

PATENTE DE INTRODUCCION

Case Nº R-51639-C

321552



MEMORIA DESCRIPTIVA

sobre:

"Procedimiento catalítico para la hidrogenación de
tetraciclina "

Solicitantes: CHAS. PFIZER & CO., INC., entidad
norteamericana, residente en:
235 East 42nd Street, NEW YORK,
Estado de New York, EE. UU. de A.



321552

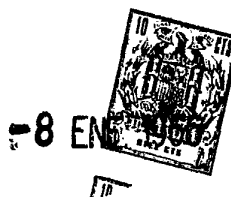
5. El presente invento se refiere a nuevas y necesarias tetraciclinas, así como al procedimiento para producir-las. El presente invento se refiere, en forma especial a las 6-epi-6-desoxitetraciclinas, a sus análogas sustituidas sobre el ciclo D, a sus análogas lla-sustituidas, a sus análogos sustituidas del ciclo D-ll, así como el procedimiento de fabricación de las mismas.

10. De acuerdo al presente invento se comprobó que la hidrogenización de 6-desoxi-6-dimetil-6-metilentetraciclinas, conteniendo varios análogos sustituidos sobre el ciclo D y en lla, es un procedimiento válido para producir las conocidas 6-desoxitetraciclinas y más aún, produce una categoría de derivados nuevos y necesarios que tienen propiedades químicas, físicas y biológicas distintas de las 6-desoxitetraciclinas conocidas como consecuencia de una configuración esteroquímica modificada. Esas nuevas tetraciclinas tienen una actividad microbiológica contra una variedad de microórganos Gram-positivos y Gram-negativos y son llamados correctamente como 6-epi-6-desoxitetraciclinas, porque la configuración estérica del grupo 6-metil es opuesta a la de las 6-desoxitetraciclinas conocidas. Por consiguiente, la nomenclatura "6-epi" usada aquí, está totalmente de acuerdo con la nomenclatura reconocida para señalar a las 4-epitetraciclinas conocidas.

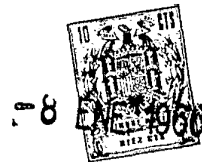
25. De acuerdo al procedimiento de la presente inven-

321552

- 3 -



- ción, un compuesto de tetraciclina indicado y definido más arriba, se disuelve o se pone en suspensión en forma anfotérica, o en forma de una sal obtenida agregándose ácido, o bajo la forma de una sal compleja con un metal polivalentico,
5. en un solvente reaccional inerte en presencia de una cantidad catalítica de un catalizador que es un metal noble y en presencia de hidrógeno a una temperatura y presión conveniente, hasta que se produzca la reducción del grupo 6-metileno. Después se recupera una mezcla de 6-epi-6-desoxitetraciclina
10. y de 6-desoxitetraciclina por los procedimientos acostumbrados que consisten en la separación del catalizador y la recuperación del solvente. Esa mezcla puede ser sometida después a una cromatografía o a otros procedimientos para realizar la separación de la mezcla, en sus componentes.
15. La expresión "solvente reaccional inerte" usada aquí se refiere a cualquier medio que sea un solvente o un agente de suspensión conveniente al reactivo antibiótico, y que sea estable en las condiciones de hidrogenización sin
20. modificar la eficiencia del catalizador y sin reaccionar con el antibiótico. En general, convienen los solventes orgánicos polares y comprenden los alcoholes inferiores tales como el metanol, el etanol, el butanol, etc.; éteres solubles en agua, cíclicos o con la cadena abierta, tales como el dioxano, el tetrahydrofurano, el éter dietilenglicol monometílico,
25. el 2-etoxietanol, los ácidos monocarbónicos inferiores como



321552

- el ácido acético, El ácido propiónico, medios acuosos conteniendo los solventes arriba aludidos, el ácido clorhídrico diluido con agua etc. Se observará que esos solventes y otros son habitualmente utilizados en las técnicas de hidrogenización aplicadas a los antibióticos conteniendo tetraciclinas y por lo tanto son irrefutables. Sin embargo, se obtienen resultados mejores cuando se usan medios ácidos en lugar de medios básicos que pueden provocar descomposiciones y rebajar en esta forma el rendimiento del producto deseado. El uso de mejores solventes se aclara en los ejemplos siguientes.
- 5.
- 10.

- En el presente procedimiento, la temperatura no es más crítica que en otras hidrogenaciones de antibióticos de la serie de tetraciclinas. En realidad la mejor temperatura es de 0 a 60°C aprox., la mejor temperatura es de 10 a 50°C y preferentemente la temperatura del ambiente. Para las temperaturas inferiores a 0° la reacción es excesivamente lenta y en cuanto a las temperaturas superiores a 60°C, las mismas pueden provocar descomposiciones del producto inicial. Tal como suponemos, más la temperatura es elevada, más rápida es la reacción.
- 15.
- 20.

- Los catalizadores de metales nobles utilizados en el presente invento son el platino, el paladio, el renio, el rodio y el rutenio con o sin apoyo, así como sus compuestos catalíticos conocidos tales como los óxidos, cloruros
- 25.



321552

- etc. Damos como ejemplos de soportes catalíticos convenientes: el carbono, el silicio y el sulfato de bario. Los catalizadores pueden ser preparados de antemano o in situ por pre-reducción de una sal apropiada del compuesto catalítico.
5. Los mejores catalizadores son por ejemplo: el paladico sobre carbono al 5%, el platino sobre carbón al 5%, el rodio sobre carbón al 5%, cloruro de platino, cloruro de paladio, óxido de platino y óxido de rutenio. En los productos, como los últimos de los más arriba aludidos, donde el metal se encuentra en una forma combinada, no elemental, se necesita generalmente una pre-reducción antes de que la hidrogenización sea efectuada. La misma se hace simplemente suspendiéndose el precursor catalítico en el medio de hidrogenización, agregándose el sustrato y continuándose con la hidrogenización.
 10. Por otro lado los componentes pueden ser incorporados de una sola vez y se puede empezar con la hidrogenización. Este método tiene la ventaja de que permite al experimentador determinar separadamente la cantidad absorbida de hidrógeno durante la pre-reducción catalítica y durante la fase hidrogenolítica. En esta forma se puede controlar mucho más fácil el desarrollo de la hidrogenización sobre el antibiótico.
 15. La expresión "cantidad catalítica" que se usa aquí será fácilmente comprendida por los especialistas de hidrogenizaciones de las tetraciclinas conocidas, pues es la misma cantidad que la que se usa en los ejemplos siguientes.
 - 20.
 - 25.



321552

- El rodio es el mejor catalizador para el procedimiento del presente invento pues dá el rendimiento global más elevado en 6-epi-6-desoxi y 6-desoxitetraciclinas. Además, el uso del rodio permite el mantenimiento de un sustituto 7-halógeno cuando el punto de partida es por ejemplo la 7-halo-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina. Cuando no es necesario de preservar un tal sustituto 7 halógeno, entonces es preferible usar como catalizador el paladio. Sin embargo, los otros catalizadores de metales nobles son muy convenientes para obtener las 6-epi-6-desoxi y 6-desoxitetraciclinas.
- 5.
- 10.

- La presión usada durante la hidrogenización no es crítica y depende principalmente de las posibilidades del aparato. En general, las presiones van desde la presión atmosférica hasta las presiones de 2.000 libras/pulgada cuadrada (140 kg/cm²). Tal como se sabe, la hidrogenización bajo la presión atmosférica se hace generalmente en un aparato en el cual el volumen determinado de hidrógeno contenido en un depósito está unido a un manómetro para poder medir la cantidad de hidrógeno consumida.
- 15.
- 20.

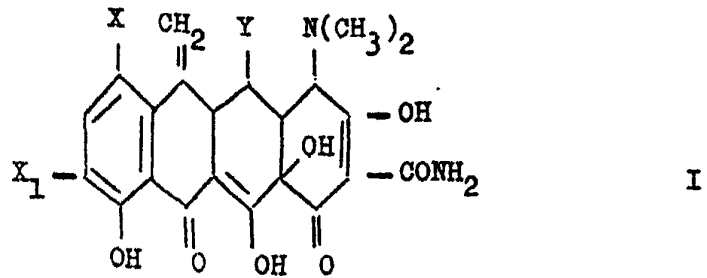
Se puede usar también una botella de citrato o de magnesia y un agitador mecánico con una vara graduada de presión o un autoclave a presiones elevadas, con agitación.

- De acuerdo al procedimiento de este invento, los productos más convenientes son representados por las siguientes
- 25.

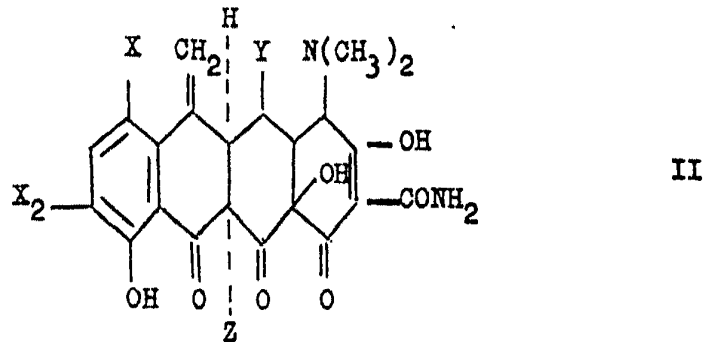


321552

tes fórmulas:



y



5. donde Y puede ser un hidrógeno o un hidroxilo, X un hidrógeno, un cloro, un iodo, un bromo, X₁ un hidrógeno, un amino o un alquilamino inferior, X₂ un hidrógeno o un nitrógeno y Z un cloro o un flúor. Además se pueden usar las sales obtenidas por el agregado de ácidos así como las sales complejas de los metales polivalentes de esos compuestos. Hay



321552

que observar que las configuraciones estéricas de las posiciones 5a y 11a están indicadas en la segunda fórmula que figura más arriba.

- Ya que los productos iniciales de partida del procedimiento correspondientes al presente invento indicados más arriba son compuestos de tetraciclinas que a pesar de ser conocidos son bastante nuevos, encontraremos más abajo los ejemplos I a XXXI para indicar la manera de prepararlos y para dar asimismo los productos iniciales de partida que son necesarios. En líneas generales, el método de preparación comprende el tratamiento de un 11a-halo-6,12-hemicetal de una tetraciclina conveniente con un ácido fuerte del tipo deshidratante como el ácido sulfúrico, trifluoracético, polifosfórico, perclórico, fluorhídrico, o un otro del mismo tipo. Las condiciones óptimas están determinadas en general por la rutina. Generalmente, el hemicetalo 11a-halógeno elegido se agrega simplemente al ácido y se dejan reaccionar a una temperatura que oscila entre los 0 y 50° durante un tiempo, que puede ser de una a varias horas. Cuando la reacción es completa el producto se debe aislar en una forma conveniente, lo que significa en los casos de los ácidos volátiles, evaporar los mismos a fin de obtener el producto residual y en otros casos por medio de procedimientos habituales como es el de agitar un solvente en el cual el producto no se solubiliza (por ejemplo el éter dietílico) a los efec-
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.



321552

tos de precipitarlo. Esos compuestos de 6-metileno pueden ser transformados antes de la hidrogenización, por procedimientos comunes, en sales como son los clorhidratos.

5. Los cambios que pueden haber en los substitutos de los productos originales de partida a los cuales se refiere el procedimiento de la presente invención están también explicados en los ejemplos que siguen.

10. En resumidas palabras, la 7-halogenización del producto original de partida se puede realizar por halogenización directa de una lla-halo-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina, por medio de reactivos muy conocidos tales como N-cloro, N-bromo, y N-iodosuccinimida. Para llegar a eso se ha constatado que el ácido fluorhídrico líquido es un excelente medio reaccional y que las temperaturas que van desde -40°C hasta 60°C son muy convenientes. El compuesto resultante 7, lla-dihalógeno puede ser usado tal cual o de lo contrario, puede ser transformado en un derivado lla-dehalógeno tal como se indican en los procedimientos indicados en el ejemplo VI.

