



PATENTE DE INVENCION
=====

Ref: Lp. 471.

411969

Memoria Descriptiva

sobre:

Procedimiento para la preparación de una rifamicina
3-sustituída.

=====

Solicitante GRUPPO LEPETIT S.p.A., entidad italiana, residente
en Via Durando, 38, 20158 MILANO, Italia.

F.C. 24-3-75

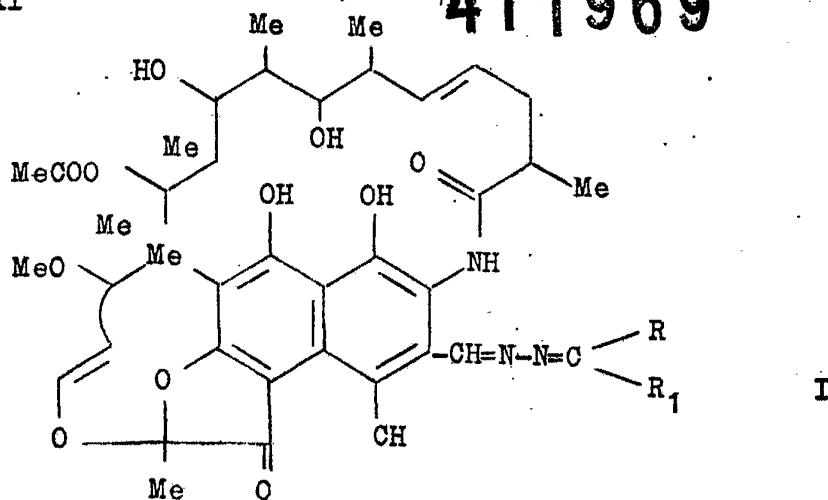
Cl.ª C.F.D

El presente invento se refiere a un procedimien
to para la preparación de compuestos de rifamicina y
más particularmente se relaciona con la preparación
de rifamicinas 3-sustituídas de la fórmula I y sus
5. derivados de 25-desacetilo y 16, 17, 18, 19, 28, 29-he



xahidroxi

411969



en que R es hidrógeno o fenilo, R₁ es fenilo o p-carboxifenilo, R y R₁ juntos con el átomo de carbono adyacente pueden representar un radical cicloalquilideno.

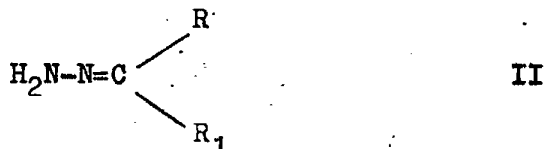
5. El término "cicloalquilideno" se refiere a restos cicloalifáticos derivados de anillos de 5-10 átomos de carbono.

Los términos "cicloalquilo" y "cicloalquilideno" en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas comprenden también radicales derivados de espiranos alifáticos. También se entiende que los anillos cicloalifáticos pueden contener uno o más enlaces dobles y pueden llevar uno o más sustituyentes seleccionados de hidroxilo, carboxilo, amino, dialquilo(inferior)amino, alquilo inferior, hidroxilo-alquilo inferior, amino-alquilo inferior, alquil(inferior)amino-alquilo inferior, dialquil(inferior)amino-alquilo inferior.

10.

15.

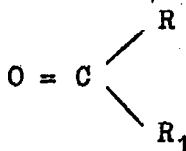
Los nuevos compuestos se preparan según la invención por reacción de 3-formilrifamicina o su derivado 25-desacetilo o hexahidro con una hidracina de la fórmula





5. en que R y R₁ tienen el mismo significado que arriba. La reacción se realiza generalmente a temperatura ambiente por adición de una solución del compuesto de 3-formilrifamicina inicia en un solvente inerte orgánico un monto equimolar de la hidracina de la fórmula II. La reacción termina generalmente en un período de tiempo que tiene un margen de 10 minutos a 4-5 horas. El calentamiento puede ser conveniente en algunos casos donde el régimen de reacción es muy bajo. La recuperación del producto definitivo no presenta dificultades particulares para el técnico experto e involucra la evaporación del solvente de reacción, purificación del material crudo por cristalización y/o cromatografía de columna.
- 10.

