

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 753318 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **753318**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC¹)
C07H

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **25.11.1975**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **25.11.1975**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **30.05.1976**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

29.11.1974	US	528592	29.11.1974	US	528593
08.09.1975	US	611289	08.09.1975	US	611290

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Oy Kolster Ab, Lönnrotsgatan 19 B, 00120 Helsingfors, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Daniels, Peter John Lovell, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Pseudotrisakkarideja ja menetelmiä niiden valmistamiseksi

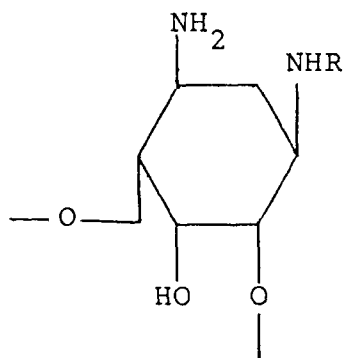
Pseudotrisakkarider och och förfaranden för deras framställning

Oy Kolster Ab, Lönnrotsgatan 19 B, Helsingfors

HYV. NÄHT.

Menetelmä 4,6-di-O-(aminoglykosyyli)-2-deoksistreptamiinien 5-epi-johdannaisten valmistamiseksi - Förfarande för framställning av 5-epi-derivat av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer

Föreliggande uppfinning berör ett förfarande för framställning av 5-epi-derivat av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer, nämligen gentamicin A, gentamicin B, gentamicin B₁, gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_{2b}, gentamicin X₂, tobramycin, verdamicin, kanamycin A, kanamycin B, 3', 4'-dioxikanamycin B, antibioticum G-52, antibioticum 66-40B, antibioticum 66-40D, antibioticum G-418, antibioticum JI-20A, antibioticum JI-20B och sisomicin, samt av farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter av dessa derivat, vilka föreningars 2-deoxistreptamindel har formeln



(I)

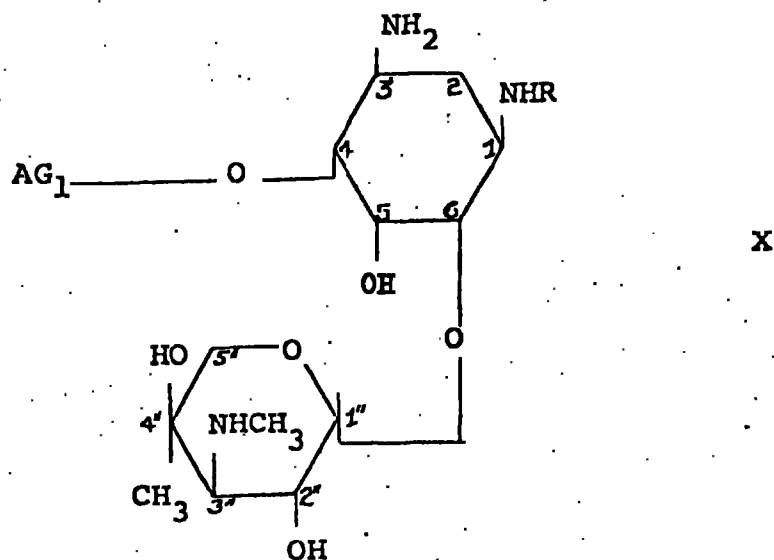
där R är en väteatom eller en grupp $-\text{CH}_2\text{Y}$, varvid Y betecknar väte, alkyl, alkenyl, cykloalkyl, cykloalkylalkyl, hydroxialkyl, aminoalkyl, N-alkylaminoalkyl, aminohydroxialkyl, N-alkylaminohydroxialkyl, fenyl, bensyl eller tolyl, varvid de alifatiska grupperna har upp till 7 kolatomer och, om de är substituerade med amino- och hydroxigrupper, uppvisar dessa substituenten på olika kolatomer.

Kända i detta sammanhang är bredspektrum-antibakteriella medel, vilka kemiskt kan klassificeras såsom 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-1,3-diaminocyklitol. Värdefulla antibakteriella medel inom denna grupp är sådana vari aminocyklitolen utgöres av 2-deoxistreptamin. Särskilt värdefulla antibakteriella medel är sådana vari aminoglykosylgruppen i 6-ställningen är en garosaminylgrupp. Inom denna klass av 4-O-aminoglykosyl-6-O-garosaminyl-2-deoxistreptaminer finner man antibiotika såsom gentamicin B, B_1 , C_1 , C_{1a} , C_2 , C_{2a} , C_{2b} och X_2 ; verdamicin, sisomicin, antibiotikum G-418, antibiotikum G-52, antibiotikum JI-20A och antibiotikum JI-20B.

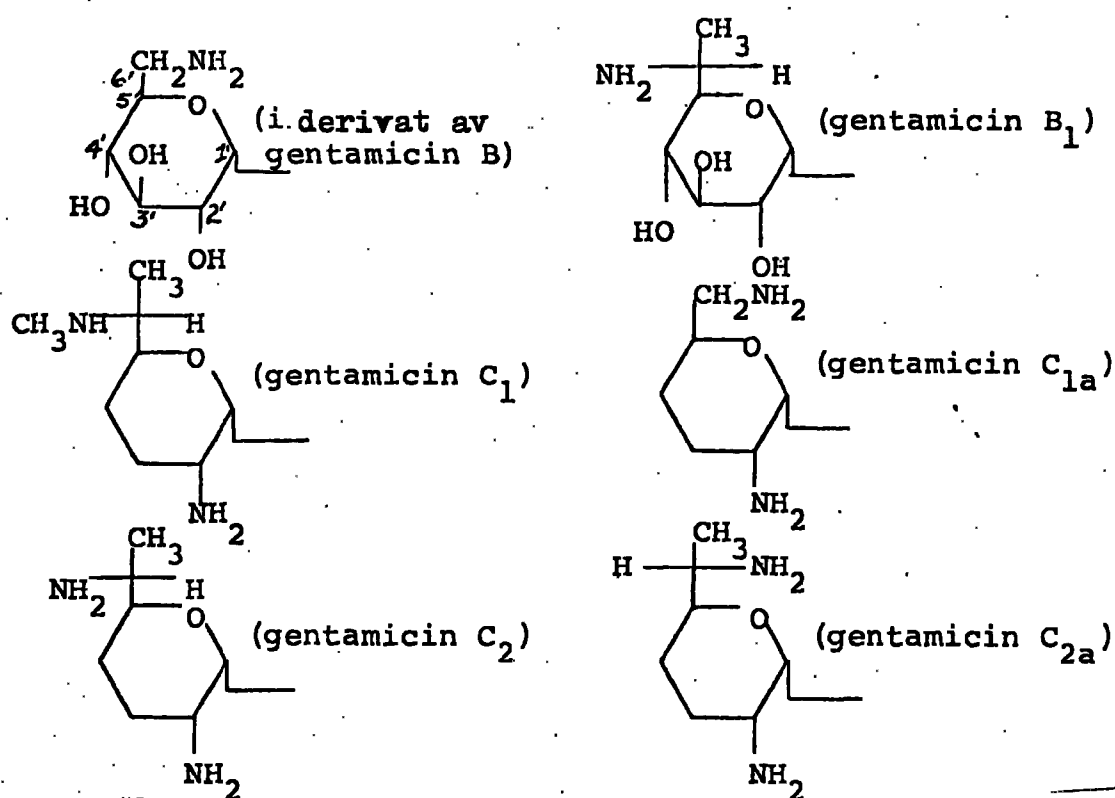
Kända inom detta område är även 1-N-alkyl-derivat av nämnda 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-1,3-diaminocyklitol, vilka i allmänhet uppvisar bredspektrum-antibakteriell aktivitet och uppvisar förhöjd aktivitet mot organismer resistenta mot det 1-N-osubstituerade antibakteriella medlet.

