

AÑO 1958

Expediente núm. _____



244811

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,

ciudad Nueva York, N.Y., E.U.A.

XIXX

por:

UN METODO DE PREPARAR UNA DESOXITETRACICLINA

Nº 10798

Agente Sr. ELZABURU

7 NOV. 1958



1958

244811

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

PATENTE DE INVENCION

en

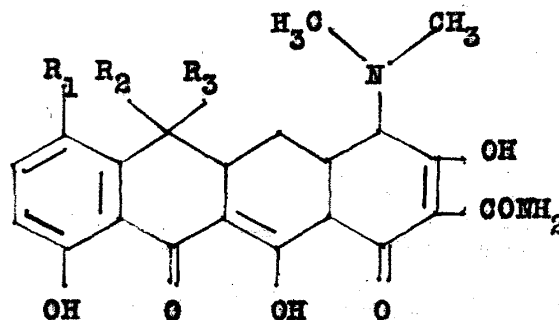
ESPAÑA

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 UNA 12a-DESOXITETRACICLINA."

Este invento se refiere a la preparación de nuevos compuestos de la serie de la tetraciclina y más en particular a determinadas 12a-desoxitetraciclinas que tienen la siguiente fórmula general estructural:





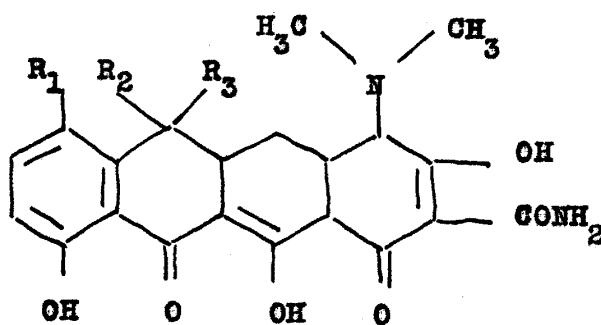
1956

244811

en la que R_1 es hidrógeno o cloro, R_2 es hidrógeno o metilo y R_3 es hidrógeno o hidroxilo, con la condición de que por lo menos uno de los grupos R_1 , R_2 y R_3 sea hidrógeno.

Por comodidad, los nuevos compuestos se designan aquí en general como 12a-desoxitetraclinas. Un nombre químico apropiado para el análogo de tetraciclina de este invento de acuerdo con la nomenclatura del Chemical Abstracts es el de 4-dimetilamino-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12-tetrahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida. Un nombre vulgar adecuado para este compuesto es el de 12a-desoxitetraclina. Son nombre vulgares apropiados para los otros derivados de tetraciclina de este invento los de 6,12a-didesoxitetraclina, 7-cloro-6-desmetil-12a-desoxitetraclina, 6-desmetil-6,12a-didesoxitetraclina y 6-desmetil-12a-desoxitetraclina, y se emplearán así en general en lo que sigue.

De acuerdo con el presente invento se consigue un método de preparación de una 12a-desoxitetraclina de fórmula general y las sales de la misma por adición de ácido:



en la que R_1 es hidrógeno o cloro, R_2 es hidrógeno o metilo, y R_3 es hidrógeno o hidroxilo, con la condición de que por lo me

244811



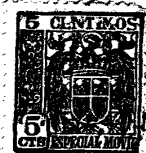
1958

nos uno de los sustituyentes representados por R_1 , R_2 y R_3 sea hidrógeno, que comprende poner en contacto el antibiótico de tetraciclina correspondiente que tenga un sustituyente 12a-hidroxilo con zinc metálico en una solución alcalina acuosa para que se efectúe la reducción del sustituyente 12a-hidroxilo y, así si se desea hacer reaccionar la 12a-desoxitetraciclina con un ácido formando la sal por adición de ácido.

La solución alcalina acuosa puede estar formada por hidróxido sódico o hidróxido potásico diluido. Sin embargo, se utiliza preferentemente zinc en una solución acuosa de amoniac.

