



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

# UTBM

<b>DOMANDA NUMERO</b>	<b>101981900000467</b>
<b>Data Deposito</b>	<b>25/02/1981</b>
<b>Data Pubblicazione</b>	<b>25/08/1982</b>

<b>Priorità</b>	21666/80
<b>Nazione Priorità</b>	JP
<b>Data Deposito Priorità</b>	25-FEB-80

Titolo

**UN NUOVO DERIVATO DELLA KANAMICINA A E SUO PROCEDIMENTO DI PREPARAZIONE**

**DOCUMENTAZIONE**  
**RILEGATA**

Traduzione del documento estero di priorità relativo  
alla domanda di Brevetto di Invenzione Industriale di  
ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI, di nazio-  
nalità giapponese, a SHINAGAWA-KU, TOKYO (Giappone);  
depositata il 25 Febbraio 1981, N° Prot. 9345 A/81

## UFFICIO BREVETTI

GOVERNO GIAPPONESE

Ciò è per certificare che la copia annessa è una  
copia autentica della seguente domanda come deposita-  
ta presso questo Ufficio.

Data della domanda: 25 Febbraio 1980  
Numero della domanda: Domanda di Brevetto N. 21666/80  
Richiedente: Z Aidan HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU  
KENKYU KAI  
24 Febbraio 1981 Direttore Generale  
Ufficio Brevetti  
Haruki SHIMADA  
Certificato N° 002663/81

Yen 5.400

Domanda di Brevetto (Domanda di Brevet  
to depositata a nor  
ma della clausola  
dell'art.38 della  
Legge sui Brevetti)

25 Febbraio 1980

Direttore Generale

Ufficio Brevetti

1. Titolo dell'Invenzione:

Un derivato della kanamicina A e un procedimento  
per la preparazione di essa

2. Numero delle rivendicazioni 2

3. Inventori:

Indirizzo: 23, Toyotama Kita 4-chome, Nerima-ku,  
Tokyo

Nome: Hamao UMEZAWA ed altri quattro

4. Richiedente:

Indirizzo: 14-23, Kami Osaki 3-chome, Shinagawa-ku,  
Tokyo

Nome: ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI

Rappresentante: Tokuji ICHIKAWA

5. Agenti:

Indirizzo: (〒 105) Bussan Building Bekkan, N°1-15,  
Nishi-Shimbashi 1-chome, Minato-ku, Tokyo  
Tel. (591)0261

Nome: (6145) Tadao ASAUCHI ed altri tre

6. Annessi

(1) Descrizione	1 copia	
(2) <del>Disegni</del> -----	<del>1 copia</del>	Questa linea cancellata
(3) Procura da deposita re in un secondo tempo	1 copia	
(4) Duplicato dei documen ti della domanda	1 copia	

7. Altri inventori ed agenti:

(1) Inventori:

Indirizzo: 1, Banshu-cho, Shinjuku-ku, Tokyo

Nome: Sumio UMEZAWA

Indirizzo: 13, Ichigaya-Tamachi 1-chome, Shinjuku-ku, Tokyo

Nome: Shunzo FUKATSU

Indirizzo: 610, Kandaiji-cho, Kanagawa-ku, Yokohamashi,  
Kanagawa-ken

Nome: Toshio YONETA

Indirizzo: 2602-53, Kamariya-cho, Kanazawa-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa-ken

Nome: Tadashi WAKAZAWA

(2) Agenti:

Indirizzo: Bussan Building Bekkan, N°1-15, Nishi-Shimbashi  
1-chome, Minato-ku, Tokyo

Nome: Shigeru YAGITA

Indirizzo: lo stesso

Nome: Takao HAMANO

Indirizzo: lo stesso

Nome: Tetsuji MORITA

DESCRIZIONE

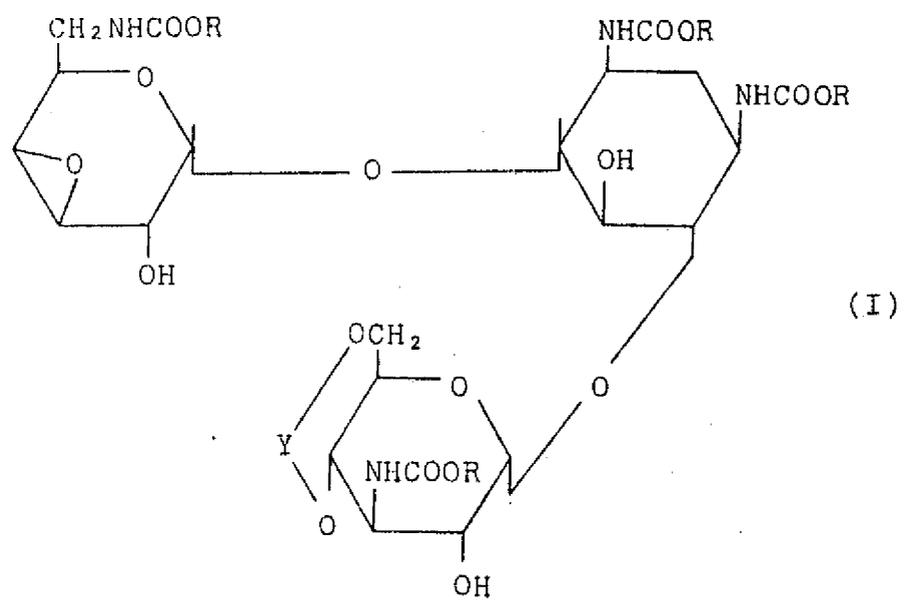
1. Titolo dell'Invenzione:

Un derivato della kanamicina A ed un procedimento per la sua preparazione

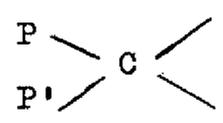
2. Ambito delle rivendicazioni:

1) 3',4'-anidro-4'-epi derivati della kanamicina

A della formula:

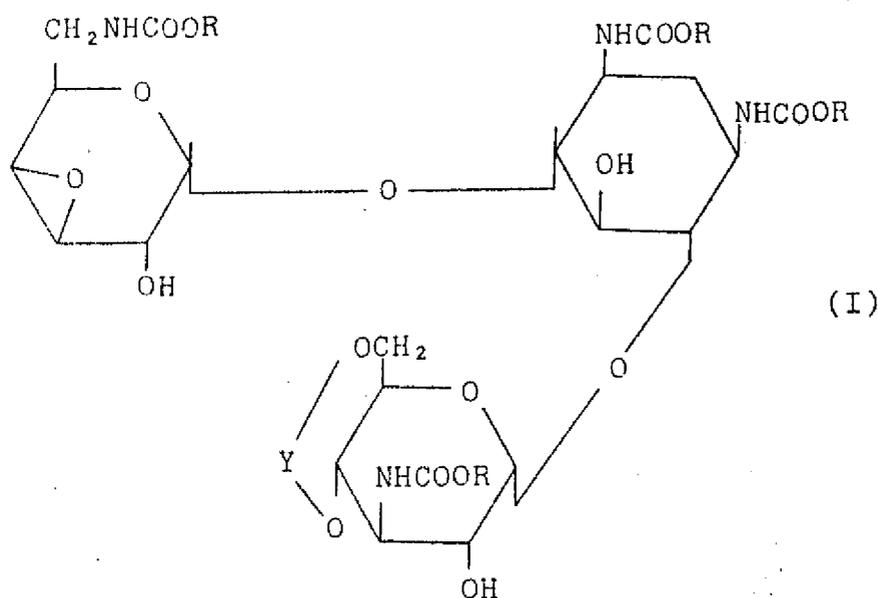


in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile od arile ed Y rappresenta un gruppo alchilidene o aralchilidene della formula

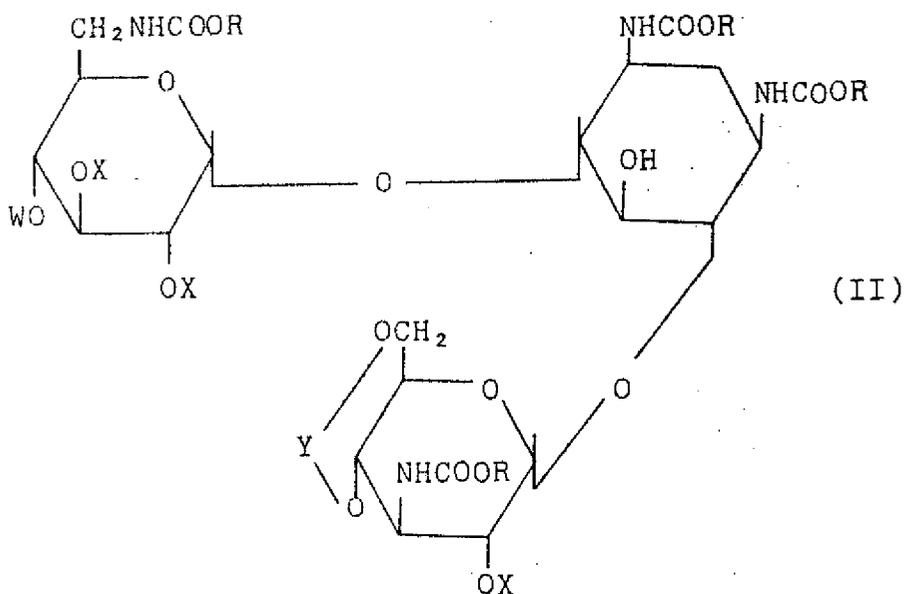


in cui P e P' rappresentano ciascuno un atomo di idrogeno o un gruppo alchile o arile ed Y rappresenta un gruppo cicloalchilidene o tetraidropiranilidene.

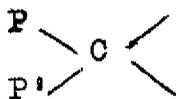
2) Un procedimento per la preparazione di 3',4'-anidro-4'-epi derivati della kanamicina A della formula:



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come definiti sotto, che comprende il trattamento di un 4'-O-solfonil derivato della kanamicina A della formula:



in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile, W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile, X rappresenta un gruppo alcanole o aroile ed Y rappresenta un gruppo alchilidene o aralchilidene della formula

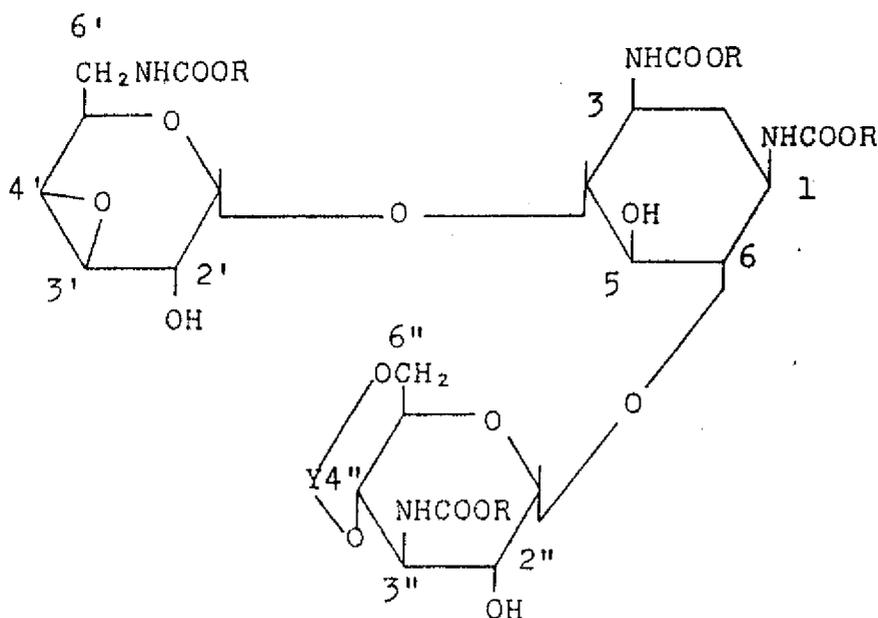


in cui P e P' rappresentano ciascuno un atomo di idrogeno o un gruppo alchile od arile od Y rappresenta un gruppo cicloesilidene o tetraidropiraniidene, in un alcanolo inferiore in condizione alcalina per formare così un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A della formula (I) di cui sopra.

3. Esposizione dettagliata dell'invenzione:

Questa invenzione riguarda un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A e la sua sintesi dalla kanamicina A, il quale è un utile prodotto intermedio per la sintesi di deossi derivati della kanamicina A che sono attivi contro una varietà di ceppi di batteri resistenti alla kanamicina A.

Secondo il primo aspetto di questa invenzione, viene fornito come un nuovo composto intermedio un 3'-4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A della formula

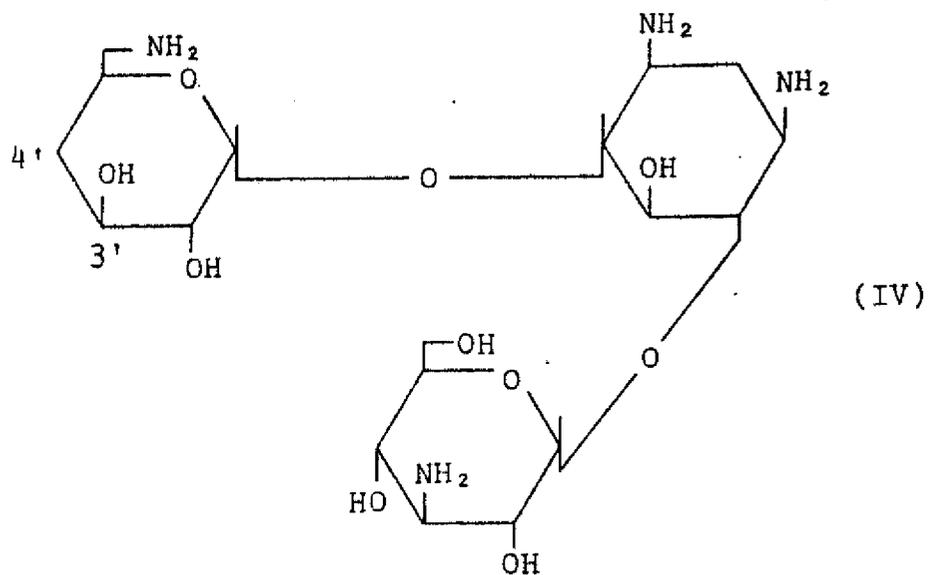
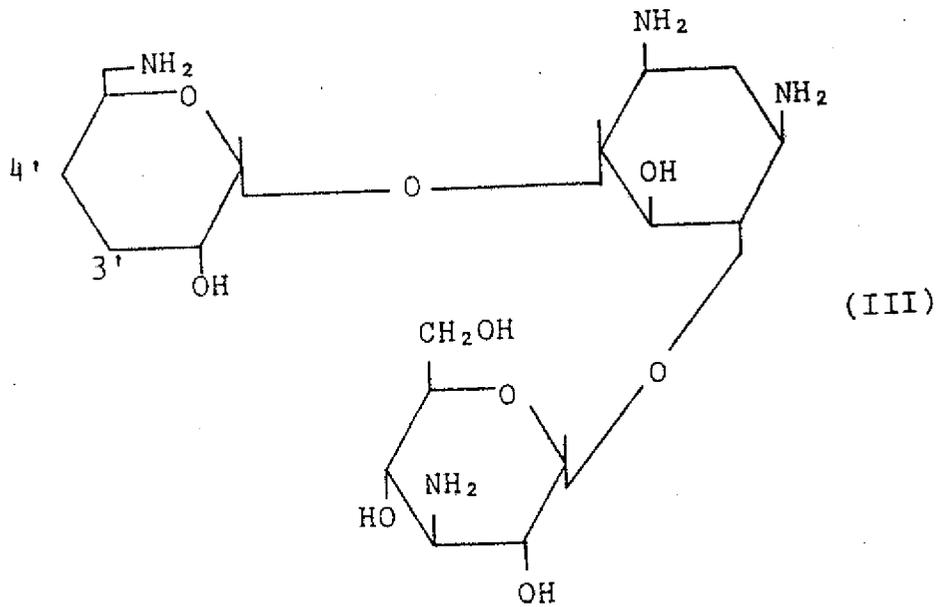


in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o

arile ed Y rappresenta un gruppo alchilidene o aralchilidene della formula  $\begin{array}{c} P \diagdown \\ C \\ P' \diagup \end{array}$  in cui P e P' rappresentano ciascuno un atomo di idrogeno o un gruppo alchile o arile od Y rappresenta un gruppo sililalchilidene o tetraidropiranilidene. Nei composti della surriportata formula (I), il gruppo -COOR è un gruppo ammino-protettivo noto di tipo uretano, in cui R è preferibilmente un alchile di 1-6 atomi di carbonio, benzile, fenile o un fenile sostituito come nitrofenile. Il gruppo Y può essere un gruppo bivalente idrosil-protettivo noto e preferibilmente ha un gruppo alchile di 1-6 atomi di carbonio come uno od entrambi di P e P' o ha un gruppo fenile come P o P'. Esempi preferiti di gruppo alchilidene come Y sono formilidene, etilidene, isopropilidene, ecc., un esempio preferito di gruppo aralchilidene come Y è benzilidene ed esempi preferiti di gruppo cicloalchilidene come Y sono ciclopentilidene, cicloesilidene, ecc. Y può anche essere un gruppo tetraidropiranilidene.