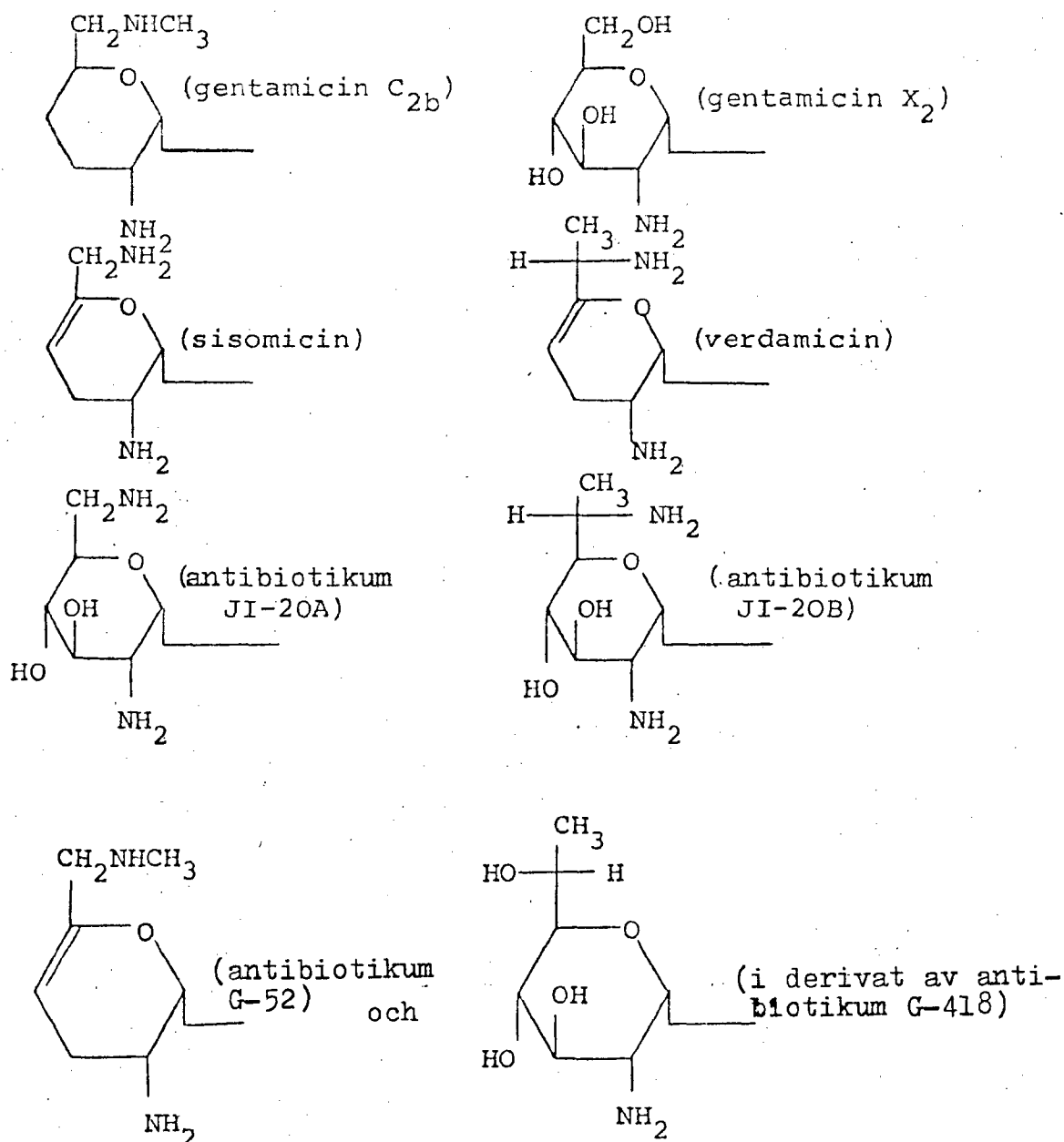
Särskilt värdefulla antibakteriella medel omfattar derivat av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer, vari aminoglykosidgruppen i 6-ställningen är garosaminyl. Typiska derivat av 4-O-aminoglykosyl-6-O-garosaminyl-2-deoxistreptaminer enligt uppfinningen är derivat av gentamicin B, gentamicin B_1 , gentamicin C_1 ,

gentamicin C_{1a}, gentamicin C₂, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_{2b}, gentamicin X₂, sisomicin, verdamicin, antibiotikum G-418, antibiotikum JI-20A, antibiotikum JI-20B och antibiotikum G-52, vilka föreningar definieras av följande formel

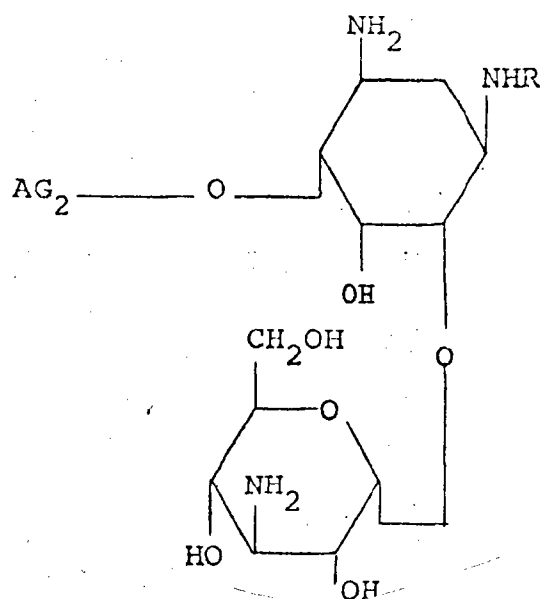


vari R har den i samband med formeln I angivna betydelsen och
vari AG₁ är en aminoglykosylfunktion, vald bland gruppen

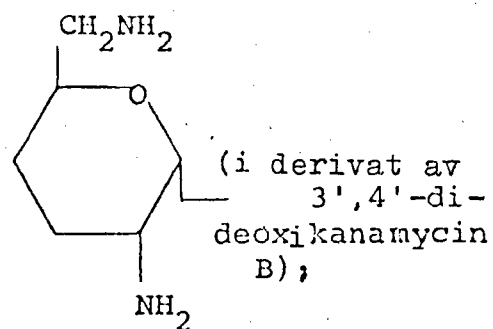
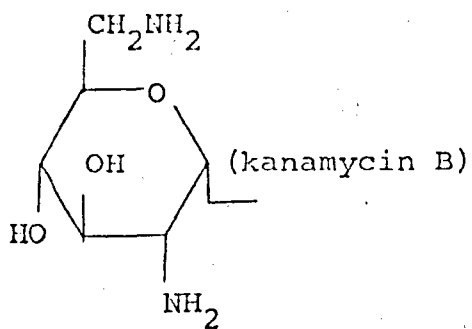
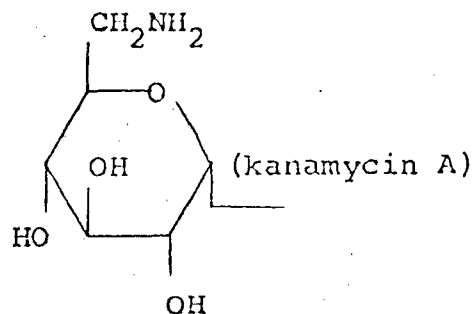
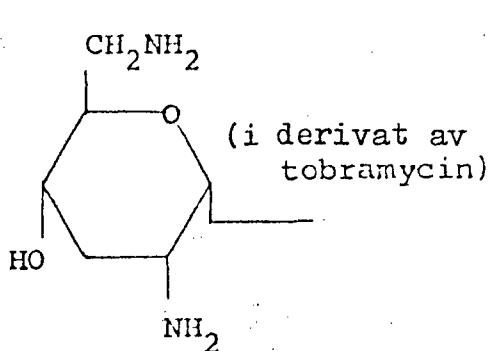




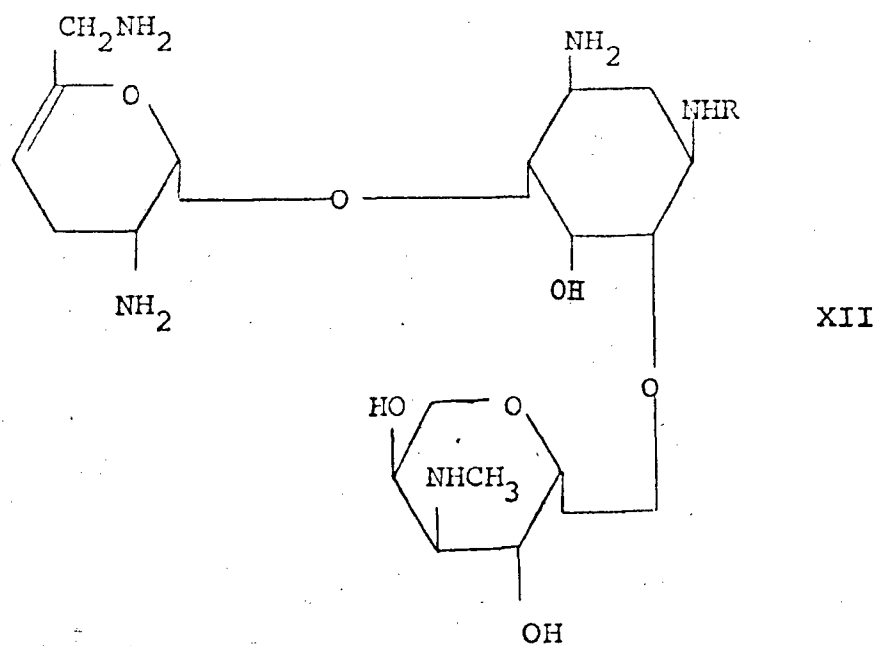
Andra värdefulla derivat av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer enligt uppfinningen omfattar derivat av tobramycin, kanamycin A, kanamycin B och 3',4'-dideoxikanamycin B med formeln



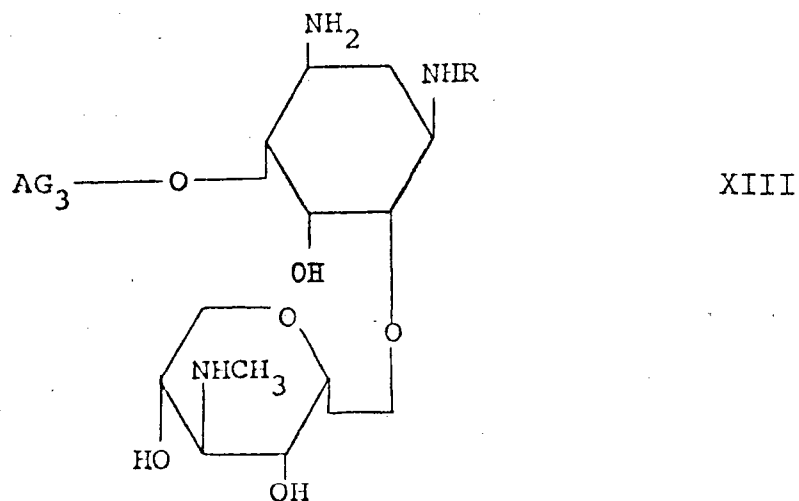
vari R har den i samband med formeln I angivna betydelsen och AG_2 är en aminoglykosylfunktion vald bland



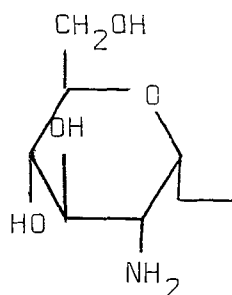
derivat av antibiotikum 66-40D med formeln



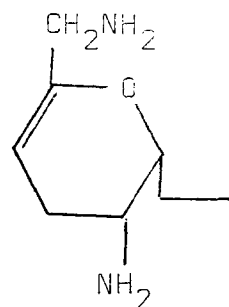
vari R har den i samband med formeln I angivna betydelsen,
och derivat av gentamicin A och antibiotikum 66-40B med formeln



vari R har den i samband med formeln I angivna betydelsen och
. AG₃ är en aminoglykosylfunktion, vald bland



(i derivat av
gentamicin
A), och



(i derivat av
antibiotikum
66-40B).

