



ESPAÑA

ES	(11) NUMERO	A1
	(21)	
	(22) FECHA DE PRESENTACION	

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES. (31) NUMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
45480/74	21 de octubre de 1.974	INGLATERRA
(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(63) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07M/11.01	441.922
(64) TITULO DE LA INVENCION		
PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DEL ACIDO PENICILANICO		
(71) SOLICITANTE (S)		
GIST-BROCADES N.V., entidad holandesa		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Wateringseweg 1, DELFT, HOLANDA		
(72) INVENTOR (ES)		
Cornelis Adrianus Btuynes; Johannes Karel van der Drift		
(73) TITULAR (ES)		
(74) REPRESENTANTE		
GOMEZ-ACEBO		

PATENTE DE INVENCION
=====

Ref: SPA/2035/JAS/Ce.-B

444212

Memoria Descriptiva

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DEL
ACIDO PENICILANICO.

=====

Solicitante: GIST-BROCADES N.V., entidad holandesa, residente
en Waterringseweg 1, DELFT, Holanda.

=====

Esta invención se relaciona con un proce-
dimiento para preparar nuevos derivados de ácido pe-
nicilánico terapéuticamente útiles

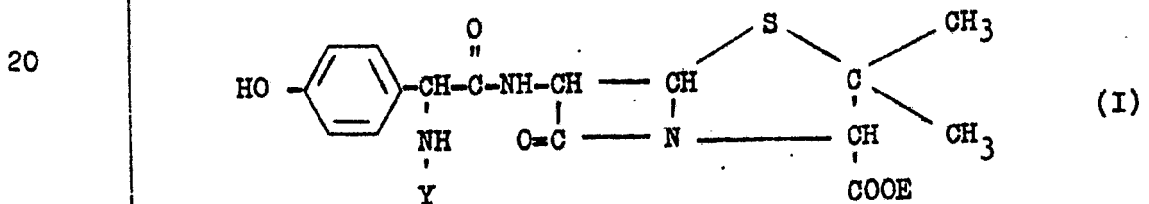
Ciertas penicilinas semisintéticas han si-
do desarrolladas y vendidas a gran escala durante las

5.

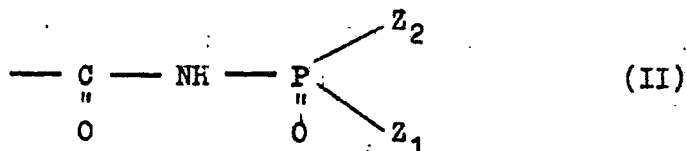
5 dos últimas décadas, por ejemplo ampicilina, amoxicilina, sulbenicilina, carbenicilina, dicloxacilina y naftilina. Si bien estas penicilinas semisintéticas han aparecido como eficaces a la hora de combatir un gran número de enfermedades infecciosas causadas por diversos microorganismos, aún existe la necesidad de otros antibióticos que actúen eficazmente contra ciertos microorganismos específicos, tales como de las especies *Pseudomonas* y *Proteus*.

10 Un objeto de la invención consiste en proporcionar nuevos derivados de amoxicilina, es decir ácido 6- α -amino-(p-hidroxi-bencilcarbonamido)penicilánico, que tiene interesantes actividades contra microorganismos de, por ejemplo, las especies *Pseudomonas* y/o *Proteus*, además de las buenas actividades ya conocidas de la amoxicilina.

15 Los nuevos derivados de ácido penicilánico proporcionados por la presente invención, son aquellos compuestos de fórmula general:

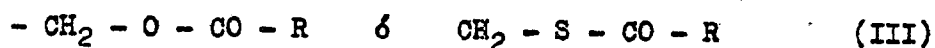


25 en la que E representa un átomo de hidrógeno, un catión formador de sal, o un residuo formador de éster que ya se sabe mejora las características de absorción de los compuestos penicilánicos después de la administración oral a personas o animales, e Y representa un grupo de fórmula:



5 en la que Z₁ y Z₂, iguales o diferentes, representan un grupo
alcoxi inferior, un grupo fenoxi opcionalmente sustituido, un
grupo bencilo o benciloxi opcionalmente sustituido, un grupo
alquilo inferior opcionalmente sustituido, un grupo fenilo
opcionalmente sustituido, un grupo hidroxí o un grupo -OM, en
10 donde M representa un catión formador de sales. Los sustitu-
yentes que pueden estar presentes opcionalmente en un núcleo
fenilo de los grupos dentro de la definición del símbolo Y,
se pueden elegir entre átomos de halógeno y grupos nitro, cya-
no, alquilo inferior y alcoxi inferior. El término "inferior"
15 tal y como aquí se aplica a los grupos alcoxi y alquilo, sig-
nifica que el grupo en cuestión contiene como máximo 6 átomos
de carbono.

Los grupos éster, dentro de la definición del símbo-
lo E, que pueden mejorar las características de absorción fí-
sicas de los compuestos de fórmula I, se pueden elegir, por
20 ejemplo, entre los grupos de fórmula:



25 en donde R representa un radical alquilo de cadena recta o ra-
mificada de 1 a 4 átomos de carbono, opcionalmente sustituido
por uno o más sustituyentes elegidos entre alcoxi inferior,
alquiltio inferior y haloalquilo inferior.

Los cationes formadores de sales, dentro de las de-
finiciones de los símbolos E y M, son aquellos que forman sa-
30 les farmacéuticamente aceptables, no tóxicas, de los compues-

tos de fórmula general I, tales como sales de sodio, potasio, amonio o calcio y sales de aminas, por ejemplo trialquilamina inferior, procaina o bencilamina. Dentro del alcance de la invención se encuentran los hidratos de sales de los compuestos de fórmula general I.

5

Ejemplos de grupos dentro del alcance de la fórmula II son:

di(inferior)alcoxifosfinilaminocarbonilo,
difenoxifosfinilaminocarbonilo,
10 difenilfosfinilaminocarbonilo,
di(inferior)alquifosfinilaminocarbonilo,
hidroxi-benzil-fosfinilaminocarbonilo,
hidroxi-(inferior)alcoxi-fosfinilaminocarbonilo,
hidroxi-fenil-fosfinilaminocarbonilo,
15 hidroxi-(inferior)alquil-fosfinilaminocarbonilo,
(inferior)alcoxi-benziloxi-fosfinilaminocarbonilo,
fenil-benzil-oxifosfinilaminocarbonilo,
inferior alquil-benziloxi-fosfinilaminocarbonilo,
dibenziloxi-fosfinilaminocarbonilo,
20 dihidroxi-fosfinilaminocarbonilo,
(inferior)alcoxi-benzil-fosfinilaminocarbonilo, e
(inferior)alcoxi-fenil-fosfinilaminocarbonilo.

20

Compuestos típicos de la invención son:

25 ácido D-6- $\{\alpha\text{-}\int\text{-}\}$ 3-(benziloxi(etil)fosfinilo)ureido $\int\text{-p}$ -hidroxi-benzilcarbonamido } penicilánico,
ácido D-6- $\{\alpha\text{-}\int\text{-}\}$ 3-(benziloxi(etoxi)fosfinilo)ureido $\int\text{-p}$ -hidroxi-benzilcarbonamido }-penicilánico,
ácido D-6- $\{\alpha\text{-}\int\text{-}\}$ 3-(dibenziloxifosfinililo)ureido $\int\text{-p}$ -hidroxi-benzilcarbonamido }-penicilánico,
30 ácido D-6- $\{\alpha\text{-}\int\text{-}\}$ 3-(hidroxi(etil)fosfinilo)ureido $\int\text{-p}$ -hidroxi-

30

- benzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(etoxi)fosfinilo)ureido]-p-hidroxi
benzilcarbonamido } -penicilánico,
5 ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(benziloxi)fosfinilo)ureido]-p-hi-
droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-benziloxi(metoxi)fosfinilo)ureido]-p-hidro
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-hidroxi(metoxi)fosfinilo)-ureido]-p-hidro-
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
10 ácido D-6- { α -[3-(dihidroxifosfinilo)ureido]-p-hidroxiben-
zilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(metil)fosfinilo)ureido]-p-hidro
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(1-propil)fosfinilo)ureido]-p-hi
15 droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(t-butil)fosfinilo)ureido]-p-hi-
droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(t-butoxi)fosfinilo)ureido]-p-hi-
droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
20 ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(metilo)fosfinilo)ureido]-p-hidro-
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-hidroxi(1-propil)fosfinilo)ureido]-p-hidro-
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(t-butoxi)fosfinilo)ureido]-p-hi-
25 droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(t-butil)fosfinilo)ureido]-p-hidro-
xibenzilcarbonamido } -penicilánico,
ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(fenoxi)fosfinilo)ureido]-p-hi-
droxibenzilcarbonamido } -penicilánico,
30 ácido D-6- { α -[3-(benziloxi(isopropoxi)fosfinilo)ureido]-p-

-hidroxibenzilcarbonamido }-penicilánico,

ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(fenoxi)fosfinilo)ureido]-p-hidro-
xibenzilcarbonamido }-penicilánico,

5

ácido D-6- { α -[3-(difenoxi-fosfinilo)ureido]-p-hidroxibenzil-
carbonamido }-penicilánico,

ácido D-6- { α -[3-(dietoxifosfinilo)ureido]-p-hidroxibenzil-
carbonamido }-penicilánico,

ácido D-6- { α -[3-(hidroxi(1-propoxi)fosfinilo)ureido]-p-hi-
droxibenzilcarbonamido }-penicilánico,

10

y sus sales de sodio, potasio o aminio(sales monó, di y tri-
valentes) y ésteres farmacéuticamente aceptables que tienen
grupos éster que conforman con la fórmula III, siendo repre-
sentativos preferidos los compuestos de fórmula I en donde

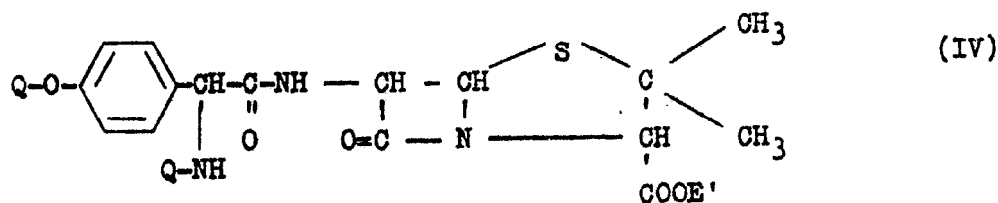
15

Z₁ y/o Z₂ representa un grupo hidroxil o un grupo -OM. Espe-
cialmente, los compuestos en donde Z₁ representa un grupo hi-
droxil o un grupo OM y Z₂ representa un grupo metoxil o etoxil,
han demostrado unas actividades antimicrobiales interesantes.
Como es usual, la modificación D de estos compuestos muestra
las actividades antimicrobiales mas interesantes.

20

El procedimiento de la invención para preparar los
compuestos de fórmula general I, comprende hacer reaccionar
un compuesto de fórmula general:

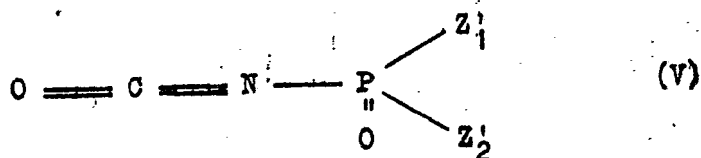
25



30

en la que Q representa un átomo de hidrógeno o un átomo de sil-
icio o fósforo que porta sustituyentes elegidos entre grupos

alquilo inferior, alquilo inferior halo-sustituido, arilo, aralquilo, alcoxi inferior, alcoxi halo-sustituido, alquiltio inferior, aralcoxi, dialquilamino inferior, alcoxi-alquil inferior, y alquilendioxi y átomos de halógeno (preferiblemente un grupo tri-alquilsililo inferior, por ejemplo trimetilxililo y E' representa un grupo protector del radical carboxi, preferiblemente un grupo que, si se desea, puede separarse fácilmente después de la reacción, por ejemplo mediante hidrólisis, hidrogenación o una reacción de sustitución empleando un reactivo básico o nucleofílico, y que no interfiere con la reacción o un residuo éster mejorador de la absorción farmacéuticamente aceptable, con un compuesto de fórmula:

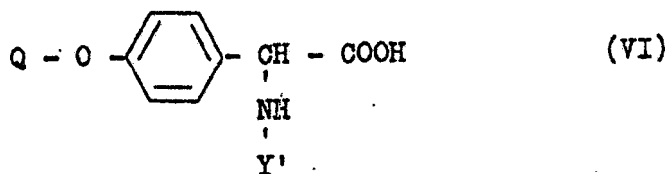


en la que Z'₁ y Z'₂ se definen como anteriormente o representan grupos que pueden convertirse fácilmente en un grupo dentro de la definición Z₁ y Z₂, en un disolvente orgánico, a temperaturas del orden de -30° a +30°C, preferiblemente entre -5 y +5° y preferiblemente bajo condiciones anhidras, seguido opcionalmente por la separación del compuesto así obtenido del grupo protector E' y del grupo o grupos Q que contienen silicio o fósforo.

