

336164

S/Ref: VS/os/EB-272

N/Ref: OG. 14.468.-MI



27 FINE

PATENTE DE INVENCION

336164

MEMORIA DESCRIPTIVA

Sobre:

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE  
ANTIBIOTICOS DEL GRUPO DE LAS TETRACICLINAS"

-----

Solicitante: STABILIMENTI CHIMICO-FARMACEUTICI DOTT. R. RAVA-  
SINI & CIA., S. p. A., entidad italiana, domici-  
liada en Via Ostilia n° 15, ROMA, Italia.

-----

Inventores: Don Feriano BANCI y Don Ezio TUBARO.

-----



336164

27 EN

La presente invención tiene por objeto un procedimiento para la preparación de unos nuevos y útiles derivados de las tetraciclinas, dotados de propiedades peculiares e inusitadas,

5. Se sabe que las tetraciclinas reaccionan con el formaldehído y las aminas primarias y secundarias (J. Am. Chem. Soc. 81,1198, 1959; Patente de la República Federal Alemana nº 1.044.806) y con el formaldehído y los aminoácidos carboxílicos (Boll. Chim. Farmaceutico 100, 9, 1961 - Patente belga 597.187) y con el formaldehído solo (Patente República Federal Alemana 1.196.648) para dar unos derivados solubles en el agua.

15. Un objeto de la presente invención son los productos de condensación de las tetraciclinas con el formaldehído y con un tipo peculiar de aminas que contienen una función ácida sulfurada, productos que no han sido descritos anteriormente. Estos productos han mostrado unas propiedades farmacológicas sorprendentes.

20. Otro objeto de esta invención está constituido por el procedimiento de preparación de los productos que forma el objeto principal de la misma invención.

25. Otro objeto de esta invención consiste en la aplicación de dichos productos de condensación de las tetraciclinas como componentes de formulaciones farmacéuticas, en especial como medicamentos antibacterianos.

Los compuestos de la invención son los productos de reacción entre una tetraciclina y el formaldehído y un tipo determinado de amina que contiene en su molécula una función ácida sulfurada y caracterizada por la siguiente fórmula:





336164

27

en la que R puede ser hidrógeno o alcoholilo o hidroxil-alcoholilo con más de 4 átomos de carbono; Z es  $\text{CH}_2$  ó  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ; X es OH cuando Z =  $\text{CH}_2$  o bien X es H ó SH cuando Z =  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ .

Las aminas derivadas de esta fórmula general, úti-

5. les para la invención, son, por ejemplo: el ácido aminometano sulfónico, el ácido metilaminometano sulfónico, el ácido etilaminometano sulfónico, el ácido n-butilaminometano sulfónico, el ácido  $\beta$ -hidroxil-etilaminometano sulfónico, el ácido 1-amino-2-etano sulfónico, el ácido 1-amino-2-etano tiosulfónico, o bien, de cualquier modo, los que se pueden obtener variando la fórmula general entre los límites citados anteriormente.

15. Cuando se dejan reaccionar dichas aminas en condiciones apropiadas con formaldehído y una tetraciclina se obtienen los compuestos que constituyen el objeto de la presente invención.

20. En lo que respecta a la constitución molecular de dichos productos, se puede decir que el análisis elemental (y a este respecto es especialmente significativo el del S que es el nuevo elemento característico) indica en estos nuevos derivados una relación molecular aminatetraciclina de 1:2. El espectro infrarrojo indica la presencia de la banda de la amida secundaria, lo que demuestra que la tetraciclina se liga con la amina que contiene la función ácida sulfurada, a través del grupo carboxi-amídico por medio de un puente metilénico; puesto que las relaciones moleculares 1:2 entre la amina y la tetraciclina son respetadas bien con las aminas donde R = H, o con las aminas donde R = alcoholilo o hidroxil-alcoholilo, ésto permite suponer que una molécula de tetraciclina está ligada con la amina como aminometil-derivado y la

336164



segunda molécula de tetraciclina tiene un enlace diferente todavía sin establecer de un modo definitivo.

Lo que acabamos de indicar constituye un nuevo dato con respecto a la constitución molecular íntima de los  
5. productos de la invención, constitución que había sido indicada por nosotros anteriormente de manera provisional y sucinta con base sobre análisis aproximados preliminares.

En todo caso, con relación al aspecto estructural, no tenemos intención de meternos en consideraciones teóricas,  
10. dado que lo que cuenta es sobre todo el hecho de que operando de acuerdo con el procedimiento objeto de la presente invención se obtienen unos productos que presentan una composición definida y constante, para los que el espectro infrarrojo muestra siempre dicha absorción, y los análisis elementa-  
15. les varían simplemente entre los límites del error experimental e indican una relación molecular amina-tetraciclina que es la que hemos indicado anteriormente, es decir, 1:2.

