

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

19	ES	11	NUMERO	10	A1
		21	<b>449610</b>		
		22	FECHA DE PRESENTACION		
			6.7.76		

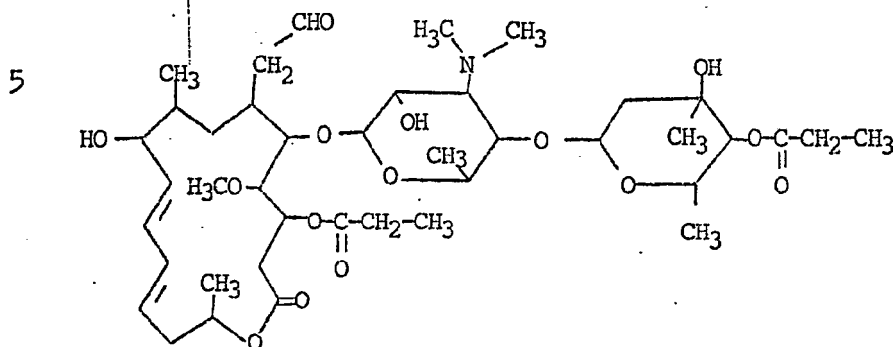
PATENTE DE INVENCION



30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
75.21432	8.7-75	francesa
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A61K, C07D	
54 TITULO DE LA INVENCION		
UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE COMPUESTOS DERIVADOS DE LA MIDECAMICINA.		
71 SOLICITANTE (S)		
C M INDUSTRIES.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
20 rue des Fossés St. Jacques, 75240 Paris Cedex 05, Francia.		
72 INVENTOR (ES)		
Francois Krausz y Alain Calvet, ambos franceses.		
73 TITULAR (ES)		
El mismo solicitante.		
74 REPRESENTANTE		
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU.		

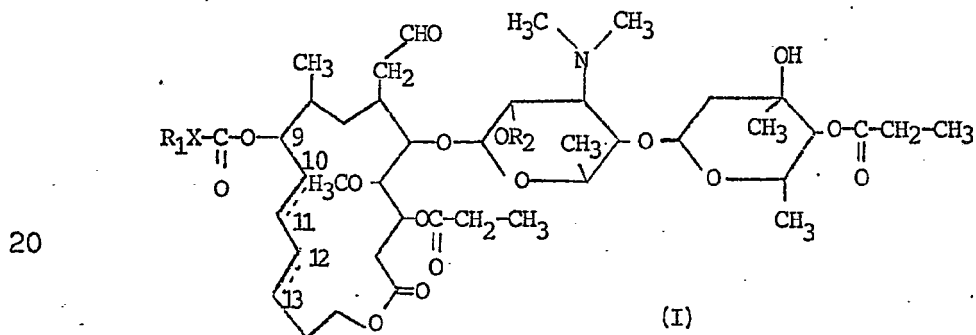


1 Esta invención se refiere a un procedimiento de preparación de nuevos derivados de un antibiótico denominado Midecamicina, que responde a la fórmula:



El objeto de esta invención es procurar sustancias con actividad antibiótica, utilizables en medicina humana o veterinaria.

15 Los nuevos compuestos preparados de acuerdo con la invención responden a la fórmula general:



25 donde X representa oxígeno o azufre y R<sub>1</sub> es un grupo alquilo lineal o ramificado, un grupo alquenilo o un grupo arilo; R<sub>2</sub> representa hidrógeno o un grupo acilo inferior.



1976

1 Las líneas de puntos indican la presencia eventual de dobles enlaces, entendiéndose que los dos dobles enlaces 10,11 por una parte y 12,13 por otra parte existen simultáneamente o no existe ninguno de los dos.

5 Estos nuevos compuestos presentan con respecto a la Midecamicina importantes ventajas:

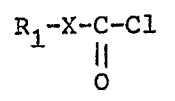
presentan in vitro una actividad por lo menos igual frente a numerosos gérmenes Gram-positivos;

10 in vivo, a dosis iguales, proporcionan una mayor protección contra las enfermedades experimentales;

proporcionan tasas en plasma más elevadas después de la administración por vía oral;

están desprovistos del intenso sabor amargo de la Midecamicina.

15 Los compuestos (I) donde  $R_2$  es hidrógeno se obtienen a partir de la Midecamicina por acción de un cloroformiato o de un tiocloroformiato de fórmula



20 donde X representa oxígeno o azufre y  $R_1$  es el definido anteriormente, en piridina, a temperatura poco elevada (0-25°C).

25 Sustituyendo la Midecamicina por tetrahidromidecamicina, compuesto conocido, se obtienen igualmente los derivados (I) que no contienen doble enlace en 10,11 y 12,13. El aislamiento de los compuestos se realiza por dilución con agua,



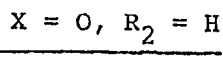
1 seguida de extracción con un disolvente orgánico conveniente  
 como acetato de etilo. El producto crudo así obtenido, si es  
 necesario, puede ser purificado por cromatografía sobre sí-  
 lice o alúmina seguida eventualmente de cristalización en  
 5 un disolvente apropiado.

Los compuestos (I) donde  $R_2$  es acilo se obtienen a  
 partir de los compuestos donde  $R_1$  es hidrógeno por acción  
 del anhídrido de ácido  $(R_2CO)_2O$ , en piridina, a reflujo.

10 Los ejemplos siguientes ilustran los resultados ob-  
 tenidos:

EJEMPLO 1

9-Metoxicarbonil-midecamicina de fórmula (I) donde  $R_1 = CH_3$ ,



15 Se disuelven 15 g de Midecamicina en 120 ml de piridi-  
 na, se enfría la solución en un baño de hielo y se añaden go-  
 ta a gota 30 ml de cloroformiato de metilo.

Una vez terminada la adición, se deja durante 24 ho-  
 ras agitando a la temperatura ambiente. Se diluye la solución  
 con 500 ml de agua y se extrae tres veces con 150 ml cada vez  
 20 de acetato de etilo.