Los materiales de partida de fórmula general IV se pueden preparar por aplicación de métodos conocidos. Por ejemplo, el compuesto en donde los símbolos Q representan átomos de hidrógeno y E' representa hidrógeno, es decir amoxicilina, se pueden preparar por el método descrito en las patentes británicas números 873.049; 959.853; 978.179; 1.339.605 y

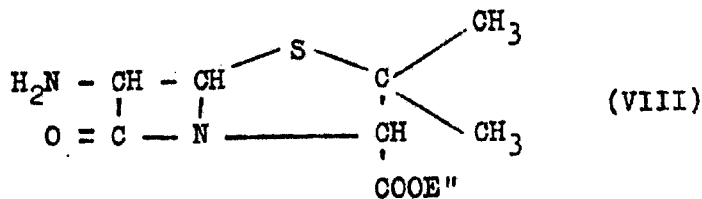
1.347.979; patentes belgas Números 676.594; 790.466; 737.848 y 751.106; patente holandesa número 7.215.359; patentes sudafricanas números 64/695; 66/1304; 67/5627 y 72/05231 o OLS Alemana número 2240422. Los derivados sililicos y ésteres de emoxicilina que conforman con la fórmula IV, se pueden preparar a partir de los mismos mediante procedimientos conocidos.

Otro método para la preparación de compuestos de fórmula general I comprende hacer reaccionar derivados de ácido acético de fórmula general VI:



en la que Q se define como anteriormente y en donde Y' tiene el mismo significado que Y o representa un grupo que se puede convertir fácilmente en un grupo dentro de la definición de Y (que puede ser atacado o influenciado bajo las condiciones de reacción) después de la reacción, con ácido 6-aminopenicilánico o un derivado del mismo, en presencia de una carbodiimida (por ejemplo dicitclohexilcarbodiimida, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida opcionalmente mezclada con 1-hidroxibenzotriazol y 1-ciclohexil-3-{2-(N-metilmorfolino)etil}carbodiimida) como agente de condensación.

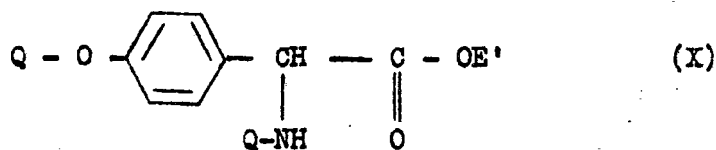
Derivados de ácido 6-aminopenicilánico que pueden utilizarse convenientemente, son aquellos que tienen la fórmula general:



5 en la que E" representa un residuo formador de sales, un grupo protector que puede separarse fácilmente después de la reacción y que no interfiere con la misma o un residuo éster, farmacéuticamente aceptable, mejorador de la absorción. Ejemplos de residuos protectores fácilmente separables, representados por los símbolos E' y E" en las fórmulas anteriores, son un grupo bencilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, p-nitrobencilo, p-metoxibencilo), benzhidrilo, 10 fenacilo (por ejemplo fenacilo p-halo-sustituido), 2,2,2-tri cloroetilo, tritilo, t-butilo, isobornilo, o un átomo de silicio o fósforo, portando sustituyentes elegidos entre grupos alquilo inferior, alquilo inferior halo-sustituido, arilo, aralquilo, alcoxi inferior, alcoxi halo-sustituido, alquiltio inferior, aralcoxi, dialquilamino inferior, alcoxial 15 quilo inferior y alquillendioxi y átomos de halógeno.

El material de partida requerido, ácido D(-)-2-amino-2-(p-hidroxi-fenil)acético, para la preparación de los ácidos de partida de fórmula VI, o derivados activos de los mismos, son ya conocidos, por ejemplo por la Offenlegenschrift alemana nº 2.355.785 y patente holandesa nº 7.311.012. 20

Los ácidos de fórmula VI son compuestos nuevos y como tales constituyen una característica de la invención. Los mismos se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula: 25



30 en la que Q y E' se definen como anteriormente, con un compuesto de fórmula V, en un disolvente orgánico inerte, a tem

peraturas del orden de -30 a $+30^{\circ}\text{C}$ (preferiblemente entre -5 y $+5^{\circ}\text{C}$) y preferiblemente bajo condiciones anhidras, seguido por la separación del grupo protector E' y de cualquier otro grupo protector, si se desea. Preferiblemente, el ácido obtenido de fórmula VI se puede convertir directamente, in situ, en un compuesto de fórmula I añadiendo a la solución de reacción obtenida un reactante adecuado, como anteriormente se ha indicado.

Los compuestos de partida de fórmula V se pueden preparar por métodos conocidos per se, como se describe, por ejemplo, en G.I. Derkatsch, *Angew. Chem.* 81, no. 11, 407-436 (1969); L.I. Samarai et al., *Zh. Obshch. Khim.*, 39, 1511 (1969), G.I. Derkach et al., *Zh. Obshch. Khim.*, 38, no. 8, p 1784-1788 (1968), E.S. Gubnitskaya et al., *Zh. Obshch. Khim.*, 40, 1205-1210 (1970), L.I. Samaria et al., *Zh. Obshch. Khim.* 39, no.8, 1712-1715 (1969), A.V. Narbut et al., *Zh. Obshch. Khim.*, 38, no. 6., p 1321-1324 (1968) y G. Tomaschewski et al., *Arch. Pharm.* 301, p 520, (1968).

Los compuestos de fórmula general I se emplean preferiblemente para fines terapéuticos en forma de una sal no tóxica, tal como la sal sódica, potásica, amónica o cálcica. Otras sales que pueden ser utilizadas incluyen las sales no tóxicas adecuadamente cristalizantes con bases orgánicas tales como aminas, por ejemplo trialquilaminas, procaina y dibencilamina.

En el tratamiento de infecciones bacteriales, los compuestos antibacteriales de esta invención se pueden administrar localmente, oralmente y parenteralmente, según los procedimientos convencionales para la administración de antibióticos. Se administran en unidades de dosificación que con

5 tienen una cantidad eficaz del ingrediente activo en combinación con vehículos o excipiente fisiológicamente aceptables y adecuados. Las unidades de dosificación pueden tener la forma de preparados líquidos, tales como soluciones, suspensiones, dispersiones o emulsiones o pueden tener formas sólidas tales como polvos, tabletas y cápsulas.

10 En consecuencia, la invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula general (I) en asociación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable, adecuado. Dichas composiciones farmacéuticas pueden incluir también uno o más ingredientes terapéuticos además de un compuesto de la invención. El término "cantidad eficaz" tal como
15 aquí se utiliza con respecto a los compuestos descritos, representa una cantidad que es suficiente para destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos susceptibles, cuando se administra del modo usual, en otras palabras una cantidad que resulta suficiente para controlar el crecimiento de bacterias. La magnitud de una cantidad eficaz puede determinarse
20 fácilmente por los expertos en la técnica a través de procedimientos convencionales para la determinación de la actividad relativa de agentes antibacteriales cuando se utiliza contra organismos susceptibles por medio de las diversas vías disponibles de administración.

25 Vehículos y excipientes adecuados pueden ser cualquiera de los ingredientes fisiológicamente aceptables, convenientes, que pueden servir para facilitar la administración del compuesto terapéuticamente activo. Los vehículos pueden proporcionar cierta función auxiliar, tal como la de
30 un diluyente, agente enmascarante del sabor, agente agluti-

nante, agente de acción retardada o estabilizador. Ejemplos de vehículos incluyen agua, que puede contener gelatina, aca-
cia, alginato, dextran, polivinilpirrolidona o carboximetil
celulosa sódica, etanol acuoso, jarabe, salina isotónica, glu-
cosa isotónica, almidón, lactosa o cualquier otro material
5 utilizado normalmente en la industria farmacéutica y veterina-
ria.

Otro aspecto de la invención incluye un método para
inhibir el crecimiento de bacterias aplicando al habitat de
10 la bacteria una cantidad eficaz de los compuestos antibacteria-
les aquí descritos. Por ejemplo, el método se puede aplicar
al tratamiento de infecciones bacteriales en animales por ad-
ministración al anfitrión de una cantidad eficaz de un com-
puesto antibacterial de la invención.

15 Los nuevos derivados de ácido penicilánico según la
fórmula I, se pueden usar también como promotores del creci-
miento para animales rumiantes.

También resultan útiles en las aplicaciones in vi-
tro, tales como en líquidos para fines desinfectantes, en una
20 concentración de 0,1 a 1 % en peso, disuelto o suspendido en
un vehículo inerte adecuado, para su aplicación por lavado o
pulverización.

Ciertos miembros típicos que pertenecen a la clase
de compuestos según la invención, fueron ensayados con respec-
25 to a su actividad antibiótica in vitro por medio de un ensayo
de dilución en serie con agar, realizado del siguiente modo:

Una solución en stock del antibiótico a 2000 $\mu\text{g./}$
ml., se prepara en un vehículo adecuado esteril. Se efectúan
diluciones al doble con tampón fosfato esteril 1/20 molar pH
30 6,5 ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$). Se incorporan cantidades de 1 ml de cada

dilución en 19 ml de agar de infusión de corazón-cerebro en cuencos Petri estériles. La superficie endurecida se inocula con los organismos del ensayo y se procede al incubado durante 24 horas a 37°C. La concentración inhibitoria mínima (MIC), es decir la concentración mínima de antibiótico que inhibe completamente el crecimiento del organismo del ensayo, se expresa en $\mu\text{g./ml.}$

En ciertos casos, los valores MIC se determinaron según un ensayo de dilución en micro serie realizado como sigue:

2 gotas de una solución de stock del antibiótico a tratar, en una concentración conocida, se ponen en el primer agujero de una placa de ensayo que tiene 9 agujeros numerados por medio de una pipeta Pasteur esteril. Después del enjuagado de la pipeta tres veces con una solución fisiológica de cloruro sódico, se colocan dos gotas de una solución de stock del organismo de ensayo en un medio de cultivo en todos los agujeros, a excepción del número 8. En el primer agujero, la solución del compuesto del ensayo ha sido diluida a la mitad; a continuación, después de agitar el líquido del primer agujero y añadir dos gotas de esta mezcla al segundo agujero y así sucesivamente hasta el número 8, se obtienen diluciones de la solución del compuesto del ensayo en progresión geométrica. El agujero 9 no contiene antibiótico y sirve para comprobar el crecimiento del organismo del ensayo en un medio testigo. La placa de ensayo se incuba a 30°C ó 37°C durante 18 horas aproximadamente.

Los valores MIC, determinados según este último método de ensayo, han sido colocados entre paréntesis en la siguiente tabla. Los valores MIC de los compuestos, preparados

según los ejemplos 4, 5 y 7, siguientes, fueron determinados.