Las tetraciclinas particularmente útiles para la invención son: tetraciclina, 7-clorotetraciclina, 5-hidroxitetraciclina; no obstante, de acuerdo con el procedimiento  
20. de la invención, se puede transformar también la 7-cloro-6-demetiltetraciclina, la 6-demetiltetraciclina, así como sus isómeros.

En los productos de reacción el grupo ácido procedente de la amina con función ácida sulfurada puede estar libre o bien salificado por el sodio, potasio o por una base orgánica, incluídos los antibióticos de naturaleza básica como la kanamicina, la estreptomycin, la eritromicina; se prefieren los productos salificados por el sodio.

30. Los nuevos derivados son generalmente muy solubles



336164

en el agua y algunos de ellos presentan una elevada estabilidad en solución, ésta es la razón por la que son aptos para ser utilizados bien por vía oral o parenteral, dado que son bien absorbidos sea cual sea la vía de administración.

- 5. En las tablas expuestas a continuación hemos indicado las propiedades determinadas de algunos productos preferidos que están comprendidos dentro del campo de la invención; pero es evidente que hemos efectuado experimentos similares con los otros productos que constituyen el objeto de la presente invención, y hemos obtenido resultados cualitativamente análogos, aunque cuantitativamente diferentes.

TABLA I

Protección por vía oral de los ratones blancos Swiss infectados con Klebsiella pneumonias:

- 15. Todos los ED<sub>50</sub> están expresados en mg. de clorotetraciclina clorhidrato con el fin de permitir una comparación directa.

	<u>Producto</u>	<u>ED<sub>50</sub> en mg/kg</u>
	Clorotetraciclina clorhidrato	55
20.	El producto de reacción entre el ácido etanolaminometano sulfónico, el formaldehído y la clorotetraciclina, de acuerdo con la invención	58
25.	El producto de reacción entre el ácido l-amino-2-etano sulfínico, el formaldehído y la clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	60
30.	El producto de reacción entre el ácido l-amino-2-etano tiosulfónico, el formaldehído y la clorotetraciclina de acuerdo con la invención.	45

Las toxicidades agudas y crónicas son inferiores no solamente en comparación con los antibióticos de partida (por



336164

27

ejemplo, clorotetraciclina clorhidrato), sino también en comparación con los derivados ya conocidos de dichos antibióticos.

TABLA 2

5. Toxicidad aguda (LD<sub>50</sub>)

Por vía intravenosa a los ratones blancos Swiss. Todos los LD<sub>50</sub> están expresados en clorotetraciclina clorhidrato con el fin de permitir una comparación directa.

	<u>Producto</u>	<u>LD<sub>50</sub> en mg/kg</u>
10.	Clorotetraciclina clorhidrato	91,5
	N-metilol-clorotetraciclina (Patente alemana 1.196.648)	117
15.	El producto de reacción entre ácido 1-amino-2-etano sulfínico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	127
20.	El producto de reacción entre ácido etanolaminometano sulfónico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	142
	El producto de reacción entre ácido 1-amino-2-etano tiosulfónico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	138

TABLA 3

25. Toxicidad crónica

Por vía intraperitoneal a los ratones blancos Swiss. Dosis de 150 mg/kg por día. Las dosis están expresadas en clorotetraciclina clorhidrato.

	<u>Producto</u>	<u>Mortalidad después de:</u>	
		<u>10 días</u>	<u>15 días</u>
30.	Clorotetraciclina clorhidrato	20%	50%
	El producto de reacción entre ácido etanolaminometano sulfónico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	0%	10%
35.	El producto de reacción entre ácido 1-amino-2-etano sulfínico formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	0%	5%

(sigue)

336164



TABLA 3 (Continuación)

	<u>Producto</u>	<u>Mortalidad después de:</u>	
		<u>10 días</u>	<u>15 días</u>
5.	El producto de reacción entre ácido l-amino-2-etano tiosulfónico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	5%	20%

TABLA 4

Toxicidad crónica

Por vía bucal a los ratones blancos Swiss. Dosis

10. 500 mg/kg, por día. Las dosis están expresadas en clorotetraciclina clorhidrato.

