det ovenfor anførte 3',4'-β-epoxy-derivat,  
 25 som har formlen (IX), som hovedprodukt ved behandling af det med et  
 metalalcoholat. Under epoxideringsomsætningen fjernes den hydroxyl-  
 beskyttende gruppe Y i 2"-stillingen på grund af basisk betingelse,  
 således at den frie 2"-OH-gruppe genskabes i det 3',4'-β-epoxiderede  
 derivat med formlen (IX).

30 3',4'-α-epoxy-derivat svarende til 3',4'-β-epoxy-derivatet med  
 formlen (IX) kan afledes fra 3'-0-tosyl-derivatet, således som det er  
 anført i tysk fremlæggeskrift nr. 2.555.479.

Den foreliggende opfindelse skal yderligere belyses ud fra fore-  
 trukne udførelsesformer ved hjælp af eksempler.

Eksempel 1.1) Fremstilling af penta-N-ethoxycarbonylkanamycin B.

Penta-N-ethoxycarbonylkanamycin B fremstilledes ud fra kanamycin B som fri base ved den i Eksempel 1 i britisk patentskrift nr. 1.349.302 beskrevne fremgangsmåde.

2) Fremstilling af 2",3'-di-O-benzoyl-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

Penta-N-ethoxycarbonylkanamycin B (10 g) opslæmmedes i dimethylformamid (70 ml), hvortil der sattes p-toluensulfonsyre, indtil pH-værdien af opslæmningen var kommet under 3,0, og derefter tilsattes cyclohexandimethylketal (10 ml). Blandingen holdtes ved 25°C under omrøring i 18 timer. Fuldførelsen af omsætningen bekræftedes ved tyndtlags-chromatografi under anvendelse af silicagel (fremstillet af Merck) som stationær fase og chloroform-methanol (10:1 efter volumen) som udviklingsmiddel, og den resulterende reaktionsblanding neutraliseredes med triethylamin. Den neutraliserede væske koncentreredes under vakuum til opnåelse af en remanens-væske på 25 ml, som derefter opløstes i pyridin (150 ml). Efter afkøling af opløsningen til en temperatur på 0 til 5°C sattes benzoylchlorid (3,9 ml) dertil, og blandingen henstod til omsætning i 3 timer. Fuldførelse af omsætningen bekræftedes ved tyndtlags-chromatografi. Vand (5 ml) sattes til den resulterende blanding, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 30 minutter, koncentreredes og hældtes i vand (200 ml) til dannelse af et bundfald, som udvandedes ved filtrering. Udbytte 12,7 g (95%). Efter rensning ved konventionel silicagel-chromatografi havde titelforbindelsen de følgende fysiske egenskaber:

$[\alpha]_D^{25} +76,6^\circ$  (c=1, pyridin), smeltepunkt 233-235°C.

## Grundstofanalyse:

Fundet: C 55,98; H 6,44; N 5,60%

beregnet for  $C_{53}H_{73}N_5O_{22}$ :

C 56,22; H 6,51; N 6,19%.

3) Fremstilling af 2",3'-di-O-benzoyl-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-cyclohexyliden-4'-O-mesyl-kanamycin B.

2",3'-di-O-benzoyl-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (5 g) opløstes i pyridin (100 ml), hvortil der sattes mesyl-

chlorid (1,4 ml), og blandingen holdtes ved 40°C under omrøring i 1,5 timer. Efter at blandingen var afkølet til stuetemperatur, sattes vand (5 ml) til blandingen til dekomponering af det overskydende mesylchlorid, og blandingen koncentreredes. Til koncentratet sattes vand (200 ml) til udfældning af titelforbindelsen, som udvandt ved filtrering.

Udbytte 5,0 g (94%);

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 103,6^{\circ} \text{ (c=1,0, pyridin), smeltepunkt } 176\text{-}179^{\circ}\text{C.}$$

Grundstofanalyse:

10 Fundet: C 53,28; H 6,25; N 5,41; S 2,95%  
beregnet for  $\text{C}_{54}\text{H}_{75}\text{N}_5\text{O}_{24}\text{S}$ :  
C 53,59; H 6,25; N 5,79; S 2,65%.