20. La nitrogenización directa de la 6-desoxi-6-metil-6-metilentetraciclina que ha sido elegida, conviene para preparar los productos iniciales de partida que son 9-nitro, de la presente invención. Se hace reaccionar el producto de partida con el ácido nítrico per se o formado in situ,
25. por ejemplo con nitrato de potasio y ácido sulfúrico. Se ob-



1966

321552

- tienen los mejores resultados cuando la nitrogenización se efectúa en un solvente como el ácido fluorhídrico líquido, el ácido alcohólico inferior, etc. Cuando se usa como solvente el ácido fluorhídrico el mismo puede accionar como dador de protones y formar el ácido nítrico in situ con los nitratos. Se debe evitar de elevar las temperaturas a más de 50°C, pues los mejores resultados se obtienen a las temperaturas del ambiente. Cuando se usa el ácido fluorhídrico como solvente se debe trabajar a temperaturas inferiores. La duración de las reacciones pueden oscilar de 15 minutos a 12 horas.
- 5.
- 10.

- Quando se desea que el producto inicial de partida sea una lla-deshalo-6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraciclina, la lla-dehalogenización se puede hacer sea por una reducción química, sea por una reducción catalítica utilizándose los procedimientos tan conocidos por los especialistas. El ejemplo XXXVII que sigue más abajo, muestra la hidrogenización de una lla-cloro-6-desoxi-demetil-6-metilentetraciclina a los efectos de obtener el derivado correspondiente lla-declorato y al mismo tiempo revela que el grupo lla-fluor no puede ser reducido con dicho procedimiento. En cambio, los grupos lla-fluor son eliminados en los productos iniciales de partida por procedimientos de reducción indicados en el ejemplo IV, método D, en los cuales se usa para hacer la reducción zinc en polvo y ácido clorhídrico diluido.
- 15.
- 20.
- 25.



321552

- La preparación de los productos de partida 9-amino por el procedimiento indicado en la presente invención se puede hacer por reducción de los compuestos 9-nitro correspondientes, utilizándose los procedimientos que son generalmente usados para hacer la conversión de los compuestos nitro, en compuestos amino. Tales procedimientos se indican en los ejemplos XIII y XIV y XIX. Los compuestos iniciales de partida 9-amino acilos del presente invento pueden ser preparados también por los procedimientos comunes. El mejor procedimiento comprende la acilación de la 9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraciclina por el anhídrido del ácido deseado o por un equivalente de ese último tal como un cloruro de ácido en presencia de una base, por ejemplo, una amina terciaria tal como la piridina en un solvente inerte.
5. Los ejemplos XVIII y XIX especialmente indican estas técnicas de acilación.
- 10.
- 15.

- De acuerdo a lo que hemos dicho más arriba, la reducción del grupo 6-metileno de un compuesto original de partida elegido de acuerdo con el presente invento puede dar la eliminación de un sustituto 7-halógeno, produciendo al mismo tiempo la eliminación del sustituto 11a-cloro. Si se desea que tales sustitutos figuren en la mezcla final o en cada uno de los compuestos por ejemplo, la 6-epi-6-desoxite-traciclina o la 6-desoxitetraciclina los mismos pueden ser inroducidos de nuevo, gracias a la cloración más arriba alu-
- 20.
- 25.



321552

dida y explicada en los ejemplos XLI-XLV. Además, si se considera que un producto inicial de partida lla-flúor puede ser útil durante la reducción del grupo 6-metilen, ese substituto puede ser eliminado después por el procedimiento expuesto en el ejemplo XXXVIII.

5.

La elección de la 9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraciclina como producto inicial de partida para la reducción de acuerdo al procedimiento del presente invento producirá la reducción del grupo 9-nitro en 9-amino. Por consiguiente, si se desea que la 9-nitro-6-desoxitetraciclina tenga una configuración normal o epimérica, el grupo 9-nitro tendrá que ser introducido en el producto que se usará en el procedimiento de reducción del presente invento, con los mismos métodos de nitratación que los que han sido expuestos más arriba y explicados en los ejemplos, L, LIV, LV, LVI y LVIII.

10.

15.

A los efectos de estabilizar en un medio ácido los productos 6-desoxi relacionados con el procedimiento del presente invento, los derivados 9-amino substituídos tales como la 6-epi-6-desoxi-9-amino-5-oxitetraciclina pueden ser transformados en los compuestos 9-cloro correspondientes. Este procedimiento comprende una dinitrogenización seguida de una clásica reacción de Sandmeyer y explicada en el ejemplo LIII. Se darán cuenta más abajo que esta reacción de Sandmeyer puede ser aplicada a la preparación de otros derivados halógenos,

20.

25.



321552

nitrilos, etc.

- La nitratación directa de los productos finales o de los productos iniciales de partida correspondiente al procedimiento de esta invención ayuda la substitución en la
- 5. posición 9, ya que cantidades mínimas de los derivados 7-nitro pueden ser descubiertas. La mejor técnica para preparar los productos de partida 7-nitro o los productos finales 7-amino en el cuadro de la presente invención es la preparación del derivado 7-azo-aromático correspondiente seguida de
 - 10. una reducción que da el derivado deseado 7-amino, esa reducción se hace preferiblemente por hidrólisis catalítica en presencia de metal noble catalizador. En general se puede usar cualquier amina primaria diazotable para preparar los compuestos 7-azo, y resulta indispensable que la posición
 - 15. 11,12 enólica sea protegida por un grupo hla-halógeno o cualquier otro grupo adecuado para bloquear. Durante la reacción de acoplamiento es preferible utilizar un exceso de sal de diazonio y de mantener la temperatura de la reacción entre 0 y 10°C. Conviene asimismo una mezcla de solventes acuosos
 - 20. tal como una solución acuosa al 50% de un alcohol soluble en agua o acetona. Los ejemplos XLVI-XLVII describen la reacción del acoplamiento del diazonio, seguida de la reducción para poder obtener el compuesto 7-amino.
- La descripción más arriba indicada, del procedimiento relacionado con el presente invento, demuestra que la
- 25.



321552

- substitución sobre el ciclo D del producto final puede ser obtenida a partir de una elección correcta de los productos iniciales de partida substituídos sobre el ciclo D ó por una substitución correcta del ciclo D de las 6-epi-desoxitetracilina o 6-dexocitetraciclina elegidas. Generalmente, la
5. mejor técnica representa la substitución del ciclo D del producto que resulta por el procedimiento de hidrogenización reivindica aquí, pues los rendimientos que pueden resultar son de costumbre más importantes.
10. Resumiendo, el procedimiento del presente invento, se observará que representa no solamente un método cómodo de producir nuevas y necesarias 6-epi-6-desoxitetraciclina, pero también de las conocidas 6-desoxitetraciclina. A pesar de que esas últimas pueden ser producidas por la hidrogenización de un antibiótico tetracíclico homólogo lo que
15. significa que contiene al mismo tiempo un substituto 6 metil y 6-hidroxi, el procedimiento del presente invento es mejor pues los rendimientos son mucho más importantes que los que se obtienen por el método habitual.
20. La hidrogenización de los productos iniciales de partida 6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraciclina del presente invento, cuando se produce en medios ácidos los cuales además con los mejores, produce a veces igualmente una pequeña cantidad de derivados 4-epi. Si así se desea, dichos
25. compuestos 4-epi pueden ser separados de los compuestos que



321552

5. tienen una configuración en posición 4 normal por la cromatografía sobre papel común. Además los análogos 4-desdimetilamina de los productos iniciales de partida, que han sido anteriormente definidos en el presente invento, pueden ser utilizados para producir análogos 4-desdimetilamina de los productos en cuestión.
10. Los productos del presente invento contienen los 6-epi-6-desoxi-6-epi-6-desoxi-7-substituído, 6-epi-6-desoxi-9-substituído-, 6-epi-6-desoxi-lla-cloro, 6-epi-6-desoxi-lla-flúor-, 6-epi-6-desoxi-7, lla-dicloro-, 6-epi-6-desoxi-7-substituído-9-substituído-, y los análogos lla-fluor y cloro de ese último compuesto y 6-epi-6-desoxi-7-cloro-lla-fluor-tetraciclinas, con o sin substituto 5-hidroxil-, así como sus sales obtenidas agregándose ácido y sus sales metálicas aprobadas del punto de vista farmacéutico; los substitutos de las posiciones 7 y 9 han sido elegidos entre los grupos de cloro, bromo, iodo, nitro, amino y alquilamino inferior.
15. Entre ellos, uno de los mejores grupos de compuestos son aquellos que contienen un substituto 5-hidroxil, pues tienen una especial eficacia in vivo.
20. Los nuevos compuestos que acabamos de describir, con la excepción de los compuestos 9-nitro-, son necesarios en razón de su alta actividad tanto in vivo como in vitro contra toda una cantidad de microorganismos. Los compuestos nitro son necesarios en la preparación de los compuestos 9-
- 25.



321552

-amino, correspondientes, tal como se ha dicho acá.

El cuadro que sigue resume la actividad in vitro comparada de la 6-epi-6-desoxitetraciclina (1) y del clorhidrato de 6-desoxi-5-oxitetraciclina (2) contra una cantidad de microorganismos destructivos. La concentración inhibitoria mínima (MIC) se determina por la técnica muy conocida de la dilución en serie.

	<u>ORGANISMO</u>	MIC (meg/ml)	
		<u>(1)</u>	<u>(2)</u>
10.	<i>Micrococcus pyogenes, var. aureus</i>	0,78	0,78
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,09	0,09
	<i>Streptococcus fascialis</i>	0,39	0,78
	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	0,19(p.i.)	0,39
	<i>Brysiopelothrix rhusiopathiae</i>	0,39	0,39
15.	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0,19	1,56
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,19	1,56
	<i>Bacillus subtilis</i>	0,19	0,19
	<i>Bacterium ammoniagenes</i>	-	0,78
	<i>Aerobacter aerogenes</i>	6,3	12,5
20.	<i>Escherichia coli</i>	3,12	12,5
	<i>Proteus vulgaris</i>	100	>200
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12,5	>200
	<i>Salmonella typhosa</i>	6,3	6,3
	<i>Salmonella gallinarum</i>	3,12	12,5
25.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,16	6,3



321552

	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.09	6,3
	<i>Hemophilus influenzae</i>	0,09	0,39
	<i>Shigella sonnei</i>	3,12	6,3
	<i>Brucella bronchiseptica</i>	0,78	3,12
5.	<i>Malleomyces mallei</i>	0,78	25
	<i>Vibrio comma</i>	0,39	6,3
	<i>Pasteurella multocida</i>	0,19	-
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,19	-
	Cepas resistentes a los antibióticos de <i>Micrococcus pyogenes</i>		
10.	var. aureus:		
	376	6,3(p.i.)	> 200
	400	6,3(P.i.)	200
	(p.i.)= inhibición parcial		

En los cuadros que siguen se comparan las propiedades de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina (1) y de la 6-desoxi-5-oxitetraciclina (2):

Propiedades de las 6-desoxi-5-oxitetraciclinas.

	(1)	(2)
Bioactividad contra <i>K. pneumoniae</i>		
(en relación a la oxitetraciclina)	Ca.1500 u/mg.	Ca.500 u/mg
20. max HCl -metanol	267	266
	(Σ = 17.300)	(Σ = 18.100)
	351	343
	(Σ = 13.200)	(Σ = 13.200)
Rf *	0.5	0.3

* Cromatografía sobre papel saturado con un tapón acuoso Mac Ilvaine pH 3,5 desarrollado durante una hora con nitrometan:



321552

cloroformo: piridina 20:10:3 en volúmen.

