

AÑO 1953

Expediente núm.



240205  
24020

# 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 Nueva York, N.Y., E.U.A.,  
calle de ..... núm. ....

por:

**UN MÉTODO DE PREPARAR 6-DESOXITETRACICLINAS\***

Nº 6027

Agente Sr. Elizaburu

240.205

28 FEB. 1958

P.- 16.653.-  
A-31276 Case 16372 LJR.

240205

MEMORIA DESCRIPTIVA  
para solicitar  
P A T E N T E D E I N V E N C I O N  
e n  
E S P A Ñ A

por VEINTE años

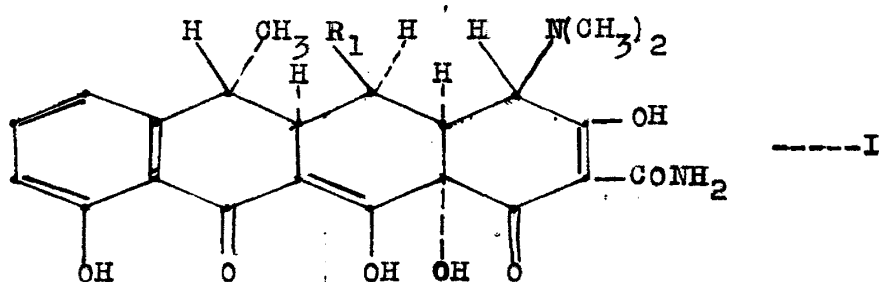
a nombre de AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, establecida en 30 Rockefeller Plaza, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

"UN METODO DE PREPARAR 6-DESOXITETRACICLINAS".

Este invento se refiere a la preparación de nuevos compuestos de la serie de la tetraciclina.

Estos nuevos compuestos del presente invento comprenden las 6-desoxitetraciclinas que tienen la fórmula

5



10 en la que  $R_1$  es hidrógeno o hidroxilo, y los epímeros en 4a de dichas 6-desoxitetraciclinas. El invento incluye asimismo las sales ácidas y básicas terapéuticamente activas y los complejos



240205

de dichas 6-desoxitetraciclinas y de los epímeros en 4a de dichas 6-desoxitetraciclinas, por ejemplo las sales de ácido mineral, las sales de metal alcalino y las sales de metales alcalino-térreos así como diversos complejos como los formados con sales de aluminio, magnesio y calcio.

Los nuevos compuestos de este invento están relacionados con los antibióticos tetraciclina y oxitetraciclina de amplio espectro, bien conocidos y extensamente utilizados. Las 6-desoxitetraciclinas aquí descritas se diferencian esencialmente de los antibióticos antes mencionados en que el grupo hidroxilo en la posición 6 del anillo de naftaceno ha sido sustituido por un átomo de hidrógeno. Este cambio produce, sin embargo, una diferencia considerable en la actividad de los compuestos resultantes que parecen ser eficaces contra ciertas razas de bacterias resistentes a la tetraciclina. Lo más sorprendente es que las 6-desoxitetraciclinas de este invento, particularmente la propia 6-desoxitetraciclina, conserven el amplio espectro de actividad anti-bacteriana de las tetraciclinas, especialmente si se considera que la anhidrotetraciclina, en la que falta también un grupo hidroxilo en la posición 6 del anillo de naftaceno, presenta un orden de actividad anti-bacteriana considerablemente inferior al del compuesto principal.

Un nombre químico apropiado para el 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-tetrahidroxil-6-metil-1,11-dioxo-2-naftaceno-carboxamida. El análogo de oxitetraciclina tiene un grupo hidroxilo en la posición 5 del anillo y se nombra análogamente. Los nombres vulgares adecuados para estos nuevos compuestos son respectivamente 6-desoxitetraciclina y 6-desoxioxitetraciclina tal co-

240205

28F



mo se indica aquí en general.

