

403549

PATENTE DE INVENCION

Ip. 462.

SECCION TECNICA
CLASIFICACION I. P. C.
CLASE _____
SUBCLASE _____

403549



Memoria Descriptiva

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR RIFAMICINAS SV.

Solicitante GRUPPO LEPETIT S.p.A., entidad italiana, residente en
Via Durando, 38, MILAN, Italia.

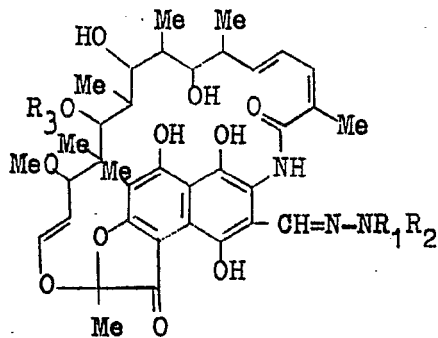
Int. Cl. ² C07D

La presente invención se relaciona con un procedimiento para preparar nuevos derivados de 3-formil-rifamicina SV. Más particularmente, la invención se relaciona con un procedimiento para preparar hidrazonas de 3-formil-rifamicina SV de fórmula general:

5.

403549

- 2 -



en la que R_1 y R_2 se eligen independientemente entre:

- a) hidrógeno
- b) alquilo
5. c) alquénilo
- d) alquinilo
- e) arilo
- f) aralquilo
- g) heterocíclico
10. h) cicloalquilo

y en cuya fórmula solo uno de los radicales R_1 y R_2 pueden ser hidrógeno o alquilo inferior de 1 a 4 átomos de carbono; y si está presente hidrógeno o alquilo inferior, el otro símbolo de los R_1 ó R_2 deberá ser alquilo insustituído o hidroxialquilo de por lo menos 5 átomos de carbono o un alquilo sustituido diferente al radical dimetilaminoetilo, o un miembro de los grupos c) a h) en donde arilo es distinto a fenilo y p-carboxifenilo, y aralquilo es distinto a bencilo, y en donde R_3 es -H ó CH_3CO . Debe también entenderse que los compuestos hexahidro y los compuestos 27-demetoxi-27-hidroxi, correspondientes, están incluidos en las hidrazonas de 3-for-

20.

403549

- 3 -

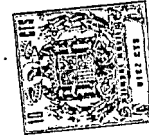


milrifamicina SV obtenidas mediante la invención.

- Normalmente, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo tienen como máximo 20 átomos de carbono aproximadamente. Estos grupos pueden ser de cadena normal o ramificada y pueden estar insustituídos o contener uno o más sustituyentes sobre la cadena carbonada. Ejemplos de tales sustituyentes son halógeno (fluor, cloro, bromo, yodo), nitro, amino, mono- y dialquilamino, ciano, hidroxilo, alcoxi, arilo, carboxi, carbalcoxi, carbamilo, fluorsulfonilo, sulfuro y similares. En adición, los grupos alquenilo pueden contener uno o una pluralidad de dobles enlaces y los grupos alquinilo pueden contener uno o una pluralidad de triples enlaces.
- 5.
- 10.
- Los grupos arilo y aralquilo pueden también estar insustituídos o tener uno o más grupos sustituyentes situados en el anillo, incluyendo, por ejemplo, alquilo inferior de 1 a 4 átomos de carbono, halo, haloalquilo inferior, amino, mono- y dialquilamino, ciano, carboxi, hidroxilo, aciloxi, carbalcoxi, nitro, carbamilo, sulfuro, sulfamido, fluorsulfonilo y similares. Los grupos cicloalquilo contendrán normalmente de 3 a 18 átomos de carbono aproximadamente.
- 15.
- 20.
- Las mitades heterocíclicas útiles en la presente invención incluyen los grupos de anillos heterocíclicos mono- o polinucleares conteniendo como mínimo un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, nitrógeno o azufre.
- 25.

403549

- 4 -



5. En la patente USA Nº 3.342.810 se describen ciertas hidrazonas de 3-formil-rifamicina SV. Estos compuestos aunque poseen una buena actividad antibacterial no poseen practicamente efecto alguno contra bacterias que han llegado a ser resistentes a otras rifamicinas, en especial la 3-(4-metil-1-piperazinil-iminometil)-rifamicina SV (rifampicina), que constituye el compuesto más conocido y terapéuticamente útil.

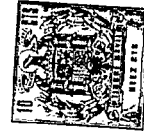
10. Es bien conocido por aquellas personas expertas en el campo de los antibióticos, que cuando una cepa de microorganismo llega a ser resistente a una droga antibiótica particular, es bastante difícil encontrar otro compuesto de la misma familia de antibióticos que sea capaz de inhibir el crecimiento de dicho mutante resistente. En algunos casos, es muy difícil encontrar compuestos que sean activos contra dicha cepa resistente incluso entre otras especies diferentes de antibióticos.

15. Sorprendentemente, se ha encontrado que los compuestos obtenidos mediante esta invención son capaces de inhibir, a baja concentración, el crecimiento de cepas resistentes a las otras rifamicinas. En particular, los compuestos de los ejemplos 1, 2, 11, 12, 13, 14, 15, 23 y 25, a una concentración de 10 µg/ml aproximadamente, o menos, inhiben el crecimiento de una cepa de Staph. aureus Tour resistente a la rifampicina.

20. Los compuestos obtenidos según la invención son en general muy activos también contra las bacterias Gram-positivas.

403549

- 5 -



- tivas y Gram-negativas, usuales. En particular, los compuestos muestran una actividad notable contra Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Streptococcus hemolyticus y Diplococcus pneumoniae strains. En estos casos, las gammas de concentración mínima de inhibición oscilan entre 0,001 y 0,5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ aproximadamente.
- 5.
- Otra característica muy importante de los compuestos obtenidos según la invención, reside en su actividad de inhibición de polimerasas DNA que son características de linfoblastos sanguíneos leucémicos en humanos y contra las transferasas (polimerasas) nucleotídicas, típicas, de virus no utilizados por las células normales. A partir de los estudios sobre miembros representativos de grupos de virus, se sabe que los mismos pueden transportar o inducir en las células anfitrionas polimerasas como una parte esencial de su aplicación. De este modo, existen virus tales como picornavirus o poliovirus que inducen la polimerasa RNA dependiente de RNA mientras que otros grupos, tales como virus de leucemia-sarcoma, transportan una polimerasa DNA dependiente de RNA. La presencia y el papel muy importante de la transcriptasa inversa de la polimerasa DNA dependiente de RNA en virus RNA oncogénicos, ha sido descubierta por D. Baltimore, *Nature*, 226, 1209 (1970) y por H.M. Temin et al., *Nature*, 226, 1211 (1970). El reciente descubrimiento de la enzima de polimerasa DNA dependiente de RNA en virus tumorales RNA de especies animales, ha sido confirmado también
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.



por otros autores, tal y como se indica, por ejemplo, en los siguientes documentos:

