



306802

Memoria Descriptiva

sobre

"Procedimiento de preparación de substancias antibacterianas".

=====

Solicitante: LEPETIT S.p.A., entidad italiana, residente en Via Roberto Lepetit, 8 MILAN, Italia.

=====

Este invento se refiere a nuevos derivados de la tetraciclina antibiótica. Además, este invento se relaciona con un nuevo procedimiento para preparar una clase de derivados de la tetraciclina antibiótica. Es conocido el preparar derivados de tetraciclina

5.

306802 - 2 -



- solubles en agua, mediante la reacción de Mannich, que consiste en condensar una substancia, dotada de hidrógenos activos, con formaldehído y una amina primaria y secundaria, con formación de los compuestos que se conocen con la definición general de bases Mannich. En el caso de la tetraciclina, las bases Mannich se obtuvieron partiendo de una serie de bases orgánicas, alifáticas, aromáticas o heterocíclicas, como se describe, por ejemplo, en las Patentes Alemanas 1,044,806, 1,063,598 y 1,088,481. Sin embargo, todos estos derivados, aunque débilmente solubles en agua, tienen un grado reducido de estabilidad, y algunos de ellos no son bien tolerados, al administrarse por via parenteral.
- 5.
- 10.
15. Con objeto de mejorar la estabilidad y tolerancia; se prepararon otros derivados que contenían un grupo carboxílico, utilizando como material de partida algunos amino-ácidos, Sin embargo aunque se obtuvieron compuestos de mejor estabilidad, la actividad antibiótica disminuyó mas o menos. Esto fué debido al hecho de que trabajando en las condiciones descritas en la literatura, la tetraciclina experimenta fácilmente la conversión en su isómero inactivo epitetraciclina.
- 20.
25. Un objeto de este invento es proporcionar un método sencillo para obtener derivados de tetraciclina con formaldehído y un aminoácido alifático o aromático, por cuyo medio se obtienen productos de condensación elevadamente activos, con un rendimiento muy alto.
- 30.

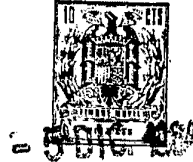


Otro objeto de este invento es proporcionar una clase nueva de bases Mannich de tetraciclina con propiedades mejoradas de estabilidad, solubilidad en agua y tolerancia por la vía parenteral.

5. Un nuevo objeto de este invento es proporcionar derivados de tetraciclina con una proporción de epitetraciclina muy inferior al de las bases Mannich de tetraciclina obtenidas por los métodos conocidos.

- De acuerdo con el procedimiento descrito y reivindicado en esta Memoria se hacen reaccionar juntas, una mol de tetraciclina 1 o 2 moles de formaldehído y alrededor de 1 mol del amino-ácido seleccionado, en presencia de una cantidad de una base terciaria orgánica, tal como trietilamina, trimetilamina o piridina, suficiente para conseguir una reacción ligeramente alcalina de la mezcla con un pH comprendido entre 7,5 y 8,5 aproximadamente. Aunque la reacción se desarrolla bastante bien en todos los disolventes corrientemente empleados en la reacción Mannich
10. los mejores resultados se obtienen trabajando con un alcohol alifático inferior tal como metanol o etanol. En estas condiciones, la reacción se completa en 5-15 minutos a una temperatura comprendida entre 10 y 50°C, y no se forma epitetraciclina. Después de añadir un
15. ácido mineral hasta un pH de 4,-5 aproximadamente, el producto precipita y se recoge. Los rendimientos, son corrientemente muy elevados.
- 20.
- 25.

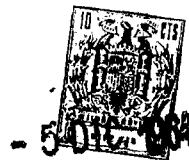
- A continuación figura una Tabla en la que se comparan los rendimientos y la formación de tetraciclina, que se obtienen A) por el procedimiento de
- 30.



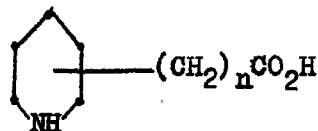
- este invento, B) por el procedimiento descrito en "Farmace", Ed. Prat., 16, 65 (1,961), y C) por el procedimiento descrito en la Patente Norteamericana nº 3,042,716 para la preparación de derivados de γ -aminoácidos, utilizando algunos compuestos de partida representativos.

