



29 NOV 1968

374087

374087

SECRETARIA DE ECONOMIA	
CLASIFICACION I.P.C.	
CLASE C-07	A-61
SUBCLASE D	K

# MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

## PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BRISTOL-MYERS COMPANY

RESIDENCIA: 345 Park Avenue, NEW YORK, N.Y. 10022,

U.S.A.

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION  
DE AGENTES ANTIBACTERIANOS"

Prioridad: Patente estadounidense n.º 780.557 del 2-12-68

374087

29 NO



1 Este invento se refiere a un procedimiento para la  
preparación de nuevos compuestos sintéticos valiosos como  
agentes antibacterianos, suplementos nutritivos en los  
piensos para animales, agentes terapéuticos en el ganado  
5 aviar y animales, incluido el hombre, en el tratamiento de  
las enfermedades infecciosas causadas por las bacterias  
Gram-positivas y Gram-negativas, más especialmente las cau-  
sadas por el Pseudomonas genus. Más especialmente, se re-  
fiere a la preparación de nuevos ácidos 6-[ $\alpha$ -(3-guanil-1-  
10 ureido)fenilacetamido]penicilánicos y ácidos 6-[ $\alpha$ -(3-guanil-  
1-ureido)tienilacetamido]penicilánicos.

Como representativo del estado de la técnica en  
este campo, las  $\alpha$ -aminotienilpenicilinas están descritas,  
por ejemplo, en las patentes estadounidenses 2.985.648,  
15 3.140.282, 3.373.156, 3.308.023 y 3.342.677; estas penici-  
linas con sustituyentes en el grupo  $\alpha$ -amino son conocidas  
por las patentes inglesas 891.777, 894.457, 1.048.907,  
1.051.675, 1.053.818, 1.064.893, 1.066.107, 1.080.247,  
20 1.125.339 y 1.130.445. Los ácidos 6-ureidopenicilánicos  
N-sustituídos han sido descritos, por ejemplo, en las pa-  
tentes estadounidenses 3.118.877, 3.120.512 y 3.180.863;  
el ácido 6-ureidopenicilánico propiamente dicho está des-  
crito en las patentes alemanas 1.141.640 y 1.120.072. Al-  
gunas  $\alpha$ -ureidometilpenicilinas sustituidas están descritas  
25 en la patente estadounidense 3.352.851 y en la patente  
inglesa 1.040.166; ninguna de ellas contiene un sustituyen-  
te en la posición 3 del grupo ureido. En la patente ingle-  
sa 1.061.335 se describe el ácido 6-(D- $\alpha$ -hidrazinocarbo-  
nilamino- $\alpha$ -fenilacetamido)penicilánico y el ácido  
30



374087

1 6-(D- $\alpha$ -benciloxycarbonil-hidrazinocarbonil-amino- $\alpha$ -fenil-  
acetamido)penicilánico y, en general, otros grupos llama-  
dos acilo en lugar del grupo benciloxycarbonilo.

5 Las  $\alpha$ -aminobencilpenicilinas sustituidas en el ani-  
llo también han sido citadas por Ekstrom et al., Acta  
Chemica Scandinavica 19 (2), 281-299 (1965) y en las pa-  
tentes estadounidenses 3.316.247 y 3.385.847 y también pue-  
den prepararse por métodos normales a partir de las 2-fe-  
nilglicinas citadas por A.H. Neims et al., Biochemistry  
10 (Wash.) 5 (1), 203-213 (Enero 1966) y por P. Friis et al.,  
Acta Chemica Scandinavica 17 (9), 2391-2396 (1963).

Diversas  $\alpha$ -guanidino-arilmetilpenicilinas están  
descritas en la patente estadounidense 3.406.185.

15 Los agentes antibacterianos como la ampicilina  
(patente estadounidense 2.985.648) han demostrado ser muy  
eficaces en el pasado en la terapia de las infecciones  
debidas a las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas  
pero estos compuestos notablemente han carecido de capaci-  
dad para controlar con eficacia las infecciones causadas  
20 por el Pseudomonas. La carbenicilina ("PYOPEN") (patentes  
estadounidenses 3.142.673 y 3.282.926) es activa contra  
Pseudomonas solamente a concentraciones elevadas y es útil  
en estas infecciones en el hombre solo cuando se adminis-  
tran por inyección.

25 Un objeto del presente invento es proporcionar com-  
puestos útiles en el tratamiento de las infecciones causa-  
das por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, inclui-  
das especialmente las causadas por Pseudomonas aeruginosa.  
Otro objeto es proporcionar estos compuestos que posean

30



374087

29 NOV



1 guanilcarbamoilación en presencia de una base, a un pH superior a 6 y a una temperatura comprendida aproximadamente entre -20°C y 50°C.

5 Las sales no tóxicas y farmacéuticamente aceptables antes mencionadas son las sales no tóxicas y farmacéuticamente aceptables del grupo ácido carboxílico como las sales de sodio, potasio, calcio, aluminio y amonio y las sales no tóxicas de amonio sustituido con aminas como  
10 trialquil(inferior)aminas, procaína, dibencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenciletildiamina, deshidroabietilamina, N,N'-bisdeshidroabietiletildiamina, N-alkuil(inferior)piperidina como N-etilpiperidina y otras aminas que han sido utilizadas para formar sales con la bencilpenicilina.

