

PATENTE DE INVENCIÓN

Case No. JS-51254.

267543



Memoria Descriptiva

sobre:

" Procedimiento para la obtención de compuestos
halogenados "

Solicitante: CHAS. PFIZER & CO., INC., entidad norteamericana, residente en 11 Bartlett Street, Brooklyn 6, Estado de Nueva York, (N.Y.), EE.UU. de A.

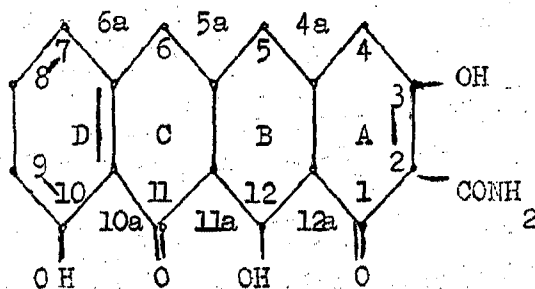
Esta invención se relaciona con nuevos compuestos de tetraciclina y con procesos para la preparación de los mismos. Más particularmente, la presente invención se refiere a un proceso de halogenación directa de tetraciclinas y los productos e inter-

5.



medios obtenidos mediante aquél. También se relaciona con nuevas y útiles tetraciclinas obtenidas de las nuevas tetraciclinas halogenadas y con los procesos usados para ello. Estos y otros objetos de esta invención resultan evidentes mediante la siguiente exposición.

Los antibióticos de tetraciclina comprenden un grupo de derivados del perhidronaftaceno biológicamente activos que tienen los siguientes detalles estructurales esenciales. El sistema de numeración indicado es el empleado por "Chemical Abstracts" ("Abstractos Químicos").



Entre los miembros biológicamente activos de este grupo figuran aquéllos que contienen los siguientes grupos sustitutivos:

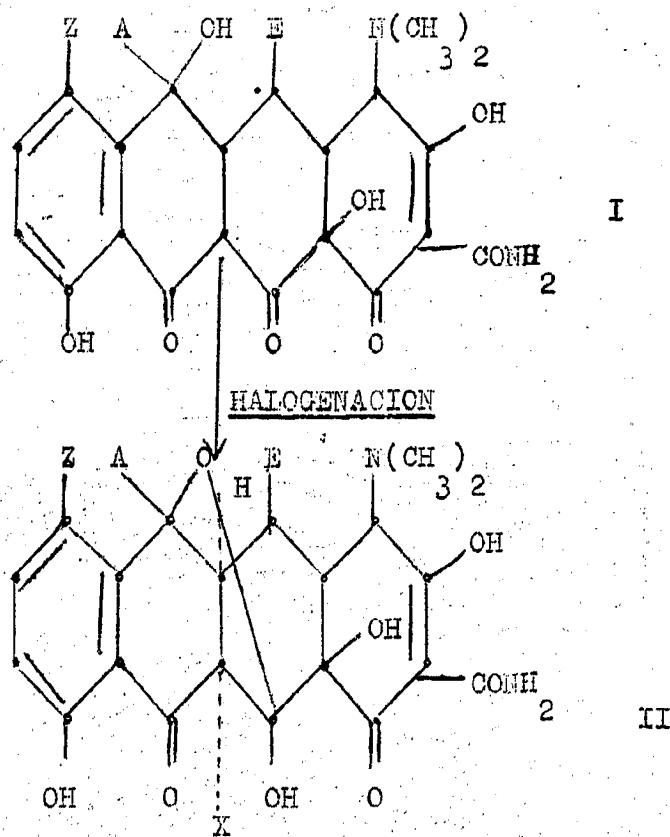
<u>Sustitutivos</u>	<u>Nombre común</u>
4-N(CH ₃) ₂ , 6-OH, 6-CH ₃ , 12a-OH	tetraciclina
4-N(CH ₃) ₂ , 5-OH, 6-OH, 6-CH ₃ , 12a-OH	5-oxitetraciclina
4-N(CH ₃) ₂ , 6-OH, 6-CH ₃ , 7-Cl, 12a-OH	7-clorotetraciclina
4-N(CH ₃) ₂ , 5-OH, 6-CH ₃ , 12a-OH	6-deoxi-5-oxitetraciclina
4-N(CH ₃) ₂ , 6-CH ₃ , 12a-OH	6-deoxitetraciclina



<u>Sustitutivos</u>	<u>Nombre común</u>
4-N(CH) ₃ ² , 12a-OH	6-deoxi-6-demetiltetraciclina
4-N(CH) ₃ ² , 6-OH, 6-CH ₃ , 7-Br, 12a-OH	7-bromotetraciclina
4-N(CH) ₃ ² , 6-CH ₃ , 7-Cl, 12a-OH	6-demetil-7-clorotetraciclina
4-N(CH) ₃ ² , 6-OH, 12a-OH	6-demetiltetraciclina

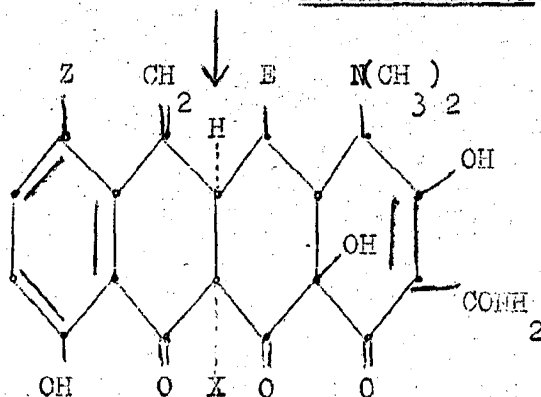
Los nuevos compuestos de tetraciclina de esta invención y procesos para su preparación se ilustran mediante el siguiente orden o sucesión de reacciones y fórmulas estructurales, donde X es halógeno, A es

5. CH₃ ó H, Z es Cl ó H, pero cuando X es F y A es CH₃, Z es H, E es H ó OH, siempre que cuando E es OH, A sea CH₃ y Z sea H.





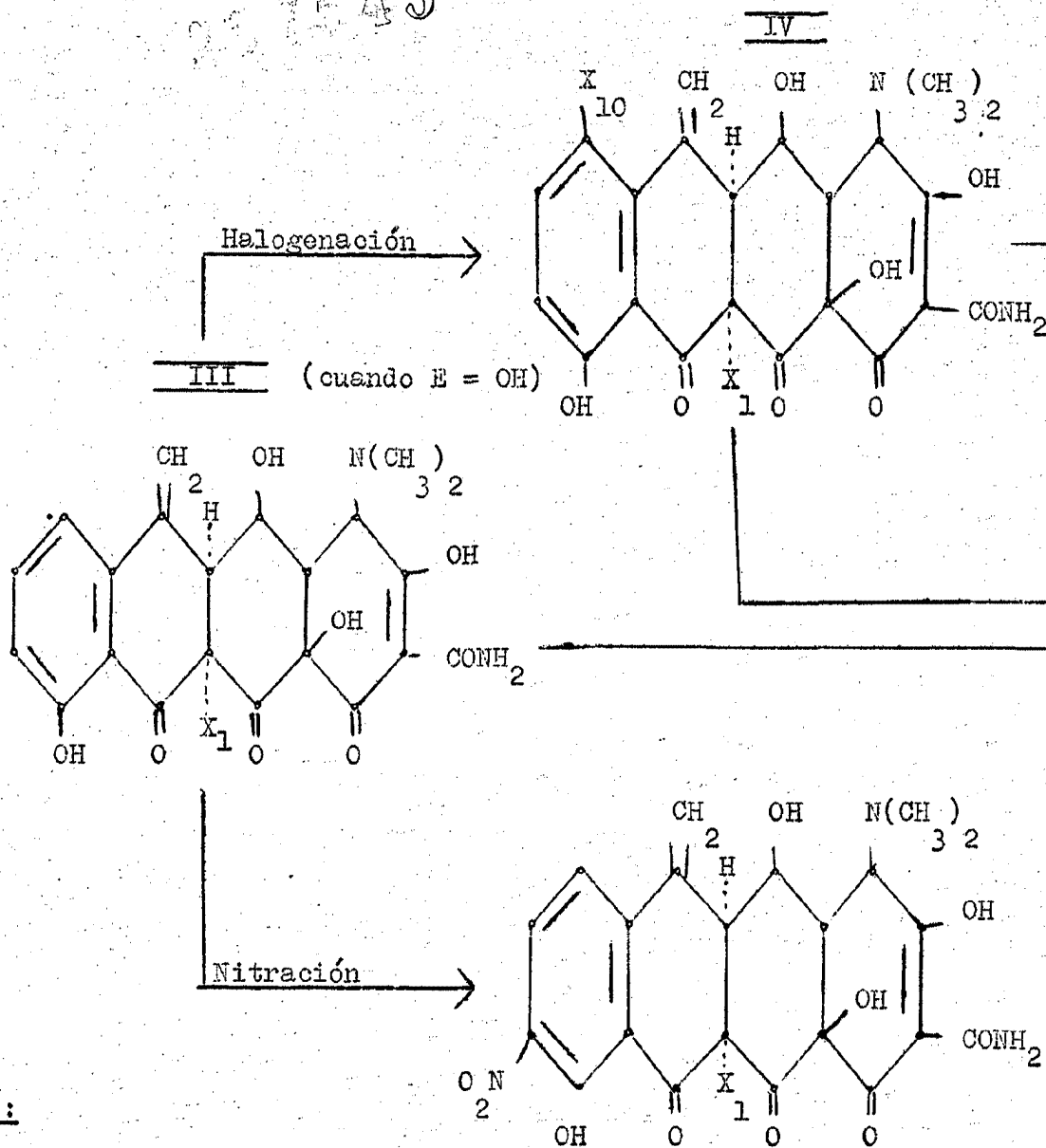
DESHIDRATACION (cuando A = CH₃)



III

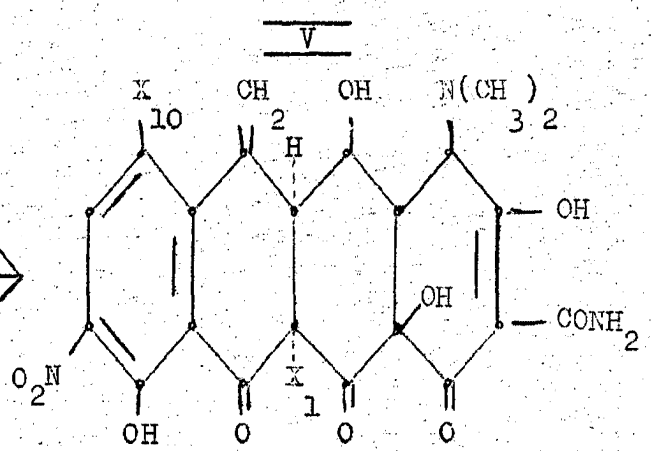
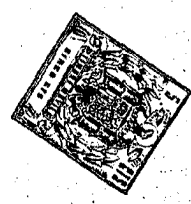


7E43



Donde:

- X₄ = H, Cl, Br, I
- X₅ = H, NH₂
- X₁₀ = Cl, Br, I
- X₁ = Cl, F

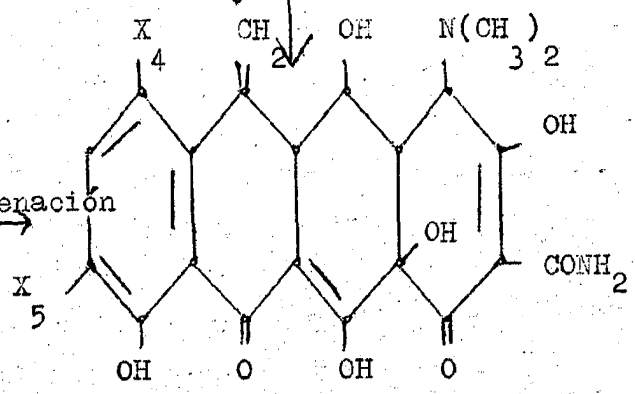


Nitración

11a-Deshalogenación

11a-Deshalogenación

VII

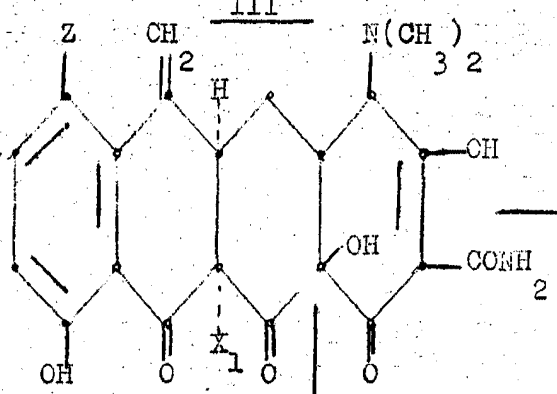
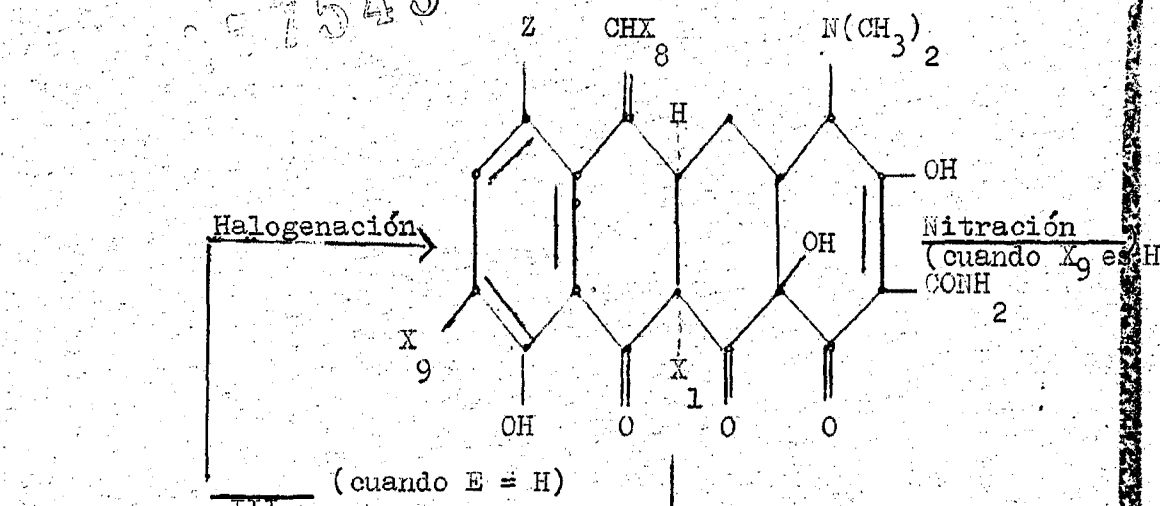


