

255.664

14 MAR 1960



F.- 19.292

255664

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 PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR TETRACICLINAS HALOGENADAS"

Esta invención se refiere a un procedimiento para la producción de tetraciclinas halogenadas por reacción de un compuesto tetraciclina con una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido fuerte. Más particularmente, la invención se refiere a un procedimiento para la producción de tetraciclinas 7-halogenadas por reacción de una tetraciclina que está sin sustituir en la posición 7 con una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido fuerte y para la producción de una tetraciclina 11a-halogenada por reacción de una tetraciclina 7-sustituida con una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido fuerte. Igualmente, esta invención proporciona un procedi-

255664

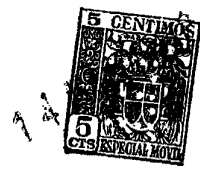


5 miento para producir una tetraciclina 7,lla-dihalogenada por reacción de una tetraciclina que esté sin sustituir en la posición 7 con unos dos equivalentes, por lo menos, de una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un áci
do fuerte.

10 Una fuente adecuada de halógeno electrofílico es una N-haloamida tal como N-bromosuccinimida, N-bromoacetamida, N-bromoftalimida, N-clorosuccinimida, N-yodosuccinimida. Otro ejemplo de una fuente de halógeno electrofílico es el bromo.

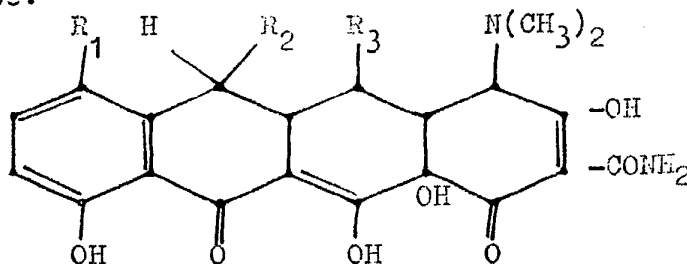
15 Las halotetraciclinas de esta invención pueden prepararse disolviendo una tetraciclina adecuada, p. ej. 6-desmetil-6-desoxitetraciclina o 5-hidroxi-6-desoxitetraciclina, en un disolvente adecuado, tal como un ácido mine
20 ral concentrado, p. ej. ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, etc., y añadiendo una fuente de halógeno electrofílico, por ejemplo un agente halogenante tal como una N-haloamida, es decir, N-bromosuccinimida, N-bromoacetamida, N-bromoftalimida, N-clorosuccinimida, N-yodosuccinimida, etc. La reac
25 ción con la haloamida se realiza preferiblemente a temperaturas comprendidas entre unos 0° C. y unos 20° C., hasta que la reacción es completa. O también puede usarse, por ejemplo, como fuente de halógeno electrofílico, bromo en un ácido mineral fuerte, por ejemplo, HBr y un disolvente orgánico adecuado, tal como un ácido alcanoico inferior, p.ej. ácido acético, ácido propiónico, etc., a temperaturas desde
30 unos 10° C. hasta unos 30° C. La halotetetraciclina así formada se aísla de la mezcla de reacción por cualquier método conveniente, tal como, por ejemplo, por precipitación con éter etílico o sustancia análoga, y el producto puede

255664



purificarse por recristalización a partir de una solución de éter-acetona-alcohol de la manera corriente.

Esta invención se refiere de modo particular a un procedimiento de acuerdo con lo expuesto anteriormente en el cual se produce una tetraciclina de la fórmula general
5 siguiente:



donde R₁ es Br, Cl o I y R₂ es H o CH₃ cuando R₃ es H y R₃ es CH₃ cuando R₂ es OH.

