

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

②①

N° 81 06816

⑤④ Nouvel antibiotique aminoglycosidique dérivé de l'istamycine A, procédé de préparation et compositions pharmaceutiques le renfermant.

⑤① Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 H 15/22; A 01 N 43/16; A 61 K 31/71.

②② Date de dépôt 27 mars 1981.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée : Japon, 28 mars 1980, n° 38889/80.

④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 46 du 13-11-1981.

⑦① Déposant : ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI, société de droit japonais,
résidant au Japon.

⑦② Invention de : Hamao Umezawa, Shinichi Kondo et Daishiro Ikeda.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Cabinet Germain et Maureau,
Le Britannia, Tour C, 20, bd E.-Déruelle, 69003 Lyon.

L'invention concerne un nouveau dérivé de l'istamycine A, la di-N^{6'},O³-déméthylistamycine A (c'est -à-dire la 6'-N,3-O-didéméthylistamycine A) qui est un antibiotique aminoglycosidique synthétique utile comme agent
5 antibactérien, ainsi qu'un procédé pour sa préparation et ses utilisations thérapeutiques.

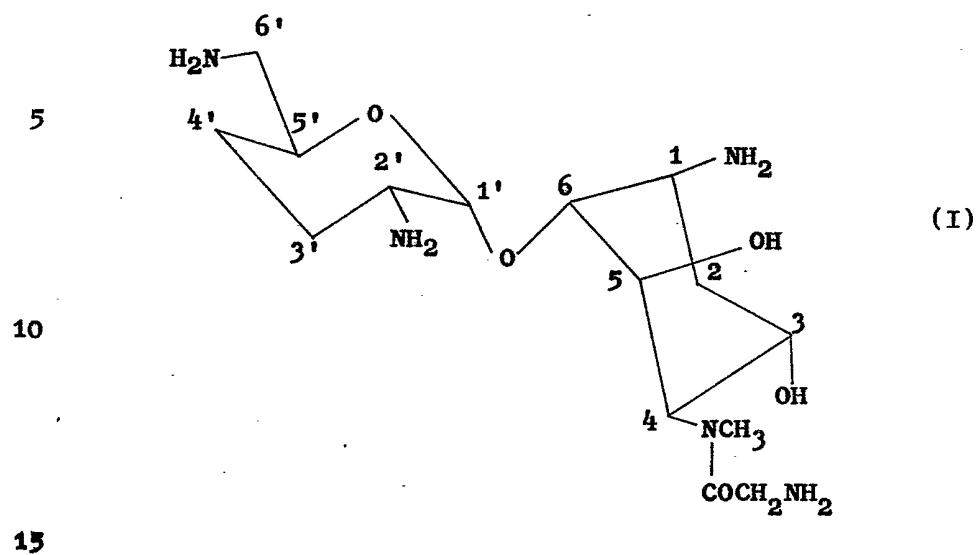
La demanderesse a déjà décrit et revendiqué de nouveaux antibiotiques utiles, l'istamycine A et l'istamycine B, produits par culture d'une nouvelle espèce de Streptomyces, la souche Streptomyces tenjimariensis SS 939
10 (FERM-P 4932 ou ATCC 31603) qui sont hautement actifs vis-à-vis de toute une variété de bactéries gram-négatives et gram-positives (Cf. le "Journal of Antibiotics", 32, 964-966 Septembre 1979, demande de brevet anglais 2 048 855 A
15 publiée le 17 décembre 1980). Elle a étudié de façon approfondie la production synthétique de l'istamycine A en partant de la 3',4'-didésoxynéamine (Cf. "Journal of Antibiotics", 32, 1365-1366 (1979)). Lors de prolongement de cette étude, les inventeurs ont préparé avec succès
20 un nouveau dérivé de l'istamycine A, la di-N^{6'},O³-déméthylistamycine A et ils ont découvert que ce produit présente une activité antibactérienne élevée vis-à-vis de toute une gamme de bactéries gram-négatives et gram-positives et particulièrement sont plus actifs vis-à-vis de Pseudomonas
25 aeruginosa que l'istamycine.

L'invention a donc tout d'abord pour objet un nouveau dérivé antibiotique de l'istamycine A qui est utile comme agent antibactérien pour le traitement thérapeutique des affections bactériennes chez l'homme ainsi que pour la stérilisation du matériel et des instruments chirurgicaux.
30 L'invention a également pour objet un procédé pour la synthèse de ce nouveau dérivé antibiotique de l'istamycine A. Elle a enfin pour objet une composition pharmaceutique renfermant, comme ingrédient actif, le nouveau dérivé antibiotique de l'istamycine A.
35

L'invention a donc tout d'abord pour objet une nouvelle substance antibiotique, la di-N^{6'},O³-déméthylistamycine A.

2

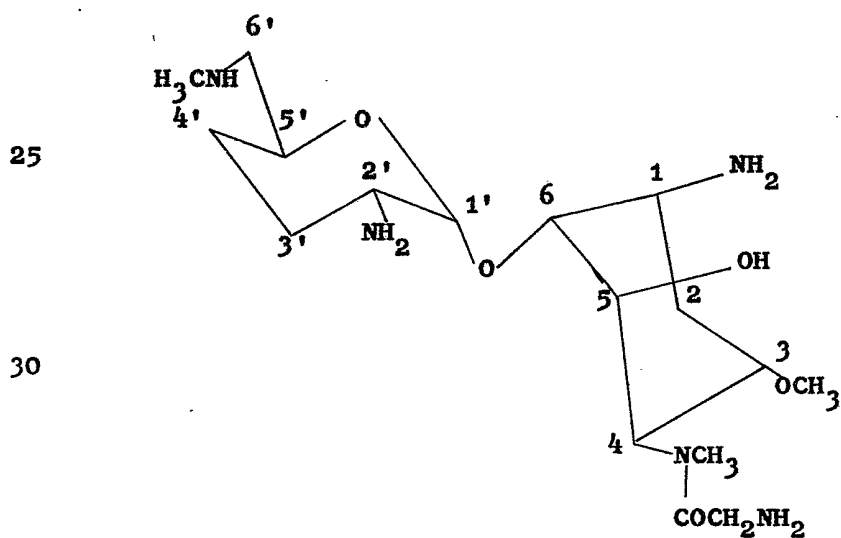
cine A de formule développée :



ainsi que ses sels d'addition acide.

L'istamycine A présente la formule développée suivante :

20



35

Le composé de formule I correspond donc à un dérivé de l'istamycine A dont on a éliminé les deux groupes méthyl du groupe méthoxy en position 3 et du groupe méthyl-

amino en position 6'.

Le nouveau composé de formule I selon l'invention présente les propriétés physico-chimiques et biologiques suivantes :

- 5 Le monocarbonate de di-N^{6'},O³-déméthylistamycine A se trouve sous forme d'une poudre incolore sans point de fusion défini, qui se décompose à 138-145°C, donne une rotation optique spécifique de $[\alpha]_D^{22} + 136^\circ$ (C 0,36 dans l'eau) ; les résultats de l'analyse élémentaire sont les
- 10 suivants : Trouvé : C 45,39 ; H 7,63 ; N 16,42 %, ce qui correspond aux valeurs théoriques de $C_{15}H_{31}N_5O_5 \cdot H_2CO_3$ (C 45,38 ; H 7,85 ; N 16,54 %). La spectrométrie de masse du monocarbonate montre le pic de $(M + 1)^+$ à m/e = 362 et la chromatographie en couche mince sur gel de silice
- 15 une tache unique (positive à la ninhydrine) à Rf 0,06, avec développement avec la phase inférieure d'un mélange chloroforme-méthanol-ammoniaque à 28 % (2:1:1 en volume) ou à Rf 0,46 avec développement avec un mélange butanol-éthanol-chloroforme-ammoniaque à 17 % (4:5:2:5 en volume).
- 20 Le composé de formule I présente une activité antibactérienne élevée vis-à-vis d'une gamme importante de bactéries gram-négatives et gram-positives, comme il ressort des spectres antibactériens rassemblés à la Table I ci-après, ceux de l'istamycine A étant également indiqués à
- 25 titre de comparaison. Les concentrations inhibitoires minimum ont été déterminées selon une méthode standard de dilution en série sur plaques d'agar nutritif incubées à 37°C pendant 17 heures. Les résultats de la table I révèlent que la di-déméthylistamycine A selon l'invention est
- 30 nettement plus active que l'istamycine A vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa.

TABLE 1

Microorganismes d'essais	Concentrations inhibitoires Minimum (mcg/ml)	
	Di-déméthyl- istamycine A	Istamycine A
<u>Staphylococcus aureus</u> FDA 209P	1,56	0,78
" " Smith	< 0,20	< 0,20
" " Ap01	1,56	0,78
<u>Staphylococcus epidermidis</u> 109	1,56	0,78
<u>Micrococcus flavus</u> FDA 16	3,13	3,13
<u>Sarcina lutea</u> PCI 1001	0,78	0,20
<u>Bacillus anthracis</u>	0,39	< 0,20
<u>Bacillus subtilis</u> PCI 219	< 0,20	< 0,20
" " NRRL B-558	< 0,20	0,39
<u>Bacillus cereus</u> ATCC 10702	3,13	3,13
<u>Corynebacterium bovis</u> 1810	1,56	1,56
<u>Mycobacterium smegmatis</u> ATCC 607	0,39	1,56
<u>Escherichia coli</u> NIHJ	6,25	3,13
" " K-12	6,25	1,56
" " K-12 R5	100	3,13
" " K-12 R 388	1,56	0,78
" " K-12 J5R11-2	3,13	3,13
" " K-12 ML 1629	3,13	3,13
" " K-12 ML 1630	12,5	3,13
" " K-12 ML 1410	6,25	3,13
" " K-12 ML1410 R81	3,13	1,56
" " K-12 LA290 R55	12,5	3,13
" " K-12 LA290 R56	3,13	1,56
" " K-12 LA290 R 64	3,13	1,56
" " W677	3,13	1,56
" " JR66/W677	6,25	3,13
" " K-12 C600 R135	>100	>100
" " JR 225	3,13	1,56
<u>Klebsiella pneumoniae</u> PC 1602	3,13	1,56
" " 22 # 3038	12,5	3,13
<u>Shigella dysenteriae</u> JS 11910	12,5	3,13

.../...

