

PATENTE DE INVENCION

=====
Le A 13033/I-Sp.



403124
Int. Cl.: C07D//A61K
A23K

Memoria Descriptiva

sobre:

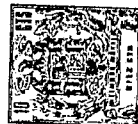
PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UNA COMPOSICION
ANTIBACTERIANA.

=====

Solicitante: FARBENFABRIKEN BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, entidad
alemana, residente en Leverkusen-Bayerwerk,
República Federal Alemana.

=====

La presente invención se refiere a un procedi-
miento para la obtención de composiciones antibacterianas,
aplicables como aditivos a alimentos para animales y como
agentes terapéuticos para aves y animales, así como para
5. seres humanos en el tratamiento de enfermedades infecciosas



provocadas por bacterias gram-positivas y gram-negativas, particularmente por bacterias Klebsiella.

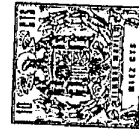
5. Agentes antibacterianos, tales como ampicilina (Patente norteamericana No. 2.985.648), comprobaron ser muy eficaces en la terapia de infecciones provocadas por bacterias gram-positivas y gram-negativas. Sin embargo, no son capaces de combatir eficazmente infecciones provocadas por Klebsiella.

10. La carbenicilina (Patentes norteamericanas Nos. 3.142.673 y 3.282.926) es, en los seres humanos, en el caso de infecciones provocadas por bacterias Klebsiella, tan solo eficaz si es administrada en una dosificación continuamente elevada, tal como se la consigue solamente por infusión.

15. La presente invención se refiere a tales ácidos 6-(α -3-acilureidoacetamido)-penicilánicos, en los cuales el átomo de hidrógeno del átomo de nitrógeno situado en la posición 3 está sustituido por otros radicales.

20. Ácidos 6-(α -acilureidoacetamido)-penicilánicos están descritos en las Patentes holandesas Nos. 69.01646 y 69.08909, en las Patentes norteamericanas Nos. 3.479.339, 3.483.188 y 3.481.922 y en la Patente alemana exhibida No. 1.959.920, pero todos los ácidos 3-acilureidoacetamidopenicilánicos descritos y reivindicados en esas patentes, tienen, en el grupo acilureido sobre el átomo de nitrógeno situado en la posición 3, un átomo de hidrógeno. La existencia de este átomo de hidrógeno y la ausencia de otro sustituyente en este punto del grupo acilureido resultan en parte obligatoriamente del diferente camino de síntesis de estas penicilinas.

30. La presente invención se refiere, además, a un procedimiento para la producción de tales compuestos que en el

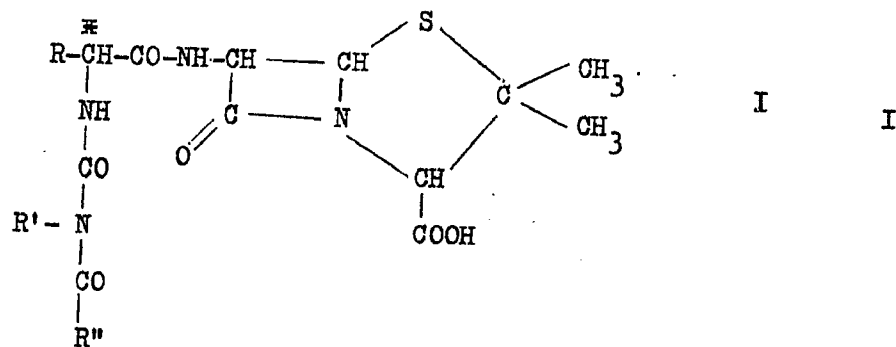


tratamiento de infecciones provocadas por microbios gram-positivos y gram-negativos, particularmente por cepas de Klebsiella aerobacter, son capaces de prestar ayuda valiosa a baja dosificación.

5.

De acuerdo con la invención, ahora se encontró un procedimiento para la producción de compuestos de la fórmula general I

10.

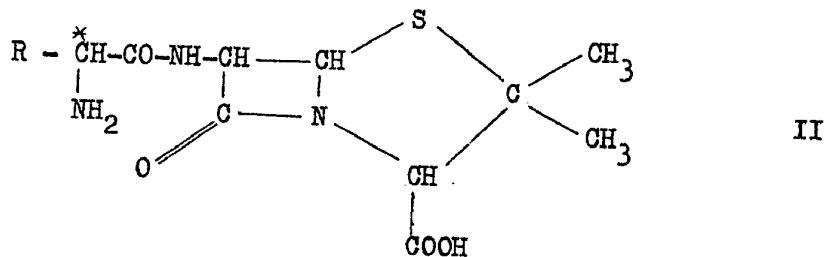


15.

en la que R representa fenilo y R' y R'' representan metilo, y cuyos compuestos de fórmula I, en cuanto al centro de quiralidad C^X pueden presentarse en las dos posibles configuraciones R y S y como mezclas de los diastereómeros de ellas resultantes, así como para la producción de sales atóxicas farmacéuticamente aceptables de estos compuestos, caracterizado porque compuestos de la fórmula general II

20.

25.

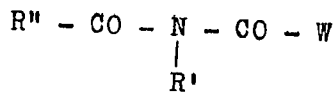


30.

en la que R se define como anteriormente, se hacen reaccionar con compuestos de fórmula general:

403124

- 4 -



III

5. en la que R' y R'' se definen como anteriormente y W se elige entre halógeno y azida.

10. A las sales atóxicas farmacéuticamente tolerables arriba mencionadas pertenecen sales del grupo carboxilo ácido, tales como sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio y sales de amonio y sales de amonio atóxicas sustituidas con aminas, tales como di- y tri-alquil(inferior)-aminas, procaina, dibencilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, N-bencil- β -feniletilamina, N-metil- y N-etilmorfolina, l-efenamina, dehidroabietilamina, N,N'-bis-dehidroabietilendiamina, N-alquil(inferior)-piperidina y otras aminas que fueron empleadas para la formulación de sales de penicilinas.

15. La reacción de un compuesto de fórmula II con un compuesto de fórmula III se puede llevar a cabo, por ejemplo, en mezclas de agua con tales disolventes orgánicos que son miscibles con agua, tales como acetona, tetrahidrofurano, dioxano, acetonitrilo, dimetilformamida, sulfóxido de dimetilo o isopropanol, manteniéndose el valor pH de la mezcla de reacción entre por ejemplo 6, 5 y 8 por adición de bases o por aplicación de soluciones amortiguadoras. La reacción según el invento, sin embargo, puede llevarse a cabo también dentro de otro margen de pH, por ejemplo, entre 4,5 y 9, o a un pH de 2,0 a 3,0.

20. Además, es posible realizar la reacción en disolventes inmiscibles con agua, por ejemplo, cloroformo o cloruro de metileno, bajo adición de preferiblemente trietilamina, dietilamina o N-etilpiperidina. Además, puede llevarse a cabo la reacción

25. en una mezcla de agua y de un disolvente inmiscible, tal como

30.