15. Los compuestos de hidracina iniciales se preparan de acuerdo con procedimientos conocidos que comprenden el calentamiento en un solvente inerte orgánico de un derivado de carbonilo seleccionado de la fórmula



en que R y R₁ tienen el mismo significado que el indicado arriba, con una cantidad equimolecular de hidracina.

20. Es obvio que por la selección de los apropiados compuestos de carbonilo es posible preparar una amplia serie de hidracina de la fórmula II que a su vez pueden hacerse reaccionar fácilmente con los derivados de 3-formilrifamicina para obtener los correspondientes compuestos definitivos de la fórmula I.

25. Por ejemplo, los siguientes compuestos de carbonilo pueden convertirse en la correspondiente hidrazona y luego en com



puestos de la fórmula I en que las mismas mitades R y R₁ están presentes.

Compuestos de carbonilo de la fórmula: $O = C \begin{cases} R \\ R_1 \end{cases}$

5. Ciclopentanona; Ciclohexanona; (+) Méntona; (-) Mentona; (+) Alcanfor; (+) Alcanfor; Carvona; Pulegona; Isopulegona; Acido ciclohexan-1-ono-1-carboxílico; 2-Butil-3-metil-2-ciclohexenona; 2-(2-dimetilaminoetil)-ciclohexanona; Acido ciclohexano-3-ono-1-acético; Cicloheptanona; 4,4-Dimetilcicloheptanona; 3,5,5-Trimetilcicloheptanona; Acido ciclooctan-2-ono-1-propiónico; Ciclododecanona; Espiro(5,5)undecano-1-ona; Espiro(6,7)tetradecan-8-ona.

15. Los nuevos compuestos son sólidos de color que pueden cristalizarse desde los solventes orgánicos comunes como son alcoholes inferiores, acetato de etilo, dioxano, tetrahydrofurano, benceno e hidrocarburos clorinados. Su solubilidad en los solventes orgánicos depende obviamente del tipo y voluminosidad de las mitades R y R₁. Cuando están presentes funciones ácidas, los compuestos son solubles también en agua como sales de metal alcalina.

20. Los compuestos preparados por el procedimiento de acuerdo con el invento tienen una buena actividad antibacteriana contra bacterias gram positivas y gram negativas. En particular, la nueva clase de compuestos muestran una notable actividad contra estirpes de Staphylococcus aureus. En este caso, la concentración inhibidora mínima oscila entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 0,05 $\mu\text{g/ml}$.

25. Los compuestos son activos en una concentración que varía entre 1 y 50 $\mu\text{g/ml}$ también contra estirpes de Staphylococcus aureus que son resistentes a otras rifamicinas conoci-



das: La toxicidad de los nuevos compuestos es muy baja.

- Otra característica muy importante de los compuestos preparados según el procedimiento de la invención es su actividad inhibidora de polimerasas DNA que son características de linfoblastos sanguíneos leucémicos y contra transferasas de nucleotidilo típicas (polimerasas) de virus no utilizadas por la célula normal. Se sabe por estudios en relación con miembros representativos de grupos de virus que llevan o inducen en las células huésped polimerasas como parte esencial de su replicación. Por ejemplo, hay virus como ser picornavirus o polivirus que inducen polimerasas RNA dependientes de RNA, mientras que otros grupos como ser los virus de leucemia-sarcoma llevan una polimerasa DNA dependiente de RNA. La presencia y el papel muy importante de la transcriptasa inversa de polimerasa DNA dependiente de RNA en virus RNA oncogénicos ha sido descubierto por D. Baltimore, Nature, 226, 1209 (1970) y por H.M. Temin et al. Nature, 226, 1211 (1970). El descubrimiento reciente de enzima de polimerasa DNA dependiente de RNA en virus de tumor RNA de especies animales ha sido confirmado también por otros autores según resulta, por ejemplo, de las conferencias indicadas a continuación: Green et al.: Mechanism of carcinogenesis by RNA tumor viruses. I. An RNA-dependent DNA-polymerase in murino sarcoma viruses. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67: 385-393, 1970.
25. Spiegelman et al.: Characterization of the products of RNA directed DNA-polymerase in oncogenic RNA viruses, Nature, London, 227:563, 1970.
- Hatanaka et al.: DNA polymerase activity associated with RNA tumor viruses. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67: 143, 1970. Scolnick et al.: DNA synthesis by RNA containing tumor

411969

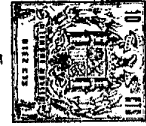
- 6 -



viruses, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67: 1034, 1970.