Las halotetraciclinas son biológicamente activas
10 y poseen la actividad antibacteriana de amplio espectro de las tetraciclinas anteriormente conocidas. El espectro antibacteriano de alguno de estos compuestos, que representan la cantidad requerida para inhibir el desarrollo de carias bacterias típicas, se determinó por un método corriente para
15 la técnica de rayado de dilución de agar que se emplea comúnmente en el ensayo de nuevos antibióticos. Las concentraciones inhibitoras mínimas, expresadas en gammas por milímetro, de 7-bromo-6-desmetil-6-desoxi tetraciclina, 7-bromo-6-desoxitetraciclina y 7-yodo-6-desoxitetraciclina frente a
20 varios organismos de ensayo se indican en la tabla que se da a continuación. Con fines comparativos, se incluye también la actividad antibacteriana de tetraciclina frente a los mismos organismos.

255664



TABLA

	<u>Organismo</u>	<u>Tetra-</u> <u>ciclina</u>	<u>7-Bromo-6-</u> <u>desoxite-</u> <u>traciclina</u>	<u>7-Bromo-6-</u> <u>desmetil-6-</u> <u>desoxitetra-</u> <u>ciclina</u>	<u>7-Yodo-</u> <u>6-desoxi-</u> <u>tetraci-</u> <u>clina</u>
	<u>Mycobacterium</u> <u>rauae</u>	1	0.5	0.25	4
5	<u>Mycobacterium</u> <u>smegmatis</u> ATCC 607	1	1	0.25	8
	<u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u> 209P	2	1	1	2
	<u>Sarcina</u> <u>lutea</u> 1001	2	1	0.5	2
10	<u>Bacillus</u> <u>subtilis</u> ATCC 6633	0.5	0.25	0.25	0.5
	<u>Streptococcus</u> <u>pyogenes</u> C203	0.5	0.25	0.5	2
	<u>Streptococcus</u> No. 11	250	4	4	4
	<u>Staphylococcus</u> <u>albus</u> No. 69	250	8	8	15
15	<u>Streptococcus</u> No. 80	250	4	2	4
	<u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u> NY 104	2	1	1	2
	<u>Bacillus</u> <u>Cereus</u> No. 5	0.25	0.25	0.5	2
20	<u>Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u>	15	250	31	250
	<u>Proteus</u> <u>vulgaris</u> 8427	15	8	2	31
	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> ATCC 9637	15	250	31	250
	<u>Salmonella</u> <u>gallinarum</u>	8	250	31	250
25	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> No. 22	4	15	8	62

La 7-yododesoxitetetraciclina y la 7-bromodesoxite
traciclina son particularmente útiles como agentes de diagnós



5 tico y/o terapéuticos en la detección y tratamiento del cáncer. La 7-yodo-desoxitetraciclina y la 7-bromo-desoxitetraciclina parece que se concentran en tejido rápidamente proliferante tal como se encuentra en desarrollos tumorales. Estos compuestos pueden hacerse radioactivos por incorporación de yodo-131 o bromo-82 en la posición 7 del núcleo del anillo. Estos compuestos marcados con radio, en virtud de sus emisiones de partículas beta y rayos gamma permiten la detección, localización y diagnóstico de tejido neoplásico. En algunos casos, esta misma radiación puede ser terapéuticamente útil para proporcionar radiación interna suficiente localizada a células cancerosas para acortar o destruir su desarrollo.

15 Los métodos químicos para preparar estos compuestos marcados con radio son análogos a los métodos preparativos ya descritos para la preparación de compuestos no radioactivos, con la excepción lógica de que se usa el radioisótopo de los halógenos adecuados.

20 La invención se describirá con mayor detalle en relación con los siguientes ejemplos específicos.

EJEMPLO I

Preparación de 7-bromo-6-desoxitetraciclina.

25 Sobre una solución de 0.2 gramos de 6-desoxitetraciclina [J.A.C.S. 80, 5324 (1958)] en 10 mililitros de ácido sulfúrico concentrado a 0% C. se añaden 76 miligramos de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se mantiene a 0% C. durante 30 minutos, y luego se añade lentamente gota a gota sobre 200 mililitros de éter frío. Precipita un sólido que se filtra y se seca. El producto pesa 160 miligramos. Este producto se cristaliza de solución etanol-acetona-éter para

30

255884



dar 120 miligramos de producto purificado. Este producto es 1,2-1,5 veces más activo biológicamente que la tetraciclina.

