

PATENTE DE INVENCION

Br. 205.

273366



## *Memoria Descrittiva*

*sobre:*

" Procedimiento de obtención de nueva  
sustancia antibiótica ".

=====

*Solicitante:* LEPETIT S.p.A., entidad italiana, residente en  
Viale Abruzzi, 94, MILAN, Italia.

=====

La presente invención se relaciona con  
nuevas sustancias antibióticas y con el procedimiento  
de preparación de las mismas. En nuestra patente  
No. 251.407, concedida el 15 de enero de 1960, descri-  
bimos la preparación de la rifamicina antibiótica por

5.



273366

- fermentación de una raza de Streptomyces mediterranei, registrada en el ATCC bajo el Número 13.685. Como se indica en la citada patente, la rifamicina consiste en una mezcla de sustancias altamente antibióticas.
5. Entre estas sustancias, la rifamicina B, mediante tratamiento con un suave agente oxidante, como por ejemplo el peróxido de hidrógeno o nitrito alcalino en un alcohol alifático inferior y ajuste a un pH ligeramente ácido, tal como se describe en
10. nuestra patente No. 260.118, concedida el 15 de septiembre de 1960, produce un derivado, denominado rifamicina O, que es el compuesto inicial para la preparación de las sustancias antibióticas descritas en la presente solicitud.
15. La rifamicina O es un polvo cristalino amarillo claro que se descompone a 160°C y funde por encima de 300°C. Su específica potencia rotatoria es de  $[\alpha]_D^{20} = +71,5^{\circ}$  (c 1, dioxano). Es prácticamente insoluble en agua y en ácidos minerales diluidos, es casi insoluble en hidróxidos metálicos alcalinos con una intensa coloración violeta, en metanol, etanol acetato de etilo y aceptablemente soluble en acetona. Da una reacción positiva con cloruro férrico y reactivos de Fehling y Tollens. La rifamicina O es de un débil carácter ácido y reacciona fácilmente con hidrazidas (particularmente con hidrazidas aromáticas), con aminas primarias aromáticas, hidrazinas y aminoguanidinas, dando productos de condensación coloreados de rojo-violeta que poseen
20. elevada actividad antibacteriana.
- 25.
- 30.



273380

- El proceso de la invención consiste esencialmente en disolver rifamicina O en un alcohol alifático inferior hirviendo, tal como metanol o etanol, y añadir un exceso de la elegida hidrazina, hidrazida, amina aromática o aminoguanidina. Generalmente se completa la reacción después de algunas horas de ebullición. La tabla I muestra la actividad antibacteriana de algunos de estos compuestos, indicando la concentración mínima que causa inhibición de microorganismos patógenos en  $\gamma$ /ml.
- 5.



Productos de los ejemplos	M. aureus	Str. faeca. tuberc. lis	37 Rv	Trichomonas vaginalis
1	0.01	0.1	0.037	----
2	0.003	0.05	0.018	----
3	0.005	0.05	0.037	----
4	0.02	0.2	0.075	----
5	0.02	0.15	0.045	----
6	0.009	0.1	0.075	----
7	0.003	0.04	0.045	----
8	0.006	0.07	0.09	----
9	0.005	0.5	0.6	----
10	0.018	0.5	0.6	----
11	0.15	1.2	0.18	----
12	0.00003	0.0004	0.0045	----
13	0.0006	0.0025	0.02	100
14	0.005	0.09	---	----



273366

Particular interés mostró el compuesto preparado de acuerdo con el ejemplo 13 que más adelante se expone, es decir el producto de condensación de la rifamicina O con aminoguanidina, que en adelante se denominará rifamicina AG. La aguda toxicidad de la rifamicina AG en ratones era extremadamente baja; dosis tan elevadas como de 3000 mg/kg oralmente y 1000 mg/kg intraperitonealmente, no mataron a ningún ratón de 10 sometidos a experimentación. Unas dosis diarias de 200 mg/kg por vía oral protegieron a nueve de diez ratones inyectados con Streptococcus hemolyticus, si bien todos los controles murieron al cabo de 7 días. La actividad antibacteriana in vitro sobre algunas razas de bacterias aisladas de pacientes humanos fue también muy elevada, como puede colegirse por la siguiente tabla, que indica la mínima concentración inhibidora en  $\gamma$ /ml.