Una de las ventajas más importantes que tienen los nuevos compuestos del presente invento en relación con las tetraciclinas anteriormente descritas es su estabilidad mayor a los ácidos y álcalis. Es bien conocida la inestabilidad de la tetraciclina en medio ácido y la inestabilidad a los álcalis de la clorotetraciclina. La clorotetraciclina en solución acuosa con un amortiguador de carbonato sódico a pH 9,85 pierde el 50% de su actividad en 29,2 minutos a 23°C. Por el contrario, la 6-desoxitetraciclina no pierde más del 1% de su actividad en 24 horas en las mismas condiciones. La tetraciclina tiene una vida media menor de un minuto en ácido clorhídrico 3 normal a 100°C. La 6-desoxitetraciclina tiene, por otra parte, una vida media de 27 horas en las mismas condiciones. La 6-desoxioxitetraciclina en las mismas condiciones tiene una vida media de 45 horas. La tetraciclina tiene una vida media alrededor de 6 minutos en solución de hidróxido sódico 0,1 normal a 100°C. Por el contrario, la 6-desoxitetraciclina tiene una vida media de 9 1/2 horas en las mismas condiciones y la 6-desoxioxitetraciclina tiene una vida media de 10 1/2 horas en estas condiciones. Estas propiedades inesperadas son de gran valor 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 causa de la estabilidad mucho mayor de las nuevas 6-desoxitetraciclinas es posible preparar muchos productos farmacéuticos 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 emplearse condiciones más drásticas de pH y temperatura sin destrucción de los nuevos compuestos.

Según se indicó anteriormente, la actividad anti-bacteria-

240205

28



na de las 6-desoxitetraciclina es en muchos aspectos totalmen-  
te análoga a la de las tetraciclinas anteriormente conocidas y  
así los nuevos compuestos pueden administrarse por el médico  
del mismo modo y aproximadamente en las mismas dosis que con  
5 las tetraciclinas en uso ordinariamente. Por otra parte, las  
nuevas 6-desoxitetraciclinas, dado que presentan el espectroam-  
plio típico de actividad antibiótica de las tetraciclinas co-  
nocidas anteriormente, pueden utilizarse en el tratamiento de  
diversas infecciones producidas tanto por bacterias Gram-posi-  
10 tivas como Gram-negativas cuando esté indicado el tratamiento  
de dichas infecciones con tetraciclina u oxitetraciclina.

El espectro anti-bacteriano de los nuevos compuestos, que  
representa la cantidad necesaria para inhibir el desarrollo de  
diversas bacterias típicas se determinó de un modo standard me-  
15 diante la técnica de dilución en agar-agar que se utiliza or-  
dinariamente en el ensayo de nuevos antibióticos. Las concen-  
traciones inhibitorias mínimas expresadas en gammas por milí-  
litro de 6-desoxitetraciclina y 6-desoxioxitetraciclina fren-  
te a diversos organismos de ensayo se indican en la tabla si-  
20 guiente. Se incluyen también como comparación las actividades  
antibacterianas de la tetraciclina frente a los mismos organis-  
mos.



Tabla I

<u>Organismo</u>	<u>6-desoxioxi- tetraciclina.</u>	<u>6-desoxi- tetraciclina</u>	<u>Clorhidrato de tetraciclina</u>
<u>Mycobacterium ranae</u>	0.2	0.2	0.4
5 <u>Mycobacterium smegmatis ATCC 607</u>	0.2	0.2	0.4
<u>Staphylococcus aureus ATCC 6538P</u> ( <u>Micrococcus pyogenes var aureus</u> )	0.2	0.8	0.4
10 <u>Sarcina Lutea ATCC 9341</u>	0.2	0.4	0.4
<u>Bacillus subtilis ATCC 6633</u>	0.2	≤ 0.1	0.4
15 <u>Streptococcus hemolyticus,</u> <u>β</u> <u>hemolytic</u>	0.8	0.2	6
<u>Streptococcus hemolyticus,</u> <u>γ</u> <u>hemolytic</u>	>50	6	25
<u>Staphylococcus albus</u>	>50	6	25
20 <u>Streptococcus hemolyticus,</u> <u>Group D</u>	>50	6	25
<u>Staphylococcus aureus</u>	1.5	1.5	1.5
25 <u>Bacillus cereus ATCC 10702</u>	1.5	1.5	0.8
<u>Proteus vulgaris</u>	12	12	6
<u>Escherichia coli ATCC 9637</u>	12	12	6
30 <u>Salmonella gallinarum</u>	12	12	6

De lo que antecede se observará que el espectro antibacteriano de los nuevos compuestos de este invento es, en muchos aspectos, totalmente paralelo al de la tetraciclina, pero que además la 6-desoxitetraciclina es eficaz frente a determinadas razas de bacterias resistentes a la tetraciclina como el Streptococcus hemolyticus γ hemolítico, Staphylococcus albus y Streptococcus hemolyticus, grupo D. Además, los dos nuevos

240205

28 FEB 5



compuestos son mucho más eficaces frente al Streptococcus hemolyticus,  $\beta$  hemolítico que la tetraciclina.