EJEMPLO 2

Preparación de 7-bromo-6-desmetil-6-desoxitetraciclina

5 Una solución de 200 miligramos (0.045 m moles) de hidrocioruro de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina [J.A.C.S. 80, 5324 (1958)] y 80 miligramos (0,45 m moles) de N-bromo-succinimida en 5,0 mililitros de ácido sulfúrico concentra-
do se conserva a la temperatura del baño de hielo durante
10 30 minutos. La mezcla de reacción se añade lentamente sobre 250 mililitros de éter frío y el sólido que se separa pesa 0,2 gramos. Una porción (25 miligramos) de este material se recristaliza de etanol/éter dando 19 miligramos de 7-bromo-6-desmetil-6-desoxitetraciclina pura que es de 2,2 a 2,5 ve
15 ces más activa que la tetraciclina.

EJEMPLO 3

Preparación de 7-cloro-6-desoxitetraciclina

Se sigue el procedimiento del Ejemplo 1, a excep-
ción de que se usa como agente halogenante la N-clorosucci-
20 nimida. El producto se aísla como en el ejemplo 1 y se obtie-
ne 7-cloro-6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 4

Preparación de 7-cloro-6-desmetil-6-desoxitetraciclina

Se sigue el procedimiento del Ejemplo 2, a excep-
25 ción de que se usa como agente halogenante la N-clorosucci-
nimida. El producto se aísla como en el Ejemplo 2 y se obtie-
ne 7-cloro-6-desmetil-desoxitetraciclina.

EJEMPLO 5

Preparación de 7-bromo-6-desoxitetraciclina

30 Se disuelven 85,6 miligramos de 6-desoxitetracicli



255664

na en 3,9 mililitros de ácido acético y se añade un mililitro de HBr-ácido acético al 30%. Mientras se agita, se agregan 0,22 mililitros de bromo en ácido acético 1 molar (10% en exceso de 1 equivalente). Después de dejar en reposo durante unas 65 horas a la temperatura ambiente, se añaden 10 mililitros de éter y se deposita lentamente un sólido cristalino amarillo. Después de 6 horas, se filtra el sólido y se seca. Peso: 68,4 miligramos.

EJEMPLO 6

10 Preparación de 7-bromo-5-hidroxi-6-desoxitetraciclina

Una solución de 200 miligramos (0,42 m moles) de hidrocloreuro de 5-hidroxi-6-desoxitetraciclina [J.A.C.S. 80, 5324 (1958)] y 75 miligramos (0,42 m moles) de N-bromo-succinimida en 5,0 mililitros de ácido sulfúrico concentrado se agita a temperatura del baño de hielo durante 10 minutos. La solución de reacción se vierte lentamente sobre 250 mililitros de éter frío. El sólido se filtra y se seca. Rendimiento: 1,8 gramos. Este material se convierte en la base libre por disolución en agua, ajustando el pH de la solución a 6,5 con carbonato sódico 1 N y extrayendo con butanol normal. Rendimiento: 75 miligramos.

La actividad microbiológica equivale a 45% de tetraciclina (la actividad de la 5-hidroxi-6-desoxitetraciclina de partida equivale a 30% de tetraciclina).

25 EJEMPLO 7

Preparación de sulfato de 7-yodo-6-desoxitetraciclina

Una solución de 200 miligramos (0,38 m moles) de sulfato de 6-desoxitetraciclina y 85,5 miligramos (0,35 m moles) de N-yodosuccinimida en 5,0 mililitros de ácido sulfúrico concentrado se agita a 0° C. durante 40 minutos. La

255664



mezcla se agrega gota a gota sobre 250 mililitros de éter frío. El sólido que se separa pesa 0,16 gramos. Una porción (50 miligramos) de este material se recristaliza de metilcellosolve/cloroformo. Rendimiento: 22 miligramos.