De enligt uppfinningen framställda derivaten av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminerna, definierade med formeln I eller med formlerna X-XIII, karakteriseras av att utgöra vita, amorfa pulver.

De farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalterna framställes enligt kända metoder, såsom genom neutralisering av den fria basen med ifrågavarande syra, vanligen vid ungefär pH 5. Lämpliga syror för detta ändamål omfattar syror såsom saltsyra, svavelsyra, fosforsyra, bromvätesyra och liknande. De fysikaliska kännetecknen på syraadditionssalterna av derivaten av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminerna omfattar att de är vita, fasta substanser, som är lösliga i vatten och olösliga i flertalet polära och icke polära organiska lösningsmedel.

De enligt uppfinningen framställda föreningarna och deras icke-toxiska, farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter uppvisar i allmänhet antibakteriell breddspektrumaktivitet och uppvisar ett förfätrat antibakteriellt spektrum, jämfört med det för moderantibiotikan.

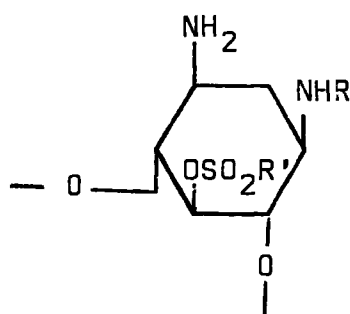
Inkluderade bland de avsedda substituenterna med formeln $-CH_2Y$ i formeln I är raka och grenade alkylgrupper, såsom etyl, n-propyl, n-butyl, β -metylpropyl, n-pentyl, β -metylbutyl, γ -metylbutyl och β,β -dimetylpropyl: n-hexyl, δ -metylpentyl, β -etylbutyl, γ -etylbutyl, n-heptyl, ϵ -metylheptyl, β -etylpentyl, γ -etylpentyl, δ -etylpentyl, γ -propylbutyl, n-oktyl, iso-oktyl, β -etylhexyl, δ -etylhexyl, ϵ -etylhexyl, β -propylpentyl, γ -propylpentyl: alkenylgrupper såsom β -propenyl, β -metylpropenyl, β -butenyl, β -metyl- β -butenyl, β -etyl- β -hexenyl: cykliska grupper såsom cyklopropylmetyl, cyklopentylmetyl, cyklohexylmetyl och cyklopentyletyl: aromatiska grupper såsom o-, m-, p-metylbensyl:

hydroxisubstituerade raka och grenade alkylgrupper, såsom α -hydroxi-etyl, ξ -hydroxipentyl, β -hydroxi- γ -metylbutyl, β -hydroxi- β -metylpropyl, δ -hydroxi-butyl, β -hydroxi-propyl, γ -hydroxi-propyl, ω -hydroxi-etyl, β -hydroxi- δ -pentenyl; aminosubstituerade raka och grenade alkylgrupper, såsom ξ -aminopentyl, β -aminopropyl, γ -aminopropyl, δ -aminobutyl, β -amino- γ -metylbutyl och ω -aminooktyl och mono-N-alkylerade derivat därav såsom N-etyl, N-metyl och N-propyl-derivat, exempelvis ξ -metylaminopentyl, β -metylaminopropyl, β -etylaminopropyl, δ -metylaminobutyl, β -metylamo- γ -metylbutyl och ω -metylaminobutyl; amino- och hydroxi-disubstituerade raka och grenade alkylgrupper, såsom β -hydroxi- ξ -aminopentyl, γ -hydroxi- γ -metyl- δ -aminobutyl, S- β -hydroxi- δ -aminobutyl, S- β -hydroxi- γ -aminopropyl och β -hydroxi- β -metyl- γ -aminopropyl; och mono-N-alkylerade derivat därav, såsom β -hydroxi- ξ -metylaminopentyl, γ -hydroxi- γ -metyl- δ -metylaminobutyl, β -hydroxi- δ -metylaminobutyl, β -hydroxi- γ -etylaminopropyl och β -hydroxi- β -metyl- γ -metylaminopropyl.

Enligt en särskilt lämplig klass av föreningar är R i formelerna I och X väte eller alkyl med upp till 4 kolatomer (särskilt 2-4 kolatomer), varvid väte och etyl är lämpligast och även propyl är lämplig.

En särskilt lämplig klass av föreningar omfattar derivaten av 4-O-aminoglykosyl-6-O-garosaminy-2-deoxistreptaminerna gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C₂, verdamicin, sisomicin och antibiotikum G-418 vari R i formeln I är etyl eller väte, och de farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalterna.

Förferandet enligt uppfinningen utmärkes därav, att vid framställningen av dessa föreningar utföres 5-epimeriseringssteget genom behandling av ett derivat a en av de ovannämnda 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminerna, vari 2-deoxistreptamindelén har formeln



vari R har ovan angiven betydelse och R' är en osubstituerad eller substituerad kolvätegrupp och vari hydroxyl- och amino-grupperna i 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminderivaten är skyddade med grupper som kan undergå reduktiv klyvning eller basisk eller mild sur hydrolys, med dimetylformamid vid en temperatur av ungefär 80 - 155°C, varefter skyddsgrupperna avlägsnas.

De per-N-skyddade-per-O-skyddade-5-O-kolvätesulfonyl-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer som utgör utgångsmaterial för förfarandet enligt uppfinningen härleder sig från kända, oskyddade 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxi-streptaminer inkl. 4-O-aminoglykosyl-6-O-garosaminyl-2-deoxistreptamin-antibiotika, såsom gentamicin B, gentamicin B₁, gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C₂, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_{2b}, gentamicin X₂, sisomicin, verdamicin, antibiotikum G-418, antibiotikum JI-20A, antibiotikum JI-20B och antibiotikum G-52; och 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer, såsom gentamicin A, tobramycin, antibiotikum 66-40B, antibiotikum 66-40D, kanamycin A, kanamycin B och 3',4'-dideoxikanamycin B. Av dessa prekursorer är gentamicin C₁, C_{1a}, C₂, C_{2a}, C_{2b}, antibiotikum 66-40D, verdamicin, antibiotikum G-52 och sisomicin särskilt lämpliga, vilka samtliga med lätthet överföres till särskilt lämpliga föreningar.

Nämnda 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-antibiotikum är förut kända. Av gentamicinerna är den såsom gentamicin X₂ benämnda utgångsföreningen inom detta område även känd såsom gentamicin X. Den utgångsförening vilken anges såsom gentamicin C_{2b}, som har den häri angivna strukturformeln, benämnes i viss förlitteratur gentamicin C_{2a}.

Vid framställning av 1-N-CH₂Y-derivat enligt uppfinningen via motsvarande utgångsmaterial härleder sig 1-N-CH₂Y-per-N-skyddade-per-O-skyddade-5-O-kolvätesulfonyl-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-prekursorerna även från 1-N-CH₂Y-derivaten av nämnda 1-N-osubstituerade 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer. Dessa föreningar är förut kända.

Vid framställning av de per-N-skyddade, per-O-skyddade-5-O-

-kolvätesulfonyl-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-föreningarna skyddas aminogrupperna först genom bildning av amider känsliga för reduktiv spaltning eller basisk hydrolys. Vid förfarandena enligt uppfinningen är det särskilt lämpligt att skydda aminogrupperna genom bildning av N-bensyloxikarbonylderivat därav (såsom 1,3,6',3"-tetra-N-bensyloxikarbonylgentamicin B och 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylgentamicin C₁).

De därvid bildade per-N-skyddade aminoglykosiderna, som har en garosaminyloxigrupp i C-6, behandlas därefter med en alkalimetallhydrid, vanligen natriumhydrid i dimetylformamid, varigenom den 3"-N-vätekarbonyloxikarbonylskyddande gruppen ringslutes med 4"-hydroxifunktionen för bildning av ett oxazolidinonderivat, dvs. ett 3",4"-N,O-karbonylderivat. I aminoglykosider vari andra aminogru⁵pper föreligger i grannställning till en hydroxigrupp (såsom 6'-amino och 4'-hydroxi i gentamicin B) kommer andra N,O-karbonylderivat att bildas. Vid omsättning av varje 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylgentamicin C₁ och 1,3,6',3"-tetra-N-bensyloxikarbonylgentamicin B med natriumhydrid i memetylformamid bildas således oxazolidinonderivat, dvs. 1,3,2',6'-tetra-N-bes⁵yloxikarbonyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C₁ och 1,3-di-N-bensyloxikarbonyl-6',4'; 3",4"-di-N,O-karbonylgentamicin B

När man skyddar aminogru⁵pper från antibakteriella material, som icke kan bilda ett 3"4"-N,O-karbonylderivat (såsom mellanprodukter som icke uppvisar någon 6-O-garosaminy⁵lsubstituent, såsom gentamicin A och 3',4'-dideoxikanamycin B), kan man lämpligen alternativt skydda aminogrupperna med lägre alkanoylgrupper, såsom acetyl och propionyl, genom behandling av det antibakteriella medlet med motsvarande syraanhydrid i etanol, varigenom man erhåller motsvarande per-N-(lägre alkanoyl)-aminoglykosid. Således ger exempelvis behandling av gentamicin A med ättiksyraanhydrid i etanol per-N-acetylgentamicin A.