- Green et al.: mecanismo de carcinogenesis por virus tumorales RNA. Una polimerasa DNA dependiente de RNA en virus de sarcoma. Proc. Nat.Acad.Sci. USA 67, 385-393, 1970.
5. Spiegelman et al.: caracterización de los productos de polimerasa DNA dirigidos a RNA en virus RNA oncogénicos, Nature, London, 227, 563, 1970.
10. Hatanaka et al.: actividad de polimerasa DNA asociada con los virus tumorales RNA. Proc. Nat.Acad.Sci. USA, 67, 143, 1970.
- Scolnick et al.: síntesis de DNA por RNA conteniendo virus tumorales. Proc. Nat.Acad.Sci., USA, 67, 1034, 1970.
15. La implicación de virus RNA en ciertos tumores, ha sido apoyada también por otros factores: se ha encontrado que la transcriptasa inversa está presente en partículas de leche humana obtenidas de mujeres con una historia familiar de cancer de mama y de personas imbricadas. (Scholn et al. Nature, 231, 97, 1971). Priori et al. (Nature, New Biology, 232, 16, 1971) han aislado un virus denominado ESP-1, que contiene transcriptasa inversa, de células del fluido pleural de un niño con linfoma y lo han desarrollado con éxito en cultivos de tejidos. La presencia en el cancer de
20. mama humano de homólogos RNA al virus tumoral RNA de mama de ratones, ha sido demostrada a través de los experimentos
- 25.

403549

- 7 -



de hibridación molecular de R. Axel et al. (*Nature*, 235, 32, 1972).

5. En la actualidad no existen drogas eficaces para el tratamiento de enfermedades virales puesto que los virus y células tienen requerimientos metabólicos comunes así como idénticas trayectorias. La investigación más prometedora en la quemoterapia viral consiste claramente en el proyecto de productos químicos adecuados que se combinan específicamente con polimerasa de células virales o de células transformadas en virus pero no con polimerasas de células anfitrionas que controlan la expresión de información genética de los virus. Los inhibidores específicos de las enzimas de células virales o transformadas en virus y, en particular, los inhibidores de polimerasas de virus tumorales RNA, pueden tener un papel importante a la hora de probar las drogas para la terapia de la leucemia y para otras terapias cancerígenas.
- 10.
- 15.

20. La actividad inhibitoria de los compuestos obtenidos según la invención, ha sido ensayada sobre polimerasa DNA dependiente de RNA de virus de sarcoma (endógenos) y la actividad de polimerasa DNA dependiente de RNA de enzimas purificadas. La inhibición fue ensayada de acuerdo con los métodos descritos por C. Gurgo et al., *Nature, New Biology*, 229, 111, 1971.

25. El efecto de las diferentes concentraciones de drogas sobre la actividad de la polimerasa, fue determinado



a través de la incorporación de ^3H -dTTP (trifosfato de timina-deoxiribosido tritiado) en la fracción insoluble. Un ejemplo típico de los procedimientos experimentales es el siguiente:

5. 1) Aislamiento de virus y purificación de la polimerasa viral

El virus se aísla y purifica de células de rata transformadas en virus de sarcoma de murina (aislamiento de Moloney) (células 78A1) y de células de ratón transformadas en virus de sarcoma de murina (aislamiento de Harvey) (células MEH) como anteriormente se ha descrito (Green et al., Proc.Nat.Acad.Sci USA 67, 385-393, 1970, Rokutanda et al., Nature, 227, 1026-1028, 1970). La polimerasa viral se purifica 20-40 veces por incubación de virus purificado con 0,5 % NP-40 (nonidet P-40) en cloruro sódico 0,1 M, tampón Tris 0,01 M (pH 7,6), EDTA 0,001 M, durante 5 minutos a temperatura ambiente, y centrifugación zonal en gradientes de sucrosa al 15-30 % en 10 milimoles de tampón de fosfato sódico (pH 7,4), 2,5 milimoles de cloruro de magnesio, 10 milimoles de ditiotreitol y 5 % de glicerol, durante 24 horas, a 38.000 r.p.m. en un rotor Spinco SW41. Las fracciones máximas de actividad enzimática (13-17) de 22 fracciones recogidas, son introducidas en un tanque y almacenadas a -70°C en glicerol al 3P %.

Ensayo de la polimerasa DNA

25. Se realiza la incubación de la enzima durante 1 hora a 37°C en $100\mu\text{l}$ de mezcla de reacción conteniendo 40

403549

- 9 -



- milimoles de tampón Tris (pH 8,0), 5 milimoles de ditiotreit-
tol, 30 milimoles de cloruro sódico, 2,5 milimoles de cloruro
de magnesio, 0,1 milimoles de dATP, dGTP, dCTP y 10 μ Ci de
 3 H-dTTP (1218 Ci/mmol) tal y como describe Green et al. en
5. Proc.Nat.Acad.Sci. USA 67, 385-393, 1970. La reacción es ter-
minada mediante la adición de 150 μ l de ácido perclórico 1N.
Como vehículo se añade DNA de timo de ternera (100 μ g); el
producto DNA radioactivo es procesado en la forma descrita
en los dos artículos mencionados anteriormente. La actividad
de la polimerasa DNA dependiente de RNA endógeno es medida
10. después de la adición de 0,01 % PN-40 a virus purificado al
mismo tiempo que el ensayo. La actividad de polimerasa DNA
de polimerasa viral purificada se mide con 2 μ g de poli d(A-T)
como patrón y no NP-40.
15. Ensayo con respecto a la inhibición por los derivados de ri-
famocina
- Los derivados de rifamicina se disuelven en dimetil-
sulfóxido (DMSO) a una concentración de 5 mg/ml y se almace-
nan a 4°C. La inhibición de la actividad de polimerasa DNA
20. dependiente de RNA endógeno es ensayada mediante la adición
de 2 μ l de derivado adecuadamente diluido en DMSO ó 2 μ l de
DMSO (control) a la mezcla del ensayo antes de la adición a
virus roto que contiene 15-30 μ g de proteína viral. La incu-
bación enzimática se realiza durante 60 minutos a 37°C. La
25. inhibición de la enzima purificada se ensaya mediante pre-in-
cubación de 2 μ l de derivado o DMSO con 30 μ l de enzima (1 a



2 μ l de proteína) durante 10 minutos a 37°C; a continuación se añaden 70 μ l de mezcla de sustrato y la mezcla se incuba y procesa adicionalmente en la forma anteriormente descrita.

- En los ensayos representativos, los compuestos de
5. la invención descritos en los ejemplos 11, 12, 13, 14, 15 y 16 a una concentración de 2 - 100 μ g/ml o menos, reducen la incorporación de H³-dTTP a menos del 10 % en comparación con los ensayos de control, lo que demuestra claramente la inhibición del mecanismo de carcinogenesis mediante virus tumorales RNA de acuerdo con los puntos de vista bioquímicos más recientes.
- 10.

- El efecto inhibitorio de las transcriptasas inversas ha sido confirmado también mediante un ensayo sobre polimerasa de virus de leucemia murina. La polimerasa RNA de
15. virus de leucemia murina se prepara a partir de virus rotos TRITON X 100 tal y como describe Gallo et al., Nature, New Biology, 232, 141 (1971). El virus, tanto del tipo Rauscher como del tipo Moloney, se purifica previamente mediante congregación en la región de 1,16 g/ml de un gradiente de densidad de sucrosa después de la centrifugación inicial a
20. baja velocidad para eliminar los restos celulares y enlechando sobre sucrosa al 60 % hasta sucrosa al 20 %. La concentración final de preparación del virus es de 10¹¹ partículas/ml. Como control o patrón se utiliza RNA 70S endógeno. Las concentraciones de 50 μ g/ml o inferiores fueron eficaces a la hora de
25. inhibir la enzima. Por ejemplo, las inhibiciones del 50 %

403549

- 11 -

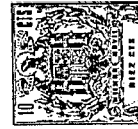


aproximadamente fueron obtenidas con concentraciones de solo 5 $\mu\text{g/ml}$, aproximadamente, de compuestos representativos.

