

370177

PATENTE DE INVENCION  
=====

Your ref. Ip 322/A

SECCION TECNICA	
* APLICACION I. P. C.	
CLASE <u>C 07</u>	<u>A 61</u>
SUBCLASE <u>C</u>	<u>K</u>



*Memoria Descriptiva*

sobre:

Procedimiento de obtención de una 4-desoxi-rifamicina SV.

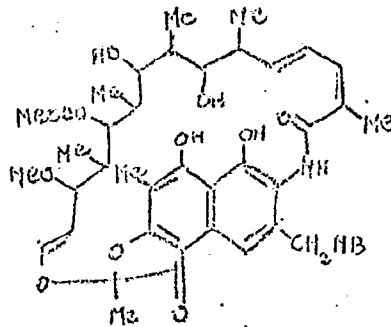
-----

*Solicitante:* GRUPPO LEPETIT S.p.A.,  
entidad italiana, residente en  
20124 Milano, via Robert Lepetit 8,  
Italia.

-----

Esta invención se relaciona con un  
procedimiento de obtención de nuevos derivados de  
rifamicina SV, que carecen del grupo hidroxilo en la  
posición 4. Mas particularmente, las nuevas rifami-  
cinas obtenidas por el procedimiento de la presente  
5.





5. se convierten entonces en los compuestos de estructura parcial -CH:NB por reacción con dióxido de manganeso a temperatura ambiente. A partir de estos, se obtienen los compuestos de estructura parcial -CH:NR mediante tratamiento con una hidrazina H<sub>2</sub>NR en donde R se define como anteriormente, a temperatura ambiente en un disolvente inerte.

10. En la primera etapa de la reacción anteriormente descrita, es decir, la etapa que comienza a partir de 4-desoxi-4-diazo-rifamicina S, se forma siempre una cantidad de 4-desoxi-rifamicina SV, es decir, el compuesto que forma el objeto de la solicitud principal 370.177.

15. Los compuestos de esta invención poseen un grado sobresaliente de actividad antibacteriana in vitro, que es particularmente elevada contra el microorganismo Pseudomonas aeruginosa y otros microorganismos gram negativos, tales como Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae. La siguiente tabla proporciona un estudio de esta actividad para algunos miembros representativos, expresada como m.i.c. en mcg/ml.
- 20.



Compuesto X = (ver fórmula genérica)	S. aureus	Str. pyogen	Dipl. pneumoniae
$-\text{CH}_2\text{NHCH}_3$	0,1	0,1	0,1
$-\text{CH}_2\text{NHC}_2\text{H}_5$	0,05	0,1	0,1
$-\text{CH}_2\text{NHC}(\text{CH}_3)_3$	0,05	0,1	0,1
$-\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	0,02	0,05	0,02
$-\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	0,05	0,05	0,05
$-\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	0,05	0,0	0,05
$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	0,1	0,1	0,05
$-\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	0,05	0,2	0,2
$-\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$	0,01	0,1	0,1
$-\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$	0,05	0,1	0,05
$-\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$	0,05	0,2	0,2
$-\text{CH}_2 = \text{NC}_6\text{H}_5$	0,02	0,02	0,02
$-\text{CH} = \text{NNH}_2$	0,02	0,02	0,02



Los compuestos muestran también una actividad considerable por administración subcutánea in vivo contra infección por estafilococos en ratones.

5. La ED<sub>50</sub> de algunas sustancias representativas se indica en la siguiente tabla:

Compuesto	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
X =	contra <u>Staphylococcus aureus</u>
(ver fórmula genérica)	infección en ratón, s.c.
-CH <sub>2</sub> NHCH <sub>3</sub>	9,2
-CH <sub>2</sub> NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	9,9
-CH <sub>2</sub> NHC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	8,6
-CH <sub>2</sub> NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	4,6
-CH <sub>2</sub> <u>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></u>	3,7
-CH <sub>2</sub> <u>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></u>	13,9

10. Los ejemplos siguientes constituyen ejemplos de preparación de los compuestos de la presente invención.

EJEMPLO 1 -

3-dimetilaminoetilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV.

15. En 300 ml de tetrahidrofurano, se disuelve una cantidad de 7,1 g de 4-desoxi-4-diazo-rifamicina S, se añaden entonces, a temperatura ambiente, 5,3 g de N,N-dimetilaminoetilamina, seguido por 4,5 ml de una solución acuosa al 40% de formaldehído. La mezcla se refluje durante 4 horas, y a continuación el disolvente se destila in vacuo. El residuo se disuelve en 200 ml de acetato de etilo, se lava con tampón

20.