POOR
QUALITY



5. por ejemplo, éter, cloroformo, cloruro de metileno, sulfuro de carbono, isobutilmetilcetona, éter etílico de ácido acético, benceno, siendo conveniente agitar fuertemente, y mantener el valor pH por adición de una base o por aplicación de soluciones amortiguadoras entre 4,5 y 9,0 o por ejemplo entre 2,0 y 3,0.
10. Como en el caso de la mayoría de las reacciones químicas, pueden aplicarse temperaturas altas o bajas. Sin embargo, si se excede considerablemente de los valores ahí indicados, a un grado en aumento ocurrirán reacciones secundarias que disminuyen el rendimiento o afectan desventajosamente la pureza de los productos. Por otra parte, las temperaturas de reacción excesivamente bajas reducen la velocidad de reacción tan fuertemente que pueden ocurrir disminuciones del rendimiento. Por ello, son particularmente preferidas las temperaturas de reacción del margen de $>20^{\circ}$ a $+50^{\circ}\text{C}$, siendo particularmente preferida una temperatura de entre aproximadamente 0° y $+20^{\circ}\text{C}$.
15. Los componentes de reacción pueden hacerse reaccionar uno con otro en cantidades equimoleculares. Sin embargo, puede ser conveniente aplicar uno de los dos componentes en exceso, a fin de facilitar la purificación de la penicilina deseada o su producción en estado puro y de aumentar el rendimiento. A título de ejemplo, el componente de reacción de fórmula general II puede aplicarse con un exceso de 0,1 a 0,3 equivalentes molares y con ello puede lograrse una menor descomposición del componente de reacción de fórmula general III en la mezcla acuosa de disolventes. Debido a la buena solubilidad en ácido mineral acuoso, el exceso del componente de reacción de fórmula general II puede ser fácilmente eliminado
- 20.
- 25.
- 30.

5. en la elaboración de la mezcla de reacción. Por otra parte, sin embargo, puede aplicarse el componente de reacción de fórmula general III, ventajosamente también con un exceso de por ejemplo 0,1 a 1,0 equivalente molar. De esta manera, el componente de reacción de fórmula general II, es aprovechado mejor y la descomposición del componente de reacción de fórmula general III que ocurre como reacción secundaria en disolventes acuosos, es compensada. En vista de que el compuesto de fórmula general III agregado en exceso, en agua, se transforma rápidamente en amidas, ureas, o tioureas neutras que pueden ser eliminadas fácilmente, la pureza de las penicilinas es apenas afectada por dicho exceso.
10. La cantidad de las bases aplicadas está fijada, por ejemplo, por la deseada observación de un determinado valor pH. Donde no se efectúan una medición y un ajuste del valor pH y donde a causa de la falta de cantidades suficientes de agua en el diluyente, la medición y el ajuste del valor pH no son ni posibles ni razonables. En el presente caso se agregan preferiblemente 2 equivalentes molares de la base.
15. La elaboración de las mezclas de reacción para la producción de las penicilinas y sus sales, procede generalmente en la forma conocida ampliamente para las penicilinas.
20. Los compuestos de la fórmula general II aplicados en la presente invención como material de partida, en cuanto a la configuración en el centro asimétrico en la cadena lateral (C^*) pueden ocurrir en la forma D = R o en la forma L = S. Están descritos en la Patente alemana No. 1.156.078, en las Patentes norteamericanas Nos. 3.342.677, 3.157.640, 2.985.648, 3.140.282, en la Patente sudafricana No. 68/0290, así como (una forma anhidra) en la Patente norteamericana
- 25.
- 30.



- No. 3.144.445. Todas las formas de cristales y configuraciones de los compuestos de la fórmula general II son apropiadas como material de partida para la reacción según el invento. La configuración de los centros asimétricos del núcleo del ácido 6-amino-penicilánico en el compuesto de fórmula general II debe ser idéntica con aquella de los correspondientes centros asimétricos del ácido 6-aminopenicilánico que es obtenido, por ejemplo, a partir de penicilina-G por procesos de fermentación.
- 5.
10. El compuesto de fórmula general III utilizado como material de partida en la presente invención, siempre que W represente halógeno, fue preparado según procedimientos descritos en la Patente alemana Acta P 1 793 287.5, en la Patente alemana No. 1.259.871, en las Patentes norteamericanas Nos. 3.275.618 y 3.337.621 y en la Patente japonesa Acta 12921/64.
15. Además, el compuesto de fórmula general III, siempre que W represente halógeno, fue preparado como se ha descrito más detalladamente en los ejemplos, a partir de las correspondientes amidas después de un tratamiento metálico con metilo-litio y por subsiguiente reacción con fosgeno.
20. La eficacia quimioterapéutica de las nuevas penicilinas fué ensayada in vivo e in vitro. En la siguiente Tabla 1 están indicados los valores de inhibición in vitro (c.m.i. o sea concentración mínima de inhibición) en unidades/ml del medio de cultivo. La determinación se hizo en el ensayo de series de dilución en tubitos, procediendo la lectura después de la incubación durante 24 horas a 37°C. La c.m.i. está indicada por el tubito sin enturbiamiento en la serie de dilución.
25. Como medio de cultivo se utilizó un medio total de la siguiente-
- 30.

