

AÑO 1959

Expediente núm.



247066

# REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

**PATENTE DE INVENCIÓN.**

## MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una **PATENTE DE invención** por **20** años, en España

a favor de

**The Upjohn Company,** de nacionalidad

**EE.UU.** domiciliado en **Kalamazoo (Michigan) Estados Unidos**  
de América  
calle de **Henrietta Street** núm. **301.**

por:

**Procedimiento para la obtención de 6-amino-9-D-psicofurancil**  
**purina -**

Nº 12604

Bat.

Agente Sr. ROEB (D. Guillermo,

6 FEB



247066

## Memoria Descriptiva

*para*

una patente de INVENCION, por 20 años,

*a favor de*

The Upjohn Company

(sociedad de EE.UU.)

*residente en*

Kalamazoo (Michigan) (Estados Unidos de América)

301, Henrietta Street,

*por:*

-Procedimiento para la obtención de 6-amino-9-D-  
psicofuranosilpurina.-

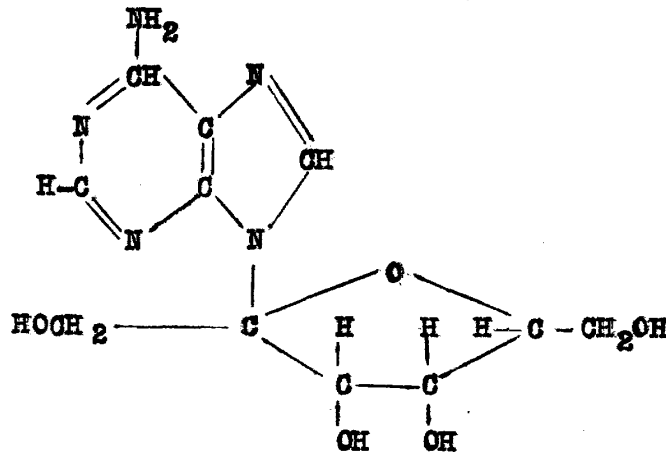
Inventores/ Thomas Eugene EBIE (súbditos de  
Charles Lewis (EE.UU.)

Prioridad/ Sol. pte. EE.UU. Serial N° 720.066  
del día 10 Marzo 1958.



247066

El presente invento se refiere a un procedimiento para la obtención de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina con la siguiente fórmula estructural



5

10

15

y con una rotación óptica  $[\alpha]_D^{25}$  en dimetilformamida de menos de 68 grados. El nuevo compuesto del invento tiene actividad biológica como un antibiótico, particularmente contra Streptococcus hemolyticus y Staphilocooccus aureus in vivo y puede emplearse para tratar infecciones producidas por estos organismos. Es también un antimetabolito de 6-amino-9-D-ribofuranosilpurina (adenosina), un metabolito esencial, y puede emplearse en procesos metabólicos inhibitorios que dependen de este metabolito. El compuesto es también una fuente del azúcar, psicose, hasta ahora difícil de obtener, y que puede obtenerse fácilmente por hidrólisis de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina con ácido sulfúrico diluido.

20

La 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina puede obtenerse como un producto de elaboración de un Streptomyces



247066

sp., probablemente como una variedad de *Streptomyces hygrosco-*  
*picus*, que se ha patentado por el Northern Regional Research  
 Laboratory y designado por NRRL 2666. Este microorganismo es  
 similar al 6A-704 empleado por H. Yüntsen y col. (Japan Journal  
 of Antibiotico, serie A. vol. VII, No. del 4 de Agosto de 1954,  
 5 páginas 113 y 116; y Japan Journal of Antibiotics, serie A, Di-  
 ciembre de 1956, página 195) para producir angustmicina A, B y  
 C. De éstos, la angustmicina C aparece semejante, aunque es di-  
 ferente de la 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina por el hecho de  
 10 que la angustmicina C es ópticamente inactiva, mientras que la  
 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina es ópticamente activa. También  
 la angustmicina C se ha señalado como biológicamente inactiva,  
 mientras que la 6-amino-9-D-psicofuranosulpurina es biológica-  
 mente activa.

15 El invento se entenderá más cumplidamente  
 con referencia al siguiente ejemplo que se aduce a título única-  
 mente de ilustración y no debe considerarse como limitativo.

Ejemplo 1.