5

EJEMPLO 8

Preparación de sulfato de 7-yodo-5-hidroxi-6-desoxitetraciclina

Se sigue el procedimiento del Ejemplo anterior, a excepción de que se usa 5-hidroxi-6-desoxitetraciclina. Se obtiene 7-yodo-5-hidroxi-desoxitetraciclina.

10

EJEMPLO 9

Sulfato de 7-yodo-desmetil-6-desoxitetraciclina

Sobre una solución de 0,2 gramos (0,39 m moles) de sulfato de 6-desmetil-6-desoxitetraciclina en 5,0 mililitros de ácido sulfúrico concentrado frío (0° C.) se añaden 88 miligramos (0,39 m moles) de N-yodosuccinimida. La mezcla se conserva a 0° C. durante 40 minutos y se vierte lentamente sobre 250 mililitros de éter frío. El sólido que se separa pesa 0,157 gramos. Una porción (50 miligramos) de este material se cristaliza de metilcellosolve/cloroformo. Rendimiento 20 miligramos.

15

20

EJEMPLO 10

Preparación de disulfato de amino-bromo-6-desoxitetraciclina

Sobre una solución de 100 miligramos de disulfato de amino-6-desoxitetraciclina en 4,0 mililitros de ácido sulfúrico concentrado, con agitación en un baño de hielo, se añadieron 32 miligramos de N-bromosuccinimida. La solución se agitó durante 30 minutos y se vertió lentamente sobre 100 mililitros de éter anhidro frío, agitando. El disulfato de amino-bromo-desoxitetraciclina resultante se recogió y se la-

30

255664

255664



vó con éter anhidro, frío (108 miligramos). $R_f = 0,45$ (butanol normal: pH 2, amortiguador fosfato).

EJEMPLO 11

Preparación de sulfato de bromo-nitro-6-desmetil-6-desoxite-
5 traciclina (Isomero A).

Se disolvieron 920 miligramos (2 m moles) de nitro-6-desmetil-6-desoxitetraciclina (Isomero A) en 20 mililitros de H_2SO_4 concentrado a 0° C. Sobre la solución agitada, fría, se añadieron 256 miligramos (2m moles) de N-bromosuccinimida. 10 La mezcla de reacción se agitó a 0° C. durante 30 minutos. La mezcla de reacción fría, pardo oscura, se vertió sobre 1,1 litros de éter agitado (a 0° C.), a una velocidad que mantuvo la temperatura por debajo de 5° C. Se precipitó un sólido fino de color amarillo claro, que se filtró por succión 15 y se lavó con éter (3 x 50 mililitros). El sólido se secó en vacío a la temperatura ambiente durante 2 horas. Peso: 1,27 gramos.

EJEMPLO 12

Preparación de sulfato de bromo-nitro-6-desmetil-6-desoxite-
20 traciclina (Isomero B).

Se disolvieron 130 miligramos (0,3 m moles) de nitro-6-desmetil-6-desoxitetraciclina (Isómero B), en 3 mililitros de H_2SO_4 concentrado a 0° C. Sobre la solución se añadieron 59,3 miligramos (0,3 m moles) de N-bromosuccinimida. 25 La solución se dejó agitando en frío (0° C.) durante 45 minutos. La solución de reacción fría, pardo oscura, se vertió sobre 150 mililitros de éter agitado a 0° C. a una velocidad que mantuvo la temperatura por debajo de 5° C. El sólido de color amarillo claro que precipitó se filtró, se lavó con éter frío (3x5 mililitros), y se secó en vacío a 60° 30

255664



C. durante 1 hora. Peso: 170 miligramos.

EJEMPLO 13

Preparación de disulfato de bromo-amino-6-desmetil-6-desoxi-tetraciclina (Isómero B).