11a-Deshalogenación



7543

VIII

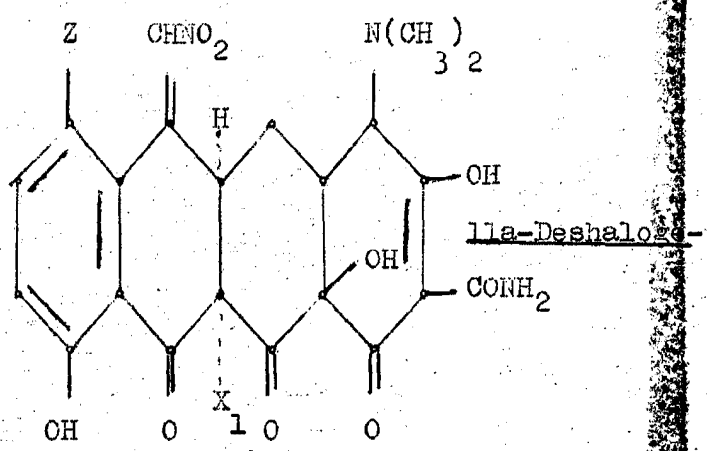


IIa-Deshalogenación

X

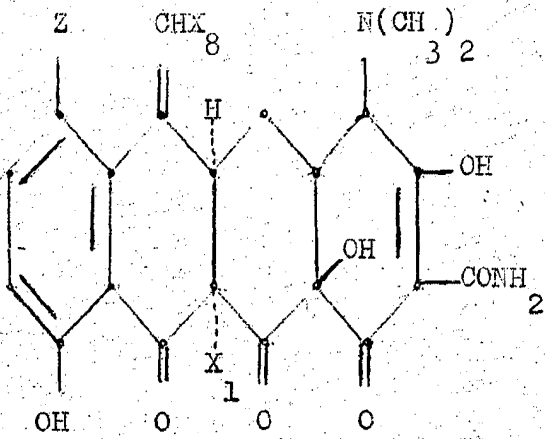
Donde:
 Z y X son como anteriormente se indica
 X8 = Cl, Br, I
 X9 = Cl, Br, I, H
 X6 andy X7 = H, Cl, Br, I
 o amino, siempre que sólo una de X6 ó X7 sea amino.

Nitración →



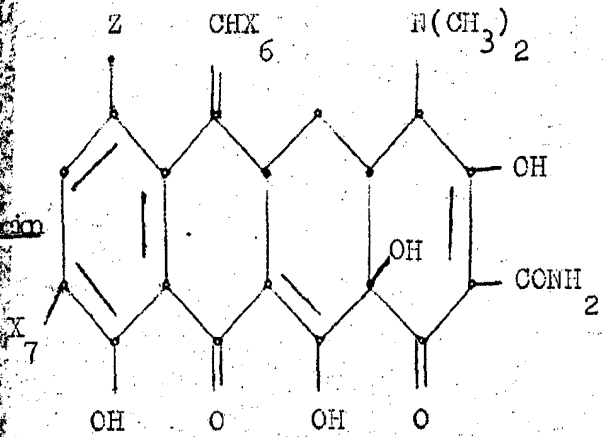


IX



Ila-Deshalogenación

XI



267543



con esta designación compuestos cis lla-halo no cetalizados, así como el semi-cetal. Los presentes y nuevos compuestos epoxi son lla-halo 1,4,4a,5,5a,6,11,11a,12,12a-decahidro-3,10-12,12a-tetrahidroxi-1,11,dioxo-2-carboxiamidonaftaceno-6,12-epóxidos. A efectos de sencillez, los presentes y nuevos compuestos halogenados recibirán en adelante la denominación de tetraciclina-6,12-semi-cetales.

Como se ha indicado, la halogenación se efectúa mediante reacción de una adecuada tetraciclina (I) con un agente halogenador suave en un disolvente inerte a la reacción. Entre los adecuados compuestos iniciales de tetraciclina figuran la tetraciclina, oxitetraciclina, cloro-tetraciclina, 6-demetiltetraciclina y 6-demetilclorotetraciclina. Naturalmente, el compuesto inicial de tetraciclina debe tener un sustitutivo 6-hidroxi a fin de formar la estructura de semicetal. Para la producción de las presentes y nuevas lla-halotetraciclinas en las que el halógeno es Cl, Br o I, puede emplearse una diversidad de reactivos de halogenación en un disolvente inerte a la reacción. Entre los adecuados agentes de halogenación figuran el bromo, cloro, yodocloro, yodobromo, amida de ácidos N-cloro, N-iodo-, y N-bromo alcanóicos inferiores, por ejemplo N-cloro, y N-bromoacetamida; imidas de ácido hidrocarburo dicarboxílico, por ejemplo N-cloro, N-bromo- y N-iodosuccinimida, ftalimida y similares, y N-alcanóil-inferior anilida, por ejemplo N-bromoacetanilida, propionanilida y similares; 3-cloro-, 3-bromo, 3,5-dicloro y 3,5-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína; perbromuro de piridinio e hidroháluros de percloruro, por ejemplo hidrobromuro perbromuro de piridinio; hidrocioruro percloruro de piridinio;



e hipocloritos alquílicos inferiores, por ejemplo hipoclorito butílico terciario. Es evidente que, en general, se prefiere el uso de 1 a 12, moléculas-gramo de agente halogenador por molécula-gramo de compuesto inicial de tetraciclina.

- 5.
- Por "disolventes inertes a la reacción" tal como se emplea aquí esta expresión, se indica un disolvente que, bajo las condiciones de la reacción, no reacciona de una manera indeseada con los compuestos iniciales a los productos finales. Un mínimo de experimentación en el laboratorio permitirá la selección de adecuados disolventes para el presente proceso. Como ejemplos de tales disolventes están en dioxano, tetrahidrofurano, éter metílico de dietileno glicol (diglime) y el éter metílico de etileno glicol (monoglime). Ordinariamente es preferible pero no esencial la exclusión de agua de la mezcla en reacción cuando el compuesto inicial es un compuesto lla-bromo o yodo, que parece ser bastante sensible al agua. Si se incluye agua en la mezcla en reacción, deberá evitarse una prolongada exposición de los compuestos de lla-bromo o yodo para impedir un apreciable descenso en la producción del material deseado. La temperatura no parece ser crítica en este proceso, considerándose adecuadas temperaturas de 0 a 50°C. Temperaturas superiores a 50°C deben evitarse preferiblemente debido a la posible formación de compuestos 5a,6-anhidros que reduce la eficacia del proceso. La selección de las mejores condiciones de reacción, por ejemplo temperatura, disolvente, agente halogenador, etc., es cuestión de experimentación rutinaria. Es preferible elegir un sistema disolvente del que el producto lla-halógeno
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



- cristalice al formarse, particularmente en el caso de los compuestos de bromo y yodo. Por ejemplo, un 1:1 benzeno-monoglicol (éter dimetilo de etilo glicol) resulta ser un sistema disolvente preferido para la oxitettraciclina de lla-bromación. El producto se separa fácilmente de la mezcla en reacción al formarse. Si el producto permanece en solución durante cualquier período de tiempo prolongado, parece producirse una apreciable degradación con un sustancial descenso en la producción de material. Como previamente se ha indicado, los compuestos de lla-bromo y yodo parecen ser muy sensibles al agua. El hidrobromuro de lla-bromo-5-hidroxitettraciclina-6,12-semi-cetal se disuelve en agua dando una solución con un pH de 2 aproximadamente. Al cabo de 1,5 horas aproximadamente, el producto no era detectable, habiendo sido degradado a una sustancia que se supone era una lactona. La ebullición del producto lla-halógeno con acetona proporciona una elevada regeneración de la 5-hidroxitettraciclina, el compuesto inicial mediante tratamiento con hidrosulfito sódico acuoso, se obtiene también el compuesto inicial del lla-bromo-semi-cetal. Es ordinariamente preferible preparar los compuestos cloro-semi-cetales en un disolvente mezclable con agua, tal como tetrahidrofurano, dioxano, acetona, éteres di-alquílicos inferiores de etilenoglicol, propilenoglicol y similares. El producto se obtiene mediante simple disolución de la mezcla de reacción con agua, que precipita al lla-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

Los compuestos de lla-cloro no parecen ser tan elevadamente reactivos como el correspondiente compuesto de lla-bromo, reduciendo así la necesidad de una especial

30.



manipulación en la preparación. Son en efecto completamente estables en soluciones acuosas, incluso a bajos valores de pH. Por ejemplo, el hidrocloruro de 11a-cloro-tetraciclina-6,12-semi-cetal, al reposar en agua, a un pH de 1 aproximadamente durante 18 horas a la temperatura ambiente, no muestra ninguna descomposición apreciable.

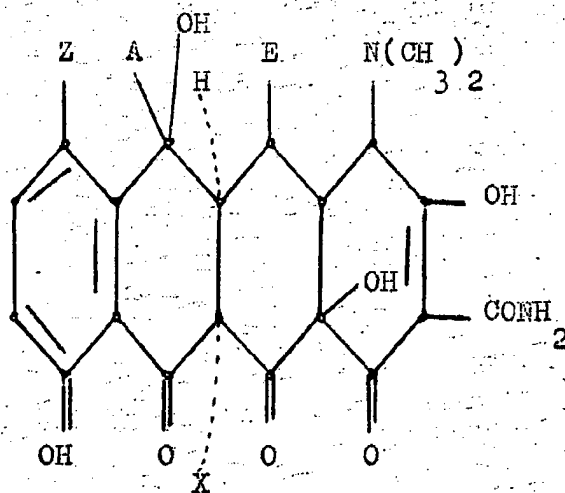
5. La preparación de 11a-fluorotetraciclinas se efectúa poniendo en contacto el compuesto inicial de tetraciclina con fluoruro de perclorilo en presencia de una base fuerte, preferiblemente un hidróxido o alcóxido metálico alcalino. La reacción se lleva a cabo ordinariamente disolviendo el compuesto inicial en el disolvente seleccionado, preferiblemente un alcohol inferior, es decir uno que contenga hasta 3 átomos de carbono, conteniendo por lo menos un equivalente gramomolecular de la base y añadiendo fluoruro de perclorilo, un gas a la temperatura ambiente. Al avanzar la reacción, el pH de la solución desciende desde un valor alcalino a casi neutro, comenzando a separarse generalmente el producto a un pH de 8 aproximadamente. Se recoge el producto cristalino de la manera usual y se seca.

10. Además de los 11a-halotetraciclina-6,12-semi-cetales, el presente proceso produce también 11a-halotetraciclinas, es decir aquéllas en las que no ha ocurrido la formación del semi-cetal, en las que se supone que el átomo 11a-halógeno se encuentra en el lado inverso del átomo 11a-carbono del halógeno de los semi-cetales. Se considera que la relación estereoquímica del primero impide la formación de la estructura semi-cetal. Estos compuestos se obtienen generalmente mediante evaporación de
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



la mezcla de reacción después de la precipitación de los compuestos 6,12-semi-cetales. Los compuestos tras-lla-halógenos están representados por la siguiente fórmula, en la que Z, A, E y X son como anteriormente se han definido:

5.



Los presentes y nuevos compuestos de lla-halógeno de estructura II son útiles para la preparación de correspondientes tetraciclinas sustituidas de anillo D mediante reacciones de sustitución aromática para dar compuestos sustituidos en las posiciones 7 y/o 9. Como ejemplos de tales reacciones de sustitución aromática figuran la halogenación y la nitración.

10.

Esta halogenación se lleva a cabo poniendo en contacto el compuesto lla-halógeno inicial con un agente halogenador (decloración, bromación o yodación) en un disolvente inerte a la reacción como previamente se ha descrito respecto a la síntesis de los compuestos lla-halógenos.

15.

El producto halogenado obtenido por este método se determina mediante la proporción gramomolecular de agente halogenador empleado. Con una proporción sustancialmente equigramomolecular de agente halogenador por molécula-gramo de compuesto lla-halógeno, se produce una

20.



monohalogenación. Con dos o más equivalentes gramomoleculares de agente halogenador, se produce una dihalogenación.

5. Una vez completada la reacción de halogenación, se obtienen los productos por los métodos usuales. Generalmente, el método empleado implica la adición de un no-disolvente a la mezcla de reacción con la subsiguiente recogida del producto precipitado.