15 4) Fremstilling af 3',4'- $\beta$ -epoxy-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

2",3'-di-O-benzol-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-4'-mesyl-kanamycin B (5 g) opløstes i methanol (100 ml), hvortil der sattes natriummethylat (2,2 g). Blandingens holdtes ved stuetemperatur under omrøring i 2 timer. Efter at fuldførelse af omsætningen var bekræftet ved tyndtlags-chromatografi under anvendelse af silicagel som stationær fase og carbontetrachlorid-acetone (1:1 efter volumen) som udviklingsmiddel, isafkøledes reaktionsblandingen, neutraliseredes med koncentreret saltsyre (1,25 ml) og koncentreredes. Til det neutraliserede koncentrat sattes vand (100 ml) til udfældning af titelforbindelsen, som udvandt ved filtrering. Udbytte 3,5 g,

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 37,8^{\circ} \text{ (c=1,0, pyridin), smeltepunkt } 254\text{-}258^{\circ}\text{C (95%);}$$

(dekomponering under skumning).

Grundstofanalyse:

30 Fundet: C 51,86; H 6,89; N 7,58; O 33,67%  
beregnet for  $\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{N}_5\text{O}_{19}$ :  
C 51,69; H 7,02; N 7,73; O 33,55%.

35 5) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

3',4'- $\beta$ -epoxy-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (800 mg) opslæmmedes i n-butanol (40 ml), hvortil der sattes kalium-n-butylxanthat (1,7 g), og omsætningen udførtes ved 80°C i 4 timer. Efter at fuldførelse af omsætningen var bekræftet ved silicagel-

tyndtlagschromatografi under anvendelse af carbontetrachlorid-acetone (1:1 efter volumen) som udviklingsmiddel, afkøledes blandingen og udvaskedes med vand (40ml x 2), og det resulterende butanolag koncentreredes til tørhed. Udbytte 900 mg. Det bekræftedes ved silicagel-tyndtlags-

5 chromatografi, at dette lag var en blanding af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-cyclohexyliden-kanamycin B og 3',4'-episulfido-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden kanamycin B i ca. forholdet 1:1.

Blandingen udsattes for silicagel-tyndtlagschromatografi under

10 anvendelse af carbontetrachlorid-acetone (5:1 efter volumen) som udviklingsmiddel til dannelse af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-cyclohexyliden-kanamycin B med  $[\alpha]_D^{25} = +24,7^\circ$

(c = 1,0, methanol) og 3',4'-episulfido-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-

15 cyclohexyliden-kanamycin B med  $[\alpha]_D^{25} = +10,8^\circ$  (c = 1,0, H<sub>2</sub>O) og hver for

sig med smeltepunkt på 250-260°C (under dekomponering).

Grundstofanalyse af den sidste forbindelse:

Fundet: C 50,41; H 6,95; N 7,45; S 3,48%

20 beregnet for C<sub>39</sub>H<sub>63</sub>N<sub>5</sub>O<sub>18</sub>S:

C 50,79; H 6,90; N 7,60; S 3,48%.

#### 6) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B.

3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-

25 kanamycin B (475 mg) opløstes i methanol (5 ml), hvortil der sattes en mængde 1 N HCl, som var tilstrækkeligt til indstilling af opløsningens pH-værdi til 2,0. Opløsningen opvarmedes ved 50°C i 30 minutter og opvarmedes yderligere efter tilsætning af vand (5 ml) og derpå bariumhydroxid, octahydrat (1,4 g) til afdestillering af methanolen, og den

30 resterende blanding opvarmedes under tilbagesvaling i 8 timer og afkøledes derpå.

Carbondioxidgas sendtes gennem den afkølede blanding, og herved dannet bariumcarbonat fjernedes ved filtrering. Rensning gennem en søjle af "Amberlite CG-50" (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-form) gav titelforbindelsen. Udbytte 560 mg

35 (26%).

Grundstofanalyse:

Fundet: C 47,85; H 7,95; N 15,40%

beregnet for C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>:

C 48,11; H 7,80; N 15,59%.

7) Fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B.