I composti della formula (I) sono prodotti intermedi utili per la preparazione della 3'-4'-dideossikamicina A della formula (III) o della 4'-deossikamicina A della formula (IV), in quanto essi sono facilmente convertibili nel composto della formula (III) o (IV) mediante l'apertura dell'anello 3',4'-epossido con

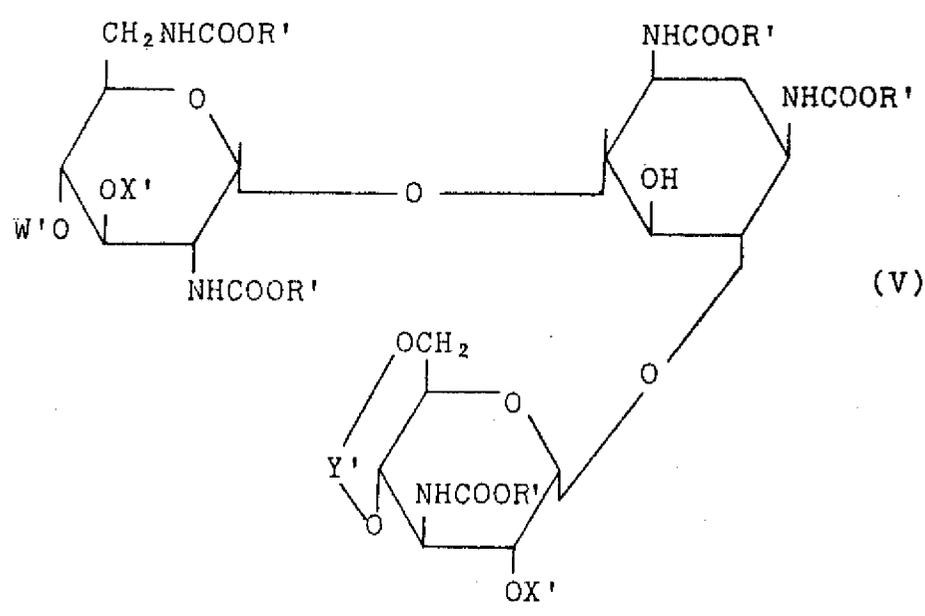
un reagente adatto cui fa seguito la rimozione dei gruppi protettivi.



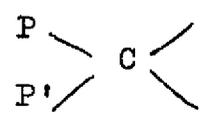
La 3',4'-dideossikanamicina A della formula (III), che è stata preparata la prima volta semi-sinteticamente dalla kanamicina A dalla Umezawa et al. (domanda di Brevetto giapponese N. 11402/79 depositata dal richiedente di questa domanda), e la 4'-deossikanamicina A della formula (IV), che è stata preparata la prima volta semi-sinteticamente dalla kanamicina A dalla Naito et al. (domanda di Brevetto giapponese N. 144965/74, Brevetto giapponese KOKAI N. 93944/75), sono note per il fatto di esplicitare una attività antibatterica notevolmente migliorata contro organismi resistenti alla kanamicina, come confrontato con kanamicina A. Comunque, entrambi i metodi menzionati sopra richiedono molte fasi prima della fase di deossigenazione per ottenere derivati opportunamente protetti della kanamicina A che possiedono soltanto il gruppo oggettivo idrossile libero. In entrambi i metodi descritti nella domanda di Brevetto giapponese N. 144965/75 e nella domanda di Brevetto giapponese N. 11402/79, per ottenere i derivati della kanamicina A protetti contenenti il gruppo 4'-idrossile libero, era necessario accettare complicate fasi preparatorie. Così, il gruppo 6'-ammino della kanamicina A veniva protetto con un gruppo ammino-protettivo ed i rimanenti gruppi ammino venivano protetti con un altro gruppo protettivo. Dopo la formazione del carban

mato 4',6'-O,N-ciclico con una base, i gruppi idrossi-  
le che non devono essere rimossi venivano protetti con  
un gruppo idrossil-protettivo. Dopo la successiva aper-  
tura di anello del carbammato, il gruppo 6'-ammino ve-  
niva di nuovo protetto con un gruppo ammino protettivo.

Abbiamo svolto ricerche sull'applicazione del nuo-  
vo procedimento che si è proposto per la preparazione  
della 3',4'-dideossikanamicina B (domanda di Brevetto  
giapponese N. 146345/75, Brevetto giapponese KOKAI  
N. 71445/77) alla preparazione di deossi-derivati del-  
la kanamicina A. Il procedimento descritto in questa do-  
manda giapponese N. 146345/75 impiega kanamicina B come  
materiale di partenza, è basato sul fatto di trarre van-  
taggio da un comportamento del saccaride in una reazio-  
ne di acilazione, per cui la reattività del gruppo  
4-idrossile è notevolmente inferiore di quella di ogni  
altro gruppo idrossile di esso, e comprende il far rea-  
gire la kanamicina B penta-N-protetta con cloruro di  
alcanoile o cloruro di arcoile, tipicamente cloruro di  
benzoile per acilare il gruppo 3'-OH (ed eventualmente  
2"-OH) e lasciare il gruppo 4'-OH libero. La successi-  
va solfonilazione selettiva del gruppo 4'-idrossile  
del derivato acilato dà un composto di formula (V):

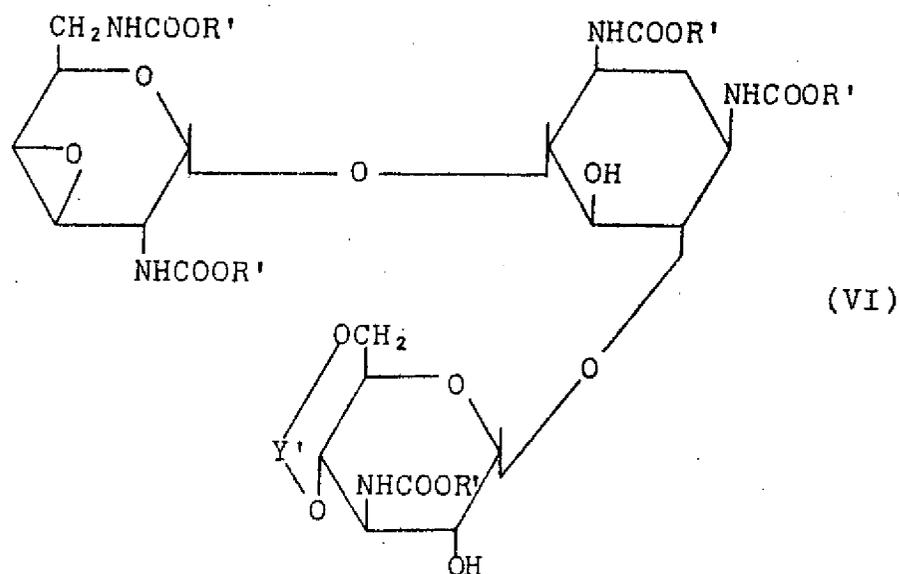


in cui R' rappresenta un gruppo alchile o arile; W' rappresenta un mesile, tosile o benzilsolfonile; X' rappresenta un gruppo alcanoile, tipicamente quelli contenenti 2-4 atomi di carbonio come acetile o un gruppo aroile, tipicamente benzoile; e Y' rappresenta un gruppo alchilidene o aralchilidene della formula



in cui P e P' rappresentano ciascuno un atomo di idrogeno o un gruppo alchile o arile ed Y' rappresenta un gruppo cicloesilidene o tetraidropiranilidene ed il trattamento del composto risultante con un alcoolato di metallo alcalino in un alcanoio inferiore in condi-

zioni alcaline dà il 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina B della formula (VI):

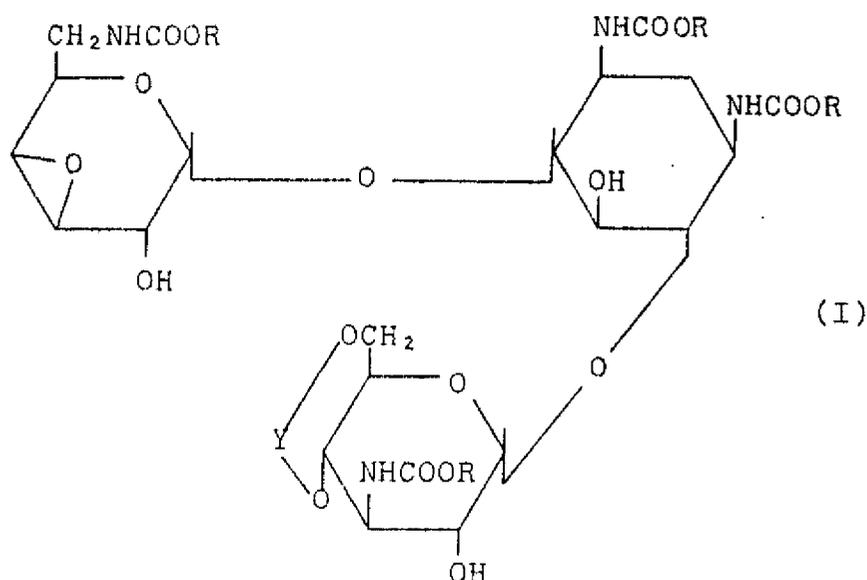


in cui R' e Y' hanno gli stessi significati come definito sopra, come un prodotto intermedio con una resa e levata in un numero relativamente piccolo di fasi.

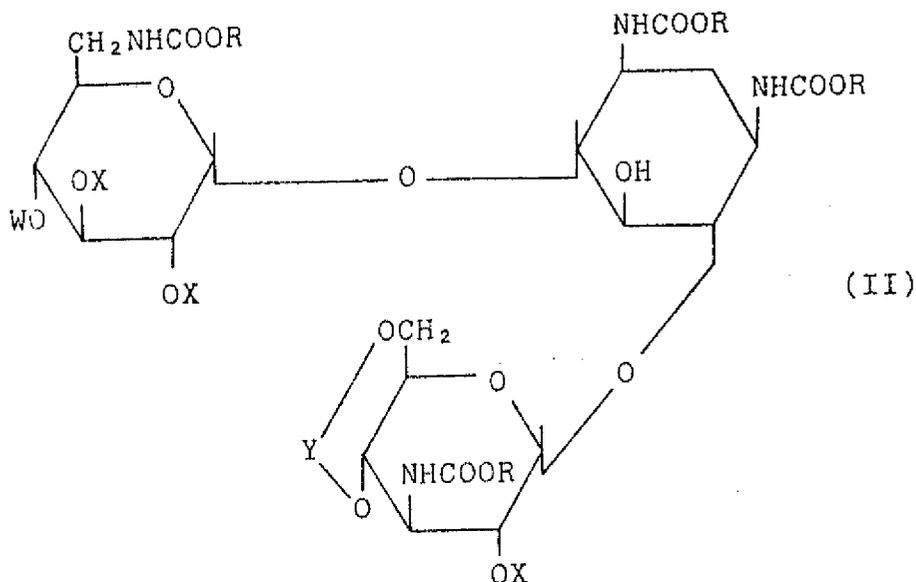
La differenza in struttura chimica fra la kanamicina B e la kanamicina A risiede nel fatto che la prima ha un gruppo ammino nella posizione 2'-, mentre la seconda presenta in detta posizione un gruppo idrossile. Abbiamo ora trovato che la kanamicina A può essere convertita in un 3',4'-anidro-4'-epi derivato con un procedimento comprendente la protezione di tutti e quat

tro i gruppi ammino della kanamicina A con un gruppo ammino-protettivo, la reazione della kanamicina A tetra-N-protetta con un alcanoil alogenuro o un benzoil alogenuro, per acilare i gruppi 2'-, 3'- e 2"-OH e lasciare il gruppo 4'-OH libero senza acilazione, la solfonilazione selettiva del gruppo 4'-idrossile, ed il trattamento del derivato solfonilato così formato con un alcoolato di metallo alcalino in un alcololo. Il 3',4'-anidro-4'-epi derivato risultante, che è un prodotto intermedio utile, può essere convertito in 3',4'-dideossikanamicina A.