5. La implicación de virus R.N.A. en algunos tumores ha sido soportada también por otros hechos: se ha comprobado que transcriptasa inversa está presente en partículas de leche humana obtenida de mujeres con una historia familiar de cáncer del pecho y de población innata. (Scholn et al. Nature, 231, 97, 1971). Entretanto Priori et al. (Nature New Biology 232, 16, 1971) aislaron un virus denominado ESP-1 que contiene transcriptasa inversa desde células del líquido pleural de un niño con finfoma y lo criaron con éxito en cultivos de tejido.

10. La presencia en el cáncer de pecho humano de RVA homólogo a RNA de virus de tumor mamario del ratón ha sido demostrada por experimentos e hibridación molecular por R. Axel et al. (Nature, 235, 32, 1972). La posibilidad de un virus de cáncer de pecho humano también ha sido soportada por microscopia electrónica de leche humana (N. H. Sarkar et al., Nature, 236, 103, 1972). Una actividad de polimerasa DNA dirigida por RNA y partículas similares a virus también se aislaron de células de rabadomiosarcoma humana (McAllister et al., Nature, New Biol., 235, 3, 1972). Actualmente no hay drogas muy efectivas para tratar enfermedades de virus ya que los virus y las células tienen requerimientos metabólicos e itinerario comunes. La aproximación más promisoría a la quimoterapia viral es claramente el diseño de apropiados productos químicos que se combinen específicamente con polimerasa de células virales o transformadas por virus pero no con polimerasas de células huéspedes que controlan la expresión de información genética de virus. Los inhibidores específicos de los enzimas de células virales o transformadas por virus y en particular inhibi-
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



- dores de polimerasas de virus de tumor RNA pueden tener un papel importante en la prueba de drogas para leucemia y otra terapéutica anticancerosa. La actividad inhibidora de los compuestos obtenidos según el procedimiento del presente invento ha sido ensayada en polimerasa DNA dependiente de RNA de virus de sarcoma murina (endógenos) y actividad de polimerasa DNA dependiente de DNA de enzimas purificados. La inhibición fué ensayada de acuerdo con los métodos descritos por C. Gurge et al., Nature, New Biology, 229, 111, 1971.
5. El efecto de diferentes concentraciones de drogas sobre la actividad de polimerasa fué determinado siguiendo la incorporación de ^3H -dTTP (trifosfato de desoxiribósido de timina tritiado) a la fracción insoluble. Un ejemplo típico de los procedimientos experimentales es el siguiente
10. 1) Aislamiento de virus y purificación de polimerasa viral.
- El virus fué aislado y purificado de células de rata transformadas por virus de sarcoma murina (aislado Moloney) (células 78A1) y células de ratón transformadas por virus de carcinoma murina (aislado Harvey) (células MEH) como se ha descrito anteriormente (Green et al., proc. Nat. Acad. Sci. U.S. A. 67, 385, 393, 1970, Rekutanda et. al., Nature, 227, 1026-1028, 1970). La polimerasa viral fué purificada 20-10 veces por incubación de virus purificados con 0,5 % NP-40 (Nonidet P-40) en 0,1 M NaCl tapón 0,01 M Tris (pH 7,6), 0,001 M EDTA
15. por 5 minutos a temperatura ambiente y centrifugación zonal en gradiente de sucrosa 15-30 % en tampón de fosfato de sodio 10 mM (pH 7,4), 2,5 mM MgCl_2 , 10 mM ditiotreitol y 5 % glicerol por 24 horas a 38,000 rpm en un rotor Spinco SW41. Las fracciones pico de actividad de enzima (13-17) de veintidós fracciones
20. juntas fueron combinadas y almacenadas a -70°C en gli
25. 30.



