



ESPAÑA

(10) ES	(11) NUMERO 460.172	(12) A1
(13)	(14) FECHA DE PRESENTACION 28-6-1977	

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES:	(32) FECHA	(33) PAIS
(31) NUMERO		
78085/76	30-6-76	Japón
96713/76	12-8-76	" "

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D, A61K	(52) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
--------------------------	--	--

(54) TITULO DE LA INVENCION
"UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN COMPUESTO DE PENICILINA"

(71) SOLICITANTE (ES)
DAINIPPON PHARMACEUTICAL CO., LTD. (FJ052-K30)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
25, 3-chome, Doshomachi, Higashi-ku, Osaka, Japón

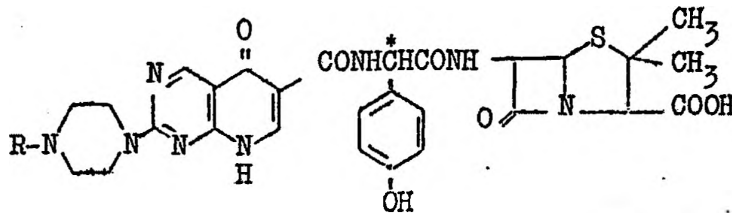
(72) INVENTOR (ES)
Shinsaku Minami y Yoshiyuki Takase

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE
DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P-66.305)

Esta invención se refiere a un procedimiento para preparar nuevos compuestos de penicilina, que tienen una actividad antibacteriana superior.

Los nuevos compuestos de penicilina de la invención son compuestos de la siguiente fórmula:



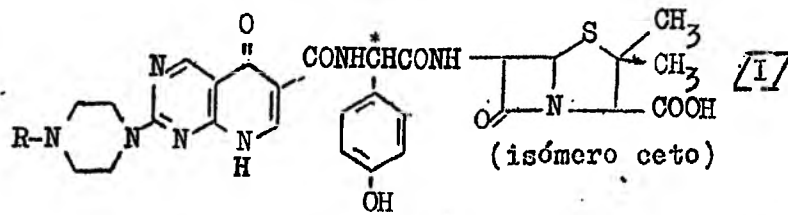
15 en la que R es un grupo formilo o acetilo, y sus sales no tóxicas, farmacéuticamente aceptables.

Las sales no tóxicas, farmacéuticamente aceptables, son sales formadas entre los compuestos de penicilina de la fórmula I y las bases inorgánicas u orgánicas no tóxicas, farmacéuticamente aceptables, e incluyen, por ejemplo, sales metálicas no tóxicas de los compuestos de penicilina, tales como sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales sódicas o potásicas) y sales de metales alcalino-térreos (por ejemplo, sales cálcicas o magnésicas). Las sales no tóxicas preferidas son las sales sódicas y potásicas, prefiriéndose en particular las primeras.

Los compuestos de penicilina de la fórmula I existen en dos formas tautómeras (tipo ceto y tipo enol) de las fórmulas I' y I'' que se muestran a continuación. En la presente solicitud, estos tautómeros es-

...tén expresados, de modo inclusivo, por el tipo ceto de la fórmula [I] siguiente.

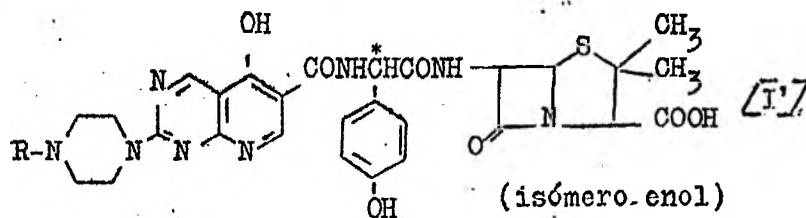
5



10



15



20

Como el átomo de carbono con asterisco, adscribible al carbono alfa del resto de para-hidroxifenilglicina de la fórmula [I] y [I'], es un carbono asimétrico, los compuestos de penicilina de la invención expresados en la fórmula [I], con relación a la configuración estérica concerniente a este carbono, incluyen un isómero D, un isómero L y una mezcla de estos isómeros (a la que se hará referencia como mezcla D,L). Todos estos isómeros y mezclas están expresados por la fórmula [I] indicada arriba.

