



FI000090243B

**(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT**

90243

C (45) Patentti myönnetty
Patent mallelet 10 01 1991
(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07H 15/234

SUOMI-FINLAND**(FI)****Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus - Patentansökning	885489
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	25.11.88
(24) Alkuperäisyys - Löpdag	25.11.88
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	28.05.89
(44) Nähtävöksiapanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	30.09.93
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
27.11.87 IT 22783/87 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Pierrel S.p.A., Via Depretis 88, 80100 Napoli, Italia, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Mangia, Alberto, Via Maiocchi 11, 20129 Milano, Italia, (IT)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

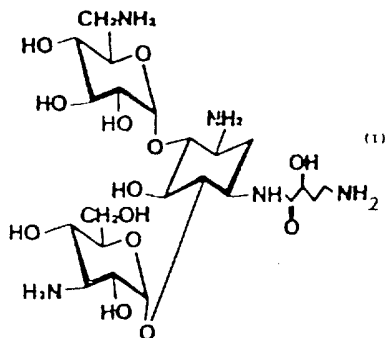
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

**Menetelmä amikasiinin valmistamiseksi
Förfarande för framställning av amikacin**

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Menetelmä amikasiinin, jolla on kaava

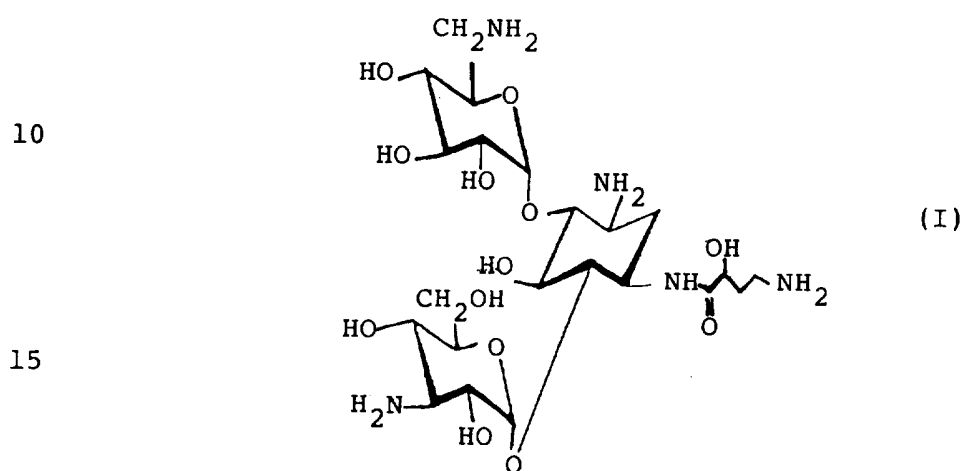


valmistamiseksi asyloimalla kanamysiini A:n disuojattu johdannainen L-(-)-4-amino-2-hydrok-
sivohapon reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa menetelmässä käytetään vettä liuottime-
na ja pH säädetään arvoon 3-10.

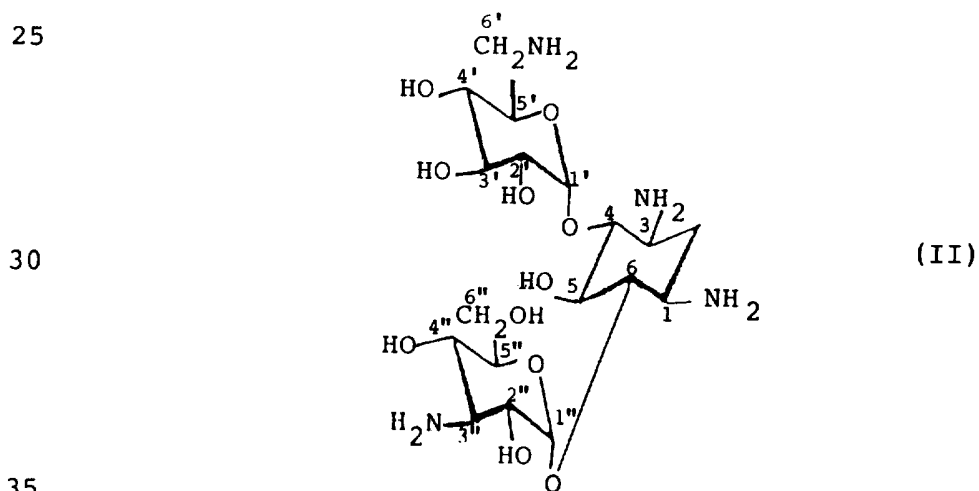
Förfarande för framställning av amikacin med formeln I, genom acylering av ett diskryddat
derivat av kanamycin A med ett reaktiivt derivat av L-(-)-4-amino-2-hydroxismörsyran, vid
vilket förfarande vatten användes såsom lösningsmedel och pH inställes på värdet 3-10.