10. La nitración se efectúa mediante cualquiera de los métodos ordinarios usados para este fin. Por ejemplo, se reacciona el compuesto inicial con ácido nítrico per se o formado in situ, por ejemplo nitrato potásico y ácido sulfúrico. Para la obtención de unos resultados óptimos, la reacción de nitración se lleva a cabo en un disolvente, tal como un ácido alcanoico inferior, por ejemplo ácido acético, aunque puede emplearse una variedad de otros disolventes. El disolvente preferido es fluoruro de hidrógeno líquido. Un mínimo de experimentación en el laboratorio permitirá la selección de otros disolventes adecuados. Aunque las condiciones de la reacción pueden variar apreciablemente, deberá evitarse el uso de elevadas temperaturas. Se obtienen unos resultados satisfactorios en un orden de temperaturas de -25 a 50°C aproximadamente, prefiriéndose como la más conveniente la temperatura ambiente. El tiempo de la reacción no es demasiado crítico, particularmente en vista de la estabilidad de los compuestos iniciales ante las condiciones de la reacción ácida. Para asegurar unas producciones óptimas, es preferible usar períodos de reacción desde tan sólo 15 minutos hasta unas

15.

20.

25.

30. 12 horas.



- Además, las presentes y nuevas lla-halotetraciclina son también útiles como compuestos de partida en reacciones de acoplamiento con sales diazónicas. La reacción de acoplamiento con sales arildiazónicas se efectúa de acuerdo con métodos conocidos. Por ejemplo, se disuelve la lla-halotetraciclina en agua o en alcohol soluble en agua o cetona, tal como acetona, a la que se añade una solución acuosa que contenga de uno a tres equivalentes gramomoleculares de la sal arildiazónica elegida. La temperatura de la mezcla se mantiene a 0-10°C. El producto de acoplamiento comienza generalmente a precipitar de la mezcla reactiva después de unos 15 minutos, pero ordinariamente se emplean tiempos de reacción del orden de dos horas para asegurar una completa reacción. El producto se separa generalmente en forma de material amorfo que es recogido, lavado y secado, Si no se produce precipitación, el producto puede obtenerse por evaporación del disolvente o por extracción de la mezcla reactiva con disolventes tales como n-butanol, metil isobutil cetona y similares.
5. Los productos azoicos obtenidos son generalmente adecuados para una ulterior transformación química o pueden purificarse ulteriormente mediante reprecipitación o cristalización a partir de disolventes, cromatografía, técnicas de extracción con disolventes, etc.
10. Las sales arildiazónicas que proporcionan productos de acoplamiento del presente tipo son numerosísimas, Los productos obtenidos son 7- y/o 9-arilazo-11-halotetraciclina-6,12-semi-cetales. Cuando Z en el compuesto de partida es cloro o bromo, el producto es un compuesto 9-arilazoico; cuando Z es hidrógeno, el producto es una mez-
15. 20. 25. 30.



cla de los 7- y 9-isómeros.

Los productos de acoplamiento azoicos aromáticos, así como los correspondientes compuestos nítricos producidos de acuerdo con la anterior descripción, son particularmente útiles para la producción de correspondientes aminotetraciclinas. Los compuestos azoicos son reducidos por métodos electrolíticos o químicos, pero preferiblemente mediante hidrogenolisis catalítica.

5. Si se desea, el átomo lla-halógeno de las lla-halotetraciclinas anillo D-sustituídas obtenidas de compuestos de la Estructura II puede separarse selectivamente por reducción, preferiblemente usando medios químicos. Por ejemplo, muchos compuestos de lla-bromo o yodo son simplemente hervidos en acetona para separar el lla-halógeno.
10. Los átomos de lla-cloro pueden separarse fácilmente mediante tratamiento con hidrosulfito sódico en medios acuosos. Esta última reducción, también aplicable a la separación de bromo o iodo, es un proceso particularmente fácil y es especialmente preferido con compuestos lla-cloro que contengan otros grupos reducibles. En consecuencia, el 7,lla-diclorotetraciclina -6,12-semi-cetal es reducido a 7-cloro-tetraciclina mediante tratamiento con hidrosulfito sódico en dimetilformamida acuosa. Los compuestos de lla-fluór parecen ser más difíciles de reducir selectivamente, puesto que requiere unas condiciones de reacción más vigorosas.
15. Por ejemplo, las presentes lla-fluoro-tetraciclinas son convertidas en correspondientes compuestos lla-desfluoros mediante reacción con zinc en ácido mineral de acuerdo con la práctica, standard. El lla-fluór puede separarse también por hidrogenolisis sobre catalizadores metálicos
- 20.
- 25.
- 30.



- nobles, preferiblemente a presiones superatmosféricas de gas hidrógeno, por ejemplo hasta de 1000 atmósferas. El uso de temperaturas superiores a la ambiente (20-25°C) puede requerirse también en algunos casos para permitir una sustancial producción del material deseado. Bajo tales condiciones de hidrogenolisis, serán susceptibles a la reducción también otros grupos reducibles, por ejemplo el grupo 6-hidroxi y los grupos 7 ó 9-halógeno o nitros. Por ejemplo, el 7-nitro-lla-fluorotetraciclina-6,12-semi-
5. cetal, tras su tratamiento con gas hidrógeno sobre paladio en carbono a una presión de 1500 lpc, produce, entre otras cosas, la 7-amino-6-deoxitetraciclina como producto.
- 10.

- Las presentes y nuevas lla-halotetraciclinas son también útiles como productos intermedios para la síntesis de 6-deoxitetraciclinas. Tras su tratamiento con gas hidrógeno en presencia de un ácido mineral sobre un catalizador de metal noble, tanto el lla-halógeno como el grupo 6-hidroxi son hidrogenolizados. Para este fin, pueden usarse presiones del gas hidrógeno desde el valor atmosférico a valores superiores, aunque generalmente es preferible emplear elevadas presiones, particularmente con compuestos lla-fluoros, que se observan son menos susceptibles a la hidrogenolisis y son preferiblemente hidrogenolizados a elevadas temperaturas, por ejemplo hasta de 100°C. A excepción del caso de los compuestos lla-fluoro, las temperaturas parecen no ser críticas en esta reacción, sirviendo el uso de altas temperaturas (hasta de 50°C) principalmente para acortar el tiempo de reacción. Las nuevas lla-halotetraciclinas parecen ser de una actividad biológica solamente ligera cuando se ensayan in vitro contra organismos
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.

267543



de prueba tales como la *Klebsiella pneumoniae*.

Empleando los procedimientos anteriormente descritos, los presentes y nuevos compuestos lla-halógenos se convierten en los siguientes productos:

5. 7-bromo-lla-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal
7 y 9-nitro-lla-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal
7-iodo-lla-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal
7-cloro-6-demetiltetraciclina
7,11-diclorotetraciclina-6,12-semi-cetal
10. 7-cloro-lla-bromo-6-demetiltetraciclina-6,12-semi-cetal
7-fluoro-6-demetiltetraciclina

y correspondientes compuestos no cetalizados cuando sean aplicables.

Los átomos lla-halógenos pueden ser separados por los métodos descritos aquí.

15.

DESHIDRATACION

De particular valor son los lla-halo semi-cetales de la Estructura II en los que el sustitutivo A es un grupo metilo y X es cloro o flúor. Estos compuestos se convierten en sustancias de una actividad biológica en vivo sorprendentemente elevada contra microorganismos causantes de enfermedades que les hace valiosos para uso en terapia humana. Estos compuestos muestran en su ensayo in vitro una actividad sólo moderada aunque notable. La conversión se efectúa mediante tratamiento del compuesto inicial (II) con un ácido fuerte de tipo deshidratante. Aunque puede usarse una serie de tales ácidos para este fin, es preferible usar ácidos minerales, tales como ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido polifosfórico, ácido perclórico, así como otros ácidos, tales como ácido acético glacial (conteniendo

20.

25.

30.



trifluoruro de boro), fluoruro de hidrógeno (preferiblemente en forma líquida) y ácidos acéticos trihalogenados, por ejemplo ácido trifluoroacético. Es también preferible emplear los ácidos minerales en forma concentrada, por ejemplo ácidos acuosos al 60% por lo menos. Cuando se emplean los ácidos minerales, se obtienen unos resultados particularmente ventajosos con ácidos que tengan las siguientes concentraciones:

5.	ácido sulfúrico	90 a 95%
10.	ácido fosfórico	80 a 85%
	ácido perclórico	60 a 70%

El tiempo y temperatura de reacción no parecen ser críticas. En la realización de este proceso, se añade el compuesto inicial al ácido seleccionado y se deja reposar durante períodos de tiempo relativamente cortos. Por ejemplo, el compuesto inicial se añade a fluoruro de hidrógeno, preferiblemente en forma líquida, a 0 - 50°C y se deja reposar durante 5 a 7 minutos y más tiempo aún, por ejemplo hasta varias horas, después de lo cual se deja evaporar el fluoruro de hidrógeno. Luego se trata el residuo mediante procedimientos normales para obtener un producto cristalino como la sal hidrofluoruro, por ejemplo agitado en un no disolvente y recristalizado a partir de disolventes tales como alcanoles inferiores. Cuando se usa ácido sulfúrico es preferible emplear temperaturas inferiores a 20°C. Cuando se emplea ácido perclórico, se lleva a cabo la reacción preferiblemente a temperaturas desde 50°C aproximadamente y superiores, preferiblemente de 60 a 70°C aproximadamente. En este proceso puede usarse ácido perclórico muy concentrado, pero su uso no es preferido debido al

30.



- peligro de explosión con el que los especialistas en el arte se hallan familiarizados. El tiempo de reacción no parece ser crítico puesto que la reacción parece ser casi instantánea. Por ejemplo, el tiempo de reacción de 5 a 15 minutos da generalmente unos excelentes resultados cuando la temperatura de la reacción es del orden de 60 a 70°C. El ⁶alentamiento durante períodos de tiempo más largos, aunque no perjudiciales, no proporciona apreciable ventaja y por ello no se usa. A temperaturas inferiores, pueden requerirse períodos de reacción ligeramente superiores para obtener una producción sustancial del material. Cuando se usan ácido trifluoroacético o ácido acético, la reacción se lleva a cabo preferiblemente a la temperatura ambiente durante un período de unas 24 horas. Después de completarse la reacción, se obtiene el producto por procedimientos normales. Por ejemplo, es muy conveniente diluir simplemente la mezcla reactiva con un no disolvente, por ejemplo agua, que determina la precipitación del producto como la resultante sal ácida. El producto de la deshidratación del ácido puede convertirse de la resultante sal ácida en la base libre o cualquier sal deseada en la forma habitual. Cuando el compuesto inicial para este proceso es un compuesto lla-fluoro, se obtienen los mejores resultados usando ácido perclórico.
- Los productos del proceso de deshidratación son lla-halotetraciclinas de la Estructura III que se denominan 6-deoxi-6-demetil⁶-metileno-lla-halotetraciclinas. El compuesto en el que Z es H, como la sal de ácido mineral, muestra en análisis infrarrojo (pastilla de KBr) absorción de carbonilo a 5,70 micras o cerca de ello. Esta ab-



5. sorción, como anteriormente se mencionó, carece del compuesto inicial lla-halo semi-cetal. Además, se produce una espectacular desviación en los máximos de absorción ultravioleta (medida en HCl 0,01N metanol) desde las proximidades de 345 mμ (que es característico de los compuestos iniciales semi-cetales) hasta las proximidades de 375 mμ (que es característico de los productos deshidratados). Los productos deshidratados muestran también dos máximos adicionales de absorción ultravioleta que son respectivamente unas 4,2 y 5 veces más intensos que el de 375 mμ. Los dos máximos adicionales se encuentran aproximadamente en 240 y 277 mμ, respectivamente. El máximo característico previamente mencionado a 375 mμ aproximadamente en el caso de compuestos en los que Z es H se produce aproximadamente a 380-390 mμ en el caso de compuestos en los que Z es cloro o bromo.

10. Se preparan de la misma manera lla-halo-6-metilenotetraciclinas adicionales a partir de lla-halotetraciclina-6,12-semi-cetales sustituidos de anillo en D. Los semi-cetales sustituidos de anillo en D se preparan por métodos anteriormente descritos. Se preparan así las 7 y/o 9-sustituidas-6-metileno-lla-halotetraciclinas en las que el sustitutivo es halógeno, nitro o amino.

15. Las lla-halo-6-demetiltetraciclinas, tras su reacción con fluoruro de hidrógeno, ácido perclórico u otro ácido mineral fuerte (clorhídrico, sulfúrico, etc), se convierten en lla-halo-5a,6-anhidro-6-demetiltetraciclinas, que pueden prepararse también mediante halogenación directa de 5a,6-anhidro-6-demetiltetraciclinas por los métodos de halogenación anteriormente descritos. Las lla-halo-6-



- demetil-5a,6-anhidrotetraciclinas son productos intermedios particularmente útiles que pueden reducirse a lla-halo-6-deoxi-6-demetiltetraciclinas, por ejemplo, mediante reducción controlada con hidrógeno sobre catalizadores
5. de platino tales como óxido de platino en un disolvente ácido alcanoico inferior, por ejemplo, ácido acético, Los productos lla-halogenados se someten luego a reducción, química o catalítica, como aquí se describe, para obtener 6-deoxi-6-demetiltetraciclinas. Para este orden de reacción,
10. son preferibles las lla-fluoro-6-demetiltetraciclinas. Las lla-halo-6-metilenotetraciclinas de la Estructura III son útiles para ulteriores reacciones de sustitución, por ejemplo, reacciones de sustitución de anillo en D tales como las anteriormente descritas para los lla-halo-semicetales de la Estructura II, es decir, nitración y halogenación. Además, los compuestos de la Estructura III, en los que " es hidrógeno, experimentan también reacciones de sustitución en el grupo 6-metileno. En todas estas reacciones de sustitución en las que se producen mezclas de
15. compuestos, las mezclas pueden separarse en sus componentes y recuperarse los productos deseados mediante procedimientos convencionales, por ejemplo, distribución a contracorriente, cromatografía de columna o combinación de ambos.
- 20.