	<u>Producto</u>	<u>Peso medio (en g.) de los animales después de los siguientes días:</u>					
		<u>10</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>
15.	Clorotetraciclina clorhidrato.	21	21,7	22	23,5	24,9	25,4
20.	El producto de reacción entre ácido l-amino-2-etano sulfínico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.	21	21,9	23,1	25,1	26,5	27,6
25.	El producto de reacción entre ácido l-amino-2-etano tiosulfónico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención	22,5	25,8	28,1	30	31,9	33,1
30.	Animales testigo que no han sido tratados.	20,5	21,7	22,5	23,2	23,8	24

35. A estas ventajas evidentes y considerables, que constituyen por sí solas un avance en el estado actual de la terapéutica, hay que añadir otras totalmente sorprendentes y absolutamente nuevas para los antibióticos del grupo de las tetraciclina.

Se sabe que, entre los principales inconvenientes de las tetraciclina, se encuentra la hepato-toxicidad debida a una degeneración grasa del hígado, en particular con la



336164

27 EN

clorotetraciclina, y la 5-hidroxitetraciclina; en determinados casos, esta degeneración puede conducir a la muerte.

(American J. Obstetr, Gynecol. 95, 523 - 1966; New England J. of Med. Vol. 269, 99 - 1963; Am. A. Archives of Internal

5. Medicine Vol. 88, 271 - 1951).

Hasta la fecha, ningún derivado de las tetraciclinas ha estado desprovisto de este grave efecto colateral; con los productos de la presente invención hemos obtenido por el contrario unos efectos sorprendentes, con una reducción considerable del porcentaje de grasa en el hígado. Los datos siguientes son una prueba de ello.

10.

TABLA 5

Porcentaje de grasa en el hígado

Dosis de 100 mg/kg. por vía intravenosa a las ratas blancas Wistar. Los porcentajes representan el aumento de grasa en comparación con los animales testigo que no han sido tratados. Las dosis están expresadas en clorotetraciclina clorhidrato.

15.

20.

Producto

Porcentaje de grasa en el hígado, 48 y 72 horas después de la administración.

48 horas

72 horas

Clorotetraciclina clorhidrato

95%

60%

25.

El producto de reacción entre ácido l-amino-2-etano sulfínico, formaldehído y clorotetraciclina, de acuerdo con la invención.

69,5%

12,5%

30.

El producto de reacción entre ácido l-amino-2-etano sulfónico, formaldehído y clorotetraciclina de acuerdo con esta invención.

51%

26,5%

Estos nuevos productos se preparan siguiente un procedimiento que consiste esquemáticamente en la reacción de condensación de las sustancias de partida que han sido

336164



mencionadas anteriormente, es decir, una tetraciclina, formaldehído y una amina que contiene una función ácido sulfurada.

5. La condensación puede realizarse en diferentes tipos de disolventes como metanol, etanol, alcohol isopropílico, dimetilformamida, 2-metoxietanol, 2-etoxi-etanol, tetrahidrofurano, solos o mezclados.

10. Las relaciones moleculares entre las sustancias que reaccionan pueden ser variadas dentro de unos límites muy amplios, pero se prefieren las relaciones de reacción amina : formaldehído : tetraciclina de 1:1:1 a 1:3:2. En este intervalo, para cada producto, se puede hallar la óptima de reacción.

15. El formaldehído puede ser utilizado indiferentemente en solución acuosa, en solución metanólica o bien como polímero, pero la forma preferida es la solución acuosa, que es también la más adecuada.

La tetraciclina puede ser utilizada bien como base anfótera, o en forma de una sal de adición con un ácido (por ejemplo, el clorhidrato), o en forma de una sal alcalina (por ejemplo, la sal de sodio).

20. La temperatura de reacción puede estar comprendida entre 20°C y 50°C; una temperatura óptima está comprendida entre 25°C y 35°C.

25. Según el tipo de producto y las condiciones de reacción, el producto puede separarse espontáneamente en el curso de la reacción, o bien puede ser aislado por precipitación con disolventes, con los que no es miscible, o por concentración de la mezcla de reacción, destilando los disolventes.

30. Los ejemplos ilustrativos expuestos a continuación sirven para ilustrar y demostrar como se pueden introducir variaciones dentro de los límites expuestos anteriormente;

336164



es evidente para los expertos que estos ejemplos son fácilmente extensibles también a los casos que no han sido descritos, pero que queden dentro del campo de esta invención, mediante pequeñas variaciones de rutina.

5. Los ejemplos no constituyen por lo tanto una limitación de la invención.

Ejemplo 1

10. En 80 ml de una mezcla 1:1 de metanol y 2-metoxi-etanol se disuelven 0,8 g. (0,02 moles) de NaOH y 2,22 g. (0,02 moles) de ácido aminometano sulfónico; se añade sucesivamente 4,5 ml (0,06 moles) de formaldehído acuoso a 40% y después de 15 minutos 17,76 g. de tetraciclina (base) disuelta en 80 ml de 2-metoxi-etanol.