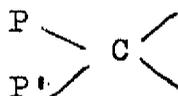
Secondo un secondo aspetto di questa invenzione quindi è previsto un procedimento per la preparazione del 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A della formula (I):



in cui R e Y hanno gli stessi significati come definiti sotto, che comprende il trattamento di un 4'-O-solfonil derivato della kanamicina A della formula (II):



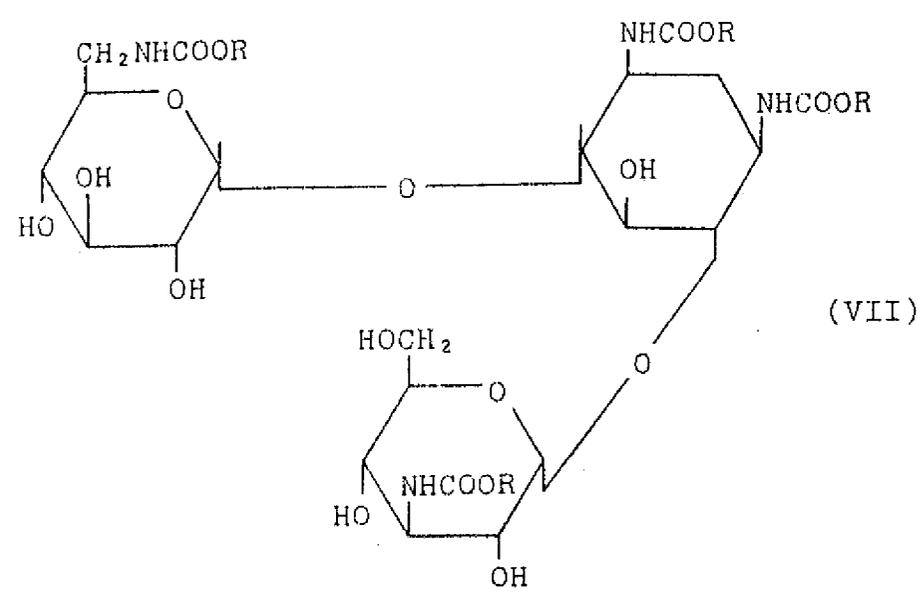
in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile, W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile, X rappresenta un gruppo alcancile o aroile e Y rappresenta un gruppo alchilidene o aralchilidene della formula



in cui P e P' rappresentano ciascuno un atomo di idrogeno o un gruppo alchile o arile od Y rappresenta un gruppo cicloesilidene o tetraidropiraniidene in un al

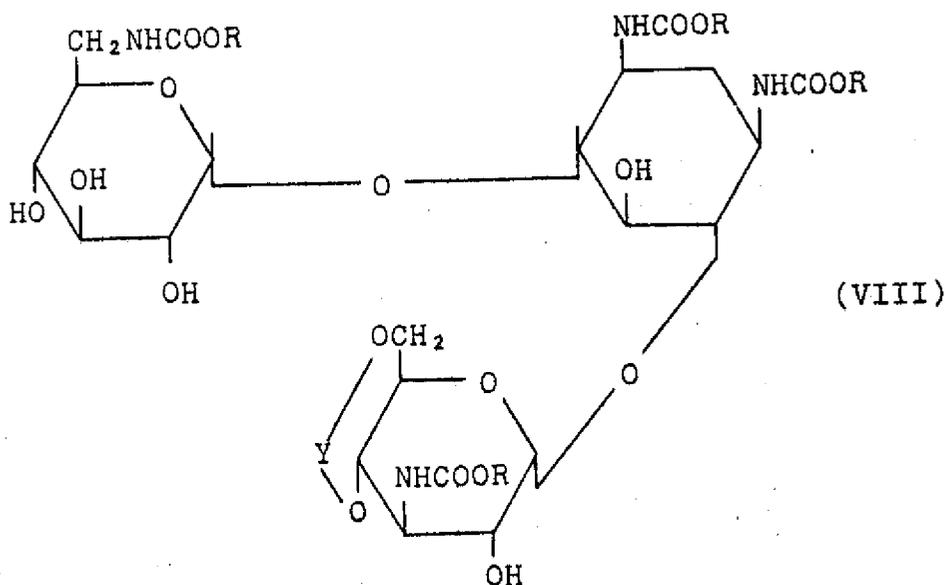
canolo inferiore in una condizione alcalina per formare il 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A della formula (I) di cui sopra.

Nell'attuazione del procedimento di questa invenzione, la kanamicina A viene prima trattata per proteggerne i quattro gruppi ammino nella forma di un gruppo tipo uretano, dando così luogo ad un derivato tetra-N-protetto della kanamicina A di formula (VII):



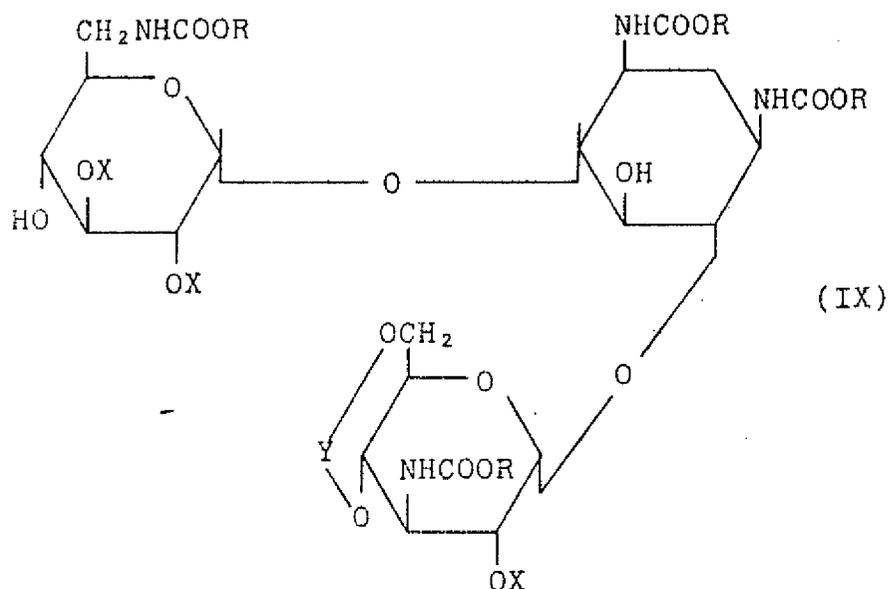
in cui R ha lo stesso significato come sopra definito. Il composto della formula (VII) viene quindi trattato per proteggere selettivamente i gruppi 4"- e 6"- idrosile facendolo reagire con un agente alchilidenilante, un agente aralchilidenilante, un agente cicloesilideni

lante o con un agente tetraidropiranilidenilante come un agente idrossil-protettivo noto. La reazione può, preferibilmente, essere effettuata trattando il composto di formula (VII) con un agente idrossil-protettivo in un solvente come dimetilformammide in presenza di una quantità catalitica di acido p-toluene solfonico a temperatura ambiente, usualmente a 15° - 25°C per 15-20 ore, l'agente idrossil-protettivo essendo un agente alchilidenilante o aralchilidenilante noto come acetaldeide, 2,2-dimetossipropano, anisaldeide, benzaldeide e dietilacetale o un agente cicloesilidenilante come 1,1-dimetossicicloesano o un agente tetraidropiranilidenilante noto come 1,1-dimetossitetraidropiranilidene. Le fasi ammino-protettiva e idrossil-protettiva summenzionate possono essere effettuate nello stesso modo come quello descritto nella domanda di brevetto giapponese N.146345/75. Viene così prodotto un derivato 4",6"-O-protetto della formula (VIII):



in cui R e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti. Il composto della formula (VIII) viene poi trattato per proteggere selettivamente i gruppi 2'-, 3'- e 2"-idrossile con un gruppo idrossil-protettivo di tipo acile. Questa fase può di solito essere condotta facendo reagire il composto della formula (VIII) con un agente acilante come un cloruro di acile in piridina a bassa temperatura, in particolare inferiore a 5°C. Come agente acilante può essere usato un cloruro di acido di un acido carbossilico, adatto particolarmente un acido alcanoico avente 2-4 atomi di carbonio, come cloruro di acetile e cloruro di benzoile. Il cloruro di benzoile è un agente acilante preferito

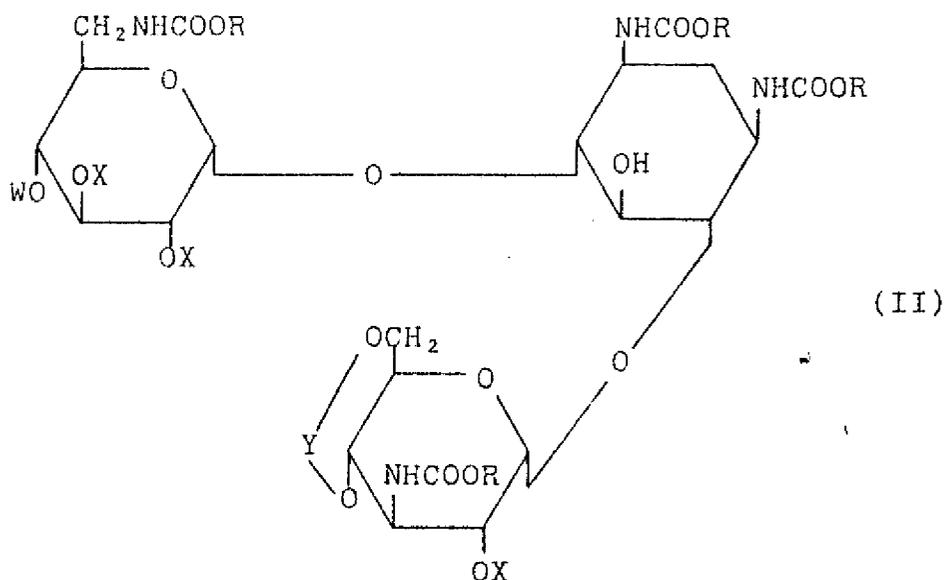
per questa fase. Dato che il gruppo 4'-OH non viene acilato in questa fase, si forma un 2', 3', 2''-tri-O-  
-acil derivato della formula (IX):



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti e X rappresenta un gruppo acile, per esempio un alcancile inferiore come acetile o un arcole come benzoile.

La fase successiva è una solfonilazione del gruppo 4'-idrossile del composto della formula (IX). Quindi, la 4'-O-solfonilazione può essere effettuata facendo reagire il composto di formula (IX) con cloruro di mesile, con cloruro di tosile o con cloruro di benzil-

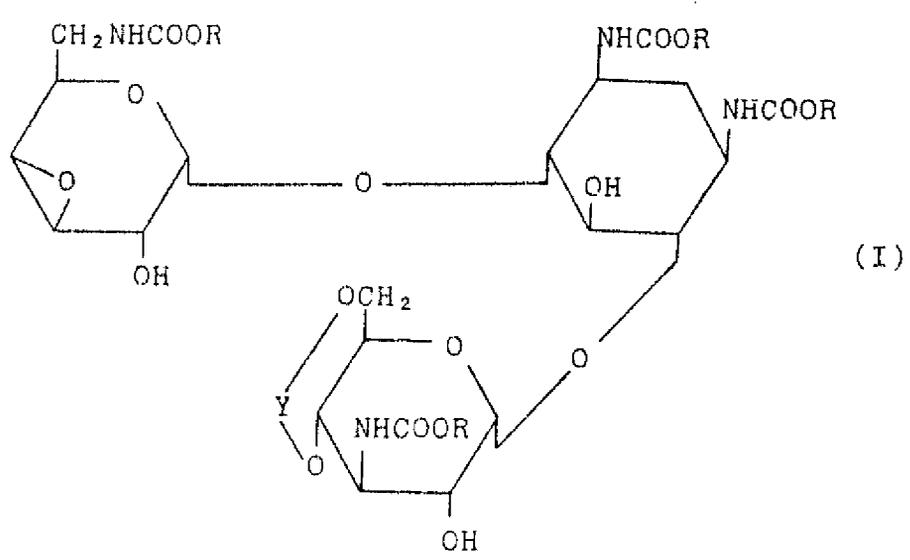
solfonile in piridina. La temperatura di reazione può essere compresa fra 20° e 50°C. Il cloruro di mesile viene preferito come agente 4'-O-solfonilante. Pertanto, viene prodotto un derivato 4'-O-solfonilato della formula (II):



in cui R, X e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti e W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile, che è usato come composto di partenza nel procedimento conformemente al secondo aspetto di questa invenzione.

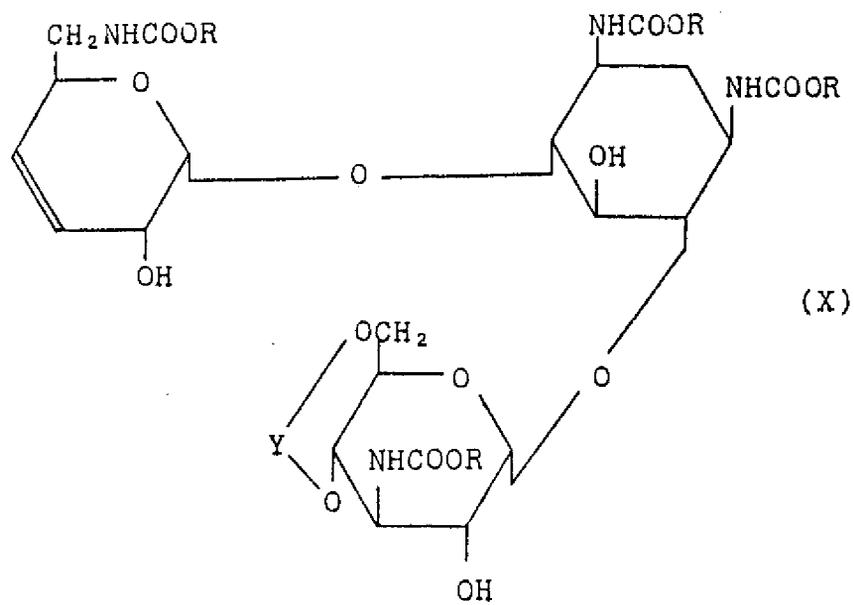
Nel procedimento conformemente al secondo aspetto di questa invenzione, il composto della formula (II) è sottoposto ad una anidro-reazione (altrimenti designa

ta come 3',4'-epossidazione). La 3',4'-epossidazione può essere effettuata sciogliendo il composto di formula (I) in un alcanolo inferiore come metanolo e etanolo e trattandolo nella soluzione con un alcoolato di metallo alcalino, per esempio sodio o potassio, particolarmente un alcossido inferiore come metossido o etossido. L'uso di metossido di sodio o etossido di sodio è preferito. Opportunamente, la 3',4'-anidro-reazione può essere condotta a temperatura ambiente, di solito a 15°-20°C per 1-3 ore. Si forma così un derivato protetto della 3',4'-anidro-4'-epi-kanamicina A della formula (I):



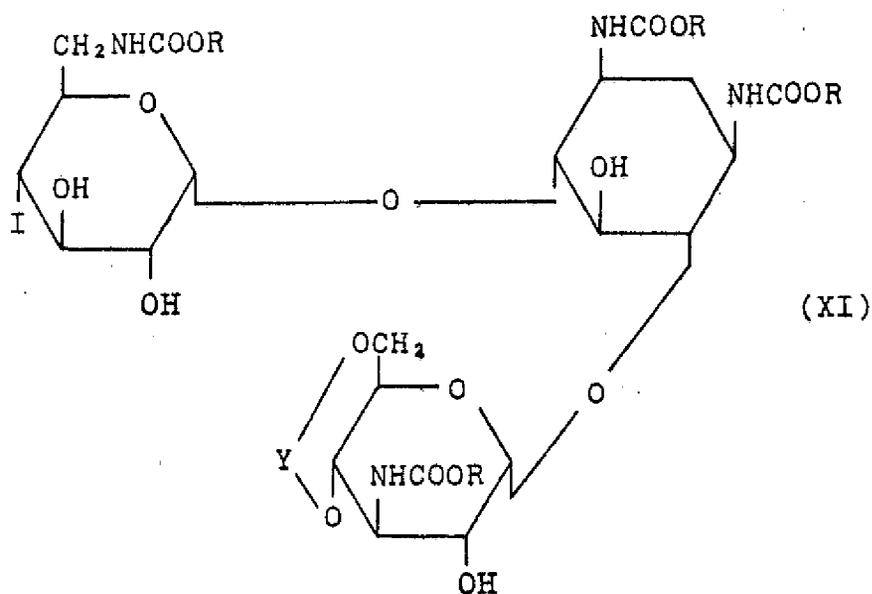
in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti, con una eliminazione idrolitica simultanea dei gruppi 2'- e 2"-acile (X).

Il composto della formula (I) secondo questa nomenclatura può essere convertito nella 3',4'-dideossikanamicina A nello stesso modo come quello descritto nella domanda di brevetto giapponese N. 146345/75 trattando il composto della formula (I) con uno xantato per formare un derivato protetto della 3',4'-dideossi-3',4'-dideidrokanamicina A, cioè la 3',4'-dideossi-3'-enokanamicina A della formula (X):



rimuovendo i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo e quindi idrogenando la 3',4'-insaturazione.