15 El agente de guanilcarbamoilación utilizado en el presente invento se prepara por varios métodos conocidos en la técnica, siendo el más útil el descrito por J. Thiele y E. Uhlfelder, Ann., 303, 107 (1898). Un agente típico de guanilcarbamoilación es la mezcla de 4-guanil-  
20 semicarbazida con ácido nitroso o una fuente de la misma o un agente oxidante como yodo o sus equivalentes, por ejemplo hipoclorito sódico o ácido hipocloroso o cloro. Es conveniente realizar esta oxidación en presencia de base suficiente para neutralizar el ácido formado durante la oxidación de la porción hidrazina de la acilhidrazida a su producto final, nitrógeno. Así, se forma yoduro de hidrógeno cuando se emplea yodo. Son adecuadas las bases orgánicas e inorgánicas. Se cree que estas reacciones  
25 pueden conducir a la formación de azidoformilguanidina y/o isocianato de guanilo como producto intermedio que  
30

374087

29



1 reacciona con el grupo  $\alpha$ -amino de la penicilina para formar la  $\alpha$ -guanilureidopenicilina deseada pero es una cuestión teórica y no es esencial para poner en práctica el procedimiento del presente invento.

5 El término amidinocarbamoilo es un sinónimo aceptado de guanilcarbamoilo.

10 El término "alquilo inferior" es definido aquí y en las reivindicaciones como grupos alifáticos saturados de cadena lineal y ramificada, conteniendo de 1 a 6 átomos de carbono inclusive. Análogamente, cuando el término "(inferior)" se utiliza como parte de la descripción de otro grupo como alcoxilo(inferior), se refiere a la porción alquilo de dicho grupo que por lo tanto es igual a la descrita al referirnos a alquilo inferior.

15 Los disolventes útiles en el presente invento son conocidos por los expertos en la técnica y comprenden disolventes tales como agua, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, cloroformo, tetrahidrofurano, n-pentano y cloruro de metileno. El disolvente preferido es el agua.

20 Aunque se produce alguna reacción cualquiera que sean las proporciones molares de sustancias reaccionantes utilizadas, con objeto de obtener los máximos rendimientos es preferible emplear un exceso molar del agente de guanilcarbamoilación. Los mejores resultados se han obtenido con una proporción de aproximadamente 1,0 a 1,5 moles de agente de guanilcarbamoilación por mol de ácido penicilánico.

25 Las bases preferidas que pueden ser utilizadas en el procedimiento anterior son bases orgánicas como piridina, N-metilpiperidina, trialquil(inferior)amina, etc. Las bases más preferidas son la piridina y la trietilamina. De

30

374087

29



1 preferencia, el pH debe mantenerse por encima de 6 durante  
toda la reacción y también es preferible que la reacción  
se lleve a cabo con agitación.

5 Como ocurre con la mayoría de las reacciones químicas, aquí pueden utilizarse temperaturas superiores o inferiores a las descritas específicamente. Unas temperaturas considerablemente superiores a las descritas, sin embargo, suelen dar lugar a un rendimiento reducido del producto debido a un mayor grado de reacciones secundarias  
10 mientras que las temperaturas considerablemente inferiores a las indicadas suelen dar lugar a rendimientos bajos o a tiempos de reacción excesivamente largos debido a las velocidades de reacción reducidas. Para obtener los máximos rendimientos, se prefiere utilizar una temperatura comprendida aproximadamente entre  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $50^{\circ}\text{C}$  y todavía mejor entre unos  $0^{\circ}$  y  $20^{\circ}\text{C}$ .  
15

20 El átomo de carbono  $\alpha$  de la cadena lateral de penicilina (al cual está unido el grupo 3-guanil-1-ureido) es un átomo de carbono asimétrico y los compuestos de este invento pueden existir por lo tanto en dos formas isómeras ópticamente activas (los diastereoisómeros D- y L-), así como en la forma DL que es una mezcla de las dos formas ópticamente activas; todas estas formas isómeras de los compuestos están incluidas dentro de los límites del presente invento pero se prefiere la forma D. También están  
25 incluidos dentro del presente invento los ésteres fácilmente hidrolizables que se convierten en el ácido libre por hidrólisis química o enzimática, como se ilustra en la patente belga nº 684.288 y en la patente estadounidense  
30 3.399.207.

374087

29 NOV 1963



1           En relación con las consideraciones anteriores,  
sobre los diestereoisómeros de este invento, debe obser-  
varse que son posibles muchos isómeros además de los dos  
producidos por el carbono asimétrico de la cadena lateral,  
5           debido a la presencia de átomos de carbono asimétricos en  
el núcleo de ácido 6-aminopenicilánico. No obstante, estos  
isómeros adicionales no tienen actualmente importancia ya  
que el ácido 6-aminopenicilánico, que es el producto de  
procesos de fermentación, tiene constantemente una configu-  
10           ración; este ácido 6-aminopenicilánico es utilizado actual-  
mente en la producción de los compuestos de este invento.

          En las realizaciones preferidas de este invento,  
R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> representan cada uno de ellos hidrógeno, hidro-  
xilo o amino y el carbono  $\alpha$  de la cadena lateral de peni-  
15           cilina (al cual está unido el grupo 3-guanil-1-ureido) es  
de configuración D. Dentro de este subgrupo preferido, los  
compuestos preferidos son aquellos en los que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup>  
son todos hidrógeno.

