

437047

5 MAYO 1975

P.- 60.283

2 33486 CASE 5576

Int. Cl. C07C

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION

a nombre de PFIZER INC.

entidad norteamericana

establecida en 235 East 42nd Street, Nueva York, Nueva York,
Estados Unidos de América.

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE CLORHIDRATO
DE α -6-DESOXI-5-HIDROXI-TETRACICLINA"

(Clase Internacional C07C)

El presente invento se refiere a un procedimiento para la síntesis del antibiótico alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina, mediante la reducción de la 6-metilen-5-hidroxite-traciclina.

La reacción de las 6-metilentetraciclinas, de las llalfa-halo-6-metilentetraciclinas, de sus sales ácidas de adición y de sus complejos de sal metálica polivalente con hidrógeno, en presencia de un catalizador heterogéneo de metal noble, para producir las alfa- y beta-6-deoxitetraciclina epiméricas correspondientes, se describe en la patente estadounidense 3.200,149. El uso de un catalizador inactivado, basado en un metal noble, para lograr la misma conversión, pero con un aumento en la proporción entre la alfa y la beta-6-deoxitetraciclina, se reporta en la patente estadounidense 3.444,198. La patente estadounidense 2.984,686 describe el uso de la reducción catalítica, empleando hidrógeno y un catalizador a base de un metal noble, para obtener únicamente la llalfa-deshalogenación de las llalfa-halo-6-metilentetraciclinas. Adicionalmente, la reducción de las

llalfa-halo-6-metilentetraciclinas, de sus sales y complejos, en presencia de un catalizador basado en un metal noble, utilizando hidracinas como fuente de hidrógeno, se reporta en la especificación de patente alemana 2.131.944. La especificación de patente británica 1.296.340 describe el uso de níquel Raney y de cobalto Raney como catalizadores para llevar a cabo dichas reducciones.

Unos complejos de halogenuro de rodio que contienen ligandos de fosfina terciaria o de arsina, su preparación y uso como catalizadores homogéneos de hidrogenación, se describen en la patente estadounidense 3.639.439, expedida el 10 de febrero de 1972. Unos complejos solubles del grupo metálico del platino, en particular, el rodio, que contienen un halogenuro y una fosfina terciaria, arsina, estibina o amina, su preparación y uso como catalizadores de hidrogenación, también se reportan en las patentes británicas 1.138.601 (publicada el 10 de enero de 1969); 1.219.763 (publicada el 20 de enero de 1971); 1.121.642 (publicada el 31 de julio de 1968) y 1.121.643 (publicada el 31 de julio de 1968); y en las patentes estadounidenses 3.489.786 (del 13 de enero de 1970) y 3.459.780 (del 5 de agosto de 1969). Se comunica que dichos catalizadores suministran un procedimiento mejorado para la hidrogenación de compuestos orgánicos insaturados, en particular, de las olefinas, en comparación con el uso de catalizadores heterogéneos.

La solicitud de patente alemana OS 2.308,227, publicada el 30 de agosto de 1973, describe la preparación de las alfa-6-deoxitetraclinas mediante una hidrogenación catalítica homogénea que emplea el tris(trifenilfosfina)clorodio como catalizador. Se reporta que el catalizador puede preelaborarse o que puede prepararse directamente en el medio de reacción disolviendo tricloruro de rodio en el medio, en presencia de una proporción que varía entre uno y tres equivalentes molares de trifenilfosfina.

La patente estadounidense 3.692,864, expedida en 19 de septiembre de 1972, muestra la hidrogenación de moléculas orgánicas insaturadas utilizando complejos metálicos homogéneos de la triada del hierro (níquel, cobalto, hierro) con fosfinas terciarias. Característico de los complejos que se describen es el clorotris(trifenilfosfina)cobalto(I).