Menetelmä amikasiinin valmistamiseksi

Amikasiini, eli 0-3-amino-3-desoksi-alfa-D-gluko-
pyranosyyli-(1 → 6)-0-[6-amino-6-desoksi-alfa-D-glykopy-
ranosyyli-(1 → 4)]-N¹-(4-amino-2-hydroksi-1-oksibutyyli)-
2-desoksi-D-streptamiini, jolla on kaava (I):



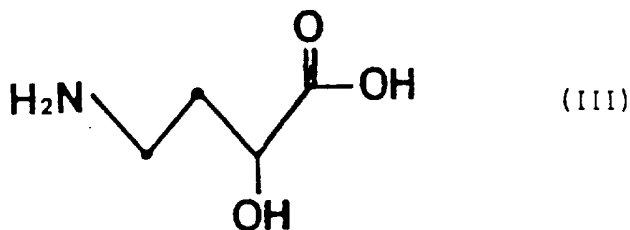
20 on puolisynteettinen antibiootti, laajasti terapiassa
käytetty, joka muodollisesti on kaavan II mukaisen kana-
mysiini A:n asylointijohdannainen



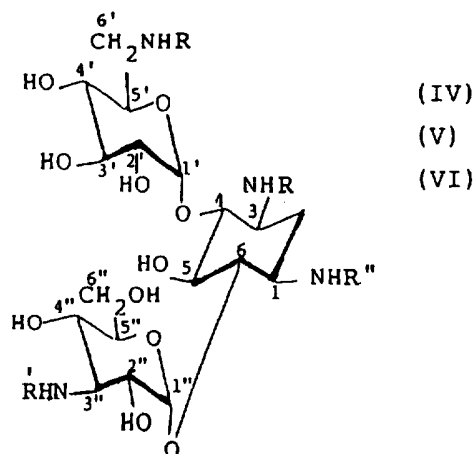
Tunnetaan joukko menetelmiä amikasiinin valmistamiseksi, ks EP-hakemus 862016631 (25. syyskuuta 1986).

Tämän keksinnön tarkoitus on 2-deoksistreptamiiniytimen 1-aseman aminoryhmän valitseva asylointi sopivalla kanamysiinin johdannaisella helpoimmalla mahdollisella tavalla, välttämättä toksisten, kalliiden ja vaikeasti käytettävien liuottimien ja lähtöaineiden käytön.

Asylointireagenssi on L-(-)-4-amino-2-hydroksivoihapon (III) (tästä lähtien L-HABA:ksi kutsuttu) johdannainen, sopivasti aktivoitu ja suojattu kirjallisuudessa tunnetun menetelmän mukaisesti:



Tämän keksinnön mukaisesti lähdetään asemiin N-6' ja N-3 bentsyylioksikarbonyyliryhmällä suojatusta johdannaisesta (LV):



(IV): R = Ph-CH₂-OCO R' = H ja R'' = H

(V): R = Ph-CH₂-OCO R' = CF₃CO ja R'' = H

(VI): R = Ph-CH₂-OCO R' = H; R'' = CO-CH(OH)-CH₂-CH₂NH-CO-OCH₂

Mainitun välituotteen on kuvaillut T.L. Nagabhushan et al., J.Am.Chem.Soc., 100 (1978) 5254; ks myös US-4136254 ja T. Tsuchiya:n et al. Tet. Lett., 4951 (1979), sekä BE-879925.

5 Jälkimmäisen patentin mukaan disuojattu välituote (IV) muutetaan vastaavaksi 3"-trifluoriasetamidoyhdisteksi (V) etyyli-trifluoriasetaatilla, ja senjälkeen asyloidaan 1-asemaan sopivasti valitun L-HABA-johdannaisen avulla.

10 Nämä kaksi erilaista suojaryhmää, trifluoriasetyyli ja bentsyylioksidikarbonyyli, poistetaan tässä järjestyksessä ammoniakilla ja vedyllä jolloin saadaan lopputuote, amikasiini.

15 Saantoja kuvataan tyydyttävänä, mutta tunnettu menetelmä ei ole teollisesti käyttökelpoinen, koska siinä käytetään etyyli-trifluoriasetaattia, toksista ja kallista lähtöainetta, ja dimetyylisulfoksidia, kallista ja vaikeasti poistettavaa liuotinta (johtuen sen korkeasta kiehumispisteestä). Lisäksi sivutuotteiden hävittämiseen
20 liittyy huomattavia lisäkustannuksia.

Tämän keksinnön päätarkoitus on aikaansaada sellainen menetelmä, jolla ei ole edellä mainittuja ongelmia ja haittoja.

25 Tämän keksinnön mukaisen menetelmän päätunnusmerkkeinä on, että disuojatun välituotteen (IV) asylointi suoritetaan käyttäen liuottimena yksinomaan vettä.