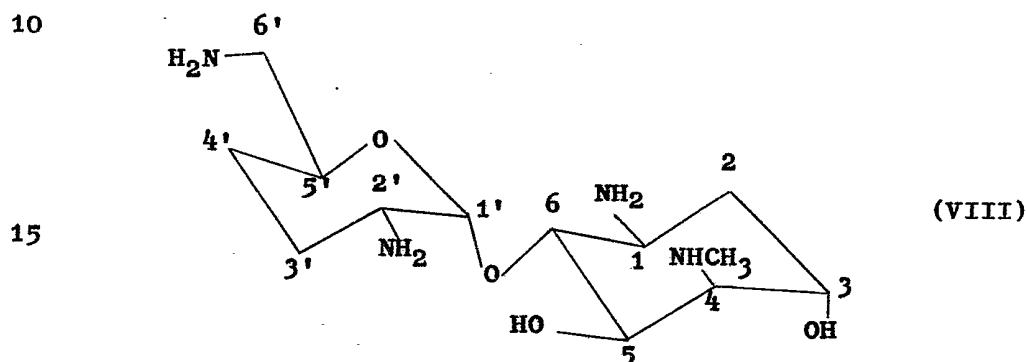
5

	<u>Shigella flexneri</u> 4B JS 11811	12,5	6,25
	<u>Shigella sonnei</u> JS 11756	6,25	6,25
	<u>Salmonella typhi</u> T-63	3,13	0,78
	<u>Salmonella enteritidis</u> 1891	6,25	3,13
5	<u>Proteus vulgaris</u> OX19	1,56	0,78
	<u>Proteus rettgeri</u> GN311	50	25
	" " GN466	12,5	6,25
	<u>Serratia marcescens</u>	12,5	6,25
	<u>Serratia</u> sp. SOU	>100	>100
10	<u>Serratia</u> sp. 4	50	50
	<u>Providencia</u> sp. Pv16	12,5	6,25
	<u>Providencia</u> sp. 2991	12,5	25
	<u>Pseudomonas aeruginosa</u> A3	3,13	6,25
	" " N°12	25	100
15	" " H9	12,5	25
	" " H11	50	100
	" " TI-13	12,5	25
	" " GN 315	25	25
	" " 99	>100	>100
20	" " B-13	>100	>100
	" " 21-75	>100	>100
	" " PST 1	50	100
	" " ROS 134/ PV 21	50	100
25	" " K-Ps 102	12,5	50
	<u>Pseudomonas maltophilia</u> GN 907	>100	>100

Le composé selon l'invention, la di-N^{6'},O³-déméthyl-istamycine A, est habituellement obtenu sous forme de base libre ou d'hydrate ou de carbonate qui peut être transformé en tout sel d'addition acide pharmaceutiquement acceptable par réaction, de façon classique, avec un acide pharmaceutiquement acceptable. Comme exemple d'acide pharmaceutiquement acceptable utilisable dans ce but, on peut citer les acides minéraux tels que les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique, phosphorique et nitrique, et les acides organiques tels que les acides

acétique, maléique, citrique, ascorbique et méthane-sulfonique.

L'invention a également pour objet un procédé de préparation du composé de formule I qui consiste à bloquer simultanément avec un groupe amino-protecteur les trois groupes amino en position 1, 2' et 6' du composé de formule développée :



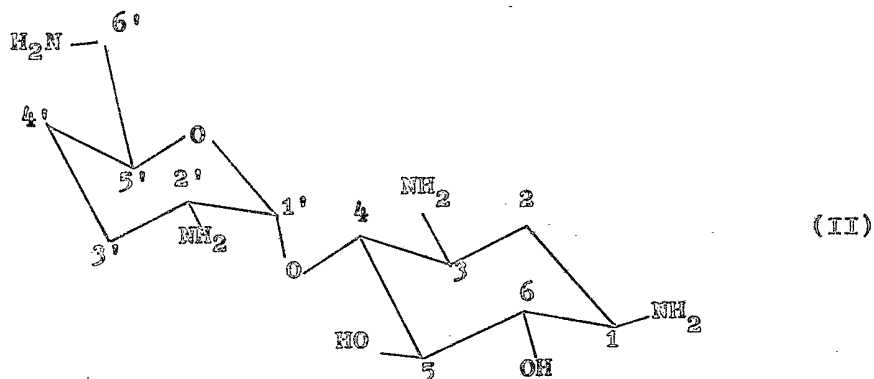
20

à faire réagir le dérivé tri-N protégé obtenu avec la glycine ou une glycine N-protégée dont le groupe amino a été bloqué avec un groupe amino-protecteur, ou avec un équivalent fonctionnel de ladite glycine pour acyler le groupe méthylamino non protégé en position 4 du composé (VIII) et à éliminer tous les groupes amino-protecteurs restant du produit d'acylation. Le procédé selon l'invention peut comporter une étape de transformation du composé (I) ainsi obtenu en son sel d'addition acide ou en transformant un sel d'addition acide du composé en base libre ou en un autre sel d'addition acide par une méthode classique.

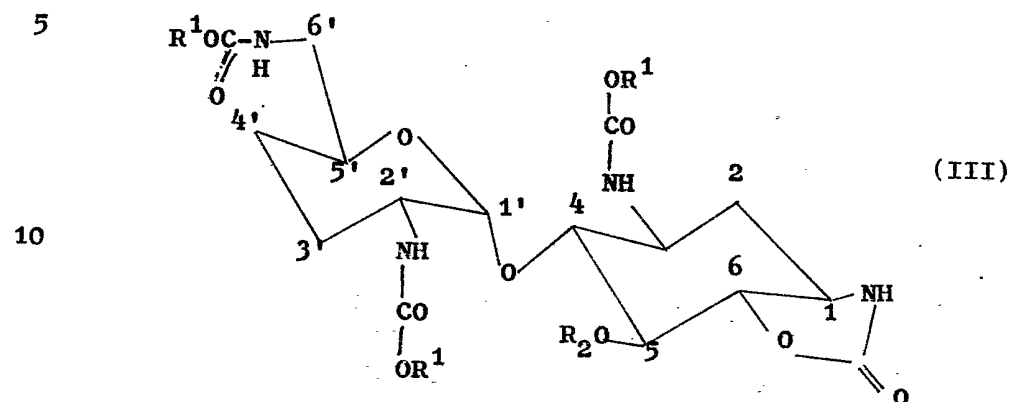
Le composé de départ de formule (VIII) à utiliser dans le présent procédé, qui est la N⁴-déglycyl-di-N^{6'},O³-déméthyl-istamycine A peut être préparé à partir de la

3',4'-didésoxynéamine qui, à son tour, peut être obtenue par une technique connue comme décrit dans le "Journal of Antibiotics" 24, 711-712 (1971) ou le "Bulletin of the Chemical Society of Japan" 46, 3507-3510 (1973).

La méthode de préparation du composé initial (VIII) est résumée ci-après. Les quatre groupes amino existant dans la 3',4'-di-désoxynéamine de formule :



sont bloqués avec un groupe amino-protecteur du type formateur d'uréthane puis transformés en dérivé carbamate cyclique en 1,6 du composé N-protégé (II) par traitement avec une base telle qu'un hydruure de métal alcalin. Le groupe hydroxy en position 5 du dérivé carbamate cyclique en 1,6 est bloqué avec un groupe hydroxy-protecteur pour donner un composé de formule :