- Se obtuvieron resultados similares empleando poli-
5. merasas de células tumorales de origen humano. En este caso, la actividad inhibitoria fue estudiada también sobre poli-
10. merasas de células normales para caracterizar un efecto selectivo. Los derivados de rifamicina de fórmula I, representativos, han sido evaluados con respecto a sus efectos sobre
15. dos polimerasas DNA purificadas aisladas de (1) linfocitos sanguíneos normales humanos (estimulados con PHA) (2) una línea de células de linfoblastos (derivada de un donador normal) y (3) linfoblastos sanguíneos leucémicos, humanos. Se utilizaron controles o patrones sintéticos y/o naturales.
20. Un ejemplo típico del procedimiento experimental es el siguiente:
- Linfoblastos sanguíneos humanos
25. Los linfoblastos leucémicos son aislados de la sangre periférica de pacientes con leucemia linfocítica aguda (ALL) mediante leucoforesis. Las células son lavadas y los eritrocitos se separan mediante lisis hipotónica. Los linfocitos normales son obtenidos de la sangre periférica de donadores sanos después de la separación de granulocitos mediante cromatografía en columna de nylon. Estos fueron estimulados con fitohemaglutinina (PHA) durante 72 horas como se des-

403549

- 12 -



cribe anteriormente (Gallo et al. Nature, 228, 927, 1970; Gallo et al. Science, 165, 400, 1968) con el fin de maximizar la actividad de la polimerasa DNA.

5. Sin embargo, debido a los problemas logísticos para la obtención de cantidades suficientes de estas células, se utiliza una línea de células de cultivo de tejido "normal" humano (1788) para suministrar polimerasas DNA menos purificadas durante parte de los estudios de reconocimiento inicial. Los compuestos de interés fueron estudiados entonces
10. más detalladamente con las enzimas más purificadas de los linfocitos sanguíneos normales y leucémicos. Estas células de cultivo de tejidos fueron obtenidas de Associated Biomedio System, Inc.

Preparados de polimerasa DNA

15. La polimerasa DNA celular se extrae y purifica de linfocitos sanguíneos normales (estimulados con PHA) y linfocitos sanguíneos leucémicos y células linfoides 1788, mediante homogeneización en tampón hipotónico seguido por Triton X 100 y/o elevada extracción con sales del pellet extralisosomal. Después de la centrifugación diferencial, los
20. extractos celulares son purificados adicionalmente mediante celulosa DEAD, fosfocelulosa y cromatografía en columna Sephadex G 200.

Ensayos con polimerasa DNA

25. Los ensayos con polimerasa DNA se realizan en un

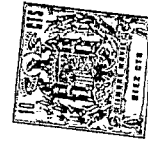
403540

- 13 -



- volúmen final de 100 μ l. La mezcla de ensayo contiene tampón de Tris-HCl, pH 8,3, 50 mmoles; MgAc, 6,0 mmoles; ditiotreitól, 8,0 mmoles; NaCl, 60 mmoles. El ajuste del valor pH se realiza después de la adición de los inhibidores los cuales se disuelven previamente en dimetilsulfóxido (DMSO). La concentración final de DMSO es de 0,5 % y todas las muestras de control incluyen esta cantidad de DMSO. Se utiliza en el ensayo una concentración de enzima que cataliza una incorporación de aproximadamente 1,0 pmol/hora. La enzima es pre-incubada, en la mayor parte de los casos, durante 5 minutos, con el inhibidor. La reacción se inicia entonces mediante la adición de control o patrón de o bien DNA sintético (poli d(AT), Miles Lab.) o bien de híbrido de DNA.RNA (oligo dT.poli rA), a 5 μ g/ml o controles naturales: DNA de espermatozoos de salmón activo a 50 μ g/ml y RNA viral 70S endógeno; 10 μ Ci de (3 H-metil)-TTP (New England Nuclear, 18,6 mCi/ μ mol, liofilizado y redissuelto en HCl 0,01 M justo antes de su utilización) y dATP (8×10^{-5} M, con control sintético) o los tres trifosfatos de deoxinucleoxido (8×10^{-5} M con reacciones de control de RNA o DNA). En algunos experimentos, no se realizó la pre-incubación de la enzima con inhibidor. En estos casos, las reacciones son iniciadas mediante la adición de la enzima a la mezcla de reacción completa que incluye el inhibidor. Se extraen muestras al comienzo de la incubación y después de 30 minutos y se termina mediante la adición de 2 ml de pirofosfa-
- 5.
 - 10.
 - 15.
 - 20.
 - 25.

403549



- 14 -

to sódico 0,08 M y se precipita en ácido tricloroacético frío al 12,5 % (TCA) con RNA de levadura (400 μ g) como vehículo. Los productos son recogidos sobre un filtro de milliporas, se lavan extensivamente con TCA al 5 % y 1 ml de una mezcla DMSO-etanol-NaCl 0,1 M (0,5:70:29,5), se secan y se recuentan en 2 ml de BBS₃ (Beckman) y 10 ml de liquifluor (New England Nuclear) en un contador de escintilación de líquidos Packard.

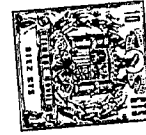
En los experimentos representativos, se averiguó que las concentraciones comprendidas entre 5 y 10 μ g/ml de compuestos de los ejemplos 11 y 12 provocaban una inhibición del 50 % de la polimerasa leucémica con un control o patrón de DNA sintético. La reacción controlada mediante un control de RNA sintético (poli rA.rU) fue incluso más susceptible.

Los experimentos representativos realizados con un control natural sobre una polimerasa de células normales y tumorales demostraron una susceptibilidad superior de las enzimas tumorales con respecto a los compuestos del ensayo. Por ejemplo, una concentración de unos 5 μ g/ml de compuesto 12 proporciona una inhibición del 50 % de polimerasa tumoral mientras que es prácticamente inactiva sobre polimerasa normal.

Otras características biológicas exhibidas por los nuevos derivados de rifamicina, incluyen la inhibición de formación de focos en células de ratón, de rata y humanas

403549

- 15 -



- mediante la cepa de Moloney y Kirsten de virus de sarcoma de murina; inhibición selectiva de la producción de virus por las células de ratón y humanas ya transformadas; detección de células reversibles empleando los sistemas celulares del
5. ratón y de la rata, no productores, transformados en virus de sarcoma de murina. Los compuestos de hidrazona de la presente invención han confirmado además su toxicidad selectiva con respecto a las células transformadas en virus de ratón, rata y de origen humano, cuando se ensayaron con respecto a
10. la capacidad de formación de colonias.

En los estudios realizados para determinar el efecto de los compuestos para inhibir la formación de focos mediante el virus de sarcoma Moloney y sobre cultivos de tejidos BALB/3T3, se utiliza el siguiente procedimiento.