Ehuru vilken som helst skyddsgrupp kan användas, omfattar såsom utgångsföreningar särskilt värdefulla aminoskyddande grupper lägre alkoxikarbonyler (företrädesvis med upp till 8 kolatomer, såsom metoxikarbonyl, etoxikarbonyl, n-propyloxikarbonyl, iso-propyloxikarbonyl, n-butyloxikarbonyl, tert-butoxikarbonyl, oktyloxikarbonyl och liknande), substituerad bensyloxikarbonyl (inkl. o-, m- och p-metoxibensyloxikarbonyl och liknande) och, företrädesvis, bensyloxikarbonyl. Lägre alkanoyler med företrädesvis upp till 8 kolatomer (såsom

acetyl, propionyl, valeryl och kaprylyl) är även användbara aminoskyddsgrupper, särskilt för föreningar härledda ur antibakteriella medel som icke kan bilda ett 3",4"-N,O-karbonylderivat (såsom föreningar utan någon 6-O-garosaminylsubstituent, exempelvis derivat av gentamicin A och kanamycinerna).

Nämnda aminoskyddsgrupper kan avlägsnas genom behandling med bas (såsom med natriumhydroxid) eller, vad beträffar bensyloxikarbonyl, genom reductiva spaltningmetoder, kända inom detta område. Bensyloxikarbonylgruppen är en särskilt lämplig aminoskyddande grupp för utgångsföreningarna använda i uppfinningen eftersom i aminoglykosider med en hydroxifunktion i grannställning till en aminofunktion, såsom i ställningarna 3" och 4" i 6-O-garosaminylgruppen i aminoglykosiderna med formeln X, N-bensyloxikarbonylderivatet (såsom 3"-N-bensyloxikarbonylderivatet av föreningar med formeln X) vid exponering mot basiska betingelser (såsom med natriumhydrid i dimetylformamid) bildar en oxazolidinon med den i grannställning belägna hydroxifunktionen (såsom ett 3",4"-N,O-karbonylderivat av föreningarna med formeln X) under samtidig eliminering av bensylalkohol. Likaledes bildar N-alkoxikarbonylderivat oxazolidinoner med en i grannställning belägen hydroxifunktion. När vidare en utgångsförening med en 1-N-CH₂Y-substituent, som har en hydroxigrupp i ~~-N~~eller ~~β~~-ställning till en aminogrupp, Z, som är en bensyloxikarbonyl- eller alkoxikarbonylgrupp, kommer hydroxigruppen att tillsammans med nämnda skyddsgrupp Z bilda en oxazolidinon resp. tetrahydro-1,3-oxazin-2-on.

Hydroxifunktioner i utgångsföreningarna vid detta förfarande skyddas lämpligen av O-acylgrupper av kolvätekarbonsyror, företrädesvis med upp till 8 kolatomer, eller av O-kolvätekarbonylidengrupper av ketoner och aldehyder, företrädesvis med upp till 8 kolatomer för bildning av ketal resp. acetal, inkl. cykliska ketal och acetal, ehuru vilken som helst annan grupp även kan användas för att skydda hydroxifunktioner.

I allmänhet skyddas i grannställning belägna hydroxigrupper i aminoglykosidprekursorerna av utgångsföreningarna vid förfarandet lämpligen av cykliska ketal eller acetal. Med "i grannställning belägna hydroxigrupper" avses vicinala och icke-vicinala hydroxigrupper som är belägna på så sätt att de kan bilda en cyklisk ketal- eller cyklisk acetal-funktion med ketoner resp. aldehyder eller derivat

därav. Exempel på sådana "i grannställning närbelägna hydroxigrupper" är 2',3'-hydroxigrupper i gentamicin B och B₁ och i kanamycin A (som bildar 2',3'-O-hydrokarbonylidenderivat), 4',6'-hydroxigrupperna i gentamicin A och X₂ och i antibiotikum G-418 (som bildar 4',6'-O-hydrokarbonylidenderivat), 3',4'-hydroxigrupperna i antibiotikum JI-20A och JI-20B och i kanamycin B (som bildar 3', 4'-O-hydrokarbonylidenderivat) och 4",6"-hydroxigrupperna i tobramycin, kanamycin A och B och 3',4'-dideoxikanamycin B (som bildar 4",6"-O-hydrokarbonylidenderivat).

De cykliska ketal- och acetalderivaten av nämnda i grannställning belägna grupper omfattar O-alkyliden (såsom O-iso-propyliden) O-cykloalkyliden (såsom O-cyklohexyliden) och O-arylalkyliden (såsom O-bensyliden)-derivat, vilka samtliga kan elimineras vid behandling med vattenutspädd mild syra (såsom 50-80 %-ig ättiksyra). Karaktären av kolväte- eller substituerat kolväte-"yliden"-grupper av de cykliska ketalerna och acetalerna är oväsentlig, eftersom de endast har funktionen av "blockerande grupper", icke ingår i förfarandet enligt uppfinningen och avlägsnas efteråt, varigenom de fria hydroxigrupperna regenereras till sin ursprungliga form.

I utgångsföreningarna vid förfarandet enligt uppfinningen skyddas lämpligen isolerade hydroxigrupper andra än 5-hydroxigruppen, såsom 2"-hydroxigruppen i samtliga aminoglykosidprekursorer enligt uppfinningen, 4'-hydroxigruppen i tobramycin och 4"-hydroxigruppen i antibiotikum 66-40B och i gentamicin A såväl som andra hydroxigrupper, som icke skyddas av cykliska ketal- eller acetalfunktioner (såsom 3'-hydroxigruppen i gentamicin A och 2'- och 4'-hydroxigrupperna i kanamycin A), hydroxikolvätekarbonylgrupper, vilket kolväte lämpligen innehåller upp till 8 kolatomer. Användbara kolvätekarbonylgrupper är acylgrupper härledda ur lägre alkansyror med upp till 8 kolatomer, inkl. acetyl, propionyl, n-butyryl, valeryl och kaprylyl, såväl som acylgrupper härledda från aralkansyror, såsom fenylacetyl, och ur arylkarbonsyror, såsom o-, m- och p-toluoyl, mesitoyl och företrädesvis bensoyl.

Efter att ha skyddat aminogrupperna skyddar man vanligen därefter i grannställning belägna hydroxigrupper, vilka bildar en ketal- eller acetalgrupp vid behandling med en keton eller aldehyd eller ett derivat därav i dimetylformamid i närvaro av katalytiska mängder av en stark syra, såsom p-toluensulfonsyra, med tillämpning av känd teknik.

Nämnda mellanprodukt av gentamicin B ger således vid behandling med 1,1-dimetoxicyklohexan i dimetylformamid i närvaro av p-toluensulfonsyra en ketal vid 2'- och 3'-hydroxigrupperna, dvs. 1,3-di-N-bensyloxikarbonyl-2',3'-O-cyklohexyliden-6',4';3'',4''-di-N,O-karbonylgentamicin B. Slutligen överföres vilka som helst hydroxifunktioner (med undantag för 5-hydroxigruppen) kvarvarande i de partiellt skyddade aminoglykosidderivaten till motsvarande kolvätekarbonylderivat genom behandling därav med en syraklorid av kolvätekarbonsyran i en tertiär amin (företrädesvis pyridin), varvid den molära mängden av syrahalidmedlet är baserat på det antal hydroxigrupper som avses förestras. Om endast en hydroxigrupp annan än 5-hydroxigruppen är kvar i molekylen (såsom 2''-hydroxi), användes en ekvivalent mängd syrahalid i förhållande till den molära mängden aminoglykosid; om två hydroxigrupper återstår att skydda, användes 2 molekvivalenter syrahalid per mol aminoglykosid. Acylhalider av kolvätekarbonsyror med upp till 8 kolatomer användes företrädesvis, inkl. syraklorider av lägre alkansyror, såsom ättiksyra, propionsyra, valæriansyra och kaprylsyra; av aralkansyror, såsom fenylättiksyra och arylkarbonsyror, såsom toluinsyra och företrädesvis bensoesyror. Var och en av de nämnda mellanprodukterna av gentamicin C₁ och B ger således vid behandling med ekvimolära mängder bensylklorid i pyridin motsvarande 2''-O-bensoylderivat, dvs. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2''-O-bensoyl-3'',4''-N,O-karbonylgentamicin C₁ och 1,3-di-N-bensoyloxikarbonyl-2',3'-O-cyklohexyliden-6',4';-3'',4''-di-N,O-karbonyl-2''-O-bensoylgentamicin B, vilka båda vid behandling med metansulfonylklorid i trietylamin ger motsvarande 5-O-metansulfonylderivat.

Efter skydd av aminogrupperna med hjälp av N-bensyloxikarbonylderivat och hydroxigrupper i grannställning till nämnda skyddade aminogrupper via N,O-karbonylderivat kan man alternativt skydda alla andra hydroxigrupper, med undantag för 5-hydroxigruppen, genom överföring därav till en kolvätekarbonylgrupp utan att först skydda i grannställning belägna hydroxigrupper med acetal- eller ketalgrupper. 1,3-di-N-bensyloxikarbonyl-6',4';3",4"-di-N,O-karbonylgentamicin B ger således vid omsättning med 3 molekvivalenter bensoylklorid i pyridin motsvarande 2',3',2"-tri-O-bensoat-derivat, som vid omsättning med metansulfonylklorid i pyridin överföres till en förening användbar vid uppfinningen, dvs. 1,3-di-N-bensoyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2',3',2"-tri-O-bensoyl-6',4';3",4"-di-N,O-karbonylgentamicin B.