15

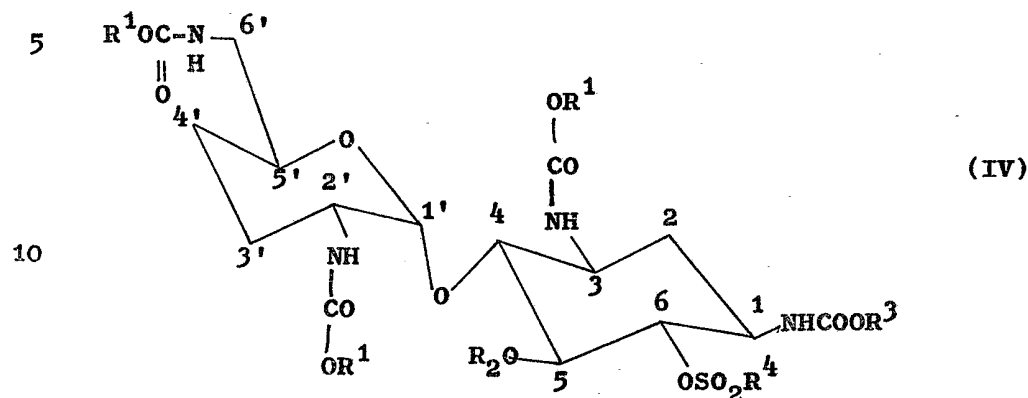
20

25

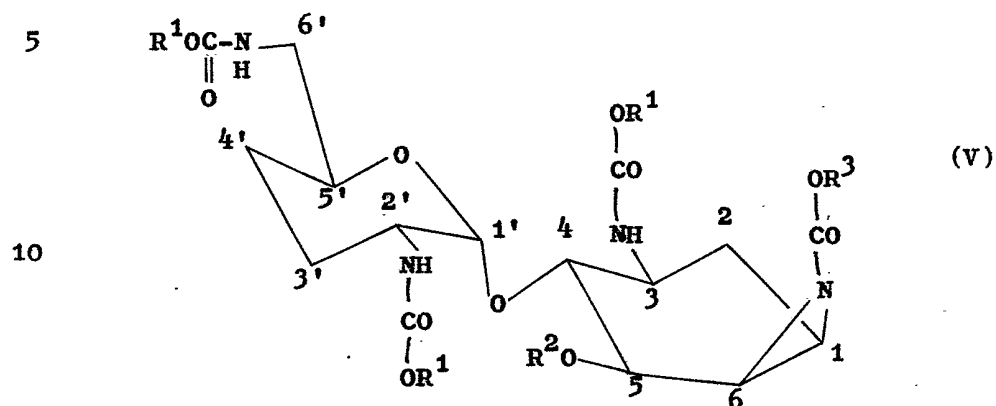
30

35

dans laquelle chaque R^1OCO représente un groupe amino-protecteur monovalent du type formateur d'uréthane, R^1 étant un groupe alkyl (par ex. de 1 à 6 atomes de carbone), un groupe cycloalkyl (par exemple de 5 à 6 atomes de carbone) ou un groupe aralkyl (par ex. alkyl-phényl- C_{1-4} tel que le benzyl) et R^2 représente un groupe alkyl (par ex. de 1 à 6 atomes de carbone), un groupe benzyl ou tétrahydropyranyl en tant que groupe hydroxy-protecteur. On traite ensuite le composé de formule (III) avec une base telle qu'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium ou de baryum pour hydrolyser l'anneau carbamate cyclique en 1,6, opération que l'on fait suivre d'une protection du groupe amino libre en position 1 obtenu avec un groupe amino-protecteur de type formateur d'uréthane différent du groupe R^1OCO - précédemment mentionné et d'une sulfonylation du groupe hydroxy libre en position 6 obtenu avec un réactif de sulfonylation de formule R^4SO_3H ou un équivalent réactif pour obtenir un composé de formule générale :

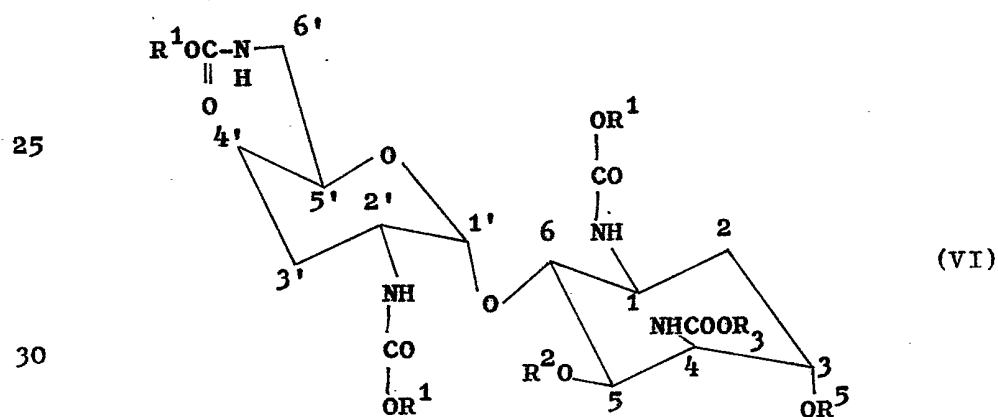


15 dans laquelle R^1 et R^2 ont les significations mentionnées
 ci-avant, $R^3\text{OCO}-$ est le groupe amino-protecteur monova-
 lent du type formateur d'uréthane dans lequel R^3 est un
 groupe alkyl (par ex. de 1 à 6 atomes de carbone), un
 20 groupe cycloalkyl (par ex. de 5 à 6 atomes de carbone) ou
 un groupe aralkyl (par ex. benzyl), mais différent du
 groupe R^1 , et R^4 est un groupe alkyl (par ex. de 1 à 4
 atomes de carbone), aryl (par ex. phényl ou méthylphényl)
 ou aralkyl (par ex. benzyl). Le composé de formule (IV)
 25 est alors traité avec une base telle qu'un alcoolate de mé-
 tal alcalin pour former un composé portant un anneau aziri-
 dine de formule générale :



15

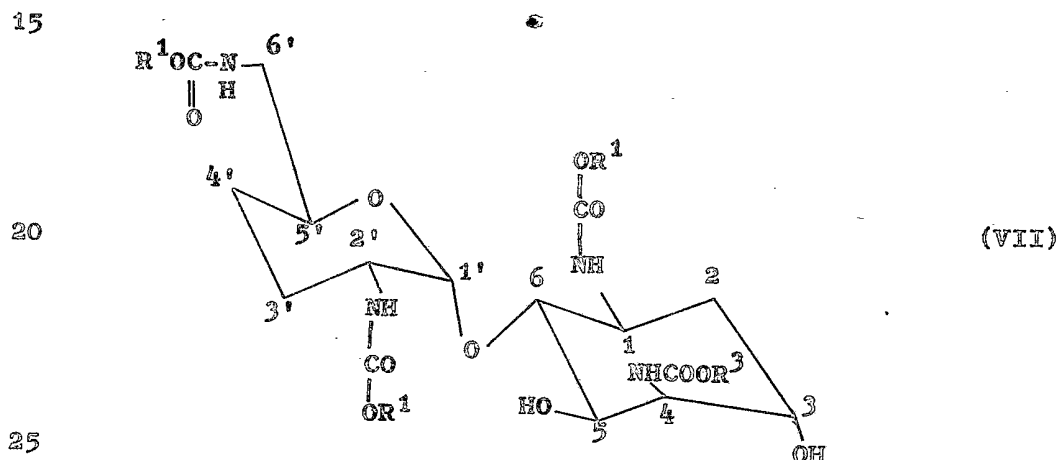
dans laquelle R^1 , R^2 et R^3 ont les définitions ci -avant.
 Le composé de formule (V) est ensuite traité avec un sel
 de métal alcalin d'un acide organique tel qu'un acide al-
 canoïque inférieur ou l'acide benzoïque pour ouvrir l'an-
 20 neau aziridinique, ce qui donne un composé de formule :



35

dans laquelle R^1 , R^2 et R^3 ont les définitions ci-avant et

et R^5 est un groupe acyl tel que le groupe alcanoyl ou benzoyl qui vient de l'acide organique employé. Les groupes hydroxy-protecteurs (R^2 et R^5) aux positions 3- et 5 du composé (VI) sont éliminés de ce dernier de façon classique. Si nécessaire, c'est-à-dire si le groupe amino-protecteur en 4, $-COOR^3$ a été éliminé pendant le traitement avec le sel de métal alcalin de l'acide organique ou en même temps qu'ont été éliminés les groupes hydroxy-protecteurs (R^2 et R^5), on introduit un autre groupe amino-protecteur ($-COOR^3$) du type formateur d'uréthane dans le groupe amino libre en 4 pour obtenir un composé de formule générale :

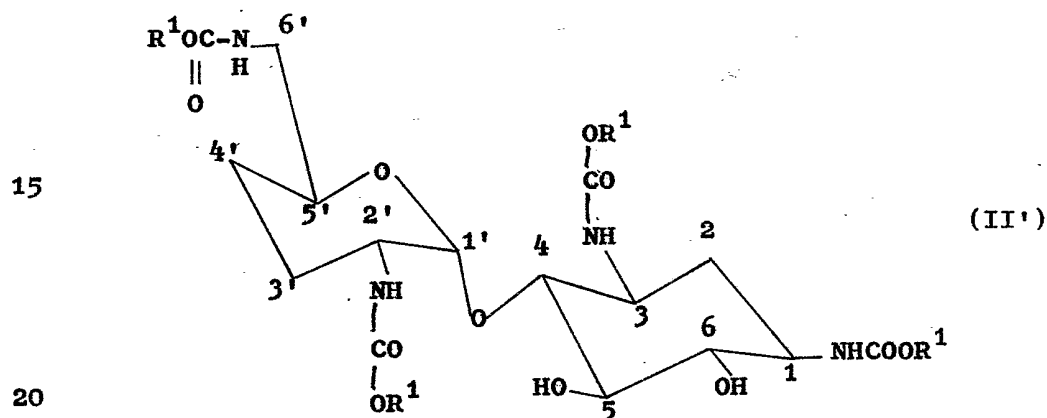


dans laquelle R^1 et R^3 ont les significations données ci-avant. Les groupes amino-protecteurs ($-COOR^1$) en position 1-, 2' et 6' du composé (VII) sont ensuite éliminés de façon classique, mais en maintenant à l'état déprotégé le groupe amino-protecteur en 4 ($-COOR^3$), puis on réduit avec un hydrure métallique pour transformer le groupe amino-protégé en 4 ($-NHCOOR^3$) en groupe 4-méthylamino. On obtient ainsi le composé de formule (VIII).

On décrit ci-après un mode de réalisation avantageuse de la méthode de préparation du composé de départ (VIII).