3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B (120 mg) opløstes i vand (4 ml), hvortil der sattes Raney-nikkel (0,2 ml). Hydrogen sendtes gennem opløsningen i 2 timer under atmosfæriske betingelser med hensyn til temperaturtryk. Efter at den anvendte katalysator var frafiltreret, koncentreredes filtratet til tørhed. Udbytte 108 mg (95%).

Eksempel 210 1) Fremstilling af penta-N-t-butoxycarbonyl-kanamycin B.

Kanamycin B (10 g) sattes til en blanding af vand (34 ml), triethylamin (24 ml) og dimethylformamid (48 ml). Derpå sattes t-butyl-S-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)-thiol-carbonat (40 g) til blandingen ved stuetemperatur, og blandingen omrørtes ved denne temperatur i 18 timer. Tilsætning af vand (150 ml) til blandingen medførte dannelse af krystaller, som udvandedes ved filtrering og vaskedes grundigt med en vandig mættet opløsning af ethylacetat. Udbytte 20 g (100%), smeltepunkt 229-234°C (dekomponering under skumning).

Grundstofanalyse:

20 Fundet: C 52,61; H 7,86; N 6,93%

beregnet for  $C_{43}H_{77}N_5O_{20}$ :

C 52,47; H 7,90; N 7,12%.

25 2) Fremstilling af 3',4'-β-epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

Penta-N-t-butoxykanamycin B (10 g) behandlede på de samme måder som de i Eksempel 1, 2), 3) og 4) ovenfor beskrevne måder, til dannelse af titelforbindelsen. Udbytt 80%,

30  $[\alpha]_D^{23} = +27^{\circ}$  (c=1,0, pyridin), smeltepunkt 232-234°C

(dekomponering under skumning).

35 3) Fremstilling af 3',4'-episulfido-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

3',4'-β-epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (10 g) opslæmmedes i n-butanol (100 ml), hvortil der sattes kalium-n-butylxanthat (9,5 g), og omsætningen udførtes ved 90°C i 2 timer. Efter at omsætningen var fuldført, afkøledes blandingen og udvaskedes to gange med 100 ml portioner vand, og det fraskilte butanol lag

koncentreredes til tørhed til dannelse af en blanding bestående af 3',4'-episulfido-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-cyclohexyliden-kanamycin B og 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-cyclohexyliden-kanamycin B. Udbytte 11 g. Råproduktet udsattes for silicagelchroma-  
 5 tografi under anvendelse af chloroform-methanol (50:1 efter volumen) som udviklingsmiddel til isolering af 3',4'-episulfido-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-cyclohexylidenkanamycin B. Udbytte 3,9 g (35%).

$$[\alpha]_D^{25} = +23^{\circ} \text{ (c=1,0, pyridin), smeltepunkt } 235\text{-}238^{\circ}\text{C,}$$

10 (dekomponering under skumning).

Grundstofanalyse:

Fundet: C 55,10; H 7,94; N 6,31; S 3,30%

beregnet for  $\text{C}_{49}\text{H}_{83}\text{N}_5\text{O}_{18}\text{S}$ :

C 55,39; H 7,89; N 6,59; S 3,02%.

15

4) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B.

3',4'-episulfido-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (1,15 g) opløstes i methanol (12 ml), hvortil der sattes koncentreret saltsyre (3 ml), og omsætningen udførtes ved stuetempe-  
 20 ratur i 3 timer.

Reaktionsblandingen koncentreredes til tørhed, og den resulterende remanens opløstes i vand (18 ml), og opløsningens pH-værdi indstillede til 6,5 ved tilsætning af 1N natriumhydroxidopløsning (2,5 ml). Opløsningen sendtes gennem en søjle af 20 ml "Amberlite CG-50" ( $\text{NH}_4^+$ -form).  
 25 Søjlen udvaskedes efter adsorption med vand og derefter med 0,1N vandig ammoniak og elueredes derpå med 0,3N vandig ammoniak. Koncentrering af eluatet gav titelforbindelsen. Udbytte 194 mg.

5) Fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B.

30 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B (120 mg) opløstes i vand (4 ml), hvortil der sattes Raney-nikkel (0,2 ml), og hydrogen gas sendtes gennem blandingen i 2 timer under atmosfæriske temperatur- og trykbetingelser. Efter at katalysatoren var frafiltreret, koncentreredes filtratet til tørhed til dannelse af titelforbindelsen. Udbytte 108 mg (90%).

