

AÑO 1958

Expediente núm.



240203

240203

# REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INVENCIÓN

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una PATENTE DE INVENCIÓN por VEINTE años, en España

a favor de

AMERICAN CYANAMID COMPANY, de nacionalidad

norteamericana domiciliado en 30 Rockefeller Plaza,

~~100~~ Nueva York, N.Y., E.U.A. ~~100~~

por:

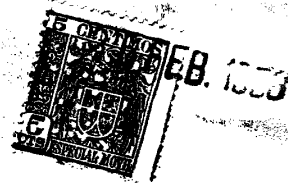
UN METODO DE PREPARAR COMPUESTOS DE LA SERIE DE LA TETRACICLINA"

Nº 6013

Agente Sr. ELZABURU



240203



y el epímero en 4a de dicha 6-desmetil-6- desoxitetraciclina. El invento incluye asimismo las sales ácidas y básicas terapéuticamente activas y los complejos de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina y del epímero en 4a de dicha 6-desmetil-  
5 6-desoxitetraciclina, por ejemplo las sales de ácido mineral, las sales de metal alcalino y las sales de metales alcalinotérricos, así como diversos complejos como por ejemplo los formados con sales de aluminio, magnesio y calcio.

Los nuevos compuestos de este invento se refieren al antibiótico tetraciclina bien conocido y extensamente utilizado con un amplio espectro. La 6-desmetil-6-desoxitetraciclina aquí descrita se diferencia esencialmente de la tetraciclina en que el grupo hidróxilo y el grupo metilo en la posición 6 del anillo de naftaceno han sido substituidos por un átomo de hidró-  
10 geno. Este cambio produce una diferencia notable en la actividad de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina resultante, que tiene una vez y medio la actividad biológica frente al Staphylococcus aureus de la tetraciclina. Además, la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina es activa frente a determinadas cepas de bacterias que son resistentes a la tetraciclina.  
15  
20

Uno de los aspectos más sorprendentes del presente invento es que la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina conserve el extenso espectro de actividad antibacteriana de la tetraciclina, especialmente si se considera que la anhidrotetraciclina, en la que también falta un grupo hidróxilo en la posición 6 del anillo de naftaceno, presenta un grado de actividad anti-bacteriana considerablemente inferior a la tetraciclina. Por otra parte es totalmente inesperado que un compuesto en el que faltan los grupos metilo e hidroxilo de la tetraciclina sea un agente anti-bacteriano más activo que la propia tetraciclina.  
25  
30

240203



5 Un nombre químico adecuado de este análogo de tetraciclina del presente invento, de acuerdo con la nomenclatura del Chemical Abstracts, es 4-dimetilamino- 1,4,4a,5,5a, 6, 11, 12a- octahidro-3,10,12,12a-tetrahidroxi- 1,11,-dioxo-2-naftacencocarboxamida. Un nombre vulgar apropiado para este compuesto es el de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina tal como se ha indicado generalmente aquí.

10 Otra de las ventajas más importantes que poseen los nuevos compuestos del presente invento sobre las tetraciclinas anteriormente descritas en su mayor estabilidad frente a ácidos y álcalis. Es conocida la inestabilidad de la tetraciclina frente a los ácidos y la inestabilidad de la clorotetraciclina frente a los álcalis. La clorotetraciclina en una solución acuosa con un amortiguador de carbonato sódico a pH 9,85 pierde el  
15 50% de su actividad en 29,2 minutos a 23. Por el contrario, la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina no pierde más que el 1% de su actividad en 24 horas en las mismas condiciones. La tetraciclina tiene una vida media de menos de 1 minuto en ácido clorhídrico 3 normal a 100°. La 6-desmetil-6-desoxitetraciclina posee,  
20 por otra parte, una vida media de 1644 minutos en las mismas condiciones. La tetraciclina tiene una vida media de alrededor de 6 minutos en solución de hidróxido sódico 0,1 normal a 100°. Por el contrario, la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina tiene una vida media de 198 minutos en las mismas condiciones. Estas propiedades inesperadas son muy valiosas puesto que la inestabilidad a los ácidos de la tetraciclina y la inestabilidad a los álcalis de la clorotetraciclina ha limitado o evitado completamente el empleo de estos antibióticos en muchas aplicaciones. A  
25 causa de la estabilidad muy superior de la nueva 6-desmetil-6-desoxitetraciclina, es posible preparar muchos productos farma-  
30

240203

26



5 séuticos que no podrían obtenerse satisfactoriamente con las tetraciclinas conocidas anteriormente. Asimismo, la estabilidad aumentada hace posible mejorar los procedimientos de recuperación y purificación, puesto que pueden utilizarse condiciones más drásticas de pH y temperatura sin destrucción del nuevo compuesto.