Toinen tunnusmerkki on, että välituote (IV) asyloidaan suoraan tuottamaan triasyloidun välituotteen (VI), jolloin säädetään reaktion pH:ta, joka on päävastuussa
30 asyloinnin selektiivisyydestä asemien 1 ja 3" aminoryhmien välillä.

Aikaansaatu asyloinnin selektiivisyys on erikoinen ja uusi tulos, jota ei voitu ennakoida kirjallisuudessa raportoidun pohjalta.

35 Niinpä J.J. Wright et al. julkaisussa J. Antibiotics, 29 (1976) 714 esittävät, että selektiivisyys riip-

puu pH:sta, ja että se muuttuu dramaattisesti kun valitaan reaktio-olosuhteet, joissa antibioottiyhdisteen aminoryhmät ovat täysin protonoituneet. Tämän julkaisun mukaan useiden aminoglukosidien N-asyloidut johdannaiset

5 (sisomysiini, verdamysiini, gentamysiini C_{1a}) voidaan saada saannoilla, jotka ovat aina huonommat kuin 30 %.

Lisäksi mainitussa julkaisussa on esitetty, että "huono selektiivisyys on havaittu asyloitaessa suuresti hydroksyloituja antibiootteja, sellaisia kuten genta-

10 mysiini B ja kanamysiini".

Näin ollen esillä olevan keksinnön mukainen, kanamysiinin diasyloidun johdannaisten N-l-aseman selektiivinen asylointi reaktion pH:n funktiona, on odottamaton ja uusi.

15 Joidenkin yllä mainittujen kirjoittajien patentissa US-4136254, esimerkissä 23a on mainittu saman välituotteen (IV) suora asylointi tetrahydrofuraanin ja veden homogeenisessa liuoksessa (50 % til/til) aktiivisella esterillä N-bentsyylioksikarbonyyli-L-HABA:n dimetyyli-

20 formamidiin liuotetun N-hydroksisukkinimidin kanssa. Toimintaolosuhteet ovat kuitenkin erilaiset verrattuna tämän keksinnön olosuhteisiin, koska US-patentin mukainen reaktio suoritetaan homogeenisessa faasissa, lähtöaineiden ollessa täysin liuenneina, kun taas esillä olevassa me-

25 netelmässä reaktio suoritetaan heterogeenisessä faasissa (heterogeenisen faasin tarkoittaessa toisiinsa sekoittumattomien liuotinten seosta tai toisiinsa sekoittumattomien liuotinten ja kolmannen kiinteän faasin seosta) ilman kalliiden liuotinten käyttöä, sellaista kuin tetrahydrofuraanin ja dimetyyliformamidin.

30

Erityisemmin, tämän keksinnön mukaisen menetelmän mukaisesti 6'- ja 3-asemiin suojattu kanamysiini A saatetaan reagoimaan sopivasti valitun L-HABA-hapon reaktiivisen johdannaisten kanssa heterogeenisessä reaktio-

35 väliaineessa ja kontrolloidussa pH:ssa.

Reaktiotuotteen (VI) suojaryhmät poistetaan sinänsä tunnetulla tavalla, ja saatu raakatuote puhdistetaan kromatografisesti, jolloin saadaan amikasiinia optimisaannoilla.

5 Lähtöaineena voidaan käyttää mitä hyvänsä kanamysiini A:n johdannaista, jossa 6- ja 3-asemien aminoryhmät on suojattu korvaamalla vetyatomi asyyyliryhmällä (kuten bentsyylioksikarbonyyli-, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli- tai p-metoksibentsyylioksikarbonyyliryhmällä, 10 alkoksikarbonyyliryhmällä (kuten t-butoksikarbonyyli- tai t-amyloksikarbonyyliryhmällä, ftaloyyliryhmällä, halogeenialkyylikarbonyyliryhmällä (kuten trifluoriasetyyli- tai klooriasetyyliryhmällä) tai muilla soveltuvilla suojaryhmillä. Edullisimmat suojaryhmät ovat bentsyylioksikarbonyyli- ja substituoitu bentsyylioksikarbonyyliryhmät, 15 jotka ovat helposti poistettavissa reaktion lopussa katalyyttisellä pelkistyksellä.

Käytetyt lähtöaineet voidaan valmistaa siten kuin julkaisuissa BE-855704 tai CA-1131628 on kuvattu.

20 Suojattu välituote suspendoidaan veteen ennaltamäärätyssä pH:ssa, joka on välillä 3 ja 10, parhaiden tulosten ollessa tavoitettavissa välillä 4,5 ja 6,5, ja asyloidaan selektiivisesti 1-asemaan lisäämällä valittu reaktiivinen L-HABA-hapon johdannainen, joka on liuotettu 25 aproottiseen ja veteen niukkaliukoiseen liuottimeen.

Orgaanisten liuottimien joukossa, joita voidaan sopivasti käyttää, ovat alifaattiset hiilivedyt ja halogenoidut yhdisteet, kuten metyleenikloridi, kloroformi ja 1,2-dikloorietaani.