Förfarandet enligt uppfinningen utföres i dimetylformamid separat eller företrädesvis i närvaro av tetraalkylammoniumalkanoat. Behandlingen av en 5-O-kolvätesulfonylmellanprodukt med dimetylformamid separat utföres ofta vid återflödestemperatur (dvs. vid ungefär 155°C), eftersom reaktionshastigheten vanligen är högre än när reaktionen utföres vid lägre temperaturer; vid utföring av reaktionen i närvaro av ett tetraalkylammoniumalkanoat förlöper den emellertid vid lägre temperaturer (såsom 100-140°C) under goda utbyten av en renare produkt. tetra-n-butyl-ammoniumacetat väljes vanligen såsom medel, men även andra alkanoater

kan användas, såsom tetraetylammoniumacetat, tetrametylammoniumacetat, tetraetylammoniumformiat, tetra-n-butylammoniumformiat och liknande. Den molära mängden tetraalkylammoniumalkanoat per mol aminoglykosid är vanligen ungefär 1,5-5 mol.

De vid omsättning av N-skyddad-O-skyddad-5-O-kolvätesulfonyl- (eller substituerad kolvätesulfonyl)-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminen med dimetylformamid bildade mellanprodukterna ger vid hydrolys en 5-epi-förening enligt uppfinningen. När tetra-n-butylammoniumacetat användes tillsammans med dimetylformamid utgöres den bildade mellanprodukten av motsvarande N-skyddade-O-skyddade-5-epi-O-acetylderivat, som vid hydrolys ger en 5-epi-förening enligt uppfinningen.

Skyddsgrupper känsliga för reduktiv spaltning användes ofta företrädesvis vid utförande av förfarandet, eftersom de med lätthet kan avlägsnas via reduktiv teknik efter epimerisering i 5-ställningen. Andra skyddande grupper kommer emellertid att kvarbli efter reduktionssteget, såsom N,O-karbonylgrupper, som avlägsnas genom behandling med vattenutspädd bas vid förhöjda temperaturer. För eliminering av acetaler eller ketaler erfordras dessutom hydrolys.

Vid eliminering av skyddande grupper känsliga för reduktiv spaltning ur de vid detta förfarande bildade mellanprodukter är reduktion med väte i närvaro av en katalysator särskilt lämplig, när de bildade 5-epi-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-N-skyddade-O-skyddade mellanprodukterna saknar omättnad, såsom de mellanprodukter som erhålles genom behandling med dimetylformamid av O-och N-skyddade derivat av gentamicin A, B, B₁, C₁, C_{1a}, C₂, C_{2a}, C_{2b} och X₂, av tobramycin, kanamycin A och B, 3',4'-dideoxikanamycin B och antibiotikum G-418, JI-20A och JI-20B. När man å andra sidan avlägsnar skyddande grupper känsliga för reduktiv spaltning från N-skyddade-O-skyddade-5-epi-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-mellanprodukter, vari en dubbelbindning är närvarande, såsom sådana som härleder sig från sisomicin, verdamycin, antibiotikum G-52, antibiotikum 66-40B och 66-40D, är reduktion med en alkalimetall i flytande ammoniak särskilt lämplig för undvikande av reduktion av dubbelbindningen.

När man avblockerar en mellanprodukt med väte i närvaro av en katalysator, utgöres den lämpligaste katalysatorn av palladium, företrädesvis palladium/kol.

Hydrogenolysen av de skyddande grupperna utföres vanligen vid rumstemperatur i lägre alkansyror, företrädesvis ättiksyra, ehuru andra lösningsmedel, såsom lägre alkanoler kan användas. Hydreringen fortsättes, tills det icke längre föreligger någon märkbar sänkning av väte-

trycket och 5-epi-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminen enligt uppfinningen isoleras därefter vanligen genom att man avlägsnar lösningsmedlet, såsom genom destillation och därefter behandlar den därvid bildade N- och O-skyddade-5-epi-2-deoxistreptamin-mellanprodukten med en bas och, när även acetal- eller ketal- är närvarande, med vatten-utspädd syra för eliminering av de kvarvarande skyddande grupperna.

Enligt ett typiskt sätt att utföra detta förfarande löses en 5-O-kolvätesulfonyl-per-N-skyddad-per-O-skyddad mellanprodukt, såsom 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C₁, i dimetylformamid och upphettas 18 timmar vid återflödestemperatur, varefter lösningen indunstas till en återstod av 5-epi-N-skyddad-O-skyddad-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin-mellanprodukt, som löses i ättiksyra och hydreras vid rumstemperatur under ett utgångsvätetryck av 4 atm i närvaro av 30 %-igt palladium/kol. När icke längre någon sänkning av vätetrycket är märkbar avlägsnas katalysatorn genom filtrering och lösningsmedlet avlägsnas genom destillation i vakuum för bildning av en återstod, som efter behandling med 2N natriumhydroxidlösning vid förhöjd temperatur (såsom 100°C) och neutralisering med ättiksyra, isolering och rening enligt känd teknik ger 5-epigentamicin C₁, ett nytt antibakteriellt medel enligt uppfinningen.

Enligt ett annat sätt att utföra detta förfarande upphettas en 5-O-kolvätesulfonyl-per-N-skyddad-per-O-skyddad mellanprodukt, såsom 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin och 1-N-etyl-1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin, i dimetylformamid, som försatts med tetra-n-butylammoniumacetat, 16 timmar vid 120°C, varefter lösningen indunstas för bildning av motsvarande 5-epiacetylderivat, såsom 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-epi-O-acetyl-2"-O-benzoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin och motsvarande 1-N-etylderivat, som efter behandling med kaliumhydroxidlösning i vatten, neutralisering, isolering och rening medelst kromatografisk teknik ger en 5-epi-förening, såsom 5-episisomicin och 1-N-etyl-5-episisomicin.

Eventuella acetal- eller ketalskyddsgrupper i mellanprodukterna avlägsnas efter eliminering av de N-skyddande grupperna genom behandling med vattenutspädd syra, såsom utspädda mineralsyror, utspädd trifluorättiksyra eller vanligen med utspädda alkansyror, såsom ättiksyra.

Vid eliminering av karbobensoxiskyddsgrupper från en per-N-skyddad-per-O-skyddad aminoglykosidmellanprodukt med en dubbelbindning (såsom den mellanprodukt som härleder sig från 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-benzoyl-3"4"-N,O-karbonylverdamicin, efter behandling med dimetylformamid) genom omsättning därav med en alkalimetall (såsom kalium, litium och företrädesvis natrium) i flytande ammoniak löses mellanprodukten vanligen i en blandning av ett sam-lösningsmedel, såsom tetrahydrofuran, och flytande ammoniak, som för-sättes med alkalimetallen (såsom natrium) och reaktionsblandningen omröres några få timmar. Efter avdunstning av ammoniaken avlägsnas eventuellt kvarvarande O- och N-skyddande grupper (såsom 3",4"-N,O-karbonyl- och 2"-O-benzoyl-gruppen) genom tillsats av vatten till reaktionsblandningen, varvid natriumhydroxid bildas och upphettning vid förhöjd temperatur (såsom 100°C). Rening av den bildade produkten utföres medelst kromatografisk teknik för bildning av en anti-bakteriellt aktiv 5-epi-aminoglykosid enligt uppfinningen, såsom 5-epi-verdamicin.

Skyddsgrupperna kan alternativt avlägsnas ur N- och O-skyddade mellanprodukter, som erhålles vid behandling med dimetylformamid av en N- och O-skyddad-5-O-kolvätesulfonyl-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptamin, genom omsättning därav med en bas vid förhöjd temperatur och, när acetal- eller ketal- är närvarande, genom behandling med vattenutspädd syra.

Varje förening som kan erhållas vid nämnda förfaranden enligt uppfinningen och varvid i 1,3-diaminocyklitolmolekyldelen amino-gruppen i 1-ställning är osubstituerad, kan alkyleras enligt metoder kända av fackmannen i samband med införelse av gruppen $-CH_2Y$, varvid Y har den angivna betydelsen, i molekylens 1-ställning.

Uppfinningen åskådliggöres närmare medelst följande exempel, vari de angivna temperaturerna avser Celcius-grader. Exempler 1 - 4 avser framställning av utgångsmaterial.

Exempel 1

Per-N-benzyloxikarbonylaminoglykosider

A. 1,3,2',6',3"-penta-N-benzyloxikarbonylgentamicin C_{1a}

Lös 40 g gentamicin C_{1a} i 200 ml metanol och 20 ml mättad natriumvätekarbonatlösning och kyl lösningen till 0°C. Under omrörning av lösningen tillsätt under två timmar droppvis 88 ml karbobensyloxiklorid under upprätthållande av reaktionstemperaturen mellan 0 och 5°. Omrör blandningen över natten, medan reaktionstemperaturen får stiga till rumstemperatur. Sätt 500 ml kloroform till reaktionsblandningen, som därefter separerar i två skikt. Tvätta den organiska fasen med 4 x 100 ml vatten och torka över 100 g natriumsulfat. Indunsta den organiska fasen under vakuum vid en temperatur lägre än 40°. Lös den bildade rena produkten i 100 ml kloroform och sätt lösningen droppvis till 250 ml 75-% hexan/eter. Avfiltrera den bildade fällningen, tvätta med 100 ml hexan och lufttorka för bildning av 87 g (87 %) 1,3,2',6',3"-penta-N-benzyloxikarbonylgentamicin C_{1a}, smältpunkt 185 - 190°, $[\alpha]_D^{26} +71$, (CH₃OH), infrarött (IR) (KCl): 3300, 3500 cm⁻¹, PMR (CDCl₃): δ 1,2 (C-Me) 3,0 (N-Me), 7,25 (aromatisk H).