15. Se desarrollan o crecen cultivos celulares BALB/3T3 en matraces de plástico de 250 ml en un medio de crecimiento consistente en medio esencial mínimo de Eagle con 10 % de suero bobino fetal. Los recuentos de células se efectúan con un contador Coulter después de suspender las células con
20. tripsina-EDTA y dilución en el medio de crecimiento. Como homogenato tumoral se emplea virus de sarcoma de murina Moloney. Este último se pasa cuatro veces por una línea embrio-celular de ratón, de paso elevado, derivado de Swiss, y se ensaya con respecto a las unidades de formación de focos en células
25. BALB/3T3. En la realización de los estudios, se utili-



za una modificación del método descrito por Hartley y Rowe, Proc.Nat.Acad.Sci. 55, 780, 1966. En el presente trabajo. los matraces son sembrados con $1-2 \times 10^6$ células en 25 ml de medio de crecimiento y se incuba a 37°C durante 24 horas.

5. Después de la separación de fluidos, el virus, en un número predeterminado de unidades formadoras de focos, se introduce en 0,5 ml de medio de crecimiento y se deja adsorber sobre la monocapa de células, durante 90 minutos, a 37°C. Después de este periodo de adsorción, se añade una cantidad
10. predeterminada, normalmente como una gama de dosis de 5 a 10 $\mu\text{g/ml}$, aproximadamente, de un compuesto de rifamicina (previamente disuelto en dimetilsulfóxido a una concentración de 1 mg/ml) y se transporta en 25 ml de medio de crecimiento, y los cultivos se disuelven al incubador. Como control, se
15. añade, a un cultivo separado, dimetilsulfóxido solo en el medio de crecimiento. Después de 3 días de inoculación, los cultivos son cambiados de fluidos y se recuentan, en el séptimo día, los focos de células transformadas.

- En este mismo método, se estudia el virus de estomatitis vesicular, serotipo de New Jersey. Los métodos empleados para crecer y ensayar este virus han sido descritos por Hackett et al., Virology, 31, 114 (1967).
- 20.

- Estas propiedades indican que dichos compuestos poseen una actividad inhibitoria eficaz sobre los tumores inducidos por virus en animales.
- 25.

403549

- 17 -



- El procedimiento para preparar los compuestos de rifamicina, comprende tratar 3-formil-rifamicina SV o su derivado 25-desacetilo, o los correspondientes compuestos hexahidro, en un disolvente orgánico, con la cantidad estequiométrica de una hidrazina seleccionada de fórmula
5. $H_2N-NR_1R_2$ en donde R_1 y R_2 se definen como anteriormente. Después de reposar a temperatura ambiente, durante un período de tiempo que varía entre 10 minutos y algunas horas, el compuesto bruto se recupera mediante concentración o evaporación del disolvente. La purificación de estos derivados no representa un problema particular para aquellas personas expertas en química orgánica y generalmente se efectúa mediante cristalización en un disolvente adecuado el cual, por ejemplo, puede elegirse entre los alcoholes inferiores,
10. ésteres acílicos inferiores de alcoholes inferiores o benceno. Como puede verse a partir de la fórmula estructural de los compuestos de la invención, puede sintetizarse un número muy grande de derivados que caen dentro del alcance de la invención, seleccionando las mitades hidrazina apropiadas. En
15. algunos casos, cuando la hidrazina contiene un grupo fuertemente acílico, tal como sulfo, el derivado de rifamicina final se hidroliza en la posición 27 al correspondiente compuesto 27-demetoxi-27-hidroxi durante la formación de la hidrazona.
20. 25. La preparación de los siguientes compuestos, se suministra como un ejemplo de una forma conveniente de realizar



la invención y no se intenta con ello limitar el alcance de la misma.

Método general de preparación de las hidrazonas

5. A una solución en tetrahidrofurano de 0,01 moles de 3-formil-rifamicina SV o su derivado 25-desacetilo o el correspondiente compuesto hexahidro, se añaden 0,01 moles de una hidrazona, a temperatura ambiente, con agitación. Después de agitar durante un periodo de tiempo que varía entre 10 minutos y 3 horas, se ensaya una gota de la solución mediante
10. cromatografía de capa delgada sobre gel de sílice para controlar la desaparición del compuesto de partida y la formación del producto final.

- Después de la desaparición completa del grupo carbonilo, la solución se concentra hasta sequedad y el compuesto bruto se recupera y purifica entonces mediante cristalización en un disolvente o mediante cromatografía en columna.
- 15.

- En la tabla I, se proporcionan los datos físico-químicos de algunos compuestos representativos. En la tabla solo se representan los compuestos en los que R_3 es acetilo y no se indican los derivados hidrogenados.
- 20.

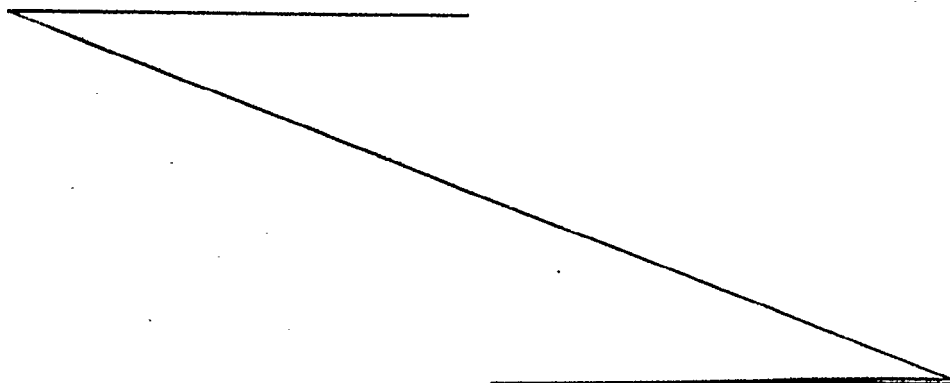
El compuesto de partida para preparar los derivados hexahidro de las rifamicinas de fórmula I, es decir, 16, 17, 18, 19, 28, 29-hexahidro-3-formil-rifamicina SV se obtiene de la siguiente forma:

25. Se hidrogenan 20 g de rifamicina S suspendidos en





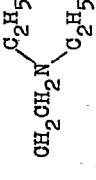
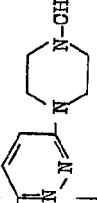
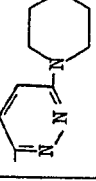
403549

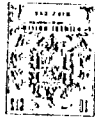
- 600 ml de etanol seco, en un bombo Parr, con 2 g de PtO_2 como catalizador, durante 3 horas a temperatura ambiente y bajo una presión de hidrógeno de 5 atmósferas aproximadamente. Después de filtrar el catalizador, la solución se evapora
5. hasta sequedad y el producto bruto, disuelto en tetrahidrofurano, se mantiene bajo agitación con 18 g de MnO_2 a temperatura ambiente. El precipitado inorgánico se filtra y después de concentrar este filtrado a un pequeño volumen, la mezcla se recibe con acetato de etilo (300 ml) y se lava con
10. agua. La capa orgánica se seca sobre sulfato sódico y tras la evaporación proporciona 8 g de hexahidro-rifamicinas. P.f. 158-160°C (en metanol). El producto se convierte entonces en el correspondiente derivado 3-formilo siguiendo esencialmente el mismo método descrito en el ejemplo 5 de la
15. patente británica Nº 1.219.360. El producto bruto puede purificarse mediante cromatografía en columna de su solución clorofórmica, a través de gel de sílice y eluyendo con cloroformo que contiene 1 % de metanol. El compuesto recuperado por evaporación de la solución cromatografiada es 16, 17, 18,
20. 19, 28, 29-hexahidro-3-formilrifamicina SV que funde a 126-133°C.