10 Según se indicó anteriormente, la actividad antibacteriana de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina es en muchos aspectos totalmente análoga a la de las tetraciclinas conocidas anteriormente y en algunos casos, en especial frente al Staphylococcus aureus, es mucho mayor y así el nuevo compuesto puede administrarse por el médico del mismo modo y aproximadamente en las mismas dosis que con las tetraciclinas corrientemente en uso. Por otra parte, la nueva tetraciclina, puesto que presenta la actividad antibiótica típica de amplio espectro de las tetraciclinas anteriormente conocidas, puede utilizarse en el tratamiento de diversas infecciones producidas tanto por bacterias Gram-positivas como Gram-negativas en casos en que esté indicado el tratamiento de tales infecciones con tetraciclina o clorotetraciclina.

25 El espectro antibacteriano del nuevo compuesto, que representa la cantidad necesaria para inhibir el desarrollo de diversas bacterias típicas se determinó de una forma normalizada mediante la técnica de tubos de dilución nutritiva que se utiliza ordinariamente en el ensayo de nuevos antibióticos. Las concentraciones mínimas de inhibición, expresadas en gammas por mililitro de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina frente a diversos organismos ensayados se indican en la tabla a continuación. Como comparación, se incluye también la actividad antibacteriana de la tetraciclina frente a los mismos organismos.

240203



TABLA I

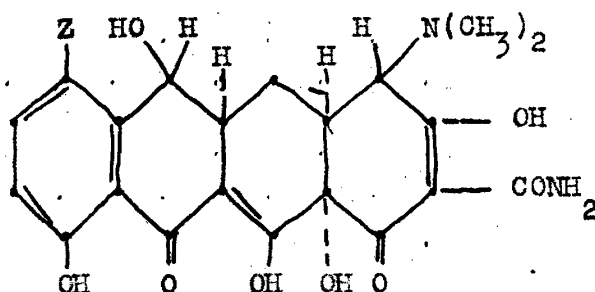
	<u>Organismo</u>	<u>6-desmetil-6-desoxi- tetraciclina</u>	<u>Clorhidrato de tetraciclina</u>
5	<u>Mycobacterium ranae</u>	0.4	0.4
	<u>Mycobacterium smegmatis</u> ATCC 607	0.4	0.4
	<u>Micrococcus pyogenes var</u> <u>aureus (Staph. aureus)</u> ATCC 6538P	0.8	0.8
10	<u>Sacrina lutea</u> ATCC 9341	0.8	0.8
	<u>Bacillus subtilis</u> ATCC 6633	0.4	0.4
	<u>Streptococcus pyogenes</u> <u>γ hemolytic</u>	12.0	50.0
	<u>Micrococcus pyogenes var</u> <u>albus (Staph. albus)</u>	12.0	50.0
15	<u>Streptococcus pyogenes</u> <u>β hemolytic</u>	12.0	50.0
	<u>Bacillus cereus</u> ATCC 10702	0,8	0.2
	<u>Proteus vulgaris</u>	6.0	6.0
	<u>Salmonella gallinarum</u>	6.0	6.0
20	<u>Escherichia coli</u>	6.0	6.0

De lo que antecede se deducirá que en muchos aspectos el espectro antibacteriano del nuevo compuesto es muy paralelo al de la tetraciclina, pero que además el nuevo compuesto es eficaz frente a determinadas capas de bacterias resistentes a la tetraciclina como por ejemplo Streptococcus pyogenes γ-hemolytic, Micrococcus pyogenes var. albus, Streptococcus pyogenes β-hemolytic, etc., y así mismo posee la ventaja más importante de tener un ensayo biológico aproximadamente una vez y



media el de la tetraciclina frente al Staphylococcus aureus, determinado por el ensayo turbidimétrico normalizado. [Annals of the New York Academy of Sciences, 5, 218 (1940)]

La 6-desmetil-6-desoxitetraciclina se produce de acuerdo con el invento por una reducción catalítica bastante única de una desmetiltetraciclina o un epímero 4a de la desmetiltetraciclina. Las desmetiltetraciclinas, que son antibióticos que tienen la fórmula:



en la que Z es hidrógeno, cloro o bromo, y que se describen en J.A.C.S. 79, 4561 (1957) y se producen por determinadas cepas mutantes de S. aureofaciens, algunas de las cuales se han designado como S604, S1071, V62 y B440.