Cepa	Valores MIC en µg/ml.						
	Compuesto del ejemplo						
	5A	7	4	5B	Ampicilina	Carbenicilina	
5 10 15	<u>Bacteria</u>						
	<u>Gram. pos.</u>						
	<u>Streptococcus haemolyticus</u> A 1088	0,4	0,75	0,75	1,5'	0,75	0,1
	<u>Streptococcus faecalis</u> L 80	6	12,5	50	6	0,8	25
	<u>Diplococcus pneumoniae</u> L 54	0,75	(12)	25	6	0,05	0,75
<u>Sarcina lutea</u> ATCC 9341	0,5	(0,25)	1,5	(0,06)			
20	<u>Gram. neg.</u>						
	<u>Haemophilus suis</u> A 2096	0,45 (1,2)	(0,9)	(0,3)	(1,2)	0,15	0,8 (0,2)
	<u>Brucella suis</u> A 2126	0,4	(0,9)	1,5	(1,2)	0,15	3
25 30	<u>Pasteurella multocida</u> A 723	0,8	12,5	1,5	3	0,4	0,2
	<u>Klebsiella pneumoniae</u> A 809	100	>100	100	100	25	>100
	<u>Salmonella dublin</u> P 43	3	6	1,5	6		
	<u>Salmonella typhimurium</u> R 172	3	25	25	6	3	6
	<u>Escherichia coli</u> U 20	3	25	6	12,5		

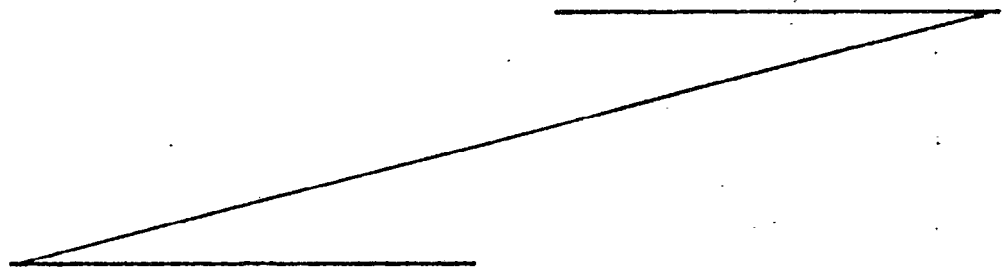
TABLA (Continuación)

Cepa	Valores MIC en $\mu\text{g/ml}$.					
	Compuesto del ejemplo					
	5A	7	4	5B	Ampicilina	Carbenicilina
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> H 10	50	50	50	25	>100	50
2396	3	12,5	6	12,5	50	50
A 1058	3(6)	3(3,7)	3(15)	3(4)	50	37
<u>Proteus rettgeri</u> A 821	0,06	0,5	0,25	0,25	3	0,3
<u>Proteus mirabilis</u> H 3	0,5	1,5	0,5	1,5	3	0,8
L 93	0,12	1,5	0,5	0,5	3	0,5
A 1200	0,75 (0,3)	3(1,2)	1,5(0,45)	0,75 (0,45)	3	0,4
<u>Proteus morgani</u> 2241	50	50	>100	50		

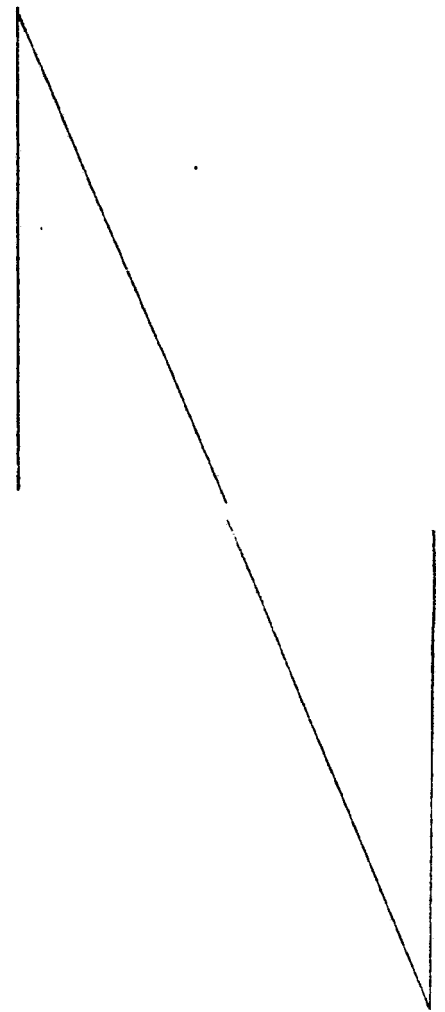
() ensayo de dilución en microserie.

Ciertos miembros típicos pertenecientes a la clase de compuestos de la presente invención, mostraron, en experimentos iniciales in vivo, los siguientes resultados:

A. Nivel del suero y secreción en orina de compuestos ensayados y carbenicilina en conejos:



		(Dosis 10 mg/kg. i.m., resp. oral)											
Hr	Nivel de suero en μ /ml después de hr	Ejemplo 7		Ejemplo 5B		Ejemplo 4		Ejemplo 5A		CARBENICILINA			
		i.m.	or	i.m.	or	i.m.	or	i.m.	or	i.m.	or		
1/4	81,3	<0,25		25,3	0,3	27,7	<2,5	23,4	0,54	14,0	<0,25		
1/2	68,0	<0,25		18,3	0,3	20,4	<2,5	19,7	0,64	6,1	<0,25		
1	38,3	<0,25		10,3	0,3	9,2	<2,5	13,0	0,64	2,1	<0,25		
2	9,6	<0,25		3,3	<0,2	<2,5	<2,5	4,7	<0,54	<0,25	<0,25		
4	0,43	<0,25		-	<<0,05	<2,5	<2,5	0,6	<0,5	<0,25	<0,25		
6	333	3,3		102	13,4	63,5	27,0	45,8	<0,62	76,5	<1,4		
24	346	5,9		110	20,8	80,9	<29,9	<63,0	<1,22	77,9	<2,6		



	Hr	(Dosis 10 mg/kg. i.m., resp						Eje i.m.
		Ejemplo 7		Ejemplo 5B		Ejemplo 4		
		i.m.	or	i.m.	or	i.m.	or	
Nivel de suero en γ/ml después de hr	1/4	81,3	<0,25	25,3	0,3	27,7	<2,5	23,4
	1/2	68,0	<0,25	18,3	0,3	20,4	<2,5	19,5
	1	38,3	<0,25	10,3	0,3	9,2	<2,5	13,0
	2	9,6	<0,25	3,3	<0,2	<2,5	<2,5	4,5
	4	0,43	<0,25	-	«0,05	<2,5	<2,5	0,6
% del com- puesto se- cretado en orina	6	333	3,3	102	13,4	63,5	27,0	45,8
	24	346	5,9	110	20,8	80,9	<29,9	<63,0

i.m., resp. oral)				
lo 4 or	Ejemplo 5A		CARBENICILINA	
	i.m.	or	i.m.	or
<2,5	23,4	0,54	14,0	<0,25
<2,5	19,7	0,64	6,1	<0,25
<2,5	13,0	0,64	2,1	<0,25
<2,5	4,7	<0,54	<0,25	<0,25
<2,5	0,6	<0,5	<0,25	<0,25
27,0	45,8	<0,62	76,5	<1,4
<29,9	<63,0	<1,22	77,9	<2,6

El ensayo ABA indicado en las siguientes tablas, se efectúa con grupos de 6 ratones hembra Swiss SPF de 20 g aproximadamente.

5 Después de la administración intraperitoneal y oral del compuesto del ensayo, en una dosis de 100 mg/kg en solución salunafisiológica, se toman muestras de sangre y orina.

10 El contenido del compuesto antimicrobial administrado, en estas muestras, se determina cualitativamente según el método de ensayo de Vincent, midiendo los diámetros de zonas de inhibición alrededor de discos de papel de 7 mm de diámetro, que están impregnados con la muestra y colocados en un medio de cultivo de agar en un plato Petri, en donde se cultiva el microorganismo deseado. Se indican los valores medios de dos o tres experimentos independientes.

15 Para una determinación cuantitativa del contenido del compuesto del ensayo en muestras de sangre, se miden los diámetros de las zonas de inhibición alrededor de los discos de papel, impregnados con la muestra y con muestras de una serie de soluciones standard del compuesto a ensayar en suero, determinándose el contenido desconocido por medio de una línea standard.

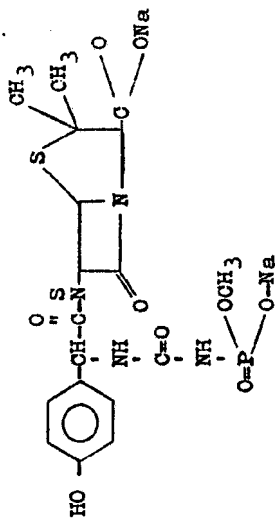
20

Los ensayos de protección, indicados en las siguientes tablas, se efectúan con grupos de 10 ratones hembra, Swiss SPT.

25 Los ratones de cada grupo se infectan intraperitonealmente con un microorganismo seleccionado. Se administra una solución del compuesto antimicrobial del modo indicado y cinco veces por día. La duración del tratamiento es de 7 días. Según el probit-análisis, se determinan los valores ED₅₀ y la relación de potencia con respecto a los compuestos de referencia indicados.

30

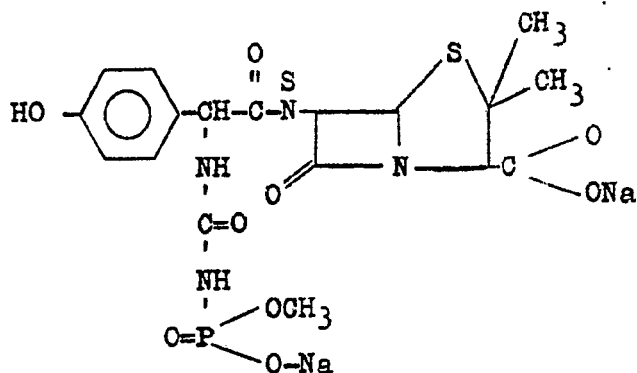
B.



Actividad quimioterapéutica

Actividad antibac- terial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplíc. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC %ml	Ensayo de protección en ratones		Relación de potencia administración			
				infección i.p.	Compues to de referen cia	i.p.	s.c.	oral	MIC %ml
Staphylococcus aur.	i.p. or.			Staphyl. aur. A 321					3
Staphylococcus aur.	i.p. or.	32 26	12,5 (15)	Staphyl. aur. A 2001					
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	12 7	100 (60)	Staphyl. aur. A 355					
Escherichia coli U 20	i.p. or.	22 10	12,5	Escher. coli					
Klebsiella pneum. A 809	i.p. or.	7 7	100	Klebs. pneum.					
Salmon. typhimur. R 172	i.p. or.	25 16	6	S. typhimur R 172					
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			Proteus mirab. A 1200	Carb.		5,4		0,75 (0,45)

B.



Actividad quemoterapéutica

Actividad antibac- terial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	Ensayo de protecci ón en rat	
				infección i.p.	Compues- to de referen- cia
Staphylococcus aur.	i.p. or.			Staphyl. aur. A 321	
Staphylococcus aur.	i.p. or.	32 26	12,5 (15)	Staphyl. aur. A 2001	
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	12 7	100 (60)	Staphyl. aur. A 355	
Escherichia coli U 20	i.p. or.	22 10	12,5	Escher. coli	
Klebsiella pneum. A 809	i.p. or.	7 7	100	Klebs. pneum.	
Salmon. typhimur. R 172	i.p. or.	25 15	6	S. typhimur R 172	
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			Proteus mirab. A 1200	Carb.

a

rotección en ratones						
i.p.	Compuesto de referencia	Relación de potencia administración				MIC γ/ml
		i.p.	s.c.	oral		
ur.					3	
ur.						
ur.						
li						
um.						
r						
rab.	Carb.		5,4		0,75 (0,45)	

Continuación B.

Actividad quimioterapéutica

Actividad antibagterial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplio. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ /ml	Ensayo de infección i.p.		protección en ratones		
				Prot. mirab. H 3	Prot. mirab. L 93	Compueg to de referencia	Relación de potencia administración	MIC μ /ml
Prot. mirabil. H 3	i.p. or.	28 14	1,5	Prot. mirab.			i.p. s.c. oral	
Prot. mirabil. L 93	i.p. or.	32 17	0,5	Prot. mirab.				
Prot. rettgeri A 821	i.p. or.	26 16	0,25	Prot. rettgeri A 821	Carb. Ampl.	4,8 0,91		
Prot. morganii 2241	i.p. or.	7 7	50	Prot. morganii 2241				
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 7	3 (4)	Pseud. aerug. A 1058	Carb.	0,93	1,67	
Nivel de sangre en ratones	Organismo de ensayo Sarc. lut. ATCC 9341) dosis 100 mg/kg apl.			Determinación de orina en conejos de administración				
Nivel de sangre máximo μ /ml	i.p. or.	23 1,6		nivel suero max. (i.m. = $\frac{1}{4}$ hr / ora	μ /ml	25,3	0,3	
Zona de inhibición max. en mm	i.p. or.	27 14		% de la dosis administrada después de 24 horas		110	20,8	
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	1 $\frac{1}{2}$ hr $\frac{1}{4}$ hr						

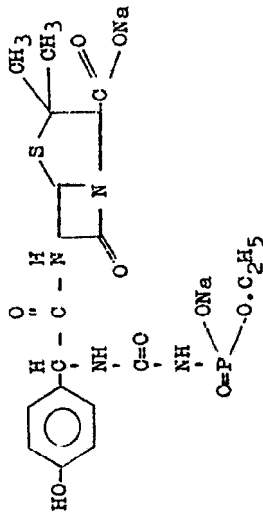
Continuación B.