Vi è un procedimento alternativo per la trasformazione del composto della formula (I) nella 3',4'-di-deossikanamicina A, il quale comprende le fasi: di trattare il composto della formula (I) con ioduro di sodio, acetato di sodio ed acido acetico in acetone secondo il procedimento descritto nel "Bull. Chem. Soc. Japan", 52, N. 4, 1131-1134 (1979) per dare luogo ad un derivato di iodoidrina della formula (XI):



di proteggere i gruppi 2'- e 2''-OH con un gruppo benzile; di trattare il composto risultante con cloruro di p-toluenesolfonile in piridina per formare un 3'-to

luenesolfonilossi derivato; di riscaldare il composto risultante a 90°C per 20-30 minuti per formare il corrispondente 3'-ene derivato; di rimuovere i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo per dare la 3'-ene-kanamicina A; ed infine di idrogenare il composto risultante per formare la 3',4'-dideossikanamicina A. La 4'-deossikanamicina A può essere ottenuta idrogenando il derivato della iodoidrina della formula (XI) in presenza di catalizzatore di nichel Raney e quindi rimuovendo i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo.

Utilizzando il procedimento secondo questa invenzione, quindi, viene stabilita una nuova via per la preparazione della 3',4'-dideossikanamicina A e della 4'-deossikanamicina A dalla kanamicina A attraverso il composto della formula (II) e l'epi-derivato della formula (I). Questo procedimento può ridurre le fasi di reazione fino alla preparazione del composto intermedio della formula (I) in confronto con i procedimenti dell'arte precedente, ed è quindi particolarmente vantaggioso in un'esecuzione industriale.

Questa invenzione viene ulteriormente spiegata dall'Esempio seguente, che illustra il procedimento di questa invenzione e dà Esempi di riferimento che illustrano l'utilità dei composti dell'invenzione.

Esempio di riferimento 1

(1) Preparazione della tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A.

Ad una soluzione di monosolfato di kanamicina A (17,5 g) e idrossido di sodio (2,4 g) in una miscela di acqua (120 ml), trietilammina (36 ml) e diossano (200 ml), fu aggiunto con agitazione t-butyl-S-(4,6-dimetil-piramidin-2-il)-tiolcarbonato (43,2 g) come reagente di introduzione del gruppo t-butossicarbonile (Boc) e la miscela risultante fu agitata per una notte a temperatura ambiente. Una massa precipitata, così formata, fu lavata con acido cloridrico 1 N e quindi con acqua ed essiccata. Resa 20 g (75%),

$[\alpha]_D + 74, 1^\circ$  (c = 1,0, dimetilformammide).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 50,92; H, 7,58; N, 6,45%

Calcolato (per  $C_{38}H_{66}N_4O_{19}$ ):

C, 51,56; H, 7,76; N, 6,33%

(2) Preparazione della 4", 6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (1) di cui sopra (10,5 g) fu disciolto in dimetilformammide (200 ml), a cui fu poi aggiunto 1,1-dimetossicicloesano (20 ml) ed acido p-toluensolfonico monoidrato (0,4 g), e la miscela risultante fu agitata a temperatura ambiente

per 18 ore. La miscela di reazione fu neutralizzata con trietilammina, concentrata sotto vuoto e quindi versata in acqua (200 ml). Un precipitato così depositato fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato.

Resa 11 g (96%),  $[\alpha]_D + 67,0^\circ$  (c = 1,0, piridina).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 53,82; H, 7,41; N, 5,25%

Calcolato (per  $C_{44}H_{76}N_4O_{19}$ ):

C, 54,25; H, 7,95; N, 5,81%

(3) Preparazione della 2',3',2"-tri-O-benzoil-4", 6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A.

Il composto ottenuto nella fase (2) di cui sopra (11,4 g) fu disciolto in piridina (200 ml). Dopo che la soluzione fu raffreddata fino a 0-5°C, fu aggiunto cloruro di benzoile (5,6 ml) alla soluzione e la reazione fu condotta per 3 ore. Il completamento della reazione fu confermato con la cromatografia a strato sottile (gel di silice, Merck & Co.). Quindi fu aggiunta acqua (5 ml) alla soluzione di reazione per decomporre ogni eccesso del cloruro di benzoile usato. Dopo che la soluzione di reazione fu concentrata, essa fu versata in acqua (300 ml) ed un precipitato così depositato fu filtrato, ben lavato con carbonato acido di sodio acquoso 1N, quindi con acqua ed essiccato.

Resa 14,8 g. Questo fu purificato per mezzo di una cromatografia su gel di silice per dare 10,2 g (75%) del composto del titolo.  $[\alpha]_D + 100,5^\circ$  (c = 1,1 cloroformio), p.f. 182-188°C.

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 60,31; H, 6,74; N, 4,09%

Calcolato (per  $C_{65}H_{88}N_4O_{22}$ ):

C, 61,10; H, 6,96; N, 4,39%

(4) Preparazione della 2', 3', 2"-tri-O-benzoil-4", 6"-O-cicloesilidene-4'-O-mesil-tetra-N-t-butossicarbo nilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (3) di cui sopra (1,9 g) fu disciolto in piridina (30 ml), a cui fu poi aggiunto cloruro di mesile (0,4 ml), e la reazione fu condotta a temperatura ambiente per 3 ore. Fu aggiunta acqua (0,2 ml) alla soluzione di reazione per decomporre qualunque eccesso del cloruro di mesile usato. Dopo che la soluzione di reazione fu concentrata, essa fu versata in acqua (50 ml) ed un precipitato così formato fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato. Resa 2,0 g (quantitativo).  $[\alpha]_D + 103,3^\circ$  (c = 1,0, cloroformio), p.f. 194-204°C (con decomposizione).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 58,45; H, 6,52; N, 4,23; S, 2,20%

Calcolato (per  $C_{66}H_{90}N_4O_{24}S$ ):

C, 58,47; H, 6,71; N, 4,13; S, 2,36%

Esempio 1

(1) Preparazione della 3',4'-anidro-4'-epi-4",6"-0-  
-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (4) dell'esempio di riferimento 1 di cui sopra (5,1 g) fu disciolto in metanolo (100 ml), a cui fu aggiunto metilato di sodio (1,2 g), e la miscela fu agitata a temperatura ambiente per 2 ore per condurre la reazione. La miscela di reazione fu neutralizzata con acido cloridrico concentrato con raffreddamento a ghiaccio, concentrata e versata in acqua (200 ml). Il precipitato risultante fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato. Resa 3,1 g (88%). Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per produrre il composto del titolo con le seguenti proprietà.  $[\alpha]_D + 54,1^\circ$  (c = 1,0, dimetilformamide), p.f. 190 - 207°C (con decomposizione).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 52,14; H, 7,60; N, 6,15%

Calcolato (per  $C_{38}H_{66}N_4O_{18}$ ):

C, 52,63; H, 7,69; N, 6,46%

Esempio di riferimento 2

Preparazione della 3',4'-dideossikanamicina A

(1) Preparazione della 3',4'-anidro-4'-epi-2',2"-di-

-O-benzoil-4",6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicar**bonilkanamicina A** e successiva apertura di anello dell'anello 3',4'-anidro per la formazione dello iodoidrin derivato.

Il composto ottenuto nell'Esempio 1 di cui sopra (4,3 g) fu disciolto in piridina (45 ml), a cui fu aggiunto cloruro di benzoile (3 ml), e la reazione fu condotta a temperatura ambiente per 2 ore. Fu aggiunta acqua (1 ml) alla miscela di reazione per decomporre l'eccesso di cloruro di benzoile, dopo di che la miscela di reazione fu concentrata e versata in acqua (100 ml). Il precipitato risultante fu filtrato, lavato con carbonato acido acquoso di sodio 1 N, quindi con acqua, ed essiccato. Il prodotto essiccato, senza essere purificato, fu disciolto in acetone (4,5 ml), al quale furono poi aggiunti acido acetico (3,3 ml), acetato di sodio (0,2 g) e ioduro di sodio (5,8 g), e la reazione fu condotta sotto riflusso per 4 ore. La miscela di reazione fu lasciata raffreddare a temperatura ambiente, concentrata e versata in acqua (200 ml). Una massa precipitata fu filtrata, lavata con acqua ed essiccata. Resa 5,5 g. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per dare 3,9 g (71%) del iodoidrin derivato del titolo.

Analisi degli elementi:

Trovato: I, 9,31%

Calcolato (per  $C_{52}H_{75}N_4O_{20}$  I):

I, 9, 84%

(2) Preparazione della 2',2"-di-O-benzoil-4",6"-O-cicloesilidene-3'-eno-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A.

Il composto ottenuto nella fase (1) di cui sopra (2,6 g) fu disciolto in piridina (50 ml), e la soluzione fu raffreddata mediante ghiaccio, ad essa fu aggiunto cloruro di benzilsolfonile (1,5 g), e la reazione fu condotta per 1 ora. Fu aggiunta acqua (0,5 ml) per decomporre l'eccesso del cloruro di benzilsolfonile usato e la miscela di reazione fu trattata a 90°C per 1 ora, lasciata raffreddare, concentrata e quindi versata in acqua (200 ml). Il precipitato risultante fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato. Resa 2,1 g. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per dare 1,3 g (56%) del composto del titolo.

$[\alpha]_D + 19,1^\circ$  (c = 1,0, cloroformio), p.f. 221-226°C (con decomposizione).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 61,78; H, 7,31; N, 4,45%

Calcolato (per  $C_{58}H_{82}N_4O_{19}$ ):

C, 61,13; H, 7,27; N, 4,92%

(3) Preparazione della 3'-eno-kanamicina A

Ad una soluzione del composto ottenuto nella fase (2) di cui sopra (1,1 g) in metanolo (20 ml), fu aggiunto metossido di sodio (0,3 g). La reazione fu condotta a temperatura ambiente per 1 ora e quindi a 50°C per 2 ore con l'aggiunta di acido cloridrico 6N (5 ml). La miscela di reazione fu neutralizzata con idrossido di sodio acquoso 2N con raffreddamento mediante ghiaccio, concentrata, disciolta in acqua (50 ml) ed adsorbita su di una colonna di 30 ml di Amberlite CG-50 ( $\text{NH}_4^+$ ). Una purificazione cromatografica fu effettuata con ammoniaca acquosa 0,3N come eluente, producendo 0,34 g (75%) del composto del titolo.  $[\alpha]_D + 52,1^\circ$  (c = 1,0, acqua).

Analisi degli elementi:

Trovato: C, 44,36; H, 7,21; N, 10,54%

Calcolato (per  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$ ):

C, 44,51; H, 7,09; N, 10,93%

(4) Preparazione della 3',4'-dideossikanamicina A.

La 3'-eno-kanamicina A ottenuta nella fase (3) di cui sopra (200 ml) fu disciolta in acqua (100 ml). Fu aggiunto alla soluzione ossido di platino (15 mg) e fu fatto passare idrogeno attraverso la soluzione a temperatura ambiente sotto pressione atmosferica per 2 ore. Il catalizzatore fu rimosso per mezzo di filtrazione per produrre 185 mg di 3',4'-dideossikanamicina A.

Esempio di riferimento 3

Preparazione della 4'-deossikanamicina A.

L'iodoidrin derivato ottenuto nella fase (1) dell'Esempio di riferimento (2) di cui sopra (550 mg) fu disciolto in metanolo (10 ml), a cui furono quindi aggiunti diossano (10 ml) ed acqua (5 ml). Fu aggiunto nichel Raney (2,3 g) alla soluzione per dar luogo alla reazione di riduzione a pressione atmosferica. Dopo la rimozione del catalizzatore fu aggiunto metilato di sodio (60 mg) alla soluzione di reazione, e la miscela fu lasciata riposare a temperatura ambiente per 2 ore, quindi neutralizzata con acido cloridrico 1N e concentrata fino a secchezza. Il residuo fu lavato con acqua e aggiunto ad acido trifluoroacetico al 95% (4,5 ml), e la miscela fu lasciata riposare a temperatura ambiente per 30 minuti. La soluzione di reazione fu concentrata fino a secchezza ed il residuo fu disciolto in acqua (13 ml). La soluzione, che fu regolata per un pH 7,5 con l'aggiunta di soluzione acquosa di idrato di sodio 4N fu adsorbita su Amberlite CG-50 ( $\text{NH}_4^+$ ) (6 ml). La resina fu lavata con acqua e quindi eluita con ammoniacca acquosa 0,3N. L'eluato fu concentrato fino a secchezza per produrre 105 mg di 4'-deossikanamicina A. Ciò corrisponde ad un campione autentico del composto descritto nella letteratura.

Il testo italiano qui sopra steso è la fedele  
traduzione dell'annessa Copia Autentica.-

UFF. TECN. ING. A. MANNUCCI

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. Mannucci', is written over a horizontal line. The signature is cursive and extends to the right, crossing the line.

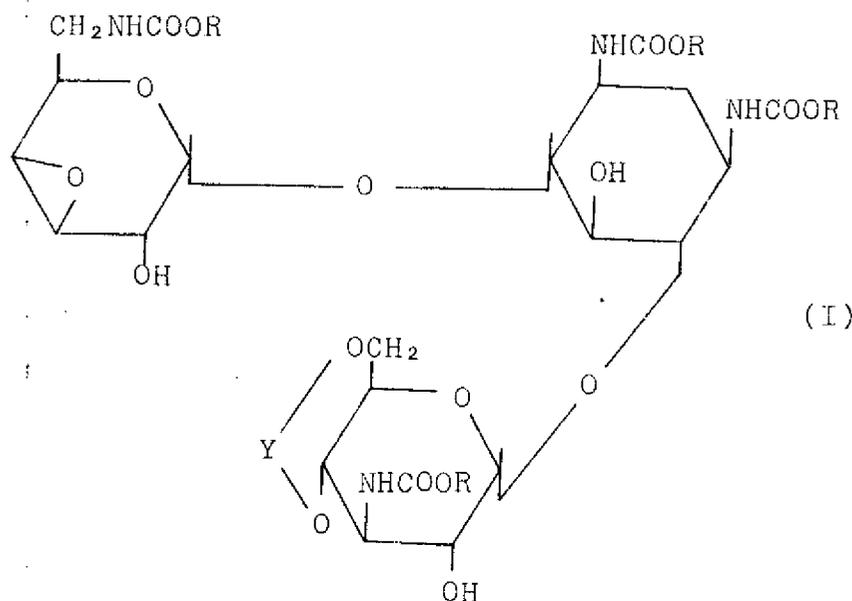
Descrizione dell'Invenzione Industriale dal titolo:

"~~kanamicina~~" DERIVATO DELLA KANAMICINA A E SUO PROCEDIMEN-  
TO DI PREPARAZIONE" di ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU  
KENKYU KAI di nazionalità giapponese, a SHINAGAWA-KU,  
TOKYO, (Giappone) depositata il 25 FEB. 1981

N° Prot. \_\_\_\_\_

RIASSUNTO

Sono forniti nuovi composti, 3',4'-anidro-4'-  
 epi derivati della kanamicina A di formula:



in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o  
 arile e Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchi  
 lidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene che  
 sono utili come composti intermedi per la sintesi del  
 la 3', 4'-dideossikanamicina A e della 4'-deossikana  
 micina A della kanamicina A. I composti della formu-

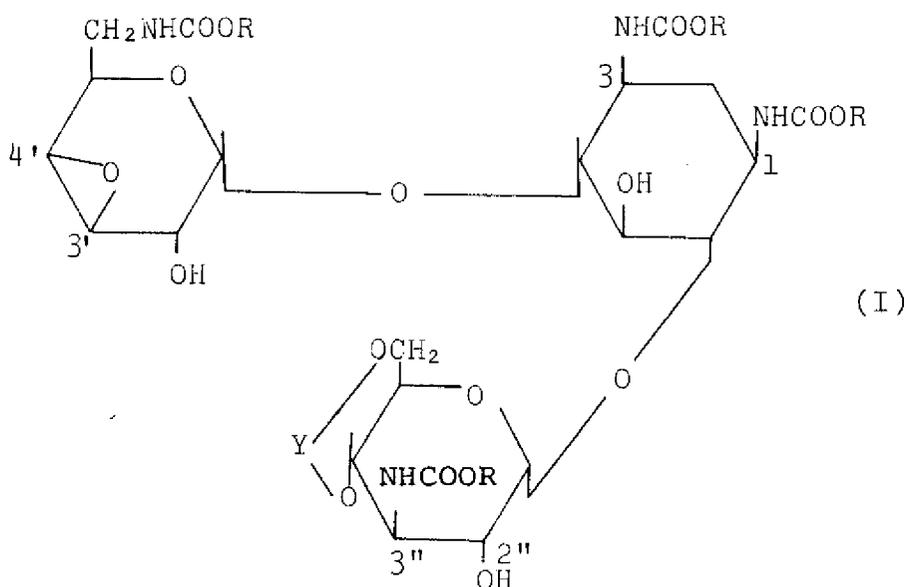
la (I) possono essere preparati trattando il corrispondente 4'-O-solfonil derivato con un alcoolato di metallo alcalino in un alcanolo inferiore in condizioni alcaline.