411969

cerol 30 %.

Ensayo de polimerasa DNA

5. La incubación de enzima fué realizada por 1 hora a 37°C en 100 ml de tampón Tris 40 mM que contenía mezcla de reacción (pH 8,0), 5 mM ditiotreitól, 30 mM NaCl, 2,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dATP, dCTP, dGTP y 10 µCi de ³H-dTTP (12-18 Ci/mmol) según se describe por Green et al. en Proc. Nat. Acad. Sci. US 67, 385-393, 1970. La reacción fué terminada por la adición de 150 µl de ácido perclórico 1N. Se agregó
10. DNA de timo de ternero (100 µg) como vehículo; el producto DNA radioactivo fué procesado según se describe en los dos estudios arriba mencionados. La actividad de polimerasa DNA dependiente de RNA endógeno fué medida después de la adición de 0,01 % NP-40 al virus purificado en el momento del ensayo.
15. La actividad de polimerasa DNA de polimerasa viral purificada fué medida con 2 µg de poli d(A-T) como plantilla y sin NP-40.

Ensayo de inhibición por derivados de rifamicina

20. Derivados de rifamicina fueron disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 5 mg/ml y almacenados a 4°C. La inhibición de la actividad de polimerasa DNA endógena dependiente de RNA fué verificada agregando 2 µl de derivado debidamente diluido en DMSO o 2 µl de DMSO (control) a la mezcla de ensayo previamente a la adición a virus destruidos que contenían 15 a 30 µg de proteína viral. La incubación de enzima fué realizada por 60 minutos a 37°C. La inhibición de enzima purificado fué ensayada por preincubación de
25. 2 µl de derivado o DMSO con 30 µl de enzima (1 a 2 µg de proteína) por 10 minutos a 37°C; luego se agregaron 70 µl de
30. mezcla de sustrato y la mezcla fué incubada y procesada como



se describe arriba.

5. En ensayos representativos, los compuestos según el invento, a concentraciones de 2-100 $\mu\text{g/ml}$ o menos reducían la incorporación de $\text{H}^3\text{-dTTP}$ a menos de 10 por ciento que la comprobación en los ensayos de control, demostrando claramente la inhibición del mecanismo de carcinogénesis por virus de tumor RNA de acuerdo a los puntos de vista bioquímicos más recientes.
10. El efecto inhibitor de transcriptasas inversas ha sido confirmado también por ensayo con polimerasa de virus de leucemia murina. Polimerasa RNA de virus de leucemia murina fué preparada de virus destruídos por Triton X 100 como se describe por Gallo et al., en Nature, New Biology, 232, 141 (1971). Virus de tipos Rauscher y Moloney fueron purificados previamente por banda en la región de 1,16 g/ml de un gradiente de densidad de sucrosa después de la centrifugación inicial de baja velocidad para quitar escombros celulares y estratificación después de centrifugación a haves de un gradiente de sucrosa de 60 % hasta 20 %. La concentración final de virus
15. preparados era de 10^{11} partículas/ml. Como plantilla se usó RNA 705 endógeno. Se comprobó que concentraciones de 50 $\mu\text{g/ml}$ o menos eran efectivas para inhibir el enzima. Resultados similares se comprobaron usando polimerasas de célula de tumor de origen humano. En este caso, la actividad inhibitora fué
20. estudiada también en polimerasas de células normales para caracterizar un efecto selectivo. Derivados de rifamicina representativos de la fórmula I fueron evaluados en cuanto en sus efectos sobre dos polimerasas DNA purificadas aisladas de (1) linfocitos de sangre normal humana (estímulo por PHA), (2) una
25. línea de célula de linfoblato (derivada de un donador normal)
- 30.



y (3) linfoblasto de sangre leucémica humana. Se usaron plantillas sintéticas y/o nativas.

Un ejemplo típico del procedimiento experimental es el siguiente: Linfoblastos de sangre humana.