Los nuevos compuestos de la 6-epi-6-desoxitetra-
ciclina precitados pueden ser incluidos en varias composicio-
nes análogas a las de las tetraciclinas homólogas que son
5. el origen de las mismas. Del punto de vista terapéutico son
necesarios en los alimentos, como estimulantes para creci-
miento, en la práctica veterinaria y en la agricultura.

Para la terapéutica del hombre la dosis oral co-
mún de esos nuevos compuestos es de aprox. 0,1 hasta 2 g
10. por día para un adulto de edad mediana. El producto se pre-
senta en forma de cápsulas o de comprimidos conteniendo de
25 a 250 mg de antibiótico sobre una base de actividad. Pa-
ra la preparación de varias soluciones o suspensiones se usa
vehículos utilizándose concentraciones que van desde 5 a
15. 125 mg/ml. Para una administración parenteral intramuscular
o intravenosa, la dosis diaria se reduce a aprox. 0,05 has-
ta 1,0 g. Las formulaciones intramusculares contienen solu-
ciones de antibióticos en una concentración que va desde
50 a 100 mg/ml.

20. La administración intravenosa se hace en solucio-
nes isotónicas teniendo una concentración de antibiótico
de aprox. 10 mg/ml. Los dos tipos de productos parentera-
les están preparados bajo la forma de unas composiciones
sólidas en vista de la reconstitución. Dichos productos pue-
25. den ser empleados también para aplicaciones sobre medios que



321552

se desarrollan comúnmente. De toda manera, el médico de cabecera debe indicar la dosis que conviene a cada paciente en particular. Para los chicos se usarán dosis reducidas.

- El presente invento se refiere a todas las sales
5. incluyéndose las sales metálicas así como las sales obtenidas por agregado de ácido, los antibióticos anfotéricos que han sido reconocidos recientemente. Los métodos muy conocidos para la preparación de las sales de los compuestos tetracíclicos son explicados en los ejemplos siguientes y se
10. aplican también en este caso. Esas sales pueden ser formadas con metales y ácidos aprobados del punto de vista farmacéutico, pero también que no son aprobados. Por "aprobados del punto de vista farmacéutico" se entienden los metales y los ácidos que pueden formar sales que no aumentan en forma apreciable la toxicidad de los agentes antimicrobios anfotéricos.
15. Las mejores sales son las que se obtienen agregándose ácido, así como las sales aprobadas del punto de vista farmacéutico,
- Las sales obtenidas por el agregado de ácido, aprobados del punto de vista farmacéutico, son particularmente
20. interesantes del punto de vista terapéutico. Contienen las sales de los ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, así como las sales de los ácidos orgánicos tales como los ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, benzoico, glicolico,
25. glucónico, gulónico, succínico, arilsulfónico, por



- ejemplo p-toluenosulfónico, y otras parecidas. Las sales que se obtienen agregándose un ácido que no está aprobado del punto de vista farmacéutico, a pesar de que no pueden ser usadas en terapéutica, se pueden utilizar a los efectos de
5. aislar y purificar el nuevo antibiótico reconocido. Además se las puede emplear para la preparación de sales aprobadas del punto de vista farmacéutico. Entre esas, las más comunes son las sales formadas con los ácidos fluorhídrico y perclórico. Los fluorhidratos son particularmente útiles en la pre-
10. paración de sales aprobadas del punto de vista farmacéutico, por ejemplo, el clorhidrato, en solución del ácido clorhídrico y cristalización del clorhidrato obtenido. Las sales del ácido perclórico son útiles para la purificación y lacristalización del nuevo antibiótico.
15. Mientras que todas las sales metálicas pueden ser preparadas y son usadas con varios fines, las sales metálicas aprobadas del punto de vista farmacéutico tienen un valor particular por su utilidad terapéutica. Los metales aprobados del punto de vista farmacéutico contienen en la mayoría
20. de los casos sodio, así como metales alcalino-terraros de un número atómico inferior o igual a 20, tales como el magnesio, calcio y también el aluminio, el zinc, el hierro, el manganeso y otros. En efecto, las sales metálicas contienen sales complejas como los quelatos metálicos, que son muy conocidos en el campo de la tetraciclina. Las sales metálicas
- 25.



321552

- que no son aprobadas del punto de vista farmacéutico contienen en la mayoría de los casos sales de litio y metales alcalino-térreos con un número atómico superior a 20, como el bario y el estroncio que son utilizados para aislar y purificar el antibiótico. Por el hecho de que el nuevo antibiótico es anfótero, forma también sales con las aminas convenientemente básicas. Claro está que en más de sus cualidades terapéuticas, las sales metálicas y ácidas aprobadas del punto de vista farmacéutico sirven también para aislación y purificación.
- 5.
- 10.

Los ejemplos siguientes se dan a título indicativo sin limitar en forma alguna la presente invención, pues muchos variantes son posibles en el cuadro de la misma.

EJEMPLO I:

15. lla-fluor-5-oxitetraciclina-6,12-hemicetal.

- A una mezcla de 6,9 g de oxitetraciclina anhidra disuelta en 285 ml de metanol enfriado en un baño de hielo, se agrega el equivalente de una solución 1N de metóxido de sodio en metanol. La sal de sodio amarilla precipita. Se hace pasar una corriente de fluoruro de perclorido que disuelve la sal de sodio. Cuando la mezcla se acerca al punto neutro empieza a formarse un precipitado pesado. El exceso de fluoruro de perclorido está eliminado por la corriente de nitrógeno, el producto se separa por filtración, se lava con metanol frío y se seca en vacío a una temperatura ambien-
- 20.
- 25.



321552

- te para obtener 5,1 g de cristales de color amarillo pálido. La absorción infrarroja no revela una absorción hecha por el carbonil debajo de 6 micrones. Un ensayo biológico sobre *K. pneumoniae* revela una actividad de 4 meg/mg a la escala de la tetraciclina. La absorción ultravioleta revela máxima de 265 y 335 micrones. El análisis elemental da después de la recristalización en agua, los siguientes resultados:
5. Calculado para: $C_{22}H_{23}O_9N_2F \cdot 2H_2O$: C 51,4; H. 5,25; N. 5,5
Encontrado C. 51,2; H. 5,3 ; N. 5,7.
10. EJEMPLO II:
11a-cloro-5-oxitetraciclina-6,12-hemicetal.
Se disuelve 23 g de oxitetraciclina anhidra en 250 ml de 1,2-dimetoxietano y se agrega después 8 g de N-clorosuccinimida. Se agita la mezcla durante 2 minutos y se
15. hecha la misma en un litro de agua agitándose. El producto que se separa se recoge por filtración, lavado con agua y secado. El análisis infrarrojo del producto (KBr en una concentración de 1%) no revela una absorción debida al carbonil en la región de 5-6 micrones, pero revela los siguientes picos 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, 9.43 micrones. Un ensayo biológico revela una actividad de tetraciclina de 4 meg/mg.
20. EJEMPLO III:
11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.
25. Se agrega 5 g de 11a-cloro-5-oxitetraciclina-6,12-



hemicetal a 15 ml de ácido fluorhídrico líquido y seco, y toda la mezcla se agita durante 3,5 horas a una temperatura del baño de hielo. El ácido fluorhídrico se evapora calentándolo bajo una corriente de nitrógeno a fin de obtener el fluorhidrato.

5.

El fluorhidrato bruto se disuelve en agua y se agrega gota por gota, el HCl concentrado o el ácido perclórico (70%) para precipitar los clorhidratos o percloratos. El iodohidrato se precipita a partir de una solución de acetona y fluorhidrato bruto con agregado de ácido iodhídrico a 47%.

10.

Hay también otra variante cuando la mezcla inicial se diluye con 6 ó 7 volúmenes de agua, hielo, agregándose ácido perclórico o ácido naftalenosulfónico (ácido concentrado), a los efectos de precipitar sus sales correspondientes. Una dilución en acetona de la mezcla reaccional inicial a la cual se agrega HI, precipita el iodohidrato.

15.

El análisis elemental del iodohidrato da los siguientes valores:

Calculado para: $C_{22}H_{21}N_2O_8Cl.HI$: C. 43,7; H. 3,7; N.4,6;Cl.5,8

20.

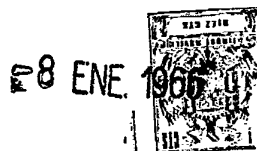
C. 44.0; H. 4,0; N.4.2;Cl.5,5

El análisis ultravioleta da los siguientes máximos: 222, 270 y 372 m.

El análisis infrarrojo muestra los siguientes picos principales a 3.05, 3.2, 5.7, 6.02, 6.03, 6.22, 6.4, 6.88,

25.

7.4, 7.8, 8.1, 8.9 y 9.1 micrones. El perclorato muestra al



321552

análisis ultravioleta máximos de 237, 270 y 372 m.

La lla-flúor-6-desoxi-demetil-6-metileno-5-oxite-
traciclina se prepara en la misma forma, utilizándose la
lla-flúor-5-oxitetraciclina-6,12-hemicetal como compuesto
5. inicial de partida.

EJEMPLO IV:

6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

Procedimiento A:

10. Se agrega 2 g de zinc en polvo a una solución de
5 g del producto descrito en el ejemplo III (en forma de iodo-
hidrato) en 125 ml de ácido clorhídrico diluído (1 parte de
HCl concentrado en 55 partes de agua) a una temperatura de
20°C.

15. Después de haberse agitado durante 10 minutos, se
elimina el zinc por filtración, llevándose lo filtrado a un
pH de 0,3 y se extrae el mismo con butanol. El extracto bu-
tanólico es concentrado bajo presión reducida hasta que se
obtiene un residuo que se tritura con éter. El residuo inso-
20. luble en éter se cristaliza a partir de una mezcla de meta-
nol-acetona-HCl como éter para obtener el clorhidrato-monomé-
tanolato (2,5 g), el cual se derrite, descomponiéndose a
los 205°C. El análisis ultravioleta en el HCl 0.01 N en me-
tanol muestra los máximos λ_{\max} 252 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 450 y λ_{\max} 345
25. μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 302; en el NaOH 0,01N en el metanol, λ_{\max} 235 μ ,
 $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 442; λ_{\max} 254 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 408; λ_{\max} 385 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 329;



321552

λ_{inf} 280 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 329; en el $MgCl_2$ 0,01N en el metanol,
 λ_{max} 240 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 461; λ_{max} 277 μ , $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 326; λ_{max} 351 μ ,
 $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 282.

- El análisis infrarrojo muestra los picos principales a 6,03; 6,2; 6.37; y 6.87 micrones. Un ensayo biológico muestra un valor de 2.000 hasta 2.400 mcg/mg (ensayo turbidimétrico sobre *K.pneumoniae* relacionado con la oxitetraciclina). El análisis elemental del producto da los siguientes valores: C. 55,0; H.5,2; N. 5,5; Cl, 7,0; OCH_3 , 3,4.
10. El producto muestra valores de Rf de 0 y de 0,35 respectivamente en los siguientes sistemas:

	<u>Fase móvil</u>	<u>Fase inmóvil</u>
	(1) 20:3 tolueno-piridina saturado con un tapón pH 4,2	Tapón pH 4,2 (acuoso)
15.	(2) 20:10:3 nitrometano, cloroforno, piridina saturado con un tapón pH 3,5.	Tapón pH 3,5 (acuoso)

Procedimiento B:

- Una mezcla de 1 g del producto lla-cloro- del ejemplo III en 10 ml de metanol conteniendo 200 mg de rodio al 5% sobre carbono se hidrogeniza a la temperatura del ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno, hasta que sea absorbida (2 horas) una cantidad equimolar de hidrógeno. El catalizador es filtrado, lo filtrado se evapora a seco y el residuo se cristaliza como se explica en el método A.