          En el tratamiento de las infecciones bacterianas  
20           en el hombre, los compuestos de este invento son adminis-  
trados tópicamente, oralmente y parenteralmente de acuerdo  
con procedimientos convencionales de administración de  
antibióticos, en una proporción que oscila aproximadamente  
entre 5 y 125 mg/kg/día y preferiblemente entre 15 y 50  
25           mg/kg/día para las infecciones de Pseudomonas en dosis  
fraccionadas, por ejemplo 3 ó 4 veces al día. Se adminis-  
tran en unidades de dosificación que contienen, por ejem-  
plo, 125, 250, 500, 1000 y 2000 mg de ingrediente activo  
con vehículos o excipientes adecuados fisiológicamente  
30           aceptables. Las unidades de dosificación pueden encontrar-



374087



1 unos 0° durante 1,5 horas con agitación ocasional por ro-  
tación y después se vierte sobre 1000 g de hielo. El preci-  
pitado se separa por filtración y se lava con agua. Sin se-  
5 car, el precipitado se suspende en 200 ml de agua y se di-  
suelve mediante la adición de solución acuosa al 10 % de  
hidróxido sódico. La solución resultante se filtra y des-  
pués el producto se precipita haciendo burbujear CO<sub>2</sub> a tra-  
vés de la solución durante 1 hora. El sólido se separa por  
filtración, se lava con agua y se seca, dando 38,6 g (88 %),  
10 p.f. >250°.

Análisis para C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>:

Calculado: C, 16,3; H, 3,43; N, 47,96

Encontrado: C, 16,63; H, 3,65; N, 47,6.

15 Dihidrocloreuro de 4-guanilsemicarbazida (II) - Una suspen-  
sión de 5,88 g (0,04 moles) de N-guanil-N'-nitrourea en  
31,8 ml de HCl concentrado se enfría mediante la adición  
de unos 15 g de hielo y mantenimiento en un baño de hielo.  
La suspensión se agrega a lo largo de 45 minutos sobre una  
mezcla fuertemente agitada y enfriada con hielo de 12,96 g  
20 (0,18 moles) de cinc en polvo y alrededor de 300 g de hie-  
lo. Una vez completada la adición, la mezcla se mantiene  
durante 10 minutos sin refrigeración externa y después se  
filtra. El filtrado se sacude fuertemente con 5 ml (0,05  
moles) de benzaldehído y el precipitado incoloro que se  
25 forma se separa rápídamente por filtración y se seca a  
presión reducida, dando 3,0 g del benzal-derivado de II,  
p.f. 237°.

30 Sin purificación, se suspenden 3,5 g del benzal-  
derivado en 5 ml de etanol, después se añaden 50 ml de  
ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se mantiene a

374087

29



1 40° durante 1 hora. El producto cristalino insoluble se recoge por filtración y se recristaliza en agua-etanol, dando 1,0 g de II, p.f. 191°.

5 Acido 6-[D(-)-α-(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico - A una solución agitada y enfriada con hielo y sal de 1,0 g (5,25 milimoles) de dihidrocloruro de 4-guanil-semicarbazida en 6 ml de agua se agrega una solución de 0,366 g (5,25 milimoles) de NaNO<sub>2</sub> en 1,4 ml de agua. La agitación y refrigeración se prosiguen durante 10 minutos.

10 Esta solución de agente de guanilcarbamoilación preparada in situ se agrega después sobre una solución agitada y enfriada con hielo de 2,12 g (5,25 milimoles) de ampicilina (D-α-aminobencilpenicilina) en 7 ml de agua conteniendo trietilamina suficiente para llevar el pH a 7,5. Después

15 de haber combinado las soluciones se ajusta el pH a 7,2 con trietilamina y se continúa agitando y enfriando durante 45 minutos. El precipitado que se separa se recoge por filtración, se lava con agua y se seca, dando 1,2 g de ácido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico sólido. Este se precipita de nuevo dos veces disolviéndolo en 10 ml de agua con trietilamina a pH 9,5, y después acidulando a pH 5 (es suficiente una acidulación a pH 6,5) con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 42 %, dando 0,425 g de ácido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico, p.f. 198-200°C (desc.).

20

25

Análisis para C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>·S·H<sub>2</sub>O:

Calculado: C, 45,95; H, 5,57; N, 17,86

Encontrado: C, 46,65; H, 5,67; N, 17,51.