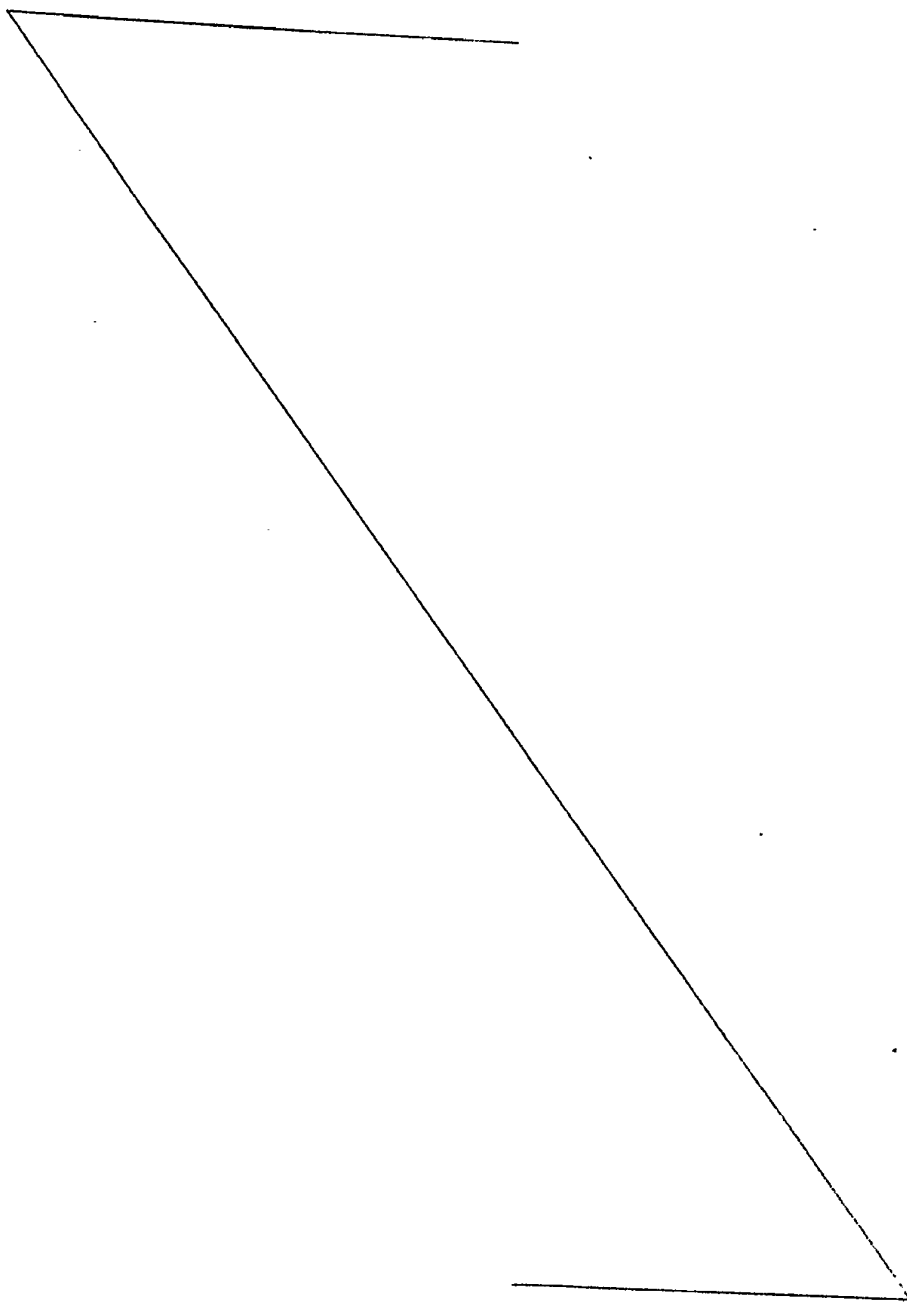
403124 - 8 -



te composición:

5.

Cuajo Lemco (Oxido)	10 g
Peptona (DIFCO)	10 g
NaCl	3 g
Dextrosa D(+) (Merck)	10 g
Amortiguador pH 7,4	1000 ml



403124

TABLA 1

C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

403124

Penicilina No.	E. Coli		Prot. vulg		Klebsiella		Pseudomonas serg. Bonn		Staph. aureus 1777 E	Strep. faec. ATCC 9790	
	14	A 261	G 165	183/58	1017	3400	K 10	63			Walter
ampicilina	~ 0,8	> 400	6,25	200	400	> 400	100-200	200	200	< 1,0	12,5
1	1,56	> 400	6,25	3,12	6,25	12,5	25	12,5	100	< 0,78	100
2	6,25	> 400	25	12,5	25	50	100	25	50	< 0,78	100
3	3,12	> 400	6,25	6,25	25	25	100	12,5	200	< 0,78	50
4	1,56	400	6,25	3,12	6,25	6,25	100	12,5	400	< 0,78	100
5	< 0,78	400	1,56	< 0,78	1,56	3,12	50	6,25	200	< 0,78	100
6	3,12	> 400	25	25	25	100	100	25	50	< 0,78	50
7	< 0,78	400	3,12	1,56	3,12	6,25	12,5	12,5	50	1,56	100
8	3,12	> 400	12,5	50	50	100	50	6,25	50	< 0,78	50
9	1,56	400	6,25	1,56	6,25	6,25	100	25	50	< 0,78	25
10	3,12	400	12,5	6,25	12,5	25	25	12,5	400	< 0,78	100
11	1,56	400	6,25	3,12	12,5	25	25	12,5	50	< 0,78	50
12	3,12	200	6,25	3,12	12,5	12,5	12,5	100	50	< 0,78	100
13	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	200	< 0,78	100
14	6,25	400	25	12,5	50	200	100	50	400	200	> 400
15	3,12	200-400	6,25	1,56	6,25	12,5	25-50	12,5	400	0,78	100
16	100	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	~ 50	0,78	50-100
17	< 0,8	100<500	0,8<4	0,8<4	4<20	0,8<4	20<100	4<20	4<20	25	> 400
18	0,8<4	100<500	4<20	~ 4	4<20	20<100	20<100	4<20	20<100	< 0,8	20<100
25	3,12	400	6,25	6,25	25	6,25	25	50	100	< 0,8	20<100
28	12,5	> 400	25	50	50	50	50	25	50	< 0,78	100
29	4<20	100<500	20<100	20<100	20<100	20<100	20<100	4<20	20<100	< 0,78	100
30	1,56	400	6,25	3,12	12,5	6,25	50	25	50	< 0,8	20<100
										< 0,78	50

403124

TABLA 1

C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

Penicilina No.	E. Coli				Prot. vulg		Klebsie.	
	14	A 261	C 165	183/58	1017	3400	K 10	
ampicilina	~ 0,8	>400	6,25	200	400	>400	100-200	
1	1,56	>400	6,25	3,12	6,25	12,5	25	
2	6,25	>400	25	12,5	25	50	100	
3	3,12	>400	6,25	6,25	25	25	100	
4	1,56	400	6,25	3,12	6,25	6,25	100	
5	<0,78	400	1,56	<0,78	1,56	3,12	50	
6	3,12	>400	25	25	25	100	100	
7	<0,78	400	3,12	1,56	3,12	6,25	12,5	
8	3,12	>400	12,5	50	50	100	50	
9	1,56	400	6,25	1,56	6,25	6,25	100	
10	3,12	400	12,5	6,25	12,5	25	50	
11	1,56	400	6,25	3,12	12,5	25	50	
12	3,12	200	6,25	3,12	12,5	12,5	25	
13	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>40
14	6,25	400	25	12,5	50	200	100	50
15	3,12	200-400	6,25	1,56	6,25	12,5	25-50	12,
16	100	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
17	<0,8	100<500	0,8<4	0,8<4	4<20	0,8<4	20<100	4<2
18	0,8<4	100<500	4<20	~ 4	4<20	20<100	20<100	20<
25	3,12	400	6,25	6,25	25	6,25	25	50
28	12,5	>400	25	50	50	50	100	50
29	4<20	100<500	20<100	20<100	20<100	20<100	20<100	20<1
30	1,56	400	6,25	3,12	12,5	6,25	50	25



403124

Klebsiella		Pseudomonas aerug. Bonn		Staph. aureus		Strep. faec. ATCC
K 10	63		Walter	1777 E	133	9790
100-200	100-200	200	200	200	<1,0	12,5
25	50	12,5	25	100	<0,78	100
100	50	25	50	50	<0,78	100
100	50	12,5	25	200	<0,78	50
100	100	12,5	25	400	<0,78	100
50	50	6,25	12,5	200	<0,78	50
100	100	25	50	50	1,56	100
12,5	12,5	12,5	12,5	50	<0,78	50
50	50	6,25	12,5	50	<0,78	25
100	100	25	50	400	<0,78	100
50	25	12,5	12,5	50	<0,78	50
30	25	12,5	100		<0,78	100
25	12,5	12,5	100		<0,78	100
100	>400	>400	>400		200	>400
100	50	50	400		0,78	100
15-50	12,5-25	12,5	~50		0,78	50-100
100	>400	>400	>400		25	>400
0<100	4<20	4<20	4<20		<0,8	20<100
0<100	20<100	4<20	20<100		<0,8	20<100
5	50	50	100		<0,78	100
100	50	25	50		<0,78	100
2<100	20<100	4<20	20<100		<0,8	20<100
10	25	25	50		<0,78	50