15. Al cabo de unos minutos comienza la precipitación; se continúa aún la agitación durante 30 minutos a 30°C; luego, se recoge el producto, se lava con alcohol metílico y se seca bajo una presión reducida a 40°C. Se presenta bajo forma de polvo amarillo claro, muy soluble en el agua; una solución a 5% tiene un PH de 6,9-7,1.

20. Análisis para  $C_{46}H_{52}O_{19}N_5SNa$ : (secado sobre  $P_2O_5$  en el vacío) calculado %, C = 53,43; H = 5,07; N = 6,77; S = 3,10; Na = 2,22. Hallado %, C = 53,34; H = 5,22; N = 6,88; S = 3,24; Na = 2,01.

Ejemplo 2

25. Se disuelve 1,11 g. de ácido aminometano sulfónico en 80 ml de metanol que contiene 0,5 g. de NaOH; se añaden 10 g. de clorotetraciclina (base) disuelta en metanol (30 ml) y dimetilformamida (50 ml). Se filtra para eliminar los eventuales residuos insolubles y se añade 1,5 ml. de formaldehído acuoso a 40%, mientras que se deja en reacción durante 60 minutos
- 30.



336164

a temperatura ambiente. Pasados varios minutos se precipita el producto, se recoge, se lava con metanol y se seca en el vacio a 40°C.

Análisis para  $C_{46}H_{50}Cl_2N_5O_{19}SNa$ : Calculado %, S = 2,90

5. Hallado %, S = 2,8.

Ejemplo 3

1,25 g. (0,01 moles) de ácido metilaminometano sulfónico y 0,4 g. de NaOH se disuelven en 60 ml. de metanol; se añade a la solución 2,25 ml (0,03 moles) de formaldehído acuoso a 40%, se deja en reacción durante 5 minutos; luego se añaden 9 g. de tetraciclina (base) disuelta en 60 ml de 2-metoxi-etanol y 40 ml de isopropanol; se mantiene en agitación a la temperatura ambiente durante 30 minutos, durante los cuales tiene lugar la separación del producto que se recoge y se lava con isopropanol.

15. En el análisis para  $C_{47}H_{54}O_{19}N_5SNa$ , se ha obtenido : S% = 2,85; calculado 3,06.

Ejemplo 4

20. Se disuelven 0,45 g. de NaOH y 1,25 g. de ácido metilaminometano sulfónico en 110 ml de metanol; luego, se añaden 1,5 ml de formaldehído acuoso a 40% y se deja en agitación durante 10 minutos; luego, se añaden 10 g. de clorotetraciclina disuelta en una mezcla de 60 ml de dimetilformamida y 90 ml de isopropanol; al cabo de varios minutos el producto se precipita lentamente. Se hace reaccionar aún durante 30 minutos, se filtra y se lava con alcohol isopropílico.

25. Para  $C_{47}H_{52}O_{19}N_5Cl_2SNa$ : calculado, S% = 2,87; hallado % = 2,95.

Ejemplo 5

30. Después de haber disuelto 0,4 g. de NaOH y 1,4 g.



336164

- de ácido etilaminometano sulfónico en 40 ml de metanol, se añade sucesivamente a la solución 1,5 ml de formaldehído acuoso a 40% y, después de 5 minutos, 9,6 g. de clorotetraciclina disuelta en una mezcla de alcohol isopropílico (80 ml),
5. metanol (30 ml) y dimetilformamida (50 ml). Se deja en reacción a la temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se recoge el producto separado. Para  $C_{48}H_{54}O_{19}N_5Cl_2SNa$ : S%, calculado = 2,83; hallado 2,7 y 3,1.

Ejemplo 6

10. Se añaden 2,25 ml de formaldehído acuoso a 40% a una solución de 0,01 moles de sal de sodio de ácido n-butilaminometano sulfónico en 80 ml de metanol; después de 5 minutos se añade una solución de 9,6 g. de clorotetraciclina en una mezcla de 100 ml de isopropanol y 30 ml de dimetilformamida.
15. Se deja toda la mezcla en agitación a la temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se filtra el producto separado, se lava con alcohol isopropílico y se seca en el vacío a 40°C. S%, calculado = 2,76; S%, hallado = 3.

Ejemplo 7

20. En 120 ml de metanol se disuelven 0,8 g. de NaOH y 3,1 g. de ácido  $\beta$ -hidroxi-etilaminometano sulfónico; se añaden 4,5 ml de formaldehído acuoso a 40%; se deja 15 minutos a la temperatura ambiente y se filtra; al producto filtrado se añaden 19,3 g. de clorotetraciclina disuelta en 60 ml de
25. dimetilformamida y 80 ml de isopropanol, y se hace reaccionar durante 30 minutos a 25-30°C.