30 Se realizaron dos determinaciones de las Concentraciones Mínimas de Inhibición (C.M.I.) en mcg/ml de este

374087

29

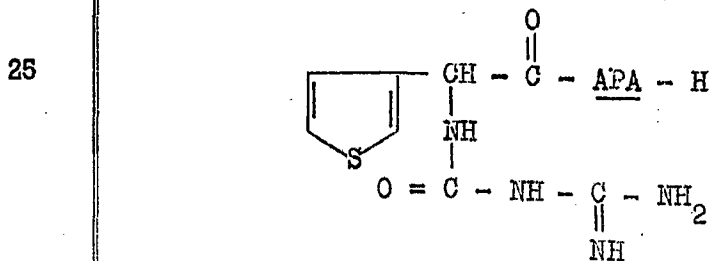


1 producto ("CMPD") y ampicilina ("AMP") frente a diversos organismos en caldo nutritivo. Los resultados fueron los siguientes:

ORGANISMO	C.M.I. en mcg/ml			
	<u>CMPD</u>	<u>Amp.</u>	<u>CMPD</u>	<u>Amp.</u>
5 D. pneumoniae + 5% Suero	≤ 0,02	0,008	0,008	0,008
Str. pyogenes	≤ 0,02	0,008	0,016	0,008
S. aureus Smith	0,3	0,06	0,3	0,06
S. aureus Smith +50% Suero	0,3	0,06	0,6	0,06
S. aureus 1633-2	4	4	2,5	2
10 Pr. morgani	250	125	8	125
E. coli A9675	16	125	8	125
E. coli Juhl A15119	2		1,3	4
Sal. enteritidis	≤ 1	0,13	0,08	0,13
K. pneumoniae A9977	≤ 1	0,5	0,3	0,25
15 K. pneumoniae A15130	63	125	63	125
Ps. aeruginosa	2	125	1,3	63
Pr. mirabilis	≤ 1	0,3	0,08	0,16

20 El ácido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico presenta intensas bandas de absorción en infrarrojo a 3360, 1722, 1770, 1690, 1610 y 1520 cm<sup>-1</sup>. La región entre 1650 y 1740 cm<sup>-1</sup> es bastante diferente comparada con dicha región en la penicilina de partida.

EJEMPLO 2





29

374087

1

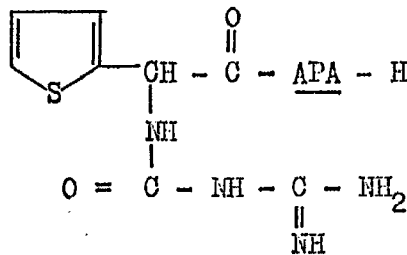
Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-tienilacetamido]penicilánico

5

Este compuesto se prepara sustituyendo la ampici-  
lina por un peso equimolecular de ácido 6-(D-α-amino-3-  
tienilacetamido)-penicilánico en el procedimiento del Ejem-  
plo 1.

EJEMPLO 3

10



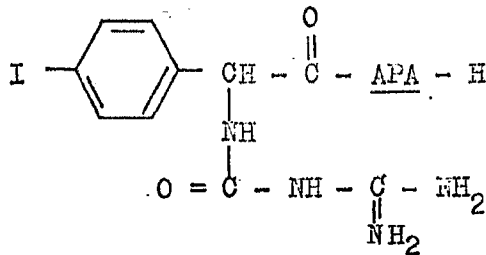
15

Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-2-tienilacetamido]penicilánico

Este compuesto se prepara sustituyendo la ampici-  
lina por un peso equimolecular de ácido 6-(D-α-amino-2-  
tienilacetamido)penicilánico en el procedimiento del Ejem-  
plo 1.

EJEMPLO 4

20



25

Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-4-yodofenilacetamido]penicilánico

30

Este compuesto se prepara sustituyendo la ampi-  
cilina por un peso equimolecular de ácido 6-(D-α-amino-4-  
yodofenilacetamido)penicilánico en el procedimiento del



374087

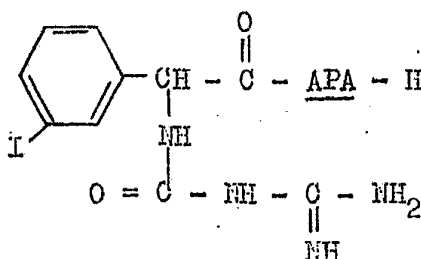
29

1

Ejemplo 1.

EJEMPLO 5

5



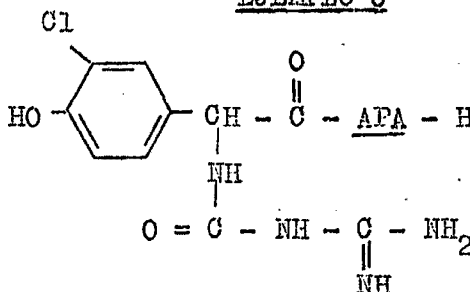
10

Acido 6-[D-α-(3-yodofenilacetamido)penicilánico

El compuesto se obtiene por sustitución de la ampilina por un peso equimolecular de ácido 6-(D-α-amino-3-yodofenilacetamido)penicilánico en el procedimiento del Ejemplo 1.

15

EJEMPLO 6



20

Acido 6-[D-α-(3-cloro-4-hidroxifenilacetamido)penicilánico

25

Este producto se prepara sustituyendo la ampilina por un peso equimolecular de ácido 6-[D-α-amino-α-(3-cloro-4-hidroxifenil)acetamido]penicilánico en el procedimiento del Ejemplo 1.