| Compuesto de partida | Procedi- miento. | T A B L A I | | |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|---|------------------------------|
| | | Rendi- miento %. | % tetraci- clina + epi- tetraciclina. | % epite- traci- clina. |
| Acido 4-piperidino- carboxílico. | A | 68,7 | 72,7 | 1,2 |
| | B | 40,5 | 74,4 | 14,3 |
| | C | 26,4 | 52,5 | 5,8 |
| Acido- 3-piperidi- noacético. | A | 65 | 73,9 | <1 |
| | B | 40 | 67 | 13,7 |
| | C | 28 | 46 | 6,5 |
| Acido 3-piperidino- carboxílico. | A | 71 | 76,9 | 1,4 |
| | B | 35,1 | 71 | 10 |
| | C | 25 | 52 | 4,5 |
| Acido γ -aminobuti- rico. | A | 62,5 | 77,3 | <1 |
| | B | 37 | 77 | 17,5 |
| | C | 24 | 41,3 | 10 |

Aunque en procedimiento se ha observado que se realiza muy satisfactoriamente con un gran número de aminoácidos que ya se usaban para este objeto,



aunque con resultados muy bajos, en cuanto a rendimiento y actividad se refiere, se obtuvo una nueva clase de derivados de gran interés, utilizando como material de partida un compuesto de la fórmula



5. en la que n es un entero de 0 a 3. En especial los derivados mas interesantes son los obtenidos partiendo de los ácidos 3-piperidinocarboxílico, 4-piperidinocarboxílico y 3-piperidinoacético, cuyo espectro antibacteriano con respecto a algunas bacterias, figura en la Tabla siguiente, en comparación con la tetraciclina.
- 10.

T A B L A 2

Actividad antibacteriana "in vitro"

Concentración mínima inhibitoria en /cc

| | Derivado de tetraciclina con | | | |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------|
| | Acido 3-piperidinocarboxílico | Acido 4-piperidinocarboxílico | Acido 3-piperidinoacético | Tetraciclina |
| M. aureus | 0.1 | 0.1 | 0.05 | 0.1 |
| S. hemolyticus | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| S. faecalis | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.1 |
| B. subtilis | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| Proteus X 19 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| E. coli | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Klebsiella pneumoniae | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Pseudomonas aeruginosa | 10 | 10 | 10 | 10 |



250000306002

Las nuevas bases Mannich de tetraciclina con los mencionados piperidino-ácidos muestran un grado de estabilidad muy superior que en el caso de bases Mannich con bases orgánicas, tales como pirrolidina, morfolina, N-hidroxietilpiperacina y aminoácidos básicos tales como lycina. Son ligeramente solubles en agua con un pH entre 3 y 8. La solución acuosa de las mismas no proporciona precipitado alguno en reposo y no se observa la hidrólisis del compuesto disuelto.

10. La tolerancia tóptica después de la administración intramuscular es mejor que la de otras bases Mannich de tetraciclina. A continuación figura el resultado de una comparación a este respecto, entre la (3-carboximetil-1-piperidino)-metiltetraciclina y otras bases Mannich de tetraciclina, comercialmente empleadas. Las sustancias se inyectaron intramuscularmente en ratones (grupos de cinco animales) a una concentración correspondiente a 100 mg de tetraciclina por cc de solución.

20. (3-carboximetil-1-piperidino)-metiltetraciclina, (disuelta en NaHCO_3 acuoso al 2%, pH 7,75) El producto se absorbía perfectamente. Pequeña hemorragia en la masa muscular. El músculo aumenta ligeramente de volumen.

25. (4-(β -hidroxietil)-1-piperidino)-metiltetraciclina, (disuelta en agua, pH 5,9). Color ligeramente amarillo debido a algo de producto residual. En algunos animales, pequeñas porciones de producto en pasta; el músculo aumenta de volumen. Edema subcutáneo, ocasionalmente presente.

30. Pirrolidinometiltetraciclina (Solución en agua,

306002

306002



pH 5,6). Trazas de producto amarillo residual, ligera hemorragia en la masa muscular. El músculo aumenta de volumen. Edema subcutáneo, ocasionalmente con líquido edematoso abundante.

- 5. Lysinometiltetraciclina (solución en agua pH 4,5). Trazas de producto pastoso residual, en algunos casos muy abundante. Edema muy acusado en dos casos. Pequeñas hemorragias en la masa muscular.

10. El producto a que este invento se refiere fue el único compuesto investigado que se absorbió en su totalidad después de la administración intramuscular.

15. Otra propiedad única de los productos de este invento, es la posibilidad de administración por vía rectal. Es bien sabido que los antibióticos de tetraciclina no se absorben administrados en forma de supositorios. Por el contrario, la carboxipiperidinometiltetraciclina, proporciona en sangre, niveles muy satisfactorios del antibiótico.

20. A continuación figura una Tabla que indica los niveles en sangre, en el individuo humano para varios intervalos después de la administración de un supositorio que contenía 500 mg de (3-carboxi- λ -piperidino)-metiltetraciclina. Los valores se expresan en μ /cc y son la media de los valores observados en 10 pacientes humanos.