5 La 6-desoxitetraciclina se produce de acuerdo con el invento por medio de una reducción catalítica única de la correspondiente tetraciclina, en una solución en un disolvente en presencia de una sustancia que sea capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peridioxigenado, esto es, la 6-desoxitetraciclina se produce por reducción catalítica de la tetraciclina, clorotetraciclina o bromotetraciclina, y la 6-desoxioxitetraciclina se produce por reducción catalítica de la oxi-tetraciclina.

10 El proceso de reducción puede realizarse poniendo en contacto la solución en un disolvente de la correspondiente tetraciclina con hidrógeno en presencia de un catalizador apropiado, como paladio metálico finamente dividido u otro metal de la familia del platino sobre carbón o hidróxido de paladio sobre carbón.

15 Además, de acuerdo con el invento se consigue un método de eliminación del grupo hidroxilo de la posición 6 de un compuesto de la serie de la tetraciclina, que comprende la reducción catalítica de dicho compuesto en una solución en un disolvente en presencia de una sustancia capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peri-dioxigenado.

20 Son compuestos apropiados 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 por ejemplo el cloruro de aluminio y acetato de magnesio. El ácido bórico o los trihalogenuros de boro parecen ser los compuestos más útiles en relación con los rendimientos de produc-

25

30



tos deseados. Generalmente el ácido bórico o trihalogenuro de boro están presentes por lo menos en cantidades mol a mol. La reducción puede realizarse a temperaturas que oscilan de 0° C. a 100° C. y de preferencia desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta unos 50° C. y a presiones de hidrógeno desde media a 100 atmósferas aproximadamente.

Son disolventes inertes apropiados que pueden utilizarse en la reacción diversos disolventes polares como el agua, dioxano, ácido acético glacial, 2-etoxietanol y acetato de etilo. Se ha encontrado que una relación uno a uno de agua y dimetilformamida es una mezcla disolvente particularmente buena para esta reacción. A la solución se le añade generalmente una pequeña cantidad de ácido perclórico. Es necesaria una concentración de catalizador por lo menos del 5% en peso de la correspondiente tetraciclina y puede utilizarse hasta un 100% en peso. La hidrogenolisis se realiza usualmente hasta que se ha absorbido un mol de hidrógeno cuando el material de partida es tetraciclina, en cuyo momento la velocidad de absorción tiende a disminuir. Cuando se utiliza clorotetraciclina se necesitan, desde luego, 2 moles de hidrógeno. Debe tenerse cuidado de no continuar la hidrogenación durante un período indebido de tiempo ya que pueden tener lugar reducciones posteriores perjudiciales, con producción de productos menos convenientes.

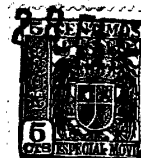
Las sustancias capaces de formar un anillo de quelato tal como se describió anteriormente, que se utilizan en el proceso de reducción descrito son los reactivos más importantes puesto que actúan aparentemente como agentes formadores de complejos y sirven para evitar la reducción de las funciones oxigenadas en las posiciones 11- y 12- del anillo de naftaceno. Estos reactivos son muy importantes en la reducción puesto que en ausen-



5 cia de tales agentes la posición 12- se reduce de preferencia a la posición 6- y el compuesto resultante no posee actividad biológica. En el proceso de reducción descrito, sin embargo, la quelación sirve para bloquear estas dos funciones oxigenadas y evitar su reducción de forma que se conserve la actividad antibacteriana del compuesto.

Una vez completada la hidrogenación, la 6-desoxitetraclina ó 6-desoxioxitetraciclina se recupera por cualquier sistema que se desee, como eliminación del catalizador y concentración de la solución. El producto se evapora a sequedad, se purifica por precipitación fraccionada en metanol y puede purificarse después por recristalización en alcohol de la forma normal. El producto neutro así formado puede convertirse en una sal de ácido mineral, por ejemplo el clorhidrato por tratamiento con ácidos como el ácido clorhídrico a un pH menor de 4. Otras sales ácidas como la sal del ácido sulfúrico, del ácido fosfórico, del ácido tricloroacético, etc., pueden formarse de un modo análogo. Preferentemente, las 6-desoxitetraclinas pueden ponerse en suspensión en un disolvente apropiado durante la acidificación. Las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos pueden formarse simplemente por tratamiento de los compuestos anfóteros aproximadamente con un equivalente de la base elegida, por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico, hidróxido bórico etc. Las sales metálicas pueden prepararse en solución acuosa o en un disolvente apropiado. Las sales básicas se preparan de preferencia a un pH de 6 o superior. La base libre puede obtenerse a un pH en el intervalo de 4 a 6 aproximadamente. Los complejos, como el complejo 6-desoxitetraclina gluconato de aluminio, por ejemplo, pueden formarse mezclando simplemente la sal clorhídrica de los nuevos compuestos y glu-