Por lo tanto, los nuevos compuestos se preparan mediante la reducción química de la correspondiente tetraciclina. Por ejemplo, la 12a-desoxitetraciclina se prepara por reducción química de la tetraciclina utilizando zinc en una solución acuosa de amoniac preferentemente a un pH de 10 a 13 aproximadamente. De preferencia el amoniac acuoso se utiliza como solución del 10 al 20%. El empleo de amoniac acuoso como medio disolvente se ha encontrado que es conveniente con objeto de formar los nuevos productos. Medios disolventes, como p. ej., medios ácidos suaves o no ayudan a la reducción deseada del antibiótico de tetraciclina a 12a-desoxitetraciclina o incluso dan lugar a la formación de otros productos de reducción no convenientes.

En general la reacción puede realizarse a temperaturas que oscilan entre unos 10° y 50° C. pero de preferencia la reacción se realiza aproximadamente a temperatura ambiente, esto es, de unos 20° C. El tiempo de reacción no es muy crítico y en general puede oscilar entre una hora y cuatro horas aproximadamente. Una concentración de un 4% (p/v) del antibiótico de tetraciclina en el medio amoniacal acuoso es satisfactorio para la reacción.



244811

El zinc utilizado para la reacción debe hallarse preferente-
mente en forma finamente dividida, p. ej. polvo de zinc, y
este metal debe utilizarse convenientemente en una extensión
por lo menos de 2 partes en peso del metal por parte en peso
del antibiótico de tetraciclina. Generalmente no son neces-
arias proporciones de metal superiores a unas 4 partes en peso.

La 12a-desoxitetraciclina puede recuperarse de la mez-
cla de reacción acidulada mediante la extracción líquido-líquido,
preferentemente mediante el empleo de éter etílico. Otros
disolventes de utilidad con este objeto son el acetato de me-
tilo, acetato de etilo, cloruro de metileno, y cloroformo.

Puestos que las 12a-desoxitetraciclinas son compues-
tos anfóteros, pueden prepararse fácilmente sales por adición
de ácido del mismo tipo que las que se han preparado anterior-
mente a partir de la clorotetraciclina y tetraciclina. En gene-
ral, los ácidos preferidos son ácidos minerales e incluyen el
ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, y ácido fos-
fórico. Las sales de ácidos de las 12a-desoxitetraciclinas pue-
den prepararse por tratamiento del compuesto anfótero con un
equivalente aproximadamente del ácido elegido.

Según se afirmó anteriormente, la 12a-desoxitetracikli-
na se prepara mediante la reducción química descrita de la te-
traciclina. Otras 12a-desoxitetraciclinas de este invento se
preparan por una reducción química análoga del correspondiente
antibiótico de tetraciclina. Así, la 6-desmetil-12a-desoxitetra-
ciclina se prepara por la reducción química descrita de la 6-
desmetiltetraciclina; la 7-cloro-6-desmetil-12a-desoxitetraci-
clina se prepara mediante la reducción química de la 7-cloro-
6-desmetiltetraciclina; la 6,12a-didesoxitetraciclina se prepa-
ra mediante la reducción química de la 6-desoxitetraciclina y

244811



la 6-desmetil-6,12a-didesoxitetraciclina se prepara mediante la reducción química de la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina.

Los materiales de partida, la 7-cloro-6-desmetiltetraciclina y la 6-desmetiltetraciclina se describen con detalle en la solicitud 244.819, titulada "Nuevos antibióticos derivados del Streptomyces aureofaciens". Según se describe en esta solicitud, estos nuevos antibióticos de tetraciclina se producen mediante determinadas cepas mutantes de S. aureofaciens algunas de las cuales se han designado como S604, S1071, V62, y B740. Las características morfológicas de estas cepas mutantes de S. aureofaciens se indican en la solicitud 244.819 y se han depositado cultivos de estas cepas en la American Type Culture Collection en Washington, D.C., y se les han asignado números ATCC de entrada 12.551, 12.552, 12.553 y 12.554, respectivamente.

La 6-desoxitetraciclina, material de partida para determinados nuevos compuestos, se prepara de preferencia de acuerdo con el procedimiento descrito en la solicitud 244.819. Según se ha descrito en esta solicitud, la 6-desoxitetraciclina se prepara por reducción catalítica de la tetraciclina, en determinadas condiciones allí descritas.

La 6-desmetil-6-desoxitetraciclina, uno de los materiales de partida para la preparación de determinados nuevos compuestos aquí descritos, se prepara de acuerdo con el procedimiento descrito en la Solicitud 244.819. Según se describe en esta solicitud, la 6-desmetil-6-desoxitetraciclina se prepara por reducción catalítica de la 6-desmetiltetraciclina o de la 7-cloro-6-desmetiltetraciclina en determinadas condiciones allí descritas.