4 3549

T A B L A I

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles λ max E ₁ cm.
1) H		columna CHCl ₃ /MeOH	48	157-9	475 331	170,6 281,9
2) H		columna CHCl ₃ /MeOH	47	157-9	475 330	178,5 290,0
3) CH ₃	CH ₂ COOH	EtoAc. / Ligroína	66	> 280	478 340	200,9 328,9
4) H		Benceno	50	> 280	480 335	150 320
5) H		EtoAc.	56	≈ 200 desc.	491 356	180,5 291
6) H		Benceno	35	≈ 210 desc.	485 352	165,9 258,3



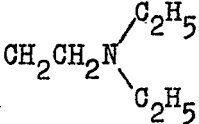
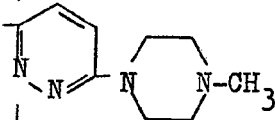
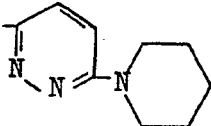


403549

4-3549

- 20 -

T A B L A I

	R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
1)	H		columna CHCl ₃ /MeOH	48
2)	H		columna CHCl ₃ /MeOH	47
3)	CH ₃	CH ₂ COOH	EtoAc./ Ligroina	66
4)	H		Benceno	50
5)	H		EtoAc.	56
6)	H		Benceno	35

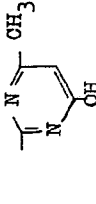
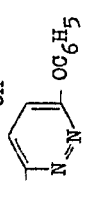
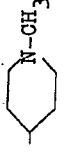
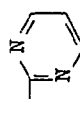
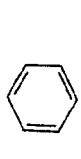
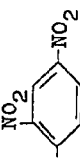


403549

Rendimiento to %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	1 % E ₁ cm.
48	157-9	475 331	170,6 281,9
47	157-9	475 330	178,5 290,0
66	>280	478 340	200,9 328,9
50	>280	480 335	150 320
56	≈ 200 desc.	491 356	180,5 291
35	≈ 210 desc.	485 352	165,9 258,3

403549

T A B L A I (Continuación)

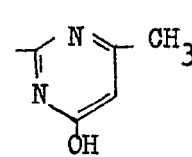
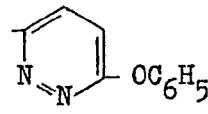
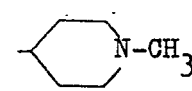
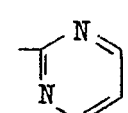
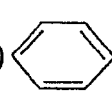
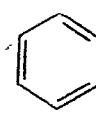
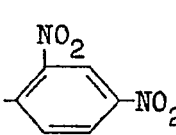
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles E ₁ % 1 cm.
7)		Metanol	68	200 desc.	483 343	191,6 341,3
8)		Benceno	81	188-90	485 348	164,3 326,8
9)		EtoAc. acetato de etilo	60	180 desc.	473 332	166 275
10)		Metanol	60	208-10	480 345	191,4 344,0
11)		MeOH	48	168-72	486 360	185,8 238,9
12)		columna CHCl ₃ /MeOH	42	205-15 desc.	500 390	200,5 279,3

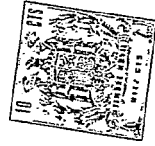
403549



403549

T A B L A I (Continuación)

	R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
7)	H		Metanol	68
8)	H		Benceno	81
9)	H		EtoAc. acetato de etilo	60
10)	H		Metanol	60
11)			MeOH	48
12)	H		columna CHCl ₃ /MeOH	42





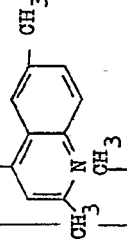
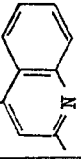


403549

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ_{max}	E ₁ % 1 cm.
68	200 desc.	483 343	191,6 341,3
81	188-90	485 348	164,3 326,8
60	180 desc.	473 332	166 275
60	208-10	480 345	191,4 344,0
48	168-72	486 360	185,8 238,9
42	205-15 desc.	500 390	200,5 279,3

403549

T A B L A I (Continuación)

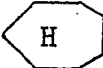
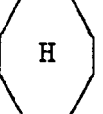
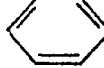
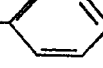
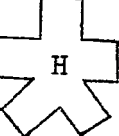
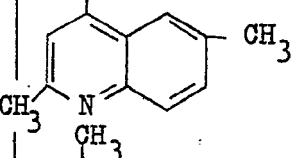
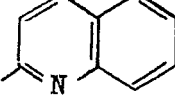
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles E ₁ %
13) H		columna CHCl ₃ /MeOH	52	157-9	475 330	173,0 274,0
14) H		columna CHCl ₃ /MeOH	46	152-6	476 335	175,0 282,3
15)		columna CHCl ₃ /MeOH	60	150-1	490 363	173,2 231,2
16) H		columna CHCl ₃ /MeOH	40	140	483 343	135,4 240,9
17) H		Acetato de etilo	75	206 desc.	510 383	166 297
18) H		Metanol	75	193 desc.	504 364	194 246

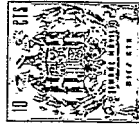


403549

403549

T A B L A I (Continuación)

R_1	R_2	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
13) H		columna $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	52
14) H		columna $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	46
15) 	CH_2 - 	columna $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	60
16) H		columna $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	40
17) H		Acetato de etilo	75
18) H		Metanol	75

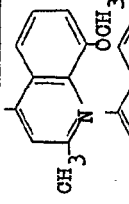
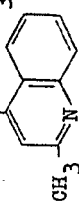
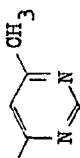
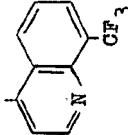
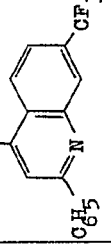


403549

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E ₁ % 1 cm.
52	157-9	475 330	173,0 274,0
46	152-6	476 335	175,0 282,3
60	150-1	490 363	173,2 231,2
40	140	483 343	135,4 240,9
75	206 desc.	510 383	166 297
75	193 desc.	504 364	194 246

403569

T A B L A I (Continuación)

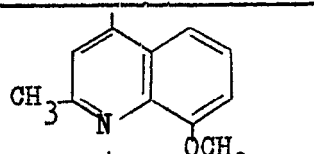
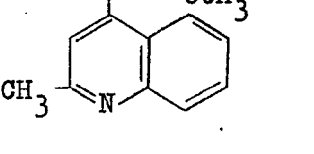
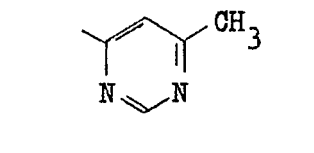
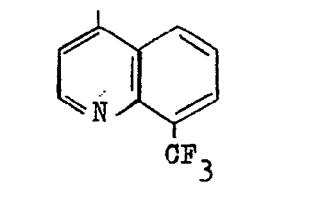
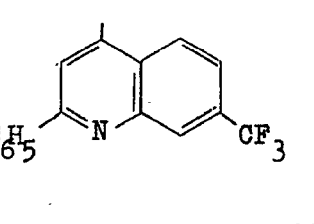
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles λ max
19)		Acetato de etilo	75	212 desc.	512 362 325	170 283 178
20)		Acetato de etilo	65	208 desc.	512 363	167 304
21)		Metanol	55	215 desc.	487 348	191,6 382,8
22)		Benceno	45	185 desc.	500 384	149,1 249,5
23)		Benceno	40	185 desc.	508	134,2 190