B. 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylsisomicin

Lös 25 g sisomicin och 13 g natriumkarbonat i 625 ml vatten. Under omröring av lösningen tillsätt 100 ml karbobensyloxiklorid vid 25°. Omrör blandningen 16 timmar, avfiltrera den fasta substansen och tvätta omsorgsfullt med vatten. Torka den fasta substansen i vakuum, tvätta med hexan och lufttorka för bildning av 62 g 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylsisomicin. Smältpunkt 165-173°: $[\alpha]_D^{26} +96,2$ (CH₃OH), infrarött (IR) = $\nu_{\max}$ (CHCl₃), 3600, 1720, 1515, 1215, 1050, 695 cm⁻¹; PMR δ (CDCl₃), 1,03 (3H, bred singlett, 4"-C-CH₃), 3,02 (3H, bred singlett, 3"-N CH₃), 5,02 (10H, bred singlett-CH₂C₆H₅), 3,28, 3,30 ppm (25H, breda singletter, -CH₂C₆H₅).

Exempel 2. Per-N-bensyloxikarbonyl-3",4"-N,0-karbonylaminoglykosider

A. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-3",4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a}-

Försätt en omrörd blandning av 60 mg natriumhydrid i 5 ml torr dimetylformamid med en lösning av 2 g av produkten från exempel 1A i 50 ml torr dimetylformamid under 30 minuter vid rumstemperatur under kväve. Omrör reaktionsblandningen två timmar och avfiltrera de olösliga substanserna. Försätt filtratet med 100 ml kloroform och tvätta den organiska fasen med 3 x 50 ml vatten. Torka den organiska fasen över 25 g natriumsulfat och indunsta under reducerat tryck. Lös den bildade återstoden i 15 ml kloroform och tillsätt droppvis 15 ml 75%-ig hexan/eter. Avfiltrera fällningen och tvätta med 25 ml hexan för bildning av 1,82 g (> 95 %) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-3",4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a}. Smältpunkt 215° (sönderdelning) $[\alpha]_D^{26} +63,4$, infrarött (IR)-(KCl) = 3300, 3500, 1680, 1545, PMR (CDCl₃) δ 1,28 (C-Me), 2,58 (N-Me), 7,25 (aromatiskt H).

B. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin

Försätt en omrörd lösning av 5 g av produkten från exempel 1B i 50 ml dimetylformamid med 250 mg natriumhydrid. Omrör reaktionsblandningen två timmar under argon vid rumstemperatur. Filtrera och sätt 2 ml isättika till filtratet. Koncentrera filtratet i vakuum och extrahera återstoden med 200 ml kloroform (renad medelst passage genom basisk aluminiumoxid). Tvätta kloroformextrakten med vatten, torka över natriumsulfat och indunsta för bildning av 3,5 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin. Smältpunkt 210-213°; $[\alpha]_D^{26} +68,8^{\circ}$ (c 0,22) infrarött (IR) $\nu_{\max}$ (nujol) 3550, 1760, 1580 cm⁻¹ PMR δ (CDCl₃) 1,34 (3H, singlett-4"-CH₃), 2,68 (3H, singlett-3"-N-CH₃), 5,04 (8H, bred singlett-CH₂C₆H₅).

Exempel 3. Per-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-kolvätekarbonyl-3"4"-N,0-karbonylaminoglykosider

A. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a}-

Försätt en omrörd lösning av 10 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-3"4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a} i 50 ml torr pyridin under 10-15 minuter i kväveatmosfär droppvis med 2 ml bensoylklorid. Omrör blandningen 30 minuter och avlägsna pyridinen på en roterande indunstare. varvid badet hålles vid en temperatur lägre än 30°. Lös den såsom återstod erhållna blekgula oljan i 100 ml kloroform. Tvätta denna organiska fas med 3 x 50 ml vatten och torka över 25 g natriumsulfat. Avdunsta kloroformen under vakuum. Triturera det såsom återstod erhållna gula skummet med en ringa mängd eter för bildning av 11.0 g (>95 %) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a}. Smältpunkt 120-123° [α]_D²⁶ +73,8.

B. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin

Försätt en omrörd lösning av 3 g av produkten från exempel 2B i 20 ml torr pyridin vid 25° i argonatmosfär med 1,7 ml bensoylklorid under 10 minuter. Omrör vid rumstemperatur, tills utgångsmaterialet reagerat (övervaka medelst tunnskiktskromatografering). Indunsta blandningen vid rumstemperatur under högvakuum, extrahera den fasta återstoden med 100 ml kloroform (som på förhand bringats passera genom basisk aluminiumoxid), Tvätta kloroformextraktet med 5%-ig natriumvätekarbonatlösning och vatten och torka över natriumsulfat. Avdunsta lösningsmedlet för bildning av 2,8 g 1,3',2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin. Smältpunkt 157-160°, [α]_D²⁶ + 86 (c 0,2) infrarött (IR) $\nu_{\max}$ (nujol) 3325, 1780, 1680, 1560 cm⁻¹ PMR δ (CDCl₃) 1,35 (4"-C-CH₃), 2,74 (3"-N-CH₃), 5,03 (CH₂-C₆H₅).

C. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-acetyl-3",4"-N,0-karbonylgentamicin C_{1a}-

1. 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-acetylgentamicin C_{1a}-

Försätt en omrörd lösning av 10 g 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylgentamicin C_{1a} i 50 ml torr pyridin under 10-15 minuter i kväveatmosfär droppvis med 1,4 ml ättiksyraanhydrid. Omrör reaktionsblandningen 30 minuter och avlägsna pyridinen på en roterande indunstare. och upprätthåll badtemperaturen vid en temperatur under 30°. Lös den bildade återstoden i 100 ml syrafri kloroform. Tvätta denna organiska lösning med 3 x 50 ml vatten. torka över natriumsulfat och indunsta i vakuum. Rena den bildade återstoden genom triturering med små mängder eter för bildning av 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonyl-2"-0-acetylgentamicin C_{1a}.

2. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonyl-gentamicin C_{1a}-

Behandla på samma sätt som i exempel 2A 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetylgentamicin C_{1a} i torr dimetylformamid med natriumhydrid. Isolera och rena den bildade produkten på i exempel 2A angivet sätt för bildning av 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a}.

D. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonyl-sisomicin

(1) Behandla på i exempel 3C(1) angivet sätt 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonylsisomicin med ättiksyraanhydrid i pyridin. Isolera och rena den bildade produkten på i exempel 3C(1) angivet sätt för bildning av 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetylsisomicin.

(2) Behandla på i exempel 2B angivet sätt 1,3,2',6',3"-penta-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetylsisomicin med natriumhydrid i dimetylformamid. Isolera och rena produkten på i exempel 2B angivet sätt för bildning av 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin.

Exempel 4.

Per-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-kolvätekarbonyl-5-O-kolvätesulfonyl-3",4"-N,O-karbonylaminoglykosider

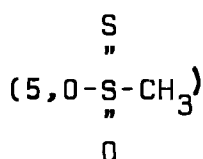
A. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a}-

Kyl en lösning av 1 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a} i 5 ml trietylamin och 15 ml tetrahydrofuran till under 0°. Omrör lösningen och försätt den under 15 minuter med en lösning av 1 ml metansulfonylklorid i 5 ml tetrahydrofuran. Omrör reaktionsblandningen två timmar vid 0°. Häll reaktionsblandningen i 25 ml vatten och 25 ml kloroform. Tvätta den organiska fasen med 2 x 15 ml vatten och torka den organiska fasen över natriumsulfat. Avdunsta kloroformen och triturerera det bildade gula skummet med små mängder eter för bildning av 1,2 g (över 95 %) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a}. Smältpunkt 130° [α]_D²⁶ + 53,4 (CHCl₃) PMR (CHCl₃) δ 1,35 (C-Me), 2,74 (N-Me), 2,99 (OSO₂CH₃), 7,28 (4xCbz och bensoyl).

Behandla på samma sätt 1,3,2',6'-tetra-N-bensyl-oxikarbonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a} i trietylamin och tetrahydrofuran med metansulfonylchlorid för bildning av 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-acetyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C.

B. 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin

Lös 2,5 g av produkten från exempel 3B i 15 ml torr pyridin. Kyl lösningen till 10° och tillsätt 4 ml metansulfonylchlorid under 10 minuter, förvara reaktionsblandningen över natten och koncentrera den under vakuum vid 25°. Extrahera återstoden med 150 ml syrafri kloroform. Tvätta kloroform-extraktet med vatten och torka över natriumsulfat. Avdunsta kloroformen för bildning av 2,4 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyl-oxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin; smältpunkt 84-88°, $[\alpha]_D^{26} + 21,3$ (c 0,29) infrarött (IR) V_{max} (nujol) 3325, 1750¹, 1540 cm; PMR δ (CDCl₃) 1,32 (4"-C-CH₃), 2,68 (3"-N-CH₃), 3,04



Exempel 5.5-epigentamicin C₁

A. Sätt 2 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metan-sulfonyl-2"-O-benzoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C₁ till 15 ml dimetylformamid, återflödesupphetta 18 timmar och indunsta lösningen till en återstod, omfattande en N-skyddad-O-skyddad mellanprodukt.