Tabla II

	Raza No	Staphylococcus aureus	E. coli	E.coli aerogenes	Proteus vulgaris
20.	1	0.005-0.01	1-5	5-10	0.5-1
	2	0.005-0.01	1-5	1-5	0.5-1
	3	0.01 -0.05	0.5-1	1-5	0.5-1
25.	4	0.01 -0.05	1-5	10	0.5-1
	5	0.001-0.005	0.1-0.5	1-5	0.5-1

Otro compuesto altamente interesante de esta invención es una sustancia que se obtiene mediante suave oxidación del producto de condensación de la rifamicina O con reactivo T de Girard descrito en el



273366

ejemplo 4. La suave oxidación se lleva a cabo en una mezcla de agua y etanol y se describe particularmente en los ejemplos 15 a 17. La nueva sustancia, que hemos denominado rifamicina X, muestra un considerable interés debido a su espectro antibacteriano.

Como suave agente oxidante, es preferible usar ácido nitroso, óxido de mercurio o incluso rifamicina O. Esta última sustancia ofrece la ventaja de proporcionar un producto particularmente puro. Como la naturaleza de los productos de condensación de la rifamicina O con derivados de la hidrazina no ha sido aclarada aún, se desconoce todavía la estructura de la rifamicina X. Por otra parte, un análisis elemental permitió establecer la siguiente fórmula cruda  $C_{39}H_{47}N_3O_{12}$ . En la siguiente tabla III se indican las concentraciones mínimas de rifamicina X que inhiben una serie de bacterias grampositivas, gramnegativas y Mycobacterium tuberculosis:

Tabla III

Ensayo con microorganismos	Concentración mínima inhibidora en $\gamma/cm^3$
Micrococcus aureus ... ..	0.01
Streptococcus faecalis .. ..	0.07
Streptococcus haemolyticus ... ..	0.02
Bacillus subtilis ... ..	0.15
Proteus vulgaris . . . . .	12.50
Escherichia coli . . . . .	12.50
Klebsiella pneumoniae ... ..	12.50
Pseudomonas aer . . . . .	12.50
Mycobacterium tuberculosis H 37 RV ... ..	0.017



273

Candida albicans . . . . .	200
Trichophyton ment . . . . .	200

- La rifamicina X cristalizada a partir de benceno o acetato de etilo tiene forma de cristales amarillos que se tornan rápidamente oscuros al exponerse a la luz. El punto de fusión no es muy marcado; la sustancia se descompone entre 135 y 140°C y funde por encima de 300°C;  $[\alpha]_{D}^{20} = + 491,8$  (conc. 0,981% dioxano). Análisis: C, 62,07; H, 6,33; N, 5,52; O, 26,34; OCH<sub>3</sub>, 4,30; COCH<sub>3</sub>, 5,40; calculado: C<sub>39</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub> (p.m., 749,78): C, 62,47; H, 6,31; N, 5,60; O, 25,60; OCH<sub>3</sub>, 4,13; COCH<sub>3</sub>, 5,74. La rifamicina X es insoluble en ácidos acuosos y álcalis, aceptablemente soluble en alcohol metílico y etílico, acetato de etilo y benceno; escasamente soluble en éter etílico y prácticamente insoluble en éter de petróleo. La rifamicina X da una reacción positiva con el cloruro férrico y los reactivos de Fehling y Tollens.
- La rifamicina X se comporta como sustancia prácticamente neutra y su titulación potenciométrica, llevada a cabo en etanol diluido, no muestra inflexiones características. El espectro ultravioleta de la rifamicina X disuelta en neutralizador a un pH de 4,62 muestra bandas de absorción máxima a 286 mμ ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 400,4$ ), a 317 mμ ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 362,3$ ) y a 402 mμ ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 195,6$ ). El espectro infrarrojo de la rifamicina X en suspensión nujol (cristalizada de benceno) muestra las siguientes bandas: 3680, 3448, 3375, 2925 (nujol), 2850 (nujol), 2130, 1704, 1665,