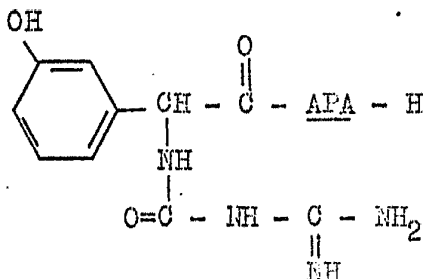
30





374087

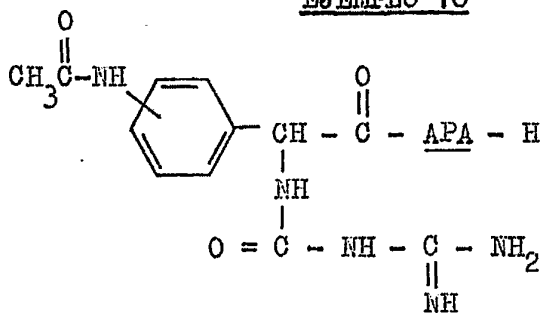
EJEMPLO 9



Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-hidroxifenilacetamido]-penicilánico

Este producto se prepara sustituyendo la ampicilina en el procedimiento del Ejemplo 1 por un peso equimolecular de ácido 6-[D-α-amino-α-(3-hidroxifenil)acetamido]-penicilánico que se obtiene a partir de D-α-(3-hidroxifenil)glicina, por métodos conocidos en la técnica.

EJEMPLO 10



Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-(3- y 4-acetamido)fenilacetamido]penicilánico

Estos dos productos se preparan sustituyendo la ampicilina en el procedimiento del Ejemplo 1 por un peso equimolecular de los ácidos 6-[D-α-amino-(3- y 4-acetamido)fenilacetamido]penicilánicos que se preparan a partir de ácidos D-α-amino-3 y 4-acetamidofenilacéticos como se ha descrito anteriormente y en la técnica.

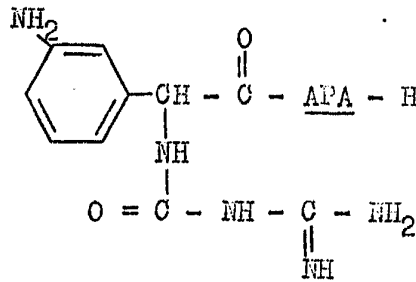
374087

29 NOV



1

EJEMPLO 11



5

6-[D-α-(3-Guanil-1-ureido)-3-aminofenilacetamido]penicilinato potásico

10

Este producto se prepara sustituyendo la amplicilina en el procedimiento del Ejemplo 1 por un peso equivalente de ácido 6-[D-α-amino-3-aminofenilacetamido]penicilánico que a su vez se prepara por el procedimiento de la patente inglesa 1.033.257 o a partir de 2-(3-aminofenil)glicina por el proceso de acilación de la patente estadounidense 3.140.282.

15

EJEMPLO 12

20

Cuando en el procedimiento del Ejemplo 1 la D-α-aminobencilpenicilina allí empleada se sustituye por 5,25 milimoles de:

25

- D-α-amino-p-sulfamilbencilpenicilina,
- D-α-amino-p-metoxibencilpenicilina,
- D-α-amino-p-clorobencilpenicilina,
- D-α-amino-p-dietilaminobencilpenicilina,
- D-α-amino-p-trifluormetilbencilpenicilina,
- D-α-amino-2,4-dibromobencilpenicilina,
- D-α-amino-o-nitrobencilpenicilina,
- D-α-amino-m-metilbencilpenicilina,
- D-α-amino-o-yodobencilpenicilina,
- D-α-amino-o-acetamidobencilpenicilina,

30



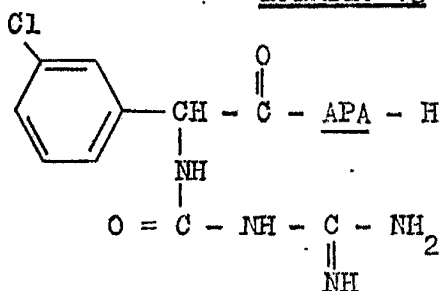
374087

29 NOV 1960

1 D-α-amino-2,6-diclorobencilpenicilina,  
 D-α-amino-o-clorobencilpenicilina y  
 D-α-amino-2-cloro-6-fluorbencilpenicilina,  
 respectivamente, se obtienen las siguientes penicilinas:  
 5 D-α-(3-guanil-1-ureido)-p-sulfamilbencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-p-clorobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-p-metoxibencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-p-dietilaminobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-p-trifluormetilbencilpenicilina,  
 10 D-α-(3-guanil-1-ureido)-2,4-dibromobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-o-nitrobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-m-metilbencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-o-yodobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-o-acetamidobencilpenicilina,  
 15 D-α-(3-guanil-1-ureido)-2,6-diclorobencilpenicilina,  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-o-clorobencilpenicilina y  
 D-α-(3-guanil-1-ureido)-2-cloro-6-fluorbencilpenicilina,  
 respectivamente.

EJEMPLO 13

20



25

Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-clorofenilacetamido]-  
penicilánico

30

Este producto se prepara sustituyendo la ampici-  
 lina en el procedimiento del Ejemplo 1 por un peso equi-  
 molecular de ácido 6-[D-α-amino-3-clorofenilacetamido]-

374087

48

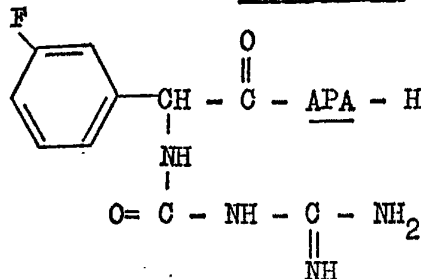


1

penicilánico que a su vez se prepara por métodos conocidos en la técnica.