### DESCRIZIONE

Questa invenzione riguarda un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A e la sua preparazione dalla Kanamicina A.

Il 3',4'-anidro-4'-epi derivato è un nuovo ed utile composto intermedio per la sintesi di deossi derivati della kanamicina A, che sono attivi contro una varietà di ceppi di batteri resistenti alla kanamicina A.

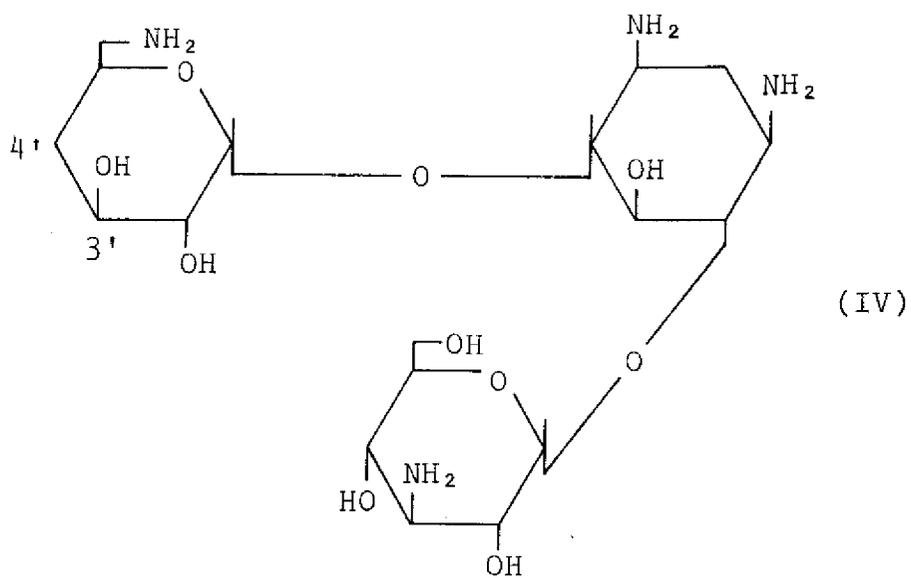
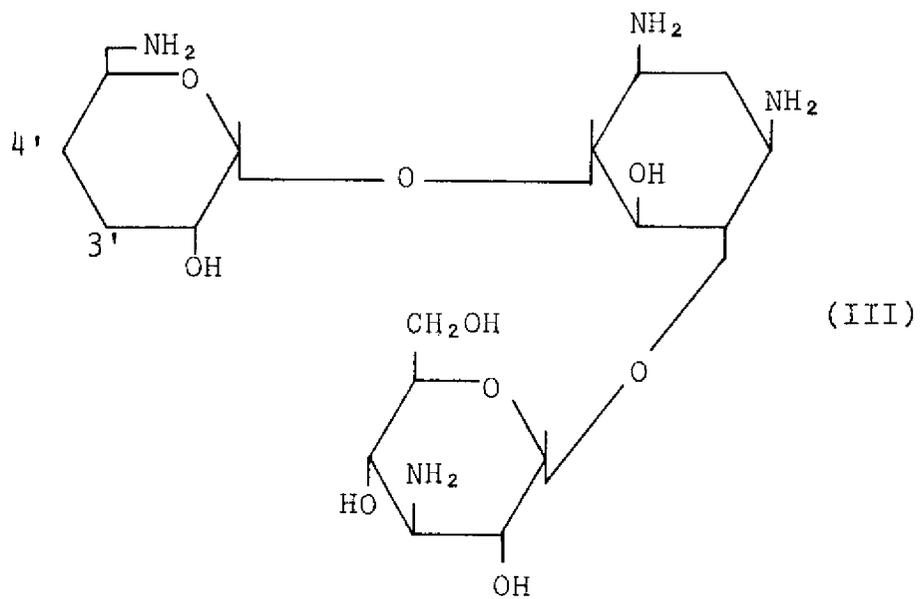
Secondo questa invenzione, viene fornito un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A di formula (I):



in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile e Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene.

Nei composti di formula (I), il gruppo -COOR è un noto gruppo ammino-protettivo di tipo uretano, in cui R è preferibilmente un alchile di 1 - 6 atomi di carbonio, benzile, fenile o un fenile sostituito come nitrofenile. Il gruppo Y può essere un noto gruppo idrossil-protettivo bivalente definito come sopra, e preferibilmente è un alchilidene inferiore come formilidene, etilidene e isopropilidene; un fenilalchilidene come benzilidene; ciclopentilidene e cicloesilidene; e un gruppo tetraidropiranilidene.

I composti di formula (I) sono utili intermedi per la preparazione di 3', 4'-dideossikanamicina A di formula (III) o di 4'-deossikanamicina A di formula (IV), poichè sono facilmente convertibili nei composti di formula (III) o (IV) per mezzo dell'apertura dell'anello 3',4'-eossido con un nucleofilo come un alogeno e di un opportuno trattamento della risultante derivata alogenoidrina seguito dalla rimozione dei gruppi ammino e idrossil-protettivi.



## STORIA DELL'INVENZIONE

La 3', 4'-dideossikanamicina A di formula (III), che fu preparata la prima volta semi-sinteticamente dalla kanamicina A da H. Umezawa ed altri (Brevetto Giapponese KOKAI No. 105699/80; Brevetto Belga No.881251; Brevetto U.S.A. No. 4195170; domanda di brevetto U.S.A. serie No. 187014), e la 4'-deossikanamicina A di formula (IV), che fu preparata per la prima volta semi-sinteticamente dalla kanamicina A da Naito ed altri (Brevetto Giapponese KOKAI No. 93944/75; Brevetto U.S.A. No. 3.886.138), sono note per il fatto di esplicare una migliorata attività anti batterica contro organismi sensibili e resistenti alla kanamicina se confrontate con kanamicina A. Tuttavia entrambi i metodi summenzionati richiedono molte fasi per ottenere derivati della kanamicina A opportunamente protetti che possiedano solo l'oggettivo gruppo libero idrossile. In tutti e due i metodi era necessario, allo scopo di ottenere i derivati protetti della kanamicina A contenenti il gruppo libero 4'-idrossile, accettare complicate fasi preparatorie. Così il gruppo 6'-ammino della kanamicina A fu protetto con un gruppo ammino-protettivo e gli altri gruppi ammino furono protetti con un altro gruppo protettivo. Dopo la formazione del carbammato 4',6'-O,N-ciclico con una base, i gruppi i

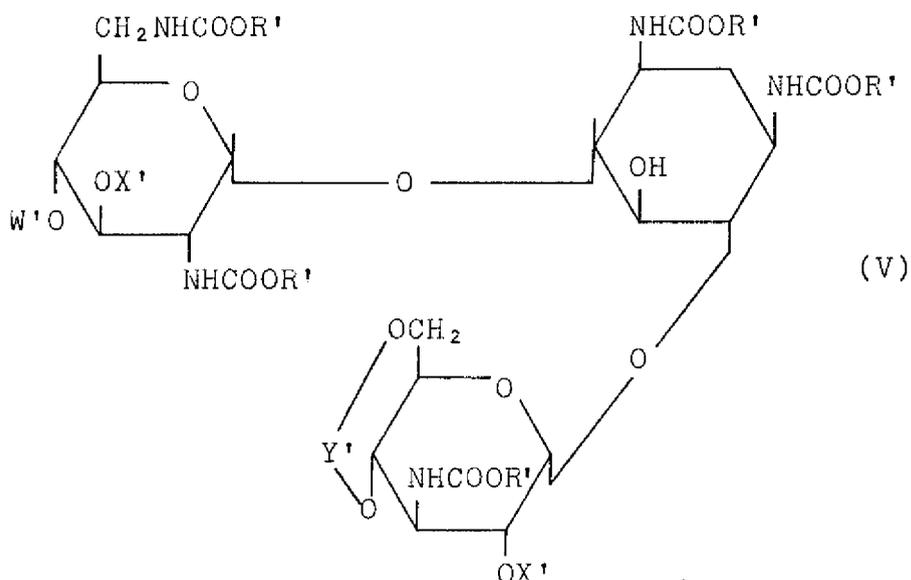
UFF. TECN. ING. A. MANNUCCI

drossili che non devono essere rimossi furono protetti con un gruppo idrossil-protettivo. Dopo la successiva apertura di anello del carbammato, il gruppo 6'-ammino fu di nuovo protetto con un gruppo ammino protettivo.

Il procedimento generale di deossigenazione, che è applicato elegantemente per la preparazione della 3',4'-dideossikanamicina B e della tobramicina dalla kanamicina B attraverso i loro derivati solfonilici, non è adatto per il derivato della kanamicina A, perchè le fasi protettive prima della deossigenazione sono molto complicate.

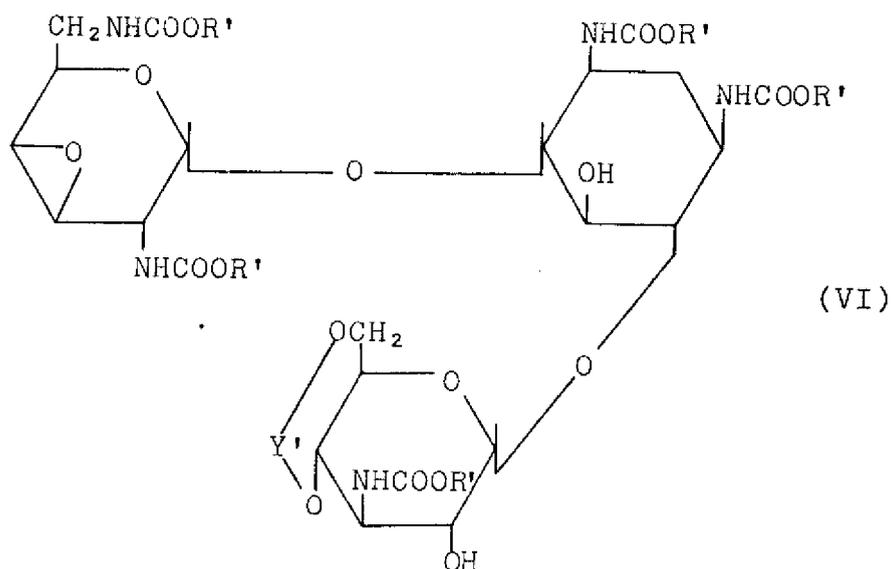
Sono state svolte ricerche sull'applicazione del nuovo procedimento che si è proposto per la preparazione della 3', 4'-dideossikanamicina B (Brevetto Giapponese KOKAI No. 71445/77; Brevetto U.K. No. 1.537.905) alla preparazione dei deossi-derivati della kanamicina A. Il procedimento descritto in questa pubblicazione è basato sul fatto di trarre vantaggio da un comportamento del saccaride in una reazione di acilazione, per cui la reattività del gruppo 4-idrossile è notevolmente inferiore di quella di ogni altro gruppo idrossile di esso, e comprende il far reagire il derivato 4",6"-O-protetto della kanamicina B penta-N-protetta con cloruro di alcanolo o cloruro di aroile,

tipicamente cloruro di benzoile, in piridina per acilare i gruppi 3'- e 2''-idrossili per lasciare libero il gruppo 4'-idrossile. La solfonilazione del gruppo 4'-idrossile del derivato acilato dà un composto di formula (V):



in cui R' rappresenta un gruppo alchile o arile; W' rappresenta un mesile, tosile o benzilsolfonile; X' rappresenta un gruppo alcanoile, tipicamente quelli contenenti 2 - 4 atomi di carbonio come acetile o un gruppo aroile, tipicamente benzoile; e Y' rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene. Il trattamento del composto risultante con un alcoolato di metallo alcalino in un alcanolo inferiore in condizioni alcaline, produce il 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamici-

na B di formula (VI):



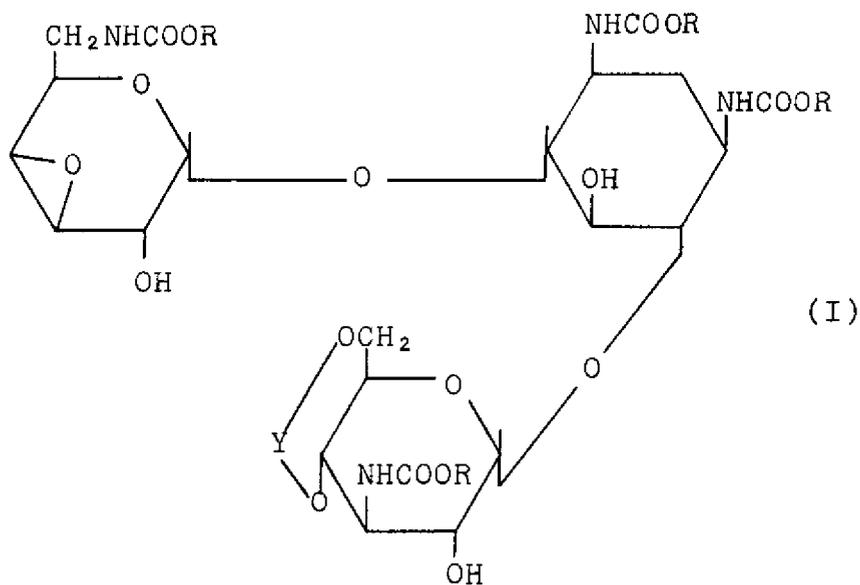
in cui R' e Y' hanno lo stesso significato di cui so  
 pra, come composto intermedio con alta resa in un nu-  
 mero di fasi relativamente piccolo.