273300

- 1597, 1570, 1518, 1467 (nujol), 1377 (nujol), 1321, 1304, 1262, 1225, 1188, 1170, 1127, 1116, 1078, 1053, 1022, 970, 920, 890, 847, 808, 782, 747, 736, 720 y 664. El derivado acetilo de la rifamicina X es prácticamente insoluble en agua y ácidos, y muy lentamente soluble en alcohol metílico y etílico, acetato de etilo, benceno, escasamente soluble en éter etílico e insoluble en éter de petróleo. Da una reacción negativa con el cloruro férrico. El espectro infrarrojo del derivado acetilo de la rifamicina O cristalizado de éter isopropilo en suspensión nujol muestra las siguientes bandas de absorción: 3572, 3455, 3360, 3095, 2925 (nujol), 2850 (nujol) 2115, 1773, 1709, 1667, 1575, 1515, 1467 (nujol), 1377 (nujol), 1328, 1305, 1265, 1190, 1167, 1127, 1115, 1072, 1015, 972, 953, 920, 900, 872, 844, 802, 783, 737, 720 y 665. El espectro ultravioleta de la acetil-rifamicina X disuelta en neutralizador a un pH de 4,62 muestra las siguientes bandas de absorción a 396  $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 176,4$ ) y a 286  $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 290,3$ ).

Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran la invención.

EJEMPLO 1.

- Producto de condensación de rifamicina O con hidrazida de ácido benzoico. Se disuelven en alcohol metílico 0,1 g de rifamicina O y 540 mg de hidrazida de ácido benzoico (es decir, tres veces la cantidad estequiométrica) y se refluje durante 2 horas. Durante la concentración de la solución metanólica intensamente violeta, cristalice el derivado. Se filtra, se lava



273366

5. con una pequeña cantidad de alcohol metílico frío y se seca. El producto es un polvo cristalino violeta claro que funde a 165-68°. Es insoluble en agua y ácidos, escasamente soluble en álcalis, alcohol metílico y etílico, muy soluble en acetona de etilo, benceno, éter etílico y escasa mente soluble en éter de petróleo.

Análisis: C, 64,045; H, 6,345; N, 5,105; O, 24,47.

10. Calculada para  $C_{46}H_{53}N_3O_{13}$  (p.m. 855,90): C, 64,54; H, 6,24; N, 4,90; O, 24,30.

EJEMPLO 2.

15. Producto de condensación de rifamicina O con hidrazida de ácido nicotínico. Se suspenden 1 g de rifamicina O y 0,500 g de hidrazida de ácido nicotínico (es decir, tres veces la cantidad estequiométrica) en alcohol metílico y se refluje durante una hora. La solución intensamente violeta es concentrada a un pequeño volumen; durante la concentración, 20. cristaliza el derivado y es recogido por filtración (700 mg). El derivado es un polvo rojo-violeta que funde a 178-80°. Es insoluble en agua, soluble en ácidos con intensa coloración roja, lentamente soluble en álcalis con coloración naranja, muy soluble 25. en acetona, aceptablemente soluble en etanol, metanol, acetato de etilo, escasamente soluble en éter etílico y prácticamente insoluble en éter de petróleo.

Análisis: C, 62,67; H, 6,50; N, 7,0; O, 23,39. Calculada para  $C_{45}H_{52}N_4O_{13}$  (p.m., 856,48), 30. C, 63,09; H, 6,12; N, 6,54; O, 24,28.



273366

EJEMPLO 3.

- Producto de condensación de rifamicina O con hidrazida de ácido isonicotínico. Se disuelven 1,0 g de rifamicina O y 500 mg de hidrazida de ácido isonicotínico en alcohol metílico (aproximadamente 150 ml) y se refluje sobre un baño de agua durante 2 horas. La solución rojo-violeta se concentra luego en un pequeño volumen. Durante la concentración cristaliza el derivado; se filtra, se lava con algo de alcohol metílico frío y se seca. El derivado aparece en forma de escamas negras bien cristalizadas, pequeñas y brillantes, que pueden molerse dando un polvo violeta que funde a 178-81°. La hidrazida de ácido isonicotínico es insoluble en agua y álcalis, aceptablemente soluble en ácidos con intensa coloración violeta, escasamente soluble en metanol, etanol y acetona, insoluble en acetato de etilo, benceno, éter etílico y éter de petróleo. Análisis: C, 63,096; H, 6,10; N, 6,61; O, 24,26. Calculado para
5. 10. 15. 20.  $C_{45}H_{52}N_4O_{13}$  (p.m., 856,48): C, 63,09; H, 6,12; N, 6,54; O, 24,28.