Actividad quemoterapéutica

Actividad antibag terial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	AEA	MIC g/ml	Ensayo de	
				infección i.p.	protec Compue to de ferenc
Proteus mirabil. H 3	i.p. or.	28 14	1,5	Proteus mirab.	
Proteus mirabil. L 93	i.p. or.	32 17	0,5	Proteus mirab.	
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	26 16	0,25	Proteus rettg. A 821	Carb. Ampi.
Proteus morgani 2241	i.p. or.	7 7	50	Proteus morgañ. 2241	
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 7	3 (4)	Pseud. aerug. A 1058	Carb.
Nivel de sangre en ratones Organismo de en sayo Sarc.lut.ATCC 9341) dosis 100 mg/kg apl.				Determinación de	1 nivel
nivel de sangre máximo g/ml	i.p. or.	23 1,6		nivel suero max.	g/ml
Zona de inhibición max. en mm	i.p. or.	27 14		(i.m. = $\frac{1}{4}$ hr /ora	1 = $\frac{1}{4}$ h
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	1 $\frac{1}{2}$ hr $\frac{1}{2}$ hr		% de la dosis ad secretada después	ministr s de 24

Ensayo de protección en ratones					
Dosis i.p.	Compuesto de referencia	Relación de potencia administración			MIC μ /ml
		i.p.	s.c.	oral	
Virab.					
Virab.					
Metg.	Carb. Ampi.		4,8 0,91		
Organ.					
Drug.	Carb.	0,93	1,67		
Dosis de 1 nivel de sangre y nivel de conejos (dosis 10 mg/kg) vía					
Administración			l.m.	oral	
Concentración max.	μ /ml		25,3	0,3	
Intervalo / hora	1 = $\frac{1}{4}$ hr.)				
Dosis administradas después de 24 horas	ministradas de 24 horas		110	20,8	

C.

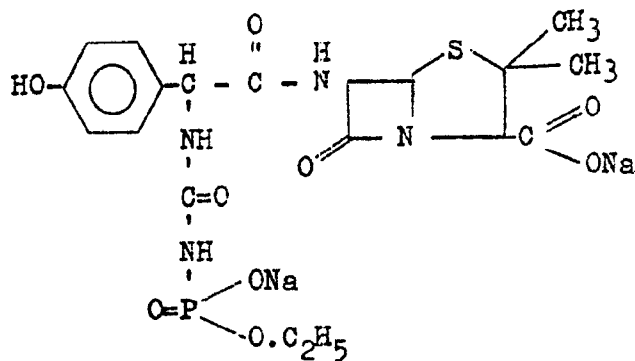


Actividad quemoterapéuticos

Actividad antibacteriana en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina de provistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Ensayo de pro		Infección en ratones		
	Infeción i.p.	MIC μ /ml	ABA	Relación de Potencia administración	MIC μ /ml
Staphylococcus aur.	i.p. or.			i.p. s.c. oral	
Staphylococcus aur. A 2001	i.p. or.	22 13	25 (11)		
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	11 7	100 (30)		
Escherichia coli U 20	i.p. or.	24 10	3		
Klebsiella pneum. A 809	i.p. or.	7 7	100		
Salmon. typhimur R 172	i.p. or.	26 11	6		
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			2,62	0,75 (0,3)

Carb. Amox.

C.



Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacterial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina de provistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplie. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ /ml	Ensayo de protección	
				Infección i.p.	Compu de re renci
Staphylococcus aur.	i.p. or.			Staphy. aur. A 321	
Staphylococcus aur. A 2001	i.p. or.	22 13	25 (11)	Staphyl. aur. A 2001	
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	11 7	100 (30)	Staphyl. aur. A 355	
Escherichia coli U 20	i.p. or.	24 10	3	Escher. coli	
Klebsiella pneum. A 809	i.p. or.	7 7	100	Klebs.pneum.	
Salmon. typhimur R 172	i.p. or.	26 11	6	S. typhimur. R 172	
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			Proteus mirab. A 1200	Car Amo

apéutica

y de pro	tección en ratones				
	Compuesto de referencia	Relación de Potencia administración			MIC μ /ml
i.p.		s.c.	oral		
i.p.					
aur.					
l. aur.					
l. aur.					
coli					
pneum.					
imur.					
mirab.	Carb. Amox.		2,62	0,16	0,75 (0,3)

Continuación C.

Actividad quimioterapéutica

Actividad antibiográfica terial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplíc. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ/ml	Ensayo de protección en ratones		Relación de Potencia administración	MIC μ/ml
				Infección i.p.	Compuesto de refe- rencia		
Proteus mirabil H 3	i.p. or.	26 13	0,5	Proteus mirab.		i.p. s.o. oral	
Proteus mirabil L 93	i.p. or.	31 16	0,12	Proteus mirab.			
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	31 18	0,06	Proteus rettg. A 821			
Proteus morganii 2241	i.p. or.	7 7	50	Proteus morgan. 2241			
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 8	3 (6)	Pseud. aerug. A 1058	Carb.	2,7 2,5	
Sarcina lutca ATCC 9341	i.p. or.	51 41	0,5				
Nivel de sangre en ratones ensayo Sarc.lut.ATCC 9341)	apl.	Organismo de dosis 100 mg/kg		Determinación del en conejos (dosis		nivel de sangre y nivel de orina 10 mg/kg) vía de administración i.m. oral	
nivel de sangre máximo en μ/ml		i.p. or.	37 2	nivel suero máx. (i.m.= 1/4 hr/oral =		23,4 0,64	
Zonas de inhibición máx. en mm		i.p. or.	23 9	% de la dosis admini- strada secretada después de 24 horas		46-63 1,22	
Zonas detectables de inhi- bición		i.p. or.	1/4 hr 1/4 hr				

Continuación C.

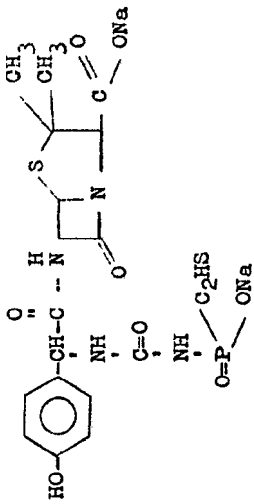
Actividad quimioterapéutica

Actividad antibac terial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	Ensayo de protección en r	
				Infección i.p.	Compu de re: rencia:
Proteus mirabil H 3	i.p. or.	26 13	0,5	Proteus mirab.	
Proteus mirabil L 93	i.p. or.	31 16	0,12	Proteus mirab.	
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	31 18	0,06	Proteus rettg. A 821	
Proteus morgani 2241	i.p. or.	7 7	50	Proteus morgan. 2241	
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 8	3 (6)	Pseud. aerug. A 1058	Cart
Sarcina lutca ATCC 9341	i.p. or.	51 41	0,5		
Nivel de sangre en ratones ensayo Sarc.lut.ATCC 9341)			Organismo de dosis 100 mg/kg	Determinación del en conejos (dosis	nivel 10 mg
apl.					
nivel de sangre máximo en γ/ml	i.p. or.		37 2	nivel suero máx. (i.m.= 1/4 hr/oral =	γ/ml 1/4 hr.
Zonas de inhibición máx. en mm	i.p. or.		23 9	% de la dosis admi después de 24 hora	nistr s
Zonas detectables de inhi bición	i.p. or.		1/2 hr 1/2 hr		

Terapéutica

Protección en ratones															
i.p.	Compuesto de referencia	Relación de Potencia administración			MIC μ /ml										
		i.p.	s.c.	oral											
rab.															
rab.															
btg.															
rgan.															
ag.	Carb.	2,7	2,5												
<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Dosis</th> <th colspan="2">nivel de sangre y nivel de orina (dosis 10 mg/kg) vía de administración</th> </tr> <tr> <th>i.m.</th> <th>oral</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>o máx. /oral = $\frac{1}{4}$ hr.)</td> <td>23,4</td> <td>0,64</td> </tr> <tr> <td>sis adm 24 horas</td> <td>46-63</td> <td>1,22</td> </tr> </tbody> </table>					Dosis	nivel de sangre y nivel de orina (dosis 10 mg/kg) vía de administración		i.m.	oral	o máx. /oral = $\frac{1}{4}$ hr.)	23,4	0,64	sis adm 24 horas	46-63	1,22
Dosis	nivel de sangre y nivel de orina (dosis 10 mg/kg) vía de administración														
	i.m.	oral													
o máx. /oral = $\frac{1}{4}$ hr.)	23,4	0,64													
sis adm 24 horas	46-63	1,22													

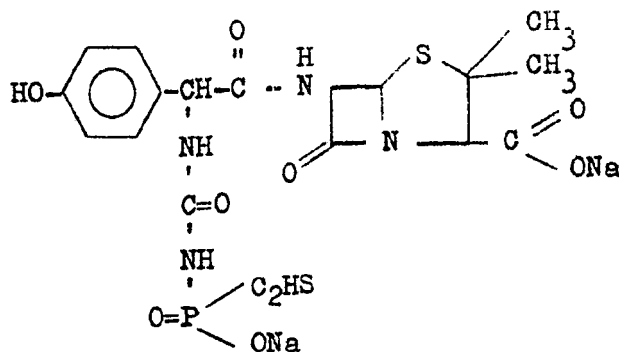
D.



Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacteriana en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Ensayo de protección en ratones		Relación de Potencia administración		MIC μ /ml
	Infección i.p.	Compuesto de referencia	i.p. s.c. oral		
			i.p.	s.c.	
Staphylococcus aur.	i.p. or.	Staphyl. aur. A 321			6
Staphylococcus aur. A 2001	i.p. or.	Staphyl. aur. A 2001			
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	Staphyl. aur. A 555			
Escherichia coli U 20	i.p. or.	Escher. coli			
Klebsiella penum A 809	i.p. or.	Klebs. pneum			
Salmon. typhimur A 172	i.p. or.	S. typhimur R 172			
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.	Proteus mirab. A 1200	Carb.	1,23	1,5 (0,45)
Proteus mirabil H 3	i.p. or.	Proteus mirab.			

D.



Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacterial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC γ /ml	Ensayo de protección en	
				Infección i.p.	Compto de fere:
Staphylococcus aur.	i.p. or.			Staphyl. aur. A 321	
Staphylococcus aur. A 2001	i.p. or.	13 8	50 (23)	Staphyl. aur. A 2001	
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	12 7	50 (30)	Staphyl. aur. A 555	
Escherichia colo U 20	i.p. or.	23 10	6	Escher. coli	
Klebsiella penum A 809	i.p. or.	9 7	100	Klebs. pneum	
Salmon. typhimur A 172	i.p. or.	26 12	26	S. typhimur R 172	
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			Proteus mirab. A 1200	Cal
Proteus mirabil H 3	i.p. or.	30 13	0,5	Proteus mirab.	

ica

de protección en ratones					
ión i.p.	Compues- to de re ferencia	Relación de Potencia administración			MIC g/ml
		i.p.	s.c.	oral	
yl. aur.					6
yl. aur. 1					
yl. aur.					
r. coli					
. pneum					
phimur					
us mirab. 0	Carb.		1,23		1,5 (0,45)
s mirab.					

Continuación D.

Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacteriana en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina de provistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ /ml	Ensayo de protección en ratones		Relación de Potencia		
				Infección i.p.	Compuesto de referencia	i.p.	s.c.	oral
Proteus mirabilis L 93	i.p. or.	33 16	0,5	Proteus mirab.				
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	26 14	0,25	Proteus rettg. A 821				
Proteus morganii 2241	i.p. or.	7 7	>100	Proteus morgan. 2241				
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 7	(15) ³	Pseud. aerug. A 1058	Carb.			
Sarcina lutea ATCC 9341	i.p. or.	53 44						
Nivel de sangre en ratones (ensayo Sarc.lut. ATCC 9341), dosis 100 mg/kg apli.				Determinación del nivel de sangre en conejos (dosis 10 mg/kg) vía de administración				
Nivel de sangre máximo en μ /ml	i.p. or.	19 4		nivel suero max (i.m. = $\frac{1}{4}$ hr/oral =			27,7	<2,5
Zonas de inhibición max. en mm.	i.p. or.	22 12		% de la dosis administrada secretada después de 24 h			80,9	<27 - <30
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	1 $\frac{1}{2}$ hr						

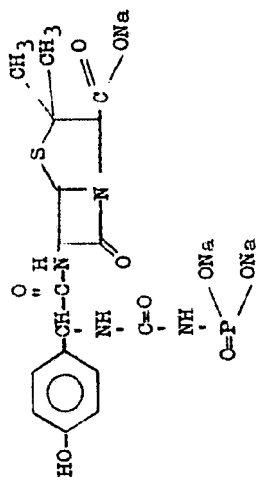
Continuación D.

Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacteriana en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina de provistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ /ml	Ensayo de protección	
				Infección i.p.	Com de cia
Proteus mirabilis I 93	i.p. or.	33 16	0,5	Proteus mirab.	
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	26 14	0,25	Proteus rettg. A 821	
Proteus morganii 2241	i.p. or.	7 7	>100	Proteus morgan. 2241	
Pseudomonas aerug. A 1058	i.p. or.	19 7	(15) ³	Pseud. aerug. A 1058	Ce
Sarcina lutea ATCC 9341	i.p. or.	53 44			
Nivel de sangre en ratones Organismos de ensayo Sarc.lut.ATCC 9341), dosis 100 mg/kg apli.				Determinación del nivel en conejos (dosis 100 mg/kg)	
Nivel de sangre máximo en μ /ml	i.p. or.	19 4		nivel suero max (i.m.= $\frac{1}{4}$ hr/oral= $\frac{1}{4}$ hr)	$\frac{1}{4}$ hr
Zonas de inhibición max. en mm.	i.p. or.	22 12		% de la dosis administrada después de 24 horas	
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	1 $\frac{1}{2}$ hr $\frac{1}{2}$ hr			

ca

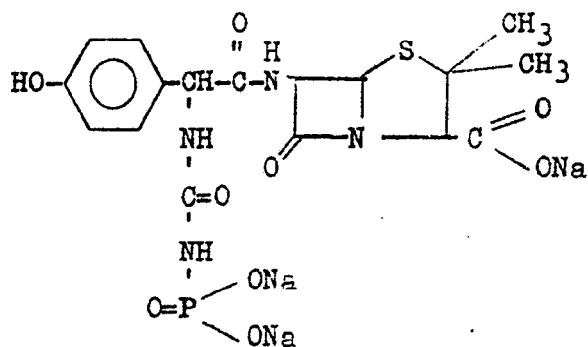
protección en ratones					
i.p.	Compuesto de referencia	Relación de Potencia			
		i.p.	s.c.	oral	MIC δ /ml
mirab.					
rettg.					
morgan.					
terug.	Carb.				
acción del nivel de sangre y nivel de orina (dosis 10 mg/kg) vía de administración					
			l.m.	oral	
Concentración máxima ser/oral= 1/4 hr)	δ /ml		27,7	<2,5	
dosis administrada de 24 horas	secretada	80,9	<27	<30	



Actividad quemoterapéutica

	ABA	MIC μ/ml	Ensayo de protección en ratones		
			Infección i.p.	Compuesto de referencia	Relación de Potencia administración
			i.p.	s.c.	oral
Actividad antibacteriana en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a					
Staphylococcus aur.			Staphyl. aur. A 321		6
Staphylococcus aur. A 2001		50 (15)	Staphyl. aur. A 2001		
Staphylococcus aur. A 355	15 7	100 (60)	Staphyl. aur. A 355		
Escherichia coli U 20	28 7	25	Escher. coli		
Klebsiella pneum. A 809	7 7	>100	Klebs. pneum.		
Salmon. typhimur R 172	33 16	25	S. typhimur R 172		
Proteus mirabilis A 1200			Proteus mirab. A 1200	Carb.	10,9 ³ (1,2)
Proteus mirabilis H 3	32 7	1,5	Proteus mirab.		

E.



Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacterial en orina (ratones). Zonas de inhibición de orina desprovistas en 2,5 horas en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ /ml	Ensayo de protección	
				Infección i.p.	Compue de referencia
Staphylococcus aur.	i.p. or.			Staphyl. aur. A 321	
Staphylococcus aur. A 2001	i.p. or.		50 (15)	Staphyl. aur. A 2001	
Staphylococcus aur. A 355	i.p. or.	15 7	100 (60)	Staphyl. aur. A 355	
Escherichia coli U 20	i.p. or.	28 7	25	Escher. coli	
Klebsiella pneum. A 809	i.p. or.	7 7	>100	Klebs. pneum.	
Salmon. typhimur R 172	i.p. or.	33 16	25	S. typhimur R 172	
Proteus mirabil A 1200	i.p. or.			Proteus mirab. A 1200	Car
Proteus mirabil H 3	i.p. or.	32 7	1,5	Proteus mirab.	

Antitica

Protección en ratones					
Dosis i.p.	Compuesto de referencia	Relación de Potencia administración			MIC μ /ml
		i.p.	s.c.	oral	
1. sur.					6
2. sur.					
3. sur.					
coli					
pneum.					
timur					
3 mirab.	Carb.		10,9		$\frac{3}{(1,2)}$
3 mirab.					

Continuación E.

Actividad quimioterapéutica

Actividad antibiote- rial en orina (rato- nes). Zonas de inhi- bición de orina de provisitas en 2,5 hq ras en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC μ/ml	Ensayo de prevención en ratones				
				Infección i.p.	Compuesto de refe- rencia	Relación de Potencia administración		
				i.p.	s.c.	oral	MIC μ/ml	
Proteus mirabilis L 93	i.p. or.	36 8	1,5	Proteus mirab.				
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	24 8	0,25	Proteus rettgeri A 821				
Proteus morgani 2241	i.p. or.	7 7	50	Proteus morgani 2241				
Pseudomonas aeruginosa A 1058	i.p. or.	20 7	3 (3,7)	Pseud. aeruginosa A 1058	Carb.	1	1,27	
Sarcina lutea ATCC 9341	i.p. or.	50 34						
Nivel de sangre en ratones Organismo de ensayo Sarc. lut ATCC 9341) dosis 100 mg/kg				Determinación del nivel de sangre y nivel de orina en conejos (dosis 10 mg/kg) vía de administración				
Nivel de sangre máximo en μ/ml	Apl. i.p. or.	134 -				i.m.	oral	
				Nivel suero max μ/ml (i.m. = 1/4 hr/oral = 1/4 hr)		81,3	<0,25	
Zonas de inhibición max. en mm	i.p. or.	36 7		% de la dosis administrada secretada después de 24 horas		346	6	
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	2 1/2 hr -						

Continuación E.

Actividad quemoterapéutica

Actividad antibacte rial en orina (rato nes). Zonas de inhi bición de orina des provistas en 2,5 ho ras en mm. ABA con respecto a	Aplic. Comp. 100 mg/kg	ABA	MIC g/ml	Ensayo de protección	
				Infección i.p.	Com de renc
Proteus mirabil L 93	i.p. or.	36 8	1,5	Proteus mirab.	
Proteus rettgeri A 821	i.p. or.	24 8	0,25	Proteus rettg. A 821	
Proteus morgani 2241	i.p. or.	7 7	50	Proteus morgar. 2241	
Pseudomonas aerug A 1058	i.p. or.	20 7	(3,7)	Pseud. aerug. A 1058	Ca
Sarcina lutea ATCC 9341	i.p. or.	60 34			
Nivel de sangre en ratones Organismo de ensa yo Sarc.lut ATCC 9341) dosis 100 mg/kg Apl.				Determinación del nivel en conejos (dosis 10 m	
Nivel de sangre maximo en g/ml	i.p. or.	134 -		Nivel suero max. g/ml (i.m. = $\frac{1}{4}$ hr/oral = $\frac{1}{4}$ hr)	
Zonas de inhibición max. en mm	i.p. or.	38 7		% de la dosis administ después de 24 horas	
Zonas detectables de inhibición	i.p. or.	2 $\frac{1}{2}$ hr - hr			

de protección en ratones					
ación ..p.	Compuesto de refe- rencia	Relación de Potencia administración			MIC g/ml
		i.p.	s.c.	oral	
mirab.					
rettg.					
morgan					
aerug.	Carb.	1	1,27		

ación del nivel de sangre y nivel de orina
dos (dosis 10 mg/kg) via de administración

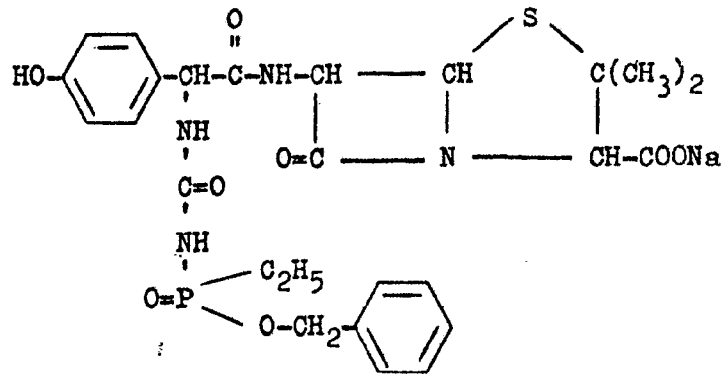
	i.m.	oral
mero max g/ml (hr/oral = $\frac{1}{4}$ hr)	81,3	<0,25
dosis administrada secretada de 24 horas	346	6

La invención se ilustra por los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

Preparación de D-6- $\{\alpha$ - β -(benciloxi(etil)fosfinil)ureido β -p-hidroxibencilcarbonamido $\}$ penicilato de sodio

5



10

15

Se prepara dicloruro etilfosfónico ($C_2H_5POCl_2$), p. e. $78^{\circ}C/30$ ml Hg, en un rendimiento del 66,6 %, a partir de bromuro de etilo y cloruro de aluminio/tricloruro de fósforo ($AlCl_3/PCl_3$) (Houben Weyl, 12^I, p. 397).

20

Este dicloruro se convierte a etilfosfonamidato de bencilo $[C_2H_5P(O)(OCH_2C_6H_5)NH_2]$ en un rendimiento del 43,7 % mediante un ensayo convencional consistente en las reacciones consecutivas con alcohol bencilico/piridina y amoniaco líquido en éter dietílico. Empleando de nuevo un método convencional, el fosfonamidato muy hidrocópico, aislado, se convierte con fosgeno/piridina en tolueno, al etilfosfonisocianatidato de bencilo $[C_2H_5P(O)(OCH_2C_6H_5)NCO]$. Se añade una cantidad molar del fosfonamidato a una mezcla de una cantidad molar de fosgeno y 2,5 moles de piridina a $-60^{\circ}C$, tras lo cual la temperatura sube lentamente a $-10^{\circ}C$. Después de la agitación adicional durante 90 minutos mas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtra bajo condiciones secas y el filtrado se evapora hasta sequedad in vacuo. La cantidad de iso

25

30

cianato en el producto en bruto fué estimada mediante espectroscopia infra-roja.

5 Empleado condiciones anhidras, se añaden 6,5 ml (aproximadamente 26 m moles) de N,O-bis-trimetilsililacetamida (BSA), a temperatura ambiente, a una velocidad rápida, a una suspensión de 4,75 g (unos 13 m moles) de ácido D(-)-(6- α -amino-p-hidroxibenzil-carbonamido)penicilánico ("amoxicilina") puro pero no seco, conteniendo probablemente unos 1-1,5 moles de agua por mol de penicilina, en 25 ml de diclorometano. La mezcla de reacción resultante, que se convierte en clara después de 10 minutos, se agita durante 90 minutos a temperatura ambiente. La solución clara se enfría por debajo de 5°C por medio de un baño de hielo, tras lo cual se añade de gota a gota, a 0-5°C, una solución de una cantidad aproximadamente equimolar del isocianato antes mencionado (preparado en bruto a partir de 30 m moles de etilfosfonamidato de bencilo) en 30 ml de diclorometano. Durante la agitación adicional a unos 5°C, el progreso de la conversión de amoxicilina se sigue por cromatografía de capa delgada (sílice; mezcla 5:4:1 de acetato de etilo, acetona y ácido acético; mancha doble en Rf de aproximadamente 0,7). Después de unos 30 minutos de agitación adicional, tiene lugar una conversión moderada a la penicilina deseada. Puesto que el resultado no es mejorado después de 60 minutos de agitación, la mezcla de reacción se somete a los procedimientos usuales de aislamiento. Después de la adición de un pequeño volumen de acetato de etilo, la mezcla de reacción se concentra in vacuo a pequeño volumen y se vierte ulteriormente en una mezcla de un volumen igual de éter dietílico y agua de hielo, de pH 7. Las capas se separan, se desecha la capa orgánica y se lava la ca

10

15

20

25

30

pa acuosa unas cuantas veces con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y éter dietílico. La solución restante en agua se acidifica a pH 3,8 y se extracta 10 veces con un volumen igual de acetato de etilo. Estos extractos se combinan, se lavan cuatro veces con 20 ml de agua de hielo saturada con cloruro sódico, se seca sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtra y se concentra ligeramente in vacuo a un volumen de unos 500 ml. Se separa por filtración una pequeña cantidad de precipitado. Se añade una solución de α -etil-hexanoato de sodio en acetato de etilo. El precipitado formado se recoge por filtración, se lava con acetato de etilo seco y éter dietílico y se seca in vacuo. Rendimiento del compuesto del título: 3,3 g (aproximadamente 40 % basado en la amoxicilina; aproximadamente 18 % basado en la fosfonamida); según cromatografía de capa delgada, espectro IR y RMP, la pureza del producto final excede del 90 %.