403569

403549

T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
19)	 <chem>Cc1cnc2ccccc12OC</chem>	Acetato de etilo	75
20)	 <chem>Cc1cnc2ccccc12</chem>	Acetato de etilo	65
21)	 <chem>Cc1nc(C)nc1</chem>	Metanol	55
22)	 <chem>C1=CC=C2C(=C1)N=CN2C(F)(F)F</chem>	Benceno	45
23)	 <chem>Cc1cnc2cc(C(F)(F)F)ccc12</chem>	Benceno	40

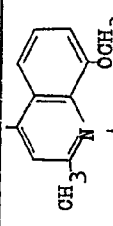
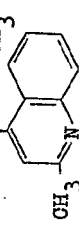
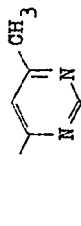
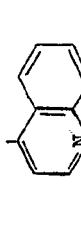
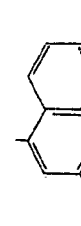


403549

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E 1 % 1 cm.
75	212 desc.	512 382 325	170 283 178
65	208 desc.	512 383	167 304
55	215 desc.	487 348	191,6 382,8
45	185 desc.	500 384	149,1 249,5
40	185 desc.	508	134,2 190

403549

T.A.B.L.A. I (Continuación)

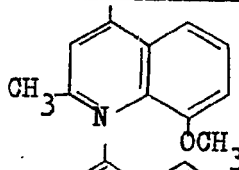
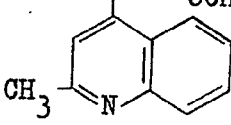
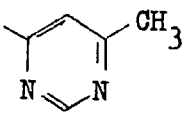
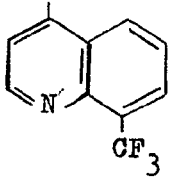
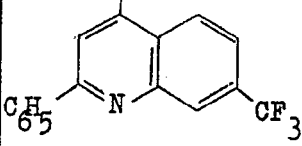
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles E ₁ % E ₁ cm.
19)		Acetato de etilo	75	212 desc.	512 382 325	170 283 178
20)		Acetato de etilo	65	208 desc.	512 383	167 304
21)		Metanol	55	215 desc.	487 348	191,6 382,8
22)		Benceno	45	185 desc.	500 384	149,1 249,5
23)		Benceno	40	185 desc.	508	134,2 190



403549

403549

T A B L A I (Continuación)

	R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
19)	H		Acetato de etilo	75
20)	H		Acetato de etilo	65
21)	H		Metanol	55
22)	H		Benceno	45
23)	H		Benceno	40



403549

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	$E_{1\text{ cm}}^1$ %
75	212 desc.	512 382 325	170 283 178
65	208 desc.	512 383	167 304
55	215 desc.	487 348	191,6 382,8
45	185 desc.	500 384	149,1 249,5
40	185 desc.	508	134,2 190

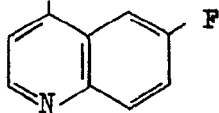
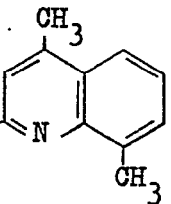
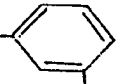
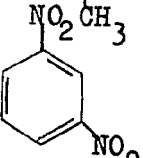
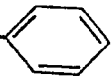
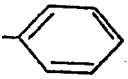
T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P. F. °C	U. V. significativo y bandas visibles λ max	U. V. significativo y bandas visibles λ max
24		Acetato de etilo	50	200; desc.	502 384	161,2 259,2
25)		Metanol	50	193-4	502 368	157,8 248,7
26)		Tetracloruro de carbono	90	178-80	485 358	237,5 243,8
27)		Metanol	90	220-4	525 425 340	210 235 228
28)		Metanol	40	170-5	475 332	160,5 272,1
29)		Acetato de etilo/Ingroina	75	145-8	470 331	135 233
30) CH ₂ -CH ₂ -OH		Tetracloruro de carbono	75	164-6	485 355	196 230,8

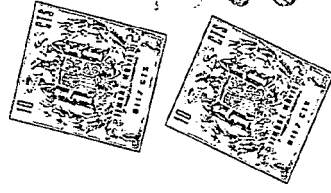
603549



T A B L A I (Continuación)



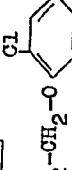

	R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
24	H		Acetato de etilo	50
25)	H		Metanol	50
26)	H		Tetracloruro de carbono	90
27)	CH ₃		Metanol	90
28)	H	-CH ₂ -CH=CH ₂	Metanol	40
29)	H	-CH ₂ -CH ₂ -O- 	Acetato de etilo/Ligroina	75
30)	CH ₂ -CH ₂ OH		Tetracloruro de carbono	75

403540



Rendimiento %	P. r. %	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E ₁ % 1 cm.
50	200 desc.	502 384	161,2 259,2
50	193-4	502 368	157,8 248,7
90	178-80	485 358	237,5 243,8
90	220-4	525 425 340	210 235 228
40	170-5	475 332	160,5 272,1
75	145-8	470 331	135 233
75	164-6	485 355	196 230,8

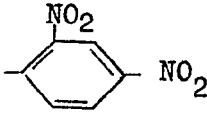
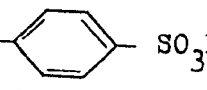
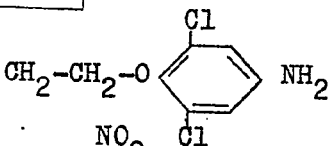
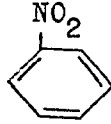
T A B L A I (Continuación)

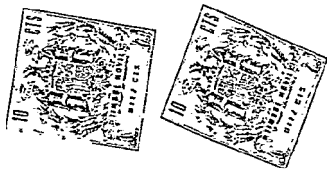
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	E ₁ % E ₁ cm.
31) H	 NO ₂	columna. clorofórmico, metanol 96:4	55	120-4 desc.	502 401	143,3 215,9
32) H	 SO ₃ H	acetato de etilo petróleo ligero	50	250 desc.	475 358	179,4 268,1
33) CH ₂ -CH ₂ -N-(C ₂ H ₅) ₂	CH ₂ -CH ₂ -N-(C ₂ H ₅) ₂	Acetona	60	280	475 330	155 322
34) H	 NH ₂	Tetracloruro de carbono	95	160-3	474 333	154,5 244,4
35) H	 NO ₂	Acetato de etilo	85	244-6	348	187,7 225,5



403549

T A B L A I (Continuación)