Numerosas publicaciones indican que la catálisis homogénea es un enfoque promisorio de las reacciones de hidrogenación, incluyendo las reducciones regioespecífica, selectiva y asimétrica. Knowles y colaboradores, en Chem. Commun., p. 1445 (1968), Horner y colaboradores, en Angew Chem., Int. Ed., 7, 942 (1968) y la patente belga 766,960, publicada el 10 de noviembre de 1971, comunican el uso de complejos de rodio univalente con ligandos ópticamente activos de fosfina terciaria como catalizadores homogéneos, para lograr la hidrogenación catalítica asimétrica. En seguida,

POOR
QUALITY

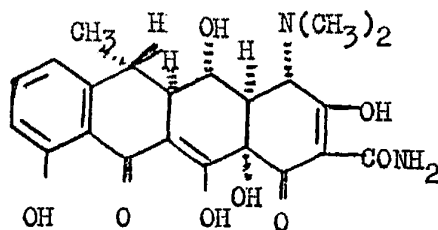
se mencionan unas publicaciones recientes que presentan un estudio casi completo de la técnica en cuestión: Harmon y colaboradores, Chem. Rev., 73, 21-52 (1973); Knowles y colaboradores, Chem. Commun., p. 10 (1972); Grubbs y colaboradores, J. Am. Chem. Soc., 93, 3062 (1971); Kagan y colaboradores, J. Am. Chem. Soc., 94, 6429 (1972); y "Homogeneous Catalysis, Industrial Applications and Implications", Vol. 70, Advances in Chemistry Series, publicado por la American Chemical Society, de Washington, D.C. (1968); "Aspects of Homogeneous Catalysis", Vol. I, pp. 5-75 (1970), editado por R. Ugo y publicado por Carlo Manfredi, Milán, Italia, y Vol'Pin y colaboradores, Russian Chemical Reviews, 38, 273-289 (1969).

Se reporta la hidrogenación catalítica de los grupos metileno exocíclicos en metilenciclohexanos (Augustine y colaboradores, Ann. N.Y. Sci., 158, 482-91 (1969)); coronopilina (Ruesch y colaboradores, Tetrahedron, 25, 807-11 (1969)); y en un intermediario de la síntesis total estereoselectiva del seychellene (Piers y colaboradores, Chem. Commun. 1069-70 (1969)), utilizando el tris(trifenilfosfina)clorodio como catalizador.

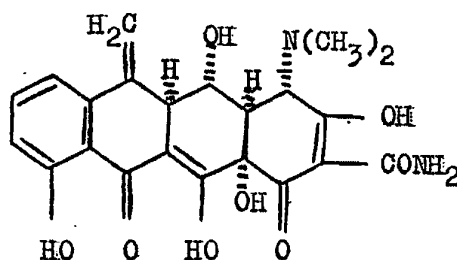
Todas las referencias citadas de la técnica anterior llevan a cabo la reducción de un sustrato empleando gas hidrógeno en presencia de un catalizador de reducción.

Fichteman y colaboradores, *J. Org. Chem.*, **33**, 1281 (1968) y Talor y colaboradores, *J. Org. Chem.*, **37**, 3913 (1972) reportan el uso de hidrocarbonylo de cobalto, $\text{HCo}(\text{CO})_3$ ó $\text{HCo}(\text{CO})_4$, como una especie capaz de reducir olefinas o substratos aromáticos, el hidrocarbonylo de cobalto se forma por la reducción del octacarbonylo de dicobalto, utilizando gas hidrógeno, a temperaturas elevadas.

Ahora se ha descubierto que la preparación de una alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraclina, que tiene la fórmula:



y sus sales de adición de ácido clorhídrico, puede efectuarse con facilidad poniendo en contacto una 6-metilen-5-hidroxi tetraclolina de fórmula:



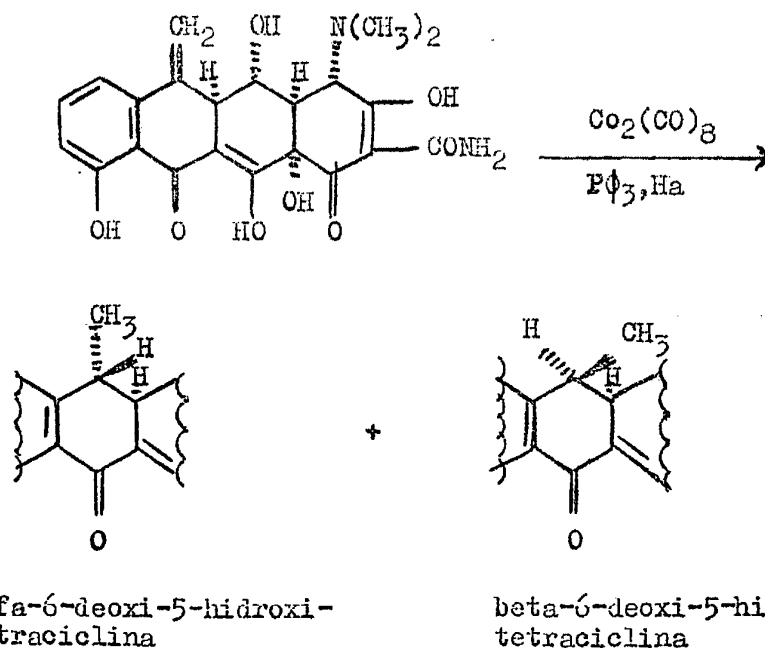
con octacarbonilo de dicobalto, trifenil fosfina y ácido clorhídrico, en una proporción molar, entre la 6-metilen-5-hidroxitetraciclina, el octacarbonilo de dicobalto, la trifenil fosfina y el ácido clorhídrico, de 1.0/1.0/0.1-0.2/1.5-2.0, en un disolvente de la reacción y en una atmósfera inerte, a una temperatura de reacción de 80-115°C.