EJEMPLO 14

5



10

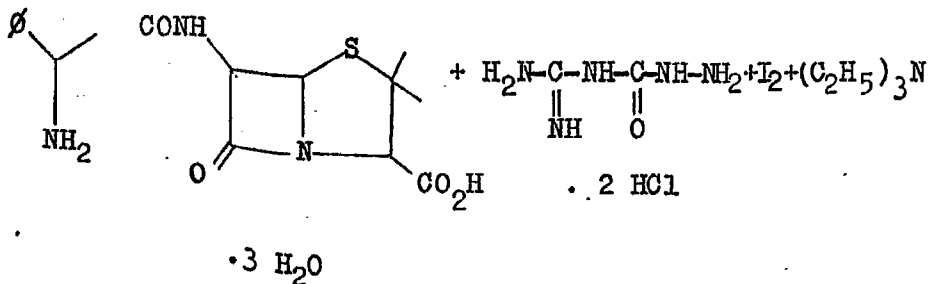
Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-fluorfenilacetamido]-penicilánico

15

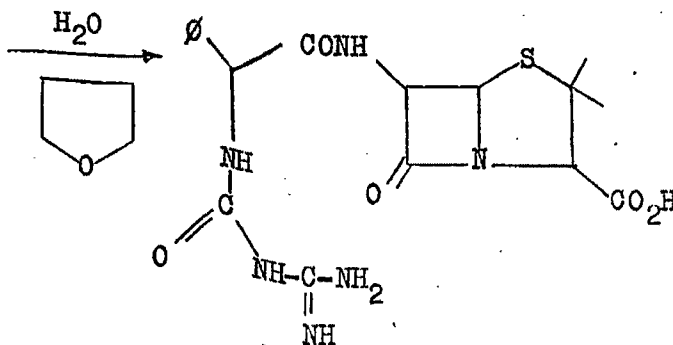
Este producto se prepara sustituyendo la ampici-  
lina en el procedimiento del Ejemplo 1 por un peso equi-  
molecular de ácido 6-[D-α-amino-3-fluorfenilacetamido]-  
penicilánico que a su vez se prepara por métodos conocidos  
en la técnica.

EJEMPLO 15

20



25



30

374087



1 Acido 6-[D- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico

5 A una solución agitada y enfriada con hielo de 0,403 g (1 milimol) de trihidrato de ampicilina y 0,190 g (1 milimol) de dihidrocloruro de 4-guanilsemicarbacida  
10 en 3,5 ml de agua y 2,5 ml de tetrahidrofurano se agregan 0,98 ml (7 milimoles) de trietilamina. A continuación se añade gota a gota, a lo largo de unos 30 segundos, una solución de 0,51 g (2 milimoles) de yodo en 2,0 ml de tetra-  
15 hidrofurano, hasta que la mezcla de reacción adquiere un color de yodo permanente (se requieren 1,5 ml). La agitación y el enfriamiento con hielo se prosiguen durante 5 minutos y después se agrega gota a gota solución acuosa al 10 % de tiosulfato sódico para consumir el yodo en exceso. La mezcla de reacción se concentra a presión reducida para  
20 separar la mayor parte del tetrahidrofurano y después, enfriando con hielo, se reduce el pH a 6,4 con ácido clorhídrico 1 N. Después de mantener en hielo durante 45 minutos, se recoge el precipitado por centrifugación, se lava con agua y se seca dando 0,105 g de ácido 6-[D- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico.

EJEMPLO 16

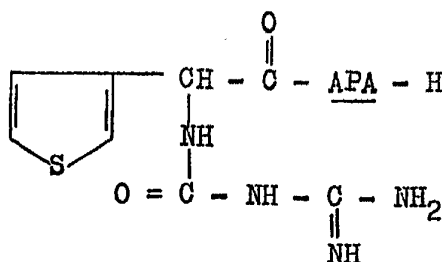
25 El ácido 6-[D- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)-2-tienilacetamido]penicilánico y el ácido 6-[D- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)-3-tienilacetamido]penicilánico se preparan respectivamente sustituyendo la ampicilina en el procedimiento del Ejemplo 15 por pesos equimoleculares de ácido 6-(D- $\alpha$ -amino-2-tienilacetamido)penicilánico y ácido 6-(D- $\alpha$ -amino-3-tienilacetamido)penicilánico.

374087

29 N



EJEMPLO 17



Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-tienilacetamido]penicilánico

10 Se prepara una solución combinando una solución enfriada con hielo de 1,2 g (6,28 milimoles) de dihidrocloruro de 4-guanilsemicarbacida en 7,2 ml de agua con una solución de 0,42 g (6,28 milimoles) de NaNO<sub>2</sub> en 1,6 ml de agua y agitando la mezcla a 0° durante 10 minutos. Es-

15 ta solución se agrega sobre otra solución agitada y enfriada con hielo, preparada suspendiendo 1,92 g (4,72 milimoles) de ácido 6-(D-α-amino-3-tienilacetamido)penicilánico en 6 ml de agua y agregando trietilamina suficiente para llevar el pH a 9,0. El pH de la mezcla resultante se

20 ajusta a 6 con trietilamina. Al cabo de 10 minutos, el precipitado formado se separa por filtración y se seca a presión reducida dando 0,625 g de producto. Se obtienen 0,13 g adicionales de producto reduciendo el pH del filtrado a 5,0 con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 42 % y agitando durante 30 minutos a 0°, separando después el precipitado por filtración

25 y secando a presión reducida. La primera masa cristalina, que contiene trazas de la penicilina de partida, se purifica disolviéndola en 5 ml de agua a pH 9,0 con trietilamina, enfriando con hielo y después acidulando a pH 5,5 con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 42 % y recogiendo y secando los cristales,

30

374087



1 formándose 0,3 g. El rendimiento total de producto purificado, ácido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-3-tienilacetamido]-penicilánico es de 0,43 g, p.f. 192°.