La fase orgánica se lava sucesivamente con:  
 una solución diluída de ácido clorhídrico hasta que el  
 pH de las soluciones de lavado sea igual a 4;  
 25 150 ml de una solución saturada de bicarbonato sódico;  
 150 ml de agua y



1 150 ml de una solución saturada de cloruro sódico.

La solución se seca sobre sulfato magnésico y a continuación se evapora a sequedad a vacío.

5 El aceite residual (13 g) se cromatografía en una columna de sílice (200 g). Se eluye primero con una mezcla de benceno-acetona (19:1) que permite eliminar diversas impurezas y a continuación con una mezcla de benceno-acetona (4:1), obteniéndose 7,5 g de producto crudo.

10 Para obtener el producto totalmente puro, el producto crudo se disuelve en 50 ml de benceno. La solución se introduce en un matraz de 250 ml y se congela por refrigeración en nitrógeno líquido, extendiéndolo por todas las paredes del matraz. Se lleva el matraz a vacío ( $p < 0,1$  mm de mercurio) y se saca el matraz del nitrógeno líquido siendo suficiente el frío producido por la evaporación para mantener la masa en estado sólido.

15

Análisis:

Calculado : C, 59,22; H, 7,98; N, 1,66

Encontrado: C, 59,84; H, 7,94; N, 1,57.

20

El espectro infrarrojo en solución en cloroformo presenta una banda intensa a  $1275 \text{ cm}^{-1}$ , característica del grupo O-C-O asimétrico.

25

---



1

EJEMPLO 2

9-Etoxicarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 = C_2H_5$ ,

$X = O, R_2 = H$

5

Se opera de acuerdo con el Ejemplo 1 sobre 15 g de Midecamicina, sustituyendo el cloroformiato de metilo por una cantidad equivalente de cloroformiato de etilo.

Se trata como se ha indicado en el Ejemplo 1; sin embargo, la mayor pureza del producto no requiere cromatografía sobre sílice.

10

Finalmente, después de evaporar la solución bencénica como se ha indicado anteriormente, se obtienen 13 g de un residuo sólido, p.f. 121°C.

Análisis:

Calculado : C, 59,64; H, 8,09; N, 1,58

15

Encontrado: C, 59,61; H, 8,02; N, 1,70

Espectro IR (pastilla de bromuro potásico): banda intensa a 1260  $cm^{-1}$ .

EJEMPLO 3

20

Butoxicarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 = C_4H_9$ ,

$X = O, R_2 = H.$

Se opera de acuerdo con el Ejemplo 1 sustituyendo el cloroformiato de metilo por cloroformiato de butilo.

25

Mediante el mismo tratamiento se obtiene un polvo amarillo (12 g), p.f. 75°C.



1

Análisis:

Calculado: C, 60,44; H, 8,27; N, 1,53

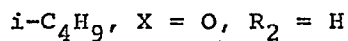
Encontrado: C, 60,55; H, 8,46; N, 1,39

5

Espectro IR (pastilla de bromuro potásico): banda  
intensa a  $1260\text{ cm}^{-1}$ .

EJEMPLO 4

9-Isobutoxicarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 =$



10

Se opera de acuerdo con el Ejemplo 1 sustituyendo el  
cloroformiato de metilo por cloroformiato de isobutilo.

Mediante el mismo tratamiento se obtienen 8,4 g de  
un polvo, p.f.  $114^\circ\text{C}$ .

Análisis:

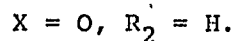
Calculado : C, 60,44; H, 8,27; N, 1,53

15

Encontrado: C, 60,45; H, 8,24; N, 1,47

EJEMPLO 5

9-Fenoxicarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 = \text{C}_6\text{H}_5$ ,



20

Se disuelven 4,06 g de Midecamicina en 70 ml de aceto-  
na y se añaden 2,38 g de piridina y después lentamente una  
solución de 4,7 g de cloroformiato de fenilo en 30 ml de ace-  
tona.

25

Una vez terminada la adición, se deja durante 16 horas  
a la temperatura ambiente y después la mezcla se vierte en  
500 ml de agua. Se alcaliniza a pH 8 por adición de una solu-



1. ción de sosa al 15 % y se extrae tres veces con 200 ml de acetato de etilo. La solución orgánica se lava dos veces con 200 ml de una solución saturada de cloruro sódico, después se seca sobre sulfato magnésico y se evapora el disolvente a presión reducida.

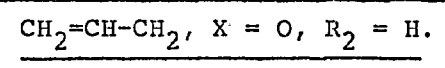
5 El aceite residual se cromatografía en una columna de sílice y se eluye con una mezcla 5:1 de benceno-acetona.

Así se obtienen 4 g de un producto que cristaliza. Después de recrystalizar en éter de petróleo, el punto de fusión es 126°C.

10 Análisis:  
 Calculado : C, 61,72; H, 7,66; N, 1,50  
 Encontrado: C, 61,57; H, 7,67; N, 1,25  
 Espectro IR (en solución en cloroformo): banda intensa a 1265 cm<sup>-1</sup> (-C-O-C-), bandas a 1595, 1495 y 950 cm<sup>-1</sup> (fenilo).

EJEMPLO 6

9-Aliloxicarbonil-midecamicina de fórmula I, donde R<sub>1</sub> =



20 Se opera como en el Ejemplo 1 sustituyendo el cloroformiato de metilo por cloroformiato de alilo.

Se obtienen 9,6 g de un polvo blanco, p.f. 97°C.

Análisis:  
 Calculado : C, 60,18; H, 7,97; N, 1,56  
 Encontrado: C, 60,10; H, 8,03; N, 1,38

25 Espectro IR (en solución en cloroformo): banda inten-



1 sa a  $1265\text{ cm}^{-1}$ .