Halogenación de compuestos de la Estructura III

25. Por ejemplo, la halogenación de compuestos de la Estructura III, por métodos anteriormente descritos bajo "lla-halogenación" de compuestos de la Estructura I, produce compuestos de las Estructuras IV y VIII. Partiendo con compuestos de la Estructura III, en los que E es OH, la
30. halogenación se produce principalmente en la posición 7,



5. produciéndose también alguna sustitución en la posición 9, y en un grado menor en ambas posiciones 7 y 9. Partiendo con compuestos de la Estructura III en los que E es hidrógeno, se produce la halogenación principalmente en el grupo 6-metileno, y en un grado menor en la posición 9 y/o en ambas posiciones.

Nitración de compuestos de la Estructura III

10. La nitración de los compuestos de la Estructura III produce compuestos de las Estructuras VI y X. La nitración se efectúa usando los mismos procedimientos anteriormente descritos para la nitración de los compuestos de la Estructura II. La nitración de los compuestos de la Estructura III en los que E es OH produce principalmente compuestos 9-nitro y en un grado menor compuestos 7-nitro y 6-nitrometilenos.

15. En la nitración de compuestos de la estructura III en los que E es hidrógeno, la nitración se produce principalmente en el grupo 6-metileno, así como en la posición 9 y en grado menor en la posición 7.

Nitración de compuestos de las Estructuras IV y VIII

20. La nitración de los compuestos de las estructuras IV y VIII produce compuestos de las Estructuras V y IX, respectivamente. La nitración se efectúa usando los mismos procedimientos anteriormente descritos.

lla-deshalogenación

25. Los compuestos de la Estructura III, IV, V, VI, VIII, IX y X, a los que en adelante se hace referencia por 6-metileno-lla-halotetraciclinas, son productos intermedios para la producción de correspondientes lla-deshalogenados, es decir, 6-metilenotetraciclinas (compuestos de las Estructuras VII y XI).

30.



Aunque tales Estructuras de algunos de estos compuestos parecen ser isómeras con conocidas 5a,6-anhidrotetraciclinas, difieren apreciablemente, particularmente en su espectromás amplio de actividad contra variedades de

5. microrganismos, superior actividad contra organismos individuales y particularmente contra organismos resistentes a los antibióticos. Además, los presentes compuestos proporcionan protección animal contra organismos causantes de enfermedades, cuya propiedad no es compartida por los
10. conocidos compuestos 5a,6-anhidros, como es bien sabido.

La reacción de deshalogenación puede efectuarse mediante muchos de los métodos normales usados para la separación de halógeno, incluyendo métodos de reducción química y catalítica. Una tal reducción catalítica se efectúa

15. mediante tratamiento con gas hidrógeno sobre un catalizador de metal noble, por ejemplo, catalizadores de paladio o rodio a presiones que varían entre la atmosférica y 1000 atmósferas y temperaturas que oscilan entre 0 y 100°C. Puede emplearse una variedad de métodos químicos. Uno de tales métodos implica la reducción con hidrosulfitos metálicos alcalinos. El compuesto inicial se añade a una solución acuosa del hidrosulfito seleccionado y se deja reposar a la temperatura ambiente que resulta ser la más conveniente para esta reacción. Otros métodos para la separación de

20. ulla-halógeno se sugieren por sí mismos a los especialistas en el arte, incluyendo:

25. (a) Tratamiento con ácido hidroyódico acuoso diluido,

(b) Tratamiento con metal de zinc en presencia de un donador de protones tal como ácido acético,

30. (c) Tratamiento con polvo de zinc en un disolvente

267543



inerte,

- (d) Tratamiento con yoduro sódico en un disolvente orgánico, seguido de tratamiento del resultante compuesto de yodo con zinc metálico.

- El procedimiento señalado con (d) resulta a menudo ineficaz en el sentido de que la primera reacción parece ser, en el mejor de los casos, muy incompleta. Sorprendentemente se ha comprobado que las lla-halotetraciclinas pueden deshalogenarse fácilmente mediante simultáneo tratamiento del compuesto lla-halogenado con yoduro de zinc y sodio en un disolvente inerte a la reacción (preferiblemente alcanonas inferiores, por ejemplo, acetona) a temperatura entre ambiente y de reflujo, usando desde cantidades equivalentes hasta excesos de un 1000% granomolecular y superiores de los reactivos. A la temperatura de reflujo, la reacción se completa en un tiempo tan reducido como de 30 minutos. Una vez completada la reacción, se obtiene el producto por filtración y concentración de la mezcla reactiva. Bajo las condiciones de la separación reductiva de lla-halógeno como anteriormente se describe, los grupos nitros son reducidos a grupos aminos para producir los correspondientes derivados aminos definidos en las Estructuras VII y IX.
5. 10. 15. 20.

- En la conversión del lla-halotetraciclina-semicetal en las lla-halo-6-metilenotetraciclinas y desde éstas en 6-metilenotetraciclinas, se prefieren los lla-clorotetraciclina-semicetales, puesto que estos compuestos parecen ser en general muy estables y se prestan fácilmente a la deshalogenación. Los compuestos lla-fluoruros son menos fácilmente deshalogenados.
- 25.

- Los compuestos lla-deshalogenados, es decir, las 6-metilenotetraciclinas son de un orden de actividad sor-
- 30.



prendentemente elevado cuando se ensayan in vitro contra una amplia variedad de organismos causantes de enfermedades y se observa que son particularmente eficaces contra las razas de microorganismos resistentes a los antibióticos.

5.

La siguiente tabla resume la actividad de la 6-metilenotetraciclina contra una variedad de microorganismos causantes de enfermedades, incluyendo razas resistentes a los antibióticos. La concentración inhibidora mínima (MIC)

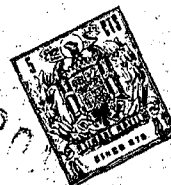
10.

se determina por la conocida técnica de dilución seriada. Incluidas en la tabla figuran las concentraciones inhibidoras mínimas de la lla-cloro-6-metileno-tretaciclina y de la 6-deoxitetraciclina. Se observa que los valores de concentración inhibidora mínima para la 6-metilenotetra-

15.

ciclina son generalmente inferiores a los de la 6-deoxitetraciclina, indicando una superior actividad, especialmente contra el *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* 400, un organismo resistente a la tetraciclina.

267543



T A B L A + I.

- 1.6-metilenotetraciclina
- 2.6-deoxitetraciclina
- 3.11a-cloro-6-metilenotetraciclina

<u>Organismo</u>	MIC (mcg./ml.)		
	<u>1.</u>	<u>2.</u>	<u>3.</u>
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. aureus	<0.19	0.78	50(25 p)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<0.19	0.39	12.5
<i>Streptococcus faecalis</i>	<0.19	0.78	25
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	<0.19	3.12	25
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<0.19	0.39	-
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.78	3.12	>100
<i>Listeria monocytogenes</i>	<0.19	6.25	25
<i>Bacillus subtilis</i>	<0.19	0.01	3.12
<i>Lactobacillus casei</i>	0.78	25	100(50p)
<i>Bacterium ammoniagenes</i>	<0.19	0.78	12.5
<i>Aerobacter aerogenes</i>	3.12	6.3	>100
<i>Escherichia coli</i>	1.56	6.3	>100
<i>Proteus vulgaris</i>	12.5	100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25.0	100	>100
<i>Salmonella gallinarum</i>	3.12	12.5	>100
<i>Salmonella pullorum</i>	0.78	3.12	100 (p)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.56	6.3	>100
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<0.19	0.78	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i>	<0.19	0.09	6.25
<i>Shigella sonnei</i>	3.12	3.12	-
<i>Brucella bronchiseptica</i>	<0.19	0.19	6.25
<i>Malleomyces mallei</i>	0.39	3.12	25
<i>Vibrio comma</i>	<0.19	0.19	6.25



T A B L A - I (continuación)

<u>Organismo</u>	<u>MIC(mcg./ml.)</u>		
	<u>1.</u>	<u>2.</u>	<u>3.</u>
Pasteurella multocida	<0.19	0.39	25
Streptococcus adalactiae	<0.19	-	12.5
Mycobacterium 607	<0.19	0.19	0.78
Mycobacterium berolinense	<0.19	100	0.39
Candida albicans	50	100	>100
Sarcina lutea	<0.19	-	100

1. 2. 3.

Razas resistentes a los antibióticos de Micrococcus pyogenes var. aureus

376	+	6,25	6,3	>100
400	++	0,78	3,12	50
+	resistente a la tetraciclina a una concentración inferior a 100 mcg/ml.			
++	resistente a la tetraciclina a una concentración inferior a 50 mcg/ml.			

La siguiente tabla resume la actividad in vitro de otros compuestos representativos de la presente invención.



T A B L A - II.

- 1. 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina
- 2. 7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

<u>Organismos</u>	<u>MIC (mcg./ml.)</u>	
	<u>1.</u>	<u>2.</u>
Micrococcus pyogenes var, aureus 5	0.78	0.25
Streptococcus pyogenes	0.78	0.03
Streptococcus faecalis	0.39	0.6
Diplococcus pneumoniae	0.39	0.06
Erysipelothrix rhusiopathiae	0.39	0.125
Corynebacterium diphtheriae	3.12	1.0
Listeria monocytogenes	0.19	0.19
Bacillus substilis	0.09	0.01
Lactobacillus casei	0.78	-
Bacterium Ammoniagenes	0.39	0.19
Streptococcus pyogenes 98	0.09	0.01
Micrococcus pyogenes var, aureus 209p	0.25	0.25
Aerobacter aerogenes	6.3	1.56
Escherichia coli	3.12	0.78
Pseudomonas aeruginosa	100	3.12
Salmonella gallinarum	12.5	1.56
Salmonella pullorum	3.15 (p)	0.78
Klebsiella pneumoniae	3.15 (p)	0.78
Neisseri gonorrhoeae	0.19	0.06
Hemophilus influenzae	0.19	0.03
Shigella sonnei	3.12	0.39
Brucella bronchiseptica	0.39	0.25
Malleomyces mallei	1.56	0.25
Vibrio comma	0.78	3.12
Pasteurella multocida	0.19	0.5
Sarcina lutea	0.78	-



T A B L A - II

(continuación)

<u>Organismos</u>	<u>MIC(mcg/ml.)</u>	
	<u>1.</u>	<u>2.</u>
streptococcus agalactiae	0.39	-
Razas de <u>Micrococcus pyogenes</u> var, <u>aureus</u> resistentes a los antibióticos		
376	100	100
400	50	100

(p) = inhibición parcial

Quando se repitieron estos ensayos in vitro en presencia de suero humano, se observaron resultados similares. La siguiente tabla resume la actividad de los citados compuestos de la Tabla II, ensayados en un 20% de suero humano:

5.

	<u>MIC (mcg/ml)</u>	
	<u>1</u>	<u>2</u>
Micrococcus pyogenes var, aureus 5	0.78	0.39
Streptococcus pyogenes	0.78	0.09
Streptococcus pyogenes 98	-	0.09
10. Micrococcus pyogenes var, aureus 209p	-	0.39

Se observa que la 7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina tiene una actividad in vitro contra un gran número de organismos superior a la 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

15.

Quando se ensayó la 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en vivo a través de la vía oral y parentérica, mostró una actividad mayor que la tetraciclina o 5-oxitetraciclina contra una infección producida con microorganismos sensibles a la tetraciclina. La PD_{50} (PD =

20.

dosis protectora) para el presente nuevo compuesto contra



una infección producida con Micrococcus pyogenes var. aureus 5 es 3,2 mg/kg (oralmente) y 0,34 mg/kg (parentéricamente). La correspondiente PD₅₀ para la tetraciclina es de 6,4 mg/kg (oralmente) y 0,78 mg/kg (parentéricamente).

5. Los presentes nuevos compuestos 6-metilénicos de estructura VII y XI pueden formularse en varias composiciones análogas a los compuestos originales. Son útiles en la terapéutica humana y lo son terapéuticamente en alimentos o como estimulantes del desarrollo, en la práctica veterinaria y en la agricultura.

10. Para la terapéutica humana, la dosificación oral ordinaria de los presentes nuevos compuestos es de 0,1 a 2 g. aproximadamente por día para el adulto medio. Los productos se formulan en cápsulas o tabletas conteniendo de 25 a 250 mg de antibiótico sobre una base de actividad. Se preparan suspensiones o soluciones en varios vehículos de concentra-

15. ciones comprendidas entre 5 y 125 mg/ml. Para la administración parentérica intramuscular o endovenosa, la dosis diaria se reduce a 0,1 a 1,0 g. aproximadamente. Las formulaciones intramusculares comprenden soluciones del antibiótico a concentraciones que varían entre 50 y 100 mg/ml. La administración endovenosa se efectúa mediante soluciones isotónicas de una concentración en antibiótico de 10 mg/ml. aproximadamente.
20. Ambos tipos de producto parentérico son convenientemente distribuidos como composiciones sólidas para su re-

25. constitución. Naturalmente, en todos los casos el médico que asista indicará la dosificación adecuada a las necesidades de un paciente determinado. Para niños, se emplean generalmente dosis menores.