240205



conato de aluminio en solución acuosa.

Los epímeros en 4a de las 6-desoxitetraciclinas, es decir, que tienen una forma epímera en el átomo de carbono en la posición 4 la misma que se ha descrito en relación con otros compuestos tetraciclínicos, pueden formarse también simplemente ajustando la concentración de ión hidrógeno de una solución concentrada del antibiótico en el intervalo de pH de 3,0 a 5,0 y dejando estar la solución hasta que la isomerización ha llegado al equilibrio.

La isomerización se realiza en la forma más conveniente a temperatura ambiente, aunque a temperaturas superiores tiene lugar un grado superior de conversión. El pH debe hallarse en el intervalo de 3,0 a 5,0 aproximadamente y preferentemente entre 3,5 y 4,5. A concentraciones de ión hidrógeno fuera de estos intervalos e incluso en agua destilada tiene lugar alguna epimerización; pero la velocidad es muy pequeña. La concentración de antibiótico en la solución acuosa debe ser lo más elevada posible con objeto de obtener velocidades más rápidas de epimerización. El equilibrio completo puede precisar un período de tiempo de unas 24 horas a 25° C., pero el equilibrio satisfactorio puede requerir un período considerablemente más corto de tiempo en condiciones específicas. Sin embargo, ordinariamente los resultados mejores se obtienen dejando estar las soluciones durante períodos de tiempo de una semana o más. En la mayoría de los casos parece que el equilibrio se alcanza aproximadamente en el 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 períodos de tiempo cortos, debe elegirse un sistema disolvente que dé la más elevada concentración

240205



de antibiótico. Estos sistemas disolventes deben amortiguarse para obtener un pH en el intervalo preferido. Entre los diversos disolventes se incluyen metanol, etanol, butanol, acetona, 2-stoxi-etanol, 2-metoxi-propanol, ácido acético glacial, tetra-  
5 hidrofurano, dimetilformamida y mezclas de estos disolventes. Todavía pueden utilizarse otros disolventes. Un agente amortiguador preferido es el fosfato de sodio y dihidrógeno, aunque pueden utilizarse otros amortiguadores y pares de amortiguadores, que mantengan la concentración de iones hidrógeno en el in-  
10 tervalo deseado.

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

#### EJEMPLO 1

Doce gramos de clorhidrato de tetraciclina se ponen en  
15 suspensión en 10 volúmenes de una mezcla 1:1 de agua y dimetilformamida. A la mezcla se le añaden 1,48 gramos de ácido bórico, 12 gramos de paladio sin reducir al 5% sobre carbón y 0,5 ml de ácido perclórico. La hidrogenación se realiza por reacción con hidrógeno a unos  $2,8 \text{ Kg/cm}^2$  en un agitador de Farr durante  
20 2-1/2 horas aproximadamente. La hidrogenación se termina después de que se ha absorbido aproximadamente un mol de hidrógeno. La solución se filtra y el catalizador se lava con 10 ml de dimetilformamida y a continuación un segundo lavado con 10 ml de agua.

25

#### EJEMPLO 2

El filtrado obtenido por el procedimiento descrito en el ejemplo 1 se ajusta a pH 3,0 con hidróxido amónico concentrado y se evapora a sequedad en vacío. Se añaden 50 ml de butanol saturado de agua y la mezcla se agita y se filtra. La activi-  
30 dad se concentra en agua y el pH se ajusta a 3,0 y se filtra.

240205

28



El filtrado se ajusta a pH 1,5 y se extrae de nuevo con 100 ml de butanol. El extracto en butanol se concentra aproximadamente a 5-10 ml en atmósfera de nitrógeno. La solución se siembra y se deja estar durante 18 horas a temperatura ambiente. Los  
5 cristales se filtran, se lavan con acetona y a continuación con éter y se secan en vacío a 40° C. durante 20 horas, obteniendo 179 mg. de 6-desoxitetraciclina.