Algunas de las 12a-desoxitetraciclinas de este invento



244811

son valiosos productos intermedios para la preparación de anhídro-12a-desoxitetraciclinas que son el objeto de la solicitud 244.819 de la misma fecha. Según se describe con detalle en esta solicitud, las anhídro-12a-desoxitetraciclinas se preparan por deshidratación de las 12a-desoxitetraciclinas utilizando un agente deshidratante enérgico como el bromuro de hidrógeno y el ácido acético glacial. Las anhídro-12a-desoxitetraciclinas de la solicitud número 244.819, son biológicamente activas, poseyendo actividad frente a una gran variedad de microorganismos gram-positivos y gram-negativos. El espectro antibacteriano de las anhídro-12a-desoxitetraciclinas es análogo en muchos aspectos al de las tetraciclinas anteriormente conocidas excepto que en general, las anhídro-12a-desoxitetraciclinas poseen un orden de actividad algo inferior. Los anhídro-compuestos son de valor sin embargo, porque son eficaces frente a determinadas cepas de bacterias resistentes a la tetraciclina, como el Streptococcus γ No. 11, Staphylococcus albus No. 69 y Streptococcus β No. 80.

El invento se describirá a continuación con mayor detalle en relación con los siguientes ejemplos específicos.

EJEMPLO 1

Dos gramos de clorhidrato de tetraciclina se disuelven en 50 cc. de hidróxido amónico acuoso al 15%. Se añaden 4 g de polvo de zinc y la mezcla se agita durante dos horas. El exceso de zinc se filtra y el filtrado se trata con ácido clorhídrico conc. hasta que se alcanza un pH 7. El producto bruto se filtra y se pone de nuevo en suspensión en 500 cc. de agua y se re disuelve a pH 1,5. La solución se aclara sobre tierra de diatomeas. El pH de este filtrado se ajusta a 4,0 - 4,5. La pequeña



244811

cantidad de sólidos se filtra. El filtrado claro se extrae a fondo con éter en un extractor líquido-líquido. Los extractos etéreos producen 750 mg de 12a-desoxitetraciclina cristalizada, que se recristaliza de N,N-dimetilformamida y metanol.

5 Análisis : Calculado para $C_{22}H_{24}N_2O_7$: C, 61,6; H, 5,6; N, 6,54. Encontrado: C, 61,88; H, 5,92; N, 6,68.

10 Se determinó el espectro de absorción ultravioleta de una muestra del compuesto a una concentración de 10 gammas por ml (p/v) y presenta máximos de absorción característicos en el intervalo de 320-330 m μ en ácido clorhídrico N/10 y 450-500 m μ en borato sódico M/10, metanol o metanol + NaOH.

EJEMPLO 2

15

Se siguió el procedimiento del ejemplo 1, excepto que 5 mg de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina se redujeron con 30-40 mg de polvo de zinc en 2,5 cc de amoniaco acuoso al 15% durante 3 horas. El zinc en exceso se separó por filtración y se lavó con pequeñas porciones de agua dando un volumen total de 3cc. Se necesita aproximadamente 1 cc de HCl conc. para neutralizar el amoniaco y redissolver el producto, ya que se separa durante la neutralización. El espectro de absorción ultravioleta presenta un máximo a 465 m μ e indica la presencia de 6-desmetil-6, 12a-didesoxitetraciclina.

25

EJEMPLO 3

30

Se siguió el procedimiento del ejemplo 1, excepto que



244811

5mg de 7-cloro-6-desmetiltetraciclina se reducen con 30-40 mg de polvo de zinc en 2,5 cc de amoniaco acuoso al 15% durante tres horas. El zinc en exceso se separa por filtración y se lava con pequeñas porciones de agua dando un volumen total de 3cc. Se necesita aproximadamente 1 cc de HCl conc. para neutralizar el amoniaco y redissolver el producto ya que se separa durante la neutralización. El espectro de absorción ultravioleta presenta un máximo a 455 m μ e indica la presencia de 7-cloro-6-desmetil-12a-desoxitetraciclina.