30. Se desea incluir de un modo específico dentro de



la esfera de esta invención, las sales ácidas y básicas de las presentes nuevas tetraciclinas anfotéricas.

5. En el caso de las tetraciclinas terapéuticamente activas, las sales formadas con ácidos y bases farmacológicamente aceptables son adecuados para administración a un huésped en adecuada forma de dosificación. Las sales formadas con ácidos y bases farmacológicamente inaceptables son de valor en el aislamiento y purificación de las presentes nuevas tetraciclinas y también en la preparación de
10. sales farmacológicamente aceptables.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a título ilustrativo y no deben considerarse como limitaciones de esta invención, siendo posibles muchas variaciones de los mismos dentro del ámbito y esencia de la misma.

15.

E J E M P L O - I.

11a-fluorotetraciclina-6,12-semi-cetal

- A una suspensión de 20 g. de base de tetraciclina en 800 ml. de agua enfriada a 0°C se añaden 45 ml. (2 equivalentes) de solución de hidróxido 2N sódico. La
20. tetraciclina se disuelve formando una solución, cuyo pH es de 11 aproximadamente. Luego se borbotea fluoruro perclorilo a través de la solución agitada (mantenida bajo una atmósfera de nitrógeno) hasta que el pH de la mezcla se aproxima a 7. Empieza a formarse un denso precipitado entre
25. pH 8 y 8,5. El exceso de fluoruro perclorilo se expulsa con una corriente de nitrógeno y se filtra el material cristalino casi blanco, se lava con agua y se seca al vacío a la temperatura ambiente para obtener 7,9 a 8,5 g de producto. La absorción ultravioleta muestra unos máximos a 267 y 340 mμ;
30. el análisis infrarrojo no muestra ninguna absorción de car-



carbonilo inferior a 6 micras. El bioensayo contra la K. pneumoniae muestra una actividad de 8 mcg/mg sobre la escala de la tetraciclina. El análisis de elementos de los siguientes resultados:

5.

Calculado para: C H N O F.H.O; C, 54,95; H, 5,20
22 23 2 8 2
N, 5,83

Observado: C, 54,97; H, 5,19; N, 5,85

E J E M P L O - II

11-fluoro-5-hidroxitetraciclina-6,12-semi-cetal

10.

A una mezcla de 6,9 g. de base de oxitetraciclina anhidra disuelta en 285 ml. de metanol enfriado en un baño de hielo, se añade 1 equivalente de solución de metóxido de sodio en metanol. La sal sódica amarilla precipita. Se agregan fluoruro perclorilo y se vuelve a disolver la sal sódica. Cuando la mezcla se aproxima a un carácter neutro

15.

empieza a formarse un denso precipitado. El exceso de fluoruro perclorilo es separado con una corriente de nitrógeno, se filtra el producto, se lava con metanol frío y se seca al vacío a la temperatura ambiente para obtener 5,1 g. de cristales amarillo pálido. La absorción infrarroja

20.

no muestra ninguna absorción de carbonilo por debajo de 6 micras. El bioensayo contra la K. pneumoniae muestra una actividad de 4 mcg/mg sobre la escala de la tetraciclina. La absorción ultravioleta muestra máximos a 265 y 336 mμ. El análisis de elementos da los siguientes resultados después

25.

de una recristalización del producto a partir de agua.

Calculado para: C H N O F.2H.O: C, 51,4; H, 5,25; N, 5,5
22 23 9 2 2

Observado: C, 51,2; H, 5,3; N, 5,7

E J E M P L O - III.

11a-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal

30.

A una solución de 2,2 g. de tetraciclina anhidra



- en 25 ml. de monoglino (éter dimetilo de etileno glicol) se añaden 800 mg. de N-clorosuccinimida con agitación para disolver el reactivo. Se deja reposar la mezcla durante siete minutos y luego se diluye con agua (25 ml). El producto, 873 mg. cristaliza en forma de agujas blancas. El bioensayo del producto muestra una actividad de la tetraciclina de 4 mcg/mg. aproximadamente, contra el *K. pneumoniae*. El análisis infrarrojo no muestra ninguna banda de carbonilo entre 5 y 6 micras. La absorción ultravioleta muestra máximos a 267 y 340-342 m μ .
- 5.
- 10.

- Con el tratamiento de este producto con hidrosulfito sódico en dimetil-formamida acuosa a la temperatura ambiente, se regenera tetraciclina. El bioensayo de la mezcla reactiva muestra una actividad de la tetraciclina de 520-665 mcg/mg (*K. pneumoniae*).
- 15.

El hidrocloruro cristalino de este producto se obtiene disolviéndolo en un exceso de ClH acuoso (pH 1 aproximadamente) y secando con congelación la mezcla.

W J E M P I O - IV.

20. 7,11-diclorotetraciclina-6,12-semi-cetal

Durante dos minutos y medio se agita una mezcla de 2,4 g. de 7-cloro-tetraciclina anhidra, 800 mg de N-clorosuccinimida y 25 ml. de 1,2-dimetoxi-etano, tras lo cual se añaden 100 ml. de éter, seguidos de 300 ml. de exano.

25. El precipitado así formado se recoge por filtración, se lava con exano y se seca.

En forma similar se prepara 7-bromo-11a-cloro-tetraciclina-6,12-semi-cetal, a partir de 7-bromotetraciclina.



E J E M P L O - V.

11a-cloro-5-hidroxitetraciclina-6,12-semi-cetal

5. Se disuelve 23 g. de oxitetraciclina anhidra en 250 ml. de 1,2-dimetoxi-etano y 8 g. de N-clorosuccinimida son seguidamente añadidos. Se agita la mezcla durante dos minutos y luego se vierte en 1 litro de agua agitada. El producto que se separa es recogido por filtración, lavado con agua y secado. El análisis infrarrojo del producto (BrK al 1% de concentración) no muestra absorción de carbonilo en la región de 5 a 6 micras, pero ofrece los siguientes máximos principales: 6,12, 6,35, 6,66, 6,85, 7,22, 7,55, 7,75, 7,92, 8,14, 8,36, 8,78, 9,18 y 9,43 micras. El bioensayo del producto muestra una actividad de la tetraciclina de 4 mcg/mg.

15. E J E M P L O - VI.

11a-bromo-5-hidroxitetraciclina-6,12-semi-cetal

20. Se disuelve 2350 mg. de oxitetraciclina anhidra en 10,2 ml. de una mezcla calentada de volúmenes iguales de benceno y monoglimo. Luego se enfría la mezcla en un baño de hielo y se añade luego con agitación 0,5 ml. de una solución 1N de bromo en benceno. El producto cristaliza directamente, se recoge y se lava con disolvente nuevo.

25. La ebullición del producto en acetona o su tratamiento con hidrosulfito acuoso produce una elevada regeneración de oxitetraciclina.

E J E M P L O - VII

11a-bromotetraciclina-6,12-semi-cetal

30. Se repite el procedimiento del Ejemplo IV usando N-bromosuccinimida como agente halogenador para obtener este producto de la tetraciclina. Este procedimiento se



emplea también para preparar 7-cloro-lla-bromo y 7,lla-di-bromotetraciclina-6,12-semi-cetal.

E J E M P L O - VIII

5. Se repite el procedimiento del Ejemplo IV usando N-iodosuccinimida como agente halogenador para preparar los siguientes compuestos a partir de tetraciclinas adecuadas:

- 7-cloro-lla-iodotetraciclina-6,12-semi-cetal
- 7-bromo-lla-iodotetraciclina-6,12-semi-cetal
- 10. lla-iodo-5-hidroxitetraciclina-6,12-semi-cetal
- lla-iodotetraciclina-6,12-semi-cetal.

E J E M P L O - X

Sales ácidas de lla-halotetraciclina-6,12-semi-cetalee

15. Se preparan las sales hidrocioruro de los compuestos lla-halogenados anteriormente mencionados disolviendo la base libre en agua que contenga una cantidad equigramomolecular de cloruro de hidrógeno y secando por congelación la resultante solución.

20. De forma análoga, se forman sales con ácidos sulfúrico, hidrobromico y fosfórico.

E J E M P L O - XI

lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

25. Se disuelve lla-clorotetraciclina-6,12-semi-cetal en cluoruro de hidrógeno(en una proporción de 2 g/15 ml) a 0°C. Se mantiene la mezcla a esta temoeratura durante 10 a 15 minutos, tras lo cual se evapora el fluoruro de hidrógeno. Se tritura el residuo en éter para obtener el producto sólido lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina, como la sal hidro-fluoruro, que se recris-
30. taliza a partir de metanol.



5. Como variante, el producto hidrof luoruro crudo (10 g.) se disuelve en 350 ml. de H₂O mediante calentamiento y agitación. Se añade un volumen igual de ClH concentrado a la solución clara y el producto cristaliza como la sal hidroc loruro. El análisis de elementos de la sal hidroc loruro así obtenida da los siguientes resultados.

Calculado para: C H O N Cl ; C, 53,11; H, 4,56; N, 5,63;
 22 22 7 2 2
 cloruro 7,13

10. Observado: C, 52,62; H, 4,63; N, 5,54;
 cloruro 6,84

15. El análisis infrarrojo del producto como sal hidroc loruro en una pastilla de BrK a una concentración del 1% muestra una absorción de carbonilo a 5,70 μ así como los siguientes máximos notables: 6,1, 6,23, 6,36, 6,45 (codo); 6,91, 7,85, 8,14, 8,55, 10,22, 10,55, y 10,89. El bioensayo del producto (K.pneumoniae) muestra una actividad de la oxitetraciclina de 50-100 mcg/mg. El análisis ultravioleta de la muestra en 0,01 N metanol-ClH muestra máximos a 376, 278 y 242 m μ . El producto muestra un valor

20. R_f de 0,2 a 0,3 en el siguiente sistema:

Fase móvil

Fase inmóvil

Tolueno-piridina 20:3 saturado con amortiguador de pH 4,2

Amortiguador pH 4,2. (acuoso)

25. En el análisis cromatografico en papel con luz ultravioleta, la mancha del producto no muestra una fluorescencia fuerte. Sin embargo, al pulverizarse con hidrosulfito sódico acuoso muestra una fuerte fluorescencia.

30. Cuando se hierve el producto en una mezcla de



ClH concentrado metanólico se recupera el mismo sin cambiar. Bajo las mismas condiciones, el compuesto inicial se convierte en un compuesto que se supone es 11a-cloro-isotetraciclina, que al tratarse con hidrosulfito sódico acuoso produce isotetraciclina.

5.

E J E M P L O - XII.

11a-cluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

En 2 ml. de ácido perclórico acuoso al 63% se añaden 250 ml. de 11a-fluorotetraciclina-6,12-semi-cetal, con agitación. Se disolvió el sólido al calentar a 60-65°C durante 15 minutos, después de lo cual se enfria la mezcla y se añade agua para obtener 11a-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina como la sal perclorato. El producto muestra la misma absorción en el análisis ultravioleta e infrarrojo que el del ejemplo XI.

10.

15.

E J E M P L O - XIII.

112-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

Se añaden 5 g. de 11a-cloro-⁵oxitetraciclina-6,12-semi-cetal a 15 ml. de fluoruro de hidrógeno líquido seco y se agita la mezcla durante 3,5 horas a la temperatura del baño de hielo. Se evapora el fluoruro de hidrógeno mediante calentamiento bajo una corriente de gas nitrógeno para obtener el producto como la sal hidrof fluoruro.

20.

25.

El producto hidrof fluoruro crudo se disuelve en agua, y ClH concentrado o ácido perclórico (70%) se añade a gotas para precipitar las sales hidroc loruro o perclorato respectivamente. La sal hidroi oduro se precipita a partir de una solución acetónica de la sal hidrof fluoruro cruda mediante adición de ácido iodhídrico

30.



207543

al. 47%.

5. Como variante, se diluye la mezcla reactiva original con 6 a 7 volúmenes de agua y se añade ácido perclórico o ácido sulfónico naftalénico (ácido concentrado) para precipitar la respectiva sal. La dilución con acetona de la mezcla reactiva original, seguido de adición de Hl, precipita la sal hidrioduro.

La sal hidrioduro muestra en su análisis de elementos los siguientes valores:

10. Calculado para: C H N O Cl Hl: C, 43,7; H, 3,7; N, 4,6; Cl 22 21 2 8

5,8

Observado: C, 44,0; H, 4,0; N, 4,2; Cl

5,5.

15. El análisis ultravioleta muestra los siguientes máximos: 222, 270 y 372 mμ. El análisis infrarrojo muestra unos máximos principales en 3,05, 3,2, 5,7 6,02, 6,03, 6,22, 6,4, 6,88, 7,4, 7,8, 8,1, 8,9 y 9,1 micras. La sal perclorato muestra en el análisis ultravioleta máximos a 237, 270, y 372 mμ.

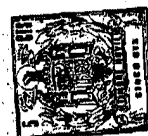
20. E J E M P L O - XIV.

Se prepara lla-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina de igual manera que en el ejemplo XIII usando como compuesto inicial el lla-fluoro-5-oxitetraciclina-6,12-semi-cetal.