La differenza nella struttura chimica fra la ka-  
 namicina B e la kanamicina A risiede nel fatto che la  
 prima ha un gruppo ammino nella posizione 2'-, mentre  
 la seconda ha un gruppo idrossile in detta posizione.  
 Si è ora trovato che la kanamicina A può essere con-  
 vertita in un 3',4'-anidro-4'-epi derivato per mezzo  
 del metodo seguente. Prima di tutto, tutti i quattro  
 gruppi ammino della kanamicina A vengono protetti con  
 un gruppo ammino-protettivo. Dopo la reazione della  
 kanamicina A tetra-N-protetta con un reagente idrossil  
 protettivo bivalente, il derivato risultante 4",6"-O-

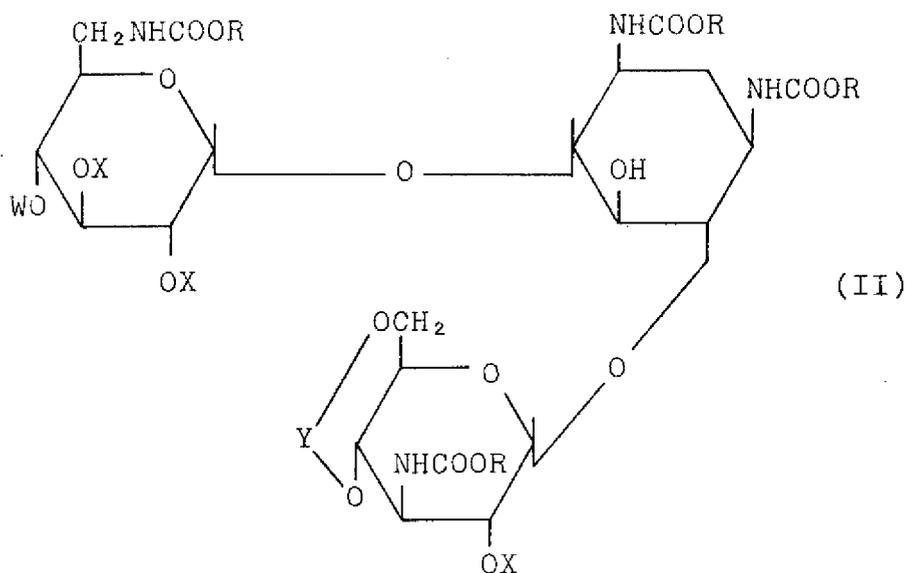
protetto viene trattato con un alcanoil alogenuro o un aroil alogenuro, tipicamente alogenuro di benzoile, per acilare i gruppi 2'-, 3'- e 2"-idrossile e per lasciare il gruppo 4'-idrossile libero senza acilazione, seguito dalla solfonilazione del gruppo 4'-idrossile e del trattamento del derivato solfonilato così formato con un alcoolato di metallo alcalino in un alcol. Il risultante 3', 4'-anidro-4'-epi derivato può essere convertito in 3',4'-dideossikanamicina A in un modo di per sé noto.

SPIEGAZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Secondo un ulteriore aspetto di questa invenzione, perciò, viene previsto un procedimento per la preparazione del 3', 4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A di formula (I):



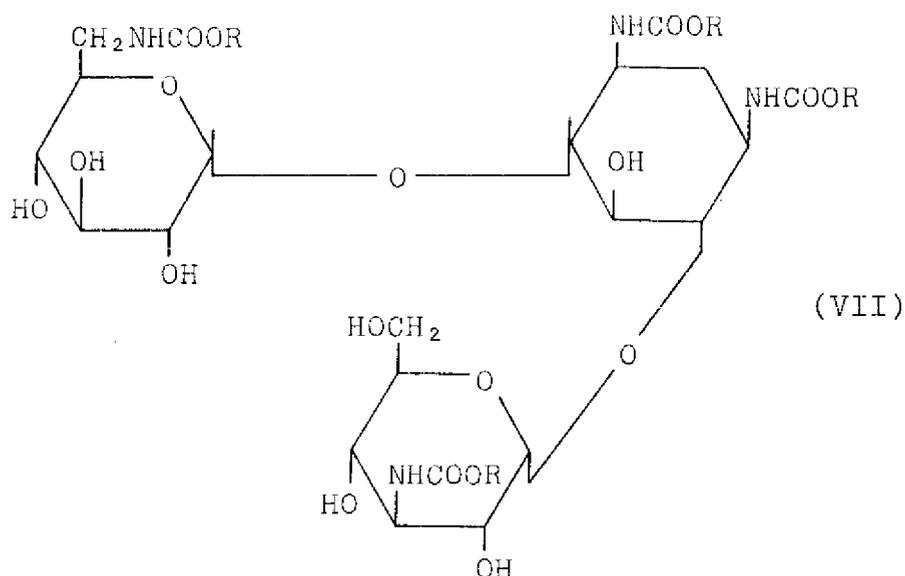
in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile e Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene, il quale comprende il trattamento di un 4'-O-solfonil derivato di kanamicina A di formula (II):



in cui R e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti, W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile e X rappresenta un gruppo alcanoile o aroile, con un alcoolato di metallo alcalino in un alcanolo inferiore in una condizione alcalina.

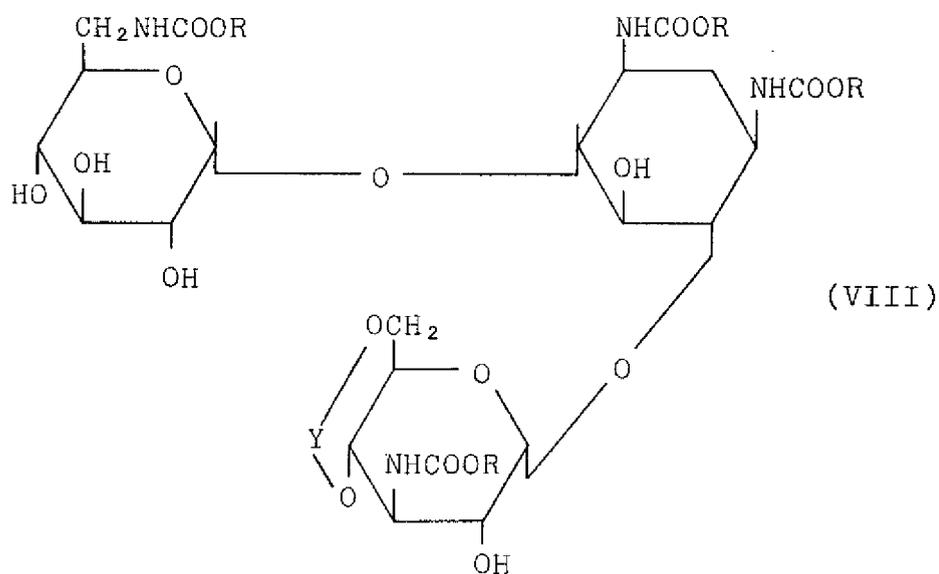
Nell'attuazione del procedimento di questa invenzione, la kanamicina A viene prima trattata per proteggerne i quattro gruppi ammino nella forma di un gruppo tipo uretano in un modo di per sè noto, dando così luogo a un derivato tetra-N-protetto della ka-

namicina A di formula (VII):



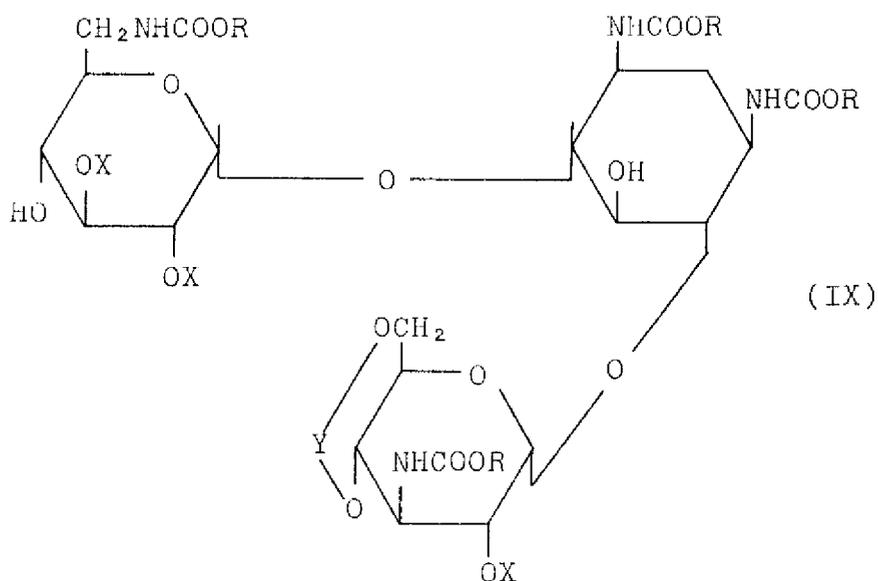
in cui R ha lo stesso significato come sopra definito. Il composto di formula (VII) viene quindi trattato per proteggere selettivamente i gruppi 4"- e 6"-idrossile facendolo reagire con un agente alchilidenilante, un agente aralchilidenilante, un agente cicloalchilidenilante o con un agente tetraidropiranilidenilante come un noto agente idrossil-protettivo. La reazione può, preferibilmente, essere effettuata trattando il composto di formula (VII) con un agente idrossil-protettivo in un solvente come la dimetilformammide in presenza di una quantità catalitica di acido p-toluen solfonico a temperatura ambiente, usualmente a 15° - 25°C per 15-20 ore, l'agente idrossil-protettivo essendo un noto agente alchilidenilante o aralchilide-

nilante come acetaldeide, 2,2-dimetossipropano, anisalaldeide, benzaldeide e dietilacetale o un noto agente cicloalchilidenilante come 1,1,1-dimetossicicloesano o un noto agente tetraidropiranilidenilante come 1,1,1-dimetossitetraidropiranilidene. Le fasi ammino-protettiva e idrossil-protettiva summenzionate possono essere effettuate nello stesso modo come quello descritto nel Brevetto Giapponese KOKAI No. 71445/77 o nel Brevetto U.K. No. 1.537.905. Viene così prodotto un derivato 4",6"-O-protetto di formula (VIII):



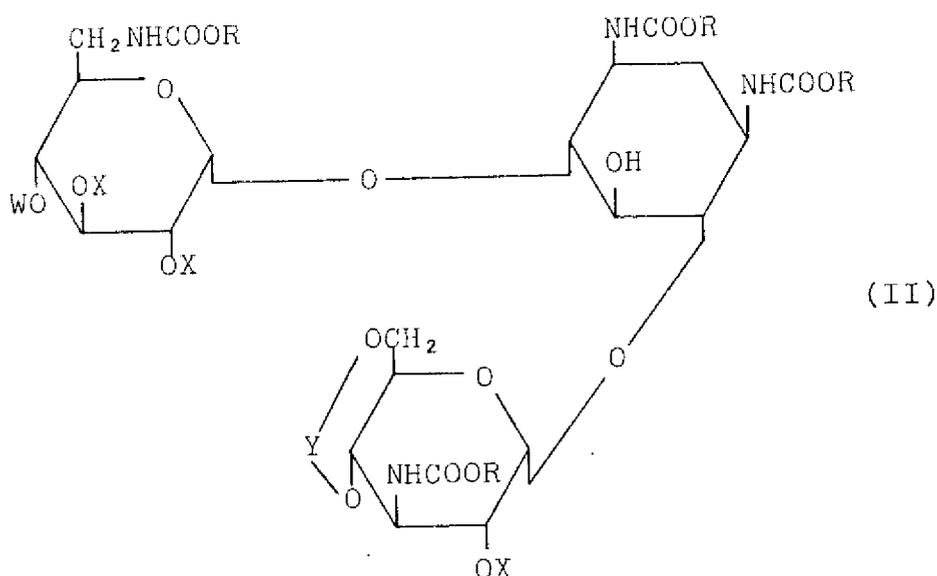
in cui R e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti. Il composto di formula (VIII) viene trattato per proteggere selettivamente i gruppi 2'-, 3'- e 2"-idrossili con un gruppo idrossil-protettivo di tipo acilico. Questa fase può di solito essere condotta

facendo reagire il composto di formula (VIII) con un agente acilante come un cloruro di acile in piridina a bassa temperatura, in particolare inferiore a 5°C. Come agente acilante può essere usato un cloruro acido di un adatto acido carbossilico, particolarmente un acido alcanoico avente 2-4 atomi di carbonio, come cloruro di acetile e cloruro di benzoile. Il cloruro di benzoile è un agente acilante preferito per questa fase. Dato che il gruppo 4'-idrossile non viene acilato in questa fase, si forma un 2', 3', 2''-tri-O-acil derivato di formula (IX):



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti e X rappresenta un gruppo acile, per esempio un alcanoile inferiore come acetile o un aroile come benzoile.

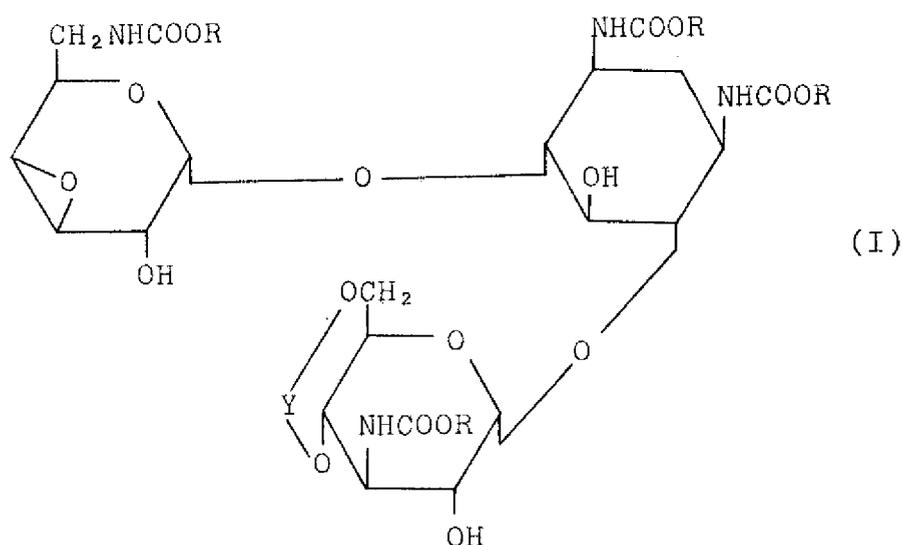
La fase successiva è una solfonilazione del gruppo 4'-idrossile del composto di formula (IX). Quindi, la 4'-O-solfonilazione può essere effettuata facendo reagire il composto di formula (IX) con cloruro di mesile, con cloruro di tosile o con cloruro di benzilsolfonile in piridina. La temperatura di reazione può essere compresa fra 20° e 50°C. Il cloruro di mesile viene preferito come agente 4'-O-solfonilante. Pertanto, viene prodotto un derivato 4'-O-solfonilato di formula (II):



in cui R, X e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti e W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile, che è usato come composto di partenza nel procedimento secondo questa invenzione.