35

Eksempel 3

Fremstilling af 3',4'-episulfido-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

3',4'- $\alpha$ -epoxy-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-

kanamycin B (100 mg), som var fremstillet efter den i Eksempel 1 i tysk fremlæggeskrift nr. 2.555.479 beskrevne fremgangsmåde, opløstes i pyridin (5 ml), hvortil der sattes kalium-ethylxanthat (100 mg), og blandingen opvarmedes under tilbagesvaling i 1,5 timer og koncentreredes derefter til tørhed. En blanding af vand og chloroform (2:3 efter volumen) sattes til den faste remanens, og chloroformlaget fraskiltes, udvaskedes 3 gange med 20 ml portioner vand og koncentreredes til tørhed til dannelse af 70 mg af et råprodukt indeholdende 3',4'-episulfido-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexylidenkanamycin B og 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

Isoleringen af de respektive forbindelser udførtes ved tyndtlagschromatografi på samme måde som den i Eksempel 1, 5) ovenfor anvendte måde.

15

#### Eksempel 4

##### 1) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

20 3',4'-episulfido-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (470 mg), som var fremstillet som beskrevet i Eksempel 1, 5) (eller i Eksempel 3, 1)) ovenfor opløstes i methanol (2 ml), hvortil der sattes hydrazinhydrat (0,22 ml), og blandingen henstod ved stuetemperatur i 2 timer. Reaktionsblandingen koncentreredes derefter til tørhed og behandledes med vand (20 ml) til dannelse af bundfald, som udvandt

25 ved filtrering. Udbytte 362 mg (80%),

$$[\alpha]_D^{26} (c=1,0, \text{methanol}).$$

##### Grundstofanalyse:

30 Fundet: C 52,31; H 7,53; N 7,49%

beregnet for  $C_{39}H_{65}N_5O_{18}$ :

C 52,50; H 7,36; N 7,85%.

#### Eksempel 5

35

##### 1) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-t-butoxy-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B.

3',4'-episulfido-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (585 mg), som var fremstillet som i Eksempel 2, 3), opløstes

i methanol (7 ml), hvortil der sattes Raney-nikkel ("R-100") (500 mg), og blandingen omrørtes ved stuetemperatur (20°C) i 2 timer. Efter at Raney-niklet var fjernet ved filtrering, koncentreredes filtratet til tørhed til dannelse af titelforbindelsen. Udbytte 450 mg (80%).

5

2) Fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B.

3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-t-butoxy-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (450 mg) behandlede på lignende måde som i Eksempel 1, 6) og 1, 7) til dannelse af titelforbindelsen. Udbytte 90%.

10

Eksempel 6

1) Fremstilling af 3',4'-β-epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-2"-0-benzoylkanamycin B.

15

3',4'-β-epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-kanamycin B (2,0 g) opløstes i tør pyridin (40 ml), hvortil der sattes benzoylchlorid (0,8 ml) under isafkøling, og blandingen henstod til omsætning ved 5°C i 30 minutter. Derpå sattes vand (2 ml) til reaktionsblandingen, og blandingen koncentreredes til dannelse af en sirup, som derefter hældtes i vand (20 ml) til dannelse af bundfald. Bundfaldet udvandedes ved filtrering og tørredes til dannelse af titelforbindelsen. Udbytte 2,16 g (98,3%).

20

2) Fremstilling af 4'-deoxy-4'-iod-penta-N-t-butoxy-carbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-2"-0-benzoyl-kanamycin B.

25

3',4'-β-epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-2"-0-benzoyl-kanamycin B (2,1 g) opløstes i acetone (60 ml), hvortil der sattes natriumiodid (1,4 g), natriumacetat (80 mg) og iseddikesyre (1,4 ml), og den resulterende blanding opvarmedes under tilbagesvaling i omkring 8 timer.

30

Efter fuldførelse af omsætningen afkøledes blandingen til udfældning af krystaller, som udvandedes ved filtrering. Udbytte 2,25 g (94%), smeltepunkt 171-176°C, under dekomponering.