5. Linfoblastos leucémicos fueron aislados de la sangre periférica de pacientes con leucemia linfocítica aguda (ALL) por leucofóresis. Las células fueron lavadas y los eritrocitos fueron removidos por lisis hipoténica. Linfocitos normales fueron obtenidos de la sangre periférica de donadores sanos después de la remoción de granulocitos por cromatografía de columna de nylon. Fueron estimulados con fitohemaglutinina (PHA) por 72 horas según se ha descrito anteriormente (Call et al., Nature, 228, 927, 1970; Call et al., Science, 165, 400, 1968) a fin de llevar al máximo la actividad de polimerasa DNA.
- 10.
- 15.

Sin embargo, debido a los problemas logísticos en la obtención de cantidades suficientes de estas células, se usó una línea de células de cultivo de tejido "normal" humano (1788) para suministrar polimerasas DNA menos purificadas para algunos de los estudios iniciales. Luego se estudiaron compuestos de interés con más detalle con los enzimas más purificados de los linfocitos de sangre normal y leucémica. Estas células de cultivo de tejido fueron obtenidas de Associated Biomedic Systems. Inc.

20.

25. Preparaciones de polimerasa DNA

Polimerasa DNA celular fué extraída y purificada de linfocitos de sangre normal (estimulados por PHA) y linfocitos de sangre leucémica y células de linfoide 1788 por homogeneización en tampón hipoténico seguida por extracción por Triton X 100 y/o extracción de sal elevada del grumo extralisose-

30.



mal. Después de la centrifugación diferencial los extractos celulares fueron purificados más por celulosa DEAE, fosocélulosa y cromatografía de columna Sephadex G 200.

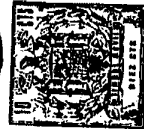
Ensayos de polimerasa DNA

5. Se realizaron ensayos de polimerasa DNA en un volumen final de 100 μ l. La mezcla de ensayo contenía tampón de Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM; MgAc, 6,0 mM; ditiotreitól, 8,0 mM; NaCl, 60 mM. El ajuste del pH se efectuó después de la adición de inhibidores que se disolvieron previamente en sulfóxido de dimetilo (DMSO). La concentración final de DMSO era de 0,5 % y todas las muestras de control incluían esta cantidad de DMSO. Se usó en el ensayo una concentración de enzima que cataliza una incorporación de aproximadamente 1,0 pmoles/h.
10. En la mayoría de los casos, el enzima fué preincubado por 5 minutos con el inhibidor. La reacción se inició luego por la adición de plantilla ya sea DNA sintético (poli d (AT), Laboratorios Miles) y DNA. RNA híbrido (oligo dT poli rA), a 5 μ g/ml o plantillas nativas: esperma de salmón activada 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 justamente antes del uso) y dATP (8×10^{-5} M, con plantilla sintética) o los tres trifosfatos de deoxinulceósido (8×10^{-5} M con reacciones de plantilla RNA o DNA). En algunos experimentos no hubo preincubación de enzima con el inhibidor.
15. En algunos casos, las reacciones fueron iniciadas por la adición de enzima a la mezcla de reacción completa que incluía el inhibidor. Se retiraron muestras al comienzo de la incubación y al cabo de 30 minutos y se terminaron por la adición de 2 ml de pirofosfato de sodio 0,08 M y se precipitaron
- 20.
- 25.
- 30.



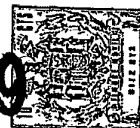
- en ácido tricloroacético frío 12,5 % (TCA) con levadura RNA (400 μ g) como vehículo. Los productos fueron juntados en filtro "Millipore", lavados extensamente con TCA 5 % y 1 ml de una mezcla de DMSO-etanol-NACL 0,1 M (0,5:70:29,5), secados y contados en 2 ml de DSC₃(Deckman) y 10 ml de liquifluor (New England Nuclear) en un contador de escintilación de líquido Packard. Se comprobó que concentraciones que varían entre 5 y 20 μ g/ml provocaban una inhibición del 50 % de polimerasa leucémica con una plantilla DNA sintética. La reacción con uso de plantilla RNA sintética (poli rA.rU) era incluso más susceptible. Los experimentos representativos realizados con plantilla nativa en polimerasa de células de tumor causaban una susceptibilidad más alta de los enzimas de tumos en cuanto a los compuestos ensayados. Otras características biológicas desplegadas por los nuevos derivados de rifamicina obtenidos según la invención incluyen la inhibición de la formación de foco en células de ratón, rata y humanas por la estirpe Moloney y Kirsten de virus de sarcoma murina; la inhibición selectiva de la producción de virus por células de ratón y humanas ya transformadas; la detección de células de reversión usando las estructuras de células de ratón y rata no productoras transformadas por virus de sarcoma murina. Los compuestos de hidrazona obtenidos por el procedimiento de acuerdo con el presente invento han además confirmado su toxicidad selectiva para células transformadas por virus de origen de ratón, rata y humano cuando se ensayaron para comprobar su capacidad de formar colonias.