Cultivos de estas cepas se han depositado en la American Type Culture Collection en Washington, D.C., y se les ha asignado los números de entrada ATCC 12551, 12552, 12553 y 12554, respectivamente.

De acuerdo con el invento, los nuevos compuestos de este invento se obtienen por reducción catalítica de una desmetiltetraciclina que tenga la fórmula II o un epímero 4a de la misma en una solución en un disolvente en presencia de una sustancia que sea capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peridioxigenado. La reducción puede efectuarse con hidró-

30

240203



5 geno en presencia de un catalizador apropiado, como el paladio metálico finamente dividido u otro metal de la familia del platino o hidróxido de paladio sobre carbón. Son compuestos adecuados que poseen esta propiedad de formar un anillo de quelato y que pueden utilizarse con éxito en este proceso de reducción, el ácido bórico, trihalogenuros de boro, como el trifluoruro de boro, sales de aluminio y magnesio, como el cloruro de aluminio, acetato magnésico, etc. El ácido bórico o los trihalogenuros de boro parecen ser los compuestos más  
10 útiles con vistas a los rendimientos del producto deseado. Normalmente, el ácido bórico o el trihalogenuro de boro se hallan presentes por lo menos en una cantidad mol a mol. La reducción puede efectuarse a temperaturas que oscilan de 0° a 100° y preferentemente desde la temperatura ambiente a unos  
15 50° y a presiones de hidrógeno desde aproximada media a unas 100 atmósferas.

Disolventes inertes apropiados que pueden utilizarse en la reacción son los distintos disolventes polares, como por ejemplo agua, dioxano, ácido acético glacial, 2-etoxietanol,  
20 y acetato de etilo. Se ha encontrado que una mezcla disolvente especialmente buena para esta reacción es una relación uno a uno de agua y dimetilformamida. Una pequeña cantidad de ácido perclórico se añade normalmente a la solución.

Es necesaria una concentración de catalizador por lo  
25 menos del 5% en peso de la 6-desmetiltetraciclina y puede utilizarse hasta un 100 por 100 en peso. La hidrogenólisis se realiza ordinariamente hasta que se ha absorbido un mol de hidrógeno cuando el material de partida es 6-desmetiltetraciclina, en cuyo momento la velocidad de absorción tiende a  
30 disminuir. Cuando se utiliza 7-cloro-6-desmetil-tetraciclina



26 FEB.

240203

se necesitan, desde luego, dos moles de hidrógeno. Debe tenerse algún cuidado de no continuar la hidrogenación durante un periodo de tiempo indebido ya que después pueden tener lugar reducciones perjudiciales con obtención de productos menos convenientes.

5

Las sustancias capaces de formar un anillo de quelato según se describió anteriormente que se utilizan en el proceso de reducción descrito son reactivos de la máxima importancia puesto que actúan aparentemente como agentes formadores de complejos y sirven para evitar la reducción de las funciones oxigenadas en las posiciones 11 y 12 del anillo de naftaceno. Estos reactivos son muy importantes en la reducción, puesto que en ausencia de tales agentes la posición 12 se reduce preferentemente a la posición 6 y el compuesto resultante no posee actividad biológica. Sin embargo, en el proceso de reducción descrito la quelación sirve para proteger estas funciones oxigenadas y evitar su reducción, de forma que se conserve la actividad antibacteriana del compuesto.