20 Se cultivó *Streptomyces* sp., NRRL 2666 a 28  
 grados centígrados en tubos inclinados estériles con el siguien-  
 te medio:

- |   |            |
|---|------------|
| Maltosa   | 10 gramos  |
| Tryptone  | 5 gramos   |
| Fosfato ácido dipotásico                              | 0,5 gramos |
| 25 cloruro sódico                                     | 0,5 gramos |
| una pizca o traza de sulfato de hierro hi-<br>dratado |            |
| Agar  | 15 gramos  |
| Agua destilada hasta                                  | 1 litro    |

30 durante 7 días hasta que se completó la  
 esporulación



247066

Las esporas de este cultivo en agar se emplearán para inocular 100 mililitros del medio sembrado en un frasco de 500 mililitros con el siguiente medio estéril:

5	Glucosa	25 gramos
	Peptona de soja	10 gramos
	Corn steep liquor	5 gramos
	Extracto de carne	3 gramos
	N-Z amina A*	2 gramos
	Sulfato amónico	3 gramos
10	Sulfato magnésico	0.2 gramos
	Cloruro sódico	0.1 gramo
	Sulfato de hierro hidratado	0.02 gramos
	Sulfato de manganeso hidratado	0.003 gramos
	Sulfato de zinc hidratado	0.004 gramos
	Fosfato biácido de potasio	1.9 gramos
	Fosfato monoácido de potasio	1.1 gramos
15	Ajustado a pH, 7.2 antes de esterilizar	
	Agua hasta completar	1 litro

\* digesto enzimático de caseína

y se incubó durante 72 horas a 28 grados centígrados en un agitador rotatorio de 250 revoluciones por minuto. El cultivo así obtenido se utilizó para inocular el siguiente medio estéril de fermentación:

20	Kay-soja*	30 gramos
	sulfato amónico	5 gramos
	glicerol	40 gramos
	carbonato cálcico	4 gramos
	agua hasta completar	1 litro

25 (el pH ajustado a 7.2 antes de esterilizar).

\* Harina de soja extraída la grasa, finamente molida, el cual se incubó luego en un frasco Erlenmeyer de 6 litros durante cinco días en un agitador rotatorio de 250 rev./min., a treinta grados centígrados. El rendimiento fué de 960 microgramos de 6-amina-9-D-psicofuranosilpurina por mililitro de caldo (Preparación 1).

30

6 FEB 1961



247066

5 Todo el caldo (preparación 1) se ajustó a pH dos y se filtró. El filtrado claro se ajustó a pH diez y se trató con uno por ciento de carbón activado, Se separó el carbón del caldo y se incorporó a cuarenta mililitros de acetona anhidra. Se separó del carbón la disolución acetónica y se destiló hasta obtener un concentrado acuoso. Este concentrado acuoso se filtró, se neutralizó a pH siete y se secó por liofilización. El material liofilizado se redisolvió en agua en la cantidad de 200 miligramos por mililitro a cincuenta grados cen-  
10 tigrados y se dejó enfriar a la temperatura del local para la cristalización. Así se obtuvieron cristales (Preparación 2) fundentes a 198-200 grados centigrados y que contenían aproximadamente cuarenta por ciento de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina. El material cristalino (Preparación 2) se purificó más  
15 mediante distribución en contracorriente, empleando un sistema disolvente constituido por butanol y agua en la proporción volumétrica de 1:1. Para efectuar la purificación y aislamiento de la 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina, se distribuyó la Preparación 2 mediante 150 transportadores en una máquina Craig de  
20 distribución por contracorriente y se aisló la 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina en una porción superior en que  $K=0,282-0,290$ . Un gramo de la Preparación 2 produjo 388 miligramos de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina cristalina y pura (98 por ciento).  
Preparación 3, con un punto de fusión de 212-214 grados centí-  
25 grados y una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{25}$  en agua de menos de 46 grados, en dimetilformamida de menos de 68 grados, en sulfóxido de dimetilo de menos de 53,7 grados.



247066

Analisis: cal. para  $C_{11}H_{15}N_5O_5$ : C, 44.25; H, 5.10;  
N, 23.74; O, 27.02.  
hall: C, 44.44; H, 5.08;  
N, 23.56; O, 26.91.

.....



247066

N O T A

Este registro consta de las siguientes reivindicaciones:

5 1ª.- Procedimiento para la obtención de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina, caracterizado porque comprende el cultivo en condiciones anaerobias de *Streptomyces hidrosco-*  
10 *pycus* en un medio nutritivo acuoso conteniendo un carbohidrato asimilable y material conteniendo nitrógeno asimilable hasta que a dicho medio se le comunica actividad esencialmente anti-  
biótica gracias a la producción de 6-amino-9-D-psicofuranosil-  
purina y porque se recupera y aísla del mismo dicha 6-amino-9-D-  
psicofuranosilpurina.

2ª.- Procedimiento para la obtención de 6-amino-9-D-psicofuranosilpurina.

15 Según se describe y reivindica en esta memoria descriptiva.

Y cuya memoria descriptiva consta de 7 hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 6 Febrero 1959.