El producto de reacción, que se precipita espontáneamente, se lava después con isopropanol y se seca en el vacío a 40°C.

30. Es muy soluble en el agua; una solución acuosa a 5%

336164



tiene un pH de 7,2-7,4.

Una muestra analítica, secada sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 70°C en el vacío ha dado los siguientes resultados: para

5.  $C_{48}H_{54}O_{20}N_5Cl_2SNa$ . Hallado % : N = 6,23; Cl = 6,23; S = 2,74;  
 Na = 2,02. Calculado % : N = 6,10; Cl = 6,18; S = 2,79;  
 Na = 2,00.

Ejemplo 8

10. En 160 ml de metanol se solubilizan a la temperatura ambiente 0,8 g. (0,02 moles) de NaOH, 2,13 g. (0,02 moles) de ácido 1-amino-2-etano sulfínico y 3 ml. (0,04 moles) de formaldehído acuoso a 40%; se deja durante 5 minutos a la temperatura ambiente y luego se añaden 17,86 g. de tetraciclina disuelta en 80 ml. de 2-metoxi-etanol. Se mantiene en agitación durante 30 minutos a 30°C y luego se filtra el producto precipitado, que se lava con metanol y se seca en el vacío a 40°C.

El producto es soluble en el agua; una solución acuosa al 10% tiene un pH de 7,45. En NaOH 0,01 N muestra unas máximas de absorción a 270 y 382 m $\mu$ . El poder rotatorio es

$[\alpha]_{20} = -200 + 5c$  (C=1 en el agua).

20. Una muestra analítica, secada en el vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 50°C durante varias horas, da los siguientes valores para  $C_{47}H_{54}O_{18}N_5SNa$ : Calculado %, C = 54,69; H = 5,27; N = 6,78; S = 3,10; Na = 2,22. Hallado %, C = 54,52; H = 5,19; N = 6,80; S = 2,93; Na = 2,01.

25. La actividad antibacteriana in vitro contra la *Sarcina Lutea*, mientras se usa la tetraciclina clorhidrato como tipo es de 900-910  $\mu$ /mg. (teórica 934  $\mu$ /mg.)

Ejemplo 9

30. 0,8 g. (0,02 moles) de NaOH y 2,18 g. (0,02 moles) de ácido 1-amino-2-etano sulfínico se disuelven en 150 ml de

336164



- metanol; se trata la solución con 3 ml de formaldehído acuoso a 40% y se deja durante 5 minutos a la temperatura ambiente; luego se añaden 19,2 g. de clorotetraciclina (base) en 80 ml de dimetilformamida y 60 ml de metanol, y se deja en
5. reacción durante 30 minutos a 30°C; el producto se separa espontáneamente, se recoge, se lava con metanol sobre el filtro y se seca en el vacío a 40°. El producto es muy soluble en el agua. Una solución a 10% tiene un pH comprendido entre 7,2 y 7,4. En NaOH 0,01 N muestra unas máximas de absorción a
10. 253 y 258  $m\mu$ . El poder rotatorio es  $[\alpha]_D^{20} = -195 \pm 5^\circ$  (C=1 en el agua). El espectro infrarrojo presenta la banda a 1256  $cm^{-1}$  de la amina mono-sustituída.

Para el análisis elemental, se ha secado una muestra en el vacío sobre  $P_2O_5$  a 50° durante varias horas.

15. Para  $C_{47}H_{52}O_{18}N_5Cl_2SNa$ . Calculado %, C = 51,17; H = 4,76; N = 6,36; Cl = 6,44; S = 2,91; Na = 2,08. Hallado %, C = 5,10 y 51,10; H = 4,94 y 4,81; N = 6,52 y 6,40; Cl = 6,32 y 6,51; S = 2,83 y 2,85; Na = 2,33 y 1,90.

- La actividad antibacteriana in vitro contra la *Sarcina lutea*, mientras se usa la clorotetraciclina clorhidrato como tipo, es de 910-920  $f/mg$  (teórica 927  $f/mg$ ).
- 20.

Ejemplo 10

- Se tratan 0,4 g. (0,01 moles) de NaOH y 1,41 g. (0,01 moles) de ácido 1-amino-2-etano tiosulfónico, disueltos
25. en 80 ml de metanol, por 1,5 ml (0,02 moles) de formaldehído acuoso a 40%, y después de 5 minutos, con una solución de tetraciclina (base) en 40 ml de 2-metoxietanol; se deja en agitación a la temperatura ambiente y se separa un producto amarillo, que se filtra después de 30 minutos, se lava con metanol y se seca en el vacío.
- 30.