### EJEMPLO 3

Dos tercios de gramo de 6-desoxitetraciclina se ponen en  
10 suspensión en 13,5 ml de alcohol etílico. Se añaden 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado para ajustar el pH de 0,8 a 1,0. La solución se abandona durante tres horas y media. Los cristales de clorhidrato de 6-desoxitetraciclina que se forman se secan en vacío a 100° C, durante 20 horas.

15 Análisis: Calculado para  $C_{22}H_{25}N_2ClO_7$ ,

: C, 56,7; H, 5,38; N, 6,02; Cl, 7,69; O, 24,1;

Encontrado: C, 56,52; H, 5,46; N, 5,94; Cl, 7,71; O, 23,89

El producto tiene una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{25} = -292^\circ$   
en  $H_2SO_4$  0,1 N.

20 El espectro de absorción ultravioleta se determina de una muestra del compuesto en  $H_2SO_4$  0,1 N en una concentración de 30,65 gammas por mililitro.

El espectro de absorción infrarrojo se determina por medio de una muestra del compuesto mezclado con cristales de KBr y comprimido en un disco.  
25

### EJEMPLO 4

Se repite el procedimiento del ejemplo 1 con la única excepción que se emplean 12 g. de oxitetraciclina como material de partida en lugar del clorhidrato de tetraciclina allí utilizado.

240205

EJEMPLO 5

A la solución de reducción obtenida en el ejemplo 4 se le añaden 5 gramos de tierra de diatomáceas (Hyflo) y la mezcla se filtra. La torta se lava con 50 ml de una mezcla 50-50 de dimetilformamida y agua. El filtrado y los lavados se combinan dando un volumen de 168 ml. El pH de los lavados y filtrados combinados se ajusta a 3,0 con hidróxido amónico concentrado y la solución se evapora a sequedad en vacío a 40-60° C. Los sólidos se extraen con 75 ml de agua durante una hora, con agitación. La suspensión se filtra. El pH de la solución se ajusta a 1,0 con ácido clorhídrico. La actividad se extrae dos veces con butanol. Los extractos en butanol se combinan y se evaporan a sequedad. Se añaden 7 ml de acetona al extracto en butanol seco y se añade ácido clorhídrico para ajustar el pH a 1,0. Los sólidos se separan por centrifugación. El líquido que sobrenada se siembra y los cristales que se forman se abandonan durante 6 horas, se filtran y se lavan con acetona y a continuación con éter. Los cristales se secan en vacío a 40° C. durante 12 horas. Rendimiento 84,7 miligramos de 6-desoxioxitetraciclina.

20 Análisis: Calculado para  $C_{22}H_{25}NCl_8$

C, 54,90; H, 5,20; N, 5,83; Cl, 7,38; O, 26,70;

Encontrado C, 54,48; H, 4,81; N, 5,50; Cl, 7,74; O, 26,55.

El producto tiene una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{25} = -251^{\circ}$  en  $H_2SO_4$  0,1 N.

25 El espectro de absorción ultravioleta se determinó en una muestra del compuesto en  $H_2SO_4$  0,1 N en una conc. de 40,76 gammas por ml.

30 El espectro de absorción infrarrojo se determinó en una muestra del compuesto mezclado con cristales de KBr y comprimido en un disco.

240205 28

EJEMPLO 6

A 1,0 g. de clorhidrato de tetraciclina se le añaden 25 ml. de una mezcla 1:1 de dimetilformamida y agua. Se añaden 3 ml (10 equivalentes molares) de trifluoruro de boro-éter al 45% y el pH se ajusta a 1,3 con 2 ml de trietilamina. Se añaden 1,0 g. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se coloca en un agitador de Parr y se deja que reaccione con hidrógeno durante 100 minutos (la absorción de hidrógeno es de 1 mol). La mezcla se filtra y los materiales insolubles se lavan con 10 ml de agua. Se produce la 6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 7