10

15

20

25

30

Una vez que la hidrogenación es completa, la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina se recupera por cualquier sistema adecuado, por ejemplo separando el catalizador y concentrando la solución. El producto se evapora a sequedad, se purifica por precipitación fraccionada en metanol y puede purificarse más por recristalización en alcohol en la forma normal. El producto neutro así formado puede convertirse en una sal de ácido mineral, por ejemplo, el clorhídrico, por tratamiento con ácidos como el ácido clorhídrico a un pH menor de 4. De una manera análoga pueden formarse otras sales con ácidos como por ejemplo la sal con ácido sulfúrico, con ácido fosfórico, con ácido tricloroacético, etc. Preferentemente, la 6-desmetil-6-desoxi-

240203



FEB. 1959

tetraciclina puede ponerse en suspensión en un disolvente apropiado durante la acidificación. Las sales de metal alcalino y metales alcalino-térreos pueden formarse simplemente por tratamiento del compuesto anfótero aproximadamente con un  
5 equivalente de la base elegida, esto es, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico bórico, etc. Las sales metálicas pueden prepararse en solución acuosa en un disolvente apropiado. Las sales básicas se preparan preferentemente a un pH de 6 o superior. La base libre puede obtenerse a un pH en  
10 el intervalo de unos 4-6. Los complejos como por ejemplo el complejo 6-desmetil-6-desoxitetraciclina gluconato de aluminio, pueden formarse mezclando simplemente el clorhidrato del nuevo compuesto y gluconato de aluminio en solución acuosa.

El epímero en 4a de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina, es decir que tiene una forma epímera en el átomo de carbono  
15 en la posición 4 lo mismo que se ha descrito en relación con otros compuestos tetraciclínicos, puede formarse también ajustando simplemente la concentración de iones hidrógeno de una solución concentrada del antibiótico en el intervalo de pH de  
20 3,0 a 5,0 y abandonando la solución hasta que la isomerización haya llegado al equilibrio.

Es más conveniente realizar la isomerización a temperatura ambiente, aunque a temperaturas superiores tiene lugar un grado superior de conversión. El pH debe hallarse en el inter-  
25 valo de unos 3,0 a 5,0, de preferencia entre 3,5 y 4,5. Fuera de estos intervalos de concentraciones de iones hidrógeno tiene lugar alguna epimerización, e incluso en agua destilada; pero la velocidad es muy pequeña. La concentración del antibiótico en la solución acuosa debe ser lo más elevada posible con  
30 objeto de obtener las velocidades mayores de epimerización. El

240203



equilibrio completo puede requerir el periodo de tiempo de unas 24 horas a 25<sup>a</sup>, pero el equilibrio satisfactorio puede requerir un tiempo considerablemente más corto en condiciones específicas. Ordinariamente, sin embargo, se alcanzan los mejores resultados dejando estar la solución durante periodos de tiempo de una semana o más. En la mayoría de los casos parece alcanzarse un equilibrio en un 50%; esto es, aproximadamente la mitad del antibiótico se convierte en el epímero en el equilibrio.

Puesto que la concentración es un factor importante para obtener rendimientos elevados en breves periodos de tiempo, debe elegirse un sistema disolvente que dé la concentración superior de antibiótico. Estos sistemas disolventes deben amortiguarse para obtener un pH dentro del intervalo preferido. Entre los diversos disolventes se incluyen metanol, etanol, butanol, acetona, 2-etoxi-etanol, 2-metoxi-propanol, ácido acético glacial, tetrahidrofurano, dimetilformamida y mezclas de estos disolventes. Todavía pueden utilizarse otros disolventes. Un agente amortiguador preferido es el fosfato de sodio dihidrogenado, aunque pueden utilizarse otros amortiguadores y pares amortiguadores que mantengan la concentración de iones hidrógeno en el intervalo deseado.

El invento se describirá con más detalle en relación con los siguientes ejemplos específicos.

#### EJEMPLO I

12 g. de 6-desmetiltetraciclina neutra [J.A.C.S. 79, 4561 (1957)] se ponen en suspensión en 10 volúmenes de una mezcla 1:1 de agua dimetilformamida. Se prepara el clorhídrico de la misma por tratamiento con ácido clorhídrico concentrado

240203



a un pH de 1,8. A la mezcla se le añaden 1,48 gms. de ácido bórico, 12 gms. de paladio al 5% sobre carbón, sin reducir, y 0,03 mililitros de ácido perclórico. La hidrogenación se efectúa mediante la reacción con hidrógeno a unos 1,40 Kg/cm<sup>2</sup> en un sacudidor de Parr aproximadamente durante dos horas. La hidrogenación se termina cuando se ha absorbido aproximadamente un mol de hidrógeno. La solución se filtra y el catalizador se lava con 10 mililitros de dimetilformamida y después un segundo lavado con 10 mililitros de agua.