336164



Análisis para  $C_{47}H_{54}O_{18}N_5S_2Na$ : Hallado % : C = 52,95;  
H = 5,20; N = 6,40; S = 5,83; Na = 2,11. Calculado % :  
C = 53,05; H = 5,11; N = 6,58; S = 6,02; Na = 2,16.

- Una solución acuosa a 10% tiene un pH = 7,45. En
5. NaOH 0,01 N muestra unas máximas de absorción 270 y 382 m $\mu$ .  
El poder rotatorio es  $[\alpha]_{20}^D = -200 \pm 5^\circ$  (C=1 en el agua).

La actividad antibacteriana in vitro contra la Sarcina Lutea, mientras se usa la tetraciclina clorhidrato como tipo, es de 870-880  $\mu$ /mg (teórica 909  $\mu$ /mg).

10. Ejemplo 11

- Se hace reaccionar durante 5 minutos a la temperatura ambiente 0,01 moles de l-amino-2-etano tiosulfonato de sodio con 1,5 ml (0,02 moles) de formaldehído acuoso a 40% en 80 ml de metanol; se añade sucesivamente una solución de 10 g.
15. de clorotetraciclina (base) en 40 ml de dimetilformamida y 30 ml de metanol. Después de varios minutos se precipita el producto; en total, se mantiene durante 30 minutos a 25-30°C. y luego se filtra, se lava con metanol y seca en el vacío.

- Análisis para  $C_{47}H_{52}O_{18}Cl_2Na$ . Hallado % : C = 49,86;  
20. H = 4,81; N = 6,01; Cl = 6,11; S = 5,61; Na = 1,91. Calculado % : C = 49,82; H = 4,62; N = 6,18; Cl = 6,25; S = 5,66; Na = 2,03.

- Una solución acuosa a 10% tiene un pH = 7,3; a 20%, tiene un pH = 7,4. En NaOH 0,01 N el producto muestra unas máximas de absorción a 253 y 285 m $\mu$ . El poder rotatorio es
25.  $[\alpha]_{20}^D = -210 \pm 5^\circ$  (C = 1 en el agua). El espectro infrarrojo presenta la banda a 6,55  $\mu$  de la amida mono-sustituida.

- La actividad antibacteriana in vitro contra la Sarcina Lutea, mientras se utiliza la clorotetraciclina clorhidrato como tipo, es de 880-890  $\mu$ /mg. (teórica 900  $\mu$ /mg).
- 30.



336 164

27 EN

Ejemplo 12

En una mezcla de 60 ml de metanol y 30 ml de 2-metoxi-  
etanol se disuelven 0,4 g. de NaOH, 5,6 g. de 5-hidroxi-tetra-  
ciclina (base) y 1,2 g. de ácido l-amino-2-etano sulfínico; en  
5. cuanto está hecha la solución, se filtra y se añade al produc-  
to filtrado 1,5 ml de formaldehído acuoso a 40%; después de va-  
rios minutos se separa el producto de reacción. Se mantiene en  
agitación durante 30 minutos a la temperatura ambiente; luego  
se recoge el producto, se lava con metanol y se seca a presión  
10. reducida a 40°C.

Para  $C_{47}H_{54}O_{20}N_5SN_2$ . Calculado S % = 3,01. Halla-  
do S % = 3,0; 2,75.

Ejemplo 13

A una solución de 0,01 moles de l-amino-2-etano sul-  
15. finato de sodio en 40 ml de metanol se añaden 0,85 ml de for-  
maldehído acuoso a 40% y, después de cinco minutos, una solu-  
ción de 6-demetil-7-clorotetraciclina preparada disponiendo  
en suspensión 5 g. de demetilclorotetraciclina clorhidrato en  
20 ml de dimetilformamida y neutralizándola con 0,4 g. de  
20. NaOH en 25 ml de metanol. Se deja en reacción a 25°C durante  
30 minutos y se filtra el producto separado. Se seca en el va-  
cío a 50°C.

Análisis para  $C_{47}H_{48}O_{18}N_5Cl_2S_2$ : Calculado S % = 2,93;  
Hallado S % = 2,75.