25. E J E M P L O - XV.

Se preparan los siguientes compuestos de correspondientes lla- halo-tetraciclina-6,12-semi-cetales, el compuesto lla-fluoro por el procedimiento del ejemplo XII y los restantes compuestos lla-halogenados por el

30. procedimiento del ejemplo 11: 7,lla-dicloro-6-deoxi-6-



267543

demetil-6-metilenotetraciclina.

51 Las 6-demetil-11a-halotetraciclina se convierten en las correspondientes 11a-halo-6-demetil-5a,6-anhidrotetraciclina mediante un tratamiento con solución de ácido sulfúrico. El 11a-halógeno se separa mediante procedimientos de deshalogenación como se describe en los ejemplos siguientes, para producir 5a,6-anhidro-6-demetiltetraciclina, por ejemplo se convierte el 11a-cloro-6-demetiltetraciclina-6,12-semi-cetal en 5a,6-anhidro-6-demetil-tetra ciclina mediante este procedimiento.

10.

E J E M P L O - XVI.

11a-cloro-6-metilenotetraciclina

15. Se disuelve el compuesto inicial del ejemplo XI en ácido sulfúrico al 94% (1 g en 10 ml.) y se deja reposar la mezcla durante 2 horas a 10°C. Se obtiene el producto como la sal sulfato vertiendo la mezcla en varios volúmenes de éter dietílico y filtrando.

E J E M P L O - XVII

11a-cloro-6-metilenotetraciclina

20. Se obtiene el producto del ejemplo XVI como la sal fosfato usando ácido fosfórico al 85% en lugar de ácido sulfúrico bajo las mismas condiciones que se describen en aquel ejemplo.

E J E M P L O - XVIII.

25. Preparación de sales ácidas minerales de 11a-halo-6-metilenotetraciclina

30. Se disuelve hidruoruro de 11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en agua y se ajusta la solución a un pH 5. El resultante compuesto anfotérico que precipita es filtrado y secado. Se disuelve el com-

267543



puesto anfotérico en metal conteniendo un equivalente gramomolecular de cloruro de hidrógeno y se precipita la sal hidrocioruro mediante adición de éter, Esta sal hidrocioruro se separa también por el método del ejemplo XI.

5. En estos procedimientos pueden emplearse otros ácidos minerales en lugar del ácido clorhídrico para obtener la correspondiente sal.

10. Usando procedimientos similares, se preparan el hidrocioruro, hidrobromuro, sulfato, hidroióduro, nitrato y fosfato de las 11a-halo-6-metileno-tetraciclinas de los ejemplos anteriores.

15. De manera análoga, se forman otras sales usando una variedad de ácidos, por ejemplo ácidos carboxílicos orgánicos tales como el tartárico, cítrico, málico, benzoico, glicólico, glucónico, gulónico, succínico, acético y similares. Las sales formadas con ácidos farmacéuticamente aceptables son útiles para fines terapéuticos; las formadas con ácidos farmacéuticamente inaceptables son útiles en la purificación de los productos y en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables.
- 20.

E J E M P L O - XIX

Deshalogenación del producto del ejemplo XI

25. Se disuelve el producto del ejemplo XI (5 mg) en 3 ml. de metanol y una solución recién preparada de hidrosulfito sódico (20 mg. en 2 ml. de agua) se añade seguidamente. Se deja reposar la mezcla durante 15 minutos a la temperatura ambiente, tras lo cual se le despoja del metanol y se extracta con butanol. Este extracto es concentrado para obtener el producto, 6-deoxi-6-
30. demetil-6-metilenotetraciclina. Se cristaliza el producto

267543



a partir de acetonitrilo. Como variante, se cristaliza como la sal hidrocioruro a partir de agua mediante adición de ClH concentrado.

5. Al ensayarlo contra el K. (pneumoniae), el producto tiene una actividad de la oxitettraciclina de 1100 mcg/mg por lo menos. Muestra un valor R_f de 0,6 en el mismo sistema que se describe en el Ejemplo XI, y sigue el frente disolvente en el siguiente sistema:

Fase móvil

Fase inmóvil

10. 20:10:3 nitrometano:cloroformo: piridina amortiguador(acuoso) pH 3,5

E J E M P L O - XI

25. Se repite el procedimiento del Ejemplo XIX para decolorar las 11a-cloro-6-metilenotetraciclinas de los ejemplos anteriores y formar los siguientes productos, que corresponden al del Ejemplo XIX tras su análisis ultravioleta e infrarrojo(el análisis infrarrojo muestra una falta de absorción de carbonilo en virtud de la ausencia de máximo en 5,7 micras o alrededor de ellas:

20. 7-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina
7-cloro-6-deoxi-5-demetil-6-metilenotetraciclina
5-hidroxi-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

E J E M P L O - XXI

6-metilenotetraciclina

25. Durante 15 minutos se agita a la temperatura ambiente una mezcla de 250 mg. del producto del Ejemplo XI (hidrocioruro de 11a-cloro-6-metilenotetraciclina) y 100 mg. de zinc en 10 ml. de acetona, tras lo cual se añaden 5 ml. de ClH al 5%. Se filtra la mezcla y se le despoja de acetona. Se separa hidrocioruro de 6-metilenotetraciclina de la mezcla reactiva concentrada y se re-
- 30.

267543



coge por filtración.

Se repitió este procedimiento usando, como sistema disolvente, 5 ml. de ClH y 5 ml. de acetona, con resultados comparables.

5.

E J E M P L O - XXII

6-metilenotetraciclina

Se refluje durante 2 horas 250 mg. del producto del Ejemplo XI y 250 mg de ioduro sódico en 25 ml. de acetona. La mezcla reactiva es enfriada, filtrada y concentrada para obtener el producto.

10.

E J E M P L O - XXIII

6-metilenotetraciclina

Se refluyen 250 mg. del producto del Ejemplo XI (hidrocloruro de 11a-cloro-6-metilenotetraciclina) en 50 ml. de acetona durante 24 horas. La mezcla es enfriada, filtrada en forma clara y concentrada bajo reducida presión para obtener el producto en forma de la sal hidrocloruro.

15.

E J E M P L O - XXIV.

6-metilenotetraciclina

A 1. g de 11a-bromo-6-metilenotetraciclina (hidrobromuro) en 20 ml. de agua, se añaden con agitación 320 mg. de sulfito potásico disueltos en 5 ml. de agua. Después de agitar durante 30 minutos a la temperatura ambiente, la filtración de la mezcla reactiva proporciona el producto.

20.

E J E M P L O - XXV.

Se prepara el hidrocloruro, hidrobromuro, sulfato, hidrioduro y fosfato de las 6-metilenotetraciclinas de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo XVIII.

25.

E J E M P L O - XXVI

30.



207543

5. Se prepara la sal sódica de 6-metilenotetraciclina disolviendo el compuesto tetraciclínico en agua que contiene una cantidad equivalente de hidróxido sódico, secándose la solución por congelación para obtener la sal sódica.

Análogamente se preparan otras sales alcalinas y alcalino-térreas de los presentes nuevos compuestos 6-metilénicos, que incluyen las sales potásica, lítica, bárica, caléica, estróncica y magnésica.

10. En forma similar, se constituyen otras sales usando una variedad de ácidos y bases, por ejemplo ácidos carboxílicos orgánicos tales como tartárico, cítrico, málico, benzoico, glicólico, glucónico, gulónico, succínico, acético y similares, así como bases orgánicas

15. (aminas) y otras bases inorgánicas. Las sales formadas con ácidos a bases farmacológicamente aceptables son útiles para fines terapéuticos; las formadas con ácidos o bases farmacológicamente inaceptables son útiles en la purificación de los nuevos productos y en la preparación de sales farmacológicamente aceptables.

20.

E J E M P L O - XVII

Se prepara una suspensión de 6-metilenotetraciclina con la siguiente composición:

	antibiótico	31,42 g.
25.	sorbitol acuoso al 70%	714,29 g.
	glicerina, USP	187,35 g.
	goma acacia (solución al 10%)	100 ml.
	polivinil pirrolidona	0,5 g.
	parahidroxibenzoato de butilo (preservador)	0,172 g.
30.	parahidroxibenzoato propílico	0,094 g.

207343



agua destilada, hasta formar 1 litro

A esta suspensión pueden añadirse a elección varios agentes endulzadores y aromatizadores, así como colores aceptables. La suspensión contiene aproximadamente 5. 25 mg. de actividad antibiótica por mililitro.

E J E M P L O - XXVIII.

Se prepara una solución de 6-metilenotetraciclina con la siguiente composición:

10.	antibiótico	30,22 g.
	cloruro magnésico exahidrato	12,36 g.
	monoetanolamida	8,85 ml.
	propileno glicol	376 g.
	agua	94 ml.

15. La solución tiene una concentración de 50 mg/ml. y es adecuada para su administración parentérica y especialmente intramuscular.

E J E M P L O - XXIX.

Se prepara una base para tabletas mezclando los siguientes ingredientes en la proporción por peso indicada:

20.	sacarosa U.S.P.	80,3
	fécula de tapioca	13,2
	estearato magnésico	6,2

25. En esta base se mezcla suficiente 6-metilenotetraciclina para formar tabletas conteniendo 25.100 y 250 mg de ingrediente activo.

E J E M P L O - XXX.

Se prepara una mezcla conteniendo los siguientes ingredientes:

		<u>Granos</u>
30.	carbonato cálcico USP	17,6

237543



	<u>Gramos</u>
fosfato dicálcico	18,8
trisilicato magnésico USP	5,2
lactosa USP	5,2
fécula de patata	5,2
5. estearato magnésico A	0,8
estearato magnésico B	0,35

A esta mezcla se añade suficiente 6-metilenotetraciclina para formar cápsulas que contengan 25.100 y 250 mg. de ingrediente activo.

10. E J E E P L O - XXXI

Se mezclan íntimamente 1000 g. de 6-metilenotetraciclina, y se muelen igualmente, con 2500 g. de ácido ascórbico. Se llenan ampollas con la mezcla molida y seca, se esteriliza con óxido de etileno y las ampollas son esterilizadamente cerradas. Para su administración endove-

15. nosa, se añade suficiente agua a las ampollas para formar una solución que contenga 10 mg. de ingrediente activo por mililitro.

Se repiten los procedimientos de los Ejemplos

20. XVII a XXI con otras 6-metilenotetraciclinas descritas en los anteriores ejemplos para formar correspondientes modos de dosificación.

E J E E P J O S - XXXII

6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

25. Se enfría a 4°C en un baño de hielo una solución de 50 g. de hidrocioruro de 11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en 500 ml. de éter monometilo de etileno glicol, y la solución rápidamente agitada es tratada con 50 g. de polvo metálico de zinc a un ritmo gradual por espacio de unos 10 minutos. Durante la adición la tempe-

30.

237543



natura asciende a 12°C. Una vez completada la adición, empieza a descender. Después de un tiempo total de reacción de 15 minutos, se retira el zinc mediante rápida filtración y se lava con disolvente. Se añade gradualmente un litro de agua al filtrado durante un período de unos 10 minutos; se forma una mezcla amarilla del complejo de zinc del producto. Luego se ajusta el pH de la solución en 6,8 con hidróxido sódico acuoso al 10%.

La resultante mezcla es diferida durante hora y media aproximadamente en un baño de hielo, filtrándose seguidamente. Luego se mezcla la masa húmeda con 750 ml. de agua y se añade a gotas ClH concentrado hasta que se obtiene una solución clara. Un ligero exceso de ClH concentrado causa una rápida cristalización de hidrocloreuro de 6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en forma de agujas brillantes. Tras una digestión de una hora, se filtra y seca el producto. La producción es de 37,8 g. fundiendo el producto a 213,8 - 214,2°C con descomposición.

20. E. J. E. M. P. L. O - XXVIII

6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

La 11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina es también eficazmente dechlorada para producir 6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina con los siguientes reactivos: acetato de fenilhidrazina acuoso, sulfato ferroso acuoso, sulfozalato de formaldehído sódico, ácido hipofosforoso y negro de paladio, polvo de hierro en dimetilformamida, y níquel Raney en ácido acético acuoso al 50%.

30. Como es evidente para los especialistas en el



267543

- arte, las 6-metileno-tetraciclinas y las 11a-halo-6-metileno-tetraciclinas pueden convertirse parcialmente en sus epímeros C.4 bajo muchas condiciones, particularmente a unos valores de p^H entre 2 y 6 y en disolventes tales como ácido acético glacial. En la práctica, la 6-metileno-tetraciclina y la 11a-halo-6-metileno-tetraciclina, aisladas por los procedimientos que aquí se describen pueden contener pequeñas cantidades, concretamente menos del 20%, de sus epímeros C.4. Las 5-hidroxi-metileno-tetraciclinas son más resistentes a la epimerización C.4. Los epímeros C.4 de los compuestos de esta invención pueden aislarse de mezclas usando procedimientos corrientes, tales como cromatografía de papel o técnicas de distribución a contracorriente. Los compuestos epímeros C.4 esencialmente puros pueden volverse a convertir a la forma normal y más activa por procedimientos bien conocidos en el arte, por ejemplo mediante tratamiento con ácido acético glacial.

E J E M P L O - XXIV

20. 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina
Método A.- A una solución de 5 g. del producto del Ejemplo XIII (en forma de hidrioduro) en 125 ml. de ácido clorhídrico diluido (una parte de ClH concentrado en 55 partes de agua) a 20°C se añaden 2 g. de polvo de zinc.
25. Después de agitar durante 10 minutos, se filtra el zinc, se ajusta el filtrado a un pH de 0,8 y se extracta con butanol. El extracto butanólico es concentrado bajo reducida presión hasta un residuo que es triturado con éter. Se cristaliza el residuo insoluble en éter a partir de
30. metanol-acetona-ClH concentrado-éter para obtener el pro-



267543

ducto en forma de hidrocioruro-monometanolato (2,5 g) que funde a 205°C con descomposici3n. El an3lisis ultravioleta de 0,01 N ClH en metanol muestra λ 252 m μ , m3x.

