



26 DIC.

PATENTE DE INVENCION

SC 3208/3291 Case A.

359 32

Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para la preparación de un ciclopeptido"

Solicitante RHONE-POULENC S.A.,
entidad francesa, residente en
22, Avenue Montaigne, Paris 8e, Francia.

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del ciclopeptido de fórmula (I) dada en el anexo y explicada a continuación, en forma de base o de sal de adición con un ácido.

5.



En la fórmula I:

- MePro significa : L transmetil-4 prolina
- MeThr significa : L N-metiltreonina
- MeVal significa : L N-metilvalina
- 5. MeLeu significa : D N-metilleucina
- Pro significa : L prolina
- Gly significa : glicocola
- Leu significa : L leucina
- Thr significa : L treonina

- 10. Según la invención, los productos de fórmula (I) se obtienen por hidrólisis parcial del antibiótico 11.072 RP, cuya preparación se describe en la patente francesa 1.393.208. Se ha determinado después que la estructura más probable de este anti-
- 15. biótico corresponde a la fórmula (I) en la cual el átomo de hidrógeno encerrado dentro de un cuadro de trazos discontinuos se reemplaza por el radical cuya fórmula (II) se dá en el anexo.

- 20. Según la invención, la hidrólisis puede efectuarse en medio ácido en solución orgánica o hidroorgánica.

- 25. Entre los disolventes generalmente empleados pueden citarse los alcoholes que contienen de 1 a 4 átomos de carbono, los éteres tales como el dioxano o el tetrahidrofurano, los ésteres tales como el acetato de etilo o una mezcla de estos disolventes.

- 30. Los ácidos minerales (ácidos clorhídrico, sulfúrico) u orgánicos (ácido trifluoracético) son convenientes a distintas concentraciones pero preferentemente se utiliza el ácido clorhídrico a normali-



dades comprendidas entre 1N y 6N.

La concentración del producto a transformar en el medio puede variar entre el 1 y el 20%.

5. La reacción de hidrólisis se efectúa a una temperatura comprendida entre 0 y 50°C y el tiempo de reacción, que es función de la temperatura, puede variar de 5 horas a 1 hora. Generalmente se opera a 20°C durante 2 horas.

10. Los productos preparados según la invención pueden purificarse eventualmente por los métodos físicos o químicos habituales, por ejemplo por cromatografía.

15. Las sales de adición pueden obtenerse por acción del nuevo compuesto sobre el ácido en un disolvente apropiado. Generalmente se solubiliza la base en agua por adición de la cantidad teórica de ácido y la solución obtenida se liofiliza.

20. El nuevo producto, bajo forma de base o de sales de adición, presenta interesantes propiedades para la terapéutica: es un agente antibiótico, dotado de una actividad antituberculosa potente y además de una buena actividad sobre los gérmenes gram-positivos y negativos.

25. Da buenos resultados en los ensayos de actividad antituberculosa in vitro e in vivo. Inhibe la multiplicación de los bacilos tuberculosos virulentos (cepas humanas, tales como H₃₇R_v, cepa bovina y diversos mutantes resistentes a ésta).

30. La actividad in vitro se determina por el método de las diluciones en medio de Dubos. En estas



-4-

condiciones la concentración mínima inhibidora de los productos está comprendida entre 0,005 y 1 $\mu\text{g/ml}$.

La actividad in vivo se determina en el caso de los ratones infectados experimentalmente y tratados durante tres semanas a partir de la infección. Los ratones no tratados mueren al cabo de un período de 20 a 30 días. En estas condiciones las dosis mínimas eficaces pueden determinarse: están comprendidas entre 50 y 300 mg/kg p.o.

5. El nuevo producto puede utilizarse igualmente como materia de partida para la preparación de derivados que presentan a su vez propiedades antibióticas y antituberculosas.

10. El ejemplo siguiente, dado a título no limitativo, muestra la forma de realización práctica de la invención. En este ejemplo el Rf se ha determinado por cromatografía en capa delgada sobre silicagel.