Nel procedimento di questa invenzione, il compo

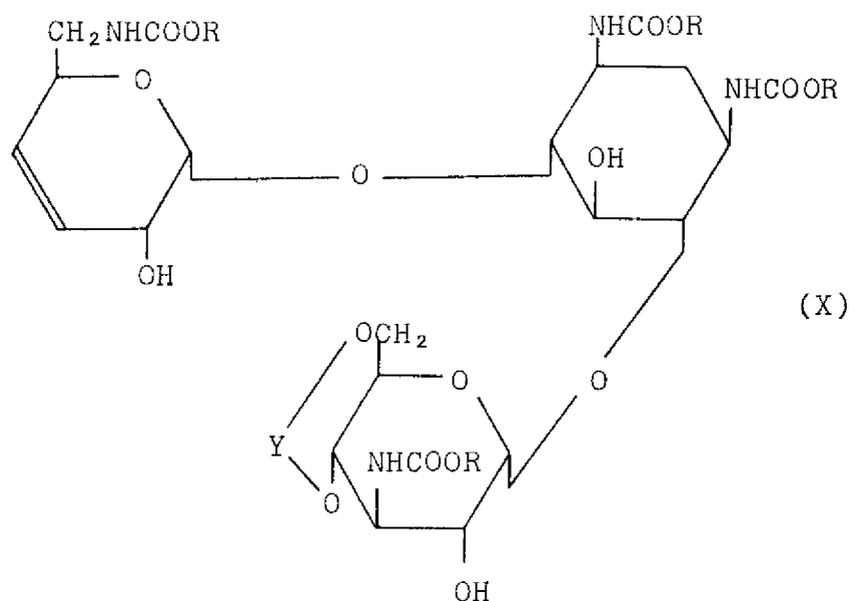
sto di formula (II) viene 3', 4'-epossidato. La 3', 4'-epossidazione può essere effettuata sciogliendo il composto di formula (II) in un alcanoide inferiore di 1-4 atomi di carbonio come metanolo e etanolo e trattandolo nella soluzione con un alcoolato di metallo alcalino, per esempio sodio o potassio, particolarmente un alcossido inferiore come metossido o etossido. L'uso di metossido di sodio o etossido di sodio viene preferito. Opportunamente, la 3',4'-epossidazione può essere condotta a temperatura ambiente, di solito a 15°-20°C per 1-3 ore. Si forma così un derivato protetto della 3',4'-anidro-4'-epi-kanamicina A di formula (I):



in cui R e Y hanno gli stessi significati come sopra definiti, con una simultanea eliminazione idrolitica

dei gruppi 2'- e 2"-acile (X).

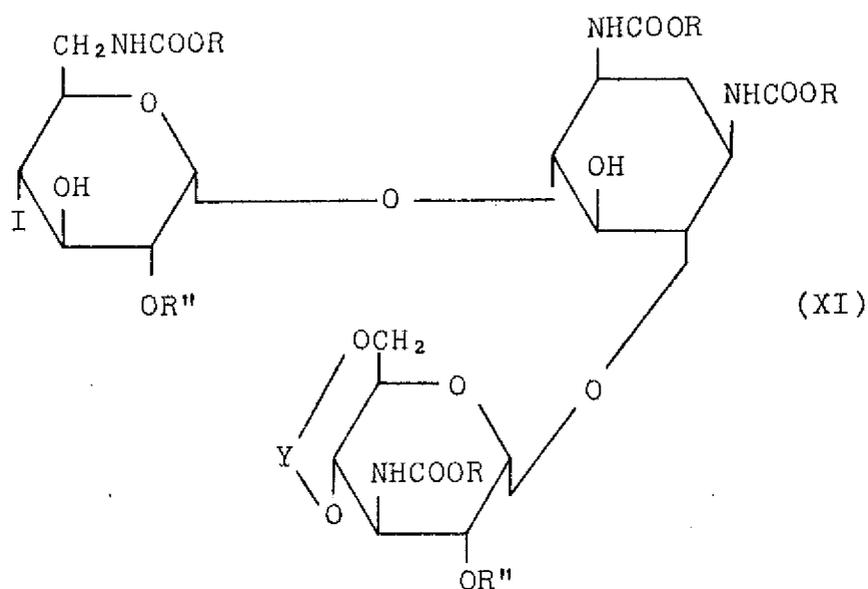
Il composto di formula (I) secondo questa invenzione può essere convertito nella 3',4'-dideossikanamicina A nello stesso modo come quello descritto nel Brevetto Giapponese KOKAI No. 71445/77 o nel Brevetto U.K. No. 1.537.905 summenzionati, trattando il composto di formula (I) con un xantato per formare un derivato protetto della 3',4'-dideossi-3,4'-dideidrokanamicina A, cioè la 3',4'-dideossi-3'-enokanamicina A di formula (X):



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti, rimuovendo i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo e quindi idrogenando la 3',4'-insaturazione.

Vi è un procedimento alternativo per la trasfor

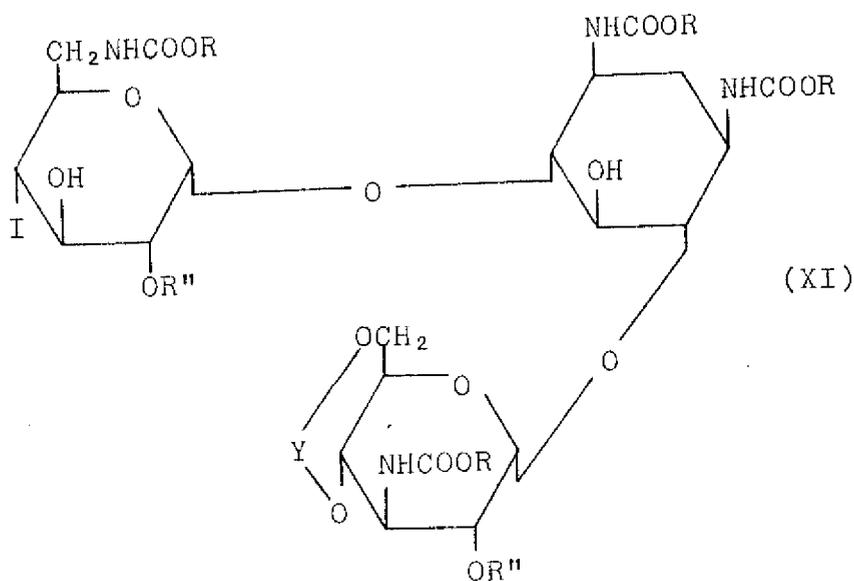
mazione del composto di formula (I) nella 3',4'-dideoossikanamicina A, il quale comprende le fasi: di proteggere i gruppi 2'- e 2"-idrossile del composto di formula (I) con un cloruro di acile, particolarmente un cloruro di acile come cloruro di benzoile in piridina; di trattare il 2', 2"-di-O-acil derivato così formato con ioduro di sodio, acetato di sodio e acido acetico in acetone secondo il procedimento descritto nel "Bull. Chem. Soc. Japan", 52, No. 4, 1131-1134 (1979) per dare luogo ad un derivato di iodoidrina di formula (XI):



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti e R'' rappresenta un gruppo acile; di trattare il composto risultante con cloruro di benzilsolfonile in piridina; di riscaldare il risultante benzil

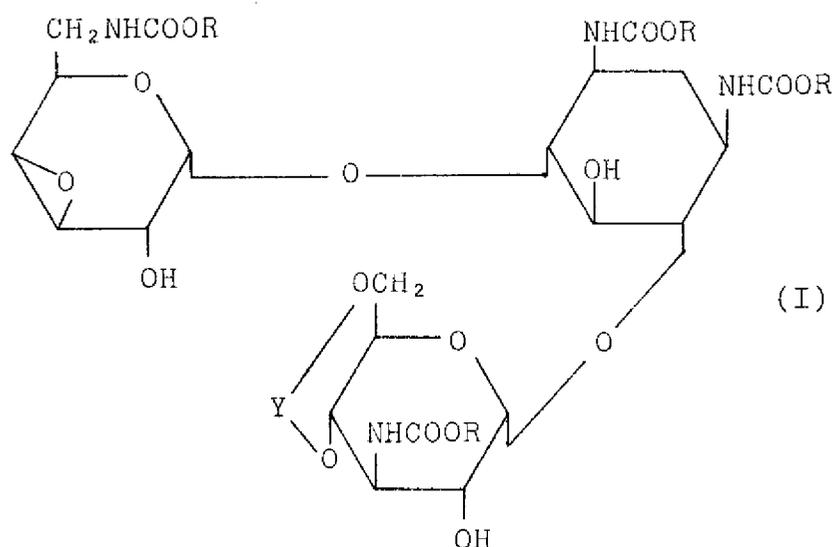
solfonilossi derivato a 90°C per 20-30 minuti per formare il corrispondente 3'-ene derivato; di rimuovere i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo per dare la 3'-ene-kanamicina A, e da ultimo di idrogenare il composto risultante per formare la 3',4'-dideoossikanamicina A. La 4'-deossikanamicina A può essere ottenuta idrogenando il derivato della iodoidrina in presenza di catalizzatore di nichel Raney e quindi rimuovendo i gruppi ammino-protettivo e idrossil-protettivo in un modo noto.

Secondo un ulteriore aspetto di questa invenzione, viene previsto un procedimento per la preparazione di un iodoidrin derivato della kanamicina A N,O-protetta di formula (XI):



in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o

arile, Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranylidene, e R'' rappresenta un gruppo acile, particolarmente un gruppo aroile, il quale comprende il far reagire un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A N,O-protetta di formula (I):



in cui R ed Y hanno gli stessi significati come sopra definiti, con un cloruro di acile, particolarmente un cloruro di aroile, in piridina per formare il corrispondente derivato 2',2"-di-O-acilato, e quindi il trattare il derivato 2',2"-di-O-acilato con ioduro di sodio, acetato di sodio e acido acetico in acetone.

Utilizzando il procedimento secondo questa invenzione, perciò, viene stabilito una nuova via per la preparazione della 3',4'-dideossikanamicina A e

della 4'-deossikanamicina A dalla kanamicina A attraverso il composto di formula (II) ed il composto di formula (I). Questo procedimento può ridurre le fasi di reazione fino alla preparazione del composto intermedio di formula (I) in confronto con i procedimenti dell'arte precedente, ed è quindi particolarmente vantaggioso in un'esecuzione industriale.

#### FORMA DI REALIZZAZIONE PREFERITA

Questa invenzione viene ulteriormente illustrata dall'esempio che segue, in cui sono date al completo tutte le fasi per la preparazione della 3',4'-di deossikanamicina A o della 4'-deossikanamicina A partendo dalla kanamicina A.

#### Esempio

(1) Preparazione della tetra-N-t-butossicarbonil kanamicina A.

Ad una soluzione di monosolfato di kanamicina A (17,5 g) e idrato di sodio (2,4 g) in una miscela di acqua (120 ml), trietilammina (36 ml) e diossano (200 ml), fu aggiunto con agitazione t-butil-S-(4,6-dimetil-piramidin-2-il)-tiol-carbonato (43,2 g) come reagente di introduzione del gruppo t-butossicarbonile e la miscela risultante fu agitata per una notte a temperatura ambiente. Una massa precipitata, così formata, fu lavata con acido cloridrico 1 N e quindi

con acqua e poi essiccata, producendo 20 g (75%) del composto del titolo.  $[\alpha]_D^{25} + 74,1^\circ$  (c = 1,0, dimetilformammide).

Analisi elementare:

Trovato: C, 50,92; H, 7,58; N, 6,45%

Calcolato per  $C_{38}H_{68}N_4O_{19}$  :

C, 51,56; H, 7,76; N, 6,33%

(2) Preparazione della 4", 6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (1) di cui sopra (10,5 g) fu disciolto in dimetilformammide (200 ml), a cui fu poi aggiunto 1,1-dimetossicicloesano (20 ml) ed acido p-toluensolfonico monoidrato (0,4 g), e la miscela risultante fu agitata a temperatura ambiente per 18 ore. La miscela di reazione fu neutralizzata con trietilammina, concentrata sotto vuoto e quindi versata in acqua (200 ml). Un precipitato così depositato fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato per produrre 11 g (96%) del composto del titolo.

$[\alpha]_D^{25} + 67,0^\circ$  (c = 1,0, piridina).

Analisi elementare:

Trovato: C, 53,82; H, 7,41; N, 5,25%

Calcolato per  $C_{44}H_{76}N_4O_{19}$  :

C, 54,25; H, 7,95; N, 5,81%

(3) Preparazione della 2',3',2"-tri-O-benzoil-4",  
6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (2) di cui sopra (11,4 g) fu disciolto in piridina (200 ml). Dopo che la soluzione fu raffreddata fino a 0-5°C, fu aggiunto cloruro di benzoile (5,6 ml) alla soluzione e la reazione fu condotta per 3 ore a 0-5°C. Il completamento della reazione fu confermato per mezzo della cromatografia in strato sottile (gel di silice, Merck & Co.). Quindi fu aggiunta acqua (5 ml) alla miscela di reazione per decomporre qualunque eccesso del cloruro di benzoile usato. Dopo che la miscela di reazione fu concentrata, essa fu versata in acqua (300 ml) ed un precipitato così depositato fu filtrato, ben lavato con idrogenocarbonato di sodio acquoso 1 N, quindi con acqua ed essiccato per produrre 14,8 g di un prodotto grezzo. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per dare 10,2 g (75%) del composto del titolo.  $\left[ \alpha \right]_D^{25} + 100,5^\circ$  (c= 1,1 cloroformio), p.f. 182-188°C.

Analisi elementare:

Trovato: C, 60,31; H, 6,74; N, 4,09%

Calcolato per  $C_{65}H_{88}N_4O_{22}$  :

C, 61,10; H, 6,96; N, 4,39%

(4) Preparazione della 2', 3', 2"-tri-O-benzoil-4", 6"-O-cicloesilidene-4'-O-mesil-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (3) di cui sopra (1,9 g) fu disciolto in piridina (30 ml), a cui fu poi aggiunto cloruro di mesile (0,4 ml), e la reazione fu condotta a temperatura ambiente per 3 ore. Fu aggiunta acqua (0,2 ml) alla miscela di reazione per decomporre qualunque eccesso del cloruro di mesile usato. Dopo che la miscela di reazione fu concentrata, essa fu versata in acqua (50 ml) e un precipitato così formatosi fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato per dare 2,0 g (quantitativo) del composto del titolo.  $\left[ \alpha \right]_D^{25} + 103,3^\circ$  (c = 1,0, cloroformio), p.f. 194-204°C (con decomposizione).

Analisi elementare:

Trovato: C, 58,45; H, 6,52; N, 4,23; S, 2,20%

Calcolato per  $C_6 H_9 O^N_4 O_2 4^S$  :

C, 58,47; H, 6,71; N 4,13; S, 2,36%

(5) Preparazione della 3',4'-anidro-4'-epi-4",6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Questa fase è il procedimento secondo questa invenzione.

Il composto ottenuto nella fase (4) di cui sopra (5,1 g) fu disciolto in metanolo (100 ml), a cui fu

aggiunto metilato di sodio (1,2 g), e la miscela fu agitata a temperatura ambiente per 2 ore per condurre la reazione. La miscela di reazione fu neutralizzata con acido cloridrico concentrato con raffreddamento sotto ghiaccio, concentrata e versata in acqua (200 ml). Il risultante precipitato fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato per dare 3,1 g (88%) di un prodotto grezzo. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per produrre il composto del titolo con le seguenti proprietà.  $[\alpha]_D^{25} + 54,1^\circ$  (c = 1,0, dimetilformammide), p.f. 190 - 207°C (con decomposizione).

Analisi elementare:

Trovato: C, 52,14; H, 7,60; N, 6,15%

Calcolato per  $C_3H_6N_4O_{18}$  :

C, 52,63; H, 7,69; N, 6,46%

(6) Preparazione della 3',4'-anidro-4'-epi-2',2"-di-O-benzoil-4",6"-O-cicloesilidene-tetra-N-t-butossi carbonilkanamicina A e successiva apertura di anello per la formazione del corrispondente 3'-idrossi-4'-deossi-4'-iodo, cioè iodoidrin, derivato.