25. Ejemplo 14

En 40 ml de metanol se disuelven 0,8 g. de NaOH y  
1,41 g. de ácido l-amino-2-etano tiosulfónico; luego se aña-  
den 5,3 g. de 5-hidroxi-tetraciclina clorhidrato en 30 ml de  
2-metoxietanol y, cuando se ha realizado la solución, se fil-  
30. tra para eliminar las impurezas que se pudieran hallar presen-

336164



tes; el producto filtrado se diluye seguidamente con 15 ml de isopropanol y se trata con 0,85 ml de formaldehído acuoso a 40%. Se deja en agitación durante 60 minutos a la temperatura ambiente. Al cabo de varios minutos el producto comienza a

5. precipitarse: se recoge, se lava con isopropanol y se seca a presión reducida a 50°C.

Análisis para  $C_{47}H_{54}O_{20}N_5S_2Na$ : Calculado S % = 5,85; Hallado S % = 5,95.

Ejemplo 15

10. Se hace reaccionar una solución de 0,01 moles de 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio en 40 ml de metanol durante 5 minutos a la temperatura ambiente con 0,85 ml de formaldehído acuoso a 40%; y seguidamente se trata con una solución de 0,01 moles de 7-cloro-6-demetiltetraciclina en 20 ml
15. de dimetilformamida y 25 ml de metanol; luego, al cabo de varios minutos se precipita el producto de reacción. En total, se mantiene en agitación a la temperatura ambiente durante 30 minutos, luego se filtra y se lava con metanol.

20. Después del secado sobre  $P_2O_5$  a 50°C en el vacío se obtiene en el análisis para  $C_{45}H_{48}O_{18}N_5Cl_2S_2Na$ : Calculado S % = 5,80; Hallado S % = 6.

Ejemplo 16

25. Se forma una solución de 0,4 g. de NaOH, 1,1 g. de ácido 1-amino-2-etano sulfínico y 0,85 ml de formaldehído acuoso a 40% en 25 ml de metanol; a esta solución se añade una segunda solución preparada de 4,8 g. de tetraciclina clorhidrato en suspensión en 20 ml de 2-metoxi-etanol y neutralizada por 0,4 g. de NaOH en 15 ml de metanol.

30. La solución resultante se diluye con 20 ml de alcohol isopropílico y se hace reaccionar a la temperatura ambiente du-

336164



rante 30 minutos; el producto separado se filtra, se lava con metanol y se seca en el vacío a 40°C. S % Hallado = 2,95; calculado = 3,10%.

Ejemplo 17

5. En 50 ml de metanol se disuelven 0,4 g. (0,01 moles) de NaOH, 1,1 g. (0,01 moles) de ácido 1-amino-2-etano sulfínico y 1,5 ml (0,02 moles) de formaldehído acuoso a 40%. Una suspensión separada de 10, 3 g. (0,02 moles) de clorotetraciclina clorhidrato en una mezcla de 30 ml de metanol y 40 ml de dimetilformamida se neutraliza con 0,8 g. de NaOH disueltos en metanol (30 ml) e isopropanol (30 ml); la solución resultante se filtra y se añade a la solución que contiene el aminoácido; y seguidamente se deja en reacción durante 30 minutos a 25°C. El producto precipitado se recoge, se lava con alcohol isopropílico y se seca a presión reducida a 40°C.
- 10.
- 15.

El producto es idéntico al del Ejemplo 9. Algunas muestras analizadas han dado S. % = 2,7; 2,65; 2,8.

Ejemplo 18

20. A una solución que contiene 1,5 ml (0,02 moles) de formaldehído acuoso a 40% y 0,01 moles de 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio en 60 ml de metanol se añade una solución preparada neutralizando 10,5 g. de clorotetraciclina clorhidrato, en suspensión en 40 ml de dimetilformamida, por 0,8 g. de NaOH en 50 ml de metanol. Se deja seguidamente en agitación durante 30 minutos, se filtra el producto precipitado y se seca en el vacío a 40°C.
- 25.

S % hallado = 5,3; calculado = 5,66%. El producto es igual al del ejemplo 11.

Ejemplo 19

30. En 160 ml de metanol se disuelven 1,6 g. de NaOH,

336164



6,2 g. de ácido etanolaminometano sulfónico y 3,4 ml de formaldehído acuoso a 40%.

Al cabo de 5 minutos se añaden 20 g. de clorotetraciclina disuelta en 80 ml de dimetilformamida y 60 ml de metanol; la solución resultante se mantiene durante 1 hora a 35°C, se enfría, se filtra para eliminar las eventuales impurezas y se diluye con 200 ml de éter isopropílico; el producto precipitado se lava sobre el filtro con éter isopropílico y se seca en el vacío a 40°C.

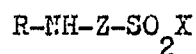
10. Algunas muestras analizadas han dado los siguientes resultados: Calculado % : S = 2,79. Hallado % : S = 3,1; 3; 3,1.