25. Procedimiento C:



321552

- Una mezcla de 1 g del producto 11a-cloro del ejemplo III en 70 ml de agua conteniendo 1 g de hidrosulfito de sodio se agita durante 0,5 hora a temperatura ambiente. Después se extrae la mezcla con butanol y el extracto butanólico se evapora a seco. El producto se cristaliza a partir del residuo como en el procedimiento A.
- 5.

Procedimiento D:

- Se utiliza el mismo método del procedimiento A, se reduce el perclorato de 11a-flúor-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina en 6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.
- 10.

- El clorhidrato-metanolato cristalizado de este ejemplo puede ser recristalizado partiéndose del isopropanol para dar el clorhidrato de 6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina. El producto cristalizado muestra los siguientes picos al análisis infrarrojo: 3.1, 3.75, 6.02, 6.23, 6.36, 6.55, 6.9, 7.35, 7.7, 7.8, 8.15, 8.26, 8.5, 9.27, 9.95, 10.55, 11.8, 11.53, 11.93, y 12.15 micrones.
- 15.

EJEMPLO V:

- 7.11a-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.
- 20.

Procedimiento A:

- Se agrega 1,5 g de N-clorosuccinimida a 5 g de hidrato de iodo de 11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina en 15 ml de ácido fluorhídrico líquido a la temperatura del baño de hielo. La solución se agita durante
- 25.



1966

321552

1 hora a esa temperatura. El producto bruto precipitado por el agregado de 500 ml de éter se recoje por filtración.

Se retoma el producto bruto en metanol a la temperatura de ambiente, el producto insoluble se filtra, lo filtrado se trata con carbón reactivado, se filtra y se concentra bajo presión reducida. El residuo que queda se retoma en ácido clorhídrico diluido a partir del cual el producto se

5. recristaliza como clorhidrato. El análisis ultravioleta en el HCl 0,01N en metanol muestra $\lambda_{\max} 239 \text{ m}\mu E_{1\text{ cm}}^{1\%} 352, \lambda_{\max} 378 \text{ m}\mu E_{1\text{ cm}}^{1\%} 60, \lambda_{\text{inflección}} 258 \text{ m}\mu E_{1\text{ cm}}^{1\%} 324$. El análisis infrarrojo muestra las bandas principales a 5.7, 6.0 y 5.9 $\text{m}\mu$.
- 10.

Procedimiento B:

Se agrega 5 g de 11a-cloro-5-oxitetraclina-6,12-hemicetal a 15 ml de ácido fluorhídrico líquido a una temperatura del baño de hielo. Después de haberse agitado durante 3,5 horas a esa temperatura se aplica el procedimiento A, una vez que se haya agregado el mismo peso de N-clorosuccinimida para obtener el producto.

15. Un otro procedimiento un poco mejor es el siguiente. Después de haberse eliminado la mayor parte del ácido fluorhídrico líquido, se agrega 100 ml. de agua y 5 g de ácido β -naftaleno-sulfónico. El producto precipita como β -naftaleno-sulfonato y se recoje por filtración.
- 20.

Otro procedimiento, comprende la dilución de la



321552

- mezcla reaccional inicial en 6 hasta 7 volúmenes de agua, seguida por el agregado, gota por gota, del ácido concentrado para precipitar el perclorato y el β -naftalensulfonato, tal como se ha dicho en el ejemplo III. El perclorato bruto
5. que se obtiene de este modo se cristaliza en forma de aguas largas a partir del isopropanol y muestra al análisis ultravioleta los máximos de 260 y 377 m μ y una inflexión de 260 m μ . El análisis infrarrojo muestra los de 5,7, 6.0, 6.26, 6.55, 6.88, 7.2, 7.85, y 8.35 micrones.
10. EJEMPLO VI:
7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina.
Procedimiento A:
15. Se agrega 0,45 g de hidrosulfito de sodio a una solución de 0,5 de perclorato de 7,11a-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-ciclina en 7,5 ml de agua y la combinación obtenida se agita durante 12 minutos. El producto se separa y es recojido por filtración. Un ensayo biológico del producto da un valor de 3.400 mcg/mg (ensayo turbimétrico sobre K.pneumoniae relacionado con la oxitetraciclina (1000 mcg/mg).
20. Procedimiento B:
25. 20 g del β -naftalenosulfonato del ejemplo precedente se ponen en suspensión en 500 ml de metanol que contiene 5 g de rodio al 5% sobre carbón y la combinación se hidrogeniza a la temperatura ambiente bajo 1 atmósfera de



321552

8 ENE 1966

hidrógeno. Cuando los 700 ml de hidrógeno han sido absorbidos, la combinación reaccional se filtra y lo filtrado se evapora a seco, para obtener 15,4 g. de residuo.

5. La solución metanólica de 11 g del residuo se adapta a un pH de 6,5 con trietilamina y se pasa por una columna de 8 x 100 cm que contiene 2 kg de polvo de celulosa, siendo el agua la fase fija. La columna es elegida con el acetato de etilo saturado en agua, recogándose fracciones de 45 ml. La evolución de la elución es seguida por cromatografía sobre papel, se recogen las fracciones desde 132 a 260, se evaporan a seco, se agitan en éter y se filtran para dar
10. 2,74 g de un producto anfotérico puro y amorfo.

15. Dicho producto se cristaliza disolviéndose 1,6 g en 40 ml de metanol caliente, removiéndolo durante la operación. Se filtra y se obtiene 890 mg del producto en forma de base anfotérica. El análisis infrarrojo revela los siguientes picos: 2.96, 3.29, 3.42, 6.06, 6.18, 6.30, 6.58, 6.88, 7.19, 7.48, 7.70, 8.23, 9.06, 9.88, 10.63, 19.92, 11.55, y 11.76 micrones. El análisis ultravioleta revela: en HCl
20. 0,01N en el metanol, los máximas de 247 m μ ($\log \xi$ 4,28) y 346 m μ ($\log \xi$ 4,02) y una inflexión de 370 m μ ($\log \xi$ 3,98); en NaOH 0,01N en el metanol, máximas de 234 m μ ($\log \xi$ 4,24), 253 m μ ($\log \xi$ 4,22) y 389 m μ ($\log \xi$ 4,12) y una inflexión de 284 m μ ($\log \xi$ 4,97); en MgCl₂ 0,01M en el metanol, máximas de 241 m μ
25. ($\log \xi$ 4,32), 349 m μ ($\log \xi$ 4,04) y 372 m μ (apoyo) ($\log \xi$ 4,02).



El producto revela los siguientes valores de Rf en los sistemas de solventes indicados:

	<u>Valor de Rf</u>	<u>Fase móvil</u>	<u>Sistema de solventes</u> <u>Fase inmóvil</u>
5.	0,35	acetato de etilo saturado de agua	tapón de fosfato acuoso pH3
	0,33	acetato de etilo saturado de agua	tapón de Mac Ilvaine pH 4,2

10. Un ensayo biológico (sobre K.pneumoniae relacionado a la oxitetraciclina) da un valor de 6000 mcg/mg.

El perclorato cristalino del producto indicado en el ejemplo precedente se hidrogeniza para dar el producto que se cristaliza a partir del metanol y del ácido perclórico al 70%. El perclorato del producto muestra espectro violeta idéntico a él de la base anfótera.

15.

Procedimiento C:

Este producto puede ser obtenido igualmente por reducción del compuesto de partida del procedimiento A con cinco y un ácido siguiendo el método del ejemplo IV.

20.

EJEMPLO VII:

7-bromo-11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-ciclina.

25. Ese producto se prepara siguiendo los procedimientos de A y B del ejemplo V, utilizándose una cantidad equivalente de N-bromosuccinimida en lugar de N-clorosuccinimida.



EJEMPLO VIII:

7-bromo-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina.

5. Ese producto se obtiene a partir del producto indicado en el ejemplo VII tratándolo con hidrosulfito de sodio, tal como se indica en el ejemplo VI.

Los siguientes compuestos son preparados a partir de compuestos lla-halógenos correspondientes al método de los ejemplos precedentes:

10. 7-cloro-lla-flúor-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina

7-iodo-lla-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina

7-bromo-lla-flúor-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina

15. Dichos compuestos son transformados en sus derivados lla-deshalógenos correspondientes por los procedimientos indicados más arriba.

EJEMPLO IX:

20. 7-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina.

25. A una solución de 1,0 g de la base 7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-tetraciclina en 8 ml de ácido fluorhídrico líquido anhidro (HF) a 0°C se le agrega 220 mg de KNO₃. La combinación se agita durante 30 minutos a 0°C y el HF se elimina por una corriente de nitrógeno. El residuo se



tritadura en éter seco, se filtra y se seca. Más abajo se anota los valores del Rf en los sistemas de solventes indicados:

SISTEMA DE SOLVENTES

	<u>Rf</u>	<u>Fase Móvil</u>	<u>Fase Inmóvil</u>
51.	0,2	acetato de etilo saturado de agua	tapón fosfatado acuoso (pH = 3)
	0,55	nitrometan, tolueno, piridina (20:10:3)	tapón de Mac Ilvaine (pH = 3,5)

10. El análisis ultravioleta en NaOH 0,01M en metanol muestra los máxima de 248, 341, y 447 mμ y un apoyo a 275 mμ. Un ensayo biológico muestra un valor inferior a 100 mcg/mg (ensayo turbimétrico sobre K.pneumoniae en comparación con la oxitetraciclina).

EJEMPLO X:

15. 9-nitro-7,11a-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
traciclina.

20. A una solución de 600 mg de perclorato de 7, 11a-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-ciclina en 1,5 ml de ácido fluorhídrico líquido anhidro, se le agrega 100 mg de KNO₃. La mezcla se agita a 5°C durante 15 minutos, para precipitar después el producto en éter, recogiénolo por filtración, una vez que haya sido lavado con éter.

EJEMPLO XI:

25. 9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetra-
ciclina.

A una combinación de 500 mg de 6-desoxi-6-demetil-



5. 6-metileno-5-oxitetraciclina en 1,5 ml de ácido fluorhídrico anhidro y líquido, se le agrega 100 mg de KNO_3 . La mezcla se agita a una temperatura de 15°C durante 30 minutos y se evapora a seco. El residuo se tritura en HCl acuoso al 5% y se extrae con butanol. El extracto butanólico se concentra para obtener el producto.

EJEMPLO XII:

9-nitro-11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

10. Se deja descansar una solución de 5 g de 11a-cloro-5-oxitetraciclina-6,12-hemicetal en 10 ml de ácido fluorhídrico anhidro, durante 3,5 horas, se saca y se agrega 1,2 g de KNO_3 , agitándose. La agitación sigue por una hora a una temperatura del baño de hielo y la mezcla se hecha en 200 ml de éter seco. Se filtra y se lava con éter para obtener el producto bruto.

EJEMPLO XIII:

7-cloro-9-amina-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

20. A una solución de 1,42 g de 7-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 50 ml de agua y 2 ml de HCl conc., se le agrega a 20° 1,3 g de cinco en polvo, agitándose. Después de 15 minutos, la mezcla se filtra y el pH se adapta a 2,5. La combinación se extrae después con butanol (5 x 30 ml). El extracto butanólico da,



después de la concentración, 760 mg de producto (bajo la forma de clorhidrato). Un ensayo biológico (*K. pneumoniae*) da un valor de 1680 mcg/mg. El análisis ultravioleta en HCl 0,01N en MeOH muestra los máximos de 262 y 348 m μ ; en NaOH 0,01N-MeOH, de 264 y 380 m μ .

5.