Pr. vulgaris	E. coli	Klebs. pneumoniae	Pseudom aeruginosa	M. tubercul. H <sub>37</sub> RV
10	20	5	5	0,5
5	10	10	5	0,2
20	20	20	10	0,2
10	10	10	10	0,2
5	5	2	5	0,5
10	5	5	5	0,5
10	20	10	5	0,5
10	20	10	5	0,5
10	20	10	5	0,1
10	10	10	5	0,5
10	10	10	10	0,5
10	10	10	20	0,5
10	10	10	5	0,5



- fosfato pH 7,3 y el acetato de etilo se destila in vacuo. El residuo se disuelve en 20 ml aproximadamente de cloroformo y se pasa a través de una columna de gel de sílice. La columna se diluye entonces con cloroformo que contiene 2, 4, 5 y 6% de metanol. Los eluados combinados se concentran a un pequeño volumen y se diluye con éter de petróleo. El precipitado se recoge y se seca.
5. Rendimiento: 3,0 g (38%); p.f. 185-190°C.
10. (desc.); absorción máxima: 415 y 300 m $\mu$ ,  $\epsilon$  16,220 y 18,680.
- Análisis:  
Calculado: C, 64,51; H, 7,60; N, 5,37  
Encontrado: C, 63,40; H, 7,42; N, 5,20
15. EJEMPLO 2 -  
3-piperidinometil-4-desoxi-rifamicina SV
- A una solución de 7,1 g de 4-desoxi-4-diazorifamicina S en 300 ml de tetrahidrofurano, se añaden 5,1 g de piperidina y 4,6 ml de formaldehído acuoso al 40%, y la mezcla se refluje durante 7 horas. La mezcla se evapora hasta sequedad in vacuo y el residuo se disuelve en 200 ml de acetato de etilo, se lava con tampón fosfato pH 7,3 y se elimina el disolvente. El residuo se disuelve en 20 ml aproximadamente de cloroformo y se absorbe sobre gel de sílice, a partir de lo cual se eluye con cloroformo que contiene 5, 10 y 15% de acetona. Los eluados combinados se evaporan a un pequeño volumen y se diluyen con éter de petróleo. El precipitado se recoge y se seca.
- 20.
- 25.
30. Rendimiento: 2,9 g (37%); p.f. 187-190°C;



-7-

absorción máxima 410 ( $\xi$  16,740), 287 ( $\xi$  22,820) y 237 m $\mu$  ( $\xi$  32,480).

Análisis:

Calculado: C, 66,30; H, 7,50; N, 3,59

5. Encontrado: C, 66,22; H, 7,60; N, 3,45

EJEMPLO 3 -

3-pentameteniminometil-4-desoxi-rifamicina SV

10. A una solución de 7,8 g de 3-piperidino-  
metil-4-desoxi-rifamicina SV en 600 ml de cloroformo,  
se añaden 39 g de dióxido de manganeso, con agitación  
a temperatura ambiente. La suspensión se agita duran-  
te 4 horas, se filtra entonces y el filtrado se con-  
centra in vacuo a 30-40 ml aproximadamente y se pasa  
a través de gel de sílice. La elución se realiza con  
15. cloroformo conteniendo 5 y 10% de acetona, los eluados  
combinados se concentran a un pequeño volumen y se di-  
luye con éter de petróleo. Se recoge el precipitado  
amarillo ligero y séseca.

Rendimiento: 3,5 g (45%); p.f. 166-169°C  
20. (desc.); absorción máxima:  $\lambda$  max 414 ( $\xi$  16,780) y  
288 m $\mu$  ( $\xi$  27,910).

Análisis:

Calculado: C, 66,39; H, 7,38; N, 3,61

Encontrado: C, 66,13; H, 7,08; N, 3,80

25. EJEMPLO 4 -

Dimetilhidrazona de 3-formil-4-desoxi-rifamicina SV.