Dans la première étape les quatre groupes amino en positions 1-, 3-, 2'- et 6'- de la 3',4'-didésoxynéamine de formule II sont bloqués avec un groupe amino-protecteur connu du type formateur d'uréthane pour donner un dérivé N-protégé de 3',4'-didésoxynéamine de formule générale :

10

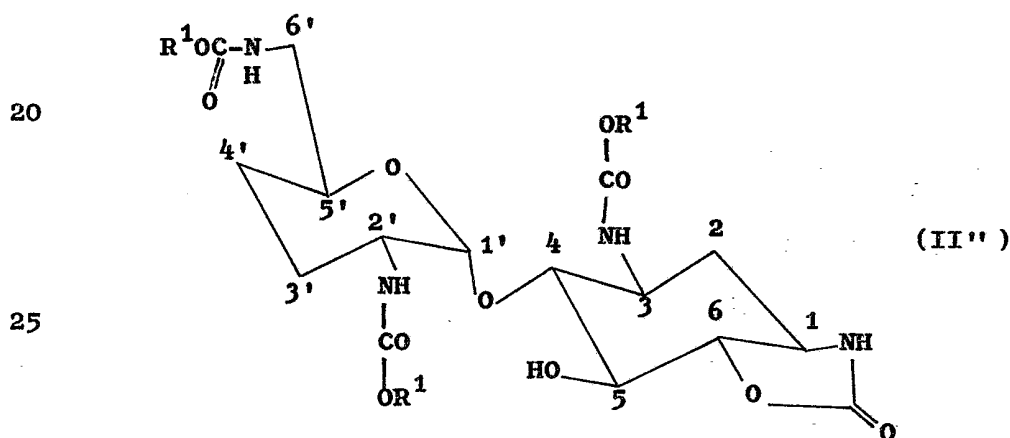


20

dans laquelle chaque R^1-OCOO est un groupe amino-protecteur monovalent du type formateur d'uréthane dans lequel R^1 est un groupe alkyl, cycloalkyl ou aralkyl comme décrit ci-avant. Le groupe amino-protecteur à utiliser dans ce but est un groupe capable de réagir avec le groupe hydroxy adjacent (quand il existe) pour former un anneau carbamate cyclique quand il sera traité avec une base dans l'étape suivante. Comme exemples de groupe amino-protecteur convenant dans ce but on peut citer les groupes alkyloxycarbonyl de 2 à 7 atomes de carbone tels que les groupes tert-butoxycarbonyl et tert-amylloxycarbonyl ; les groupes cycloalkyloxycarbonyl de 6 à 7 atomes de carbone tels que les groupes cyclohexyloxycarbonyl et aralkyloxycarbonyl tels que les groupes benzyloxycarbonyl et para-méthoxybenzyloxy-

carbonyl. Parmi ceux-ci on préfère utiliser un groupe amino-protecteur du type formateur d'uréthane qui soit facilement éliminable sans couper le groupe amino-protecteur $-COOR^3$ que l'on introduira plus tard dans le groupe amino en 1 du composé de formule (IV). On recommande à cet effet de choisir un groupe aralkyloxycarbonyl que l'on puisse éliminer par hydrogénolyse. L'introduction du groupe amino-protecteur $-OCOR^1$ peut être facilement effectuée par tout processus classique, par exemple par réaction avec un réactif amino-protecteur connu sous forme d'un halogénure d'acide, d'un azide d'acide ou d'un ester actif.

Dans la seconde étape, le composé de formule (II') est traité avec une base telle qu'un hydrure métallique pour donner un composé sous la forme d'un carbamate cyclique en 1,6 ayant la formule suivante :

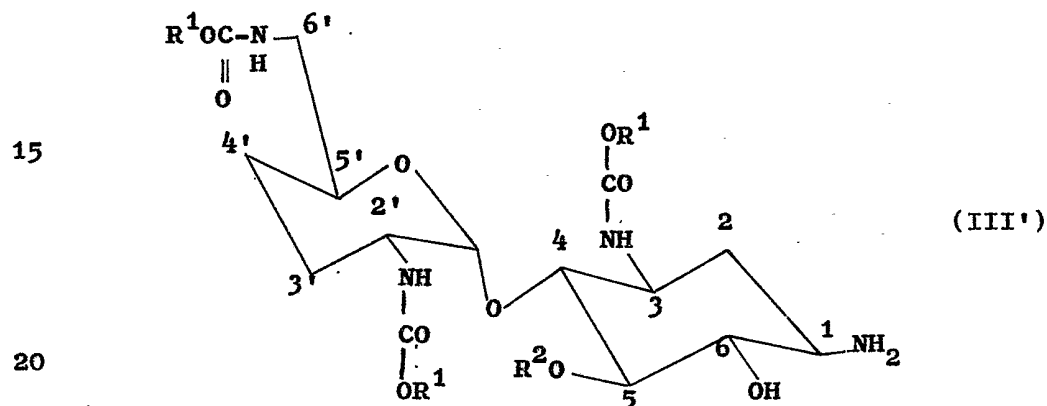


dans laquelle R^1 a la définition ci-avant. Parmi les quatre groupes amino-protecteurs du composé N-protégé (II'), le groupe amino-protecteur en position I réagit facilement même à basse température, par exemple en-dessous de 0°C avec le groupe hydroxy adjacent en position 6 pour former le carbamate cyclique quand il est traité avec une base telle qu'un hydrure de métal alcalin, par ex. l'hydrure

de sodium ou l'hydrure de lithium dans un solvant organique approprié tel que le diméthylformamide anhydre.

Dans la troisième étape, le groupe hydroxy en position 5 du composé carbamate cyclique (II'') est bloqué avec un groupe hydroxy-protecteur connu, de façon classique, pour donner un composé de formule (III) donnée ci-avant. Cette étape est suivie par un traitement avec un produit alcalin aqueux pour hydrolyser l'anneau carbamate cyclique en 1,6 ce qui donne un composé de formule :

10



20

25

30

35

Le groupe protecteur (R^2) qui bloque le groupe hydroxy en 5 du composé II'' doit être insensible aux conditions dans lesquelles doit être effectuée ladite hydrolyse alcaline du composé carbamate cyclique en 1,6 (III). Parmi les groupes hydroxy-protecteurs connus, on choisit ceux du type éther tels que les alkyl-éthers et les benzyl-éthers, et ceux du type acétal tels que le tétrahydropyranyl, tous ces groupes pouvant être introduits dans le groupe hydroxy en 5 par toute technique connue d'hydroxy-protection. En particulier, pour le groupe hydroxy-protecteur R^2 , on préfère utiliser le groupe tétrahydropyranyl qui est facilement éliminable par hydrolyse en conditions acides modérées.

L'hydrolyse subséquente du carbamate cyclique en 1,6 (III) peut être effectuée par traitement dans une solution aqueuse diluée d'un hydroxyde de métal alcalin ou alcalino-terreux tel que l'hydroxyde de sodium ou de baryum et on obtient ainsi l'ouverture de l'anneau carbamate cyclique en 1,6 sous la forme d'un aminoalcool libre de formule (III'). L'hydrolyse est de préférence effectuée à une température de 40 à 60°C et à une concentration en alcali inférieure ou égale à 0,1 M. Ces conditions réactionnelles ne conduiront pas à l'élimination des autres groupes amino- et hydroxy-protecteurs, mais bien à la formation préférentielle du 1,6-aminoalcool de formule (III').

Ensuite le groupe amino en 1 ainsi libéré du composé (III') est bloqué avec un groupe amino-protecteur ($-COOR^3$) du type formateur d'uréthane qui est différent du groupe R^1OCO- existant pour bloquer les groupes amino du composé (II) et le groupe hydroxy en 6 est sulfonylé par réaction avec un réactif de sulfonylation, par exemple un halogénure de sulfonyl de formule R^4SO_2X dans laquelle R^4 est un groupe alkyl, aryl ou aralkyl et X est un atome de chlore ou de brome. On obtient ainsi un composé de formule (IV).

Comme groupe type formateur d'uréthane pour la protection du groupe 1-amino du composé (III') on préfère utiliser un groupe alkyloxycarbonyl puisque ce dernier peut être retenu sélectivement dans le composé à obtenir lors du dernier traitement pour l'élimination des autres groupes amino-protecteurs en positions 3-, 2'- et 6' et qu'il est intéressant pour la formation réductrice du groupe méthyl-amino en position 4 du composé (VII) comme indiqué ultérieurement.

La sulfonylation ci-dessus mentionnée du groupe hydroxy en 6 peut être effectuée avec ménagement, à température ambiante avec un bon rendement par réaction, dans un solvant organique convenable, tel que la pyridine sèche avec un réactif connu de sulfonylation tel qu'un halogénure sulfonyl de formule R^4SO_2X , spécialement le chlorure de

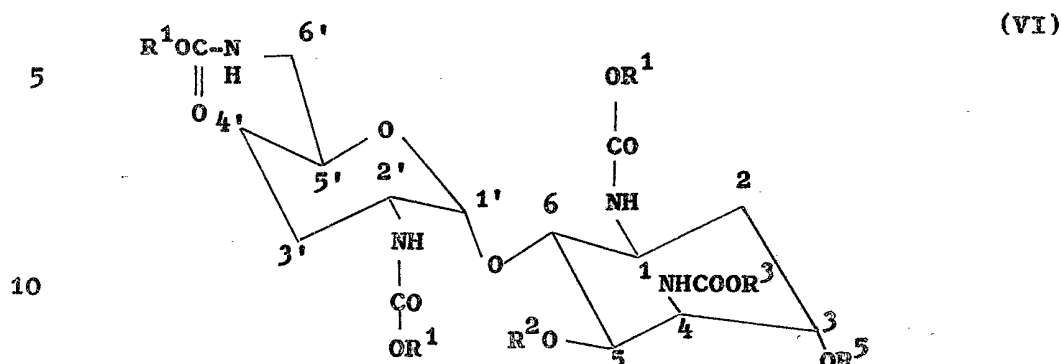
méthanesulfonyl, de para-toluènesulfonyl ou de benzylsulfonyl.