5 Se disolvieron 92 miligramos de amino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina (Isómero B) en 3 mililitros de H_2SO_4 concentrado a 0° C. Sobre la solución pardo oscura se añadieron 37,5 miligramos de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 0° C. durante 1 hora y luego se vertió
10 sobre 150 mililitros de éter agitado a 0° C., a una velocidad que mantuvo la temperatura por debajo de 5° C. El sólido, de color canela parduzco, se precipitó, se filtró, se lavó con éter frío y se secó en vacío a la temperatura ambiente durante 3 horas. Peso: 64 miligramos. $R_f = 0,78$ (butanol normal: pH 2, amortiguador fosfato).
15

EJEMPLO 14

Preparación de sulfato de dibromo-6-desoxitetraciclina

 Una solución de 60,5 miligramos (0,1 m moles) de sulfato de bromo-6-desoxitetraciclina y 18 miligramos (0,1
20 m moles) de N-bromosuccinimida en 2,0 mililitros de ácido sulfúrico concentrado se agitó a temperatura del baño de hielo durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió lentamente sobre 200 mililitros de éter frío. El sólido separado pesaba 30 miligramos.

25 Esta solicitud corresponde a la presentada en Estados Unidos de América el 26 de febrero de 1.959, Número 795.609, 9 de marzo de 1.959, Núm. 797884 y 9 de octubre de 1.959, Núm. 845.304, y se ecoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.



255664

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:

5 1º.- Un procedimiento para producir tetraciclinas halogenadas, caracterizado por hacer reaccionar un compuesto de tetraciclina con un manantial de halógeno electrofílico en presencia de un ácido enérgico.

10 2º.- Un procedimiento para producir tetraciclinas 7-halogenadas, caracterizado por hacer reaccionar una tetraciclina que está sin sustituir en la posición 7 con una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido enérgico.

15 3º.- Un procedimiento para producir una tetraciclina 7,11a-halogenada, caracterizado por hacer reaccionar una 7-sustituida-tetraciclina con una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido enérgico.

20 4º.- Un procedimiento para producir una tetraciclina 7,11a-dihalogenada, caracterizado por hacer reaccionar una tetraciclina que está sin sustituir en la posición 7 con al menos dos equivalentes de una fuente de halógeno electrofílico en presencia de un ácido enérgico.

5º.- Un procedimiento según cualquiera de los pun-



235664

tos anteriores, caracterizado porque la fuente de halógeno electrofílico es una N-haloamida.

5 6º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque la N-haloamida es N-bromosuccinimida, N-bromoacetamida, N-bromoftalinida, N-clorosuccinimida, N-yodosuccinimida.

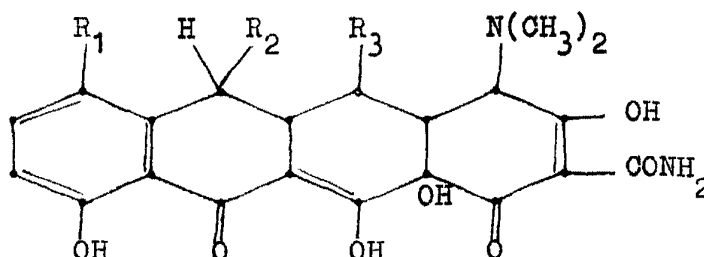
7º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos 1º a 4º caracterizado porque la fuente de halógeno electrofílico es bromo.

10 8º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque el ácido enérgico es un ácido mineral.

15 9º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque la halogenación se lleva a cabo en presencia de un disolvente.

10º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque la halogenación se lleva a cabo a una temperatura de unos -20º a unos 50º.

20 11º.- Un procedimiento según cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque se produce una tetraciclina de la fórmula general siguiente:



donde R₁ es Br, Cl o I y R₂ es H o CH₃ cuando R₃ es H, y R₂ es CH₃ cuando R₃ es OH.

25 12º.- Un procedimiento para producir tetraciclina halogenadas.



255664

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

Esta Memoria consta de 13 hojas escritas por una sola de sus caras.

Madrid, 14 MAR 1980

P.A.

SV.