5 El espectro infrarrojo del producto presenta intensas bandas a 3380 (ancha), 1770, 1725, 1690, 1625 y 1530 cm<sup>-1</sup> y difiere especialmente del espectro de la penicilina de partida en la región 1650-1730 cm<sup>-1</sup>.

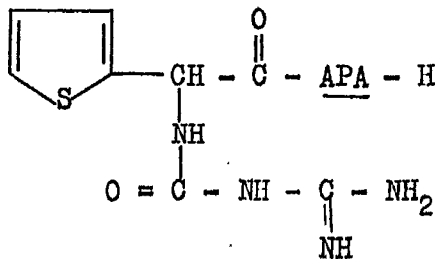
10 Se realiza una determinación de las Concentraciones Mínimas de Inhibición (C.M.I.) en mcg/ml de este producto ("CMPD") y ampicilina ("AMP") frente a varios organismos en caldo nutritivo. Los resultados son los siguientes:

	<u>C.M.I. en mcg/ml</u>	
<u>Organismo</u>	<u>OMP</u>	<u>AMP</u>
15 D. pneumoniae + suero al 5 %	≤ 0,02	0,004
Str. pyogenes	≤ 0,02	0,008
S. aureus Smith	0,3	0,06
S. aureus Smith + suero al 50 %	0,6	0,06
S. aureus Smith + H. ceph-ase		
20 S. aureus 1633-2	2	2
Pr. morgani	250	63
E. coli A9675	250	125
E. coli Juhl A15119	2	4
Sal. enteritidis	≤ 1	0,13
25 K. pneumoniae A9977	≤ 1	0,5
K. pneumoniae A15130	250	125
Ps. aeruginosa	≤ 1	63
Pr. mirabilis A9900	≤ 1	0,3

374087



EJEMPLO 18



Acido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-2-tienilacetamido]penicilánico

Una solución enfriada con hielo y sal de 1,2 g de dihidrocloruro de 4-guanilsemicarbacida en 7,2 ml de agua se combina con una solución de 0,420 g de NaNO<sub>2</sub> en 1,6 ml de agua y se agita durante 10 minutos a 0°. A continuación esta solución se agrega sobre una solución enfriada con hielo de 1,92 g (4,72 milimoles) de ácido 6-(D-α-amino-2-tienilacetamido)penicilánico en 6 ml de agua conteniendo trietilamina suficiente para llevar el pH a 10,0. Después de agitar durante 20 minutos a 0°, el precipitado se recoge y se seca. El filtrado se acidula a pH 5 y después se agita y se enfría con hielo durante 15 minutos. El precipitado se recoge y se seca. Los precipitados combinados pesan 0,52 g. Estos se precipitan dos veces disolviéndolos en agua fría con la cantidad mínima de base y después acidulando a pH 6, dando 0,15 g de ácido 6-[D-α-(3-guanil-1-ureido)-2-tienilacetamido]penicilánico purificado, p.f. 198°.

El espectro infrarrojo de este producto presenta intensas bandas a 3350, 1770, 1720, 1690, 1610 y 1520 cm<sup>-1</sup> y difiere considerablemente del espectro de la penicilina de partida, especialmente en la región 1650-1730 cm<sup>-1</sup>.



374087

1

Se realiza una determinación de las Concentraciones Mínimas de Inhibición (C.M.I.) en mcg/ml de este producto ("CMPD") y ampicilina ("AMP") frente a varios organismos en caldo nutritivo. Los resultados son los siguientes:

5

C.M.I. en mcg/ml

10

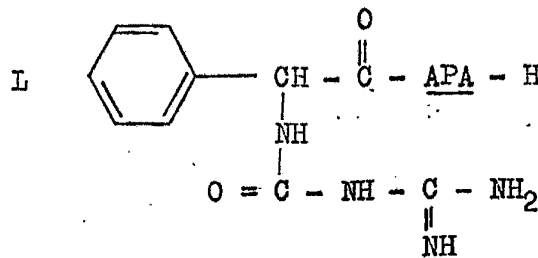
15

20

<u>Organismo</u>	<u>CMPD</u>	<u>AMP</u>
D. pneumoniae + suero al 5 %	0,004	0,004
Str. pyogenes	0,004	0,008
S. aureus Smith	0,3	0,06
A. aureus Smith + suero al 50 %	0,3	0,06
S. aureus Smith + H. ceph-ase		
S. aureus 1633-2	1,3	1
Pr. morgani	8	63
E. coli A9675	16	32
E. coli Juhl A15119	1,3	2
Sal. enteritidis	0,04	0,13
K. pneumoniae A9977	0,3	0,5
K. pneumoniae A15130	63	125
Ps. aeruginosa	1,3	250
Pr. mirabilis A9900	0,16	0,6