EJEMPLO 7

9-Etiltitiocarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 = C_2H_5$ ,

$X = S, R_2 = H.$

5 Se opera como en el Ejemplo 1 sustituyendo el cloroformiato de metilo por tiocloroformiato de S-etilo.

Después de cromatografía se obtienen 6 g de producto que cristaliza en éter de petróleo, p.f.  $121^\circ\text{C}$ .

Análisis:

10 Calculado : C, 58,58; H, 7,93; N, 1,55; S, 3,55

Encontrado: C, 59,00; H, 8,04; N, 1,43; S, 3,57

Espectro IR (en pastilla de bromuro potásico): bandas intensas a  $1130$  y  $1168\text{ cm}^{-1}$ .

EJEMPLO 8

15 9-Propiltiocarbonil-midecamicina de fórmula I, donde  $R_1 = C_3H_7$ ,

$X = S, R_3 = H$

Se opera como en el Ejemplo 7 sustituyendo el tiocloroformiato de S-etilo por tiocloroformiato de S-propilo.

20 Se obtienen 8,2 g de producto que cristaliza en éter de petróleo, p.f.  $128^\circ\text{C}$ .

Análisis:

Calculado : C, 59,00; H, 8,03; N, 1,52; S, 3,50

Encontrado: C, 59,05; H, 8,14; N, 1,42; S, 3,66

25 Espectro IR (en pastilla de bromuro potásico): bandas



1 intensas a 1130 y 1168  $\text{cm}^{-1}$ .

EJEMPLO 9

9-Metoxicarbonil-tetrahidromidecamicina de fórmula I, donde  
 $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $X = \text{O}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , saturada en 10,11 y 12,13.

5 Se opera como en el Ejemplo 1 sustituyendo la tetrahi-  
dromidecamicina por la midecamicina.

Se obtienen 4,4 g del producto esperado, p.f. 86°C.

Análisis:

Calculado : C, 58,95; H, 8,40; N, 1,60.

10 Encontrado: C, 59,15; H, 8,41; N, 1,46

Espectro IR (en solución en cloroformo): banda inten-  
sa a 1280  $\text{cm}^{-1}$ .

EJEMPLO 10

9-Etoxicarbonil-tetrahidromidecamicina de fórmula I, donde

15  $R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$ ,  $X = \text{O}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , saturado en 10,11 y 12,13

Se opera como en el Ejemplo 9 sustituyendo el cloroformio de metilo por cloroformiato de etilo.

Así se obtienen 4,3 g del compuesto esperado, p.f. 82°C.

Análisis:

20 Calculado : C, 59,37; H, 8,50; N, 1,57

Encontrado: C, 59,67; H, 8,59; N, 1,39

Espectro IR (en solución en cloroformo): banda intensa  
a 1275  $\text{cm}^{-1}$ .

25



EJEMPLO 11

9-Butoxicarbonil-tetrahidromidecamicina de fórmula I, donde

$R_1 = C_4H_9$ ,  $X = O$ ,  $R_2 = H$ , saturada en 10,11 y 12,13

Se opera como en el Ejemplo 3 sustituyendo la midecamicina por tetrahidromidecamicina.

De la misma forma se obtienen 6 g de un polvo amarillo, p.f. 84°C.

Análisis:

Calculado : C, 60,17; H, 8,67; N, 1,53 .

Encontrado: C, 60,58; H, 8,63; N, 1,47

Espectro IR (en solución en cloroformo): banda intensa a 1275  $cm^{-1}$ .

EJEMPLO 12

9-Aliloxicarbonil-tetrahidromidecamicina de fórmula I, donde

$R_1 = CH_2=CH-CH_2-$ ,  $X = O$ ,  $R_2 = H$ , saturada en 10,11 y 12,13

Se opera como en el Ejemplo 11 sustituyendo el cloroformiato de butilo por cloroformiato de alilo.

Se obtienen 3,2 g de un polvo amarillento, p.f. 93°C.

Análisis:

Calculado : C, 59,92; H, 8,38; N, 1,55

Encontrado: C, 59,90; H, 8,27; N, 1,42

Espectro IR (en solución en cloroformo): banda intensa a 1268  $cm^{-1}$ .



EJEMPLO 13

1 9-Etiltiocarbonil-tetrahidromidecamicina de fórmula I, donde

$R_1 = C_2H_5$ ,  $X = S$ ,  $R_2 = H$ , saturada en 10,11 y 12,13

5 Se opera como en el Ejemplo 7 sustituyendo la midecamicina por tetrahidromidecamicina.

Se obtienen 7,2 g de un polvo amarillento, p.f. 96°C.

Análisis:

Calculado : C, 58,32; H, 8,34; N, 1,55; S, 3,54

Encontrado: C, 58,37; H, 8,14; N, 1,49; S, 3,37

10 Espectro IR (en solución en cloroformo): bandas intensas a 1135 y 1165  $cm^{-1}$ .

EJEMPLO 14

9-Etoxicarbonil-2'-acetil-midecamicina de fórmula I, donde

15  $R_1 = C_2H_5$ ,  $X = O$ ,  $R_2 = \begin{array}{c} -C-CH_3 \\ || \\ O \end{array}$

20 Se lleva a reflujo durante hora y media una mezcla de 2,6 g del compuesto del Ejemplo 2 y 3 g de anhídrido acético en 40 ml de piridina. Después se añaden 10 ml de metanol y se prosigue el reflujo durante 15 minutos. Se vierte la mezcla en 150 ml de agua y se alcaliniza con sosa diluida hasta pH 8-9. Se extrae dos veces con 100 ml de acetato de etilo y la fase orgánica se lava suficientemente con una solución de ácido clorhídrico 1N, una solución saturada de bicarbonato sódico y agua, se seca sobre sulfato magnésico y se evapora el disolvente a vacío.

25



1 Después de filtrar en una columna de alúmina, el residuo cristaliza en una mezcla de éter-hexano.

Se obtienen 1,65 g de un sólido ligeramente coloreado, p.f. 239°C.