10

#### EJEMPLO 2

El filtrado obtenido mediante el procedimiento descrito en el ejemplo 1 se evapora a sequedad. Se añaden 50 mililitros de agua y la mezcla se agita y se seca por congelación. El material seco se pone en suspensión en 100 mililitros de metanol y a continuación se centrifuga. A 88 mililitros de la solución metanólica se le añaden 88 mililitros de éter. Se forma un precipitado y se centrifuga. El líquido que sobrenada, formado de una solución 1:1 de metanol y éter y que tiene un volumen de 130 mililitros se evapora a un tercio de su volumen. Se añaden 0,5 mililitros de ácido clorhídrico concentrado y la solución se evapora a 5,5 mililitros en atmósfera de nitrógeno. La solución se siembra y se abandona durante 18 horas a temperatura ambiente. Los cristales se filtran, se lavan con acetona y a continuación con éter y se secan en vacío a 40° durante 20 horas obteniendo 0,675 gms. de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

15

20

25

#### EJEMPLO 3

A 1,36 gms. de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina bruta, producidos según se describió en el ejemplo 2, se le añaden 196

30



FEB. 1953

240203

5 mililitros de agua y el pH se ajusta a 1,2 con ácido clorhídrico y el producto se filtra. El pH del filtrado se ajusta a pH 2,75 con hidróxido amónico y se lava 3 veces con 200 mililitros de éter. La solución lavada se concentra a presión reducida a 40-50° a un volumen de 50 mililitros. El pH se ajusta a 4,5 con hidróxido amónico y se forman cristales de 6-desmetil-6-desoxitetraclina neutra. Los cristales se envejecen, se filtran, se lavan con agua y se secan en vacío a 40° durante 23 horas. Rendimiento 0,710 gms.

10

II EJEMPLO 4

15 Dos tercios de gramo de 6-desmetil-6-desoxitetraclina se ponen en suspensión en 13,5 ml de alcohol etílico. Se le añaden 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado para ajustar el pH a 0,8-1,0. La solución se abandona durante 3 1/2 horas. Los cristales de clorhidrato de 6-desmetil-6-desoxitetraclina que se forman se secan en vacío a 100°C durante 20 horas.

El producto tiene un punto de fusión de 215-220°C con descomposición.

20

Análisis calculado para  $C_{27}H_{22}N_2O_7 \cdot HCl \cdot 1/2H_2O$ , peso molecular 459,5: C,  $\sqrt{54,9}$ ; H,  $\sqrt{5,26}$ ; N,  $\sqrt{6,10}$ ; Cl,  $\sqrt{7,72}$ ; O,  $\sqrt{26,1}$ ;  $1/2H_2O \cdot 1/2$   $\sqrt{96}$ ; encontrado: C,  $\sqrt{54,81}$ ; H,  $\sqrt{5,32}$ ; N,  $\sqrt{6,16}$ ; Cl,  $\sqrt{7,80}$ ; O,  $\sqrt{25,91}$  (por diferencia).  $H_2O$   $\sqrt{2,06}$ . Equivalente de neutralización 477.

25

El producto tiene una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{25} = 109,0$  (en solución de  $H_2SO_4$  0,1 normal). El espectro de absorción ultravioleta se determinó en una muestra del compuesto en ácido sulfúrico 0,1 N en una concentración de 30,65 gammas por mililitro (p/v). El espectro de absorción infrarrojo se determinó en una muestra del compuesto mezclada con cristales de

30



240203

KBr y comprimido en un disco.

#### EJEMPLO 5

A un gramo de 6-desmetiltetraciclina neutra se le añaden 25 ml de una mezcla 1:1 de dimetil-formamida y agua y tres ml (diez equivalentes molares) de una solución etérea al 45% de trifluoruro de boro. El pH se ajusta a 1,5 con trietilamina. Se añade un gramo de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se coloca en un sacudidor de Parr y se deja reaccionar con hidrógeno durante 150 minutos (la absorción de hidrógeno es de un mol). La solución reducida se filtra y los materiales insolubles se lavan con 3 ml de agua. El rendimiento de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina es aproximadamente 26%.