30 Reaktio suoritetaan lämpötilassa välillä 0°C ja 60°C muutaman tunnin ajan sekoittaen.

Kun reaktio on päättynyt, orgaaninen liuotin haihdutetaan ja suojaryhmät 3- ja 6'-asemissa poistetaan tavanomaisten menetelmien mukaisesti.

35 Esimerkiksi kun keksinnön edullisen suoritusmuodon mukaisesti suojaryhmät ovat karbobentsyylioksikarbonyyli-

ryhmiä, jotka saattavat olla substituoituja, ne poistetaan standardi-katalyyttisellä hydrogenolyysillä (platina-, palladium-, palladiumoksidi-, tai platinaoksidikatalyytti); kun suojaryhminä on ftaloyyliryhmiä, ne poistetaan helposti hydratsiinilla, ja jopa t-butoksikarbonyylisuojaryhmät voidaan helposti poistaa muurahaishapolla.

Täten saatu raakatuote puhdistetaan sitten kromatograafisesti sinänsä tunnetulla tavalla.

10 Tämän keksinnön mukainen asylointi 3,6'-di-N-suojattuun kanamysiini A:han kontrolloidun pH:n olosuhteissa ja heterogeenisessä faasissa on yllättävän selektiivinen; muodostuu pääasiallisesti amikasiinia, eikä BB-Kll eikä myöskään kaksoisasyloinnista N-1- ja N-3"-asemiin johtuvia sivutuotteita. Edelleen on hyvin merkittävä se tosiseikka, että käsilläolevan menetelmän mukaisesti lopputuotteessa saattaa olla läsnä, mahdollisina piilevinä epäpuhtauksina, ainoastaan BB-Kll ja N-1- ja N-3"-asemissa diasyloitua tuotetta, joiden toksisuus on alhaisempi kuin 15 BB-K29:ksi kutsutun tuotteen, joka on pääasiallinen epäpuhtaus valmistettaessa amikasiinia tunnettujen synteesi-
20 menetelmien mukaisesti.

Tämän keksinnön mukaisen menetelmän etuna on korkean saannon ja tuotteen puhtauden lisäksi erityisesti 25 turvallisuus, teollisuushygienian katsantokannalta, koska käytetään lähes vaarattomia lähtöaineita ja liuottimia, ja menetelmä on yksinkertainen, koska mitään välituotteita ei tarvitse eristää.

Keksinnön mukaisesti valmistettu reaktiotuote (VI) 30 on sen kemiallisten ja fysikaalisten ominaisuuksien kannalta uusi, eikä sitä ole kuvailtu aikaisemmin, vaikka se on julkaisussa US-4136254 mainittu reaktiotuote, ja myös eristetty eristämättömänä välituotteena edellä mainitussa Tsuchiya'n artikkelissa.

35 Sensijaan, että suoraan suoritettaisiin välituotteen (VI) aminoryhmissä olevien kolmen suojaryhmän poisto,

tämä välituote voidaan saostaa puhdistusasteen parantamiseksi, ja sen jälkeen suorittaa synteesi jolloin muodostuu vielä pienempi sivutuotemäärä.

- Tämän tärkeän välituotteen (III) analyysitulokset ovat seuraavat:
- kokonaistyyppi Kjeldahlin mukaan: 7,16 % (teoreettinen 7,09 laskettuna molekyylipainosta 988-03),
 - potentiometrinen arvo 0,1 N HClO₄llä: 96 % teoreettisesta;
 - vapaa happo (ilmoitettumuuraishappona): 0,5 %
 - vapaa ammoniakki: ei läsnä.

Mainittu välituote tutkittiin myös kromatografisesti TLC ja HPLC.

Ohutlevykromatografiset tutkimukset ja niiden tulokset

- Käytettiin Merck-silikageelilevyjä (analyyttistä laatua) ja eluenttina seosta, jossa oli 125 osaa (tilavuus) kloroformia, 60 osaa metanolia, 5 osaa etikkahappoa ja 10 osaa vettä. Kromatografiakammio oli esikyllästetty ja ajon jälkeen se kuivattiin kuumassa ilmavirrassa.
- Näköhavainnointi suoritettiin kloorivetyhapon etanoli-liuoksella, (10 % til/til), kammio kuivattiin jälleen kuumassa ilmavirrassa ja suihkutettiin ninhydridiinillä. Lopuksi sitä pidettiin 5 minuutin ajan uunissa 105°C:ssa.

- Täplät, jotka liittyivät mahdollisiin sivutuotteisiin, jotka olivat kanamysiinin tetra-asylaatteja (joissa 4 aminoryhmää on suojattu valikoiduilla suojaryhmillä) ja kanamysiinin triasylaatteja (jossa kolmas suojaryhmä on substituoitu N-1:ssa tai N-3":ssa, ja kaksi ryhmää N-3:ssa ja N-6':ssa) ovat tavallisesti vähemmän kuin 2 % standardinäytteeseen verraten.