5. 1% E , 450 y λ m3x. 345 m μ , E 1% 302; en 0,01N NaOH en metanol, λ m3x. 235 m μ , E 1% , 442; λ m3x. 254 m μ , E 1% , 408; λ m3x. 385 m μ , E 1% . 329; 280 m μ , E 1% , 329; en 0,01N Cl Mg en metanol, λ m3x. 240 m μ , E 1% , 461; λ m3x.

10. 277 m μ , E 1% , 326; λ m3x. 351 m μ , E 1% 282. El an3lisis

infrarrojo muestra m3ximos principales a 6,03, 6,2 6,37 y 6,87 micras. El bioensayo muestra un valor de 2000 a 2400 mcg.mg.(ensayo turbim3trico del K.pneumoniae con oxite-

15. traciolina como patr3n). El an3lisis de elementos del producto da los siguientes valores: C, 55,0; H,5,2; N,5,5; Cl, 7,0; OCH₃, 3,4. El producto muestra valores R_f de 0 y 0,35 respectivamente en los siguientes sistemas:

Fase m3vil

Fase inm3vil

- | | | |
|-----|---|------------------------------|
| 20. | (1) 20:3 tolueno-piridina saturado con amortiguador de pH 4,2 | amortiguador (acuoso) pH 4,2 |
| | (2) 20:10:3 nitrometano, cloroformo, piridina saturado con amortiguador de pH 3,5 | amortiguador (acuoso) pH 3,5 |

M3todo E Se hidrogena a la temperatura ambiente y 1

25. atm3sfera de gas hidr3geno una mezcla de 1 g. del producto lla-cloro del Ejemplo XIII en 10 ml. de metanol conteniendo 200 mg. de rodio al 5% sobre carbono, hasta que es absorbida una cantidad equigramomolecular de hidr3geno (2 horas). Se filtra el catalizador, se evapora el filtrado hasta su secamiento y se cristaliza el residuo como en el

30. m3todo A.

267543



5. Método C Se agita durante media hora a la temperatura ambiente una mezcla de 1 g. del producto 11a-cloro del Ejemplo XIII en 70 ml. de agua conteniendo 1 g de hidrosulfito sódico. Luego se extracta la mezcla con butanol y este extracto se evapora hasta su secamiento. El producto es cristalizado a partir del residuo como en el Método A.
10. Método D Usando el procedimiento del método A, se reduce la sal perclorato de 11a-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina a 6-deoxi--6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.

15. El producto metanolato-clorhídrico cristalino de este ejemplo puede recrystalizarse a partir de isopropanol como hidrocioruro de 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina. El material cristalizado muestra los siguientes máximos en el análisis infrarrojo: 3,1, 3,75, 6,02, 6,23, 6,36, 6,55, 6,9 7,35, 7,6,7,8, 8,15, 8,26, 8,5 9,27, 9,95, 10,55, 10,8, 11,53, 11,93 y 12,15 micras.

E J E M P L O - XXV

20. 7,11-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-hidroxitetraclina

25. Método A A 5 g. de hidroiuro de 11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina en 15 ml. de fluoruro de hidrógeno líquido enfriado a la temperatura del baño de hielo, se añaden 1,5 g. de N-clorosuccinimida. Se agita la solución a la temperatura del baño de hielo durante hora y media. El producto crudo es precipitado mediante adición de 500 ml. de éter, recuperándose por filtración.

30. Se absorbe el producto crudo en metanol a la temperatura ambiente, se filtra el material insoluble, se trata el filtrado con carbono activado, se filtra y se con-



centra bajo reducida presión. El resultante residuo es absorbido en ácido clorhídrico diluido, a partir del cual cristaliza el producto, en forma de hidrocloruro. El análisis ultravioleta en C,ClH-ClH en metanol muestra

5. 239 mμ, $\frac{1.5}{1cm}$, 352; \nearrow 376 mμ, $\frac{1.5}{1cm}$, 60; inflexión, máx. 258 mμ, $\frac{1.5}{1cm}$, 324. El análisis infrarrojo muestra bandas principales a 5,7, 6,0 y 6,9 micras.

- Método B Se añaden 5 g. de 11a-cloro-5-oxitetraclina-6,12-semicetal a 15 ml. de fluoruro de hidrógeno líquido a la temperatura del baño de hielo. Después de agitar durante 3,5 horas a la temperatura del baño de hielo, se sigue el procedimiento del método A tras la adición del mismo peso de N-clorosuccinimida para obtener el producto.

15. Un método variante y algo más conveniente de realización es como sigue. Después de la separación de gran parte del fluoruro de hidrógeno líquido, se agregan 100 ml. de agua y luego se añaden 5 g. de ácido beta-naftalenosulfónico. El producto precipita como la sal de dicho ácido y se recoge por filtración.

20. Otro método de elaboración consiste en la dilución de la original mezcla reactiva con 6 a 7 volúmenes de agua, seguido de la adición a gotas de ácido concentrado para precipitar el perclorato y el beta-naftaleno-sulfonato como se describe anteriormente. La sal perclorato cruda así obtenida es cristalizada en forma de largas agujas a partir de isopropanol, que en el análisis ultravioleta muestra máximos a 260 y 377 mμ y una inflexión a 260 mμ.

30. El análisis infrarrojo muestra máximos a 5,7, 6,0, 6,26, 6,55, 6,88, 7,2, 7,85, y 8,35 micras.



E J E M P L O - XXVI

7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

5. Método A A una solución de 0,5 g. del perclorato de 7,11-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 7,5 ml. de agua se añade 0,45 g. de hidrosulfito sódico y se agita la resultante mezcla durante 12 minutos. El producto se separa y es recogido por filtración. El bioensayo del producto da un valor de 3400 mcg/mg (ensayo turbimétrico del *K. pneumoniae* con oxitetraciclina (1000 mcg/mg) como patrón).

10. Método B Se suspenden 20 g. de la sal beta-naftalenosulfonato del ejemplo anterior en 500 ml. de metanol conteniendo 5 g. de rodio sobre carbono al 5% y se hidrogena la mezcla a la temperatura ambiente y 1 atmósfera de gas hidrógeno. Tras la absorción de 700 ml. de hidrógeno, se filtra la reacción y se evapora el filtrado hasta su secamiento para obtener 15,4 g. de residuo.

20. Luego se ajusta una solución metanólica de 11 g. del residuo a un pH 6,5 con trietilamina y se pasa a una columna de 8 x 100 cm. que contiene 2 kg. de polvo de celulosa usando agua como fase estacionaria. Se efectúa la elución de la columna con acetato de etilo saturado con agua y se recogen fracciones de 45 ml. La forma de elución se ajusta a la cromatografía en papel y se agrupan las fracciones 132 a 260, se evapora hasta su secamiento, se mezcla en éter y se filtra para obtener 2,74 g. de producto anfotérico amorfo puro.

30. El producto se cristaliza disolviendo 1,6 g. en 40 ml. de metanol caliente y estregando. La filtración da 890 mg. del producto como base anfotérica. El análisis in-



1543

- frarrojo muestra los siguientes máximos: 2,96, 3,29, 3,42, 6,06, 6,18, 6,30, 6,58, 6,88, 7,19, 7,43, 7, 70, 8,23, 9,06 9,88, 10,63, 10,92, 11,55 y 11,76 micras. El análisis ultravioleta muestra lo siguiente: en 0,01N ClH en metanol
5. máximos a 247 mμ (log ε 4,28) y 346 mμ (log ε 4,02 y una inflexión a 370 mμ (log ε 3,98); en 0,01N NaOH en metanol, máximos a 234 mμ (log ε 4,24), 253 mμ (log ε 4,22) y 389 mμ (log ε 4,12) y una inflexión a 284 mμ (log ε 4,07); en 0,01N Cl Mg en metanol, máximos a 241 mμ (log ε 4,32); 349 mμ (log ε 4,04); y 372 mμ (codo) (log ε 4,02).
- 10.

El producto muestra los siguientes valores R_f en los indicados sistemas disolventes:

		<u>Sistema disolvente</u>	
	<u>Valor R_f</u>	<u>Fase móvil</u>	<u>Fase inmóvil</u>
15.	0,35	acetato etílico saturado con agua	amortiguador de fosfato acuoso (pH 3)
	0,33	acetato etílico saturado con agua	amortiguador de McIlvaines pH 4,2

El bioensayo (K. pneumoniae - oxitetraciclina patrón) da un valor de 6000 mcg/mg,

20. La sal perclorato cristalina del producto del ejemplo precedente se hidrogena para dar este producto, que se cristaliza a partir de metanol y ácido perclórico al 70%. La sal perclorato del producto muestra idénticos aspectos ultravioletas que los de la base anfotérica.
25. Método C También se obtiene este producto mediante reducción del compuesto inicial del Método A con zinc y ácido de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo XXIV.

E J D M P L O - XXXVII

30. 7-Bromo-11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.



207543

Se prepara este producto de acuerdo con los procedimientos de los métodos A y B del Ejemplo XXV usando una cantidad equivalente de N-bromo-succinimida en lugar de N-clorosuccinimida.

5. E J E M P L O - XXVIII

7-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

Este producto se obtiene partiendo del producto del Ejemplo XXVII mediante el tratamiento con hidrosulfito sódico que se describe en el Ejemplo XXVI.

10. Los siguientes compuestos se preparan a partir de los correspondientes compuestos lla-halogenados por los procedimientos de los anteriores ejemplos:

7-cloro-lla-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

15. 7-iodo-lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

7-bromo-lla-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

Estos compuestos se convierten en los correspondientes compuestos lla-deshalogenados mediante los procedimientos anteriormente mencionados.

20. E J E M P L O - XXXIX

lla-cloro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

25. A 1 g de lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 20 ml. de ácido acético se añade 1 ml. de NO_2H concentrado. Se deja reposar la mezcla durante 12 horas, se evapora luego a 1/4 del volumen original y se añaden 200 ml. de éter. El producto se separa como la sal nitrato y se recoge por filtración.

30. Análogamente, se prepara el correspondiente compuesto lla-fluoro.



251543
E J E M P L O - XI

9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

5. Se hidrogena el producto del ejemplo anterior de acuerdo con los procedimientos de reducción anteriormente descritos para obtener este compuesto.

E J E M P L O - XII

7,11a-dicloro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

10. Se disuelve 1 g. de hidrocioruro de 7,11a-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 20 ml. de ácido acético y se añade 1 ml. de HNO_3 concentrado. Se deja reposar la mezcla durante 12 horas y luego se concentra a $1/4$ del volumen original. Se añade a gotas a 200 ml. de éter con agitación a la temperatura del baño de hielo.
15. Se continúa la agitación durante 3 horas y luego se recupera el sólido por filtración. Se mezcla éste varias veces en éter y luego se seca para obtener el producto como la sal hidrocioruro.

20. Usando el mismo procedimiento, se obtienen los siguientes productos partiendo de los compuestos iniciales; correspondientes:

7-cloro-11a-fluoro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

7-bromo-11a-cloro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

25. 7-cloro-11a-fluoro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

Estos productos se convierten en 7-bromo y 7-cloro-9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina mediante los procedimientos de reducción anteriormente descritos.

30. Estos compuestos son químicamente. (Zn en ClH di-



7543

uido) o caralíticamente (rodio) reducidos a 7-cloro, 7-iodo y 7-bromo-9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

E J E M P L O - XLII

5. 7-cloro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

A una solución de 1,0 g. de base 7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 3 ml. de fluoruro de hidrógeno (HF) líquido anhidro a 69° se añaden 220 mg. de NO₂. Se agita la mezcla durante 30 minutos a dicha temperatura y se evapora el HF bajo nitrógeno. Se mezcla el residuo en éter seco, se filtra y se seca. El producto muestra los siguientes valores R_f en los indicadores sistemas disolventes:

15.	R _f	Sistema disolvente
		<u>Fase móvil</u> <u>Fase inmóvil</u>
	0,2	acetato etílico saturado con agua
	0,55	nitrometano, tolueno, piridina (20:10:3)
		amortiguador de fosfato acuoso (pH 3)
		amortiguador de McIlvaine (pH 3,5)

20. El análisis ultravioleta en 0,01N NaOH-MeOH muestra máximos a 248, 341 y 447 mμ y un coodo a 275 mμ. El bicensayo muestra un valor inferior a 100 mcg/mg (ensayo turbidimétrico del K, pneumoniae con oxitetraciclina patrón).

E J E M P L O - XLIII

25. 9-nitro-7,lla-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

A una solución de 600 mg. de perclorato 7,lla-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclínico

30. en 1,5 ml. de fluoruro de hidrógeno líquido anhidro se aña-

267543



den 100 mg. de NO K. Se agita la mezcla a 5°C durante 15 minutos, se vierte luego en 75 ml. de hielo/agua y se filtra finalmente. Se evapora el filtrado hasta su secamiento para obtener el producto.

5.