EJEMPLO (4)

Se sigue el procedimiento del ejemplo 1, excepto que 5 mg de 6-desoxitetraciclina se reducen con 30 a 40 mg de polvo de zinc en 2,5cc. de amoniaco acuoso al 15% durante tres horas. El zinc en exceso se separa por filtración y se lava con pequeñas porciones de agua dando un volumen total de 3 cc. Se necesita aprox. 1 cc. de HCl concentrado para neutralizar el amoniaco y redissolver el producto puesto que se separa durante la neutralización. El espectro de absorción ultravioleta presenta un máximo de 460 m μ e indica la presencia de 6-12a-didesoxitetraciclina.

EJEMPLO 5

Se siguió el procedimiento del ejemplo 1, excepto que 5 mg de 6-desmetiltetraciclina se redujeron con 30 a 40 mg de polvo de zinc en 2,5 cc. de amoniaco acuoso al 15% durante tres



244811

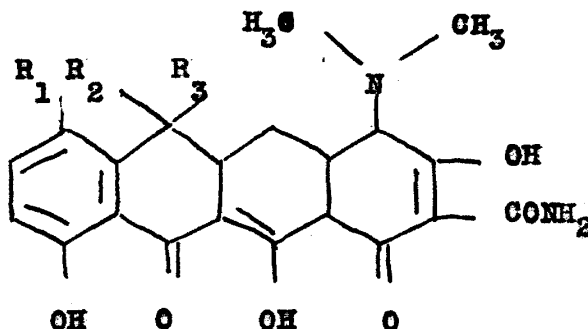
horas. El zinc en exceso se separó por filtración y se lavó con pequeñas porciones de agua dando un volumen total de 3 cc. Se necesita aproximadamente 1 cc de HCl concentrado para neutralizar el amoníaco y redissolver el producto puesto que se separa durante la neutralización. El espectro de absorción ultravioleta presenta un máximo en 450 m μ e indica la presencia de 6-desmetil-12a-desoxitetraciclina.

Esta solicitud que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América el 29 de Octubre de 1.957, bajo el número 693.017, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto-Ley sobre Propiedad Industrial.

NOTA

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

12. - Un método de preparar una 12a-desoxitetraciclina de la fórmula general y sales de la misma por adición de ácido:



en la que R₁ es hidrógeno o cloro, R₂ es hidrógeno o metilo y

244811

7 NOV



R_3 es hidrógeno o hidroxilo, con la condición de que por lo menos uno de los sustituyentes representados por R_1 , R_2 y R_3 sea hidrógeno, caracterizado porque el correspondiente antibiótico de tetraciclina que posea un sustituyente 12a-hidroxilo se pone en contacto con zinc metálico en una solución alcalina acuosa con objeto de dar lugar a la reducción del sustituyente 12a-hidroxilo y, si se desea, la 12a-desoxitetraciclina se hace reaccionar con un ácido, formando la sal por adición de ácido.

2º. - Un método como el reivindicado en la reivindicación 1, caracterizado porque la solución alcalina acuosa es una solución de amoníaco.

3º. - Un método como el reivindicado en las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado porque la temperatura de reducción está entre unos 10º C. y unos 50º C.

4º. - Un método como el reivindicado en las reivindicaciones 2 ó 3, caracterizado porque la concentración del antibiótico es de un 4% (p/v) en el medio amoniacal acuoso.

5º. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque hay dos a cuatro partes en peso de zinc por parte en peso del antibiótico de tetraciclina.

6º. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 4, ó 5, caracterizado porque el medio amoniacal acuoso tiene un pH entre unos 10 y unos 13.

7º. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 2-6, caracterizado porque el amoníaco acuoso es una solución del 10 al 20 por ciento.

8º. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la 12a-desoxitetraciclina es la 12a-desoxitetraciclina.

244811



9^a. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la 12a-desoxitetraciclina es la 6,12a-didesoxitetraciclina.

10^a. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la 12a-desoxitetraciclina es la 7-cloro-6-desmetiltetraciclina.

11^a. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la 12a-desoxitetraciclina es la 6-desmetil-6,12a-didesoxitetraciclina.

12^a. - Un método como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la 12a-desoxitetraciclina es la 6-desmetil-12a-desoxitetraciclina.

13^a. - Un método de preparar una 12a-desoxitetraciclina.

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

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

Madrid, 7 NOV. 1953

P. A.