El producto da los siguientes valores de Rf:

Rf	<u>Sistema de solventes</u>	
	<u>Fase móvil</u>	<u>Fase inmóvil</u>
0,2	Acetato de etilo saturado de agua	tapón acuoso (pH = 3)
0,35	nitrometano, cloroforno, piridina (20:10:3)	tapón de Mac Ilvaine (pH = 3,5)

10.

El producto puede ser obtenida igualmente por reducción (con hidrosulfito de sodio acuoso) de la 9-nitro-7-lla-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

15.

EJEMPLO XIV:

9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

Ese producto se obtiene por la reducción del derivado 9-nitro correspondiente por el hidrosulfito de sodio en agua o SnO $_2$ en ácido clorhídrico acuoso.

20.

EJEMPLO XV:

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

A una solución de 1 g de 1la-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 20 ml de ácido acético,

25.



se le agrega 1 ml ácido nítrico concentrado. Se deja descansar la mezcla durante 2 horas, se evapora después el cuarto del volumen inicial y se agrega 200 ml de éter. El producto se prepara en forma de nitrato y se recoge por filtración.

5. En la misma forma se prepara el derivado lla-fluór correspondiente.

EJEMPLO XVI:

9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

10. Ese producto se obtiene por reducción del producto indicado en el ejemplo precedente según el método del ejemplo IV.

El mismo puede ser obtenido también por reducción química o catalítica de la 9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

15. EJEMPLO XVII:

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

20. Se disuelve 1 g de clorhidrato de 7,lla-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 20 ml de ácido acético y se agrega 1 ml de HNO_3 conc. La combinación se deja reposar durante 12 horas y después se concentra al cuarto de su volumen inicial. Se agrega, gota por gota, 200 ml de éter agitándose y manteniéndose en el baño de hielo. Se sigue con la agitación durante 3 horas y se recoge después
25. el producto por filtración. Se tritura varias veces en éter,



321552

se seca y se obtiene en esta forma el producto bajo la forma de clorhidrato.

Usándose el mismo método se ha obtenido, partiéndose de derivados iniciales correspondientes, los siguientes productos:

5. 7-cloro-lla-fluor-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.
- 7-bromo-lla-fluor-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.
10. 7-iodo-lla-fluor-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.

Dichos productos son transformados en 7-bromo, 7-iodo y 7-cloro-9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina por los métodos de reducción indicados en los ejemplos precedentes.

15.

EJEMPLO XVIII

9-formilamino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina.

20. A una solución de 4,5 g de la base 9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina en 40 ml de piridina seca, se le agrega 20 ml de ácido acetilformico a una temperatura del baño de hielo. La combinación se agita durante 15 minutos a la temperatura del baño de hielo, agregándose después, gota por gota, 1 litro de éter seco. El producto final se filtra, se pone en suspensión en éter y
25. se filtra otra vez.

321552

- 37 -



- El producto bruto se pone en suspensión en 100 ml de agua haciéndose una solución de pH : 4,2 y se agita durante 10 minutos a los efectos de obtener la hidrolización de los grupos O-formil. El pH de la mezcla se adapta entonces a un pH = 5,5 y la solución se seca congelándola, lo que da el producto bruto, el cual será cromatografiado sobre una columna de celulosa para obtener el producto purificado en la fracción principal.

EJEMPLO XIX

10. 9-acetilamino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.

- A una solución de 4,2 g del producto inicial de partida indicado en el ejemplo XVII en 200 ml de tetrahydrofurano seco y 200 ml de metanol seco, se le agrega 20 ml de anhídrido acético. La combinación se agita durante 45 minutos a la temperatura ambiente. Se saca entonces la mayor parte del solvente y se echa la mezcla, gota por gota, en éter seco, se filtra y la masa sólida se retritura en éter, se filtra y se seca para obtener el producto bruto.

20. El producto bruto es cromatografiado como se indica en el ejemplo XVIII y la fracción principal da el producto purificado.

Usándose los métodos de los ejemplos XVIII y XIX, se preparan los siguientes productos:

25. 9-formilamino-7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxi-



tetraciclina.

9-acetalamino-7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxite-
traciclina.

5. 9-butililamino-7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxi-
tetraciclina.

9-propinilamino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraci-
clina.

9-valerilamino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraci-
clina.

10. EJEMPLO XX

11a-clorotetraciclina-6,12-hemicetal.

Ese producto se prepara según el método indicado en el ejemplo II, substituyéndose la oxitetraciclina del ejemplo II con una cantidad equivalente de tetraciclina.

15. EJEMPLO XXI

7,11a-diclorotetraciclina-6,12-hemicetal.

Ese producto se prepara según el procedimiento indicado en el ejemplo XX usando una cantidad equivalente de tetraciclina y sustituyendo el agua por el éter o una mezcla de éter-hexano para precipitar el producto.

20.

EJEMPLO XXII

11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

Se disuelve el 11a-clorotetraciclina-6,12 hemicetal en ácido fluorhídrico líquido (a razón de 2 g/15 ml) a una temperatura de 0°C. La combinación que se obtiene se

25.

321552

- 39 -



- mantiene a esa temperatura durante 10-15 minutos eliminándose después el ácido fluorhídrico. Se tritura el residuo con éter y se obtiene un producto sólido que es la 11a-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en forma de clorhidrato, el cual se recristaliza en metanol.
5. En cambio, el fluorhidrato bruto (10g) se disuelve en 350 ml de agua calentándose y agitándose. Un volumen igual de ácido clorhídrico concentrado se agrega a la solución límpida y el producto cristaliza en forma de clorhidrato.
10. El análisis elemental del clorhidrato que se obtiene en esta forma da los siguientes resultados:
- | | | | | | |
|------------|--------------------------|-----------|---------|--------|--------------|
| Calculado | $C_{22}H_{22}O_7N_2Cl_2$ | C. 53,11; | H.4.56; | N.5.63 | cloruro 7.13 |
| Encontrado | | C. 52,62; | H.4.63; | N.5.54 | cloruro 6.84 |
- El análisis infrarrojo del producto como clorhidrato en una pastilla de KBr en una concentración de 1% releva una absorción debida al carbonil de 5.70 lo mismo que los siguientes picos más importantes: 6.1, 6.2, 6.36, 6.45(apoyo) 6.91, 71.85, 8.14, 8.55, 10,22, 10.55, y 10.89. Un ensayo biológico del producto (*K.pneumoniae*) muestra una actividad de la oxitetraciclina de 50-100 mcg/mg. El análisis ultravioleta de la muestra en 0,01N HCl-metanol revela unos máximos de 376, 278 y 242 m μ . El producto tiene un valor Rf de 0,2 y 0,3 en el siguiente sistema:
- 15.
- 20.

Fase móvilFase inmóvil

20:3 tolueno-piridina saturado
por un tapón con pH 4,2

tapón acuoso con pH 4,2

5. Examinándose a la luz ultravioleta la cromatograma se observa que la mancha del producto no es muy fluorescente. Sin embargo, se se pulveriza encima hidrosulfito de sodio acuoso, la misma se vuelve muy fluorescente.

El epímero en C.4 de ese producto, en estado de impureza, revela un $R_f = 0,1$ en ese sistema.

10. EJEMPLO XXIII

lla-fluor-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

15. Se agita 250 mg de lla-fluor-tetraciclina-6,12-hemicetal en 2 ml de ácido perclórico acuoso al 63%. La parte sólida se disuelve calentándose a 60-65°C. durante 15 minutos, después de lo cual la mezcla se enfría, agregándose agua, obteniéndose en esta forma la lla-fluor-6-desoxi-6-demetil-metileno-tetraciclina en forma de clorhidrato. El análisis ultravioleta revela una absorción parecida a la del ejemplo XXII.

20. EJEMPLO XXIV

25. Los compuestos indicados más abajo son preparados en base a los lla-helotetraciclina-6,12-hemicetales correspondientes, los compuestos lla-fluor por el procedimiento indicado en el ejemplo XXIII y los otros compuestos lla-halógenos por el método indicado en el ejemplo XXII:



321552

7,lla-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
7-cloro-lla-fluor-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
7-bromo-lla-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
7-iodo-lla-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno tetraciclina.

5. EJEMPLO XXV

6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

Método A.

10. El producto indicado en el ejemplo XXII (5 mg) se disuelve en 3 ml de metanol y se agrega una solución fresca de hidrosulfito de sodio (20 mg en 2 ml de agua). Se deja descansar la mezcla durante 15 minutos a la temperatura del ambiente, después de lo cual se elimina el metanol y se extrae con butanol. El extracto butanólico se concentra para obtener el producto 6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina. 15. El producto se cristaliza partiéndose de agua en forma de p-toluenosulfonato con el agregado de ácido p-toluenosulfónico. O también puede ser cristalizado partiéndose de agua en forma de clorhidrato agregándose HCl concentrado.

20. Un ensayo sobre *K. pneumoniae* revela que el producto tiene una actividad de oxitetraciclina de por lo menos 1100 mcg/mg. El producto tiene un valor Rf de 0,6 en el sistema indicado en el ejemplo XXII y un valor Rf de 0,0 en el sistema siguiente:

Fase móvilFase inmóvil

Nitrometan-cloroformo-piridina
20:10:3

tapón acuoso de pH 3,5

5. El epímero en C.4 de esa substancia tiene valores de aprox. 0.4 y de aprox. 0.6 en los otros sistemas.

Método B.

10. Se enfría a 4°C en el baño de hielo una solución de 50 g de clorhidrato de lla-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en 500 ml de éter monometílico o etilen glicol y esta solución, agitada fuertemente, se trata con 50 g de cinc en polvo que se agrega gradualmente en aprox. 10 minutos. Mientras se agrega el polvo de cinc, la temperatura se levanta a 12°C. Cuando se ha terminado de agregar el cinc la temperatura empieza a bajar. Después de una duración reaccional total de 15 minutos, el cinc se elimina por filtración y se lava con un solvente.
15. Se agrega 1 litro de agua a lo filtrado, gradualmente durante aprox. 10 minutos. El complejo del producto con el cinc forma un barro de color amarillo. El pH de la solución se adapta después a 6,8 con hidroxido de sodio acuoso al 10%.
- 20.

25. Se deja descansar dicho barro durante 1 hora y media en un baño de hielo y después se filtra. La pasta húmeda se tritura en 750 ml de agua y se agrega HCl concentrado, gota por gota, hasta que se llega a obtener una solución limpida. Un poco de exceso en HCl concentrado provoca

321552

- 43 -



- una cristalización rápida del clorhidrato de 6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en forma de agua brillante. Después de una hora de descanso, el producto se filtra y se seca. El rendimiento es de 37,8 g. El producto se funde descomponiéndose entre 213,8 y 214°C.
- 5.

EJEMPLO XXVI

- El procedimiento del ejemplo XXV se repite para dechlorar las 11a-cloro-6-metilenotetraciclina indicadas en los ejemplos precedentes, a fin de obtener los siguientes productos:
- 10.

7-bromo-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

Los epímeros en C.4 pueden aparecer en forma de impurezas.

15. EJEMPLO XXVII

11a-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

- Se deja descansar durante doce horas una mezcla de 1 g del producto indicado en el ejemplo XXII en 20 ml de ácido acético conteniendo 1 ml de HNO₃ concentrado, después de lo cual por la adición de 20 ml de H₂O el producto se cristaliza en forma de nitrato. El producto se lava con agua, se seca y se recoge por filtración.
- 20.

EJEMPLO XXVIII

9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

25. Se obtiene el producto partiéndose del compuesto



- lla-cloro correspondiente (ejemplo XXVII) tratando 1 g en 70 ml de agua con un equivalente de hidrosulfito de sodio. La combinación reaccionaria se agita a la temperatura del ambiente durante media hora y el producto buscado se obtiene por extracción butanólica y evaporación a seco del extracto bajo presión reducida.
- 5.