Ejemplo -

15. 150 g de péptido antibiótico obtenido como se describe en la patente francesa nº 1.393.208 se disuelven en 1.320 cm³ de metanol clorhídrico 4,5N. Se agita durante 2 horas a 20°C y después se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). El residuo se extrae dos veces con 250 cm³ de metanol cada vez.

20. Estos extractos metanólicos dan por evaporación un residuo amorfo que se disuelve en una mezcla cloroformo-metanol (95-5 en volumen). La solución obtenida se vierte sobre una columna de 11 cm. de diámetro que contiene 2 kilos de silicagel. La elución

25. 30.

26 DIC. 1961



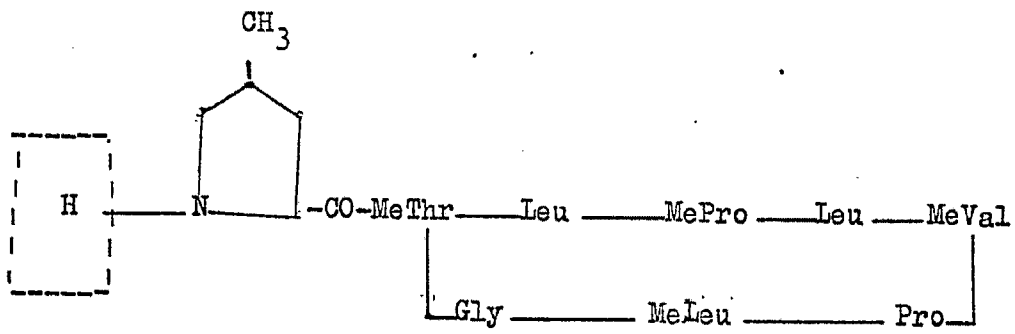
se efectúa por medio del mismo disolvente. Se reco-
gen fracciones de 640 cm³. Las fracciones 10 a 16 permi-
ten obtener 123,3 g. de ciclopeptido (I), cromatográ-
ficamente puro con un rendimiento del 95,5%.

5.

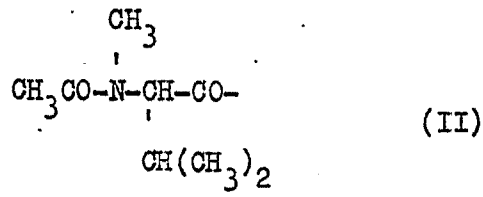
R_f = 0,55 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)

$\left[\alpha \right]_D^{22} = -62^\circ\text{C}$ (c = 0,5 ; metanol)

A N E X O



(I)



26 DIC 1968

N O T A

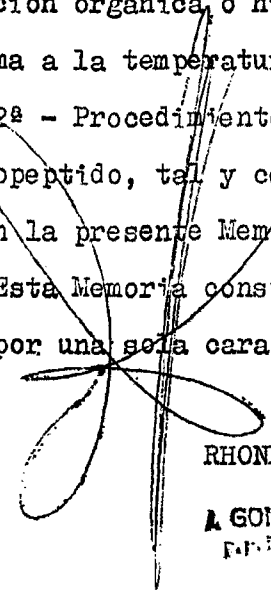
Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones

- 5. anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una Solicitud de Patente presentada en Francia nº PV. 125.842 de 25 de octubre de 1.967
- 10. acogíendose, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN CICLOPEPTIDO"; caracterizándose por lo siguiente:
- 15.

- 20. 1ª - Procedimiento para la preparación de un ciclopeptido, de fórmula (I), dada en el anexo, en forma de base o de sal de adición, caracterizado porque se trata el antibiótico 11.072 RP por un ácido en solución orgánica, o hidroorgánica a una temperatura próxima a la temperatura ambiente.

- 25. 2ª - Procedimiento para la preparación de un ciclopeptido, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

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



Madrid, 26 DIC. 1968

RHONE-POULENC S.A.,

A. GOMEZ ABERO Y MODER

Por Encargo de E. Hernández Ruiz