El grupo conteniendo fósforo asimétricamente sustituido del producto, constituye un centro quiral y consecuentemente el compuesto puede existir en dos formas. Con esta penicilina particular, este fenómeno se refleja en los cromatogramas de capa delgada (dos manchas adyacentes) y en el espectro RMP.

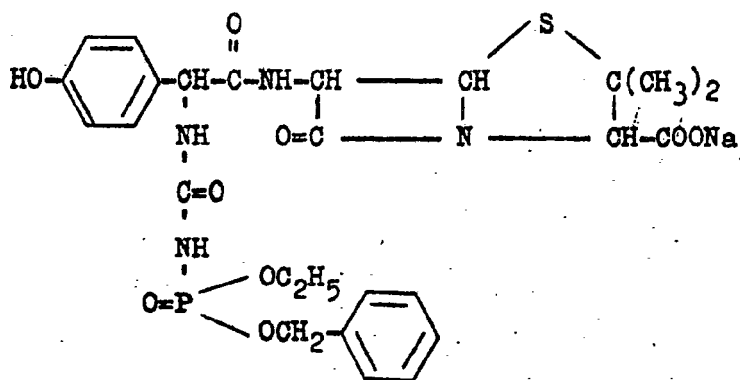
IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): \pm 3100-3500 (amplio e intenso), hombros en aprox. 3080, 3000, 2930 y 2900, 1975, aprox. 1690 (hombro), 1665, 1600-1620, 1520, 1460, \pm 1400, 1325, aprox. 1260-1180, \pm 1020, 915, 850, 754.

PMR (d_6 -dimetilsulfoxido (DMSO), 60 Mc, 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato (DSS) como referencia, valores δ en ppa): un área de absorción 1H muy complicada desde aprox. 0,7 a 2,2 incluyendo singletes en 1,45 y 1,57; 3,98 (s, 1H), 4,95 (cen-

tro de dos dobletes, $\delta \approx 0,7$, $J \approx 7,6$ cps, 2H), aprox. 5,3 a 5,5 (multiplete, 3H), 6,65 a 7,25 (q) y aprox. 7,3 (2 señales) junto 9H; 7,7 (d, $J \approx 7,5$ cps, 0,8H), aprox. 8,4 (amplio, aprox. 0,6H) 8,85 (d, $J \approx 8,5$ cps, 0,8H).

EJEMPLO 2

Preparación de D-6- $\{\alpha$ -[3-(benziloxi(etoxi)fosfinil)-ureido]- β -hidroxibenzilcarbonamido }-penicilánato de sodio



A partir de fosforodichloridato de etilo ($C_2H_5OP(O)Cl_2$), se prepara benziloxi(etoxi)fosfinilamida en bruto $[C_6H_5CH_2O)(C_2H_5O)P(O)NH_2]$ mediante un método convencional consistente en las conversiones consecutivas con alcohol benzílico/piridina y amoniaco líquido en exceso en éter dietílico. La amida en bruto (unos 30 m moles) se convierte según el método descrito en el ejemplo 1 en benzil(etil)fosforoisocianatidato en bruto $[C_6H_5CH_2O)(C_2H_5O)P(O)-NCO]$, conteniendo aproximadamente 15 m moles del isocianato según la espectroscopia infra-roja.

Como se describe en el ejemplo 1, se trata una suspensión de 5,5 g (unos 15 m moles) de amoxicilina en 25 ml de diclorometano, a temperatura ambiente, con 7,5 ml (unos 30 m moles) de BSA. Después de 60 minutos de agitación adicional a

temperatura ambiente, la solución clara se enfría a 0°C. A esta solución, se añade, a 0 - 45°C, en unos cinco minutos, una solución del fosforoisocianatidato antes mencionado en 25 ml de diclorometano. Un cromatograma de capa delgada, tomado unos cuantos minutos después del término de la adición, indica la conversión satisfactoria de amoxicilina a la penicilina deseada (Rf 0,65 aproximadamente sobre sílice con una mezcla 5:4:1 de acetato de etilo, acetona y ácido acético). La mezcla de reacción se mezcla con agua de hielo a pH 7 y un pequeño volumen de acetato de etilo. Se separa el diclorometano in vacuo y la solución en agua, a pH 7, se lava tres veces con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y éter dietílico. Por medio de la misma mezcla, la penicilina se separa de su solución en agua a pH 3,5-4. Los extractos ácidos combinados se lavan repetidamente con pequeños volúmenes de agua de hielo saturada con cloruro sódico, se seca sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtra y se concentra in vacuo. La solución final, en acetato de etilo, se trata con una solución de α -etil-hexanoato de sodio en acetato de etilo, etc. Rendimiento del compuesto del título, 8 g (aproximadamente 80 % basado en la amoxicilina; aproximadamente 40 % basado en la benziloxi(etoxi)fosfinilamida en bruto). Los cromatogramas de capa delgada y espectros RMP indican una pureza de por lo menos 95 %.

IR disco Kbr, valores en cm^{-1}): aprox. 3200-3600 (amplio e intenso), miembros en aprox. 3060 y 2935, 2980, 1768, aprox. 1690 (hombro), 1670, 1610, 1535 (hombro), 1515, 1480, 1400, 1375 (hombro), aprox. 1220-1260, 1180, 1135, 1040 y 1020, 920, 840, 745 y 700.

PMR* (aprox. mezcla 4:1 de d_6 -DMSO y DCO_2D , 60 Mc, DSS,

valores δ en ppm): 1,26 (centro de dos triplete íntimos, $J \approx 7,5$ cps), 1,46 (s) y 1,58 (s) todos juntos 9H; aprox. 3,85 a 4,35 (multiplete) y 4,27 (s) junto 3H; 5,35 a 3,6 (AB-q, $J \approx 4,1$ cps) y 5,46 (s) junto 3H; 6,7 a 7,3 (q-similar, $J \approx 8,5$ cps) y aprox. 7,4 (señal doble) junto 9H.

* El espectro del compuesto en DMSO exhibe las tres absorciones NH usuales, dos dobletes en aproximadamente 7,7 y 8,9 y una absorción amplia en 8,7 aproximadamente.

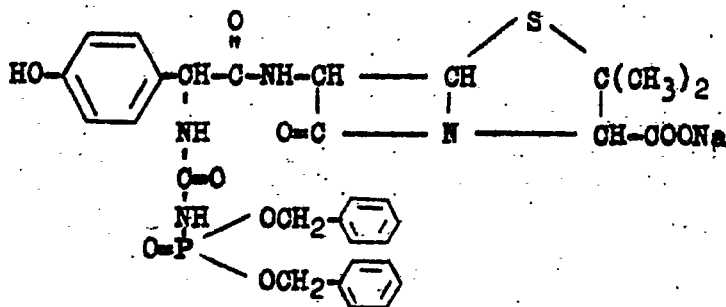
De forma análoga se prepara el D-6- $\{\alpha$ - γ 3-(benciloxi(metoxi)fosfinil)ureido γ -p-hidroxibencilcarbonamido $\}$ penicilanato de sodio.

IR (idem): \pm 3300-3500 (amplio e intensivo), \pm 3050 (hombro), \pm 2950 (hombro), 1765, aprox. 1690 (hombro), 1660, 1590-1610, 1550 (hombro), 1515, 1460, 1400, 1325, aprox. 1220-1280, 1180 (hombro), 1135, 1045 (intensivo) con hombros, 930, 850, 790, 745, 700.

PMR DMSO (idem): 1,46 y 1,56 (6H), 3,69 (centro de dos dobletes íntimos, $\delta \approx 1,3$ cps, $J \approx 11,7$ cps, 3H), 3,98 (s, 1H), 5,05 (centro de dos dobletes íntimos, $\delta \approx 0,5$ cps, $J \approx 7,5$ cps, 2H), aprox. 5,25 a 5,6 (multiplete, 3H), 6,65 a 7,3 (q) y aprox. 7,35 (2 señales) junto 9H, 7,8 (d, $J \approx 8$ cps, 0,8 H), aprox. 8,4 (muy amplio, < 1H), 8,9 ($J \approx 8$ cps, 0,8H).

EJEMPLO 3

Preparación de D-6- $\{\alpha$ - γ 3-(dibenziloxifosfinil)-ureido γ -p-hidroxibenzilcarbonamido $\}$ penicilanato de sodio



Tal y como describe O.H. Friedman *et al* [J. Am. Chem. Soc., 76. 916 (1954)], se trata tricoloruro de fósforo en presencia de piridina con tres equivalentes de alcohol bencílico en benceno seco, resultando en la producción y aislamiento de fosfonato de dibencilo $[(C_6H_5CH_2O)_2P(O)H]$ en un rendimiento de 78,6 %. El producto se disuelve en tetracloruro de carbono seco y se introduce amoniaco gaseoso (temperatura máxima de reacción, 38°C). Incluyendo la recristalización en tetracloruro de carbono, se obtiene fosforamidato de dibencilo $[(C_6H_5CH_2O)_2P(O)NH_2]$, p.f. 104-105°C, en un rendimiento del 84,4 %. Este compuesto se convierte, del modo usual, y como se ha descrito en el ejemplo 1, a fosforoiscianatidato de dibencilo en bruto $[(C_6H_5CH_2O)_2P(O)NCO]$.

Como se ha descrito en el ejemplo 1, se trata a temperatura ambiente una suspensión de 2,2 g (unos 6 m moles) de amoxicilina en 10 ml de dicloro metano, con 3 ml (unos 12 m moles) de BSA. Después de 60 minutos de agitación adicional, la solución clara se enfría a 0°C y se introduce entonces, gota a gota, una solución de unos 6 m moles del fosforoiscianatidato antes citado en 15 ml de diclorometano. La temperatura de reacción se mantiene en 0° hasta +5°C. Un cromatograma de capa delgada, tomado unos cuantos minutos mas tarde, indica la conversión satisfactoria a la penicilina deseada (Rf aproximadamente 0,6 sobre sílice, con una mezcla 5:4:1 de acetato de etilo, acetona y ácido acético). La mezcla de reacción se vierte, a pH 7, en una mezcla de 100 ml de agua de hielo y 100 ml de éter dietílico. Con el fin de obtener un sistema claro de dos capas, se añaden 300 ml de agua de hielo y algo de cloruro sódico. Las capas se separan, se desecha la capa orgánica y se lava la capa acuosa unas cuantas veces con

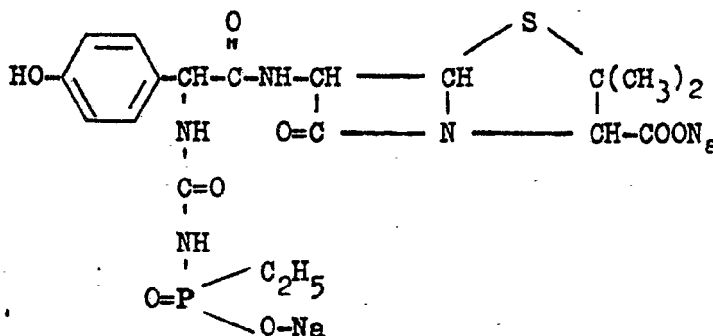
éter dietílico a pH 7. La capa acuosa restante se acidifica con ácido clorhídrico diluido y se extrae a pH 3,5-4 con acetato de etilo. A partir de estos extractos se obtienen, del mismo modo que en los ejemplos 1 y 2, 3,9 g (aproximadamente 90 % basado en la amoxicilina y aproximadamente 55 % basado en el fosforemidato) del compuesto del título, virtualmente puro.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): aprox. 3200-3500 (ámplico e intenso), hombros en 3050 y 2980, 1780, 1680, 1620, 1560 (hombro), 1520, 1465, \pm 1400, 1330, 1230-1270, 1190 (hombro), 1140 (hombro), 1030 con hombros en 1050 y 1015, 935, 750, 710.

PMR (d_6 -DMSO, 60 Mc, DSS, valores δ en ppm): 1,45 y 1,56 (6H), 4,05 (s, 1H), 5,05 (d, $J \approx 7,5$ cps, 4H), aprox. 5,2 a 5,6 (multiplete, 3H), 6,65 a 7,3 (q-similar, $J \approx 8$ cps) y 7,35 junto 14H; 7,7 (d, $J \approx 8$ cps, aprox. 0,8H), aprox. 8,9 (d y s ámplico, aprox. 1,4H).