EJEMPLO XXIX

7-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

- Se agrega 220 mg de KNO_3 a una solución de 1,0 g de 7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en 8 ml de ácido fluorhídrico líquido anhidro (HF) a 19°C. Se agita la mezcla durante 30 minutos a 0°C y el HF se evapora bajo una corriente de nitrógeno. El residuo se trata con éter seco, se filtra y se seca.
- 10.

15. EJEMPLO XXX

7-cloro-9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno tetraciclina.

- A una solución de 1,42 g de 7-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-tetraciclina disuelta en 50 ml de agua y 2 ml de HCl concentrado se le agrega agitándose a una temperatura de 20°C. 13 g de polvo de cinc.
- 20.

Después de 15 minutos la mezcla se filtra y el pH se adapta a 2,5 siendo la mezcla extraída con cinco veces 30 ml de butanol. La concentración del extracto butanólico da el producto requerido en forma de diclorhidrato.

25. EJEMPLO XXXI



7,11a-dicloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.

- Se disuelve 1 g clorhidrato de 7,11a-dicloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina en 20 ml de ácido acético y se agrega 1 ml de ácido nítrico concentrado. Se deja descansar la mezcla durante 12 horas y después se concentra a 1/4 del volumen original. Se agrega, gota por gota, 200 ml de éter agitándose, a una temperatura del baño de hielo. Se continua agitando durante 3 horas y el sólido se recupera por filtración. El producto se tritura varias veces en éter y después se seca para obtenerlo en forma de clorhidrato.
- 5.
- 10.

Usándose el mismo método, se obtienen los siguientes productos, partiéndose de los compuestos correspondientes:

15. 7-cloro-11a-flúor-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
- 7-bromo-11a-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
- 7-iodo-11a-flúor-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina.
- 20.

Dichos productos se transforman en 7-bromo, 7-iodo y 7-cloro-9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina por el procedimiento de reducción de los ejemplos precedentes.

EJEMPLO XXXII

- 40 g de 6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina, 1.5 l. de HCl 0,01N y 40 g de rodio sobre carbón al 5% son introducidos en un aparato de hidrogenización. Se
5. hace pasar en el aparato hidrógeno y se lo mantiene a una presión de 1800 libras/pulgada cuadrada (126 kg/cm²) a una temperatura de 30°C durante 20 horas. Después se filtra el catalizador y lo filtrado se seca y se congela para obtener una material sólida, una mezcla de 6-desoxi-5-oxitetraciclina
10. y 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina. El rendimiento de esa operación llega a 60% y puede ser mejorado si se usa rodio al 5% sobre un soporte de sulfato de bario a los efectos de rebajar las pérdidas por absorción que resultan sobre el carbón catalítico de soporte.
15. Se usa una mezcla de metanol y agua (25 ml de cada uno) para disolver 20,8 g de los sólidos brutos de la operación precedentes. Se agrega una solución de 20 g de ácido sulfosalicílico en una combinación de metanol y agua (50 ml de cada uno). Las 6-desoxi-5-oxitetraciclinas cristalizan
20. facilmente en forma de sulfosalicilatos. El barro se filtra, toda la pasta se lava con metanol acuoso al 50% y se seca para obtener 24,2 g de sal (rendimiento de la operación 75%).
25. Se usa una distribución a contra-corriente para separar la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina de la 6-desoxi-5-oxitetraciclina. Con este proposito se disuelven 500 mg

321552

- 47 -



- de sal de la operación precedente en 30 ml de acetato de etilo más 10 ml de fosfato ácido de sodio 2M. Las dos fases resultantes se agitan y el pH se adapta a 6,8 agregándose Na_2HPO_4 . La fase acuosa se separa en una ampolla para decantar y se equilibra con 30 ml de acetato de etilo fresco. Esa
5. operación se repite dos veces más con las partes frescas de acetato de etilo y se separa entonces la fase acuosa. El tapón acuoso Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 de pH 6,8 (10 ml) se pone de un lado y se equilibra con cada una de las capas de acetato de
10. etilo en las cuatro ampollas. Dicha operación se repite otras dos veces con un tapón fresco de pH 6,8. Las cuatro capas de acetato de etilo se juntan y se evaporan a seco para dar 172 mg de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraclina prácticamente pura (rendimiento de la operación aprox. 50%). El producto
15. que queda en las capas del tapón acuoso se concentra para dar la 6-desoxitetraclina (rendimiento de la operación aprox. 50%).

- La 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraclina de la operación precedente se purifica finalmente disolviéndose en 1
20. ml de etanol y agregándose 3 gotas de HCl concentrado. Cristaliza luego en forma de clorhidrato puro cuyo análisis es:

Encontrado:	C. 53.69;	H. 5.81
Calculado:	C. 53.86	H. 5.70

- Dicho producto probado contra la oxitetraclina
25. sobre los *K.pneumoniae* indica 1400 unidades por miligramo.

EJEMPLO XXXIII

Se introduce hidrógeno en un aparato de hidrogenación normal que contiene 10 g de clorhidrato de 6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina, 150 ml de metanol y 5 g de rodio sobre carbón al 5%. La presión se mantiene a 50 libras/pulgada cuadrada (3,5 kg/cm²) con una agitación durante 24 horas a la temperatura del ambiente. Se filtra entonces el catalizador; la pasta se lava con metanol y los filtrados juntados son evaporados a seco. Los sólidos secos son triturados en éter, filtrados y secados de nuevo. Los sólidos resultantes tienen una actividad biológica de 1345 unidades por miligramo sobre *K.pneumoniae*.

35 ml de agua se usan para disolver 8,5 g del producto indicado más arriba y el pH se adapta a 6 con trietilamina, agregándose bastante dimetilformamida para mantener los sólidos en solución. Se pone en suspensión 2 kg de polvo de celulosa en agua saturada de acetato de etilo y se echa todo en una columna de aprox. 9 cm de diámetro y de un alto de 0,9 m. Se cromatografía entonces la solución del producto sobre la misma columna, procediéndose a una elutriación con aprox. 12 litros de agua saturada de acetato de etilo. La primera fracción conteniendo el producto que ha sido recogida bajo la columna da 1,85 g de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraclina. La fracción siguiente contiene 2,0 g de 6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraclina. La tercera fracción

321552

- 49 -



da 0,8 g de 6-desoxi-5-oxitetraciclina.

EJEMPLO XXXIV

5. A una solución de 500 mg de clorhidrato de 7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 25 ml de metanol, se le agrega 500 mg de paladio sobre carbón al 5%. La suspensión es hidrogenizada a la presión atmosférica hasta que no haya más absorción de hidrógeno. El catalizador se separa por filtración y lo filtrado se evapora a seco in vacuo. Una cromatografía sobre papel del residuo, revela
10. fuertes concentraciones de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina y 6-desoxi-5-oxitetraciclina con vestigios del producto inicial de partida.

15. El procedimiento del párrafo precedente se repite usándose como producto de partida los clorhidratos de los siguientes productos:
- 7-bromo-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.
7-iodo-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina.
7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina,
20. para obtener mezclas separables de las 7-deshalo-6-epi-6-desoxitetraciclinas y 7-deshalo-6-desoxitetraciclinas correspondientes.

25. De la misma manera se reducen los clorhidratos de 7-cloro-9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina, 7-cloro-9-acetilamino-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina y 7-cloro-9-amino-6-desoxi-6-demetil-6-



metilentetraciclina para obtener combinaciones separables de los 7-deshalo-9-sustituidos-6-epi-6-desoxitetraciclinas y 7-deshalo-9-sustituidos-6-desoxitetraciclinas.

5. De la misma manera, los clorhidratos de 7,11a-dicloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraciclina y de 7-bromo-11a-cloro-9-nitro-6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraciclina son reducidos en mezclas separables de 9-amino-6-epi-desoxitetraciclina y de 9-amino-6-desoxitetraciclina.

EJEMPLO XXXV

10. A una solución de 500 mg de clorhidrato de 7-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metileno-5-oxitetraciclina en 25 ml de metanol, se le agrega 500 mg de rodio sobre carbón al 5%. La suspensión se hidrogeniza a una presión de 2.000 p.s.i. hasta que una masa de hidrógeno ha sido absorbida. El catalizador se elimina por filtración y lo filtrado se evapora en seco in vacuo. Una cromatografía sobre papel, utilizando el sistema de solventes acetato de etilo-agua se aplica para aislar la 7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.
- 15.

EJEMPLO XXXVI

20. Se satura en hidrógeno una suspensión de 1 g de dióxido de platino en 500 ml de metanol. Se agrega una solución de 15 g de 9-nitro-6-metileno-5-oxitetraciclina en 200 ml de metanol y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. La suspensión se hidrogeniza en las condiciones atmosféricas hasta que 3 moles de hidrógeno han sido consumidas. La eli-
- 25.

321552



minación del catalizador se obtiene por filtración y la evaporación de lo filtrado da un residuo que es la 9-amino-6-metileno-5-oxitetraclina.

EJEMPLO XXXVII

5. Se agrega 500 mg de paladio sobre carbón al 5% a soluciones separadas de 500 mg de clorhidrato de lla-cloro-6-desoxi-6-demetil-6-metilenotetraclina y del derivado correspondiente lla-fluor en 25 ml de metanol. Cada suspensión se hidrogeniza después a la presión atmosférica hasta que un mol de hidrógeno ha sido absorbida. El catalizador se elimina por filtración y lo filtrado se evapora en seco in vacuo. Los compuestos separados son respectivamente la 6-desoxi-6-demetil-6-metilentetraclina y una mezcla de lla-flúor-6-desoxitetraclina y lla-flúor-6-epi-6-desoxitetraclina.
- 10.

15. EJEMPLO XXXVIII

- A 50 g de una combinación de productos lla-flúor-6-desoxitetraclina y lla-flúor-6-epi-6-desoxitetraclina del ejemplo XXXVII disueltos en 1,25 ml de HCl acuoso al 1% se agrega 30 g de cinc en polvo y la mezcla se agita durante 15 minutos a 20°C. El cinc se elimina por filtración y el producto se extrae de la mezcla reactiva con butanol. Una vez evaporado a seco, se obtiene una combinación de 6-desoxite-
traclina y de 6-epi-desoxitetraclina.
- 20.

EJEMPLO XXXIX

25. Salas obtenidas por agregado de ácido de 6-epi-6-desoxi-5-



321552

oxitetraciclina.

5. La 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina se disuelve en metanol que contiene una cantidad equimolar de ácido clorhídrico. El clorhidrato se precipita por el agregado de éter, se recoge por filtración y se seca. El clorhidrato se recristaliza en butanol.

10. De la misma manera, otras sales obtenidas por agregar el ácido de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina son preparadas utilizándose, en lugar del ácido clorhídrico, los ácidos sulfurico, nítrico, perclórico, bromhídrico, fosfórico, fluorhídrico, p-toluensulfónico, iodhídrico, tartarico, acetico, cítrico, málico, benzóico, glicolico, glucolico, gulónico, succínico y sulfosalicílico.

15. Se prepara también de la misma manera las sales obtenidas por adición del ácido de los productos precitados en los ejemplos indicados más abajo. Estas sales obtenidas agregándose ácido y que no son aprobadas del punto de vista farmacéutico, pueden ser usadas en forma común, para la purificación en la preparación, o en los compuestos anfotericos
20. o sea en sus sales obtenidas por agregado de ácido y que son aprobados del punto de vista farmacéutico. Además, las sales obtenidas por el agregado de ácido que no son aprobadas del punto de vista farmacéutico, pueden ser útiles como intermediarias en la preparación de otros productos del presente invento, tal como se verá en los ejemplos que siguen.
- 25.