5 Análisis:

Calculado : C, 59,53; H, 7,93; N, 1,51

Encontrado: C, 59,58; H, 7,92; N, 1,38

Espectro IR (en pastilla de bromuro potásico): bandas intensas a  $1230\text{ cm}^{-1}$  (acetato) y  $1260\text{ cm}^{-1}$  (carbonato).

10 Los productos de esta invención han sido estudiados en lo que se refiere a sus propiedades farmacológicas. En especial se ha estudiado su acción bacteriostática tanto in vitro como in vivo así como las tasas en sangre obtenidas después de administración por vía oral.

15 ACCION BACTERIOSTATICA IN VITRO

Este estudio se ha efectuado sobre medio de Mueller-Hinton a pH 7 por el método de las diluciones en medio gelosado.

20 Se efectúa una serie de diluciones a 1/2 de los compuestos a estudiar para obtener unos contenidos del medio de cultivo en producto activo comprendidos entre 0,05 y 50  $\mu\text{g}$  microgramos por mililitro. Se siembran los medios con cepas microbianas Gram-positivas. Después de una estancia en estufa a 37°C de 24 a 48 horas, se determinan las concentraciones  
25 mínimas de inhibición o C.M.I.



1 Los resultados obtenidos con los productos de esta invención se encuentran en la Tabla I en la que figuran igualmente los resultados obtenidos para la Midecamicina.

5 En la Tabla II se encuentran igualmente los resultados obtenidos con dos de los compuestos preparados sobre una muestra más importante de gérmenes Gram-positivos.

#### ACCION ANTIBACTERIANA IN VIVO

10 Se ha determinado la actividad anti-estreptocócica y anti-diplocócica por acción de los productos sobre la enfermedad septicémica del ratón.

15 Los ratones son infectados por inyección intraperitoneal de una solución de un caldo de cultivo de estreptococos o de diplococos pneumoniae. El tratamiento por vía oral tiene lugar dos veces al día durante 3 días y se inicia una hora después de la inoculación de los gérmenes.

Para cada dosis de producto se utiliza un lote de 10 ratones y se compara la mortalidad de los ratones de cada lote con la de un lote testigo infectado pero no tratado. Se prosigue la observación durante 6 días.

20 En la Tabla III se encuentran los resultados obtenidos con uno de los productos de este estudio, el compuesto del Ejemplo 2, en comparación con la Midecamicina.

#### MEDIDA DE LAS TASAS EN PLASMA

##### A. En la rata

25 Se reparten las ratas en lotes de 4 lo más homogéneos



1 posible y se les administra, por vía oral, una cantidad conocida de producto en suspensión en agua engomada mediante una sonda gástrica.

5 En función del tiempo, se sacrifica cada vez un lote de ratas y se toman individualmente muestras de la sangre de cada rata por la vena mesentérica. Después de agregar una cierta cantidad de heparina, se separa el plasma por centrifugación.

10 A partir del plasma así aislado se efectúa la dosificación del producto por un procedimiento biológico. Se opera por el método de difusión en un medio de Mueller-Hinton a pH 8 sobre un germen de ensayo de Sarcinea Lutea ATCC 9341. La valoración se efectúa en cúpula. El plasma se pone en contacto con el germen y a la mañana siguiente se mide el diámetro de inhibición de donde se deduce la concentración con respecto a una gama patrón que va de 0,25 a 8  $\gamma$ /ml.

15 En la Tabla IV dada a continuación están indicadas las tasas en plasma obtenidas para el compuesto del Ejemplo 2, administrado a unas dosis de 100 y 200 mg/kg por vía oral y, con fines comparativos, los resultados obtenidos con la Midecamicina administrada a las mismas dosis.

20 B. En el perro

25 De la misma forma se han determinado las tasas en plasma obtenidas en el perro con una dosis única de 400 mg de compuesto del Ejemplo 2, administrado por vía oral.



1

Los resultados obtenidos figuran en la siguiente Tabla V, comparados con los obtenidos para una dosis igual de Midecamicina.

5

Los productos de la invención pueden ser utilizados en medicina para el tratamiento de las infecciones con gérmenes Gram-positivos y en especial en el tratamiento de las stafilococias y streptococias.

10

Se presentan en formas adecuadas para administración por vía oral (comprimidos, píldoras, suspensiones, geles orales, etc), por inyectable o por vía rectal.

A título de ejemplo, podemos indicar las formulaciones siguientes para el compuesto del Ejemplo 2.

Cápsulas de 200 mg

15

Compuesto del Ejemplo 2	200 mg
Estearato magnésico	5 mg

Para una cápsula nº1

Comprimidos de 200 mg

20

Compuesto del Ejemplo 2	200 mg
Celulosa microcristalina	100 mg
Amberlite IRP88*	20 mg
Estearato magnésico	10 mg

Para un comprimido que pesa 330 mg una vez terminado.

(\* resina cambiadora de ion fabricada por Rohm y Haas)

25

-----



1

Gel oral extemporáneo

Compuesto del Ejemplo 2	0,1 g
Sacarinato sódico	0,0013 g
Ciclamato sódico	0,02 g
5 Glicamil	0,02 g
Carboximetilcelulosa sódica (300 cps)	0,12 g
Aerosil	0,01 g
Azúcar de sémola	4,1607 g
Manitol	3 g
10 Aromatizante	0,586 g

para un papelillo de 8 g a diluir con el contenido de una cucharadita de café de agua.