Grundstofanalyse:

35

Fundet: C 52,81; H 7,11; N 5,31; I 10,39%

beregnet for  $C_{43}H_{76}N_5O_{19}I$ :

C 52,62; H 6,94; N 5,48; I 9,93%.

3) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-  
0-cyclohexyliden-2"-0-benzoyl-kanamycin B.

4'-deoxy-4'-iod-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexyliden-2"-  
0-benzoyl-kanamycin B (452 mg) opløstes i tør pyridin (9 ml), hvortil  
5 der sattes benzylsulfonylchlorid (305 mg) under afkøling til 0-5°C i  
omkring 30 minutter.

Efter fuldførelsen af omsætningen sattes methanol (0,18 ml) til  
reaktionsblandingen, som derefter opvarmedes til 90°C i 50 minutter og  
afkøledes til stuetemperatur. Blandingen koncentreredes til en sirup,  
10 hvortil vand (10 ml) sattes til udfældning af krystaller. Krystallerne  
udvandedes ved filtrering og vaskedes med vand til opnåelse af titelfor-  
bindelsen i form af en våd kage.

Identifikation af den således opnåede forbindelse udførtes ved  
silicagel-tyndtlagschromatografi under anvendelse af carbontetrachlorid-  
15 acetone (4:1 efter volumen) som udviklingsmiddel.

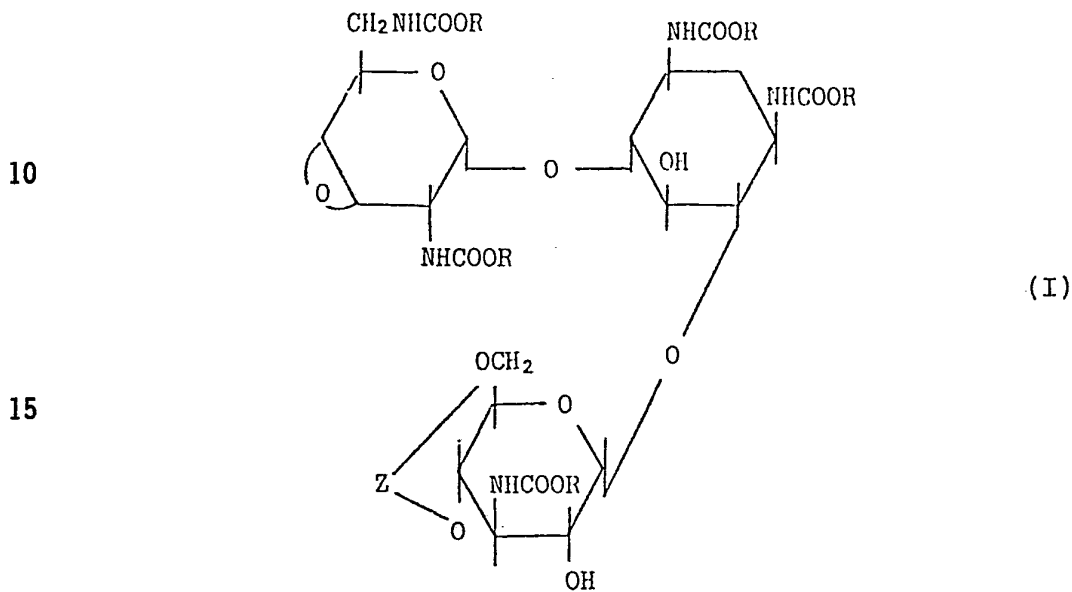
4) Fremstilling af 3',4'-dideoxy-3'-eno-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-  
0-cyclohexyliden-kanamycin B.

Den våde kage af den i trin 3) ovenfor opnåede forbindelse opløstes  
20 i methanol (20 ml), hvortil der sattes natriummethylat til indstilling  
af pH-værdien til 9,0-10,0, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i  
30 minutter, neutraliseredes med 1N HCl og koncentreredes til en sirup.  
Tilsætning af vand til sirup'en medførte dannelse af et bundfald, som  
udvandedes ved filtrering, udvaskedes med vand og tørredes til dannelse  
25 af titelforbindelsen. Udbytte 360 mg (100%).

P a t e n t k r a v .