EJEMPLO 4.

- Producto de condensación de rifamicina O con el hidrocloreuro del reactivo T de Girard. Se disuelven 1,0 g de rifamicina y 1,0 g del hidrocloreuro del reactivo T de Girard en 100 a 150 ml de alcohol metílico y se refluje sobre un baño de agua durante 2,5 horas. La solución inicialmente amarillo-naranja se torna intensamente roja. La solución metanólica es concentrada a un pequeño volumen
25. 30.



2733

- y diluida con neutralizador de fosfato a un pH de 7,3. Bajo estas condiciones, precipita el derivado como base en forma de producto púrpura-rojo que es extractado en acetato etílico. Mediante concentración de la solución etérea y precipitación con éter de petróleo, se obtiene la sal básica T de Girard de rifamicina O (700 mg) como polvo amorfo rojo-violeta. Como este producto no puede cristalizarse fácilmente, se convierte preferiblemente la base en el hidroc
5. cloruro.
- 10.

- Por consiguiente, la base es disuelta en algo de metanol anhidro (5,0 ml), se acidifica la solución mediante la adición de una solución metanólica de cloruro de hidrógeno y luego se vierte en 100 ml de éter etílico anhidro. El hidroc
15. cloruro del derivado T de Girard de la rifamicina O es un polvo cristalino naranja que funde a 300° (descomposición a 135°). Es soluble en agua en la proporción de 50,000 Y/ml. (esta solución tiene un pH de 2,02),
20. soluble en ácidos e hidróxidos metálicos alcalinos. En agua es insoluble a un pH de 4,0 a 8,0 cuando precipita la correspondiente base púrpura-rojo. Es muy soluble en alcohol metílico y etílico y acetona, escasamente soluble en acetato de etilo y benceno y
25. prácticamente insoluble en éter etílico y éter de petróleo. Análisis: C, 58,76; H, 6,86; N, 6,14; O, 23,11; Cl, 4,20. Calculado para  $C_{44}H_{59}N_4O_{13}Cl$  (p.m., 887,39): C, 59,54; H, 6,70; N, 6,31; O, 23,43; Cl, 3,99.

30.

EJEMPLO 5.



273366

- Producto de condensación de rifamicina O y reactivo P de Girard. Se disuelven 1,0 g de rifamicina O y reactivo P de Girard en 150 ml de metanol y se refluje durante 2,5 horas. Luego se concentra la solución metanólica a un pequeño volumen y se diluye con solución neutralizadora a un pH de 7,3. Después de haber ajustado el pH final a 8,0-8,5, se extrae la solución con acetato de etilo. Durante la concentración del extracto, el derivado cristaliza y es recogido por filtración, dando un polvo cristalino violeta (300 mg) que se descompone a 240° y funde por encima de 300°. El derivado Girard P de la rifamicina O es insoluble en agua, aceptablemente soluble en ácidos, escasamente soluble en álcalis, muy soluble en metanol, etanol, acetona, escasamente soluble en acetato de etilo e insoluble en éter de petróleo y éter etílico. Análisis: 1) base libre: C, 61,72; H, 6,65; N, 6,54; O, 24,55. Calculado para el  $C_{46}H_{56}N_4O_{14}$  (p.m., 888,93): C, 62,14; H, 6,35; N, 6,30; O, 25,19. 2) hidrocioruro: C, 59,65; H, 6,14; N, 6,83; O, 22,28; Cl, 4,27. Calculado para el  $C_{46}H_{55}N_4O_{13}Cl$  (p.m., 907,40): C, 60,88; H, 6,11; N, 6,17; O, 22,92; Cl, 3,90.