En estudios para determinar el efecto de los compuestos en la inhibición de la formación de foco por virus de sarcoma Moloney en cultivos de tejido BALB/3T3 se emplea el siguiente



procedimiento.

- Cultivos de célula BALB/3T3 se crían en frascos plásticos de 250 ml en un medio vegetativo consistente en un medio esencial mínimo de Eagle con 10 % de suero bovino fetal. Los
5. recuentos de células se realizan con un contador Coulter después de suspender las células con tripsina-EDTA y diluirlas en un medio vegetativo. Se emplea el virus de sarcoma murina Moloney como homogeneizado de tumor. Se pasa cuatro veces en
10. una línea de células de embrión de rata de alto pasaje de derivación Suiza (Swss) y se verifica en cuanto a unidades formadoras de foco en células BALB/3T3. En la conducción de los estudios se aplica una modificación del método descrito por Hartley y Rowe, Proc. Nat. Acad. Sci. 55, 780 (1966). En el
15. presente trabajo, se aplica a los frascos una semilla con $1-2 \times 10^6$ células en 25 ml de medio vegetativo, con incubación a 37°C durante 24 horas. Siguiendo la remoción de flúidos, se introducen virus en una cantidad predeterminada de unidades formadoras de foco en un medio vegetativo de 0,5 ml y se permite la adsorción en la monocapa de células por 90 minutos a
20. 37°C . A continuación de este período de adsorción, se agrega una cantidad predeterminada, generalmente como una dosis de aproximadamente 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de un compuesto de hidrazono rifamicina (previamente disuelto en dimetilsulfóxido en una concentración de 1 mg/ml) y llevado en 25 ml de medio vegetativo,
25. y los cultivos se restituyen al incubador. Como control se agrega dimetilsulfóxido solo en el medio vegetativo a un cultivo separado. Después de tres días de incubación los cultivos cambian de fluido y se cuentan los focos de células transformadas a los siete días.
30. Con ayuda del mismo método se estudia el virus de esto-



matitis vesicular, aerotipo New Jersey. Los métodos usados para criar y ensayar este virus se han descrito por Hackett et al., Virology, 31, 114 (1967).

5. Estas propiedades indican que estos compuestos poseen una actividad inhibitoria efectiva en tumores inducidos por virus en animales.

Para ilustrar la práctica del invento, se describirá a continuación la preparación de los compuestos siguientes:

EJEMPLO 1

10. 3-(2-Ciclooctililidenohidrazono)metil-rifamicina SV

Una cantidad de 1,3 g de ciclooctanona se disuelve en 10 ml de tetrahidrofurano y se agrega 0,5 g de hidrato de hidrazina 98 %.

15. La solución es refluja por una hora y el solvente es evaporado en el vacío para dar 0,90 g de un residuo aceitoso que es ciclooctilidenohidrazona cruda.

Este producto crudo se agrega a 4,5 g de 3-formilrifamicina disuelta en 300 ml de tetrahidrofurano.

20. Después de 15 minutos, la solución es evaporada hasta la sequedad y el residuo sólido es purificado por cromatografía de columna sobre gel de sílice usando cloroformo y luego mezclas de cloroformo:metanol que contienen hasta 1,5 % de metanol como eluentes.

25. El producto sólido recuperado de la cromatografía de columna es cristalizado dos veces desde metanol.

Rendimiento 1,5 g, punto de fusión 252-56°C con descomposición.