403124

TABLA 1 (continuación)
C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

403124

Penicilina No.	E. coli		Prot. vulg.			
	14	A 261	0 165	183/58	1017	3400
31	1,56	400	6,25	1,56	3,12	12,5
32	6,25	400	12,5	12,5	12,5	25
33		100<500	0,8<4	0,8<4		
34 B		>500	4<20	20<100		
35 B		>500	4<20	20<100		
36	12,5	>400	50	100		50
38	6,25	>400	12,5	50		50
39	6,25	>400	25	6,25		25
40	3,12	>400	6,25	6,25		25
41 B		>500	20-100	ca. 500		25
43 B		>500	20-100	100-500		
44		>500	4<20	4<20		
45		>500	4-20	100-500		
47 B		>500	4-20	>500		
49	<0,8	20<100	<0,8	<0,8		0,8-4
50		>500	4-20	20-100		
51		>500	4-20	20-100		
52	0,8-4	100-500	4-20	4-20		4-20
53	<0,8	20-100	0,8-4	<0,8		0,8-4
54	<0,8	20-100	0,8-4	<0,8		0,8-4
55			0,8-4	4-20		0,8-4
56			4-20	20-100		
57			20-100	20-100		

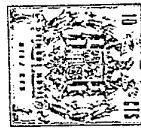
Klebsiella K 10	63	Pseudomonas aerug. Bonn		Walter	Staph. aureus 1777 B	133	Strep. faec. ATCC 9790
		Bonn	Walter				
25	12,5	25	50			<0,78	100
50	25	25	50		50		100
	4<20		4<20				20<100
	20<100		20<100				20<100
	20<100		20<100				20<100
200	200	100	100			3,12	200
200	200	25	25		400	1,56	25
400	50	25	50				
400	400	12,5	25		200		100
	>500		100-500			<0,78	100-500
	100-500		100-500			<0,8	ca. 20
	20 100		4<20			<0,8	4<20
100-500		100-500				<0,8	20-100
	4-20	0,8-4	>500			<0,8	20-100
	100-500		50-100			<0,8	~ 20
	100-500		20-100			<0,8	4-20
4-20	4-20	20-100	20-100		20-100	<0,8	4-20
4-20	4-20	4-20	4-20		4-20	<0,8	4-20
4-20	4-20	4-20	4-20		20-100	<0,8	4-20
100-500	100-500	4-20	4-20		100-500	<0,8	100-500
100-500	100-500	4-20	4-20		100-500	<0,8	100-500
100-500	100-500	4-20	4-20		100-500	<0,8	100-500

403124

TABLA 1 (continuación)

C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

Penicilina No.	E. coli						Kleb K 10
	14	A 261	O 165	183/58	1017	Prot.vulg. 3400	
31	1,56	400	6,25	1,56	3,12	12,5	25
32	6,25	400	12,5	12,5	12,5	25	50
33		100<500	0,8<4		0,8<4		
34 B		>500	4<20		20<100		
35 B		>500	4<20		20<100		
36	12,5	>400	50	100	100	50	200
38	6,25	>400	12,5	25	50	50	200
39	6,25	>400	25	6,25	25	25	400
40	3,12	>400	6,25	6,25	12,5	25	400
41 B		>500	20-100		ca.500		
43 B		>500	20-100		100-500		
44		>500	4<20		4<20		
45		>500	4-20		100-500		100-50
47 B		>500	4-20		>500		~4
49	<0,8	20<100	<0,8	<0,8	0,8-4	0,8-4	
50		>500	4-20		20-100		
51		>500	4-20		20-100		
52	0,8-4	100-500	4-20	4-20	4-20	4-20	4-20
53	<0,8	20-100	0,8-4	<0,8	0,8-4	0,8-4	4-20
54	<0,8	20-100	0,8-4	<0,8	0,8-4	0,8-4	4-20
55			0,8-4		4-20		
56			4-20		20-100		
57			20-100		20-100		



403124

Klebsiella		Pseudomonas aerug. Bonn		Staph. aureus 1777 E	133	Strep. faec. ATCC 9790
K 10	63		Walter			
25	12,5	25	50		<0,78	100
50	25	25	50	50		100
	4<20		4<20		<0,8	20<100
	20<100		20<100		<0,8	20<100
	20<100		20<100		<0,8	20<100
200	200	100	100		3,12	200
200	200	25	25	400	1,56	25
400	50	25	50			
400	400	12,5	25	200	<0,78	100
	>500		100-500		<0,8	100-500
	100-500		100-500		<0,8	ca. 20
	20 100		4<20		<0,8	4<20
100-500		100-500			<0,8	20-100
	100-500		>500		<0,8	20-100
~4	4-20	0,8-4	0,8-4	20-100	<0,8	4-20
	100-500		20-100		<0,8	~ 20
	100-500		50-100		<0,8	4-20
4-20	4-20	20-100	20-100	20-100	<0,8	4-20
4-20	4-20	4-20	4-20	4-20	<0,8	4-20
4-20	4-20	4-20	4-20	20-100	<0,8	4-20
	100-500		4-20	100-500	<0,8	
	100-500		4-20	100-500	<0,8	
	100-500		20-100	100-500	<0,8	

403124

TABLA I (Continuación)

C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

Penicilina No.	E. Coli		Prot. vulg.	
	14	A 261	G 165	183/58
58				3400
59	<0,78	50	4-20	4-20
60	12,5	>400	1,56	3,12
61	25	>400	200	200
63	6	>400	400	>400
64	12,5	>400	100	200
65	3,12	>400	200	400
66	3,12	>400	12,5	100
67	3,12	>400	25	50
68	12,5	>400	50	50
69	<0,78	50	3,12	100
70	<0,78	50	1,56	6,25
71	0,78	50	1,56	6,25
72	12,5	>400	100	6,25
73	<0,8	20-100	<0,8	>400
74	<0,8	>400	0,8-4	0,8-4
76	3,1	>400	25	50
77	12,5	400	50	100
80	6,25	200	25	100
82	<0,8	50	12,5	6,25
83	<0,8	50	1,6	3,1
84	<0,8	50	1,6	3,1
85	12,5	>400	3,1	12,5
86	1,56	400	50	400
89 A	12,5	>400	6,25	25

403124

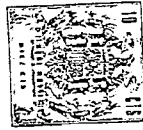
K 10	Klebsiella	Pseudomonas aerug.		Walter	Staph. aureus 1777E	Strep. faec. ATCC 9790
		Bonn	ca.20			
6,25	20-100		ca.20		100-500	<0,8
100	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	<0,8
400	>400	>400	>400	>400	100	1,6
25	100	100	100	100	200	1,6
50	100	200	400	400	100	<0,8
50	100	50	100	100	25	<0,8
50	50	50	100	100	25	<0,78
200	100	50	100	100	50	3,12
100	200	100	200	200	100	1,56
12,5	12,5	12,5	25	25	12,5	<0,78
6,25	6,25	6,25	12,5	12,5	12,5	<0,78
6,25	6,25	6,25	12,5	12,5	12,5	<0,78
25	50	200	200	200	6,25	<0,78
0,8-4	4-20	0,8-4	0,8-4	0,8-4	<0,8	<0,8
4-20	20-100	4-20	4-20	4-20	20-100	<0,8
50	200	100	50	200	200	3,1
100	400	400	100	100	100	<0,8
50	50	25	100	100	12,5	<0,8
12,5	25	12,5	12,5	12,5	12,5	<0,8
6,25	12,5	12,5	6,25	6,25	6,25	<0,8
12,5	25	25	12,5	12,5	12,5	<0,8
50	100	200	200	200	200	<0,8
50	50	6,25	12,5	12,5	200	<0,8
200	100	25	200	200	100	<0,8