5 Dans l'étape suivante, le composé de formule (IV) est traité avec une base pour former un composé de formule (V) portant l'anneau aziridine, puis on traite ensuite avec un sel de métal alcalin d'un acide organique pour ouvrir l'anneau aziridine.

10 Le composé aziridine (V) peut être obtenu avec un bon rendement en traitant le composé (IV) avec une base telle qu'un alcoolate de métal alcalin, par ex. un alcoolate de sodium, spécialement le méthylate de sodium dans un solvant organique anhydre tel que le tétrahydrofur sec. La réaction de formation de l'anneau aziridine peut se produire même à basse température, de 0 à 10°C,
15 température à laquelle la réaction est généralement terminée en 24 heures.

20 Le composé aziridine (V) ainsi produit, qui est un nouvel intermédiaire important pour la préparation du composé objet de l'invention peut être soumis directement (c'est-à-dire sans purification) à la réaction suivante d'ouverture de l'anneau.

25 L'ouverture de l'anneau aziridine dans le composé (V) peut être effectuée avec un rendement favorable par réaction avec un sel de métal alcalin d'un acide organique tel qu'un acide alcanoïque inférieur ou l'acide benzoïque et spécialement, par exemple, avec le benzoate ou l'acétate de sodium dans un solvant organique anhydre tel que le diméthylformamide sec. La réaction donne une forme d'aminocyclitol de formule générale :



dans laquelle R^1 , R^2 et R^3 ont la définition ci-avant et
 15 R^5 est un groupe acyl tel qu'un groupe alcanoyl ou un
 groupe benzoyl qui provient de l'acide organique employé.

Comme il ressort des formules (IV) et (VI), l'échan-
 ge se produit entre la position du groupe amino et celle
 du groupe hydroxy à l'ouverture de l'anneau aziridine,
 20 quand le groupe protecteur du type uréthane reste dans le
 groupe amino alors que le groupe acyl venant de l'acide
 organique utilisé pour la réaction d'ouverture de l'anneau
 est introduit dans le groupe hydroxy comme montré dans la
 formule (VI) ci-avant. En ce qui concerne la nouvelle for-
 25 me d'aminocyclitol (dérivé 1,4-diamino-1,2,4-tridésoxyami-
 nocyclitol) de formule (VI), la numérotation du radical
 aminocyclitol est basée sur celle de la fortimicine et de
 l'istamycine; la même numérotation s'applique aux formules
 (VII), (VII') et (VIII). En ce qui concerne les composés
 30 aminocyclitol de formules (I) - (V) (dérivés 1,3-diamino-
 1,2,3-tridésoxyaminocyclitol), leur numérotation est basée
 sur celle de la 2-désoxystreptamine.

Les groupes hydroxy-protecteurs (R^2 et R^5) en posi-
 tion 3 et 5 du composé (VI) sont ensuite éliminés de ce
 35 dernier pour donner le composé de formule (VII). Le groupe
 acyl R^5 , en tant que groupe hydroxy-protecteur en position
 3 peut être facilement éliminé par hydrolyse alcaline avec

une base classique telle qu'une solution méthanolique d'ammoniac, alors que le groupe hydroxy-protecteur R^2 en position 5, tel que le groupe tétrahydropyranyl peut être éliminé par hydrolyse acide, en conditions douces, comme

5 déjà mentionné, par exemple par traitement avec une solution aqueuse d'acide trifluoracétique à basse température 0 à 10°C.

Dans certains cas, le groupe amino-protecteur ($-COOR_3$) en position 4 peut être scindé au cours de la réaction précédente pendant l'ouverture de l'anneau aziridine ou quelquefois simultanément à l'élimination des groupes hydroxy-protecteurs (R^2 , R^5). Il est alors nécessaire de réintroduire dans le groupe amino en 4 libre le groupe amino-protecteur du type formateur d'uréthane qui est différent de celui

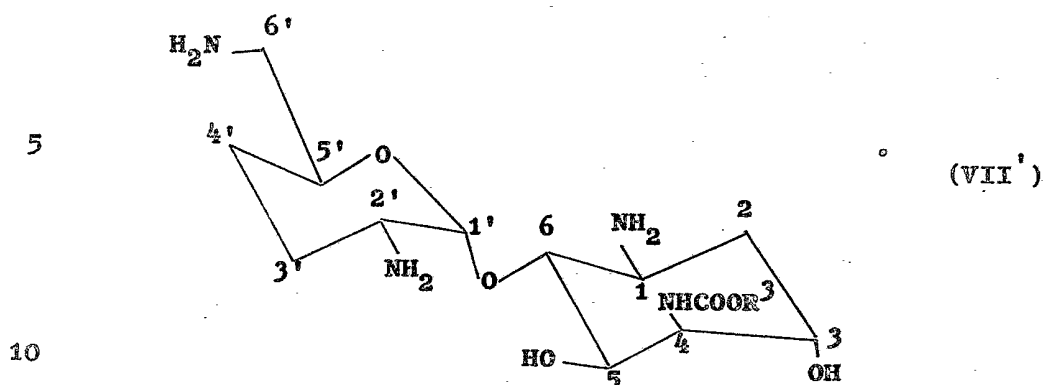
15 ($-OCOR^1$) utilisé pour bloquer les groupes amino en 1-, 2'- et 6'-. C'est par exemple le cas quand le groupe amino-protecteur en position 4 est le groupe tert-butoxycarbonyl qui peut être scindé en même temps qu'est éliminé le groupe hydroxy-protecteur R^2 en position 5 par hydrolyse acide

20 ménagée. Le groupe amino-protecteur ($-COOR_3$) du type formateur d'uréthane à réintroduire dans ce cas dans le groupe amino en 4 sera de préférence non susceptible de réagir ensuite dans la réaction d'élimination des autres groupes amino-protecteurs ($-OCOR_1$) en position 1-, 2'- et 6'- et

25 devra être disponible pour la formation du groupe méthylamino en position 4. Comme exemples préférés, on cite les groupes méthoxycarbonyl et éthoxycarbonyl.

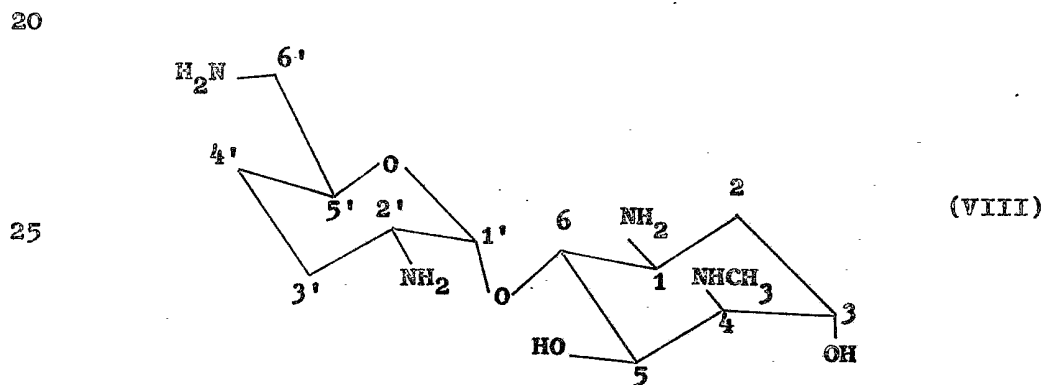
Ensuite, les groupes amino-protecteurs ($-OCOR^1$) en position 1-, 2'- et 6'- du composé (VII) sont éliminés sé-

30 lectivement par une technique classique de déprotection comme pour l'élimination des groupes protecteurs $-OCOR^1$ mais non efficace pour l'élimination du groupe protecteur $-COOR^3$ en position 4, ce qui permet d'obtenir une N^4 -déglycil-tri- N^4, N^6, O^3 -déméthylistamycine A protégée en 4 N de formule



dans laquelle R^3 a la définition donnée ci-avant.

Dans l'étape finale, le composé (VII') est réduit
 15 avec un hydrure métallique afin de transformer le groupe
 amino en 4 protégé ($-NHCOOR^3$) en groupe 4-méthylamino
 (c'est-à-dire, une méthylation en 4-N), ce qui donne la
 N^4 -déglycyl-di- $N^{6'}$, O^3 -déméthylistamycine A de formule :



30 La méthylation en 4-N peut être effectuée par réduction
 du composé (VII') avec un hydrure métallique tel que
 l'hydrure de lithium-aluminium ou l'hydrure de bore dans un
 solvant organique anhydre tel que le tétrahydrofurane sec.
 La réaction est généralement effectuée à une température de
 35 40 à 60°C pendant une période de 10 heures ou plus.

La N^4 -déglycyl-di- $N^{6'}$, O^3 -déméthylistamycine A ainsi
 produite, qui est utilisée comme matériau de départ dans

le procédé selon l'invention, a les propriétés suivantes :

- Le monocarbonate de N⁴-déglycyl-di-N^{6'},O³-déméthyl-
listamycine A se trouve sous forme d'une poudre incolore qui
n'a pas de point de fusion défini, se décompose à 115-118°C,
5 a une rotation optique spécifique $[\alpha]_D^{22} + 102^\circ$ (c 0.65, eau);
son analyse élémentaire donne C, 46,15; H, 7,97; N, 15,37 %
ce qui coïncide avec les valeurs théoriques de C₁₃H₂₅N₄O₄·
H₂CO₃ (C, 45,89; H, 8,25; N, 15,29 %). La spectrométrie de
masse du monocarbonate donne le pic M⁺ à m/e = 304, et la
10 chromatographie en couche mince sur gel de silice une tache
simple (positive à la ninhydrine) à R_f 0.12, après dévelop-
pement avec la phase inférieure d'un mélange chloroforme-
méthanol-ammoniaque aqueuse à 28 % (2 : 1 : 1 en volume)
ou à R_f 0.50 après développement avec un mélange butanol-
15 éthanol-chloroforme ammoniaque aqueuse à 17 % (4 : 5 : 2 :
5 en volume).