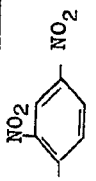

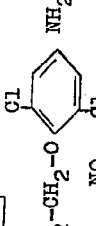
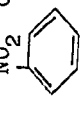
	R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
31)	H	 16, 17, 18, 19, 28, 29-hexahidro	columna. cloroformo:metanol 96:4 acetato de etilo/ petróleo ligero	55
32)	H	 27-demetoxi-27-hidroxi	Acetato de etilo	50
33)	CH ₂ -CH ₂ -N-(C ₂ H ₅) ₂	CH ₂ -CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	Acetona	60
34)	H	 CH ₂ -CH ₂ -O	Tetracloruro de carbono	95
35)	H		Acetato de etilo	85



403549

Rendimiento %	P.f. % desc.	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E ₁ % 1 cm.
55	120-4 desc.	502 401	143,3 215,9
50	250 desc.	475 358	179,4 268,1
50	280	475 330	155 322
35	160-3	474 333	154,5 244,4
35	244-6	348	187,7 225,5

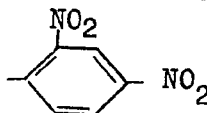
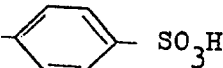
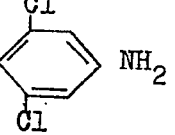
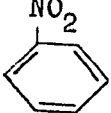
T A B L A I (Continuación)

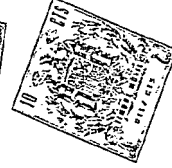
R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendi- miento %	P. f. °C	U. V. significativo y bandas visibles λ max	E ₁ % E ₁ cm.
31) H	 NO ₂ 16, 17, 18, 19, 28, 29- hexahidro	columna. cloroformo; metanol 96:4 acetato de etilo/ petróleo ligero	55	120-4 desc.	502 401	143,3 215,9
32) H	 SO ₃ H 27-demetoxi-27-hidroxi	Acetato de etilo	50	250 desc.	475 358	179,4 268,1
33) CH ₂ -CH ₂ -N- (C ₂ H ₅) ₂	CH ₂ -OH, N(C ₂ H ₅) ₂	Acetona	60	280	475 330	155 322
34) H	 Cl NH ₂ Cl CH ₂ -CH ₂ -O-	Tetracloruro de carbono	95	160-3	474 333	154,5 244,4
35) H	 NO ₂	Acetato de etilo	85	244-6	348	187,7 225,5



405549

T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
31) H	 <p>16, 17, 18, 19, 28, 29-hexahidro</p>	columna, cloroformo, metanol 96:4 acetato de etilo/ petróleo ligero	55
32) H	 <p>27-demetoxi-27-hidroxi</p>	Acetato de etilo	50
33)	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$ $(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	Acetona	60
34) H	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ 	Tetracloruro de carbono	95
35) H		Acetato de etilo	85





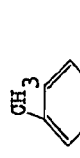
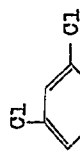
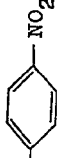
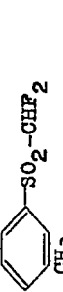
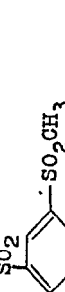


403540

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E 1 % 1 cm.
55	120-4 desc.	502 401	143,3 215,9
50	250 desc.	475 358	179,4 268,1
60	280	475 330	155 322
95	160-3	474 333	154,5 244,4
85	244-6	348	187,7 225,5

6455

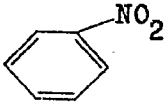
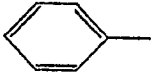
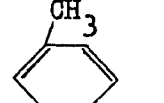
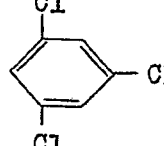
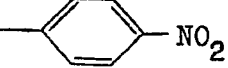
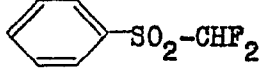
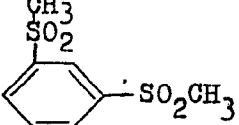
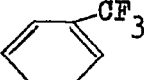
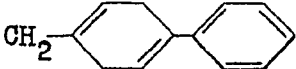
T A B L A I (Continuación)

403549

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	U.V. significativo y bandas visibles λ ₁ % cm.
36) H		Tetracloruro de carbono	70	200-3	490 357	204 284
37) H		Metanol	80	190-3	485 358	222 233
38) H		Tetracloruro de carbono/ligroina	85	160-4	484 357	203 226
39) H		Metanol	90	174-6	485 342	156,8 250,8
40) H	$-(CH_2)_1-CH_3$	Ligroina	70	118-20	478 340	127,8 231,3
41) CH ₃	$-(CH_2)_4-CH_3$	Metanol	60	150-3	480 343	130 235
42) H		Metanol	85	214-16	501 440 348	326,9 326,9 186,5
43) H				194-197 (deso.)		
44) H				196-198 (deso.)		
45) H				178-181 (deso.)		
46) CH ₃				180 (deso.)		

649204

T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
36) H		Tetracloruro de carbono	70
37) H		Metanol	80
38) H		Tetracloruro de carbono/ligroina	85
39) H		Metanol	90
40) H	-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	Ligroina	70
41) CH ₃	-(CH ₂) ₄ -CH ₃	Metanol	60
42) H		Metanol	85
43) H			
44) H			
45) H			
46) CH ₃			



403549

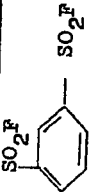
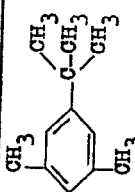
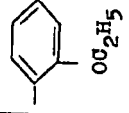
Rendimiento %	P.f. RC	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	$E_{1\text{ cm.}}^{1\%}$
70	200-3	490 357	204 284
80	190-3	485 358	222 233
85	160-4	484 357	203 226
90	174-6	485 342	156,8 250,8
70	118-20	478 340	127,8 231,3
60	150-3	480 343	130 235
85	214-16	501 440 348	326,9 326,9 186,5
	194-197 (desc.)		
	196-198 (desc.)		
	178-181 (desc.)		
	180 (desc.)		

403549

- 27 -

403549

T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico
47) H		Tetracloruro de carbono
48) H		Tetracloruro de carbono/ligroina
49) nC ₈ H ₁₇	nC ₈ H ₁₇	Hexano
50) nC ₆ H ₁₃	nC ₆ H ₁₃	Hexano
51) H	CH ₂ CF ₃	Metanol
52) H	-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	Acetato de etilo/ligroina
53) H		Metanol

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles λ max	E ₁ % 1 cm.
75	182-7	365 500	265 151
63	136-47	336 475	232 138
65	88-94	350 486	203 123
58	89-95	350 486	222 130
69	178-82	475 333	183 312,4
80	122-3	480 340	139 252
60	170	490 360	238 228

403549

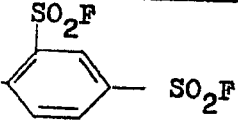
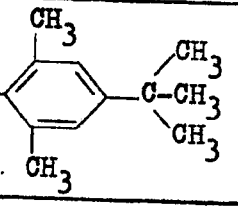
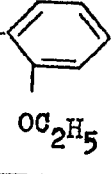


403549

- 27 -

403549

T A B L A I (Continuación)

R ₁	R ₂	Disolvente de cristalización o cromatográfico	Rendimiento %
47) H		Tetracloruro de carbono	75
48) H		Tetracloruro de carbono/ligroina	63
49) nC ₈ H ₁₇	nC ₈ H ₁₇	Hexano	65
50) nC ₆ H ₁₃	nC ₆ H ₁₃	Hexano	58
51) H	CH ₂ CF ₃	Metanol	69
52) H	-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	Acetato de etilo/ligroina	80
53) H		Metanol	60



403549

Rendimiento %	P.f. °C	U.V. significativo y bandas visibles	
		λ max	E ₁ % 1 cm.
75	182-7	365 500	265 151
63	136-47	336 475	232 138
65	88-94	350 486	203 123
58	89-95	350 486	222 130
69	178-82	475 333	183 312,4
30	122-3	480 340	139 252
50	170	490 360	238 228



El compuesto indicado en la tabla anterior se indica solamente a modo de ejemplo, debiéndose entender que dentro del significado de la fórmula genérica se encuentran comprendidas otras hidrazonas que son también útiles para los fines que se acaban de ilustrar.