Análisis:

Calculado para C₄₆H₆₁N₃O₁₂: C, 65,15; H, 7,25; N, 4,95

30. Hallado: C, 64,95; H, 7,22; N, 5,10



λ max 480 333 espaldón a 505

EJEMPLO 2

3-(2-benzhidrilidenohidrazono)metil-rifamicina SV.

5. El compuesto es preparado según el mismo procedimiento del ejemplo 1, sobre la base de 7,5 g de 3-formilrifamicina SV y 2 g de benzhidrilidenohidrazina en 100 ml de tetrahidrofurano. La reacción termina después de una hora. Rendimiento 6,1 g, punto de fusión 260°C con descomposición.

Análisis:

10. Calculado para $C_{51}H_{57}N_3O_{12}$: C, 67,75; H, 6,35; N, 4,65
Hallado: C, 66,82; H, 6,39; N, 4,85

λ max 510 350

1 %
E 140,1 278,7
1 cm.

15. EJEMPLO 3

3-(2-(p-carboxibencilideno)hidrazono)metil-rifamicina SV.

20. El compuesto es preparado esencialmente según el mismo procedimiento del ejemplo que antecede usando una cantidad equimolar de (p-carboxibencilideno)hidrazina en lugar de benzhidrilidenohidrazona. Punto de fusión 205-15°C con descomposición.

Rendimiento 55 %

Análisis:

25. Calculado para $C_{46}H_{53}N_3O_{14}$: C, 63,36; H, 6,13; N, 4,82
Hallado: C, 62,04; H, 6,25; N, 5,00

λ max 313 500

1 %
E 402,3 154,4
1 cm.

- N O T A -

30. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse



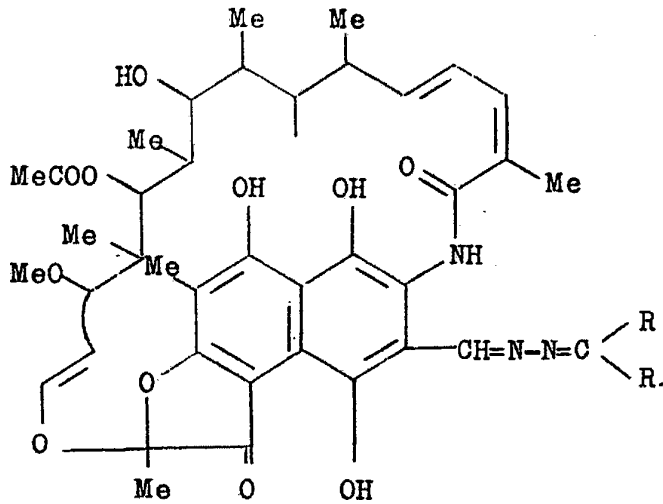
411969

constar que las disposiciones 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 Italia, con fecha 23 de febrero de 1972, bajo el número 20911 A/72, acogándose 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, sobre: PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA RIFAMICINA 3-SUSTITUIDA; caracterizándose por lo siguiente:

5.

10.

1ª.- Procedimiento para la preparación de una rifamicina 3-sustituída, de fórmula general:



en que R es hidrógeno o fenilo, R₁ es fenilo o carboxifenilo, R y R₁ juntos con el adyacente átomo de carbono pueden representar un radical cicloalquilideno; y sus derivados 25-desacetilo y 16, 17, 18, 19, 28, 29-hexahidro; caracterizado porque comprende reaccionar 3-formil-rifamicina SV, o sus derivados, 25-desacetilo ó 16, 17, 18, 19, 28, 29-hexahidro, con una hidrazina de la fórmula

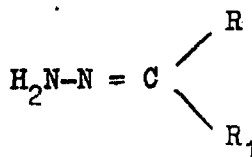
15.

20.

mg



411969



en que R y R₁ tienen el mismo significado que arriba.

2ª.- Procedimiento para la preparación de una rifamicina 3-sustituída, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

- 5. Esta Memoria consta de 17 hojas, escritas a máquina por una sola cara.

23 FEB. 1973

Madrid

GRUPPO LEPETIT S.p.A.

L. GOMEZ ACEBS Y MODET

p. Firmado: L. Gomez Acebs y Modet