15

20

25



TABLA I

Actividad antibacteriana in vitro en µg/ml en medio sólido

Especie bacteriana	Mideca micina	Compuesto del Ejemplo n°							
		2	14	3	1	4	7	8	
Cérmenes Gram-positivos									
Staphylococcus Londres	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1,56	0,8	1,56	0,8
Staphylococcus Aureus 521 IP	0,8	0,8	1,56	0,8	0,8	1,56	1,56	1,56	1,56
Atreptococcus Pyogenes GR. A 561 IP	0,2	0,2	1,56	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4
Streptococcus Agalactiae GR. B 55 118 IP	0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4	0,4	0,8	1,56
Streptococcus Faecalis GR. D A 23	0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4	0,4	0,8	0,8
Sarcina Lutea ATCC 9 341	0,8	0,8	1,56	1,56	0,8	1,56	1,56	1,56	1,56
Bacillus Cereus ATCC 9 634	0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,8	0,8	0,8	1,56
Bacillus Subtilis ATCC 6 633	0,8	0,8	0,8	1,56	0,8	0,8	0,8	0,8	1,56
Listeria Monocytogenes 5 734	0,8	0,8	0,8	1,56	0,8	1,56	1,56	1,56	1,56
Corynebacterium Abbott	0,4	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4	0,4	0,8

1

5

10

15

20

25

1

TABLA I

Actividad antibacteriana in vitro en ug/ml en medio s6

Especie bacteriana	Mideca micina	Compuesto del				
		2	14	3		
5	<u>Gérmenes Gram-positivos</u>					
	Staphylococcus Londres	0,8	0,8	0,8	0	
	Staphylococcus Aureus 521 IP	0,8	0,8	1,56	0,8	0
	Atreptococcus Pyogenes GR. A 561 IP	0,2	0,2	1,56	0,2	0
10	Streptococcus Agalactiae GR. B 55 118 IP	0,4	0,4	0,8	0,8	0
	Streptococcus Faecalis GR. D A 23	0,4	0,4	0,8	0,8	0
	Sarcina Lutea ATCC 9 341	0,8	0,8	1,56	1,56	0
	Bacillus Cereus ATCC 9 634	0,4	0,4	0,8	0,8	0
	Bacillus Subtilis ATCC 6 633	0,8	0,8	0,8	1,56	0
15	Listeria Monocytogenes 5 734	0,8	0,8	0,8	1,56	0
	Corynebacterium Abbott	0,4	0,2	0,4	0,4	0

20

25

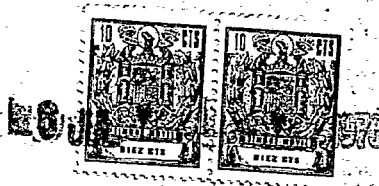


TABLA I

steriana in vitro en  $\mu\text{g/ml}$  en medio sólido

Mideca micina	Compuesto del Ejemplo n°						
	2	14	3	1	4	7	8
0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1,56	0,8
0,8	0,8	1,56	0,8	0,8	1,56	1,56	1,56
0,2	0,2	1,56	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4
0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4	0,8	1,56
0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4	0,8	0,8
0,8	0,8	1,56	1,56	0,8	1,56	1,56	1,56
0,4	0,4	0,8	0,8	0,4	0,8	0,8	1,56
0,8	0,8	0,8	1,56	0,8	0,8	0,8	1,56
0,8	0,8	0,8	1,56	0,8	1,56	1,56	1,56
0,4	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4	0,8



1

TABLA I (continuación)

Actividad antibacteriana in vitro en µg/ml en medio sólido

<u>Especie bacteriana</u>	<u>Compuesto del Ejemplo n°</u>											
	9	5	6	10	11	13	12	10	11	13	12	
<u>Gémenes Gram-positivos:</u>												
Staphylococcus Londres	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	1,56	
Staphylococcus Aureus 521 IP	3,12	1,56	1,56	3,12	6,2	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	
Streptococcus Pyogenes GR. A 561 IP	0,4	0,2	0,2	0,8	0,8	0,8	0,4	0,8	0,8	0,8	0,4	
Streptococcus Agalactiae GR. B 55 118 IP	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	1,56	
Streptococcus Faecalis GR. D A 23	0,8	0,4	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12	
Sarcina Lutea ATCC 9 341	3,12	1,56	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	
Bacillus Cereus ATCC 9 634	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	1,56	
Bacillus Subtilis ATCC 6 633	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	1,56	
Listeria Monocytogenes 5 734	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56	3,12	3,12	3,12	1,56	
Corynebacterium Abbott	0,8	0,4	0,4	0,8	1,56	1,56	0,8	1,56	1,56	1,56	1,56	

10

15

20

25

1

TABLA I (continuación)

Actividad antibacteriana in vitro en ug/ml es:

	<u>Especie bacteriana</u>	<u>Compuesto d</u>		
		<u>9</u>	<u>5</u>	
	<u>Gémenes Gram-positivos</u>			
5	Staphylococcus Londres	1,56	0,8	0
	Stapylococcus Aureus 521 IP	3,12	1,56	1
	Streptococcus Pyogenes GR. A 561 IP	0,4	0,2	0
	Streptococcus Agalactiae GR. B 55 118 IP	1,56	0,8	0
10	Streptococcus Faecalis GR. D A 23	0,8	0,4	0
	Sarcina Lutea ATCC 9 341	3,12	1,56	1
	Bacillus Cereus ATCC 9 634	1,56	0,8	0
	Bacillus Subtilis ATCC 6 633	1,56	0,8	0
	Listeria Monocytogenes 5 734	1,56	0,8	0
15	Corynebacterium Abbott	0,8	0,4	0

20

25



TABLA I (continuación)

Actividad antibacteriana in vitro en ug/ml en medio sólido

	Compuesto del Ejemplo n°						
	9	5	6	10	11	13	12
	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56
?	3,12	1,56	1,56	3,12	6,2	3,12	3,12
	0,4	0,2	0,2	0,8	0,8	0,8	0,4
	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56
	0,8	0,4	0,8	1,56	3,12	3,12	3,12
	3,12	1,56	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12
	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56
33	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56
34	1,56	0,8	0,8	1,56	3,12	3,12	1,56
	0,8	0,4	0,4	0,8	1,56	1,56	1,56