De acuerdo con el invento, se proporciona un procedimiento para preparar el clorhidrato de alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina, que consiste en poner en contacto la 6-metilen-5-hidroxitetraciclina, o su sal clorhidrato, con octacarbonilo de dicobalto, trifenil fosfina y ácido clorhídrico, en una proporción molar, entre la 6-metilen-5-hidroxitetraciclina, el octacarbonilo de dicobalto, la trifenil fosfina y el ácido clorhídrico, de 1.0/1.0/0.1-0.2/1.5-2, en un disolvente de dichos reactivos y bajo una atmósfera inerte, a una temperatura de reacción de 80-115°C.

Completamente inesperada, en el procedimiento del presente invento es la fácil reducción de la doble ligadura exocíclica de la 6-metilentetraciclina, sin necesidad de gas hidrógeno en la reacción propiamente dicha o en la formación de los reactivos de la reacción, así como el descubrimiento de que la molécula de tetraciclina no es destruida ni forma un complejo irreversible por la acción de los reactivos $\text{Co}_2(\text{CO})_8$, ácido clorhídrico y/o trifenil fosfina.

Un descubrimiento igualmente inesperado, que imparte al presente procedimiento un interés comercial, es la naturaleza altamente específica de la reducción, lo cual redundará en una formación casi exclusiva del antibiótico alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina, a diferencia del epímero beta correspondiente.

La aludida reacción de reducción se revela en el siguiente esquema:



en el cual: HA representa un ácido mineral, el ácido clorhídrico.

La reacción se lleva a cabo en un disolvente de ella. Es preferible que dicho disolvente sea de tal natura-

leza que todos los reactivos se mantengan en solución en las condiciones de reacción del procedimiento. A este fin, se prefiere emplear un disolvente disolver el octacarbonilo de dicobalto y la sal de adición de ácido mineral de la 6-metilentetraciclina. Un disolvente de lo más práctico a este propósito es una mezcla de un disolvente aromático líquido, como el benceno, el tolueno o el xileno, y un disolvente aprótico sumamente polar como la dimetilformamida, la dimetilacetamida o la hexametilfosforamida. El disolventes aromáticos sirven como excelentes disolventes para mantener el carbonilo de cobalto en solución, y los disolventes apróticos polares sirven una función semejante en cuanto a la 6-metilentetraciclina, la trifenil fosfina y el ácido mineral. Al emplear estos disolventes para el presente procedimiento, es preferible utilizar sólo una cantidad mínima de ellos, con el fin de solubilizar justamente los reactivos que se usen. Como con facilidad puede observarlo un experto en el ramo, el empleo de cantidades proporcionalmente mayores de los disolventes redundan en tiempos de reacción más prolongados y favorece la descomposición de los reactivos o de los productos que se formen.

Los disolventes que se prefieren para el procedimiento del presente invento son la benceno-dimetilformamida y la benceno-dimetilacetamida.

Como se menciona previamente, la atmósfera situada

por arriba de la superficie de la reacción debe ser de naturaleza inerte, sin que reacciona en ningún grado apreciable con los reactivos de partida ni con los productos. Algunos gases, como el oxígeno, el aire o el bióxido de carbono producen un efecto nocivo perceptible en la formación satisfactoria de los productos que convienen. En consecuencia, ciertos gases como el nitrógeno, el argón o el helio forman una atmósfera apropiada, prefiriéndose el nitrógeno y el argón.