EJEMPLO 4

Preparación de la sal disódica del ácido D-6- $\{\alpha$ - β -hidroxi-(etil)fosfinil)ureido β -p-hidroxibenzil-carbonamido $\}$ -penicilánico



Se disuelven 3,06 g (4,8 m moles) de D-6- $\{\alpha$ - β -

5 --(benziloxi-(etil)fosfinil)ureido }-p-hidroxibenzilcarbonamido }-penicilinato de sodio (preparado como se ha descrito en el ejemplo 1) en una mezcla fría como el hielo de 35 ml de etanol y 5 ml de agua. A la solución magnéticamente agitada, se añaden 1,5 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal. Con enfriamiento continuo con hielo, se pasa hidrógeno a presión atmosférica sobre la superficie de la solución. Durante la reducción, se añaden, en pequeñas porciones, 410 g (4,9 m moles) de bicarbonato sódico. Puesto que la reducción no se completa después de 4 horas, el recipiente se almacena durante la noche a 0°C. Al siguiente día, se añade otro gramo del catalizador y 10 ml de etanol y se continúa la introducción de hidrógeno hasta terminarse la reducción (unas cuantas horas). La mezcla se filtra a través de un auxiliar de filtración utilizando una bomba de succión. El filtrado se evapora in vacuo, se añaden etanol absoluto y benceno al residuo y la mezcla se evapora in vacuo. El residuo se disuelve en la cantidad mínima de agua. El volumen de la solución se dobla por adición de etanol y se añade acetona hasta que aparece una ligera turbidez. Se añade un auxiliar de filtración con agitación simultánea y la mezcla se filtra. Se añade acetona seca al filtrado. El precipitado resultante se recoge por filtración, se lava con acetona y se seca in vacuo. El rendimiento del compuesto de título es de 2,6 g (aproximadamente 90 %). La pureza del producto final es de 90 % o mayor. En los cromatogramas de capa delgada utilizando sílice y una mezcla 4:1:1 de n-butanol, ácido acético y agua, el compuesto tiene un valor R_f de 0,1 aproximadamente.

10

15

20

25

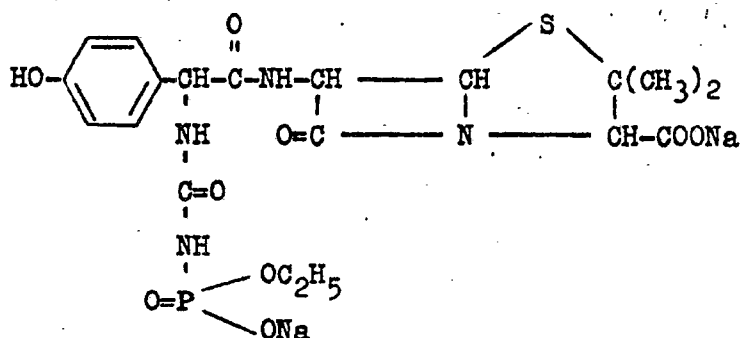
30 IR (disco KBr, valores en cm⁻¹): 3100-3600 (amplio e intenso) aprox. 3050 (hombro), 2980, 1765, 1640-1660, 1600-1615,

aprox. 1560 (hombro), 1515, 1460, 1400, 1370, \pm 1325, \pm 1275, 1240, 1180, 1135 (hombro), 1060, 900, 850, aprox. 730.

RMP (mezcla 4:1 aprox. de d_6 -DMSO y DCO_2D , 60 Mc, DSS, valores δ en ppm): un area de absorción 1H muy complicada desde aprox. 0,7 a 2,2 incluyendo singletes en 1,46 y 1,59; 4,24 (s, 1H), desde aprox. 5,3 a 5,6 (AB-q con $J \approx 4$ cps y un singlete, 3H), 6,7 a 7,3 (q-similar, $J \approx 8,0$ cps. 4H).

EJEMPLO 5

Preparación de la sal disódica del ácido D-6- $\{\alpha$ - β -(hidroxi(etoxi)fosfinil)ureido- γ - β -hidroxibencilcarbonamido}-penicilánico



Prácticamente del mismo modo que en el ejemplo 4, se introduce hidrógeno a $0^\circ C$ sobre la superficie de una mezcla magnéticamente agitada consistente en 3 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal y una solución de 6,3 g (9,7 m moles) de D-6- $\{\alpha$ - β -(benziloxi(etoxi)fosfinil)ureido- γ - β -hidroxibenzilcarbonamido}-penicilánico de sodio (preparado como se ha descrito en el ejemplo 2) en una mezcla de 60 ml de etanol y 10 ml de agua. Durante la reducción catalítica, se introduce por etapas una solución de 0,82 g (9,7 m moles) de bicarbonato sódico en 3 ml de agua. La reducción se completa después de 5,5 horas. La mezcla de reacción se filtra a tra-

vés de un auxiliar de filtración, utilizando una bomba de succión, y el filtrado se evapora in vacuo. Al objeto de separar remanentes de agua, se añade tolueno y la evaporación in vacuo se repite. El residuo se agita con 150 ml de acetona seca pura. El sólido incoloro resultante se recoge por filtración, se lava con acetona seca y se seca in vacuo. Rendimiento en compuesto del título, 5,54 g (93 %). El producto final es puro.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): aprox. 3200-3600 (amplio e intensivo), 2975, 2930 (hombro), 1765, \pm 1650-1670, \pm 1610, 1550 (hombro), 1515, 1460, 1400, 1375 (hombro), \pm 1325, aprox. 1240 (amplio), 1180, 1135, 1085, 1050, 955, 900, 770.

RMP (mezcla 5:1 aprox. de d_6 -DMSO y DCO_2D , DSS, valores δ en ppm): 1,25 (centro de dos tripletes íntimos, $J \approx 7,5$ cps), 1,46 (s) y 1,59 (s) conjuntamente 9H; aprox. 3,75 a 4,1 (multiplete, 2H), 4,22 (s, 1H), 5,42 (s) y aprox. 5,3 a 5,6 AB-q ampliado) junto 3H; 6,65 a 7,35 (q-similar, $J \approx 8,5$ cps, 4H).

De forma análoga, se prepara la sal disódica del ácido D-6- $\{\alpha$ - \int 3-(hidroxi(metoxi)fosfinil)ureido \int -p-hidroxibenzilcarbonamido $\}$ -penicilánico.

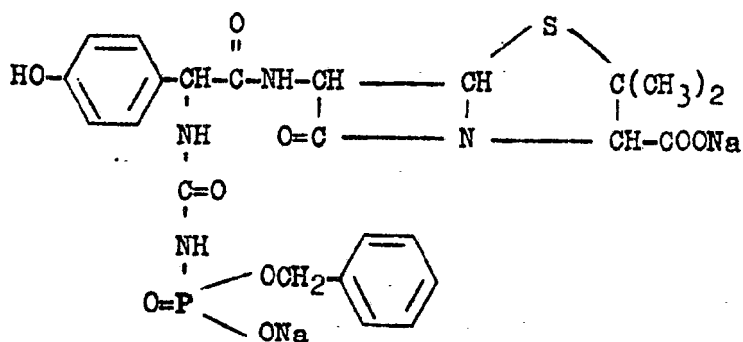
IR (idem): aprox. 3280-3600 (amplio e intensivo), \pm 2950 (hombro), 1760, 1680 (hombro), aprox. 1645 a 1665, \pm 1600, \pm 1540, 1500, 1455, 1395, 1370 (hombro), 1345 (hombro), 1310-1330, 1215-1245, 1180 (hombro), 1125, 1080 (intensivo), 1045, 895, \pm 770.

RMP (mezcla 5:1 aprox. de d_6 -DMSO y DCO_2D , 60 Mc, DSS, valores δ en ppm): 1,47 y 1,59 (6H), 3,50 (d, $J \approx 11,6$ cps, 3H), 4,27 (s, 1H), 5,44 (s) y aprox. 5,35 a 5,6 (AB-q ampliado) junto 3H, 6,7 a 7,35 (q-similar, 4H).

EJEMPLO 6

Preparación de la sal disódica del ácido D-6- α - β -
-(hidroxi(benciloxi)fosfinil)ureido β -p-hidroxibenzilcarbona-
mido -penicilánico

5



10

15

20

25

30

En 10 ml de agua, se disuelven 345 mg (0,47 m moles) de D-6- α - β -(dibenziloxifosfinil)ureido β -p-hidroxibencil-carbonamido} penicilanato de sodio (preparado como se ha descrito en el ejemplo 3) y 80 mg (0,95 m moles) de bicarbonato sódico. Se añaden 0,1 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal y a continuación se introduce hidrógeno a 0°C. Después de 5 horas de agitación, la cromatografía de capa delgada indica que el material de partida de éster dibencilico ha desaparecido completamente de la mezcla de reacción, mientras que la velocidad de desprendimiento de dióxido de carbono ha disminuido considerablemente. El pH de la mezcla de reacción es de 8 aproximadamente. La mezcla se filtra a través de un auxiliar de filtración utilizando una bomba de succión y el filtrado se evapora in vacuo. El residuo se tritura con acetona seca y el sólido resultante se recoge por filtración. Ignorando la presencia de sal inorgánica, se estima, mediante los cromatogramas de capa delgada y el espectro RMP, que el producto final contiene al compuesto de penicilina del título

en una cantidad de 85-90 %. Las impurezas consisten en cantidades relativamente ligeras de productos de degradación, la penicilina dos veces reducida (es decir, di-desbencilada) y acetona. Puesto que se introducen dos equivalentes de bicarbonato sódico, el producto final debe contener también algo menos de 1 mol de bicarbonato sódico por mol de penicilina. En los cromatogramas de capa delgada (sílice, mezcla 95:5:5 de metanol, ácido acético y agua), el compuesto del título aparece en Rf 0,9 aproximadamente (UV positivo), mientras que la penicilina di-desbencilada aparece en Rf 0,25 aproximadamente.

IR (disco KBr, valores cm^{-1}): aprox. 3100-3600, hombros en \pm 3050, 2970 y 2935, 1765, 1690 (hombro), 1640-1660, 1595-1615, \pm 1550 (hombro), 1515, 1455, 1400, 1380, (hombro), 1320-1340, 1220-1260, 1180, 1135, 1090 (intensivo), 1010-1035, 985, 900, 870, 845, 750, 710.

RMP (mezcla 4:1 aprox. de d_6 -DMSO y DCO_2D , 60 Mc, DSS, valores δ en ppm): 1,48 y 1,60 (6H), 4,26 (s, 1H), 4,86 (d, $J \approx 7,0$ cps, 2H), 5,45 (s) y 5,35 a 5,60 (AB-q, $J \approx 4,0$ cps) junto 3H); 6,65 a 7,3 (q-similar, $J \approx 8,2$ cps) y aprox. 7,35 junto 9H).

El experimento antes descrito indica claramente que es muy posible obtener un producto de reducción mono-desbencilado en estado puro, en virtud del hecho de que la segunda reducción procede a una velocidad apreciablemente inferior. Con el fin de obtener el producto monodesbencilado, es evidente que solamente debe emplearse un equivalente de bicarbonato sódico, mientras que la disminución adicional en la formulación competitiva del producto dos veces reducido, pueda conseguirse empleando un catalizador ligeramente envenenado

y/o interrumpiendo la reducción justamente antes de completarse la conversión del compuesto de partida, el cual es fácilmente separado del producto final mediante lavado con etanol.

5

EJEMPLO 7

Preparación de la sal trisódica del ácido de D-6-
- { α - \int 3-(dihidroxi(fosfinil)ureido) \int -p-hidroxibencilcarbonamido}-penicilánico.

10

En 15 ml de agua, se disuelven 690 mg (0,94 m moles) de D-6- { α - \int 3-(dibenciloxifosfinil)ureido) \int -p-hidroxibencilcarbonamido}-penicilanato de sodio (preparado como se ha descrito en el ejemplo 3) y 168 mg (2 m moles) de bicarbonato sódico, se añaden 0,1 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal y se introduce luego hidrógeno. Después de 5 horas de agitación a temperatura ambiente, se añaden otros 0,2 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal y se continúa la reducción. Después de un total de 6 horas de agitación, el cromatograma de capa delgada indica la conversión completa del material de partida a una mezcla del producto del ejemplo 6 y del compuesto de penicilina del título. La reducción se continúa hasta la noche. Al siguiente día, se añaden 5 ml de agua y otros 0,5 g de 10 % de paladio sobre carbón vegetal. La reducción se continúa entonces durante 2,5 horas. El desprendimiento de trióxido de carbono termina por desaparecer, indicando, el cromatograma de capa delgada, que el compuesto del ejemplo 6 ha desaparecido ahora totalmente. Se añade acetona, se filtra la mezcla a través de un auxiliar de filtración y el filtrado se evapora in vacuo. El residuo se tritura con etanol absoluto. El sólido resultante se recoge por filtración, se lava con etanol y acetona seca y se seca in va

15

20

25

30

cuo.