Nestekromatografiset tutkimukset ja niiden tulokset

- Kolonni: RB-8,5,um; 250 mm x 4,6 mm (Brownlee Labs)
Eluentti: A) Puskuriliuos KH₂PO₄ pH 2,5 (1,36 g KH₂PO₄:ää liuotettu 1 litraan vettä, saatettu haluttuun pH:hon 5 %

fosforihapolla, suodatettu 0,45 μ m suodattimella).

B) asetonitriili-puskuriliuosseos, pH 2,5 (80/20 til/til), virtausmäärä: 2 ml/minuutti.

Gradientti: 15 %:sta B:tä 90 %:iin B:tä 15 minuutissa.

5 Lämpötila: 30°C

Havainnointi: UV/350 nm

Derivointiliuos: 2,4,6-trinitrobentseenisulfonihappo vesi-pyridiinissä (50/50).

Tulos on esitetty kuvassa 1.

10 Kuvassa 2 on esitetty IR-spektri (KBr).

Keksinnön mukaisessa menetelmässä ei muodostu amikasiinin isomeerista tuotetta (BB-K29), joka on amikasiinia toksisempi aine.

15 Mahdollisesti esiintyvät epäpuhtaudet saattavat olla ainoastaan BB-K11 ja kaksoisasyloinnista N-1:een ja N-3":n johtuva tuote.

Farmakologiset kokeet ja niiden tulokset

20 Suoritettiin farmakologisia kokeita (kuolleisuusaste, toksisuus ja siedettävyyys käyttäen vertailuaineina kaupan olevan Bristol Myers'n tuotetta (BB-K8). Uuden amikasiinin lisäksi tutkittiin sen sisältämiä puhtauksia (BB-K11, BB-K29 ja diasylaatti, jolla on L-HABA N-1:ssä ja N-3":ssa). Koe-eläminä käytettiin hiiriä, ja aineet annettiin laskimonsisäisesti (häntälaskimo). Koe-ryhmä 25 käsitti 10 eläintä. LD₅₀-arvot on laskettu Finney-Probits'n menetelmällä; tulokset on esitetty taulukossa I.

Taulukko 1

	LD ₅₀ (mg/kg)	5 % luotettavuus- rajat
30 BB-K8 (Bristol Myers)	202,3	(170-228)
Amikasiini	241	(241-271)
BB-K29	126	(119-134)
BB-K11	356	(264-480)
Diasylaatti (N-1 ja N-3")	268	(247-290)

35 Ylläolevat arvot osoittavat keksinnön mukaisen synteesi-menetelmän kiistattoman ylivoimaisuuden, koska saadaan lopputuotteet, joissa mahdolliset epäpuhtaudet, vaikka-

kin ne ovat läsnä hyvin pienissä määrissä lopputuotteissa, ovat kuitenkin paljon vähemmän toksisia kuin BB-K29, joka saattaa olla läsnä valmistettaessa amikasiinia tunnetuilla menetelmillä.

5 Seuraavat esimerkit valaisevat keksintöä.

Esimerkki 1

53,4 g välituotetta (IV) suspendoitiin 1000 ml:aan vettä ja liuotetaan lisäämällä 38,5 ml etikkahappoa; sekoitettiin 30 minuuttia huoneenlämpötilassa, jonka
10 jälkeen säädettiin 30 % NaOH:lla 6:een (noin 52 ml).

Annettiin seoksen seistä 30 minuuttiin huoneenlämpötilassa, jonka jälkeen lisättiin 34,9 g N-bentsyylioksikarbonyyli-L-HABA-N-hydroksisukkinimidiä 1442 ml:ssa metyleenikloridia yhdellä kertaa.

15 Seosta pidettiin sitten voimakkaasti sekoittaen huoneenlämpötilassa yhden yön yli, sitten orgaaninen liuotin haihdutettiin eroon alle 40°C lämpötilassa, ja pH säädettiin etikkahapolla arvoon 4,2.

Kolmen bentsyylioksikarbonyylisuojarahmian poisto
20 suoritettiin vakiomenetelmällä, lisäämällä ensin liuokseen 50 g 2,5 % Pd/C:tä ja lisäämällä sen jälkeen ti-poittain huoneenlämpötilassa 50 ml muurahaishappoa. Suodatettiin dekaliitilla ja pestiin suodatin vedellä, jolloin saatiin yhteensä 1900 ml suodosta, jolla oli seuraava koostumus:

25 Amikasiini	11,52 g/l
Kanamysiini A	2 "
BB-K11	0,25 "
di(HABA) KANA	1,3 "

30 Tämä vastaa amikasiinin 65 %:n stökiometrasta saattoa laskettuna diasylaattista (IV).

Liuoksen pH säädettiin arvoon 7,5 ja se johdettiin kolonniin, jossa oli heikosti hapanta ioninvaihtohartsia, tyyppi Zerolit valmistaa ROHM & HAAS.