Aunque la escala de temperaturas de reacción en la cual puede efectuarse este procedimiento de reducción es relativamente amplia, o sea de 80 a 115°C., el hecho de sobrepasar estos límites ejerce un efecto perjudicial en el resultado de la reacción. Una temperatura de reacción menor de 70°C. deriva en una reducción muy lenta y, con frecuencia, a una reacción incompleta, aun después de tiempos de reacción prolongados, en tanto que temperaturas de reacción superiores a 115°C. producen una descomposición extensa del conveniente producto alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina. La temperatura de reacción preferida, que permite una formación adecuada del producto que conviene, sin descomposición extensa de éste, es de 90 a 95°C.

Como con facilidad, puede observarlo un experto en el ramo, los tiempos de reacción dependen de numerosas varia

bles de la reacción que incluyen: temperatura de la reacción, reactividad inherente de los reactivos de partida y concentración de los reactivos en el medio disolvente.

Con sólo emplear atinadamente una cantidad de disolvente suficiente para disolver todos los reactivos de partida, como se ha descrito con anterioridad, y utilizar una escala de temperatura de 90 a 95°C., el procedimiento de reacción del presente invento se completa en alrededor de 4 horas.

Una característica necesaria del presente procedimiento es el uso de un ácido mineral. A este fin, parece que el ácido clorhídrico produce resultados óptimos si bien como fácilmente puede apreciarlo una persona experta en la técnica, pueden emplearse otros ácidos minerales, como el fluorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, fosfórico o nítrico. El material de partida 6-metilen-5-hidroxitetraciclina puede incorporarse como la base libre, e incorporarse por separado a la mezcla de reacción el ácido clorhídrico o, alternativamente, la tetraciclina de partida puede agregarse al incorporarse la sal de adición de ácido clorhídrico y el ácido clorhídrico adicional, si es necesario. Debido a la deficiente capacidad para almacenarse de la tetraciclina de partida como base libre, y a la estabilidad y disponibilidad de la sal clorhidrato, se prefiere esta última como tetraciclina de partida.

En condiciones de reacción en las cuales se emplee sólo un mol, o equivalente, de ácido clorhídrico, se forma

la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina conveniente como la sal clorhidrato, pero no con un rendimiento ni pureza óptimos. Por lo tanto, es preferible emplear más de una cantidad molar o equivalente de ácido por mol de la 6-metilen-tetraciclina y, en consecuencia, para lograrlo, es posible incorporar ácido adicional a la mezcla de reacción. En virtud de que el producto alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina no es estable en las condiciones de reacción del presente procedimiento, en presencia de una concentración demasiado grande de ácido, conviene emplear no más de 3.5 equivalentes de ácido por mol de tetraciclina y, además, se prefiere que la cantidad de ácido clorhídrico que se emplee sea de 1.5-2 equivalentes por mol de la tetraciclina de partida.

De los ácidos minerales antes citados que se emplean en el presente procedimiento, el ácido mineral que se prefiere es el ácido clorhídrico. Experimentalmente, cuando se emplea ácido clorhídrico, a menudo conviene incorporar el ácido clorhídrico u otro ácido mineral a una solución del clorhidrato de 6-metilen-5-hidroxitetraciclina comercial, disuelto en un disolvente aprótico polar, hasta que se alcanzan las proporciones apropiadas del ácido.

Otro de los reactivos de partida que influyen marcadamente en la formación del producto del presente procedimiento es la trifenil fosfina. Se han empleado otras fosfinas, que incluyen la triálquil fosfina, la tricloalquil

fosfina y la trifenil fosfina substituida, pero sin el éxito que se asocia a la trifenil fosfina. Además, la cantidad que se emplee de este reactivo ejerce una influencia marcada en la proporción que debe haber entre la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraclina, producto preferido del presente procedimiento, y la beta-6-deoxi-5-hidroxitetraclina. Una proporción de 0.1-0.2 equivalentes de trifenil fosfina por mol de 6-metilтетрацилина es operable para preparar una proporción favorable entre los productos alfa- y beta-6-deoxi-5-hidroxitetraclina, prefiriéndose una proporción de 0.1 equivalente de trifenil fosfina por mol de la tetraclina de partida.