306

321552

EJEMPLO XL

Sales metálicas de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

5. La sal de sodio de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina se prepara disolviéndose el compuesto anfotérico en metanol conteniendo una cantidad equimolecular de hidroxido de sodio y evaporando la mezola resultante in vacuo. Otras sales metálicas son preparadas en la misma forma, entre las cuales se puede nombrar las sales de potasio, calcio, bario, litio y estroncio.
10. Los complejos sales metalicos de la 6-epi-6-desoxi-6-oxitetraciclina se preparan disolviéndose en alcohol alifático inferior, preferentemente metanol y tratandola con una cantidad equimolecular de la sal metálica elegida disuelta preferentemente en el alcohol elegido. Los complejos-sales insolubles se aíslan por simple filtración. Sin embargo, la mayoría son solubles en alcohol y se pueden recuperar evaporándose el solvente o agregándose un no-solvente tal como el éter dietilico.
15. De esta manera, los complejos-sales metalicos de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina representados principalmente por compuestos conteniendo el metal y la 6-epi-6-desoxitetraciclina en una relación de 1/1, se preparan utilizándose las siguientes sales metalicas: cloruro de calcio, cloruro de cobalto, sulfato de magnesio, cloruro de magnesio,
20. cloruro de estanio, cloruro de cinc, cloruro de cadmio, clo-
- 25.



1900

321552

- ruro de bario, nitrato de plata, nitrato de estanio, nitrato de estroncio, acetato de magnesio, cloruro de paladio, cloruro de manganeso, cloruro de cerio, cloruro de titanio, cloruro de platino, cloruro de vanadio, acetato de plomo,
5. bromuro de estanio, sulfato de cinc, cloruro de cromo, y cloruro de niquel.

Y de la misma manera se preparan los complejos-sales de los metales relacionandose con los productos que se indican más abajo.

10. EJEMPLO XLI

6-epi-6-desoxi-lla-cloro-5-oxitetraciclina.

- A una solución fria y que se agita de 1 g de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 15 ml de dimetoxietano, se le agrega 0,35 g de N-cloro-succinimida. Después de 20 minutos a 0-5°C, el producto se precipita agregándose éter, se filtra y se lava con éter.
- 15.

EJEMPLO XLII

6-epi-6-desoxi-lla-flúor-5-oxitetraciclina.

- Se enfría a 0°C una suspensión de 4,8 g de clorhidrato de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 100 ml de metanol mientras se hace pasar una corriente de nitrógeno. Se agrega 20 ml de una solución normal de metoxi de sodio en metanol y la combinación es saturada con fluoruro de percloretil. Se deja la mezcla en el refrigerador durante 24 horas ya que después de ese tiempo se han formado los cristales
- 20.
- 25.



321552

de clorato del producto deseado. Lo filtrado da una segunda cantidad de cristales menos puros.

EJEMPLO XLV

6-epi-6-desoxi-7-cloro-5-oxitetraciclina.

5. (1) 1 g del producto indicado en el ejemplo XLIII se agrega a 50 ml de metanol conteniendo 100 mg de rodio sobre carbón al 5%. La mezcla se somete a una presión de 3 atmósferas de hidrógeno a una temperatura de 32°C. Se suspende la hidrogenización cuando no hay más hidrógeno absorbido; la
10. mezcla se filtra y la solución resultante se evapora a seco bajo una presión reducida. El residuo se tritura en 25 ml de éter, se filtra y se seca para obtener el producto deseado.

15. (2) Cantidades equivalentes de 6-epi-6-desoxi-7,lla-dicloro-5-oxitetraciclina, de ioduro de sodio y de polvo de cinc se calientan a reflujo en acetona durante 30 minutos. La combinación reaccional se enfría y se concentra bajo presión reducida para obtener el producto deseado.

20. (3) Se agrega 0,45 g de hidrosulfito de sodio a una solución de 0,45 h de perclorato de 6-epi-6-desoxi-7,lla-dicloro-5-oxitetraciclina y la mezcla resultante se agita durante 12 minutos. Se separa el producto y se recoge por filtración.

EJEMPLO XLVI

25. 6-epi-6-desoxi-7-penilazo-lla-cloro-5-oxitetraciclina.



321552

- Una cantidad molar de anilina se disuelve en ácido clorhídrico AN a razón de 20 ml por gramo de anilina y esa solución se trata con un equivalente de nitril de sodio a una temperatura de 0°C. La solución resultante de cloruro de benzeno diazonio se mezcla a una temperatura que va desde 0°C a 20°C, con una solución acuosa de un equivalente de 6-epi-6-desoxi-lla-cloro-5-oxitetraciclina y una cantidad equivalente de hidroxido de sodio. Esa solución contiene bastante carbonato de sodio para neutralizar el exceso de ácido clorhídrico que contiene la solución de anilina diazotada. El pH de la solución resultante es de 8 a 10. Se continua la agitación a 0°C durante aprox. 2 horas, durante ese tiempo se separa la 6-epi-6-desoxi-7-fenilazo-lla-cloro-5-oxite-traciclina. El producto se filtra, se lava y se seca.
- 5.
- 10.
15. EJEMPLO XLVII
6-epi-6-desoxi-7-amino-5-oxitetraciclina.
- Una parte en peso de 6-epi-6-desoxi-7-fenilazo-lla-cloro-5-oxitetraciclina se mezcla con 20 partes en peso de metanol y se agrega 1/5 de parte en peso de paladio sobre carbón al 5% (catalizador de hidrogenización). La combinación se hidrogeniza a 30-45 p.s.i. en un aparato común a 30° hasta que se termina la absorción de hidrógeno. Se filtra después el catalizador y lo filtrado se evapora a seco. El residuo es una mezcla de anilina y de 6-epi-6-desoxi-7-amino-5-oxitetraciclina. La anilina se elimina de residuo, lavan-
- 20.
- 25.



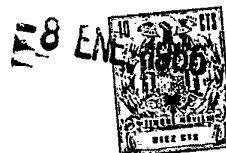
321552

dolo con éter.

EJEMPLO XLVIII

6-epi-6-desoxi-7-nitro-5-oxitetraciclina.

- 4,58 g de 6-epi-6-desoxi-7-amino-5-oxitetraciclina
5. se disuelven en 20 ml de ácido nítrico 6N a 0°C y son tratados con 0,7 g de nitrilo de sodio. Se agrega luego a esa solución una suspensión de óxido de cobre en agua preparada por reducción de una solución acuosa de sulfato de cobre (aprox. 5 g en 50 ml de agua) con una solución alcalina de
10. glucosa seguida de una neutralización con ácido acético. Se produce una reacción, durante la cual se desprende nitrógeno. La mezcla es muy acidulada para poder descomponer los complejos de cobre y la 6-epi-6-desoxi-7-nitro-5-oxitetraciclina se extrae de la solución con metilisobutilcetona.
15. Dicho compuesto puede ser preparado también, en el mismo tiempo con la 6-epi-6-desoxi-9-nitro-5-oxitetraciclina por nitratación directa de la 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina. En práctica, se disuelve 0,96 g de clorhidrato de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina a 0-5°C en 10 ml de ácido sulfúrico conc. tratándose luego, gota por gota con una solución
20. 10:1 de ácido sulfúrico conc. y ácido nítrico 70% agitándose y manteniéndose la misma temperatura durante un período de 15 minutos. Se echa luego la solución en 400 ml de éter anhidro y las 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina nitradas se
25. precipitan en forma de sulfato ácido. El precipitado se fil-



321552

- tra, se lava y se seca. Ese producto bruto de nitratación se recrystaliza en aprox. 5 ml de metanol y da una combinación de 7-nitro y 9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraclina. La mezcla se separa por cromatografía de separación sobre una
5. columna con el sistema toluen-piridina-agua. El compuesto 7-nitro es menos polar y es elutrado primero.

La técnica del diazonio presenta la ventaja de dar el derivado de 7-nitro solo y de evitar esta separación.

EJEMPLO XLIX

10. 6-epi-6-desoxi-7-acetilamina-5-oxitetraclina.

- A una solución de 4,58 g de 6-epi-6-desoxi-7-amino-5-oxitetraclina en 200 ml de tetrahidrofurano y 200 ml de metanol seco, se le agrega 20 ml de anhídrido acético. La combinación se agita durante 45 minutos a la temperatura del ambiente. A esa mezcla se le quita luego la más grande parte del solvente y se echa gota por gota, en éter seco, se filtra y la pasta sólida se retritura en éter, se filtra y se seca para obtener el producto bruto. El producto bruto se cromatografía sobre una columna de celulosa y el producto
15. purificado se obtiene en la fracción principal.
- 20.

Usándose el mismo método se ha producido los siguientes productos:

- 6-epi-6-desoxi-7-formilamino-5-oxitetraclina.
6-epi-6-desoxi-7-butyrylamino-5-oxitetraclina.
25. 6-epi-6-desoxi-7-propinoilamino-5-oxitetraclina.



321552

6-epi-6-desoxi-7-valerilamino-5-oxitetraciclina.

EJEMPLO L

6-epi-6-desoxi-9-nitro-oxitetraciclina.

5. A una combinación de 450 mg de 6-epi-desoxi-5-oxitetraciclina en 5,0 ml de ácido fluorhídrico líquido anhidro, se le agrega 100 mg de nitrato de potasio. La mezcla se agita a 15°C durante 30 minutos y luego se evapora a seco. El residuo se tritura en éter y se filtra para obtener el producto bruto, el cual a su vez se tritura en ácido clorhídrico acuoso al 5% y se extrae después con butanol. El extracto butanólico se concentra para obtener el producto que se recristaliza en agua y ácido clorhídrico.
- 10.

EJEMPLO LI

6-epi-6-desoxi-9-amino-5-oxitetraciclina.

15. Se agrega, agitándose, a una temperatura de 20°C, 1,3 g de cinc en polvo, a una solución de 2,5 g de 6-epi-6-desoxi-9-nitro-5-oxitetraciclina en 50 ml de agua y 2 ml de HCl concentrado. Después de 15 minutos, la mezcla se filtra y el pH se adapta a 2,5 y se extrae la combinación con butanol.
20. El extracto butanólico se concentra y da el producto deseado en forma de diclorohidrato.

EJEMPLO LII

6-epi-6-desoxi-9-formilamino-5-oxitetraciclina.

25. 20 ml de ácido acetilformico se agregan a una temperatura del baño de hielo, a una solución de 7,0 g de 6-epi-



321552

- 6-desoxi-9-amino-5-oxitetraciclina en 40 ml de piridina seca. La mezcla se agita a esa temperatura durante 15 minutos y se echa luego, gota por gota, en un litro de éter seco. El producto se filtra, se retritura en éter y se vuelve a filtrar. El producto bruto se pone en suspensión en 100 ml de agua, haciéndose una solución de un pH de 4,2 y se agita durante 10 minutos para hidrolizar los grupos O-formil. El pH de la mezcla se adapta luego a 5,5 y la solución se congela y se seca para dar el producto bruto, el cual a su vez se cromatografía sobre una columna de celulosa, obteniéndose el producto purificado en la fracción principal.
- 5.
- 10.

De la misma manera, se preparan los siguientes productos:

- 6-epi-6-desoxi-9-acetilamino-5-oxitetraciclina.
15. 6-epi-6-desoxi-9-butirilamino-5-oxitetraciclina.
- 6-epi-6-desoxi-9-propionilamino-5-oxitetraciclina.
- 6-epi-6-desoxi-9-valerilamino-5-oxitetraciclina.

EJEMPLO LIII

6-epi-6-desoxi-9-cloro-5-oxitetraciclina.