35 Eluoitiin lineaarisella gradientilla (ammoniakki) 0,5 N:stä 1,5 N:ään, jolloin ulos tulee ensimmäisenä kanamysiini, ja sitten kasiini.

Fraktiot 300-350 kerattiin talteen ja konsentroitiin vakuuissa kaiken ammoniakkin haihduttamiseksi; saadun amikasiiniliuoksen pitoisuus oli 20 %.

5 Liuos tehtiin happameksi (pH 2,5) laimealla rikkihapolla (50 % p/t H_2SO_4) ja suoritettiin hiilikäsittely. Sekoitettiin 30 minuuttia huoneenlämpötilassa, hiili suodatettiin eroon ja jäännös pestiin ja saadusta liuoksesta amikasiinidisulfaatti saostettiin metanolilla.

10 Sekoitettiin kaksin tuntia huoneenlämpötilassa, saatu valkoinen kiintoaines suodatettiin eroon, pestiin ja kuivattiin vakuuissa $45^{\circ}C$:ssa 16 tunnin ajan, jolloin saatiin 33,3 g tuotetta, jonka amikasiinipitoisuus oli 68 % HPLC:llä määritettynä (mikrobiologinen tiitteri 690/ug/mg; tuotteen tunnusarvotvastasivat amikasiinisulfaatin arvoja.

Esimerkki 2

50 g 3,6'-di-N-bentsyylioksikarbonyylikanamysiini A:ta (IV), jonka puhtaus HPLC-analyysin mukaan oli 89,5 % (69,3 mmoolia), ja joka sisälsi 3,3 % vettä, ja
20 jonka pääasiallinen epäpuhtaus oli 1,3,6'-tri-N-bentsyylioksikarbonyylikanamysiini A, suspendoitiin 1500 ml:n deionisoitua vettä. Sekoitettiin 30 minuuttia ja säädettiin pH arvoon $6 \pm 0,2$ jäädetikalla. Muodostuneeseen liuokseen lisättiin L-(-)-gamma-bentsyylioksikarbonyyli-
25 amino-alfa-hydroksivoihapon N-hydroksisukkinimidin aktiivista esterää huoneenlämpötilassa (25 g oli 80,6 mmoolia, 1000 ml:ssa metyleenikloridia).

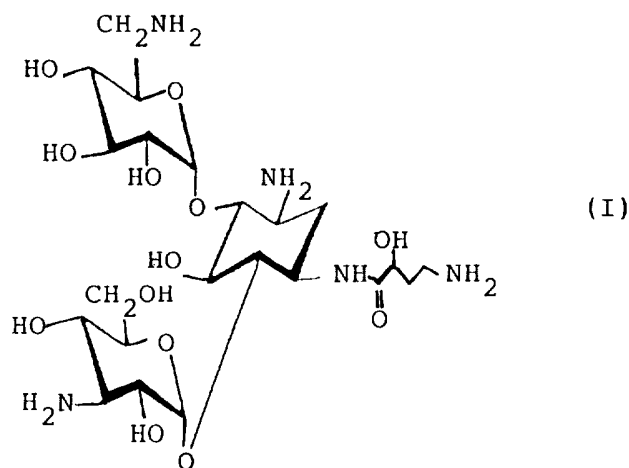
Sekoitettiin voimakkaasti noin kahden tunnin ajan ja tämän jälkeen sekoitettiin vielä koko yön ajan.
30 Orgaaninen faasi erotettiin, ja sen pH säädettiin arvoon 10 3N NH_3 -liuoksen avulla.

Näin muodostunut valkoinen sakka suodatettiin eroon Büchner-suppilolla alipaineessa, ja pestiin vedellä. Hieno, kiteinen kiinteä aine kuivattiin tyhjössä $30^{\circ}C$:ssa noin
35 30 tunnin ajan.

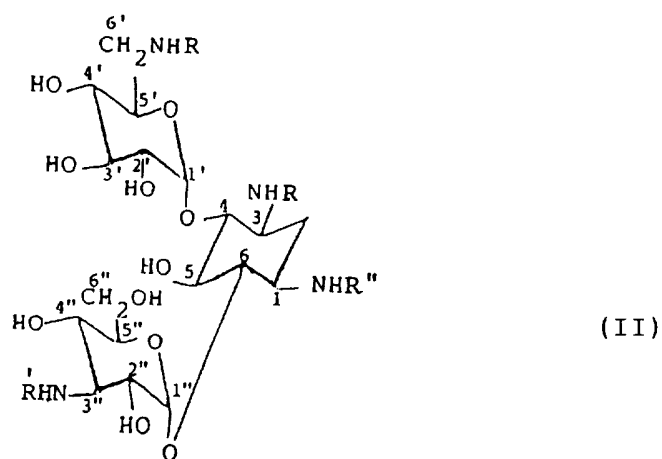
Saatiin 30,9 g tuotetta, jonka 3,6'-di-N-bentsyylioksikarbonyyli-1-N-L-(-)-gamma-bentsyylioksikarbonyyliamino-alfa-hydroksibutyryyli-kanamysiini A (VI) pitoisuus oli 70 % (HPLC). Lisäksi tuote sisälsi lähtö-
5 ainediasylaattia (IV) <1 %, ja triasylaattia (N-1, N-3 ja N-6' bentsyylioksikarbonyyliä) 2 %; kuivaustappiot olivat 4,5 % (3 tuntia, 105°C), rikkipitoista tuhkaa; saatiin 0,15 %.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä amikasiinin valmistamiseksi, jolla on
kaava