Respecto a la cantidad del octacarbonilo de cobalto que se usa en el presente procedimiento, se ha descubierto que el empleo de una cantidad tan grande como la de 2 a 5 equivalentes por mol de la 6-metilтетрацилина no representa ninguna ventaja, en comparación con la de un equivalente, por lo que se refiere a la reducción total, así como a la distribución de la alfa- y beta-6-deoxi-5-hidroxitetraclina en el producto. El uso de una proporción que varía entre menos de un equivalente hasta una tan pequeña como la de 0.1 de equivalente, produce una reducción marcada y continua en la cantidad total de los productos que se forman. Por razones económicas, es preferible emplear un

**POOR
QUALITY**

equivalente de octacarbonilo de dicobalto por mol de la tetraciclina de partida.

El orden de combinación de los reactivos en el presente procedimiento no representa un factor crítico, aunque se obtienen rendimientos de reducción ligeramente mayores si se aplica un procedimiento en el cual los reactivos octacarbonilo de dicobalto, trifenil fosfina, ácido clorhídrico y disolvente aprótico polar se agiten a 85°C., durante 10 minutos, aproximadamente, antes de incorporar la 6-metilentetraciclina o la sal clorhidrato.

Al explorar el alcance de las variables de reacción del presente procedimiento, ocupa demasiado tiempo el análisis de la mezcla de reacción por medio del aislamiento y la identificación de los productos de reducción y, en consecuencia, con frecuencia se emplean análisis que economizan tiempo, como la cromatografía en capa delgada y la cromatografía con líquido a alta presión.

Al consumarse la reacción, el producto alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina se encuentra en la mezcla de reacción como la sal de adición ácida clorhidrato. Por lo que se refiere al hecho de aislar la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina de la mezcla de reacción, es preferible filtrar la mezcla y separar el disolvente aromático a presión reducida. En seguida, el disolvente polar residual se filtra y se trata con una solución acuosa y saturada de ácido sulfo-

salicílico. La incorporación subsecuente de agua precipita las sales de ácido sulfosalicílico de los productos de la reacción, así como cualquier cantidad de 6-metilentetraciclina no reducida. Otra purificación más se lleva a cabo recristalizando en metanol y agua.

Las condiciones de reacción que se prefieren para reducir la 6-metilen-5-hidroxitetraciclina a la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina consisten en poner en contacto la aludida tetraciclina, octacarbonilo de dicobalto y trifenil fosfina, en la proporción molar de 1.0/1.0/0.1, con ácido clorhídrico, en un disolvente de bencenodimetilacetamida o bencenodimetilformamida, en una atmósfera inerte de nitrógeno o argón, a una temperatura de reacción de 90 - 95°C.

La química de las tetraciclinas y su uso como antibióticos en el tratamiento de varias infecciones microbianas, se conocen bien y tienen una extensa documentación en la bibliografía médica. Gran parte de los antecedentes de estos agentes, incluyendo a la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina, y la forma en que se usa como agente terapéutico, son analizados por R. K. Blackwood en Encyclopedia of Chemical Technology, 20, 1-33 (1969). Por lo tanto, la medida de la presencia del isómero alfa y su cantidad presente son los únicos requisitos para comprobar la eficacia del procedimiento.

Los ejemplos que siguen se ofrecen por vía de ilustración, y no deben interpretarse como limitaciones a este invento, siendo posible muchas variaciones de ellos que se incluyan dentro del alcance y del espíritu del invento.

EJEMPLO 1

A 5.5 mg (0.021 milimoles) de trifenil fosfina, en 5 ml. de benceno seco, que se contienen en un matraz obturado, de tres cuellos y bajo una atmósfera de nitrógeno, se incorporan, mediante una jeringa que atraviesa un diafragma de hule que cubre una abertura del cuello, 360 mg. (1.05 milimoles) de octacarbonilo de dicobalto en 10 ml del mismo disolvente. Después de agitar por 30 minutos a temperatura ambiente, 100 mg. (0.21 milimoles) del clorhidrato de 6-metilen-5-hidroxitetraciclina, en 10 ml. de dimetilformamida, se introducen con jeringa en el matraz de la reacción, y la solución resultante se calienta a 70°C. durante 18 horas.

Se retira una muestra de la mezcla de reacción y se cromatografía en una placa de gel de sílice, la cual se ha tratado previamente con una atomización de acetato de sodio 0,005 N y ácido etilendiamina tetracético 0.002 N, ajustando el pH a 6 con ácido acético y posteriormente se seca a 110°C. durante la noche. La cromatografía, que se lleva a cabo en un sistema ascendente de tetrahidrofurano (95%) y 5% de agua, se revela en amoníaco, apareciendo la

alfa-deoxi-5-hidroxitetraciclina como una mancha amarilla bajo una lámpara ultravioleta de 366 m μ . Los resultados indican una proporción de 5 a 1 entre la alfa-6-deoxi y la beta-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina.