403124

TABLA 1 (Continuación)

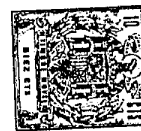
C.m.i. en unidades/ml
especies de bacterias

Penicilina No.	E. Coli				Prot.vulg.		K1 K2
	14	A 261	C 165	183/58	1017	3400	
58			4-20			4-20	
59	<0,78	50	1,56	1,56	3,12	3,12	6,25
60	12,5	>400	50	200	100	200	100
61	25	>400	200	400	>400	>400	400
63	6	>400	50	100	100	200	25
64	12,5	>400	50	200	100	400	50
65	3,12	>400	25	12,5	50	100	50
66	3,12	>400	12,5	25	50	50	200
67	3,12	>400	25	50	50	100	100
68	12,5	>400	50	50	100	100	12,5
69	<0,78	50	3,12	1,56	3,12	6,25	6,25
70	<0,78	50	1,56	<0,78	1,56	6,25	6,25
71	0,78	50	1,56	1,56	3,12	6,25	25
72	12,5	>400	100	100	200	>400	0,8-4
73	<0,8	20-100	<0,8	<0,8	0,8-4	0,8-4	4-20
74	<0,8	>400	0,8-4	<0,8	4-20	0,8-4	50
76	3,1	>400	25	25	12,5	50	100
77	12,5	400	50	25	25	100	50
80	6,25	200	25	12,5	25	100	12,5
82	<0,8	50	3,1	1,6	3,1	6,25	6,25
83	<0,8	50	3,1	1,6	3,1	3,1	12,5
84	<0,8	50	3,1	1,6	3,1	12,5	50
85	12,5	>400	50	50	200	400	50
86	1,56	400	6,25	50	12	25	200
89 A	12,5	>400	50	100	50	200	



403124

Klebsiella		Pseudomonas aerug.		Staph. aureus		Strep. faec. ATCC 9790
K 10	63	Benn	Walter	1777E	133	
	20-100		ca.20	100-500	<0,8	
6,25	12,5	12,5	12,5	12,5	<0,8	50
100	200	200	200	100	1,6	50
400	>400	>400	>400	200	1,6	100
25	100	100	100	100	<0,8	100
50	100	200	400	400	1,6	100
50	100	50	100	25	<0,8	200
50	50	50	100	25	<0,78	200
200	100	50	100	50	3,12	200
100	200	100	200	100	1,56	200
12,5	12,5	12,5	25	12,5	<0,78	25
6,25	6,25	6,25	12,5	12,5	<0,78	50
6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	<0,78	50
25	50	200	200		<0,8	50
0,8-4	4-20	0,8-4	0,8-4	20-100	<0,8	4-20
4-20	20-100	4-20	4-20	20-100	<0,8	4-20
50	200	100	50	200	3,1	100
100	400	400	100	100	<0,8	200
50	50	25	100	12,5	<0,8	50
12,5	25	12,5	12,5		<0,8	12,5
6,25	12,5	12,5	6,25			
12,5	25	25	12,5		<0,8	25
50	100	200	200		<0,8	100
50	50	6,25	12,5	200	<0,8	25
200	100	25	200	100	<0,8	50



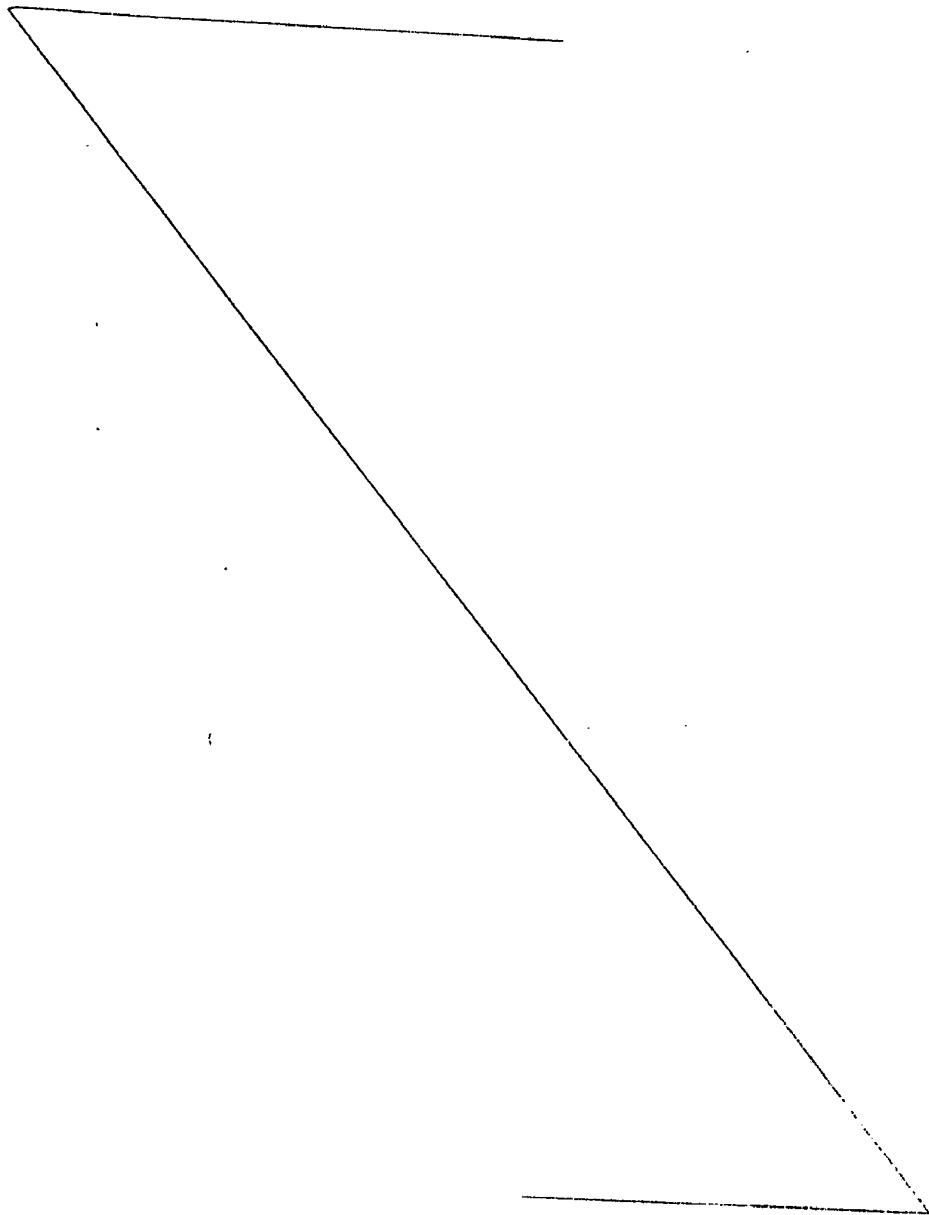
- El espectro de acción comprende bacterias tanto gram-negativas, como también gram-positivas. La ventaja especial de las penicilinas producidas según la invención, reside en que tanto in vitro (Tabla I), como también en ensayos con animales (Tabla 2) son eficaces contra bacterias Klebsiella resistentes a la ampicilina y la carbenicilina y contra bacterias Proteus resistentes a la ampicilina. Además, son combatidas especies de Pseudomona resistentes a la ampicilina, tanto in vitro, como también in vivo. Las concentraciones necesarias para la destrucción son alcanzadas en el suero después de la administración parenteral (Tabla 3). De la Tabla 4 puede apreciarse la disminución del número de las bacterias Proteus resistentes a la ampicilina presentes en la sangre después de la infección intraperitoneal y después de la administración de 50000 unidades/kg. El efecto excelente de algunas de las nuevas penicilinas contra bacterias gram-positivas está demostrado en la Tabla 2. El efecto excelente es logrado tanto con una sola administración, como también con varias administraciones. La resorción de las nuevas penicilinas después de la administración subcutánea procede a menudo muy rápidamente (Tabla 3) y los valores máximos son alcanzados a menudo dentro de 10 minutos. En estos dos casos, la secreción procede con la misma rapidez. Las sustancias producidas según el invento son resistentes a ácidos; como ejemplos sean citadas las penicilinas Nos. 1, 8 y 25, que a un valor pH de 1 quedan microbiológicamente activas durante más de una hora, siendo los números que aquí se dan a las penicilinas, idénticos con los números de los ejemplos en que se describe su preparación. De la Tabla 5 surge que las nuevas penicilinas son excelentemente bien toleradas, lo que se hace particularmente evidente por la
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