B. Lös denna återstod i ättiksyra, tillsätt 500 mg 30%-igt palladium/kol och hydrera vid rumstemperatur under ett utgångsvätetryck av 4 at. Avlägsna katalysatorn genom filtrering och indunsta filtratet till en återstod. Lös återstoden i 25 ml 5%-ig natriumhydroxidlösning och upphetta fyra timmar vid 100°. Kyl lösningen och låt den passera genom en pelare av IRC-50 (H⁺-form), tvätta pelaren omsorgsfullt med vatten och eluera produkten med 200 ml 1N ammoniumhydroxid. Koncentrera ammoniumhydroxideluatet till en återstod, omfattande 5-epigentamicin C₁. Rena produkten genom kromatografering på en silikagelpelare och eluera med den lägre fasen av lösningsmedelssystemet kloroform/metanol/15 % ammoniumhydroxid (2:1:1). Kombinera de lika eluatet, såsom fastställts genom tunnsskikt-kromatografering och lyofilisera till en återstod för bildning av 5-epigentamicin C₁ såsom en vit, fast substans; smältpunkt 115-120° [α]_D²⁶ +136,5° (c 0,32 vatten); Masspektrum: (M) m/e 477, (M + 1)⁺ m/e 478;

<u>Monosackarider</u>	m/e 157 - purpurosamin A-jon
	m/e 160, 142 - garosamin-jon
	m/e 191, 173, 163, 145-5-epi-2-deoxistreptamin-jon
<u>Disackarider</u>	350, 322, 304,
	347, 319, 301

NMR: δ (100 MHz, D₂O)

5,08, d, J=3,8Hz

H'-1' och H-1"

4,99, d, J=3 Hz

4,39, bred singlett H-5

3,93, d, J=12,5Hz H-5" eq

3,77, dd, J=11, J=3,6Hz H-2"

3,30, d, J=12,5Hz H-5" ax

2,66, d, J=10,5Hz H-3"

2,53, singlett N-CH₃ (3")

2,33, singlett N-CH₃ (6')

2,05, m H-2 eq

1,23, s C-CH₃ (4")

1,04, d, J=7Hz CH-CH₃ (6')

C. Alternativt avlägsnas de N-skyddande och O-skyddande grupperna i mellanprodukterna från exempel 5 genom upphettning av mellanprodukten tillsammans med 1-2N natriumhydroxidlösning vid 100°, tills tunnsskiktskromatografisk analys av reaktionsblandningen indikerar att skyddsgrupperna avlägsnats (vanligen 24-48 rimmar). Isolera och rena den bildade produkten på i exempel 5B angivet sätt.

D. De N-skyddande och O-skyddande grupperna kan avlägsnas från den enligt exempel 5A framställda mellanprodukten på följande sätt. Lös produkten från exempel 5A i en blandning av 10 ml tetrahydrofuran och 50 ml flytande ammoniak. Sätt långsamt 2 g natrium till den omrörda blandningen och fortsätt att omröra två timmar. Låt ammoniaken avdunsta genom uppvärmning till rumstemperatur över natten. Lös den erhållna återstoden i 10 ml 5%-ig natriumhydroxidlösning och upphetta fyra timmar vid 100°. Kyl och låt lösningen passera genom IRC-50 (H⁺)-harts. Tvätta hartset omsorgsfullt med vatten och eluera produkten med 100 ml 1N ammoniumhydroxid. Koncentrera ammoniumhydroxideluatet till en återstod och rena denna återstod på ett sätt som liknar det som beskrivs i exempel 5B för bildning av 5-epigentamicin C₁.

Exempel 6 .

Andra 5-epi-4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer

A.1. På ett sätt liknande det som beskrivs i exempel 5A och 5B behandla var och en av följande aminoglykosidderivat med dimetylformamid vid återflödestemperatur, hydrera var och en av de bildade O-skyddade, N-skyddade mellanprodukter som bildas därvid i ättiksyra i närvaro av palladium/kol och behandla slutligen var och en av de bildade 2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonyl-5-epiaminoglykosiderna med natriumhydroxid vid 100°:

- 1) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{1a},
- 2) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C₂,
- 3) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{2a},
- 4) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylgentamicin C_{2b}.

Isolera och rena var och en av de bildade produkterna på ett sätt liknande det som beskrivs i exempel 5B för bildning av resp. 5-epigentamicin C_{1a}, 5-epigentamicin C₂, 5-epigentamicin C_{2a} och 5-epigentamicin C_{2b}.

2. Efter behandling av vart och ett av utgångsmaterialen i exempel 6A med dimetylformamid vid återflödestemperatur kan de skyddande grupperna i var och en av de därvid bildade mellanprodukterna alternativt avlägsnas genom behandling med natriumhydroxid enligt exempel 5C eller genom reduktion med natrium i ammoniak och efterföljande behandling på i exempel 5B angivet sätt.

B. På ett sätt liknande det som beskrives i exempel 5A och 5D behandla var och en av följande aminoglykosidderivat med dimetylformamid vid återflödestemperatur och behandla därefter den bildade N-skyddade, O-skyddade mellanprodukten med natrium i flytande ammoniak och därefter med natriumhydroxid vid 100°:

- 1) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin,
- 2) 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylverdamicin.

Isolera och rena var och en av de bildade produkterna på ett sätt liknande det som beskrives i exempel 5D för bildning av resp.
 5-episisomicin smältpunkt 135-138° (sönderdelning)
 5-epiverdamicin smältpunkt 110-113°, $[\alpha]_D^{26} + 159,7$ (H₂O)

2. Efter behandling med dimetylformamid vid återflödestemperatur kan de skyddande grupperna i var och en av de därvid bildade mellanprodukterna alternativt avlägsnas genom behandling med natriumhydroxid på i exempel 5C angivet sätt för bildning av motsvarande 5-epiaminoglykosid.

C.1. På ett sätt liknande det som beskrives i exempel 5A och 5B behandla vart och ett av de följande aminoglykosidderivaten med dimetylformamid vid återflödestemperatur och hydrera var och en av de bildade mellanprodukterna i ättiksyra över palladium/kol och behandla därefter den bildade produkten med natriumhydroxid:

1,3,2',6'-tetra-N-bensoyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-3',4'-O-bensylden-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonyl-antibiotikum JI-20B.

2. Lös den enligt exempel 6C(1) erhållna O-yliden-5-epiaminoglykosiden i 50 %-ig ättiksyra och värm lösningen en timme på ett ångbad. Indunsta reaktionsblandningen i vakuum till en återstod. Renaföreningen via kromatografisk teknik på samma sätt som enligt exempel 5B för bildnin av resp.:

5-epi-antibiotikum JI-20B

NMR: (D_2O ext, TMS): 5,17 (d, J = 4Hz, 1"-M); 5,13 (d, J = 3Hz, 1'-H); 2,62 (N-Me); 1,20 (d, J-Hz, C_6 "-CH₃); 1,20 δ (C_4 ,-CH₃).
 CMR: (D_2O , diox. ref.): 102 (C_1 ,); 96,4 (C_1 "); 85,8 och 80,5 ppm (C_4 och C_6)

Exempel 7 .5-episisomicin och 1-N-alkyl-5-episisomicinA. 5-episisomicin

1. Sätt 1,2 g 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-0-metan-sulfonyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin och 1,0 g tetra-n-butyl-ammoniumacetat till 10 ml dimetylformamid. Upphetta 16 timmar vid 120°, indunsta till en återstod och extrahera denna med kloroform. Tvätta kloroformlösningen med vatten, torka över natriumsulfat, indunsta i vakuum till en återstod omfattande 1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-epi-0-acetyl-2"-0-bensoyl-3",4"-N,0-karbonylsisomicin.

2. Lös den enligt exempel 7A(1) erhållna återstoden i 10 ml dimetylsulfoxid. Tillsätt en lösning av 2 g kaliumhydroxid i 4 ml vatten och upphetta 24 timmar vid 100°. Kyl reaktionsblandningen, tillsätt 80 ml Amberlite[®] IRC-50 (H⁺), omrör blandningen en timme, avskilj hartset, tvätta med vatten och eluera med 10N ammoniumhydroxid. Koncentrera de kombinerade ammoniumhydroxideluaten i vakuum och kromatografera den bildade återstoden över 25 g silikagel samt eluera med den lägre fasen av lösningsmedelssystemet kloroform/metanol/10N ammoniumhydroxid (2:1:1). Kombinera likadana eluat, innehållande 5-episisomicin, såsom fastställes medelst tunnskikt-kromatografering och indunsta de kombinerade eluaten till en återstod av 5-episisomicin. Smältpunkt 135-138° (sönderdelning); $[\alpha]_D^{26} + 187,3$ (D₂O); Masspektrum (M)⁺ m/e 447; (M + 1)⁺ m/e 448.

Monosackarider m/e 160, 127.

2-deoxi-5-epistreptamin m/e 191, 173, 163, 145.

Disackarider m/e 317, 289, 271

m/e 350, 322, 304

PMR (δ) D₂O:

5,14	d, J=2,5 Hz	1'-H
5,07	d, J=4,0 Hz	1"-H
4,89	bred singlett	4'-H
4,37	bred singlett	5-H
3,94	d, J=12,5 Hz	5"-e-H
3,77	q.	2"-H
3,39	d, J=12,0 Hz	5"-a-H
3,21 (2H)	bred singlett	6'-H
2,65	d, J=11 Hz	3"-H
2,52	singlett	3"-N-CH ₃
1,23	singlett	4"-C-CH ₃

CMR (D_2O):

PPM: δ 150,3, 102,6, 97,1 (2C), 85,8, 80,9, 73,3, 70,3, 69,7, 68,5, 64,0, 48,1, 47,2, 47,1, 43,2, 37,7, 36,4, 25,6, 22,4.