1

TABLA II

Gérmenes	C.M.I., µg/ml		
	Mideca micina	Compuesto del Ej. 2	Compuesto del Ej. 14
Staphylococcus Londres	0,4	0,4	0,4
5 " 209 IP	0,4	0,4	0,4
" Aureus Gervais D 319	0,8	0,8	0,8
" Aureus E 120	0,8	0,8	1,56
" Albus P C I 1200	0,8	0,8	1,56
10 Streptococcus Pyogenes gr A 561 IP	0,2	0,2	0,4
" " gr A D 313	0,2	0,2	0,2
" Agalactiae gr B	0,4	0,4	0,4
" Pyogenes gr C	1,56	1,56	1,56
" Faecalis var. Zymogenes	1,56	0,8	0,8
15 " " gr D 5 434 IP	0,4	0,4	0,4
" " gr D F 262	1,56	1,56	1,56
Sarcina Lutea ATCC 9341	0,1	0,1	0,1
20 Listeria Monocytogenes 5 844 IP	0,8	0,8	0,8
" " Ramisse type IV	1,56	1,56	1,56
" " Joubert E 102	0,8	0,8	0,8

25



1

TABLA II (continuación)

Gérmenes		C.M.I., µg/ml		
		Midecamicina	Compuesto del Ej. 2	Compuesto del Ej.14
Erysipelothrix	Insidiosa E 159	0,8	0,8	0,8
"	" a 27	0,8	0,8	0,8
Bacillus Cereus	ATCC 10 702	0,4	0,4	0,8
"	" ATCC 9 634	0,4	0,4	0,8
Bacillus Subtilis	Leugar A 156	0,4	0,4	0,8

5

10

TABLA III

Producto	Dosis, mg/ kg x 6 días	Porcentaje de supervivencia al 6º día	
		Diplococos	Streptococos
Testigos	0	0	0
Compuesto del Ej.2	200	50	70
	400	100	100
Midecamicina	200	20	40
	400	80	100

15

20

25



1

TABLA IV

Tiempo de toma de la muestra (en minutos)	Dosis administrada, 100 mg/kg		Dosis administrada, 200 mg/kg	
	Compuesto del Ej.2 (µg/ml)	Midecamicina µg/ml	Compuesto del Ej.2 (µg/ml)	Midecamicina µg/ml
30	1,61	0,39	9,43	2,45
120	4,52	2,43	9,57	6,82
180	3,8	1,87	7,27	8,23
240	1,88	1,4	7,6	5,54
300	1,29	1	3,4	4,2
420	0,54	0,26	-	-

10

15

20

25

1

TABLA IV

Tiempo de toma de la muestra (en minutos)	Dosis administrada, 100 mg/kg		Dosis administrada,	
	Compuesto del Ej.2 (µg/ml)	Midecamicina µg/ml	Compuesto del Ej.2 (µg/ml)	Mi
30	1,61	0,39	9,43	
120	4,52	2,43	9,57	
180	3,8	1,87	7,27	
240	1,88	1,4	7,6	
300	1,29	1	3,4	
420	0,54	0,26	-	

5

10

15

20

25

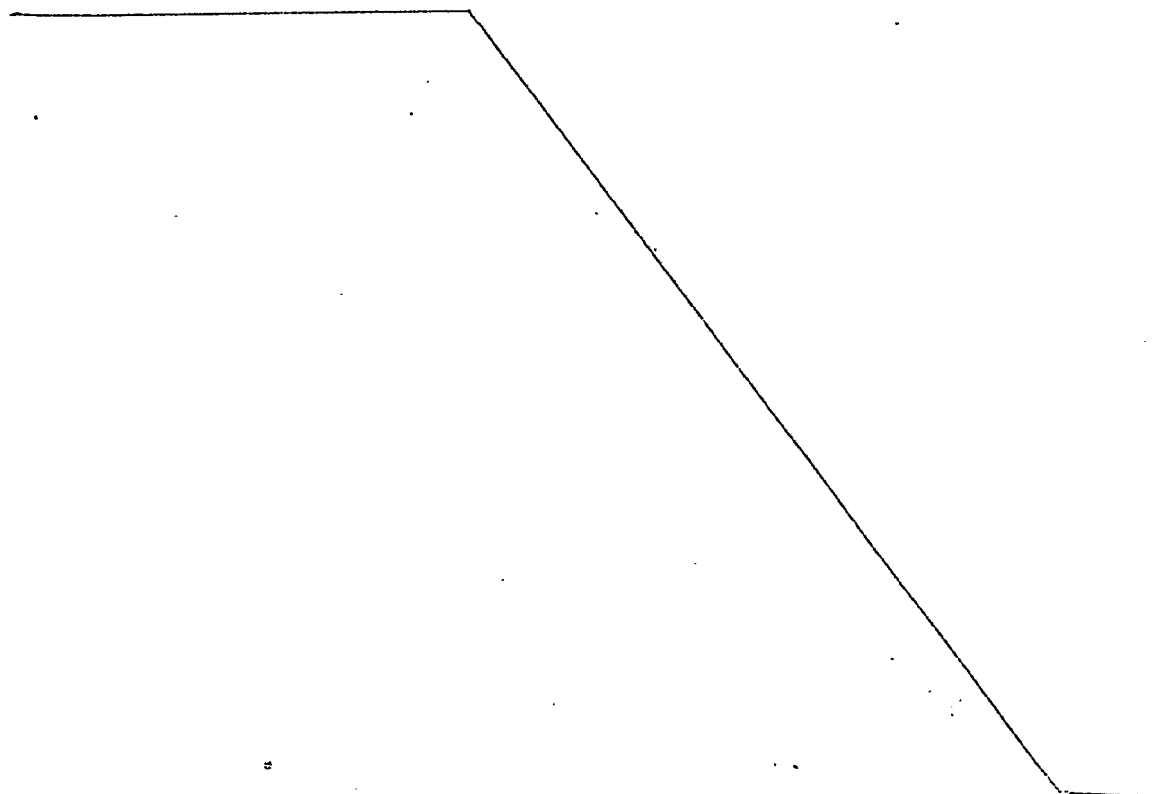




TABLA IV

<u>Concentración, 100 mg/kg</u>	<u>Dosis administrada, 200 mg/kg</u>	
<u>Midecamicina µg/ml</u>	<u>Compuesto del Ej.2 (µg/ml)</u>	<u>Midecamicina µg/ml</u>
0,39	9,43	2,45
2,43	9,57	6,82
1,87	7,27	8,23
1,4	7,6	5,54
1	3,4	4,2
0,26	-	-