asyloimalla kanamysiini A:n disuojattua johdannaista, jolla on kaava



L-(-)-4-amino-2-hydroksivoihapon (L-HAPA) johdannaisella, ja poistamalla suojaryhmät sinänsä tunnetulla tavalla, t u n n e t t u siitä, että mainittu kanamysiini A:n disuojattu johdannainen suspendoidaan veteen, liuoksen pH säädetään arvoon 3 - 10 ja mainittu asylointi suoritetaan mainitulla reaktiivisella L-HABA:n johdannaisella, joka on

liuotettu veteen niukkaliukoiseen aproottiseen liuottimeen, reaktiolämpötilan ollessa 0 - 60 °C.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että pH on 4,5 - 6,5.

5 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu kanamysiini A:n disuojattu johdannainen on suojattu 6'- ja 3-asemiin asyyliiryhmillä, nimittäin bentsyylioksikarbonyyli-, substituoitu bentsyylioksikarbonyyli-, alkoksikarbonyyli-, ftaloyyli- tai
10 halogeenialkyylikarbonyyliryhmillä.

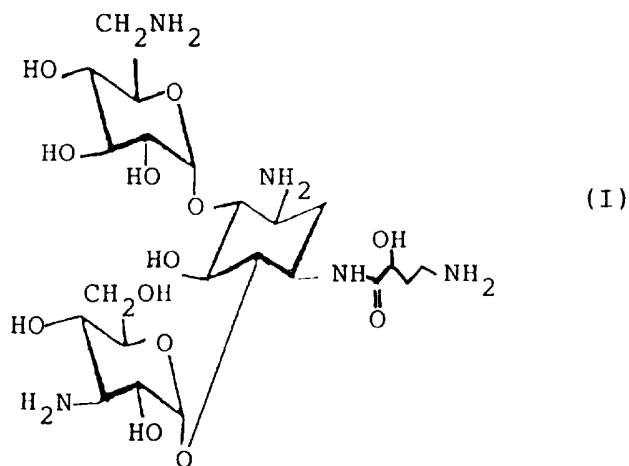
4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että asyyliisuojarahma on bentsyylioksikarbonyyli, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli tai p-metoksibentsyylioksikarbonyyli.

15 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu aproottinen liuotin on alifaattinen hiilivety tai halogenoitu alifaattinen hiilivety.

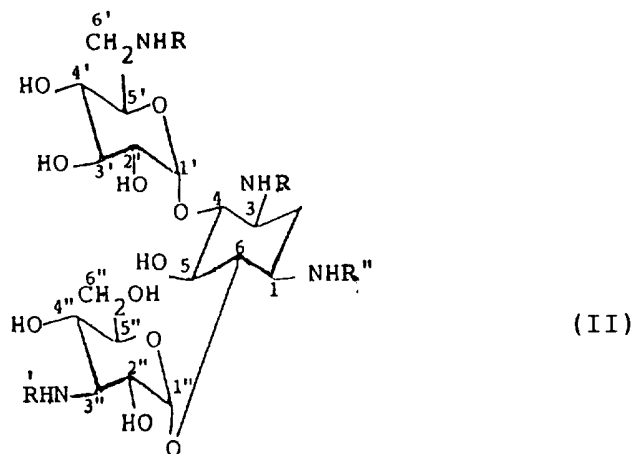
20 6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että aproottinen liuotin on metyleenikloridi, kloroformi tai 1,2-dikloorietaani.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av amikacin med formeln



genom acylering av ett disktyddat derivat av kanamycin A med formeln



med ett derivat av L-(-)-4-amino-2-hydroxismörsyra (L-HABA), och genom avlägsning av skyddsgrupper på i och för sig känt sätt, k ä n n e t e c k n a t därav, att det nämnda disktyddade derivatet av kanamycin A suspenderas i vatten, lösningens pH regleras till ett värde av 3 - 10 och nämnda acylering utföres medelst det nämnda reaktiva derivatet av L-HABA, vilket upplösts i ett aprotiskt lösningsmedel som är svårlösligt i vatten, medan reaktions-

30

35

temperaturen är 0 - 60 °C.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att pH är 4,5 - 6,5.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att det nämnda diskyddade derivatet
5 av kanamycin A är skyddat i 6'- och 3-positioner med acyl-
grupper, nämligen bensyloxikarbonyl-, substituerad bensyl-
oxikarbonyl-, alkoxikarbonyl-, ftaloyl- eller halogenal-
kylkarbonylgrupper.