20. A una solución, enfriada en un baño de hielo, de 1,04 g de clorhidrato de 6-epi-6-desoxi-9-amino-5-oxitetraciclina en 5 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico concentrado, se agrega, debajo de la superficie líquida 150 mg de nitrito de sodio en 2 ml de agua. Luego de haberse agitado
25. durante 20 minutos, se agrega 50 mg de urea para eliminar



321552

- el exceso de ácido nítrico. Se agrega cloruro de cobre HCl y la mezcla se agita a la temperatura del ambiente durante 5 minutos. Luego se pone en un baño de agua a 50°C durante 20 minutos, se enfría y se extrae con butanol normal. El
5. extracto se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a seco.
- El cloruro de cobre se prepara agregándose una solución caliente de 600 mg de sulfato de cobre pentahidratado, y 160 mg de cloruro de sodio en 2 ml de agua a 160 mg de bisulfito de sodio en 1,7 ml de hidróxido de sodio 1,1N. La
10. mezcla se enfría y el sólido se lava con 1 ml de agua. Luego se disuelve en 1 ml de HCl concentrado y usado como más arriba.
- El p-toluensulfonato cristalino se prepara por el método habitual.
15. EJEMPLO LIV
7-cloro-9-nitro-6-epi-desoxi-5-oxitetraciclina.
- Se agrega 220 mg de KNO_3 a una solución de 1 g de la base 7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 8 ml ácido fluorhídrico líquido anhidro a 0°C. La mezcla se agita
20. durante 30 minutos a 0°C y el ácido fluorhídrico se elimina con una corriente de nitrógeno. El residuo se tritura en éter seco, se filtra y se seca a fin de obtener el producto deseado.
- EJEMPLO LV
25. 9-nitro-7-lla-dicloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.



321552

A una solución de 600 mg de perclorato de 7,lla-di-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 1,5 ml de ácido fluorhídrico líquido anhidro se agrega 100 mg de KNO_3 . Se agita la mezcla durante 30 minutos y luego se evapora a seco.

5. El residuo se tritura en éter y se filtra para obtener el producto bruto, el cual a su vez se tritura en HCl acuoso al 5%, se extrae con butanol. El extracto butanólico se concentra y se obtiene el producto que se recristaliza en agua y ácido clorhídrico.

10. EJEMPLO LVI

9-nitro-11a-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

Una solución de 5 g de 11a-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 10 ml de ácido fluorhídrico anhidro se deja descansar durante 3,5 horas luego se agrega agitándose 1,2 g de KNO_3 . La agitación continua durante 1 hora más a la temperatura del baño de hielo y la mezcla se echa en 200 ml de éter seco. El precipitado formado se filtra y se lava con éter a fin de obtener el producto bruto.

15.

EJEMPLO LVII

20. 7-cloro-9-amino-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

Agitándose a una temperatura de 20°C se agrega 1,3 g de cinc en polvo a una solución de 1,42 g de 7-cloro-9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina disuelta en 50 ml de agua y 2 ml de HCl conc. A los 15 minutos la mezcla se filtra, el pH se adapta a 2,5 y la mezcla se extrae 5 veces con

25.



321552

30 ml de butanol por extracción. Los extractos butanólicos reunidos dan después de la concentración el producto deseado en forma de diclorhidrato.

5. Se obtiene el mismo producto por reducción con hidrosulfito de sodio acuoso de la 9-nitro-1,11a-dicloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

EJEMPLO LVIII

7,11a-dicloro-9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

10. Se disuelve 1 g de clorhidrato de 7,11a-dicloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 20 ml de ácido acético y se agrega 1 ml de HNO_3 conc. Se deja descansar la mezcla durante 12 horas y luego se concentra hasta un cuarto de su volumen inicial. Se agrega, gota por gota, a 200 ml de éter agitándose a una temperatura del baño de hielo. Se sigue
15. agitando durante 3 horas y se recupera luego el sólido por filtración. El sólido se tritura varias veces en éter y luego se seca para obtener el producto en forma de clorhidrato. Usándose el mismo procedimiento se ha obtenido los siguientes productos a partir de los correspondientes compuestos
20. de partida:

7-cloro-11a-fluor-9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.
7-bromo-11a-cloro-9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.
7-iodo-11a-flúor-9-nitro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

25. Esos productos se transforman respectivamente en 7-cloro-7-bromo- y 7-iodo-9-amino-6-epi-6-desoxi-5-oxitetra-

321552

- 64 -



ciclinas por el procedimiento de reducción indicados en los ejemplos precedentes.

EJEMPLO LIX

9-formilamino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

5. A una solución de 4,5 g de la base 9-amino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-tetraciclina en 40 ml de piridina seca, se agrega 20 ml de ácido acetilfórmico a una temperatura del baño de hielo. La mezcla se agita durante 15 minutos a esa temperatura y luego se agrega gota por gota a un litro de éter seco. El producto se filtra, se tritura en éter y se vuelve a triturar. El producto bruto se suspende luego en 100 ml de agua realizándose una solución de un pH de 4,2 y se agita durante 10 minutos para hidrolizar los grupos O-formil. Se adapta luego el pH de la combinación a 5,5 y la solución se congela y se seca a fin de obtener el producto bruto, el cual se cromatografía sobre una columna de celulosa, obteniéndose en la fracción principal el producto purificado.

EJEMPLO LX

20. 9-acetilamino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

25. A una solución de 4,2 g de la base de 7-cloro-9-amino-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina en 200 ml de tetrahidrofurano seco y 200 ml de metanol seco se agrega 20 ml de anhídrido acético, agitándose la combinación durante 45 minutos a la temperatura del ambiente. Se elimina de la mez-



321552

5. cla la más grande parte del solvente, se echa en éter seco, se filtra y la pasta sólida se retritura en éter, se filtra y se seca para obtener el producto bruto. El producto bruto se cromatografía como se indica en el ejemplo LIX para obtener el producto purificado en la fracción principal.

- Utilizándose los procedimientos del ejemplo LIX y del presente ejemplo se obtienen los siguientes productos:
- 9-butirilamino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.
9-propionilamino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina
10. 9-valerilamino-7-cloro-6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina.

EJEMPLO LXI

Una suspensión de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina se prepara con los siguientes compuestos:

- | | | |
|-----|--|----------|
| | antibiótico | 31,42 g |
| 15. | sorbitol acuoso 70% | 714,29 g |
| | glicerina U.S.P. | 185,35 g |
| | goma acacia (solución 10%) | 100 ml |
| | pirolidona de polivinilo | 0,5 g |
| | parahidroxibenzoato de butilo (preservativo) | 0,172g |
| 20. | parahidroxibenzoato de propilo(preservativo) | 0,094g |
| | agua destilada para obtener | 1 litro |

- A esa suspensión se le puede agregar según gusto varios agentes edulcorantes y aromatizantes, así como colorantes aprobados. La suspensión contiene aproximadamente
25. 25 mg de actividad antibiologica por litro.



321552

EJEMPLO LXII

Una suspensión de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina se prepara con los siguientes compuestos:

	antibiótico	30,22 g
5.	cloruro de magnesio hexahidrato	12,36 g
	monoetanolamina	8,85 ml
	propilen glicol	376 g
	agua	94 ml

La solución tiene una concentración de 50 mg/ml y conviene para administración parenteral y especialmente para administración intramuscular.

EJEMPLO LXIII

Una base de comprimidos se prepara mezclándose los siguientes ingredientes: en proporciones indicadas en peso:

15.	sucro U.S.P.	80,3
	almidón de tapioca	13,2
	estearato de magnesio	6,5

A esa base, se mezcla bastante 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina para obtener comprimidos conteniendo 25, 100 y 250 de ingredientes activos.

EJEMPLO LXIV

Se prepara una mezcla conteniendo los siguientes ingredientes:

	carbonato de calcio U.S.P.	17,6 g
25.	fosfato decalcico	18,8

321552

- 67 -



trisilicato de magnesio U.S.P.	5,2
lactosa U.S.P.	5,2
almidón de papas	5,2
estearato de magnesio A	0,8
estearato de magnesio B	0,35

Se agrega a esa mezcla bastante 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina para obtener cápsulas conteniendo 25, 100 y 250 de ingredientes activos.

EJEMPLO LXV

1000 g de 6-epi-6-desoxi-5-oxitetraciclina y mezcla y se tritura bien con 2500 g de ascorbato de sodio. La mezcla triturada y seca se echa en ampollas esterilizada con óxido de etileno y las ampollas se cierran en forma estéril. Para la administración intravenosa se agrega bastante agua a las ampollas a fin de obtener una solución conteniendo 10 mg de ingrediente activo por ml.

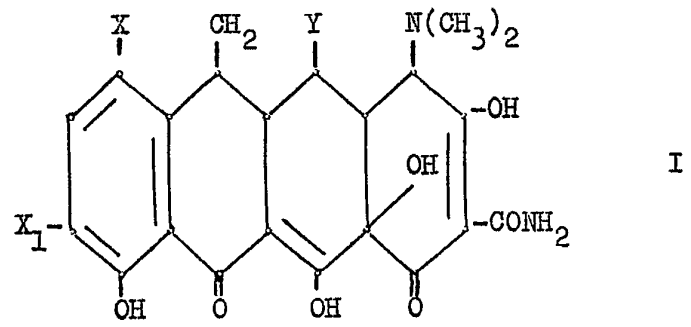
- N O T A -

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, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Introducción, por 10 años en España: "PROCEDIMIENTO CATALITICO PARA LA HIDROGENACION DE TETRACICLINA"; caracterizándose por lo siguiente:

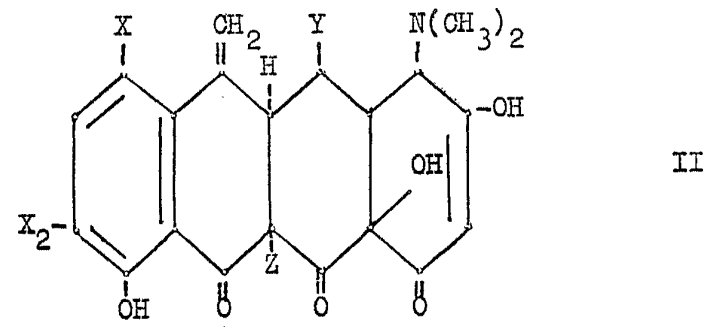


- 68 -
32 1552

5. 1ª - Procedimiento catalítico para la hidrogenación de tetraciclina caracterizado porque comprende el hidrogenar, en un medio disolvente inerte a la reacción, que contiene una cantidad catalítica de un catalizador de metal noble, un compuesto de tetraciclina seleccionado del grupo formador por:



y



10 en los que Y se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno e oxhidrilo; X se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, cloro, iodo y bromo; X₁ se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, amino, y alcanoilamino inferior; X₂ se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno y nitro; y Z se selecciona

321552

- 69 -



5. del grupo que consiste de cloro y fluoro; manteniéndose el hidrógeno en contacto con dicha mezcla de reacción a una temperatura comprendida entre 0 a 60° aproximadamente, y a una presión comprendida entre la atmosférica y 140'6 kg/cm², hasta que se adicionan de 1 a 6 moles de hidrógeno por mol de dicho compuesto de tetraciclina.
10. 2ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el catalizador de metal noble es el rodio.
- 3ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el catalizador de metal noble es el paladio.
15. 4ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque los compuestos resultantes de 6-desoxi- y de α -6-desoxitetraciclina se recuperan separadamente.
20. 5ª - Procedimiento según la reivindicación 4ª, caracterizado porque la mezcla resultante de compuestos se separa para obtener α -6-desoxi-5-oxitetraciclina relativamente pura.
- 6ª - Procedimiento catalítico para la hidrogenación de tetraciclina, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

Madrid,
8 ENE 1966
P.F. PFIZER & CO., INC.

GOMEZ ACEDO Y MOLES
p. p. Firmado: B. Hernández Ruiz