- Selon le procédé de l'invention, le composé objet de
ladite invention, la di-N^{6'},O³-déméthylislistamycine A de
formule (I) est préparé par acylation avec de la glycine
20 (glycylation) du groupe méthylamino en position 4- du com-
posé (VIII). Afin d'effectuer la glycylation sélective du
groupe méthylamino en 4 avec un rendement élevé, il est
nécessaire de bloquer préalablement les autres groupes amino
en position 1-, 2' - et 6' - avec un groupe amino-protecteur.
25 Il existe heureusement une différence considérable de réac-
tivité entre ces trois groupes amino et le groupe amino en 4.
On peut ainsi préparer avec un rendement élevé, par une mé-
thode classique d'introduction d'un groupe amino-protecteur
connu, par exemple, en faisant réagir le composé (VIII) avec
30 des équivalents 3 - 3.5 molaires, d'un réactif amino-protéc-
teur connu sous forme d'un halogénure d'acide, d'un azide
d'acide, d'un ester actif ou d'un anhydride d'acide, un
dérivé N. protégé du composé (VIII) dont trois groupes amino
en position 1-, 2' - et 6' ont été bloqués. Les exemples de
35 groupes amino-protecteurs connus dans ce but comprennent les
groupes alkoxycarbonyl tels que les groupes tert-butoxycar-
bonyle et tert-amyloxycarbonyle ; les groupes cycloalkylo-

5 xycarbonyl tel que le groupe cyclohexyloxycarbonyl ; les groupes aralkyloxycarbonyl tel que le groupe benzyloxycarbonyl ; les groupes acyl tels que les groupes trifluoroacétyl et O-nitrophénoxyacétyl ; les groupes phosphinothioyl
 5 tels que les groupes diphénylphosphinothioyl et diméthylphosphinothioyl et les groupes phosphinyl tel que le groupe diphénylphosphinyl. On peut également utiliser des groupes amino-protecteurs divalents connus pour bloquer les groupes amino sous forme de base de Schiff.

10 Le dérivé tri-N protégé en 1, 2' et 6' de la N⁴-déglycyl-di-N^{6'}, O³-déméthylstamycine A ainsi préparé, peut être utilisé directement sans purification pour la glycylation subséquente du groupe méthylamino en 4. La N-glycylation en 4 peut être effectuée en utilisant la glycine elle-même ou
 15 un de ses équivalents fonctionnels selon toute technique connue utilisée pour la synthèse des peptides. Les équivalents fonctionnels de la glycine utilisés dans ce but comprennent les décyclohexylcarbodiimides, les anhydrides d'acide mixtes, les azides et les esters actifs de la gly-
 20 cine. On préfère bloquer préalablement le groupe amino de la glycine avec un groupe amino-protecteur qui peut être semblable à ou différent de celui utilisé pour les groupes amino du composé (VIII). Comme exemples préférés de groupe amino-protecteur, on cite le groupe benzyloxycarbonyl éliminable
 25 par hydrogénolyse en présence d'un catalyseur tel que le palladium ou l'oxyde de platine, ou le groupe tert-butoxycarbonyl qui est éliminable par hydrolyse acide, par exemple, dans une solution aqueuse d'acide trifluoracétique ou acétique ou une solution diluée d'acide chlorhydrique.

30 Dans un mode préféré de réalisation de procédé selon l'invention, on effectue la réaction de glycylation en 4 N avec un ester actif d'une glycine N-protégée à une température entre 40 et 60°C dans un solvant organique adapté tel que le dioxanne. Comme ester actif de réactivité élevée, on
 35 peut mentionner le N-hydroxysuccinimide ester de la N-benzyloxycarbonyl glycine qui peut être obtenu de façon classique et qui peut être utilisé pour la glycylation dans une proportion de 1 à 1,5 équivalent molaire.

Une fois la glycylation terminée, tous les groupes amino-protecteurs restant dans le produit réactionnel sont éliminés par une méthode conventionnelle telle que, par exemple, l'hydrogénolyse ou l'hydrolyse acide comme indiqué ci-avant, ce qui permet d'obtenir le composé de formule (I).

Comme déjà mentionné, le composé de formule (I) selon la présente invention possède une activité anti-bactérienne élevée vis-à-vis de toute une variété de bactéries. Ce composé présente en outre une faible toxicité pour les animaux; en effet des souris ont toléré une administration intraveineuse de 100 mg/Kg de ce composé. Ce composé est donc utile comme agent anti-bactérien et est généralement formulé sous forme d'une composition pharmaceutique qui peut être administrée à l'homme ou à l'animal de toute manière connue en soi.

L'invention a donc également pour objet une composition pharmaceutique contenant une quantité efficace du point de vue thérapeutique ou bactéricide du composé de formule (I), ou un des sels d'addition acide pharmaceutiquement acceptable en combinaison avec un support ou un adjuvant pharmaceutiquement acceptable; une méthode d'inhibition de la croissance bactérienne chez un animal consiste à administrer une quantité efficace du point de vue thérapeutique ou bactéricide du composé (I) ou de l'un de ses sels pharmaceutiquement acceptable à un animal infecté ou susceptible d'être infecté par des bactéries. Il est bien entendu que la quantité convenable d'ingrédient actif à administrer dépendra de la composition formulée, du mode d'administration, du terrain à traiter et de la nature des bactéries. A titre d'indication générale, l'ingrédient actif sera administré à une dose de 0.5 - 5 mg/Kg de poids de l'animal.

La présente invention sera mieux comprise à l'aide des exemples suivants qui l'illustrent sans la limiter

Exemple 1

Synthèses de la di-N^{6'},0³-déméthylstamycin A de formule (I)

(a) Préparation de la 1,3,2',6'-tétra-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-didésoxynéamine (R¹ = benzyl dans la formule II')

On dissout 2.10 g (7.23 mmol) de 3',4'-didésoxynéamine

dans 100 ml d'un mélange eau/méthanol (1 : 5 en volume) et on ajoute à la solution 11.9 g (4.3 mmol) de benzyl 4,6-diméthylpyrimidyl-2-thiolcarbonate et 2.3 ml de triéthylamine, puis on agite à température ambiante pendant 15 heures.

- 5 La solution réactionnelle obtenue est concentrée à siccité sous pression réduite, et le résidu lavé successivement avec 300 ml d'eau et 200 ml d'éther éthylique pour donner 6.0 g (100 %) du composé désiré sous forme d'une poudre jaune pâle. Point de décomposition 237 - 238°C. $[\alpha]_D^{20} + 45^\circ$ (c 2, CHCl_3).

- 10 (b) Préparation du 3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-didésoxynéamine 1,6-carbamate (R^1 = benzyl dans la formule II')

- On dissout 1.34 g (1.62 mmol) du produit obtenu dans l'étape (a) ci-dessus dans 13 ml de diméthylformamide anhydre, 15 on ajoute 235 mg (4.9 mmol) d'hydruure de sodium (50 % de suspension dans l'huile) sous refroidissement à la glace et atmosphère d'argon. Le mélange est agité à température ambiante pendant 4 heures après quoi on neutralise la solution réactionnelle obtenue avec de l'acide acétique et l'on verse 20 le tout dans 500 ml d'eau glacée pour séparer un précipité. Le précipité est rassemblé par filtration et purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (50 g de Wako-gel C-200, Wakojunyaku Japon) développée avec des mélanges, chloroforme/acétone (2 : 1 et 1 : 1 en volume) pour donner 25 683 mg (62 %) du composé désiré. $[\alpha]_D^{28} + 58^\circ$ (c 2, CHCl_3). R_f 0,25 en chromatographie en couche mince (CCM) sur gel de silice développé avec chloroforme éthanol (20 : 1).

- (c) Préparation du 3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-didésoxy-5-O-tétrahydropyranylnéamine 1,6-carbamate 30 (R^1 = benzyl et R^2 = tétrahydropyranyl dans la formule III

- 3.7 g (5.15 mmol) du produit obtenu dans l'étape (b) ci-avant sont dissous dans 50 ml de diméthylformamide, et l'on ajoute à la solution 1.3 g (15.5 mmol) de 3,4-dihydro-2H- 35 pyranne et 196 mg (1.14 mmol) d'acide para-toluène-sulfonique anhydre. On laisse le mélange reposer 72 heures à température ambiante et l'on ajoute à la solution réactionnelle 1 ml de

triéthylamine, puis on évapore sous pression réduite pour obtenir un résidu. Ce dernier est chromatographié sur gel de silice (300 g de Wako-gel C-200) en utilisant, comme solvant de développement, un mélange chloroforme-éthanol

- 5 (100 : 1) pour obtenir 2,4 g (57 %) du composé désiré.

Point de décomposition 79 - 83°C. $[\alpha]_D^{22} + 33^\circ$ (c 0,5, CHCl_3). R_F 0,51 en CCM sur gel de silice développé avec un mélange chloroforme-éthanol (15 : 1).

- 10 (d) Préparation de la 3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-1-N-tert-butoxycarbonyl-3',4'-didésoxy-6-O-mésyl-5-O-tétrahydropyranylnéamine (R^1 = benzyl, R^2 = tétrahydropyranyl, R^3 = tert-butyl et R^4 = méthyl dans la formule IV).