dosis extremadamente grande que es tolerada sin complicaciones a una administración intravenosa en la vena de la cola. Como ejemplo se cita aquí bien especialmente la penicilina No. 8.

5.

Los ensayos con animales (véase Tabla 2) se hicieron con ratones blancos de la raza DFl. Se provocó la infección intraperitonealmente con las bacterias indicadas en cada caso.



403124

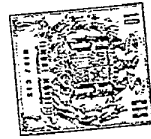
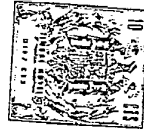
TABLA 2

Penicilina No.	Número de ratones sobrevivientes en % después de la infección a los 30 y 90 minutos de la infección							
	dosis: 2 x 3000 unidades/ratón E. coli 0 165 (sensible a ampicilina)				2 x 200 unidades/ratón Staph.aureus 133 (sensible a ampicilina)			
	1 d.	2 ds.	3 ds.	5 ds.	1 d.	2 ds.	3 ds.	5 ds.
	después de la infección				después de la infección			
1	70	60	60	60	90	70	70	70
32	100	90	90	90				
4	80	70						
5	80	60	60	60				
7	90	60	60	60	90	80	70	70
15	70	50	40	40	80	70	50	40
8	100	60	50	50	100	90	70	70
9	80	50	40	40				
25	90	60	60	60	80	70	70	70
36	50	30	30	30				
17	90	80	80	80				
ampicilina	100	100	100	100	100	100	100	100
carbenicilina								

cion i

4 x
Psd.
(re:
line
1 d.

50
30
50
70



403124

cion intraperitoneal y después de la terapia subcutánea

4 x 3000 unidades/ratón
Psd.aerug. Walter
(resistente a ampici-
lina)
1 d. 2 ds. 3 ds. 5 ds.

2 x 3000 unidades/ratón
Klebsiella 63 (resisten
te a ampicilina y car-
benicilina)
1 d. 2 ds. 3 ds. 5 ds.
después de la infección

2 x 3000 unidades/ratón
Proteus vulg. 1017
(resistente a ampicili-
na)
1 d. 2 ds. 3 ds. 5 ds.
después de la infección

				100	90	30		100	100	100	100
				90	70	0		100	80	80	80
				100	100	40		70	50	50	50
				100	100	30		80	70	70	70
				100	100	10		100	100	100	100
50	30	10		100	80	0		100	100	100	100
30				90	90	0		100	100	100	100
50				100	80	10		100	100	100	100
70	20			100	100	60		100	100	100	90
				80	30			100	100	100	100
				100	100	100	20	60	10		
				0	0	0	0	0	0	0	0
				0	0	0	0	100	100	100	100



403124

TABLA 2 (continuación)

Número de ratones sobrevivientes en % (después de la infección intraperitoneal y después de la terapia subcutánea) al cabo del número de días indicado

	especies de bacterias	Penicilina	Dosis*	al cabo de			
				1	2	3	5 días
5.	E. coli C 165	Ejemplo 86	A	80	80	80	80
	E. coli C 165	Carbencilina	A	70	50	50	50
	Prot. vulg. 1017 I	Ejemplo 86	A	70	50	50	50
		Carbencilina	A	50	50	50	50
		Ampicilina	A	0	0	0	0
10.	Klebsiella 63	Ejemplo 89	B	100	100	100	100
		Ejemplo 86	B	70	30	0	
		Carbencilina	B	0			
		Ampicilina	B	0			
		Cefalotina	B	0			
	Ejemplo 89	C	100	100	40	10	
15.	Pseudm. aer. Walter	Ejemplo 86	D	100	20	20	20
		Carbencilina	D	80	20	20	20
		Ampicilina	D	0			
		Cefalotina	D	0			
	Pseudomon. aer. F 41	Ejemplo 86	E	100			
		Carbencilina	E	0			
20.	Pseudomon. aer. F 41	Ejemplo 86	F	100			
		Carbencilina	F	20			
	Pseudomon. aer. F 41	Ejemplo 86	G	100			
		Carbencilina	G	70			
25.	Pseudomon. aer. F 41	Ejemplo 86	II	100			
		Carbencilina	H	70			

- 403124



Tabla 2 (continuación)

	especies de bacterias	Penicilina	Dosis *	al cabo de			
				1	2	3	5 días
	Klebsiella 63	Ejemplo 86	A	30			
		Carbenicilina	A	0			
5.	Klebsiella 63	Ejemplo 86	B	100			
		Carbenicilina	B	0			
	Klebsiella 63	Ejemplo 86	C	100			
		Carbenicilina	C	0			

* Dosis A = 37500 unidades/kg a los 30 y 90 minutos de la infección
 Dosis B = 75000 unidades/kg a los 30 y 90 minutos de la infección
 Dosis C = 150000 unidades/kg a los 30 y 90 minutos de la infección
 10. Dosis D = 150000 unidades/kg al cabo de media hora y de 2,4 y 6 horas después de la infección
 Dosis E = 50000 unidades/kg 30 minutos antes y 2, 4 y 6 horas después de la infección
 Dosis F = 75000 unidades/kg 30 minutos antes y 2, 4 y 6 horas después de la infección
 Dosis G = 150000 unidades/kg 30 minutos antes y 2, 4 y 6 horas después de la infección
 15. Dosis H = 200000 unidades/kg 30 minutos antes y 2, 4 y 6 horas después de la infección

Tabla 3

Concentración en el suero después de la administración a ratones blancos en unidades/ml de suero, medida en base a la actividad microbiológica contra *Proteus vulgaris* 1017 (resistente a ampicilina).

20.	Penicilina No.	dosis s.c. en unidades	concentración en el suero en unidades; número de minutos después de la administración de la dosis				
			10	15	20	30	60 minutos
	1	150 000 E		25 E		20 E	< 2 E
	8	50 000 E	50 E		10 E		
25.	8	150 000 E		42 E		26 E	< 10 E



TABLA 4 **403124**

Disminución del número de bacterias/ml de sangre después de la administración subcutánea de la penicilina No. 25. La infección se provocó intraperitonealmente con *Proteus vulgaris* 1017, 8×10^5 /ratón; resistente a ampicicilina.