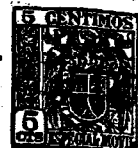
A 2,5 g. de clorhidrato de tetraciclina se le añaden 25 ml de una mezcla 1:5 de dimetilformamida y agua. Se añaden 1,1 g. de acetato magnésico ( $Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ ). El pH se ajusta a 1,8 con ácido clorhídrico. Se añaden 2,5 g. de paladio al 5% sobre carbón y dos gotas de ácido perclórico y la mezcla se coloca en un agitador de Parr y se deja que reaccione con hidrógeno durante 71 minutos (la absorción de hidrógeno es de 1 mol). La solución reducida se filtra y los materiales insolubles se lavan con ácido clorhídrico 0,1 N. Se produce la 6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 8

A 2,5 g. de clorhidrato de tetraciclina se le añaden 25 ml de una mezcla 1:1 de dimetilformamida y agua. El pH se ajusta a 1,8 con ácido clorhídrico. Se añaden 0,55 g. de cloruro cálcico, 2 gotas de ácido perclórico y 2,5 g. de paladio al 5% sobre carbón. La mezcla se coloca en un agitador de Parr y se hace que reaccione con hidrógeno durante 97 minutos (absorción de 1 mol de hidrógeno). La mezcla se filtra y se lava con 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Se produce la 6-desoxitetraciclina.

240205

28



EJEMPLO 9

A 1 g. de clorhidrato de tetraciclina se le añaden 25 ml de una mezcla 1:1 de dimetilformamida y agua conteniendo 0,27 g de cloruro de aluminio. El pH se ajusta a 1,5 con ácido perclórico. Se añaden 1,0 g. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se coloca en un agitador de Parr durante 150 minutos (absorción de 1 ml de H<sub>2</sub>)., La mezcla se filtra. Se produce la 6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 10

10 A 5 miligramos de 6-desoxitetraciclina se le añade 1 ml de ácido acético glacial. La mezcla se agita y se abandona para que alcance el equilibrio a temperatura ambiente durante 18 horas y a continuación se filtra. La cromatografía en tiras de papel demuestra la presencia de 6-desoxi-4-epi-tetraciclina.

EJEMPLO 11

15 A 5 mg. de 6-desoxioxitetraciclina se le añade 1 ml de ácido acético glacial. La mezcla se agita y se abandona para que alcance el equilibrio a temperatura ambiente durante 18 horas y a continuación se filtra. La cromatografía en tiras de papel  
20 demuestra la presencia de 6-desoxi-4-epioxitetraciclina.

EJEMPLO 12

A 1,0 g. de clorhidrato de tetraciclina 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 134 kg/cm<sup>2</sup> durante 80 minutos. La mezcla se filtra y los materiales insolubles se lavan con agua. El ensayo espectrofotométrico del filtrado de la  
30 reducción indica la presencia de 6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 13

Se sigue el procedimiento del ejemplo 1, excepto que se utiliza clorhidrato de clorotetraciclina como material de partida en lugar del clorhidrato de tetraciclina allí utilizado.

5 El clorhidrato de clorotetraciclina se añade a 15 ml de una mezcla 50:50 de dimetilformamida y agua y la hidrogenación se efectúa como en el ejemplo 1, hasta que se han absorbido dos moles de hidrógeno. El exámen cromatográfico del producto indica la presencia de 6-desoxitetraciclina.

10

EJEMPLO 14

A 4 ml de una solución disolvente preparada mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 miligramos de ácido bórico y una gota de ácido perclórico, se le añaden 5,67 mg de 4-epioxitetraciclina neutra [J.A.C.S., 79, 2849 (1957)]. Se añaden 7 mg. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se pone en contacto con hidrógeno a 2,1 Kg/cm<sup>2</sup> durante 6 horas. La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desoxi-4-epioxitetraciclina.

15

EJEMPLO 15

20 A 4 ml de una solución disolvente preparada mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 mg. de ácido bórico y una gota de ácido perclórico se le añaden 5,0 mg. de sal amónica de la 4-epibromotetraciclina [J.A.C.S. 79, 2849 (1957)]. Se añaden 7 mg. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se pone en contacto con hidrógeno a 2,1 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 6 horas. La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desoxi-4-epitetraciclina.

25

EJEMPLO 16

30 A 4 ml de una solución disolvente preparada mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 mg. de ácido bórico y



una gota de ácido perclórico se le añaden 5,0 mg. de clorhidrato de 4-epiclorotetraciclina J.A.C.S. 79, 2849 (1957). Se añaden 7 mg. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se pone en contacto con hidrógeno a 2,1 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 7 horas.