EJEMPLO 6.

- Producto de condensación de rifamicina O con reactivo D de Girard. Se disuelven 1,0 g de rifamicina O y el hidrocioruro del reactivo D de Girard en 150 ml aproximadamente de alcohol metílico y se refluje durante 2,5 horas: la solución metanólica se torna rojo oscuro. Se concentra a un pequeño volumen



273366

- y se diluye con neutralizador fosfato a un pH de 7,3. El producto precipitado es extractado con acetato de etilo. Se concentra la solución a un pequeño volumen y se vierte en éter de petróleo. El derivado D de Girard de la rifamicina O (700 mg) se obtiene como base. Cuando se cristaliza de benceno, aparece como un polvo violeta-pardo que se descompone a 260° sin fundirse. Es insoluble en agua, aceptablemente soluble en ácidos, escasamente soluble en álcalis, soluble en alcohol metílico y etílico, acetona y acetato de etilo, escasamente soluble en benceno y éter etílico e insoluble en éter de petróleo.
- 5.
- 10.

- Análisis: C, 61,79; H, 6,675; N, 6,365; O, 25,38. Calculado:  $C_{43}H_{56}N_4O_{13}$  (p.m., 836,90): C, 61,70; H, 6,74; N, 6,69; O, 24,85.
- 15.

EJEMPLO 7.

- Producto de condensación de rifamicina O con hidrazida de ácido 2-tiazol-carboxílico. Se suspenden 1,0 g de rifamicina O y 300 mg (es decir, el doble de la cantidad estequiométrica) de hidrazida de ácido 2-tiazolcarboxílico en unos 150 ml de alcohol metílico y se refluje durante una hora. La solución intensamente violeta es concentrada luego en un pequeño volumen y diluida con neutralizador fosfato a un pH de 7,3. El precipitado que se forma es extractado con acetato etílico. Mediante concentración de la solución y precipitación con éter de petróleo, se obtiene el derivado en forma de polvo intensamente rojo que puede cristalizarse de ciclo
- 20.
- 25.
- 30.



27330

5. exano (600 mg); punto de fusión, 134-7°C. El derivado es insoluble en agua, soluble en ácidos con coloración púrpura-rojo, muy lentamente soluble en álcalis con coloración naranja, muy soluble en metanol, etanol, acetona y acetato etílico, aceptablemente soluble en éter etílico y escasamente soluble en éter de petróleo.
- Análisis: C, 59,83; H, 6,30; N, 6,64; O, 23,94; S, 3,95. Calculado:  $C_{43}H_{50}N_4O_{13}$  (p.m., 862,92): C, 59,84; H, 5,84; N, 6,49; O, 24,10; S, 3,71.
- 10.

EJEMPLO 8.

15. Producto de condensación de rifamicina O con ácido antranílico. Se suspenden 1,0 g de rifamicina O y 0,360 g de ácido antranílico en 100 ml de metanol y se refluje durante media hora. La solución se torna intensamente coloreada de rojo violeta. Al cabo de 30 minutos es enfriada, concentrada, diluida con neutralizador a un pH de 7,3, filtrada, acidificada a un pH de 2,5 y extractada con acetato etílico. El acetato etílico es concentrado al vacío a un pequeño volumen y vertido en éter de petróleo. El producto amorfo es recristalizado de ligroína. Punto de fusión, 148° (descomposición). Análisis: C, 63,66; H, 6,32; N, 3,48. Calculado:  $C_{46}H_{54}N_2O_{15}$  (p.m., 874,90): C, 63,14; H, 6,22; N, 3,20; O, 27,43.
- 20.
- 25.

EJEMPLO 9.

30. Producto de condensación de rifamicina O con ácido p-aminosalicílico. Se prepara como se



273366

describe en el ejemplo 9. empezando con 1 g de rifamicina O y 0,456 g de ácido p-aminosclicílico. El producto rojo-pardo es recristalizado de acetato etílico. Punto de fusión, 140° (descomposición).

5. Análisis: C, 61,91; H, 6,22; N, 3,11.  
Calculado:  $C_{46}H_{54}N_2O_{16}$  (p.m., 890,90); C, 62,05; H, 6,07; N, 3,14; O, 28,78.