5.

Por ejemplo, las hidrazonas se preparan convenientemente a partir de 3-formil-rifamicina SV o su derivado 25-desacetilo o a partir de los correspondientes compuestos hexahidro e hidrazinas de fórmula $NH_2-NR_1R_2$.

10.

Ejemplo No	R_1	R_2
1	C_4H_9	C_5H_{11}
2	H	6-bis-(hidroxietyl)-amino-3-piridazino
3	CH_3	1H-2,3-benzoxazin-4-ilo
4	H	1H-2,3-benzoxazin-4-ilo
5	C_2H_5	6-cloro-1H-2,3-benzoxazin-4-ilo
6	H	6-cloro-1H-2,3-benzoxazin-4-ilo
7	CH_3	6-amino-1H-2,3-benzoxazin-4-ilo
8	H	6-fluorftalazin-1-ilo
9	CH_3	$-(CH_2)_5-OH$
10	CH_3	$-(CH_2)_4-C_6H_5$
11	H	$-CH_2-C_6H_4-C_6H_4-COOH-4$
12	C_4H_9	ciclohexilo

403549

- 29 -



Ejemplo	R ₁	R ₂
13	H	2-fenil-6-metoxi-4-quinolilo
14	C ₂ H ₅	-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃
15	H	-C ₆ H ₄ -SO ₂ CH ₃ -4
16	H	-C ₆ H ₄ -SO ₂ F-4
17	H	-C ₆ H ₃ (NO ₂ -2)(SO ₂ F-4)
18	H	9-acridinilo
19	C ₅ H ₉	C ₈ H ₁₇
20	(C ₃ H ₇) ₂ NC ₂ H ₄	C ₈ H ₁₆ OH
21	CH ₂ Cl-CHCl	m-nitrofenilo
22	CH ₂ CH ₂ COOH	3-fenilpropilo
23	CH ₂ CH:CHCH ₂ CH ₃	isoamilo
24	C≡C-CH ₃	CH ₃
25	C ₄ H ₉	p-nitrofenilo
26	CH ₃	m-nitrofenilo
27	H	p-clorofenilo
28	H	p-bromofenilo
29	H	m-fluorfenilo
30	H	2,5-difluorfenilo
31	H	C ₆ H ₃ (SO ₂ F) ₂ -2,6
32	H	o-metoxifenilo
33	H	p-tolilo
34	H	4-carboximetoxifenilo



Ejemplo	R ₁	R ₂
35	H	C ₆ H ₄ -AsO ₃ H ₂ -4
36	H	C ₆ H ₄ -AsO ₂ H ₂ -4
37	H	(2,6-dimetil-4-isobutil)fenilo
38	CH ₃	C ₁₂ H ₂₅
39	H	2-fenetilo
40	H	CH ₂ CH(OH)(CH ₂) ₉ -CH ₃
41	H	4-bifenililo
42	H	CH ₂ COOC ₂ H ₅
43	H	CH(CH ₃)COOC ₂ H ₅
44	H	pentafluorfenilo
45	H	o-clorbencilo
46	H	3,4-dimetoxibencilo
47	H	o-trifluormetilfenilo
48	H	2-(2,6-dibromo-4-aminofenoxi)- -etilo
49	H	2-(2,6-dibromo-4-acetamidofeno- xi)-etilo
50	H	3-fenilpropilo
51	H	4-fenilbutilo
52	H	2-fenilpropilo
53	H	4-fenilbencilo
54	H	2-piridilo
55	H	2-isobutenilo
56	H	CH ₂ -C≡CH

403549

- 31 -



Ejemplo	R ₁	R ₂
57	H	ciclopropilo
58	H	ciclobutilo
59	H	2-naftilo
60	H	2-(1,2,3,4-tetrahidronaftilo)
61	amilo	amilo
62	H	$C_6H_4SC_{18}H_{37}-2$
63	H	$C_6H_4SO_2CF_3-4$
64	H	$(CF_2)_8CH_3$
65	H	2,4,6-trinitrofenilo
66	CH ₃	CH ₂ CH(OH)C ₆ H ₅
67	CH ₃	CH ₂ CH(SH)CH ₃
68	CH ₃	CH ₂ C(CH ₃) ₂ SOCH ₂ C(CH ₃) ₂ SH
69	H	5-ciano-6-cloro-2-piridilo
70	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H
71	H	2-tiazolilo
72	H	3,4-metilendioxi bencilo
73	H	ciclohexilmetilo
74	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃)C ₆ H ₅
75	CH ₃	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅
76	H	4-piridil-N-óxido
77	H	4-amino-5-cloro-3-piridazinilo
78	H	5-nitro-2-pirimidilo
79	H	1,3,4-tiadiazol-2-ilo

403549



- 32 -

Ejemplo	R ₁	R ₂
80	H	1,2,5-tiadiazol-3-ilo
81	bencilo	bencilo
82	H	3-metil-5-nitro-2-piridilo
83	H	2-metilsulfonil-3,5-dicloro-4-piridilo
84	H	2-bencimidazolilo
85	H	8-purinilo
86	H	3-(4-piridilo)-propilo
87	H	6-purinilo
88	H	1-adamantanilo
89	H	hexacloroquinolin-4-ilo
90	H	CH ₂ CH=CHC ₆ H ₅
91	H	3-piridilmetilo
92	H	1-metil-8-purinilo
93	H	3-metil-8-purinilo
94	H	7-metil-8-purinilo
95	CH ₃	-(CH ₂)-OCOCH ₃

N O T A

=====

5. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en

403549



- 33 -

- cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente presentada en Italia con el nº 89608 A/71 de 24 de junio de 1971, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR RIFAMICINAS SV; caracterizándose por lo siguiente:
- 5.
10. 1.- Procedimiento para preparar rifamicinas SV, de fórmula general:
-
- en la que R_1 y R_2 se eligen independientemente entre:
15. a) hidrógeno, b) alquilo, c) alquenilo, d) alquinilo, e) arilo, f) aralquilo, g) heterocíclico, h) cicloalquilo, y en cuya fórmula solo uno de los radicales R_1 y R_2 pueden ser hidrógeno o alquilo inferior de 1 a 4 átomos de carbono; y si está presente hidrógeno o alquilo inferior, el otro símbolo de los R_1 ó R_2 deberá ser alquilo sustituido o hidroxialquilo de por lo menos 5 átomos de carbono o un alquilo sustituido diferente al radical dimetilaminoetilo,
- 20.