B. 1-N-etyl-5-episisomicin

1. Den erforderliga mellanprodukten, dvs. 1-N-etyl-1,3,2',6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin, framställs genom omsättning av 1-N-etylsisomicin enligt exempel 1-4.

Behandla på i exempel 7 A angivet sätt 1-N-etyl-1,3,2",6'-tetra-N-bensyloxikarbonyl-5-O-metansulfonyl-2"-O-bensoyl-3",4"-N,O-karbonylsisomicin i dimetylformamid i närvaro av tetra-n-butylammoniumacetat under 16 timmar vid 120°. Isolera det bildade 5-epi-O-acetatderivatet på i exempel 7 A(1) angivet sätt, behandla sedan detta derivat med kaliumhydroxidlösning i vatten på i exempel 7 A(2) angivet sätt och rena enligt kromatografisk teknik på angivet sätt för bildning av 1-N-etyl-5-episisomicin. Smältpunkt 118-122° (sönderdelning); Masspektrum $(M)^+$ m/e 475, $(M + 1)^+$ m/e 476.

Monosackarider m/e 160, 127.

1-N-etyl-2-deoxi-5-epistreptaminer m/e 219, 201, 191, 173,

Disackarider m/e 345, 317, 299,
m/e 378, 350, 322.

PMR (δ) D_2O :

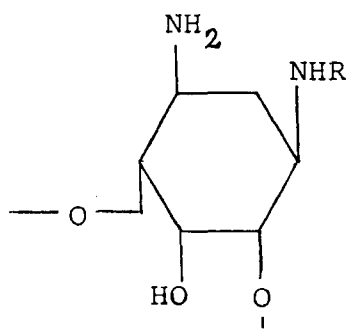
5,14	d, J=2,5 Hz	1'-H
5,00	d, J=4,1 Hz	1"-H
4,9	bred singlett	4'-H
4,38	bred singlett	5-H
3,93	d, J=12,5 Hz	5"e-H
3,78	q.	2"-H
3,38	d, J=12,5 Hz	5"a-H
3,21 (1H)	bred singlett	6'-H
2,65	d, J=11,0 Hz	3"-H
2,52	singlett	3"-N-CH ₃
1,22	singlett	4"-C-CH ₃
1,07	triplett	1-N-CH ₂ -CH ₃

CMR (D_2O):

PPM: δ 149,8, 102,9, 97,4, 97,0, 83,9, 80,5, 73,2, 70,1, 69,6, 68,5, 63,9, 54,5, 47,1, 47,0, 43,1, 40,8, 37,5, 33,0, 25,6, 22,4, 14,6.

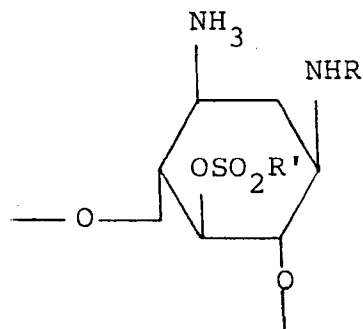
Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av 5-epi-derivat av 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminer ~~[nämligen]~~ gentamicin A, gentamicin B, gentamicin B₁, gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C₂, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_{2b}, gentamicin X₂, tobramycin, verdamicin, kanamycin A, kanamycin B, 3',4'-dideoxikanamycin B, antibiotikum G-52, antibiotikum 66-40B, antibiotikum 66-40D, antibiotikum G-418, antibiotikum JI-20A, antibiotikum JI-20B och sisomicin, samt av farmaceutiskt godtagbara syraadditionsalter av dessa derivat, vilka föreningars 2-deoxistreptamindel har formeln



(I)

- där R är en väteatom eller en grupp $-CH_2Y$, varvid Y betecknar väte, alkyl, alkenyl, cykloalkyl, cykloalkylalkyl, hydroxi-alkyl, aminoalkyl, N-alkylaminoalkyl, aminohydroxialkyl, N-alkylaminohydroxialkyl, fenyl, benzyl eller tolyl, varvid de alifatiska grupperna har upp till 7 kolatomer och, om de är substituerade med amino- och hydroxigrupper, uppvisar dessa substituentter på olika kolatomer, k ä n n e t e c k n a t därav, att vid framställningen av dessa föreningar utföres 5-epimeriseringssteget genom behandling av ett derivat av en av de ovannämnda 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoxistreptaminerna, vari 2-deoxistreptamindelen har formeln



(II)

vari R har ovan angiven betydelse och R' är en osubstituerad eller substituerad kolvätegrupp och vari hydroxyl- och amino-grupperna i 4,6-di-O-(aminoglykosyl)-2-deoksistreptaminderivaten är skyddade med grupper som kan undergå reduktiv klyvning eller basisk eller mild sur hydrolys, med dimetylformamid vid en temperatur av ungefär 80 - 155°C, varefter skyddsgrupperna avlägsnas.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att behandlingen med dimetylformamid utföres i närvaro av ett tetraalkylammoniumalkanoat.

3. Förfarande enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att tetraalkylammoniumalkanoatet är tetra-n-butylammoniumacetat.

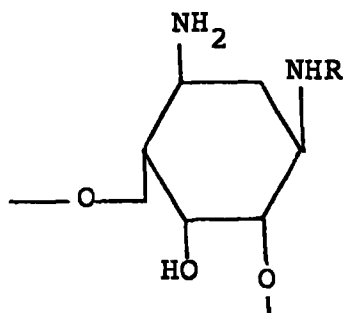
4. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 3, k ä n n e t e c k n a t därav, att R' är en metylgrupp.

5. Förfarande enligt något av patentkraven 1 - 4, — k ä n n e t e c k n a t därav, att avlägsnandet av skydds-
— grupperna utföres med en bas i vattenlösning eller, när skyddsgrupper som kan undergå reduktiv klyvning är närvarande, genom reaktion med väte i närvaro av en katalysator eller med en alkalimetall i flytande ammoniak, åtföljt av behandling med en bas i vattenlösning och därefter, när någon av skyddsgrupperna är en acetal eller en ketal med en syra i vattenlösning.

LB

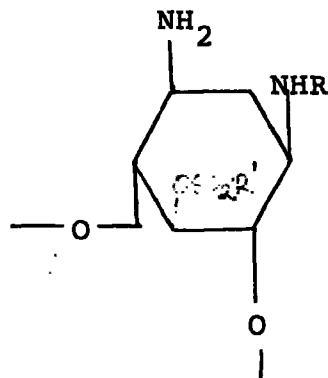
Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä 4,6-di-O-(aminoglykosyyli)-2-deoksistreptamiinien ~~5-epi-johdannaisten, nimittäin~~ gentamisiini A[n], gentamisiini B[n], gentamisiini B₁[n], gentamisiini C₁[n], gentamisiini C_{1a}[n], gentamisiini C₂[n], gentamisiini C_{2a}[n], gentamisiini C_{2b}[n], gentamisiini X₂[n], tobramysiini[n], verdamysiini[n], kanamysiini A[n], kanamysiini B[n], 3',4'-di-deoksikanamysiini B[n], antibiootti G-52[n], antibiootti 66-40B[n], antibiootti 66-40D[n], antibiootti G-418[n], antibiootti JI-20A[n], antibiootti JI-20B[n] ja sisomysiini[n] 5-epi-johdannaisten sekä näiden farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi, joiden yhdisteiden 2-deoksistreptamiiniosalla on kaava



(I)

jossa R on vetyatomi tai ryhmä $-\text{CH}_2\text{Y}$, jolloin Y on vety, alkyyli, alkenyyli, sykloalkyyli, sykloalkyylialkyyli, hydroksialkyyli, aminoalkyyli, N-alkyyliaminoalkyyli, aminohydroksialkyyli, N-alkyyliaminohydroksialkyyli, fenyyli, bentsyyli tai tolyyli, jolloin alifaattiset ryhmät sisältävät korkeintaan 7 hiiliatomia, ja niiden ollessa substituoituja amino- ja hydroksiryhmillä nämä substituentit ovat eri hiiliatomeissa, t u n n e t t u siitä, että valmistettaessa näitä yhdisteitä suoritetaan 5-epimerointi käsittelemällä jotakin mainittua 4,6-di-O-(aminoglykosyyli)-2-deoksistreptamiini-johdannaista, jonka 2-deoksistreptamiiniosalla on kaava



(II)

jossa R merkitsee samaa kuin edellä ja R' on substituoitu tai substituoitumaton hiilivetyryhmä ja jossa 4,6-di-O-(aminoglykosyyli)-2-deoksistreptamiinijohdannaisen hydroksi- ja aminoryhmät ovat suojattuja ryhmillä, joille voidaan suorittaa pelkistävä lohkaissu tai emäksinen tai heikosti hapan hydrolyysi, dimetyyliformamidilla noin 80 - 155°C:n lämpötilassa, jonka jälkeen suojaryhmät poistetaan.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dimetyyliformamidikäsittely suoritetaan tetraalkyyliammoniumalkanoaatin läsnäollessa.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että tetra-alkyyliammoniumalkanoaatti on tetra-n-butyliammoniumasetatti.

4. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R' on metyyli-ryhmä.

5. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että suojaryhmien poisto suoritetaan emäksellä vesiliuoksessa, tai suojaryhmien ollessa sellaisia, joille voidaan suorittaa pelkistävä lohkaissu, suojaryhmät poistetaan vedyllä katalysaattorin läsnäollessa tai alkalimetallilla nestemäisessä ammoniakissa, minkä jälkeen suoritetaan emäkäsittely vesiliuoksessa, ja sen jälkeen, mikäli jokin suojaryhmistä on asetaali tai ketaali, käsittely hapon vesiliuoksella.