30. A una solución de 7,8 g de 3-pentameten-  
imino-metil-4-desoxi-rifamicina SV en 300 ml de tetra-  
hidrofurano se añade una solución de 2,4 g de N,N-di-  
metilhidrazina en 20 ml de tetrahidrofurano, se agi-

6 OCT. 1964



- ta la mezcla durante 45 minutos a temperatura ambiente y entonces se evapora hasta sequedad in vacuo. El residuo se disuelve en 30 ml de cloroformo, se absorbe sobre gel de sílice y se eluye con una mezcla 98:2 y 99:1 de cloroformo/metanol. Los eluados combinados se evaporan hasta sequedad y se disuelven en 10 ml de acetato de etilo, después de reposar durante 10 horas aproximadamente a 4-5°C precipita un producto amarillo-naranja.
- 5.
10. Rendimiento: 3,8 g (50%); p.f. 167-170°C (desc.); absorción máxima  $\lambda$  max 423 ( $\epsilon$  23,950) y 254 m $\mu$  ( $\epsilon$  37,650).  
Análisis:  
Calculado: C , 63,90; H, 7,10; N, 5,59
15. Encontrado: C , 62,94; H, 7,15; N, 5,52  
EJEMPLOS 5 a 13  
De acuerdo con el procedimiento descrito en los ejemplos 1 y 2, se prepararon los siguientes compuestos
20. -3-metilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 287-290°C (desc.);  $\lambda$  max 415 ( $\epsilon$  17,830) y 298 m $\mu$  ( $\epsilon$  18,260) análisis, calc. C 64,62; H 7,23; N 3,86; encontrado C 63,23; H 7,16; N 3,48.
25. -3-etilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 283-286°C (desc.);  $\lambda$  max 415 ( $\epsilon$  17,360), 299 ( $\epsilon$  18,400) y 241 m $\mu$  ( $\epsilon$  32,870). Análisis: calculado C 65,02; H 7,36; N 3,79; encontrado C 64,74; H 7,50; N 3,73.
30. -3-ter-butilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 196-200°C;  $\lambda$  max 412 ( $\epsilon$  18,660); 300 ( $\epsilon$  19,300); 244 ( $\epsilon$  34,990) y 223 m $\mu$  ( $\epsilon$  37,260); análisis calculado



6 OCT. 1959

C 65,77; H 7,62; N 3,65; encontrado C 64,81; H 8,04;  
N 3,40.

5. -3-bencilaminometil-4-desoxirifamicina SV, p.f. 150°C  
(desc.);  $\lambda$  max 415 ( $\xi$  17,460), 298 ( $\xi$  18,420) y  
239 m $\mu$  ( $\xi$  31,710). Análisis: calc. C 65,02 H 7,36;  
N 3,79; encontrado C 64,57; H 7,75; N 3,66.

10. -3-dietilaminometil-aminometil-4-desoxirifamicina SV,  
p.f. 157-177°C (desc.);  $\lambda$  max 415 ( $\xi$  17,660), 300  
( $\xi$  18,630) y 239 m $\mu$  ( $\xi$  32,720); Análisis: calc.  
C 65,24; H 7,84; N 5,19; encontrado C 65,02; H 8,02;  
N 5,16.

15. -3-dimetilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f.  
195-200°C (desc.)  $\lambda$  max 412 ( $\xi$  19,730), 242 ( $\xi$  38,660),  
298 ( $\xi$  19,440) y 222 m $\mu$  ( $\xi$  39,600). Análisis: calc.  
C 65,02; H 7,36; N 3,79; encontrado C 64,57; H 3,36;  
N 3,66.

20. -3-dietilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f.  
180-183°C (desc.);  $\lambda$  max 415 ( $\xi$  16,870), 299 ( $\xi$  16,870)  
y 243 m $\mu$  ( $\xi$  32,510). Análisis: calc. C 65,77; H 7,62;  
N 3,65; encontrado C 65,76; H 7,54; N 3,54.

-3-pirrolidinometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f.  
205-210°C (desc.)  $\lambda$  max 412 ( $\xi$  19,100), 298 ( $\xi$  19,170)  
y 240 m $\mu$  ( $\xi$  38,510). Análisis: calc. C 65,95; H 7,38;  
N 3,66; encontrado C 65,95; H 6,98; N 3,80.

25. -3-morfolina-metil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 185-  
188°C  $\lambda$  max 412 ( $\xi$  18,750); 298 ( $\xi$  18,290); 242  
( $\xi$  37,650) y 221 ( $\xi$  37,555); Análisis calc. C 64,59;  
H 7,22; N 3,58; encontrado C 64,23; H 7,36; N 3,45.

EJEMPLOS 14 y 15 -

30. Los dos siguientes compuestos fueron pre-



parados por el método descrito en el ejemplo 3.

3-dietilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV

5. Preparada a partir de 3-dietilaminometil-4-desoxi-rifamicina SV. P.f. 150-152°C. (desc.);  $\lambda_{\max}$  414 ( $\epsilon$  18,670) y 291 ( $\epsilon$  33,260).