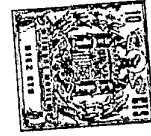
		Número de bacterias después de la infección, medido después de la infección al cabo de					
		30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.
5.	Control	3×10^4	2×10^4	2×10^4	-	7×10^4	5×10^4
	administración de 1×50000 unid./kg s.c. a los 30 minutos de la infección	9×10^3	7×10^3	2×10^3	1×10^3	3×10^3	8×10^3
10.	administración de 1×50000 unid./kg s.c. a los 30 minutos y otras 50000 unid./kg a los 90 minutos de la infección	2×10^4	8×10^3	ca. 5×10^3	2×10^2	10^1	10^1

15. De la tabla surge que ya una dosis subcutánea de 50000 unid./kg reduce drásticamente el número de bacterias en la sangre; además, que dos administraciones subcutáneas de 50000 unid./kg conducen a la eliminación de las bacterias.

TABLA 5

20. Toxicidad aguda (DL_{50}) en el ratón blanco después de la inyección intravenosa en la vena de la cola en mg/kg

<u>Penicilina No.</u>	
8	> 4000
2	1500
28	~ 3000
25	~ 1200
36	~ 4000
17	1500
25.	~ 2700
Carbenicilina	900
Dicicloxacilina	



5.

Las penicilinas según el procedimiento de la invención pueden ser administradas solas o formuladas en combinación con una sustancia de vehículo farmacéuticamente inofensiva según el modo operativo farmacéutico usual. Para la administración oral pueden ser dadas en forma de pastillas que pueden contener adicionalmente por ejemplo, almidón, lactosa, ciertos tipos de arcilla, etc., o en forma de cápsulas, gotas o granulados, solas o conjuntamente con los mismos aditivos o aditivos equivalentes. Además, pueden ser administradas en forma de jugos o suspensiones que para tales fines pueden contener los usuales agentes correctivos del sabor o colorantes.

10.

Además, las penicilinas según el procedimiento de

15.

la invención pueden ser administradas parenteralmente, por ejemplo por vía intramuscular, subcutánea o intravenosa, eventualmente como infusión de goteo continuo. En el caso de la administración parenteral, éste se hace de la mejor manera posible como solución esteril que puede contener todavía otros componentes, tales como cloruro de sodio o glucosa, para hacer isotónica la solución. Para preparar tales soluciones, estas penicilinas pueden emplearse convenientemente en forma de sustancias secas en ampollas. En el caso de la administración tanto oral, como también parenteral, es apropiada una dosificación de 25.000 a 1.000.000 unidades/kg del peso del cuerpo por día. Se la puede dar como administración individual o como infusión de goteo continuo o bien en forma repartida sobre varias dosis. Para un tratamiento local, puede prepararse y aplicarse las penicilinas según el procedimiento de la invención como ungüentos o polvos.

20.

25.

30.

Los siguientes ejemplos han de explicar la invención sin limitar la misma.



La α -aminobencilpenicilina empleada en los ejemplos, contenía aproximadamente 14 % de agua; sin embargo, del mismo buen modo puede aplicarse también α -aminobencilpenicilina anhidra (compárese Patente norteamericana No. 3.144.445).

5.

Salvo expresa indicación contraria, bajo "ampicilina" se entiende aquella α -aminobencilpenicilina con la configuración D(-)- = R en la cadena lateral.

10.

El contenido de β -lactama fué determinado yodometricamente. Todas las penicilinas aquí descritas muestran un espectro IR (infrarrojo) correspondiente a su constitución.

La toma de los espectros NMR (de resonancia magnética nuclear) fué efectuada en solución CD_3OD , las señales indicadas en los ejemplos concuerdan con la respectiva estructura; la posición de las señales está indicada en valores τ .

15.

En la calculación de los valores de análisis, se ha tomado en consideración el contenido de agua.

Los números indicados (unid./ml) con referencia a las eficacias contra determinadas bacterias, son concentraciones mínimas de inhibición en el ensayo de series de dilución en tubitos después de una incubación durante 24 horas.

20.

En la indicación: "Eficacia en el ensayo con animales", "A" que la respectiva penicilina administrada subcutáneamente a ratones es más eficaz contra *Proteus vulgaris* 1017 que la ampicilina, mientras que "B" significa que es más eficaz contra *Klebsiella aerobacter* 63 que ampicilina y carbenicilina.

25.

Ejemplo 1

Sal sódica de D- α -(3-acetil-3-metil-ureido)-bencilpenicilina.

30.

20 partes en peso de D- α -aminobencilpenicilina (ampicilina) se suspendieron en 150 partes en volúmen de te-



- trahidrofurano acuoso al 80 % y bajo agitación a 20°C se agregó gota a gota tanta trietilamina (aprox. 7,5 partes en volumen) que se formó justamente una solución clara y que el valor pH se encontró entre 7,5 y 8,2 (electrodo de vidrio). Ahora se enfrió hasta 0°C y se agregó gota a gota dentro de 30 minutos la solución de 6,0 partes en peso de cloruro de ácido N-acetil-N-metilcarbámico en 25 partes en volumen de tetrahidrofurano absoluto bajo enfriamiento con hielo, manteniéndose por adición simultánea de trietilamina el valor pH entre
5. 7,5 y 8,0. Se agitó durante 30 minutos a 0°C y subsiguientemente a la temperatura ambiente, hasta que dejó de ser necesaria la adición de trietilamina para el mantenimiento del valor pH de 7,5. Ahora se agregaron 150 partes en volumen de agua y con un poco de ácido sulfúrico diluido se ajustó el valor pH a 6,5, después de lo cual a la temperatura ambiente se eliminó ampliamente el tetrahidrofurano en el evaporador giratorio. Se agitó la solución acuosa obtenida una vez con éter, subsiguientemente se la cubrió con una capa de 400 partes en volumen de una mezcla de acetato etílico y éter (1:1) y en ella
10. se distribuyó, bajo agitación y enfriamiento con hielo, tal cantidad de ácido sulfúrico diluido que se ajustó un valor pH de 1 a 2. Se separó la fase orgánica, se lavó dos veces con agua (cada vez con 60 partes en volumen), se secó a 0°C durante una hora sobre $MgSO_4$ y, después de la filtración, se mezcló
15. la solución de la penicilina con aproximadamente 50 ml de una solución 1-molar de 2-etil-hexanoato de sodio en éter conteniendo metanol. Se dejó la mezcla en reposo durante unas horas a 0°C, subsiguientemente se eliminó el disolvente por decantación, se frotó el residuo con éter y se lo recogió por
20. succión. Después del secamiento sobre P_2O_3 en el secadero de
- 25.
- 30.



vacío, se obtuvo la sal sódica de la penicilina en forma de una sustancia sólida no cristalina.

Rendimiento: 100 %

Contenido de β -lactama: 86 %

5. calculado: C 49,2 H 5,1 N 11,5 S 6,5

encontrado: C 49,2 H (7,0) N 10,4 S 6,5

Señales de NMR a $\tau = 2,6(5 \text{ H}), 4,45(1 \text{ H}), 4,55(2 \text{ H}), 5,8(1 \text{ H}), 6,75(3 \text{ H}), 7,7(3 \text{ H})$ y $8,5 \text{ ppm} (6 \text{ H})$.