Il composto ottenuto nella fase (5) di cui sopra (4,3 g) fu disciolto in piridina (45 ml), a cui fu aggiunto cloruro di benzoile (3 ml), e la reazione fu condotta a temperatura ambiente per 2 ore. Fu aggiun-

ta acqua (1 ml) alla miscela di reazione per decomporre l'eccesso di cloruro di benzoile, dopo di che la miscela di reazione fu concentrata e versata in acqua (100 ml). Il precipitato risultante fu filtrato, lavato con idrogenocarbonato acquoso di sodio 1 N, con acqua ed essiccato. Il prodotto essiccato, senza essere purificato, fu disciolto in acetone (4,5 ml), al quale furono poi aggiunti acido acetico (3,3 ml), acetato di sodio (0,2 g) e ioduro di sodio (5,8 g), e la reazione fu condotta sotto riflusso per 4 ore. La miscela di reazione fu lasciata raffreddare a temperatura ambiente, concentrata e versata in acqua (200 ml). Una massa precipitata fu filtrata, lavata con acqua ed essiccata per produrre 5,5 g di un prodotto grezzo. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per dare 3,9 g (71%) del iodoidrin derivato del titolo.

Analisi elementare:

Trovato: I, 9,31%

Calcolato per  $C_{52}H_{75}N_4O_{20}$  I:

I, 9,84%

(7) Preparazione della 2',2"-di-O-benzoil-4",6"-O-cicloesilidene-3'-eno-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A

Il composto ottenuto nella fase (6) di cui sopra (2,6 g) fu disciolto in piridina (50 ml), e la solu-

zione fu raffreddata mediante ghiaccio, e ad essa fu aggiunto cloruro di benzilsolfonile (1,5 g), e la reazione fu condotta per 1 ora sotto raffreddamento mediante ghiaccio. Fu aggiunta acqua (0,5 ml) per decomporre l'eccesso del cloruro di benzilsolfonile usato e la miscela di reazione fu trattata a 90°C per 1 ora, lasciata raffreddare a temperatura ambiente, concentrata e quindi versata in acqua (200 ml). Il precipitato risultante fu filtrato, lavato con acqua ed essiccato per produrre 2,1 g di un prodotto grezzo. Questo fu purificato per mezzo di cromatografia su gel di silice per dare 1,3 g (56%) del composto del titolo.  $[\alpha]_D^{25} + 19,1^\circ$  (c = 1,0, cloroformio), p.f. 221 - 226°C (con decomposizione).

Analisi elementare:

Trovato: C, 61,78; H, 7,31; N, 4,45%

Calcolato per  $C_5H_8N_4O_{19}$  :

C, 61,13; H, 7,27; N, 4,92%

(8) Preparazione della 3'-eno-kanamicina A

Ad una soluzione del composto ottenuto nella fase (7) di cui sopra (1,1 g) in metanolo (20 ml), fu aggiunto metossido di sodio (0,3 g). La reazione fu condotta a temperatura ambiente per 1 ora e quindi a 50°C per 2 ore con l'aggiunta di acido cloridrico 6N (5 ml). La miscela di reazione fu neutralizzata con

idrato di sodio acquoso 2N con raffreddamento mediante ghiaccio, concentrata, disciolta in acqua (50 ml) ed adsorbita su di una colonna di 30 ml di Amberlite CG-50 ( $\text{NH}_4^+$ ) (l'Amberlite è il marchio di fabbrica registrato per le resine a scambio ionico vendute dalla Rohm & Haas Co.). La purificazione cromatografica fu effettuata con ammoniaca in soluzione acquosa 0,3N come eluente, producendo 0,34 g (75%) del composto del titolo.  $\left[ \alpha \right]_D^{25} + 52,1$  ( $c = 1,0$ , acqua).

Analisi elementare:

Trovato: C, 44,36; H, 7,21; N, 10,54%

Calcolato per  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$  :

C, 44,51; H, 7,09; N, 10,93%

(9) Preparazione della 3',4'-dideossikanamicina A

La 3'-eno-kanamicina A ottenuta nella fase (8) di cui sopra (200 ml) fu disciolta in acqua (100 ml). Fu aggiunto alla soluzione ossido di platino (15 mg) e fu fatto passare idrogeno attraverso la soluzione a temperatura ambiente e a pressione atmosferica per 2 ore. Il catalizzatore fu rimosso per mezzo di filtrazione per produrre 185 mg di 3',4'-dideossikanamicina A.

(10) Preparazione della 4'-deossikanamicina A

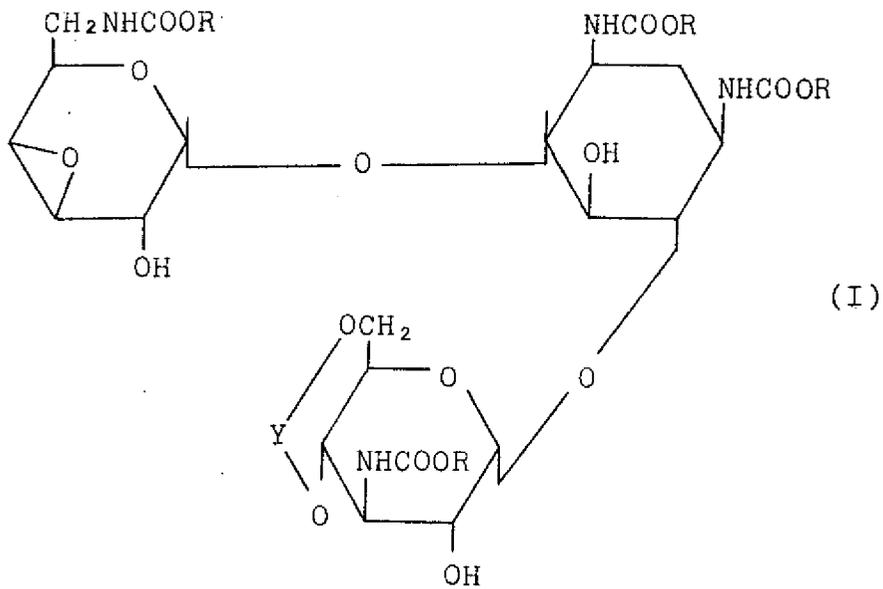
Il derivato di iodoidrina ottenuto nella fase (6) di cui sopra (550 mg) fu disciolto in metanolo (10 ml),

a cui furono quindi aggiunti diossano (10 ml) e acqua (5 ml). Fu aggiunto nichel Raney (2,3 g) alla soluzione per dar luogo alla reazione di riduzione a pressione atmosferica. Dopo la rimozione del catalizzatore per mezzo di filtrazione, fu aggiunto metilato di sodio (60 mg) alla soluzione di reazione, e la miscela fu lasciata riposare a temperatura ambiente per 2 ore, quindi neutralizzata con acido cloridrico 1N e concentrata fino all'essiccazione. Il residuo fu lavato con acqua e aggiunto ad acido trifluoroacetico al 95% (4,5 ml), e la miscela fu lasciata riposare a temperatura ambiente per 30 minuti. La soluzione di reazione fu concentrata fino all'essiccazione e il residuo fu disciolto in acqua (13 ml). La soluzione, che fu regolata per un pH 7,5 con l'aggiunta di soluzione acquosa di idrato di sodio 4N fu adsorbita su Amberlite CG-50 ( $\text{NH}_4^+$ ) (6 ml). La resina fu lavata con acqua e quindi eluita con ammoniaca in soluzione acquosa 0,3N. L'eluato fu concentrato fino ad essiccazione per produrre 105 mg di 4'-deossikanamicina A. Ciò corrisponde ad un campione autentico del composto descritto nella letteratura.

#### RIVENDICAZIONI

1) 3',4'-Anidro-4'-epi derivati della kanamicina

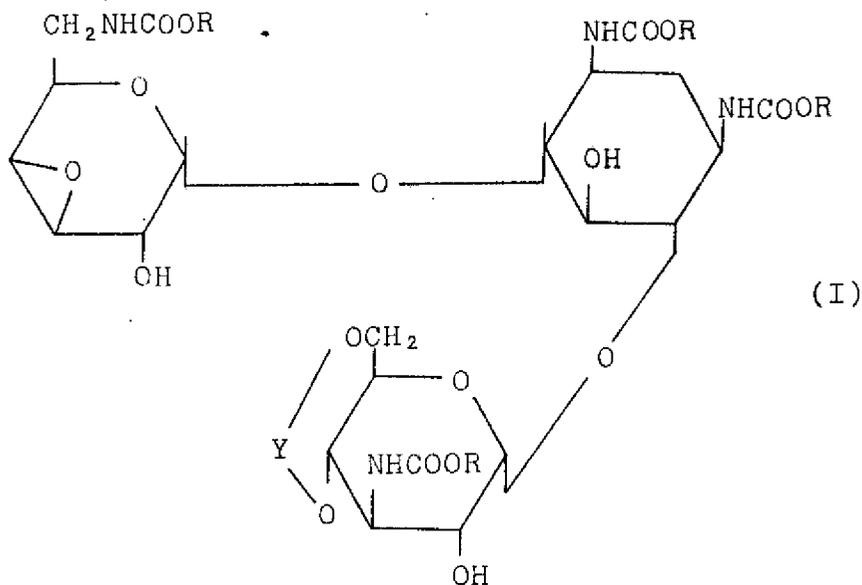
A di formula:



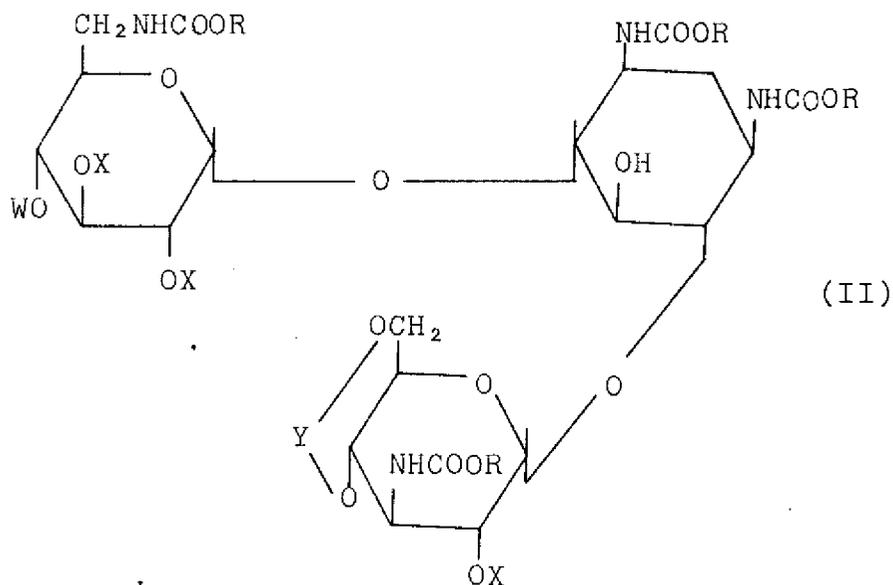
in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile e Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene.

2) La 3',4'-Anidro-4'-epi-4", 6"-O-ciclooesilidene-tetra-N-t-butossicarbonilkanamicina A.

3) Un procedimento per la preparazione di 3',4'-anidro-4'-epi derivati della kanamicina A di formula:

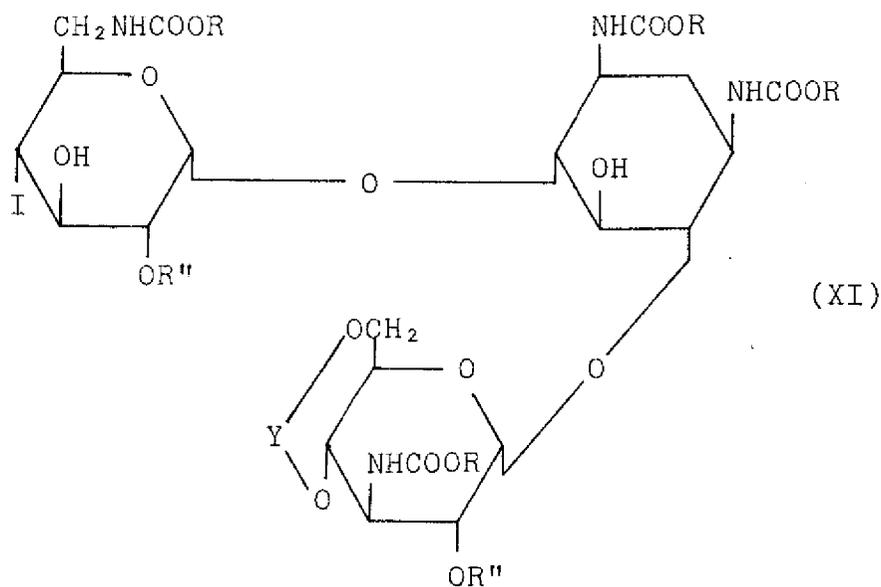


in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile e Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranylidene, il quale comprende il trattamento di un 4'-O-solfonil derivato della kanamicina A di formula:

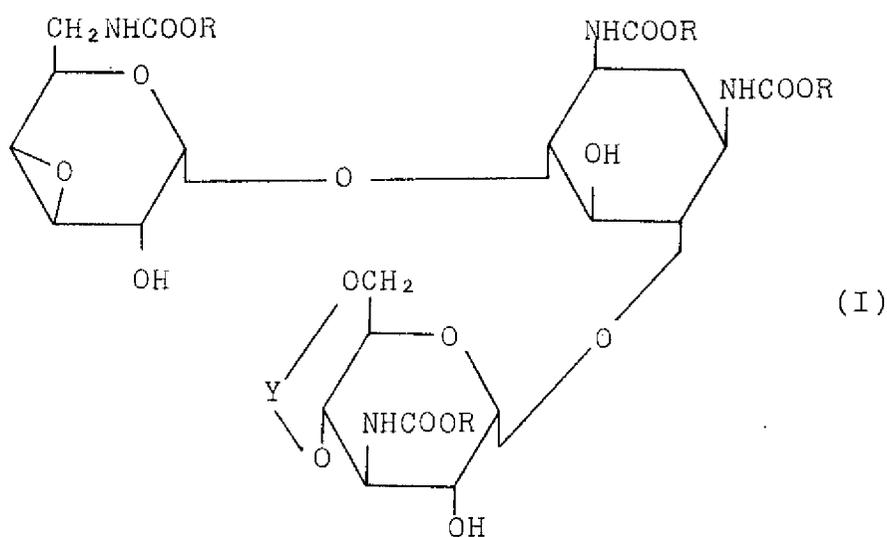


in cui R ed Y hanno gli stessi significati di cui sopra, W rappresenta un gruppo mesile, tosile o benzilsolfonile e X rappresenta un gruppo alcanoile o aroile, con un alcoolato di metallo alcalino in un alcanolo inferiore in una condizione alcalina.

4) Un procedimento per la preparazione di un iodidrin derivato della kanamicina A N,O-protetta avente la formula:



in cui R rappresenta un gruppo alchile, aralchile o arile, Y rappresenta un gruppo alchilidene, aralchilidene, cicloalchilidene o tetraidropiranilidene, e R'' rappresenta un gruppo acile, il quale comprende la reazione di un 3',4'-anidro-4'-epi derivato della kanamicina A N,O-protetta di formula:



in cui R ed Y hanno gli stessi significati di cui sopra, con un cloruro di acile in piridina per formare il corrispondente derivato 2', 2"-di-O-acilato, e quindi il trattamento del derivato 2', 2"-di-O-acilato con ioduro di sodio, acetato di sodio e acido acetico in acetone.

**FIRENZE 24 FEB. 1981**

**UFFICIO TECNICO ING. A. MARRUCCI**

*[Handwritten signature]*  
**PER INCARICO**



**L'UFFICIALE ROGANTE**

*[Handwritten signature]*