Niveles en sangre después de

| 1 hora | 2 horas | 3 horas |
|--------|---------|---------|
| 0.81 | 0.78 | 0.51 |

30. estas cifras corresponden a dosis terapéuticamente

- 8 -
305002



útiles de tetraciclina.

Los Ejemplos no limitativos siguientes, se facilitan para la mejor ilustración del invento.

EJEMPLO 1 - (4-carboxi-1-piperidino)-metiltetraciclina.

5. Se calienta a 40°C una mezcla de 2,2 g de tetraciclina, 0,7 cc de trietilamina y 40 cc de etanol; luego se añade 0,65 g de ácido 4-piperidinocarboxílico en 1,5 cc de agua, seguido por 0,5 cc de formaldehído acuoso al 40%. Después de 5 minutos a 40°C, la solución se enfría a 25°C y se agrega 0,5 cc de ácido clorhídrico 10 N. El precipitado cristalino, amarillo brillante, se recoge y se seca. Rendimiento 2,25 g con un ensayo espectrofotométrico de 72,7% (calculado en cloruro de tetraciclina). El porcentaje de epitetraciclina, determinado por cromatografía, es de 1,2%.
- 10.
- 15.

EJEMPLO 2 - (3-carboximetil-1-piperidino)-metiltetraciclina.

20. Se calienta a 40°C una mezcla de 11 g de tetraciclina, 3,5 cc de trietilamina y 250 cc de etanol y luego se añade una solución de 3,6 g de ácido 3-piperidinoacético en 7,5 cc de agua, seguido por 2,5 cc de formaldehído acuoso al 40%. Después de 5 minutos a 40°C, la solución se enfría a 25°C y se añaden 2,5 cc de ácido clorhídrico 10 N. El precipitado cristalino, amarillo, se recoge y se seca. Rendimiento, 10,5 g con un ensayo espectrofotométrico de 73,9% (calculado en cloruro de tetraciclina). El porcentaje de epite-traciclina, determinado cromatográficamente, es inferior al 1%.
- 25.

30. EJEMPLO 3 - (3-carboxi-1-piperidono)-metiltetraciclina.



5. Se calienta a 40°C una mezcla de 22 g de tetraciclina, 7 cc de trietilamina y 500 cc de etanol a la que se añade luego una solución de 6,5 g de ácido 3-piperidinocarboxílico en 15 cc de agua, seguido por 5 cc de formaldehído acuoso al 40%. Después de 5 minutos a 40°C, la solución se enfría a 25°C y se añaden 5 cc de ácido clorhídrico 10 N. El precipitado alcalino amarillo se recoge y se seca. Rendimiento, 22 g con un ensayo espectrofotométrico de 76,9% (calculado en cloruro de tetraciclina). El porcentaje de epitetraciclina, determinado cromatográficamente, es de 1,4%.

10. EJEMPLO 4 - γ -carboxipropilaminometiltetraciclina.

15. Se calienta a 40°C una mezcla de 22 g de tetraciclina, 7 cc de trietilamina y 400 cc de etanol y luego se agregan 5,1 g de ácido γ -aminobutírico disueltos en 8 cc de agua, seguidos por 5 cc de formaldehído acuoso al 40%. Después de 5 minutos a 40°C, la solución se enfría a 25°C y se agregan 5 cc de ácido clorhídrico 10 N. El precipitado cristalino amarillo brillante se recoge y se seca. Rendimiento, 20,5 g con un espectrofotométrico de 77,3% (calculado en cloruro de tetraciclina). El contenido de epitetraciclina, es inferior al 1%.

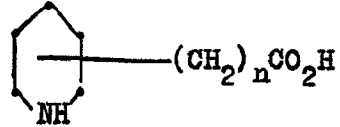
25. NOTA

30. 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 fun-

5 DIC 1964

706000

tílicos de tetraciclina, que consiste en poner en contacto 1 mol de tetraciclina, 1 a 2 moles de formaldehído y alrededor de 1 mol de un compuesto de fórmula



5. en la que n representa un entero de 0 a 3 inclusive, en presencia de una cantidad de base orgánica terciaria suficiente para comunicar a la mezcla un pH comprendido entre 7,5 y 8,5 a una temperatura de 10 a 50°C, durante 5 a 15 minutos.

10. 3ª.- Procedimiento de preparación de sustancias antibacterianas, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 11 hojas escritas a máquina por una sola cara.

15.

Madrid

LEPETTI S.p.A.

J. GOMEZ ACEBO Y MODEI

5 DIC. 1964