Eficacia contra E. coli 14: 3,12 unid./ml

10. Eficacia contra Pseudomonas Aerug. Bonn: 6,25 unid./ml

Eficacia contra Klebsiella K 10: 50 unid./ml

Eficacia en el ensayo con animales: A y B.

Ejemplo 2

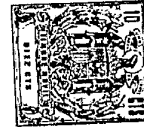
15. Sal sódica cristalizada de D- α -(3-acetil-3-metilureido)-bencilpenicilina

En la forma de preparación de la sal sódica de la D- α -(3-acetil-3-metilureido)-bencilpenicilina según el Ejemplo 1, se obtiene un producto amorfo, según demuestra una radiografía de difracción. Si se disuelve esta sustancia (3,8 partes en peso) en etanol (15 partes en volúmen) a la temperatura ambiente (tiempo del proceso de disolución aproximadamente 15 a 20 minutos), si subsiguientemente se agrega éster etílico de ácido acético (60 partes en volúmen) y si se deja la solución clara incolora en reposo a la temperatura ambiente, entonces si gérmenes de cristales aún no están presentes, comienzan a separarse al cabo de 1 a 2 horas cristales finos semejantes a pelos (mechones de agujas) que pueden verse como tales a simple vista. Al cabo de unas horas se los recogen por succión, se los lavan con éster etílico de ácido acético y se los secan bien sobre P_4O_{10} o NaOH en el secadero de vacío. Rendi-

20.

25.

30.



miento: 3,0 partes en peso. Contenido de β -lactama: 92 %.
P.f.: aproximadamente 212°C (corregido, descomposición) (banco calentador de Kofler.)

Señales de NMR a $\tau = 2,5(5 \text{ H}), 4,4(1 \text{ H}), 4,55(2 \text{ H}), 5,8(1 \text{ H}),$
5. $6,7(3 \text{ H}), 7,7(3 \text{ H})$ y 8,5 ppm (6 H).

calculado (contenido de 19 % de H_2O tomado en consideración)

C 50,1 H 5,0 N 11,7 S 6,7

encontrado: C 50,1 H 5,8 N 10,8 S 7,0.

Los espectros IR de las sales de penicilina amorfa
10. y cristalina están representados en las Figuras 1 y 2.

Sin embargo, puede suspenderse también la sal de penicilina amorfa en éster etílico de ácido acético y se le puede agregar entonces bajo agitación aproximadamente un 20 % de etanol. También entonces se forma una solución clara de la cual se precipita la sal de penicilina cristalina.
15.

Además, pueden emplearse también otras mezclas de disolventes, por ejemplo, etanol/dioxano. Si se disuelve la sal amorfa en acetona o en isopropanol caliente (aprox. 50°C) y se la deja en reposo, también se precipita la sal en estado cristalino.
20.

Las sustancias se pueden emplear principalmente en forma parenteral no pudiendo sin embargo excluir totalmente que algún día se puedan encontrar preparados que permitan una aplicación oral. Con respecto a los preparados parenterales, se pueden emplear
25.

1) Ampollas inyectables de 0,5 g, ó bien 1,0 g, ó bien 2,0 g de sustancia. Se prepara preferentemente una solución al 10 %: Se disuelven 0,5 g en 5 cc, 1,0 g en 10 cc y 2,0 g en 20 cc de agua para fines inyectables.

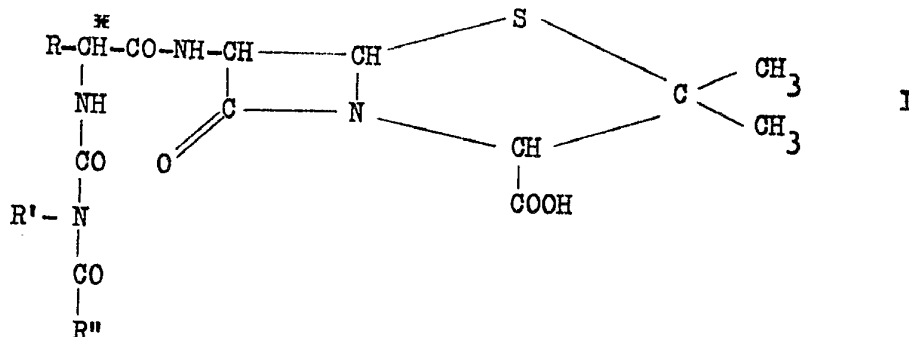
30. 2) Ampollas de infusión de 5,0 g ó bien 10,0 g. La infusión



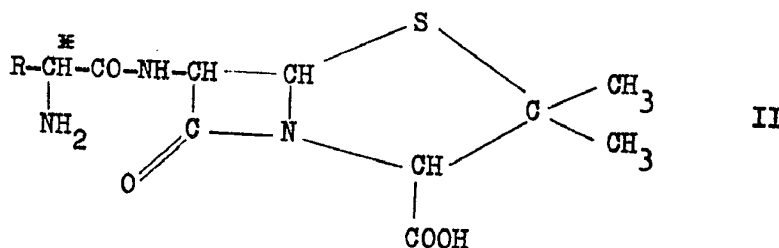
- intravenosa se efectúa preferentemente en soluciones al 10 %, o bien al 20 %.
- Los preparados pueden llevar incluidos, si es necesario, las soluciones de infusión usuales, tales como solución de NaCl fisiológica, solución de "Ringer" o peristona. También es posible su empleo en solución de glucosa, fructosa o lactato de sodio m/6.
5. 3) La aplicación intramuscular es posible en solución preferentemente al 30 %.
10. NOTA
=====
- 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 cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a dos solicitudes de patente presentadas en Alemania con los nos. y fechas: P 20 25 414.2 de 25 de mayo de 1970 y P 21 04 580.7 de 1 de febrero de 1971, acogándose 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 LA OBTENCION DE UNA COMPOSICION ANTIBACTERIANA; caracterizándose por lo siguiente:
- 15.
- 20.
25. 1.- Procedimiento para la obtención de una composición antibacteriana, caracterizado porque en una primera etapa se prepara una penicilina de fórmula general I:

ME

403124



5. en la que R representa fenilo y R' y R'' representan metilo, y cuyos compuestos, en cuanto al centro de quiralidad C^X, pueden presentarse en las dos posibles configuraciones R y S y como mezclas de los diastereómeros de ellas resultantes, así como las sales atóxicas farmacéuticamente tolerables de estos compuestos, haciendo reaccionar un compuesto de fórmula general II:

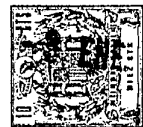


10. en la que R se define como anteriormente, con un compuesto de fórmula general:



15. en la que R' y R'' se definen como anteriormente y W representa halógeno o azido, efectuándose la reacción en disolventes anhidros o acuosos, en presencia de una base; y en una segunda etapa se mezcla la penicilina resultante con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

M/E



2.- Procedimiento para la obtención de una composición antibacteriana, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 25 hojas escritas a máquina por una sola cara.

5.

Madrid, - 3 ENE. 1973

FARBENFABRIKEN BAYER AKTIENGESELLSCHAFT.

L. GOMEZ ACEBO Y MUDEZ
p. p. Firmador La Caixa Ferrol