EJEMPLO 10.

10. Producto de condensación de rifamicina O con ácido 4-aminoftálico. Se suspenden 1,0 g de rifamicina O y 0,480 g de ácido 4-aminoftálico en 100 ml de metanol. Se refluje la solución durante 30 minutos y se torna de un color intensamente rojo. Luego se enfría, se diluye con un neutralizador a un pH de 7,3, se filtra, se acidifica el filtrado a un pH de 2,5 con ácido clorhídrico y se extrae con acetato de etilo. El extracto es concentrado y vertido en éter de petróleo. El polvo rojo amorfo así obtenido es cristalizado de éter isopropilo.

20. Análisis: C, 61,31; H, 6,50; N, 2,85.  
Calculado:  $C_{47}H_{54}N_2O_{17}$  (p.m., 918): C, 61,45; H, 5,88; N, 3,05; O, 29,62.

EJEMPLO 11.

25. Producto de condensación de rifamicina O con p-aminobencenosulfonamida: Se refluje durante 1 hora en metanol 1,0 g de rifamicina O y 0,460 g de p-aminobencenosulfonamida. La solución metanólica rojo-violeta es concentrada a un pequeño volumen, diluida con agua y extractada con acetato etílico, que se concentra y vierte en éter de petróleo. El
- 30.



273366

- producto rojo-pardo es recristalizado de éter iso propilo. Análisis: C, 59,10; H, 6,27; N, 4,94; O, 26,50; S, 3,19. Calculado:  $C_{45}H_{45}N_3O_{15}S$  (p.m., 909,91); C, 59,39; H, 6,09; N, 4,61; O, 26,37; S, 3,51.

EJEMPLO 12.

- Producto de condensación de rifamicina O con amidrazona de ácido isonicotínico. Se suspenden 1,0 g de rifamicina O y 360 mg (es decir, el doble de los teórico) de amidrazona en unos 100 ml de alcohol etílico absoluto y se refluje durante 1 hora. Se concentra la solución en un pequeño volumen hasta una incipiente cristalización y se enfría. El precipitado es filtrado y recristalizado de alcohol etílico absoluto (300 mg); funde a 160°C (descomposición). Es insoluble en agua, ácidos y bases, escasamente soluble en alcohol metílico y etílico, soluble en acetona, acetato etílico y éter etílico e insoluble en éter de petróleo. Análisis: C, 61,62; H, 7,37; N, 7,0; O, 24,72. Calculado:  $C_{45}H_{55}N_5O_{13}$  (p.m., 873,93): C, 61,84; H, 6,34; N, 8,01; O, 23,80.

EJEMPLO 13.

- Producto de condensación de rifamicina O con aminoguanidina. Se suspenden 5,0 g de rifamicina O y 1,800 g (es decir, el doble de la cantidad estequiométrica) de carbonato de aminoguanidina en alcohol metílico y se refluje durante 1 hora. Se concentra la solución metanólica a un pequeño volumen, se diluye con neutralizador fosfato en solu



- ción, a un pH de 7,3 y se extracta con acetato de etilo. Mediante concentración del extracto y precipitación con éter de petróleo, se obtiene el derivado en forma de polvo rojo brillante, que es cristalizado de benceno. El polvo cristalino funde a 180°C (desc.) y funde por encima de 300°C. Es insoluble en agua, álcalis, escasamente soluble en ácidos, muy soluble en alcohol metílico y etílico, acetona y acetato de etilo, soluble en éter etílico e insoluble en éter de petróleo. Análisis: C, 59,85; H, 6,62; N, 8,58; O, 24,71. Calculado:  $C_{40}H_{51}N_5O_{13}$  (p.m., 809,86); C, 59,17; H, 6,57; N, 8,62; O, 25,60.
- 5.
- 10.

EJEMPLO 14.