#### EJEMPLO 6

Se repite el procedimiento del ejemplo precedente excepto que se utilizan 1.1 gramos de acetato magnésico  $Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$  en lugar del trifluoruro de boro utilizado en el ejemplo 5. Se obtiene la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

#### EJEMPLO 7

Se repite el procedimiento del ejemplo precedente excepto que se utilizan 0,55 gramos de cloruro cálcico en lugar del trifluoruro de boro utilizado en el ejemplo 5. Se obtiene la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

#### EJEMPLO 8

Se repite el procedimiento del ejemplo precedente excepto que se utilizan 0,27 gramos de cloruro de aluminio en vez del trifluoruro de boro empleado en el ejemplo 5. Se obtiene la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

240203



EJEMPLO 9

5 A 1,0 gramo de 6-desmetiltetraciclina neutra se le añaden 0,13 g de ácido bórico disueltos en 28 ml de una mezcla 1:1 de dimetilformamida-agua. El pH se ajusta a 2,1 con ácido clorhídrico. A 13 ml de esta solución se le añaden 0,75 g de paladio al 5% sobre carbón. La mezcla se coloca en una bomba de acero inoxidable y se hace reaccionar con hidrógeno a 133 Kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 80 minutos. La mezcla se filtra y los compuestos insolubles se lavan con agua. El ensayo espectrofotométrico del filtrado de la reducción indica la presencia de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

10

EJEMPLO 10

15 A 5 mg de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina se le añade 1 ml de ácido acético glacial. La mezcla se agita bien y se deja estar durante 18 horas para que alcance el equilibrio a temperatura ambiente y después se filtra. La cromatografía sobre tira de papel indica la presencia de 6-desmetil-6-desoxi-4-epi-tetraciclina mediante los siguientes valores de R<sub>F</sub>.

20 Los valores R<sub>F</sub> en un sistema de acetato de etilo pH 4,5 son los siguientes:

6-desmetil-6-desoxitetraciclina R<sub>F</sub> = 0,75  
6-desmetil-6-desoxi-4-epi-tetraciclina. R<sub>F</sub> = 0,44

25

EJEMPLO 11

a 12 gramos de clorhidrato de 7-cloro-6-desmetiltetraciclina [J.A.C.S. 79, 4561 (1957)] se le añaden 120 ml de una mezcla 1:1 de dimetilformamida y agua. El pH se ajusta a 1,8 con ácido clorhídrico concentrado y se añaden 1,48 g de ácido

30



240203

bórico y 10 gotas de perclórico. A la mezcla se le añaden 12 g de paladio al 5% sobre carbón y se hace reaccionar con hidrógeno en un sacudidor de Parr durante 300 minutos hasta que se absorben 2 moles de hidrógeno. La mezcla se filtra y los materiales insolubles se lavan con agua y dimetilformamida. El producto se aísla y se recristaliza dando la 6-desmetil-6-desoxi-tetraciclina.

EJEMPLO 12

A 4 ml de una solución en disolvente obtenida mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 g de ácido bórico y 1 cc. de ácido perclórico se le añaden 5,51 mg de clorhidrato de 6-desmetil-4-epi-tetraciclina y 7 mg de paladio al 5% sobre carbón. La mezcla se hace reaccionar con hidrógeno a 2,10 Kg/cm<sup>2</sup> durante dos horas. La mezcla se filtra y los productos insolubles se lavan con agua. El análisis espectrofotométrico y la cromatografía de papel indican la presencia de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 13

A 4 mililitros de una solución en disolventes obtenida mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 gramos de ácido bórico y 1 cc. de ácido perclórico, se le añaden 5 mg de 7-cloro-6-desmetil-4-epi-tetraciclina. Se añaden 7 mg de paladio sobre carbón al 5% y la mezcla se hace reaccionar con hidrógeno a 2,10 Kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 4 horas. La mezcla se filtra y el material insoluble se lava con agua. La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desmetil-6-desoxi-4-epi-tetraciclina.