El resto de la mezcla de reacción se filtra, y el benceno se separa a presión reducida. La solución verde residual se filtra, y el filtrado se trata primero con 2 ml de una solución acuosa al 10% de ácido sulfosalicílico, y luego con 6 ml. de agua. La pasta resultante, después de agitar durante 10 minutos, se filtra y los sólidos se lavan con agua y se secan.

Los sólidos se disuelven en una cantidad mínima de agua y se colocan en una columna de cromatografía con líquido a alta presión, rellena con un polímero de metacrilato sustituido con amonio cuaternario, recubierta, mejor dicho, que se extiende sobre un soporte de porosidad superficial controlada (patentes estadounidenses 3.485,658 y 3,505,785). El producto se eluye con un tamponador consistente en acetato de sodio .005 N y ácido etilendiamina tetraacético .002 N, se ajusta a un pH de 5.8 con ácido acético, a una presión de 119 atmósferas. Un monitor ultravioleta (254 m μ), situado en la salida de la columna, mide la tetraciclina que hay en el eluado. A su vez, la medida ultravioleta se registra con un registrador de pluma Varian A-25. Las medidas indican que el rendimiento de la

alfa-6-deoxi- y de la beta-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina es de 35-40%, de cuyo porcentaje el 83% representa el conveniente epímero alfa y el 17% el epímero beta.

EJEMPLO 2

Mediante un procedimiento semejante al del Ejemplo 1, 72 mg. (0.21 milimoles) de octacarbonilo de dicobalto en 5 ml de benceno, se incorporan a 5.5 mg. (0.021 milimoles) de trifenil fosfina en 5 ml de benceno, bajo una atmósfera de nitrógeno, y luego 100 mg. (0.21 milimoles) de clorhidrato de 6-metilen-5-hidroxitetraciclina en 10 ml. de dimetilformamida, manteniéndose la mezcla bajo una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción resultante se agrega 1 ml. de benceno que contiene 19.6 mg. (0.21 milimoles) de ácido sulfúrico y la mezcla se calienta a 70°C. durante 16 horas. La cromatografía con líquido a alta presión de la mezcla de reacción, que se efectúa como en el Ejemplo 1, indica que la reducción depura, en forma predominante, la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina.

EJEMPLO 3

Resultados materialmente análogos se obtienen cuando, en lugar del ácido sulfúrico del procedimiento del Ejemplo 2, se utilizan ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico y ácido nítrico.

EJEMPLO 4

En un matraz de tres cuellos, que se llena con una atmósfera de argón, se introducen 35 mg. (0.13 milimoles) de trifenil fosfina en 0.5 ml. de benceno, 180 mg. (0.52 milimoles) de octacarbonilo de dicobalto en 4.5 ml. de benceno y la solución resultante se agita a temperatura ambiente por 15 minutos. Se agrega una solución de 250 mg. (0.52 milimoles) de clorhidrato de 6-metilen-5-hidroxi-tetraciclina en 2.5 ml. de dimetilacetamida, y luego 0.6 ml. de una solución 1:1 (vol./vol.) de dimetilacetamida y ácido clorhídrico 12 N (3.4 milimoles) y la mezcla de reacción se calienta a 115°C. durante 4 horas.

Después del período de calentamiento, la mezcla se enfría y se filtra. El filtrado se evapora a presión reducida para separar el benceno y se filtra de nuevo. Una solución de 5.0 ml. de ácido sulfosalicílico acuoso al 10% se incorpora al filtrado y luego 15 ml. de agua. La sal de ácido sulfosalicílico que precipita se filtra y se seca, dando 445 mg. (rendimiento del 72%). La cromatografía con líquido a alta presión de muestra de las sales a que se refiere el Ejemplo 1 indica que el producto representa del 75 al 80 % de la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina, del 1 al 2% de la beta-6-deoxi-5-hidroxi-tetraciclina y del 15 al 20% de la 6-metilen-5-hidroxitetraciclina no reducida.

El producto crudo recristaliza en metanol y agua

y se convierte en la sal clorhidrato incorporándolo a una solución de etanol y agua que contiene ácido clorhídrico. La sal clorhidrato que precipita se purifica adicionalmente mediante una recristalización en etanol que contiene una cantidad mínima de agua.