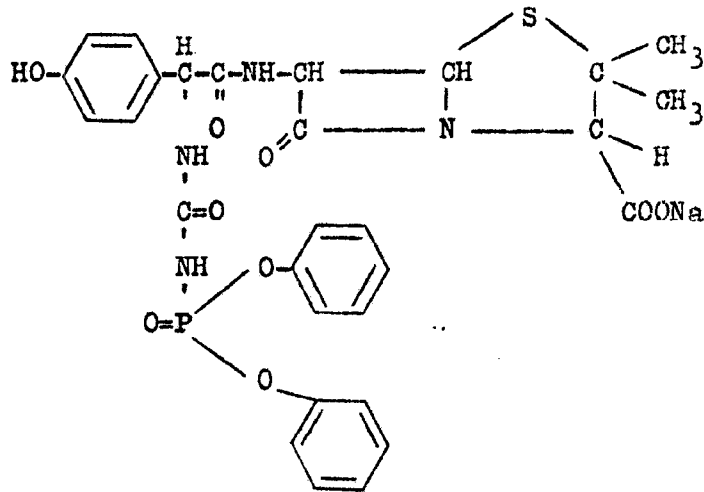
El rendimiento del compuesto del título es de 0,5 g (aproximadamente 80 %). Según los cromatogramas de capa delgada y espectro RMP, el producto final tiene una pureza del 90 % aproximadamente.

IR (idem): aprox. 3100-3600, 2970 (hombro), 1760, 1640, 1660 (muy intenso), 1600, 1540-1560, 1510, 1450, 1400, 1370 (hombro), 1320, aprox. 1250 con hombros, 1180, 1135 (hombro), 1110 (intenso), 985 (intenso) 890, 840, 790.

RMP (D₂O, 60 Mc, DSS, valores δ en ppm): 1,46 y 1,53 (6H), 4,20 (s, 1H), 5,2 (s, ligeramente amplio, 1H), 5,44 (s, 2H), 6,8 a 7,45 (q-similar, 4H).

EJEMPLO 8

Preparación de D-6- $\{\alpha$ - β -(difenoxifosfinil)ureido- β -p-hidroxibencilcarbonamido $\}$ -penicilinato de sodio.



Se añaden 70 ml de diclorometano a una suspensión de 2,65 g (6 m moles) de hidrocioruro de 1-etil-3-(3-dimetil amino-propil)carbodiimida en 25 ml de tetrahidrofurano. Después de agitar durante 7 minutos, se añaden 1,45 g (6,6 moles) de ácido 6-aminopenicilánico, que previamente había sido sili-

lado por medio de 0,97 ml (6,6 moles) de TEA y 0,84 ml (6,6 moles) de TMCS en 15 ml de diclorometano. Después de dos horas de conversión resulta ser del 40 % aproximadamente según TLC (Rf = 0,7 en una mezcla de ácido acético/acetato de etilo/acetona (1:5:4)). Se forma un aceite amarillo que se separa y desecha. La mezcla de reacción resultante se vierte en agua a pH 7 y se extrae con acetato de etilo.

El pH se ajusta a 4,7, tras lo cual se lleva a cabo una extracción con acetato de etilo. Después de secar sobre sulfato de magnesio, filtrar, evaporar el acetato de etilo y añadir unos 2 mmoles de hexanoato de sodio, el producto deseado, cuya estructura pudo confirmarse por RMP, se aísla en un rendimiento de 1,23 g (32 %). Según TLC, el producto obtenido aparece como bastante puro. El compuesto obtenido es probablemente una mezcla DL.

El ácido α -[3-difenoxifosfinil]ureido-4-hidroxi-fenilacético de partida se caracteriza por un p.f. de 160-170 °C (con descomposición).

IR: 990; aproximadamente 1200, 1650 y 1710 cm^{-1} ,

RMP (d_6 -DMSO; 60 Mc, TMS, valores δ en ppm): 5,15 (d, OH), 6,6-7,4 (H aromático).

EJEMPLO 9

Preparación de D-6- $\{\alpha$ -[3-(benciloxi(etoxi)fosfinil)ureido]-2-hidroxibencilcarbonamido $\}$ -penicilanato de sodio.

Se añaden 15 ml de diclorometano a una suspensión de 1 mmol de ácido α -[3-(benciloxi(etoxi)fosfinil)ureido]-4-hidroxifenilacético y 0,25 g (1,2 mmoles) de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil)carbodiimida en 4 ml de tetrahidrofurano. Después de agitar durante 7 minutos aproxima-

mente se añaden 0,25 g (1,1 moles) de ácido 6-aminopenicilánico, que previamente había sido silylado por medio de 0,16 ml (1,1 moles) de TEA y 0,14 ml (1,1 mmoles) de TMCS en 2,5 ml de diclorometano. Transcurridas 2 horas, la conversión resulta ser de 50 % aproximadamente según TLC (Rf = 0,7 en una mezcla 1:5:4 de ácido acético/acetato de etilo/acetona). La mezcla de reacción se vierte en agua a un pH de 7, se separa entonces un precipitado oleoso y se extrae con acetato de etilo. El pH se ajusta a 4,7 tras lo cual se efectúa la extracción con acetato de etilo. Después de secar sobre sulfato de magnesio, filtrar, evaporar parcialmente el acetato de etilo y añadir hexanoato sódico, el producto deseado, cuya estructura pudo confirmarse por RMP, se aísla en un rendimiento del 46,6 % y, según TLC, es bastante puro.

El ácido α -[3-(benziloxi(etoxi)fosfinil)ureido]-4-hidroxisfenilacético de partida se caracteriza por un p.f. de 122-127°C (con descomposición),
IR: 1020, 1220, 1670 y 1720 cm^{-1} ,
RMP (d_6 -DMSO; 6P Mc, TMS, valores δ en ppm): 1,2 (t, CH_3); 4,1 (m, $-\text{C}-\text{CH}_2\text{O}$); 5,1 (m, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{O}$); 7,0 y 7,4 (H aromático).

Del mismo modo, en lugar de ácido α -[3-(benziloxi(etoxi)fosfinil)ureido]-4-hidroxisfenilacético se puede emplear ácido α -[3-(dietoxifosfinil)ureido]-4-hidroxisfenilacético que se caracteriza por un p.f. de 166-169°C (con descomposición).

IR: 1040, 1220, 1640 y 1705 cm^{-1} ,
RMP (d_6 -DMSO, 60 Mc, TMS, valores δ en ppm): 1,3 (m, CH_3); 4,1 (m, CH_2); 5,15 (d, CH); 7,0 (q, H arom.).

EJEMPLO 10

Del mismo modo que en los ejemplos 1-9 anteriores,

se preparan compuestos en donde Z_1 y Z_2 tienen los siguientes significados.

	<u>Z_1</u>	<u>Z_2</u>
5	fenoxi	benciloxi
	metilo	benciloxi
	t-butilo	benciloxi
	i-propilo	benciloxi
	i-propoxi	benciloxi
10	fenoxi	hidroxi
	metilo	hidroxi
	t-butilo	hidroxi
	i-propilo	hidroxi
	i-propoxi	hidroxi

15 EJEMPLO 11

Del modo usual, se preparan cápsulas que contienen como ingrediente activo un derivado de penicilina preparado según cualquiera de los ejemplos 1-9.

20 A continuación, se indican los constituyentes de cada cápsula:

Compuesto activo	500 mg	y	250 mg
Estearato de magnesio	5 a 25 mg		2-15 mg
Lactosa	q.s. para 1 cápsula		q.s. para 1 cápsula

25 Las cápsulas se pueden emplear para su administración oral.

EJEMPLO 12

30 Del modo usual, se preparan tabletas que contienen como ingrediente activo una penicilina preparada según cualquiera de los ejemplos 1 a 9.

A continuación, se indican los constituyentes de cada tableta:

Compuesto activo	500 - 750 mg
Polivinilpirrolidona	15 - 25 mg
5	100 - 200 mg
Estearato de magnesio	5 - 10 mg
Lactosa	q.s. para 1 tableta (aprox. 100-200 mg).

Las tabletas se pueden usar para administración oral.

10 EJEMPLO 13

A partir de un derivado de penicilina, preparado según cualquiera de los ejemplos 1 a 9, se prepara, del modo usual, un polvo seco para una composición inyectable.

15 Una cantidad de 2 g y 5 g de la sal sódica esteril del compuesto relacionado, mezclada con sustancias auxiliares usuales, se introduce asepticamente en un vial, adecuado para una composición inyectable, bajo una atmósfera de nitrógeno. El vial se cierra por medio de una placa de caucho, y se coloca en su sitio mediante un anillo de junta de aluminio con el fin de eliminar el intercambio de gases o la penetración de

20 microorganismos.

Las sustancias auxiliares usuales pueden consistir en glucosa (usual en una cantidad que proporcione una solución isotónica final), sales tampón, estabilizadores (por ejemplo Na_2EDTA), agentes preservantes, agentes humectantes

25 y agentes antiespumantes.

Antes de su empleo, el polvo se disuelve en una cantidad adecuada de agua esteril y libre de pirógenos.

EJEMPLO 14

30 A partir de los derivados de penicilina, preparados

según cualquiera de los ejemplos 1 a 9, se preparan jarabes mezclando los siguientes ingredientes:

	Compuesto activo	10 - 15	g
	Carboximetilcelulosa sódica	100 - 500	mg
5	Sacarinato sódico	0,10 - 1	g
	p-hidroxibenzoato de metilo	0,1 -	g
	Sazonante	100 - 500	mg
	Colorante	25 - 10	mg
	Sacarosa	50	g
10	Agua hasta un volumen de	100	ml

Estos jarabes se pueden usar para administración oral.

- N O T A -

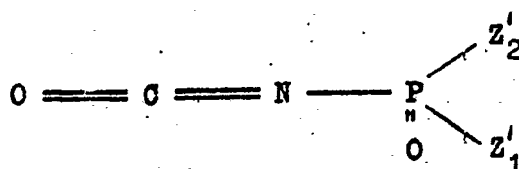
15 Describa suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una Solicitud de Patente, presentada en Inglaterra, con fecha 21 de octubre de 1974, bajo el número 45480/74, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España,

20

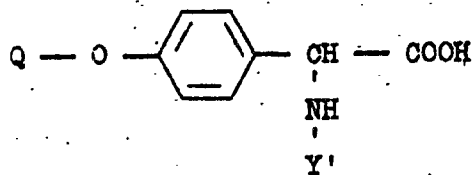
25 sobre: PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DEL ACIDO PENICILANICO; caracterizándose por lo siguiente:

1ª.- Procedimiento para preparar derivados del ácido penicilánico, de fórmula general:

lo, alcoxi inferior, alcoxi halo-sustituido, alquiltio inferior, aralcoxi, dialquilamino inferior, alcoxialquilo inferior y alquilendioxi y átomos de halógeno, con preferencia un grupo trialquil(inferior)sililo, tal como trimetilsililo, y E' es un grupo protector del radical carboxi, preferiblemente un grupo que, si se desea, puede eliminarse fácilmente después de la reacción, tal como por hidrólisis, hidrogenación o por una reacción de sustitución usando un reactivo básico o nucleofílico, y que no interfiera con la reacción, con un compuesto de fórmula



en la que Z'_1 y Z'_2 tienen los mismos significados que Z_1 y Z_2 o representan grupos que pueden convertirse fácilmente en un grupo dentro de la definición de Z_1 y Z_2 , en un disolvente orgánico inerte, a temperaturas entre -30 y $+30^\circ\text{C}$ seguido por la separación del grupo protector E' y de cualquier otro grupo protector; y hacer reaccionar el compuesto resultante de fórmula la general:



en la que Q se define como anteriormente e Y' tiene el mismo significado que Y o representa un grupo que puede convertirse fácilmente en un grupo dentro de la definición de Y, el cual puede ser atacado o influenciado bajo las condiciones de reacción, después de la reacción, con ácido 6-aminopenicilánico o un derivado del mismo, en presencia de una carbodimida como agente de condensación, seguido por separación opcional de

grupos protectores de los compuestos así obtenidos y por la transformación de los ácidos obtenidos en sales.

5 2º.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la reacción de la primera etapa se efectúa bajo condiciones anhidras y a temperaturas entre -5 y $+5^{\circ}\text{C}$.

3º.- Procedimiento para preparar derivados del ácido penicilánico, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

10 Esta Memoria consta de 48 hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid

20 FEB. 1976
GIST-BROCADES N.V.

GOMEZ AGUIRRE Y CAÑA
Ingenieros, S. de Responsabilidad Limitada
Ingenieros, S. de Responsabilidad Limitada