E J H M P L C - LIIV

9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina

A una mezcla de 500 mg. de 6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina en 1,5 ml. de fluoruro de hidrógeno líquido anhidro se añaden 100 mg. de NO K. Se

10.

agita la mezcla a 15°C durante 30 minutos y luego se evapora hasta su secamiento. Se mezcla el residuo en éter y se filtra para obtener el producto crudo, que se mezcla en ClH acuoso al 5%, se filtra y se extrae con butanol. Se concentra este extracto para obtener el producto, que se

15.

recristaliza a partir de agua con ácido clorhídrico.

E J H M P L C - LV

11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.

20.

Se deja reposar durante 15 minutos una solución de 5 g. de 11a-clorotetraclina-6,12-semicetal en 10 ml. de fluoruro de hidrógeno anhidro, después de lo cual se añaden con agitación 1,2 g. de NO K. Se continúa la agitación durante 1 hora a la temperatura del baño de hielo y se añade luego la mezcla a 200 ml. de éter seco, se filtra y se lava con éter para obtener 6,1 g. de producto crudo.

25.

Se mezclan 4 g. del producto crudo en 60 ml. de agua y 4 ml. de ClH concentrado se agregan luego con agitación. Se filtra el precipitado cristalino y se lava con agua (disolviéndose parte de precipitado). El producto insoluble en agua (1,9 g) es hidrocloruro de 11a-cloro-6-

30.

267543



deoxi-6-demetil-6-nitrometileno-tetraciclina. Seguidamente se concentran los lavados de agua para obtener 1,5 g. de un compuesto nitroso que es isómero del producto antes mencionado.

5.

E J E M P L O - XLVI

7-cloro-9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-6-oxitetraciclina

10.

A una solución de 1,42 g. de 7-cloro-9-nitro-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina disueltos en 50 ml. de agua y 2 ml. de ClH concentrado, se añaden 1,3 g. de polvo de zinc con agitación a 20°C. Al cabo de 15 minutos, se filtra la mezcla, se ajusta el pH en 2,5 y se extracta aquella con 5 x 30 ml. Al concentrarse el extracto butanólico da 760 mg. del producto como dihidrocloruro.

15.

El bicensayo (K. pneumoniae) da un valor de 1680 mcg/mg. El análisis ultravioleta en 0,01M MeOH-ClH muestra máximos a 262 y 348 mμ; en 0,01M MeOH-NaOH, 264 y 380 mμ.

El producto muestra valores R como sigue:

Sistema disolvente

20.

$\frac{R_f}{f}$	Fase móvil	Fase inmóvil
0,2	Acetato etílico saturado con agua	Amortiguador acuoso (pH 3)
0,35	Nitrometano, cloroformo, piridina (20:10:3)	Amortiguador de McIlvaine (pH 3,5)

25.

Este producto se obtiene también mediante reducción (con hidrosulfito sódico acuoso) de 9-nitro-7,11-dicloro-6-deoxi-6-demetil-5-oxitetraciclina.

E J E M P L O - XLVII

9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina

30.

Se obtiene este producto mediante reducción del



correspondiente compuesto 9-nitro con hidrosulfito sódico o Cl Sn en ácido clorhídrico.

2

E J E M P L O - XLVIII

lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

5. A una mezcla de 1,2 g. del producto del Ejemplo XI en 15 ml. de ácido trifluoroacético se añaden 350 mg de N-clorosuccinimida y se calienta la mezcla a 60°C. Después de unas 3 horas, la mezcla da una prueba negativa de KI/fécula. Se añade la mezcla enfriada a gotas a 500 ml. de éter frío con agitación a la temperatura del baño de hielo. Después de agitar durante 3 horas, se filtra el producto precipitado, se mezcla dos veces en éter y se seca para obtener un gramo de producto.

10. Se disuelve el producto en 300 ml. de metanol caliente, se filtra para separar una pequeña cantidad de material insoluble y se concentra a un volumen de 100 ml. Luego se añaden 3 ml. de ácido p-toluenosulfónico disueltos en metanol y se deja reposar la mezcla a la temperatura ambiente hasta completarse la cristalización. Se obtiene el producto en forma de sal p-toluenosulfonato mediante filtrado del precipitado, lavado con metanol y secado.

15. El análisis infrarrojo del producto muestra una clara y aguda curva con una banda de 5,69 μ .

20. El análisis ultravioleta en 0,01N ClH metacólico muestra máximos a 245 y 378 m μ .

25. El análisis de elementos da los siguientes resultados:

Calculado para: C H O N Cl S (como la sal p-toluenosulfonato): C, 52,18; H, 4,2; N, 4,2; Cl, 10,6; S, 4,8

30. Observado: C, 51,8; H, 4,3; N, 4,3; Cl, 10,3; S, 4,8.

267543



E J E M P L O - XLIX

lla-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina

5. A una mezcla de 4,8 g. del producto del Ejemplo XI en 40 ml. de ácido trifluoroacético se añade una solución de 0,54 ml. de bromo en 10 ml. de ácido acético. Se calienta la mezcla a 40-60°C durante 1 hora y se deja reposar durante 12 horas a la temperatura ambiente. Se obtiene el producto crudo mediante la misma elaboración que en el anterior Ejemplo. Se cristaliza a partir de metanol en forma de la sal p-toluenosulfato (3,54 g).

El análisis ultravioleta en ClH 0,01N metanólico muestra máximos a 249 y 379 m μ .

E J E M P L O - L

lla-cloro-9-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina.

15. A una mezcla de 280 mg. del producto del Ejemplo XI en 5 ml. de ácido trifluoroacético se añaden 1,05 ml. de una solución de 0,53 ml. de bromo en 10 ml. de ácido acético. Se forma en la mezcla un denso precipitado naranja, agitándose luego la mezcla y calentándose a 60°C durante 2 horas. Luego se deja reposar la mezcla durante 48 horas y se obtiene el producto (267 mg) mediante elaboración con éter tal como se describe anteriormente. Cristaliza el producto como sal sulfato disolviéndolo en 5 ml. de metanol y añadiendo 6 gotas de SO_4H concentrado.

El análisis ultravioleta del producto en ClH $0,01\text{N}$ metanólico muestra máximos a 251 y 384 m μ .

E J E M P L O - LI

9,lla-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

30. Se prepara este producto de acuerdo con el pro-

267543



cedimiento del Ejemplo XLVIII usando dos equivalentes gramomoleculares de N-clorosuccinimida.

E J E M P L O - LII

5. Usando los procedimientos de los ejemplos anteriores, se preparan los siguientes compuestos partiendo de los correspondientes compuestos iniciales 11a -hálo-7-cloro(o bromo)-6-deoxi-6-demetilenotetraciclínicos:

7,11a -dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometileno-tetraciclina

10. 7-bromella-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometileno-tetraciclina

7,11a-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-bromometileno-tetraciclina

7-cloro-11a-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometileno-tetraciclina

7-bromo-11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-iodo-metilenotetraciclina.

15. E J E M P L O - LIII

11a-cloro-9-nitró-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

20. Se deja reposar durante 12 horas una mezcla de 1 gramo del producto del Ejemplo XI en 20 ml. de ácido acético conteniendo un ml. de HNO₃ concentrado, después de lo cual la adición de 20 ml. de H₂O³ cristaliza al producto en forma de la sal nitrato². Se recoge el producto por filtración, se lava con agua y se seca.

E J E M P L O - LIV

11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-nitrometilenotetraciclina

25. Se calienta un gramo del producto del Ejemplo XI en mezcla con 20 ml. de ácido nítrico acuoso al 5% a 60°C con agitación. El producto cristaliza a partir de la solución reactiva en forma de sal nitrato y se recoge por filtración, seguido de lavado con agua y secado.

30. E J E M P L O - LV



9,11a-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-nitrometilenotetraciclina

Se obtiene este producto partiendo del obtenido en el ejemplo anterior, mediante cloración usando el procedimiento del ejemplo XLVIII.

5.

E J E M P L O - LVI

11a-cloro-9-nitro-5-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina.

Se obtiene este producto partiendo del obtenido en el ejemplo LVIII mediante el procedimiento de cloración del ejemplo XLVIII.

10.

E J E M P L O - LVII

Aplicando los procedimientos de los ejemplos LV y LVI se obtienen los siguientes productos partiendo de los correspondientes compuestos 11a-halo-nitrosos por el procedimiento del ejemplo XLIX.

15.

9-bromo-11a-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-nitrometilenotetraciclina.

9-nitro-11a-fluoro-6-deoxi-6-demetil-6-bromoetileno-tetraciclina

7,11a-dicloro-6-deoxi-6-demetil-6-nitrometilenotetraciclina.

20.

E J E M P L O - LVIII

6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina.

A una molécula-gramo del producto del ejemplo LVIII en 25 ml. de metanol se añaden 100 g. de rodio sobre carbonato al 5%. Se hidrogena la mezcla con agitación a la temperatura ambiente y una atmósfera de gas hidrógeno hasta que es absorbida una molécula-gramo de hidrógeno. Después de filtrar el catalizador, se evapora la solución hasta su secamiento bajo reducida presión. Se mezcla el residuo en éter, se filtra y se seca para obtener el producto.

25.

30.



Usando este procedimiento, se prepara los siguientes compuestos partiendo de los correspondientes compuestos 11a-halogenados descritos en los Ejemplos anteriores. Es evidente que los compuestos nitros son reducidos a compuestos aminos en esta reacción, necesitando así más de una molécula-gramo de hidrógeno.

5.

6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina

9-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina

10.

9-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

7-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina

15.

9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina

6-deoxi-6-demetil-6-aminometilenotetraciclina

9-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-aminometilenotetraciclina

9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-clorometilenotetraciclina

20.

9-bromo-6-deoxi-6-demetil-6-aminometilenotetraciclina

9-amino-6-deoxi-6-demetil-6-bromometilenotetraciclina

7-cloro-6-deoxi-6-demetil-6-aminometilenotetraciclina

25.

N O T A

Descrita suficientemente la naturaleza del invento así como la manera de realizarlo en la práctica debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento se refiere a una solicitud

30.

267543



de patente presentada en Norteamérica con nos. 31236, 38414, 72857, 72857, 76441, 87059, de fechas 23 de mayo de 1960, 29 de junio de 1960, 1 de diciembre de 1960, 1 de diciembre de 1960, 19 de diciembre de 1960 y 6 de febrero de 1961, acogiendo por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita patente de invención con 20 años en España:" PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE COMPUESTOS HALOGENADOS"; caracterizándose por lo siguiente:

10. 1ª.- Procedimiento para la obtención de compuestos halogenados caracterizados porque incluye la operación de poner en contacto un compuesto tetraciclínico con un agente halogenador en un disolvente inerte a la reacción.

15. 2ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 1 caracterizado porque el agente halogenador es cloro, bromo, cloruro de iodo, bromuro de iodo, amida ácida alcanóica inferior de N-cloro, N-iodo o N-bromo, imidas de ácidos dicarboxílicos hidrocarbónicos, anilida N-alcanóica inferior, 3-bromo, 3,5-dicloro, o 3,5-dibromo-5,5-dimetil-hidroantoina, perbromuro de piridinio o hidroháluros percloruros, y hipocloritos alquílicos inferiores o fluoruro perclorílico.

20. 3ª.- Procedimiento, según lo especificado en las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado porque el agente halogenador se emplea en una cantidad de 1 a 1,2 moléculas-gramo por molécula gramo del compuesto tetraciclínico.

25. 4ª.- Procedimiento, según lo especificado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizados



porque la halogenación se lleva a cabo en presencia de un disolvente mezclable con agua:

5. 5ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 4, caracterizado porque el agente halogenador es fluoruro de perclorilo y el disolvente es un alcohol inferior.

6ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 5, caracterizado porque la fluoración se lleva a cabo en presencia de una base.

10. 7ª.- Procedimiento según lo especificado en cualquiera de las reivindicaciones 3 á 6 caracterizado porque la halogenación se lleva a cabo a una temperatura inferior a 50°C.

15. 8ª.- Procedimiento según lo especificado en las reivindicaciones 1ª ó 2ª caracterizado porque el agente halogenador se emplea en una cantidad de 2 moléculas-gramo por lo menos por molécula-gramo del compuesto tetraciclínico.

20. 9ª.- Procedimiento según lo especificado en las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque incluye la operación de tratar un 11a-halotetraciclina-6,12-semiacetal con un ácido deshidratante.

25. 10ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 9ª, caracterizado porque el ácido deshidratante es ácido perclórico acuoso.

11ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 9ª, caracterizado porque el ácido deshidratante es fluoruro de hidrógeno líquido.

30. 12ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 9ª, caracterizado porque el ácido deshidra-

267543



tante es ácido sulfúrico concentrado.

5. 13ª.- Procedimiento según lo especificado en cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizados porque incluye la operación de separar halógeno de la posición 11a de una 11a-halo-6-metilenotetraciclina.

14ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 13, caracterizado porque el halógeno se separa mediante deshalogenación química.

10. 15ª.- Procedimiento según lo especificado en la reivindicación 14, caracterizado porque el halógeno se separa tratando la 11a-halo-6-metilenotetraciclina con hidrosulfito metálico alcalino acuoso, acetona o zinc.

15. 16ª.- Procedimiento según lo especificado en las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque incluye la operación de tratar una 11a-halo-6-metilenotetraciclina con un agente nitrador.

20. 17ª.- Procedimiento según lo especificado en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizados porque incluye la operación de tratar una 11a-halo-6-metilenotetraciclina con un agente halogenador.

18ª.- Procedimiento para la obtención de compuestos halogenados; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

25. Esta memoria consta de sesenta y cinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid.

CHAS. PRIZNER & CO., INC