5 La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desoxi-4-epi-tetraciclina.

#### EJEMPLO 17

A 4 ml de una solución disolvente preparada mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 mg. de ácido bórico y una gota de ácido perclórico se le añaden 6,0 mg. de bromo-  
10 tetraciclina. Se añaden 7 mg. de paladio al 5% sobre carbón y la mezcla se pone en contacto con hidrógeno a 2,1 kg/cm<sup>2</sup>, durante seis horas. La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desoxitetraciclina.

15

#### EJEMPLO 18

A 4 ml de una solución disolvente preparada mezclando 25 ml de dimetilformamida, 25 ml de agua, 32,5 mg. de ácido bórico y una gota de ácido perclórico se le añaden 5,0 mg. de 4-epi-tetraciclina [J.A.C.S. 79, 2849 (1957)]. Se añaden 7 mg. de pala-  
20 dio al 5% sobre carbón y la mezcla se pone en contacto con hidrógeno a 2,1 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 4 horas. La cromatografía de papel y el análisis espectrofotométrico indican la presencia de 6-desoxi-4-epi-tetraciclina.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en los Es-  
25 tados Unidos de América, el 1 de Marzo de 1957, bajo el Número 643227, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto Ley sobre Propiedad Industrial.

#### N O T A

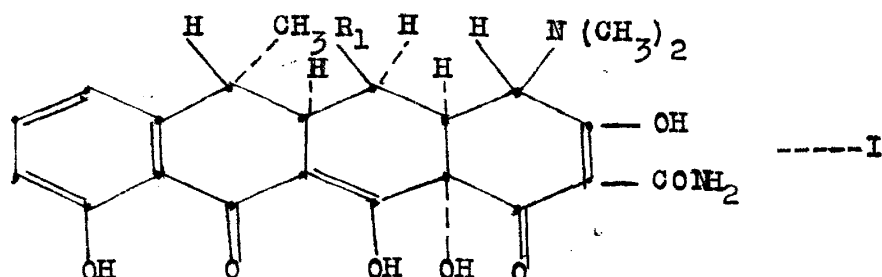
Los puntos de invención propia y nueva que se presentan pa-  
30 ra que sean objeto de esta Patente de Invención en España, son los



siguientes:

1º. Un método de preparación de 6-desoxitetraciclinas que tengan la fórmula:

5



10 en la que  $R_1$  es hidrógeno o hidroxilo, caracterizado por reducir catalíticamente la tetraciclina, clorotetraciclina, bromotetraciclina u oxitetraciclina, o el epímero en 4a de dicho compuesto, en una solución disolvente en presencia de una sustancia capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peridioxigenado.

15

2º. 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.

20

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

4º. Un método de acuerdo con 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.

25 5º. 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.

6º. 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 correspondiente tetraciclina.

30



7°. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por el hecho de que la reducción se continúa hasta que se ha absorbido aproximadamente 1 mol de hidrógeno por cada mol de tetraciclina u oxitetraciclina o aproximadamente 2 moles por cada mol de clorotetraciclina o bromotetraciclina.

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

9°. Un método de preparar epímeros en 4a de las 6-desoxitetraciclinas que tengan la fórmula I, caracterizado por ajustar una solución concentrada de dicha 6-desoxitetraciclina en un intervalo de pH de 3,0 a 5,0 y dejar estar la solución hasta que la isomerización alcance el equilibrio.

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.

11°. Un método de preparar sales ácidas y básicas de las 6-desoxitetraciclinas, que tengan la fórmula I, y de los epímeros en 4a de dichas 6-desoxitetraciclinas, caracterizado por la reacción de una solución de dicha 6-desoxitetraciclina o del epímero en 4a de la misma con un ácido o base.

12°. Un método de preparar complejos de 6-desoxitetraciclina que tengan la fórmula I y de epímeros en 4a de dichas 6-desoxitetraciclinas, caracterizado por la reacción de una solución de dicha 6-desoxitetraciclina o del epímero en 4a de la misma con un compuesto formador de complejos.

13°. Un método de eliminación del grupo hidroxilo de la posición 6 de un compuesto de la serie de la tetraciclina, carac-

240205

28 FEB



terizado por la reducción catalítica de dicho compuesto en una solución disolvente en presencia de una sustancia capaz de formar un anillo de quelato con un hidronaftaleno peridioxigenado.

14º. Un método de preparar 6-desoxitetraciclinas.

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

Esta Memoria consta de diecinueve hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid

28 FEB. 1958

P. A.

Alberto de Eizaburu