- Producto de condensación de rifamicina O con 1-(p-carboxifenil)-3-aminoguanidina. Se suspenden 9 g de rifamicina O y 4,750 g de 1-p-carboxifenil-3-aminoguanidina en 500 ml de metanol. Se refluje la suspensión durante 1 hora. El producto blanco insoluble (exceso de reactivo) es filtrado, concentrado a un pequeño volumen, vertido en 500 ml de neutralizador a un pH de 7,3 y extractado con acetato de etilo. Mediante concentración de la solución violeta y precipitación en éter de petróleo, se obtienen 3,900 g de productos rojo-violeta y se recristalizan de benceno. La sustancia se oscurece a 190°C y se sinteriza a 270°C. Análisis: C, 60,94; H, 6,43; N, 6,98. Calculado  $C_{47}H_{55}N_5O_{14}$  (p.m., 913,95): C, 61,6; H, 6,03; N, 7,67; O, 24,82.
- 15.
- 20.
- 25.

EJEMPLO 15.

30. Se disuelven 1,0 g del producto de condensación



5. sación de rifamicina O con cloruro de trimetilamino acetidrazida y 1 g de rifamicina O en 150 ml de alcohol metílico. Se diluye la solución con 300 ml de neutralizador fosfato a un pH de 7,3 (M/15) y se deja reposar de 14 a 15 horas a 20-25°C. La rifamicina X se separa en forma de polvo cristalino que presenta generalmente un buen grado de pureza. Se filtra y cristaliza de benceno. Producción, 0,300 g.

EJEMPLO 16.

10. Se disuelve 1,0 g del producto de la condensación de rifamicina O con cloruro de trimetil aminoacetidrazida (Girard T) en 100 ml de alcohol metílico. Se añade nitrito sódico (0,800 g) a la solución, seguido, con agitación, de 3 ml de ácido clorhídrico al 10% hasta un final pH de 5,0 aproximadamente. Se deja reposar la solución durante 24 horas a 36°C y se filtra el precipitado de rifamicina X, se seca y se cristaliza de benceno. Producción, 0,300 g.

20. EJEMPLO 17.

25. Se disuelve 1,0 g de producto de condensación de rifamicina O con cloruro de trimetilemino acetidrazida (Girard T) en 150 ml de alcohol, metílico.
25. Se añaden 300 ml de neutralizador fosfato a un pH de 7,3 (M/15) a la solución, seguido de 2 g de óxido de mercurio. Se remueve la solución durante 4 a 5 horas y finalmente la rifamicina X precipitada, mezclada con óxido de mercurio, es filtrada y triturada dos veces con porciones de 100 ml de
- 30.



273360

5. acetato de etilo. Se recogen los extractos y se concentran al vacío a un pequeño volumen. Mediante dilución con crudo éter de petróleo, precipita rifamicina X y se cristaliza a partir de benceno. Producción, 0,200 g.

N O T A

10. 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 unas solicitudes de Patente presentadas en Italia con fechas 30 de diciembre de 1.960 y 12 de julio de 1.961; acogiéndose, 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 por 20 años en España:
20. "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE NUEVA SUSTANCIA ANEISBIOTICA"; caracterizándose por lo siguiente:
- 1ª.- Procedimiento de obtención de nueva sustancia antibiótica, caracterizado porque comprende el reflujo de rifamicina O con un exceso sobre una cantidad equimolecular de una sustancia seleccionada de la clase consistente en hidrazina, hidrazidas, aminas primarias aromáticas y aminoguanidinas en un alcohol alifático inferior.
25. 2ª.- Procedimiento, según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se refluja rifamicina O
- 30.



273366

con l-aminoguanidina en metanol.

5. 3ª.- Procedimiento, según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se refluje rifamicina O con dos cantidades equimoleculares, aproximadamente, de l-aminoguanidina en metanol.

10. 4ª.- Procedimiento, según reivindicación anterior, caracterizado porque comprende la sujeción a una suave oxidación en una mezcla de agua y etanol del producto de la condensación de rifamicina O con reactivo T de Girard.

5ª.- Procedimiento, según la reivindicación 4ª, caracterizado porque la oxidación suave se lleva a cabo con ácido nítrico.

15. 6ª.- "Procedimiento de obtención de nueva substancia antibiótica"; tal y como queda substancialmente descrito en la presente Memoria que consta de veinte hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

LEIBERTE S.p.A.