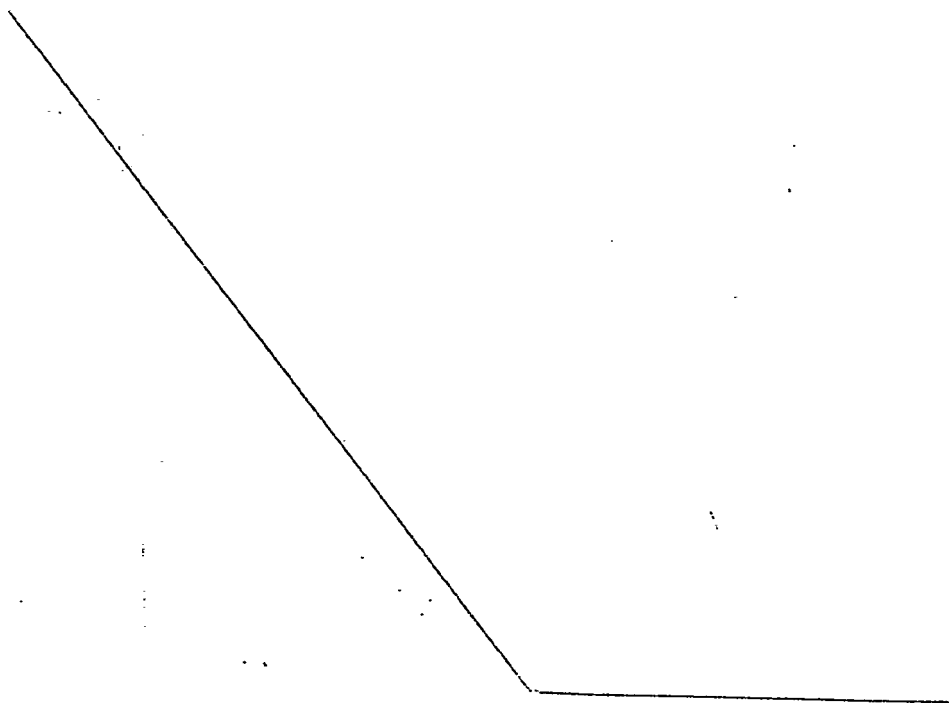




TABLA V

Tasas en plasma en el perro, dosis única de 400 mg por vía oral

<u>Tiempo de toma de la muestra después de la administración</u>	<u>Concentración en ug/ml de plasma Compuesto del Ejemplo 2</u>	<u>Midecamicina</u>
30 minutos	3,4	0,96
60 "	2,84	3,2
90 "	2,22	2,46
120 "	1,46	1,34
180 "	0,84	1,1
240 "	0,6	0,78
300 "	0,46	0,46
420 "	0,23	0,18

1

5

10

15

20

25

1

TABLA V

Tasas en plasma en el perro, dosis única de 40

<u>Tiempo de toma de la muestra después de la administración</u>	<u>Concentración en <math>\mu\text{g/ml}</math> de pl Compuesto del Ejemplo 2</u>
30 minutos	3,4
60 "	2,84
90 "	2,22
120 "	1,46
180 "	0,84
240 "	0,6
300 "	0,46
420 "	0,23