Análisis:

Calculado: C, 65,86; H, 7,50; N, 3,66

Encontrado: C, 65,45; H, 7,70; N, 3,70

10. -3-feniliminometil-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 186-189°C (desc.);  $\lambda_{\max}$  485 ( $\epsilon$  4,820); 413 ( $\epsilon$  15,570) y 269  $\mu$  ( $\epsilon$  35,150). Análisis: calc. C 66,06; H 6,68; N 5,25; encontrado C 65,41; H 6,71; N 5,40.

EJEMPLOS 16 y 17 -

15. De acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 4, se prepararon los siguientes compuestos:

20. -3-(4-metil-1-piperaziniliminometil)-4-desoxi-rifamicina SV, p.f. 155-160°C (desc.);  $\lambda_{\max}$  423 ( $\epsilon$  11,920) y 257  $\mu$  ( $\epsilon$  32,000). Análisis: calc. C 64,00; H 7,24; N 6,94; encontrado C 64,05; H 7,03; N 6,82.

- fenilhidrazona de 3-formal-4-desoxi-rifamicina SV p.f. superior a 200°C (desc.):  $\lambda_{\max}$  350 ( $\epsilon$  15,360) y 259  $\mu$  ( $\epsilon$  33,590). Análisis: calc. C 66,06; H 6,68; N 5,25; encontrado C 65,41; H 6,71; N 5,40.

25. N O T A

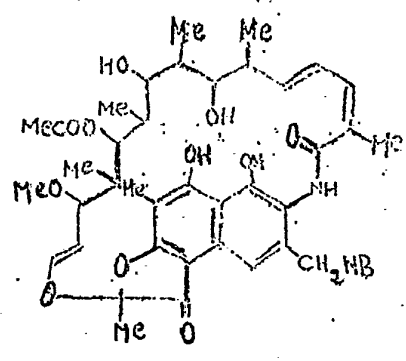
30. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio



fundamental, siendo lo que constituya la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España: PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE UNA 4-DESOXI-RIFAMICINA SV; caracterizándose por lo siguiente:

5.

1ª - Procedimiento de obtención de una 4-desoxi-rifamicina SV, de fórmula:

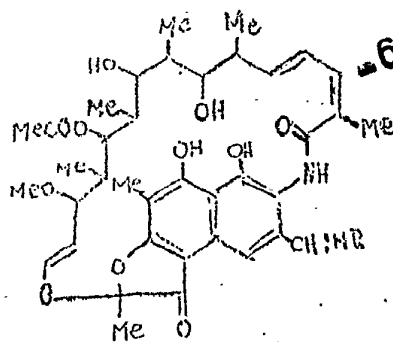


en la que NB se elige entre anilino, mono- y di-alquil amino inferior, bencilamino, di-alquilamino inferior-alquilamino inferior, pirrolidino, piperidino y morfolino, caracterizado porque comprende refluir 4-desoxi-4-diazo-rifamicina S con un exceso superior a 3 proporciones equimoleculares de formaldehido y una amina de fórmula HNB, en la que el grupo NB se define como anteriormente, en un disolvente orgánico durante 2 a 12 horas.

10.

15.

2ª - Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque para la obtención de una 4-desoxi-rifamicina SV, de fórmula:



5. en la que R se elige entre anilino, di-alquilamino inferior y 4-metilpiperazino, caracterizado porque comprende refluir 4-desoxi-4-diazo-rifamicina S con un exceso superior a 3 proporciones equimoleculares de formaldehido y una amina de fórmula HNB, en la que el grupo NB se elige entre anilino, mono- y di-alquilamino inferior, bencilamino, di-alquilamino inferior-alquilamino inferior, pirrolidino, piperidino y morfolino, en un disolvente orgánico durante 2-12 horas; tratar
10. el 3-aminometil derivado de 4-desoxi-rifamicina SV obtenido, con dióxido de manganeso a temperatura ambiente; y poner en contacto el producto de reacción así obtenido en un exceso molar de hidrazina H<sub>2</sub>NR, en la que R se define como anteriormente, a temperatura ambiente en un disolvente inerte.
- 15.

39 - Procedimiento de obtención de una 4-desoxi-rifamicina SV, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

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

Madrid, 6 OCT. 1969

GRUPPO LEPETIT S.p.A.,

GOMEZ ACEBO Y MODEY  
 por el Firmado: F. Hernández Ruiz