4. Förfarande enligt patentkravet 3, k ä n n e -
10 t e c k n a t därav, att acylskyddsgruppen är bensyloxi-
karbonyl, p-nitrobensyloxikarbonyl och p-metoxibensyloxi-
karbonyl.

5. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att det nämnda aprotiska lösnings-
15 medlet är ett alifatiskt kolväte eller ett halogenerat
alifatiskt kolväte.

6. Förfarande enligt patentkravet 5, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att det aprotiska lösningsmedlet är
metylenklorid, kloroform eller 1,2-diklorethan.

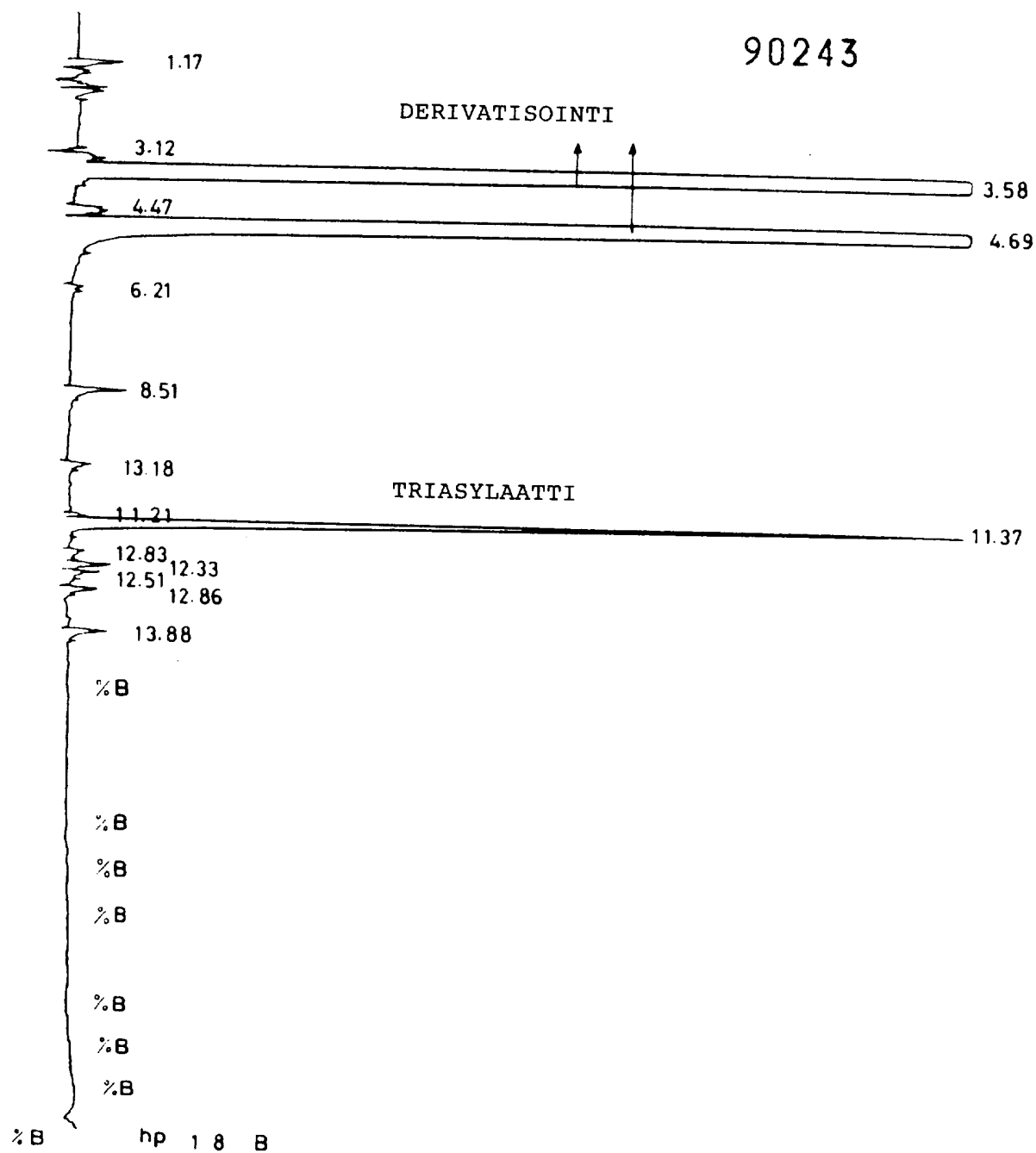


Fig.1

90243