La presente solicitud que corresponde a la presentada en Estados Unidos de América, el 1 de Marzo de 1.957, bajo el núm. 643.218, se acoge a los beneficios del artículos 51 del vigente Estatuto-Ley sobre Propiedad Industrial.

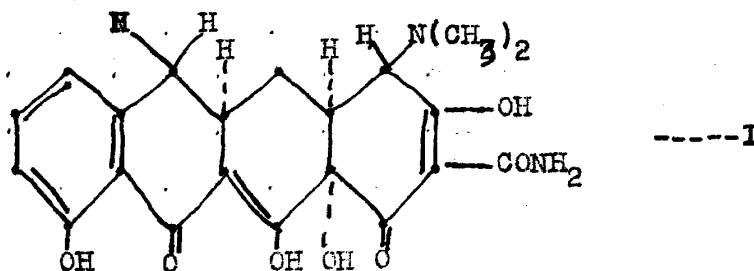
5

## N O T A

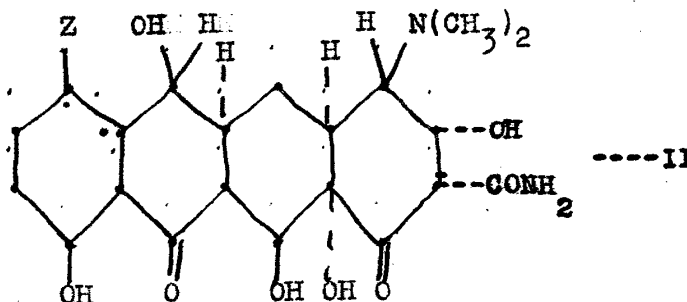
Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

1.- Un método de preparación de 6-desmetil-6-desoxite-traciclina con la fórmula:

10



o el epímero 4a de dicha 6-desmetil-6-desoxitetra-ciclina, caracterizado por reducir catalíticamente una 6-desmetiltetra-ciclina que tenga la fórmula:



240203



1938

en la que Z es hidrógeno, cloro o bromo, ó el epímero 4a de dicha desmetil-tetraciclina, en una solución en disolvente en presencia de una sustancia que sea capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peridioxigenado.

5           2.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que la reducción se efectúa con hidrógeno y un catalizador de la familia del platino.

3.- Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado por el hecho de que la reducción se realiza a una temperatura de 0° C. a 100° C.

4.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por el hecho de que la reducción se realiza a presiones de hidrógeno de 1/2 a 100 atmósferas.

5.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de que la reducción se realiza en un disolvente inerte polar.

6.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por el hecho de que la concentración de catalizador es por lo menos 5% en peso de la 6-desmetiltetraciclina.

7.- Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por el hecho de que la reducción se continúa hasta que se ha absorbido aproximadamente un mol de hidrógeno por cada mol de 6-desmetiltetraciclina o unos 2 moles por cada mol de 7-cloro-6-desmetiltetraciclina ó 7-bromo-6-desmetiltetraciclina.

8.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de que dicha sustancia capaz de formar un anillo de quelato es el ácido bórico o un trihalogenuro de boro.

240203



5 9.- Un método de preparar el epímero 4a de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina que tiene la fórmula I, caracterizado por el ajuste de una solución concentrada de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina a un intervalo de pH de unos 3,0 a 5,0 y dejar estar la solución hasta que la isomerización ha alcanzado el equilibrio.

10 10.- Un método de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por el hecho de que el intervalo de pH es de 3,5 a 4,5 en un sistema disolvente amortiguado.

15 11.- Un método de preparación de sales ácidas y básicas de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina que tiene la fórmula I y del epímero en 4a de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina caracterizado por la reacción de una solución de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina o del epímero en 4a de la misma con un ácido o base.

20 12.- Un método de preparar complejos de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina con la fórmula I y del epímero en 4a de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina caracterizado por la reacción de una solución de dicha 6-desmetil-6-desoxitetraciclina o del epímero en 4a de la misma con un compuesto formador de complejos.

13.- Un método de preparar compuestos de la serie de la tetraciclina.

25 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y para los fines que se han especificado.

240203

26 FEB 1958



La presente Memoria consta de dieciocho hojas, y la presente, Escritas a Máquina por una sola cara.

Madrid,

26 FEB. 1958

P. A.

Alberto de Izaburu