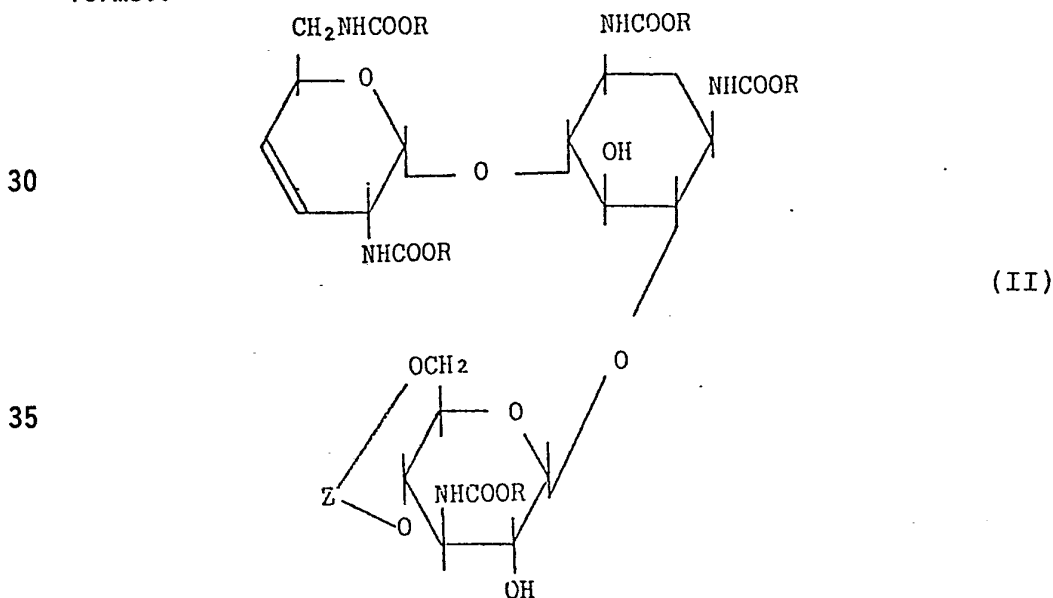
1. Fremgangsmåde til fremstilling af 3',4'-dideoxykanamycin B eller dets syreadditionssalte, k e n d e t e g n e t ved, at man:

A) omsætter et 3',4'-epoxy-derivat af et amino- og hydroxylbeskyttet kanamycin B, som har den almene formel:

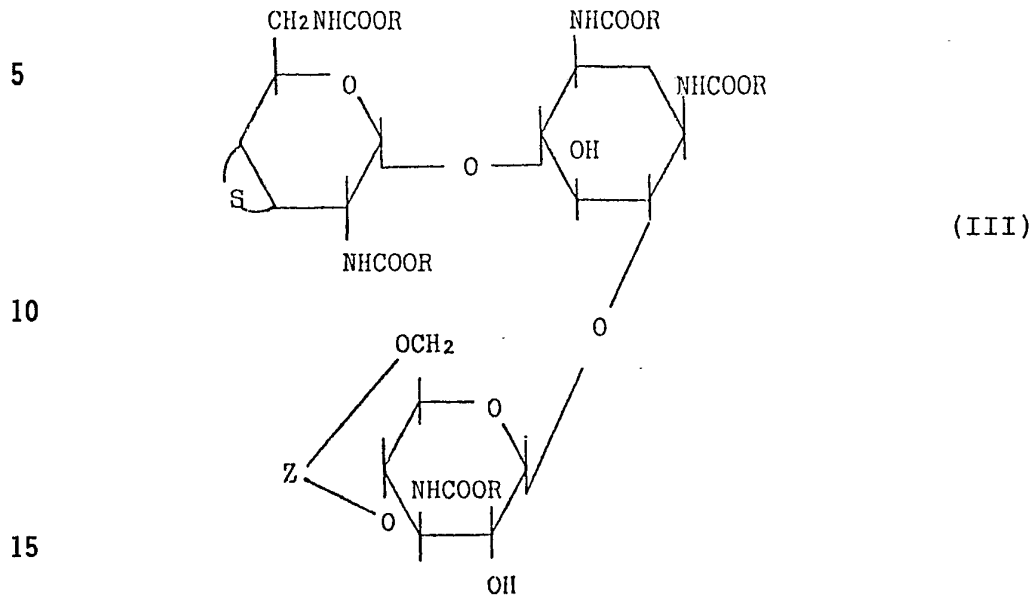


20 hvori R betegner en alkyl- eller arylgruppe, Z betegner en alkyliden-, aryliden-, cyclohexyliden- eller tetrahydropyranylidengruppe, og 3',4'-epoxygruppen er i  $\alpha$ - eller  $\beta$ -stilling, med et alkalimetaxanthat i et organisk opløsningsmiddel ved en temperatur fra 50-100°C, til dannelse