EJEMPLO 5

A 27.5 mg. (0.104 milimoles) de trifenil fosfina en 5 ml de benceno, bajo una atmósfera de nitrógeno, se incorporan 180 mg. (0.52 milimoles) de octacarbonilo de dicobalto en 5 ml. del mismo disolvente, 250 mg. de clorhidrato de 6-metilen-5-hidroxitetraciclina en 5 ml. de dimetilformamida y 18 mg. (0.52 milimoles) de cloruro de hidrógeno en 1 ml de dimetilformamida, y la mezcla de reacción que resulta se calienta a 85°C. durante 3.0 horas. La cromatografía con líquido a alta presión indica que no hay ningún material de partida consistente en tetraciclina que haya quedado y la reducción concluye.

La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se procede como se describe en el Ejemplo 1. Las sales de ácido sulfosalicíclico, 260 mg., constan del 98% de alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina. Las sales crudas del ácido sulfosalicíclico se convierten en las sales clorhidrato por la incorporación de dichas sales a etanol-agua que contiene ácido clorhídrico. Una recristalización adicional en metanol-agua depara el clorhidrato puro de alfa-6-deoxi-5-

hidroxitetraciclina.

EJEMPLO 6

,Se repite el procedimiento del Ejemplo 5, con la excepción que se utiliza la fosfina indicada en lugar de la trifenil fosfina. Los rendimientos representan los de la alfa-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina (alfa-deoxi), beta-6-deoxi-5-hidroxitetraciclina (beta-deoxi) y el material de partida 6-metilen-5-hidroxitetraciclina (metaciclina).

<u>Fosfina</u>	<u>% de alfa-doxi</u>	<u>% de beta-doxi</u>	<u>% de Meta- ciclina</u>
$(C_6H_5)_3P$	19	~ 0.3	80
(ciclo C_6H_{11}) $_3P$	23	< 1	77
$(p-CH_3OC_6H_4)_3P$	26-55	0.5-3	42-74
$(p-FC_6H_4)_3P$	38	~ 0.6	61

EJEMPLO 7

Partiendo de 27.5 mg (0.1 milimol) de trifenil fosfina en 25 ml de benceno, 342 mg (1 milimol) de octacarbonilo de dicobalto en 10 ml de benceno y 399 mg (1 milimol) de 6-metilen-5-hidroxitetraciclina en 40 ml de dimetilformamida que contienen 54 mg (1.5 milimoles) de cloruro de hidrógeno, se repite el procedimiento del Ejemplo 1 para dar la alfa-deoxi-5-hidroxitetraciclina en rendimientos comparables.

La presente solicitud, que corresponde a la presentada en Estados Unidos de América, el 28 de Mayo de 1974, bajo el nº 473.791, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

5

- REIVINDICACIONES -

10

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención, en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

15

1ª.- Un procedimiento para la preparación de clorhidrato de alfa-6-desoxi-5-hidroxi-tetraciclina, por la reducción de la 6-metilen-5-hidroxi-tetraciclina o de su sal clorhidrato, en presencia de un catalizador, que se caracteriza en que la 6-metilen-5-hidroxi-tetraciclina, o la sal clorhidrato, se pone en contacto con octacarbonilo de dicobalto, trifenil fosfina y un ácido mineral, en una proporción molar entre la 6-metilen-5-hidroxi tetraciclina, el octacarbonilo de dicobalto, la trifenil

20

25

2-5-75

fosfina y el ácido mineral, de 1.0 /1.0/0.1-0.2/1.5-3.5, en un disolvente de los reactivos y bajo una atmósfera inerte, a una temperatura de reacción de 80 a 115°C.

2ª.- Un procedimiento como el que se describe en la reivindicación 1ª, caracterizado en que la temperatura es de 90 a 95°C.

3ª.- Un procedimiento como el que se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizado en que las proporciones molares son de 1.0/1.0/0.1/1.5.

4ª.- Un procedimiento como el que se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 3ª, caracterizado en que el disolvente se selecciona de entre benceno-dimetilformamida y benceno-dimetilacetamida.

5ª.- Un procedimiento como el que se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 4ª, caracterizado en que la atmósfera inerte es nitrógeno o argón.

6ª.- Un procedimiento para la preparación de clorhidrato de α -6-desoxi-5-hidroxi-tetraciclina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

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

5

Madrid, 20. AGO. 1976

P.A.

Fernando de Elizaburu
Per Feddt.

JAR.