N O T A

La Patente de Invención, que se solicita por veinte años, para España, de acuerdo con la vigente Legislación, deberá recaer sobre: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE ANTIBIOTICOS DEL GRUPO DE LAS TETRACICLINAS", con Prioridades de las Demandas en Italia de Patentes números 28/488 y 28/489, de fecha 29 de Enero de 1966 y 43140 A/66, de fecha 26 de Noviembre de 1966, según las características esenciales de las siguientes:

R E I V I N D I C A C I O N E S

1ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibioticos del grupo de las tetraciclinas, caracterizado porque se hace reaccionar, en un disolvente apropiado, una tetraciclina con el formaldehído y una amina que contiene una función ácida sulfurada que presenta la siguiente fórmula general:



donde R puede ser hidrógeno o alcoholilo o hidroxil-alcoholilo con no más de 4 átomos de carbono; Z es CH<sub>2</sub> ó bien CH<sub>2</sub>--CH<sub>2</sub>;

336164



X es OH cuando  $Z = CH_2$ , o bien X es H ó SH cuando  $Z = CH_2-CH_2$ .

2ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se hace reaccionar de  
5. 1 a 3 moléculas de formaldehído y de 1 a 2 moléculas de la tetraciclina para cada molécula de la amina.

3ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según las reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizado porque se hace  
10. reaccionar la amina que contiene una función ácido sulfurada, como se ha indicado en la reivindicación 1ª, bajo forma de sal de sodio.

4ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según  
15. las reivindicaciones 1ª, 2ª y 3ª, caracterizado porque se utiliza como disolvente metanol mezclado con dimetilformamida o 2-metoxietanol.

5ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según  
20. las reivindicaciones 1ª, 2ª y 3ª, caracterizado porque se utiliza como disolvente una mezcla de metanol, isopropanol y dimetilformamida o de metanol isopropanol y 2-metoxietanol.

6ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según  
25. las reivindicaciones 1ª a 5ª, caracterizado porque se utiliza el formaldehído en solución acuosa.

7ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según las reivindicaciones de 1ª a 6ª, caracterizado porque se efectúa la reacción a una temperatura comprendida entre 25°C y 35°C.  
30.

336164



8ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según las reivindicaciones 1ª a 7ª, y caracterizado porque los compuestos químicos obtenidos por tal procedimiento se obtiene,

5. cuando se hace reaccionar una tetraciclina elegida del grupo consistente en la tetraciclina, 7-clorotetraciclina, 5-hidroxitetraciclina y 7-cloro-6-demetiltetraciclina con formaldehído y una amina que contiene una función ácida sulfurada como se ha indicado en la reivindicación 1ª,

10. 9ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la tetraciclina y la amina es el aminometanosulfonato de sodio:

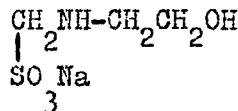


10ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el aminometanosulfonato de sodio.

20.

11ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el β-hidroxi-etilaminometano sulfonato de sodio:

25.



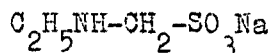
12ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el etilaminosulfonato:

30.

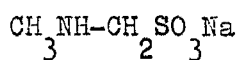


336 164

27

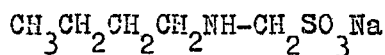


13ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la tetraciclina y la amina es el metilaminometano sulfonato de sodio:

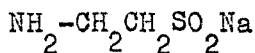


14ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el metilaminometano sulfonato de sodio.

15ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el n-butilaminometano sulfonato de sodio:



16ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la tetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano sulfinato de sodio:



17ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano sulfonato de sodio.

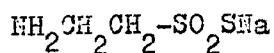
18ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos de-

- 23 -  
336164



rivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la tetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio:

5.



19ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la clorotetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio.

10.

20ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la 5-hidroxitetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano sulfonato de sodio.

15.

21ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la 7-cloro-6-demetil-tetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano sulfonato de sodio.

20.

22ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la 5-hidroxi-tetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio.

25.

23ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de antibióticos del grupo de las tetraciclinas, según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el antibiótico es la 7-cloro-6-demetil-tetraciclina y la amina es el 1-amino-2-etano tiosulfonato de sodio.

30.

336164

27



24ª.- PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE ANTIBIOTICOS DEL GRUPO DE LAS TETRACICLINAS.

Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria, que consta de veinticuatro hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 27 de Enero de 1967

STABILIMENTI CHIMICO-FARMACEUTICI  
DOCT. R. RAVASINI & CIA. S. p. A.  
P. P.

FRANCISCO GARCIA CABREMO  
P. P.

Firmado: M.ª Dolores Jorquera