- On dissout 2,3 g (2,86 mmol) du produit venant de l'étape (c) ci-dessus dans 80 ml de dioxanne et on ajoute à la solution obtenue 25 ml d'une solution aqueuse 0,05 M d'hydroxyde de baryum. Le mélange est agité à 60°C pendant 30 minutes, puis on y ajoute encore 30 ml d'une solution 0,05 M d'hydroxyde de baryum et l'on agite une heure.
- 20 Une autre addition de 30 ml d'une solution aqueuse 0,05 M d'hydroxyde de baryum est alors effectuée et le mélange est agité pendant une heure pour ouvrir l'anneau carbamate cyclique en 1,6. Une fois la réaction terminée, on fait passer dans la solution réactionnelle du dioxyde de carbone gazeux ; on sépare ainsi un précipité que l'on filtre.
- 25 Le filtrat est évaporé sous pression réduite et le résidu extrait avec 200 ml de chloroforme. L'extrait est concentré à siccité sous pression réduite pour donner 2,24 g d'une poudre jaune pâle de 3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-didésoxy-5-O-tétrahydropyranylnéamine (R^1 = benzyl et R^2 = tétrahydropyranyl dans la formule III').
- 30

- La poudre ainsi obtenue est dissoute dans 50 ml de méthanol, puis on ajoute 0,4 ml de triéthylamine et 1,35 g (5,7 mmol) de tert-butyl 4,6-diméthylpyrimidyl-2-thiolcarbonate. Après agitation du mélange à température ambiante pendant une nuit entière, on évapore la solution réactionnelle
- 35

sous pression réduite pour obtenir un résidu que l'on reprend dans 20 ml de toluène, puis on y ajoute du n-hexane pour obtenir un précipité. Le précipité est rassemblé par filtration et lavé à l'eau pour donner 2,24 g d'une poudre de 3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-1-N-tert-butoxycarbonyl-3',4'-didésoxy-5-O-tétrahydropyranylnéamine.

On mélange une solution de cette poudre dans 50 ml de pyridine avec 574 mg (5,7 mmol) de chlorure de méthanesulfonyl, et l'on agite le mélange une nuit entière à température ambiante. La solution réactionnelle obtenue est concentrée à siccité et le résidu purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (150 g de Wako-gel C-200) développée avec un mélange toluène-acétone (5 : 1) pour donner 1,65 g (60 %) du composé désiré. Point de décomposition 101 - 105°C. $[\alpha]_D^{22} + 29^\circ$ (c 0,44, CHCl_3).

(e) Préparation de la 3-O-benzoyl-1,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-4-N-tert-butoxycarbonyl-5-O-tétrahydropyranyln⁴-déglycyl-tri-N⁴,N⁶',O³-déméthylistamycin A (R^1 = benzyl, R^2 = tétrahydropyranyl, R^3 = tert-butyl et R^5 = benzoyl dans la formule VI)

On dissout 1,37 g (1,43 mmol) du produit venant de l'étape (d) ci-avant dans 55 ml de tétrahydrofurane sec et l'on ajoute à la solution 194 mg (3,6 mmol) de méthylate de sodium à 0°C sous atmosphère d'argon. Le mélange obtenu est agité pendant 30 minutes puis on le laisse reposer à 10°C pendant 15 heures. La solution réactionnelle obtenue est mélangée à un excès de chlorure d'ammonium et d'eau, puis on extrait avec du chloroforme. L'extrait est concentré à siccité pour donner 1,23 g d'une poudre du dérivé aziridine (R^1 = benzyl, R^2 = tétrahydropyranyl et R^3 = tert-butyl dans la formule V) $[\alpha]_D^{22} + 10^\circ$ (c 0,5, CHCl_3). R_f 0,41 en CCM sur gel de silice développée avec un mélange benzène-acétate d'éthyl (1 : 1).

On dissout 1,12 g de la poudre ainsi obtenue dans 50 ml de diméthylformamide, à laquelle on ajoute ensuite 1,3 g de benzoate de sodium et on laisse le mélange reposer à température ambiante pendant 10 heures pour effectuer la

coupure de l'anneau aziridine. La solution réactionnelle obtenue est mélangée à 300 ml de chloroforme et lavée deux fois avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. La couche de chloroforme est séparée, séchée sur sulfate de sodium anhydre et concentrée à siccité. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (180 g de Wako-gel C-200) développée avec un mélange toluène-acétate d'éthyl (5 : 2) pour donner 878 mg (76 %) du composé désiré. Point de décomposition 84-86°C.

10 $[\alpha]_D^{22} + 61^\circ$ (c 0,49, CHCl_3). R_f 0,54 en CCM sur gel de silice développée avec un mélange benzène-acétate d'éthyl (1 : 1).

(f) Préparation de la tri- N^1 , N^2 , $N^{6'}$ -benzyloxycarbonyl- N^4 -tert-butoxycarbonyl- O^5 -tétrahydropyranyl- N^4 -déglycyl-tri- N^4 , $N^{6'}$, O^3 -déméthylistamycin A (R^1 = benzyl, R^2 = tétrahydropyranyl, R^3 = tert-butyl et R^5 = H dans la formule (IV)).

15

On dissout 860 mg (0,88 mmol) du produit obtenu dans l'étape (e) dans 20 ml d'un mélange méthanol/ammoniac à 12 % et on laisse reposer la solution à température ambiante pendant 40 heures pour effectuer l'élimination du groupe 3-O-benzoyl. La solution réactionnelle obtenue est concentrée à siccité et le résidu chromatographié sur gel de silice (70 g de Wako-gel C 200) avec, comme solvant de développement un mélange benzène-acétate d'éthyl (1 : 1) pour obtenir 693 mg (90 %) du composé désiré. Point de décomposition 88 - 90°C. $[\alpha]_D^{22} + 44^\circ$ (c 0,5, CHCl_3). R_f 0,18 en CCM sur gel de silice développée avec un mélange benzène-acétate d'éthyl (1 : 1).

25

30 (g) Préparation de la N^4 -déglycyl-di- $N^{6'}$, O^3 -déméthylistamycine A (composé de formule (VIII)).

On dissout 680 mg (0,78 mmol) du produit venant de l'étape (f) dans 10 ml d'une solution aqueuse à 90 % d'acide trifluoroacétique à 0°C et on laisse de côté 2 heures pour effectuer l'élimination hydrolytique du groupe tétrahydropyranyl avec élimination éventuelle du groupe tert-butoxycarbonyl. La solution réactionnelle est alors concentrée à

35

siccité. Le résidu obtenu est repris dans 50 ml de chloroforme et lavé successivement avec de la soude N et de l'eau.

La couche chloroformique est séparée, séchée sur sulfate de sodium anhydre et concentrée à siccité. Le résidu est purifié

5 par chromatographie sur colonne de gel de silice (50 g de Wako-gel C 200) développée avec un mélange chloroforme-méthanol-ammoniaque 17 % (80 : 10 : 1) pour donner 350 mg ((65 %) d'une poudre de N¹, N², N⁶-benzyloxycarbonyl-N⁴-déglycyl-tri-N⁴, N⁶, O³-déméthylstamycin A.

10 On ajoute à une solution dans 5 ml de méthanol de 293 mg (0,42 mmol) de cette poudre une solution de 27 mg de carbonate de sodium dans 0,5 ml d'eau, puis 55 mg (0,5 mmol) de chloroformiate d'éthyl à 0°C. Le mélange obtenu est agité à température ambiante pendant deux heures pour
15 effectuer l'introduction du groupe éthoxycarbonyl, après quoi on concentre à siccité la solution réactionnelle et on reprend le résidu dans 30 ml de chloroforme et on lave à l'eau. La couche de chloroforme est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée à siccité pour donner
20 318 mg (98 %) d'une poudre de tri-N¹, N², N⁶-benzyloxycarbonyl-N⁴-éthoxycarbonyl-N⁴-déglycyl-tri-N⁴, N⁶, O³-déméthylstamycin A (R¹ = benzyl et R³ = éthyl dans la formule VII). R_f 0,62 en CCM sur gel de silice développée avec un mélange chloroforme-méthanol-ammoniaque à 17 %
25 (80 : 10 : 1).

La poudre ainsi obtenue est dissoute dans 8 ml d'un mélange méthanol-eau acide acétique (2 : 1 : 1) auquel on ajoute 100 mg d'un catalyseur d'hydrogénolyse 5 % palladium-carbone ; on maintient le mélange pendant deux heures sous
30 un courant d'hydrogène pour effectuer l'élimination des groupes benzyloxycarbonyl. Le catalyseur est ensuite éliminé du mélange réactionnel qui est alors concentré à siccité. On fait passer une solution du résidu dissous dans l'eau à travers une colonne de 11 ml d'Amberlite CG-50 (forme NH₄ ,
35 produit par Rohm & Haas Co., USA). La colonne est successivement lavée avec de l'eau et de l'ammoniaque 0,1 M puis éluée avec de l'ammoniaque 0,2 M. L'éluat est concentré à

siccité pour donner 143 mg (95 %) d'une poudre de N⁴-éthoxycarbonyl-N⁴-déglycyl-tri-N⁴, N^{6'}, O³-déméthylistamycin A (R³ = éthyl dans la formule VII'). R_f 0,55 en CCM sur gel de silice développée avec un mélange chloroforme-méthanol
5 ammoniacal à 17 % (3 : 3 : 1).