25 af et 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin-B-derivat, som har den almene formel:

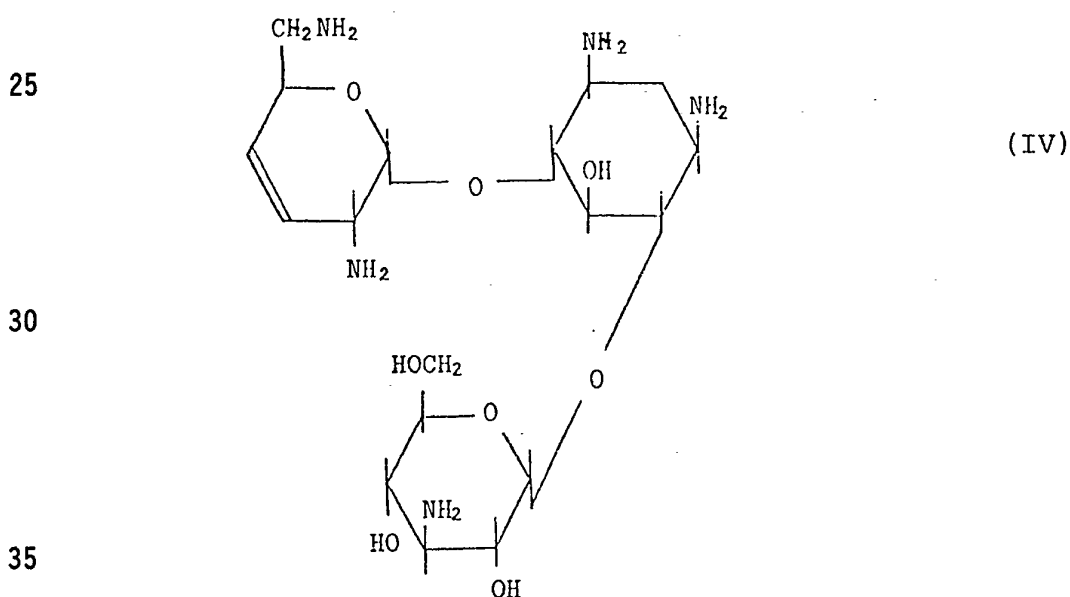


hvor  $R$  og  $Z$  har de ovenfor anførte betydninger, sammen med et 3',4'-episulfido-kanamycin B-derivat, som har den almene formel:



hvor  $R$  og  $Z$  har de ovenfor anførte betydninger, og 3',4'-episulfidgruppen er i  $\alpha$ - eller  $\beta$ -stilling; og

20 B) derefter omdanner forbindelserne med formel II og III hver for sig eller sammen ved en konventionel fremgangsmåde til dannelsen af 3',4'-dideoxy-3'-eno-kanamycin B, som har formelen:



og

C) hydrogenerer den således dannede forbindelse med formel (IV) ved en konventionel fremgangsmåde til dannelsen af 3',4'-dideoxykanamycin B;

og om ønsket omdanner den således dannede forbindelse til et syre-additionssalt deraf.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at opløsningsmidlet er en lavalkanol.

5 3. Beskyttet kanamycin B-derivat til anvendelse som udgangsmateriale ved fremgangsmåden ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at det er 3',4'- $\beta$ -epoxy-penta-N-ethoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexylidenkanamycin B.

10 4. Beskyttet kanamycin B-derivat til anvendelse som udgangsmateriale ved fremgangsmåden ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at det er 3',4'- $\beta$ -epoxy-penta-N-t-butoxycarbonyl-4",6"-0-cyclohexylidenkanamycin B.

15

20

25