EJEMPLO 19

25



30

374087

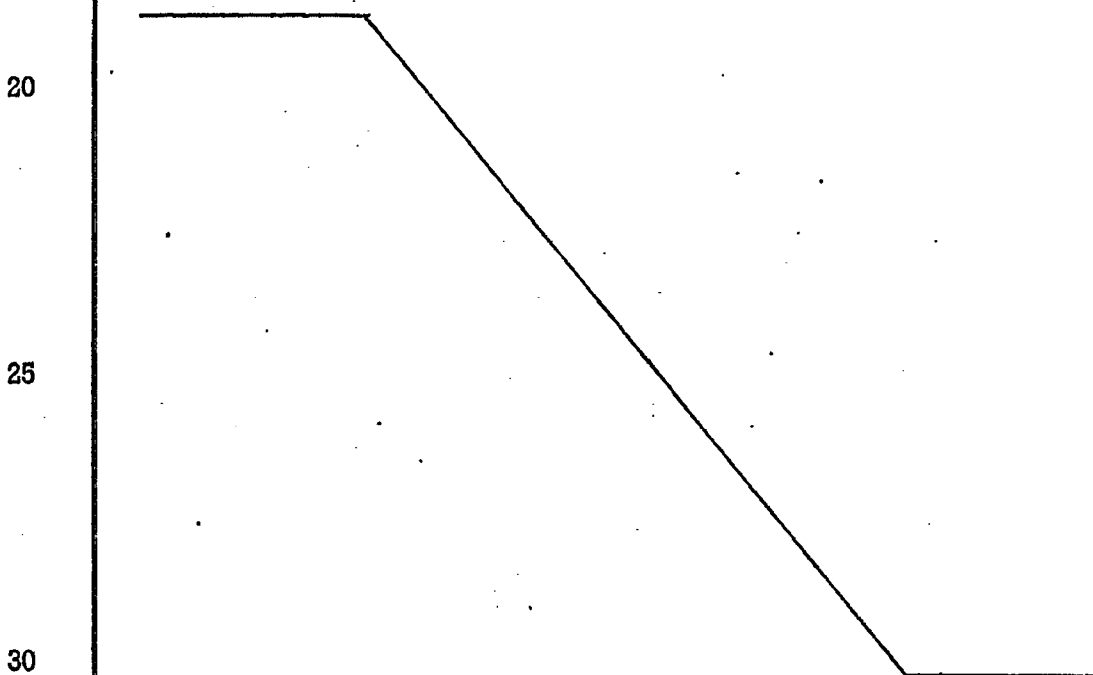
29



1 Acido 6-[L- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico

5 A una solución agitada y enfriada con hielo de  
1,92 g (4,7 milimoles) de ácido 6-(L- $\alpha$ -aminofenilacetamido)penicilánico en 6 ml de agua ajustada a pH 9,5 con trietilamina, se agrega otra solución que ha sido preparada  
10 previamente combinando unas soluciones frías de 1,2 g (6,3 milimoles) de dihidrocloruro de 4-guanilsemicarbazida en 7,2 ml de agua y 0,42 g (6,3 milimoles) de NaNO<sub>2</sub> en 1,6 ml de agua y agitando durante 10 minutos. El pH de la mezcla  
15 resultante se ajusta a 6,5 con trietilamina. Después de agitar a 0° durante 20 minutos, el precipitado se recoge y se seca dando 0,378 g. El filtrado se acidula a pH 5,5 con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 42 % y después se agita a 0° durante 20 minutos. El precipitado se recoge y se seca dando 0,115 g adicionales con un rendimiento total de 0,493 g de ácido 6-[L- $\alpha$ -(3-guanil-1-ureido)fenilacetamido]penicilánico.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:





374087

29



1

te entre  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $50^{\circ}\text{C}$ .

5

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, en el que el agente de guanilcarbamoilación está constituido por una mezcla de 4-guanilsemicarbazida y un agente oxidante seleccionado entre el grupo formado por ácido nítrico o una fuente del mismo y yodo o sus equivalentes.

10

3. Un procedimiento según la Reivindicación 2, caracterizado porque el agente de guanilcarbamoilación y el ácido penicilánico reaccionan en una relación molar comprendida aproximadamente entre 1:1 y 1,5:1 respectivamente.

15

4. Un procedimiento según la Reivindicación 3, caracterizado porque la reacción se efectúa en un disolvente seleccionado entre el grupo formado por agua, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, cloroformo, tetrahidrofurano, n-pentano y cloruro de metileno.

20

5. Un procedimiento según la Reivindicación 4, caracterizado porque la base es piridina o trietilamina.

6. Un procedimiento según la Reivindicación 5, caracterizado porque la reacción se efectúa en agua como disolvente, a una temperatura comprendida entre  $0^{\circ}\text{C}$  y  $20^{\circ}\text{C}$  aproximadamente.

25

7. Se reivindica por último, como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:  
"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE AGENTES ANTIBACTERIANOS".

30

374087

29 NOV



1

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva, que consta de veintiocho páginas mecanografiadas.

5

Madrid, 29 Noviembre 1969

BERNARDO UNGRIA

P.P.

10

15

20

25

30