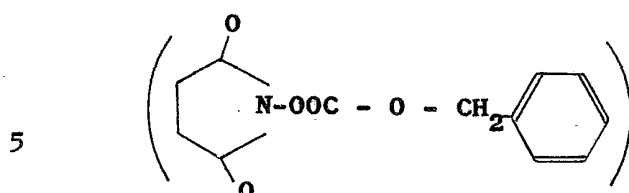
On dissout 130 mg (0,36 mmol) de la poudre ci-dessus dans 6 ml d'acide trifluoroacétique anhydre à 0°C, on concentre la solution à siccité et on reprend le résidu dans 3 ml de tétrahydrofurane sec. On ajoute à la solution
10 obtenue 15 ml d'un complexe hydrure de bore M/tétrahydrofurane (un produit de Aldrich Co., USA) et on agite le mélange à 50°C pendant 18 heures pour effectuer la conversion par réduction du groupe éthoxycarbonylamino en groupe méthyl-amino. On ajoute de l'eau à la solution réactionnelle
15 que l'on concentre ensuite à siccité et on reprend le résidu dans 10 ml d'eau. Le pH de la solution aqueuse est réglé à 8 par addition d'ammoniacal aqueuse et on la fait passer à travers une colonne de 30 ml d'Amberlite CG-50 (forme NH₄). La colonne est successivement lavée avec de
20 l'eau et des solutions aqueuses d'ammoniacal 0,2 M, 0,3 M et 0,4 M, puis éluée avec de l'ammoniacal 0,5 M. L'éluat est rassemblé et concentré à siccité pour donner 45 mg (40 %) du monocarbonate du composé désiré sous forme de poudre. Point de décomposition 115 - 118°C. $[\alpha]_D^{22} + 102^\circ$
25 (c 0,65, H₂O). Spectrométrie de masse : m/e 304 (M⁺). CCM sur gel de silice : R_f 0,12 si le développement est fait avec la couche inférieure d'un mélange chloroforme-méthanol-ammoniacal à 28 % (2 : 1 : 1) et R_f 0,50 si le développement est fait avec un mélange butanol-éthanol-
30 chloroforme-ammoniacal à 17 % (4 : 5 : 2 : 5).

Exemple 2

Préparation de la di-N^{6'}, O³-déméthylistamycine A (composé final de formule I)

On dissout 45 mg (0,123 mmol) du monocarbonate de
35 N⁴-déglycyl-di-N^{6'}, O³-déméthylistamycine A obtenu dans l'étape (g) de l'exemple 1 dans 3 ml de méthanol et l'on ajoute à la solution 0,017 ml (0,123 mmol) de triéthylamine

et 94,9 mg (0,38 mmol) de N-benzyloxycarbonyloxysuccinimide



- On laisse reposer le mélange obtenu à température ambiante pendant 6,5 heures pour effectuer l'introduction des groupes benzyloxycarbonyl en tant que groupes amino-protecteurs.
- 10 La solution réactionnelle contenant la tri- $N^1, N^{2'}, N^{6'}$ -benzyloxycarbonyl- N^4 -déglycyl-di- $N^{6'}, O^3$ -déméthylistamycin A est alors concentrée à siccité et le résidu repris dans 3 ml de dioxanne, puis on ajoute 67,9 mg (0,18 mmol) d'ester N-hydroxysuccinimide de N-benzyloxycarbonylglycine.
- 15 Le mélange ainsi obtenu est maintenu pendant 6 heures à 60°C pour effectuer l'introduction du groupe glycyl, après quoi on concentre à siccité la solution réactionnelle contenant la tétra- $N^1, N^{2'}, N^{6'}, N^{2''}$ -benzyloxycarbonyl-di- $N^{6'}, O^3$ -déméthylistamycin A ainsi formée et le résidu est dissous
- 20 dans 4 ml d'un mélange acide acétique méthanol et eau (2 : 1 : 1).

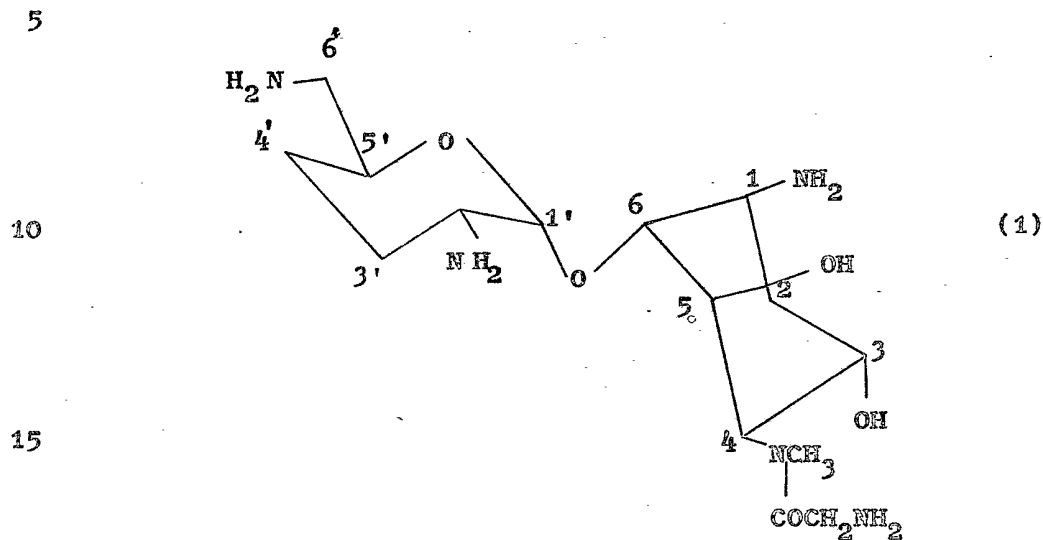
- On ajoute à la solution obtenue 50 mg de palladium 5 % -carbone comme catalyseur d'hydrogénolyse et on laisse reposer pendant 4 heures le mélange sous un courant d'hydrogène pour effectuer la réaction de déprotection pour
- 25 l'élimination des groupes benzyloxycarbonyl. Le mélange réactionnel est filtré pour éliminer le catalyseur, le filtrat est concentré à siccité et le résidu repris à l'eau.
- 30 On fait passer la solution aqueuse obtenue à travers une colonne de 6 ml d'Amberlite CG-50 (forme NH_4) et on lave la colonne successivement avec de l'eau, de l'ammoniaque 0,1 M et de l'ammoniaque 0,3 M puis on élue avec de l'ammoniaque 0,4 M. L'éluat est rassemblé en fractions de
- 35 1 ml et l'on combine les fractions actives N° 4 -10, que l'on concentre à siccité pour obtenir 15 mg (29 %) du mon carbonate de di- $N^{6'}-O^3$ -déméthylistamycine A sous forme

30

de poudre. Point de fusion 138 - 145°C (décomp.),
 $[\alpha]_D^{22} + 136^\circ$ (c 0,36, eau).

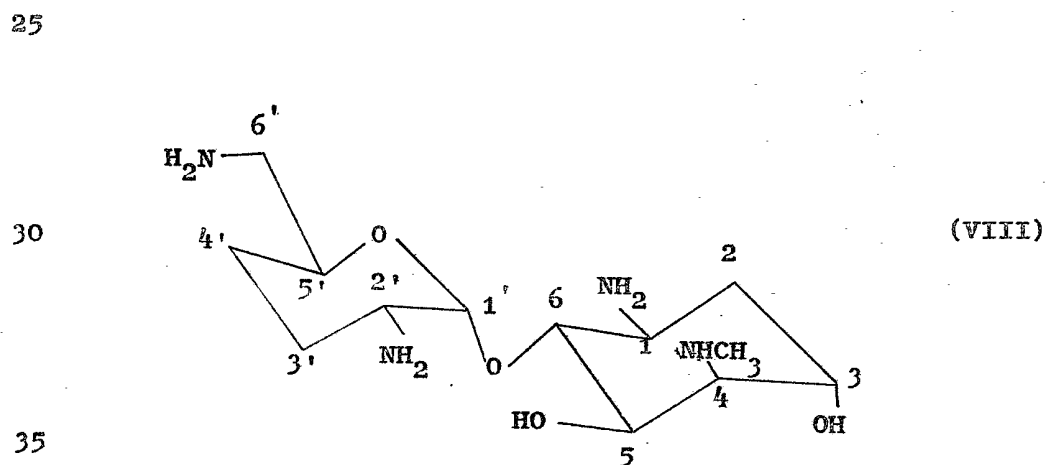
- REVENDICATIONS -

1. Nouveau dérivé de l'istamycine A caractérisé en ce qu'il est la di-N^{6'},O³-déméthylistamycine A de formule développée :



ainsi que ses sels d'addition acide.

20 2. Procédé de préparation du composé selon la revendication 1 caractérisé en ce qu'il consiste à bloquer simultanément avec un groupe amino-protecteur les trois groupes amino en position 1, 2' et 6' du composé de formule développée :



à faire réagir le dérivé tri-N protégé obtenu avec la glycine ou une glycine N-protégée dont le groupe amino a été bloqué avec un groupe amino-protecteur, ou avec un équivalent fonctionnel de ladite glycine pour acyler le groupe méthylamino non protégé en position 4 du composé (VIII) et à éliminer tous les groupes amino-protecteurs restant du produit d'acylation.

3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que le groupe amino-protecteur servant au blocage des trois groupes amino est le groupe benzyloxycarbonyl.

4. Procédé selon la revendication 3 ou la revendication 4 caractérisé en ce qu'on fait réagir le dérivé protégé du composé (VIII) avec l'ester N-hydroxysuccinimide de la N-benzyloxycarbonylglycine.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4 caractérisé en ce que les groupes amino-protecteurs résiduels sont éliminés par hydrogénolyse.

6. Composition pharmaceutique comportant comme ingrédient actif une quantité thérapeutiquement efficace du composé de formule (I) ou de l'un de ses sels d'addition acide pharmaceutiquement acceptable, en combinaison avec un support ou un adjuvant pharmaceutiquement acceptable.