5

10

15

20

25

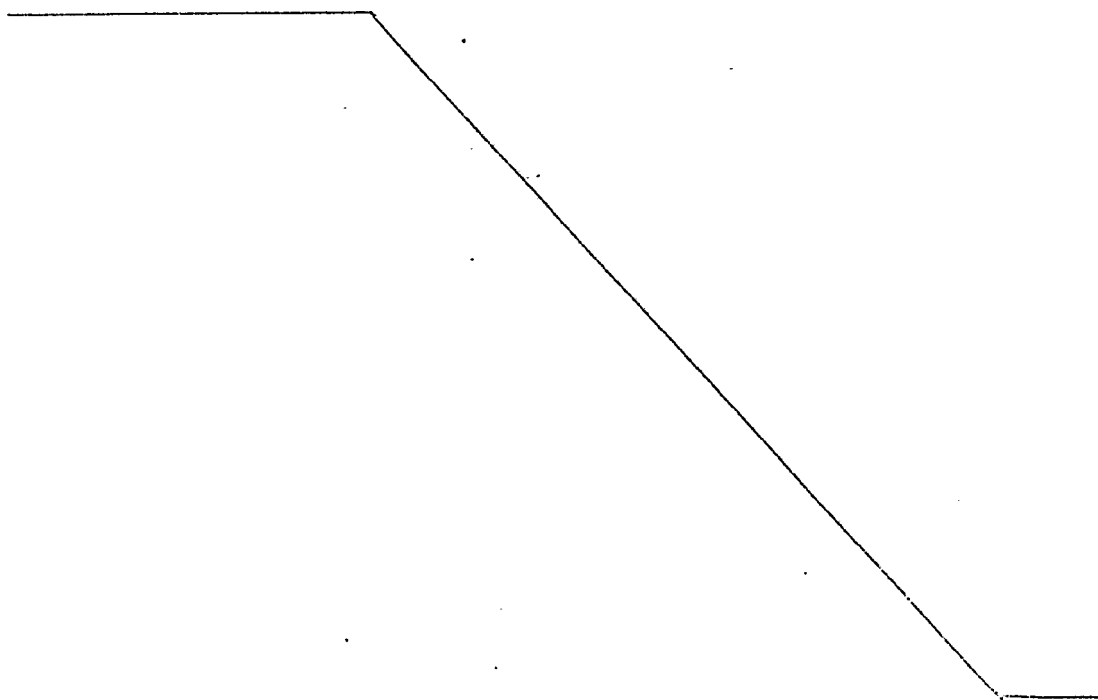
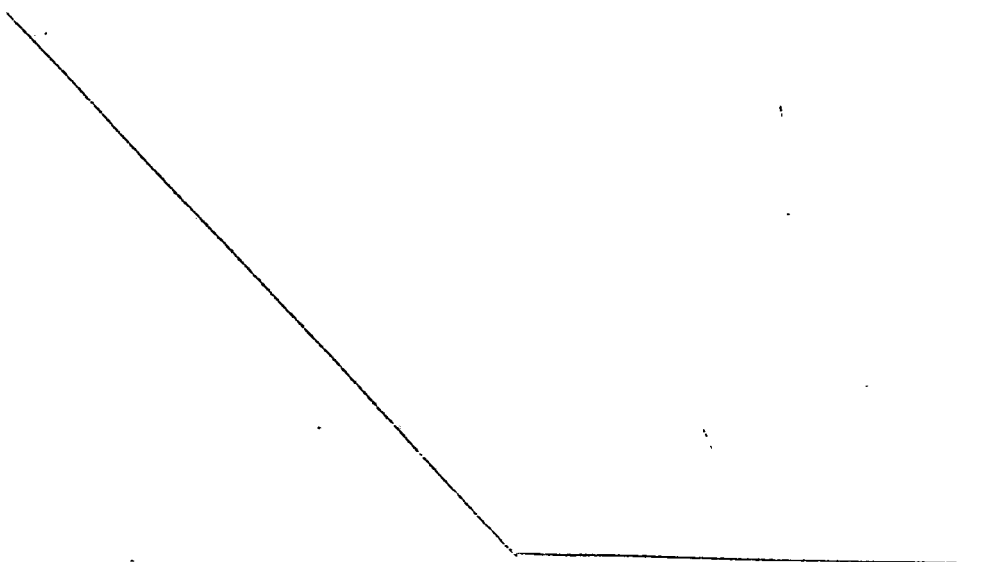




TABLA V

plasma en el perro, dosis única de 400 mg por vía oral

<u>Compuesto del Ejemplo 2</u>	<u>Concentración en ug/ml de plasma</u>	<u>Midecamicina</u>
	3,4	0,96
	2,84	3,2
	2,22	2,46
	1,46	1,34
	0,84	1,1
	0,6	0,78
	0,46	0,46
	0,23	0,18





1

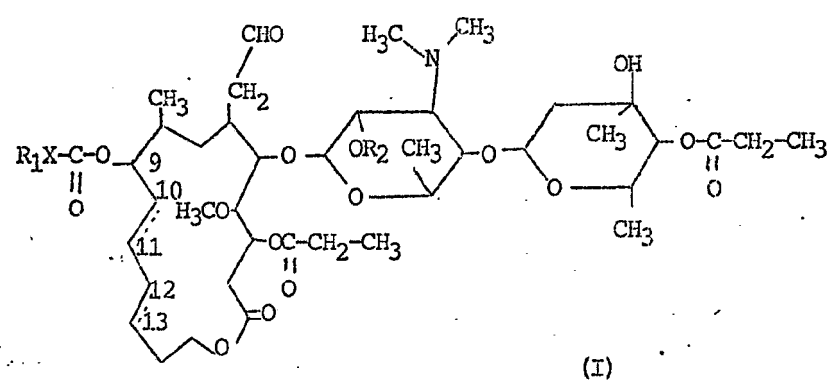
En resumen la Patente de Invención que se solicita  
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

5

1. Un procedimiento de preparación de compuestos  
derivados de la Midecamicina representados por la fórmula:

10



15

donde X representa un átomo de oxígeno o de azufre;  $R_1$  es un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, un grupo alqueno o un grupo arilo y  $R_2$  es un átomo de hidrógeno o un grupo acilo inferior; las líneas de puntos indican la presencia eventual de dobles enlaces, entendiéndose que los dos dobles enlaces de las posiciones 10,11 por una parte y 12,13 por otra parte existen simultáneamente o no existen ninguno de los dos; cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccionar la Midecamicina o la tetrahidromidecamicina con un cloroformiato o un tiocloroformiato de fórmula:

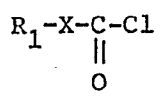
25

----

*ME*



1



5

donde X representa un átomo de oxígeno o de azufre y R<sub>1</sub> es el definido anteriormente, en piridina, para obtener los compuestos de fórmula I donde R<sub>2</sub> es un átomo de hidrógeno y después hacer reaccionar eventualmente estos últimos compuestos con anhídrido acético en piridina para obtener los compuestos de fórmula I donde R<sub>2</sub> es un grupo acilo.

10

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, para la preparación de 9-metoxicarbonil-midecamicina, caracterizado por hacer reaccionar Midecamicina con cloroformiato de metilo en piridina, extrayendo el producto obtenido con acetato de etilo y lavando.

15

3. Un procedimiento según la Reivindicación 1, para la preparación de 9-etoxicarbonil-midecamicina, caracterizado por hacer reaccionar Midecamicina y cloroformiato de etilo en piridina y a la temperatura ambiente.

20

4. Un procedimiento según la Reivindicación 1, para la preparación de 9-butoxicarbonil-midecamicina, caracterizado por hacer reaccionar Midecamicina con cloroformiato de butilo en piridina y a la temperatura ambiente.

25

5. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE COMPUESTOS DERIVADOS DE LA MIDEGAMICINA.

*MGE*



Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de veintiseis páginas mecanografiadas.

Madrid, 6 julio 1.976  
BERNARDO UNGRIA  
P.P.

5.

10

15

20

25

ME