25

30

Algunas veces, los compuestos de penicilina de la fórmula [I] existen en forma de hidratos, y tales hi

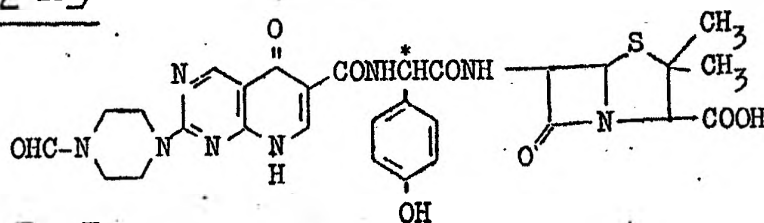
dratos están incluidos también dentro de los compuestos de penicilina de la invención expresados por la fórmula [I]

Un objeto de esta invención es proporcionar nuevos compuestos de penicilina que tienen una actividad antibacteriana superior contra las bacterias gram-negativas, así como contra las bacterias gram-positivas, y un procedimiento para su preparación.

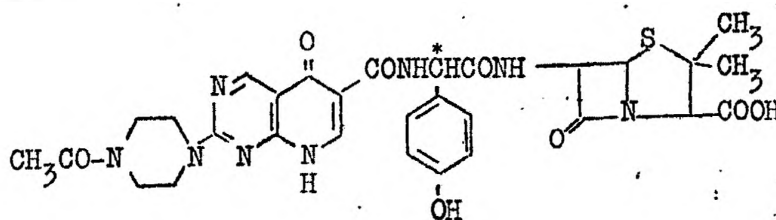
Otro objeto de esta invención es proporcionar nuevos compuestos de penicilina que tienen una actividad antibacteriana superior contra el género pseudomonas, incluidas la pseudomonas aeruginosa, las bacterias resistentes a la ampicilina, y que tienen una toxicidad muy baja para los animales de sangre caliente incluidos los seres humanos.

Los nuevos compuestos de penicilina de la invención están expresados inclusivamente por la fórmula [I], pero se expresan individualmente mediante las siguientes fórmulas [Ia] y [Ib].

Fórmula [Ia]



Fórmula [Ib]



El átomo de carbono con asterisco de cada una de las fórmulas $[Ia]$ y $[Ib]$, es un átomo de carbono asimétrico y, con relación a su configuración estérica, cada una de ellas incluye un isómero D, un isómero L y una mezcla D, L. Por razones de conveniencia, al compuesto de penicilina de la fórmula Ia se hará referencia, algunas veces, como "derivados de formilpiperazina", y a los compuestos de penicilina de la fórmula Ib, como "derivados de acetilpiperazina".

Los isómeros D muestran una actividad antibacteriana especialmente superior y una baja toxicidad entre los derivados de formilpiperazina y de acetilpiperazina, y se nombran de la manera siguiente:

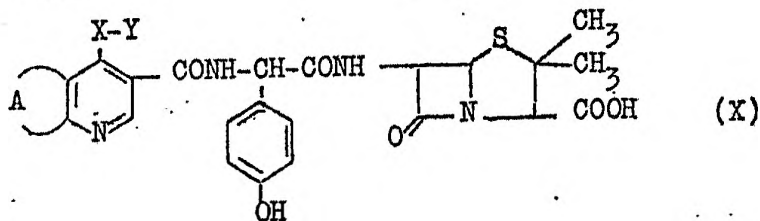
Derivado de D-Formilpiperazina

D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil))-5-oxopirido(2,3-d)-pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencil penicilina.

Derivado de D-acetilpiperazina

D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil))-5-oxopiridido(2,3-d)-pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

La patente de Estados Unidos 4.003.887 y la patente británica correspondiente 1.446.484, describen los derivados de Amoxicilina N-acilados de la fórmula siguiente:



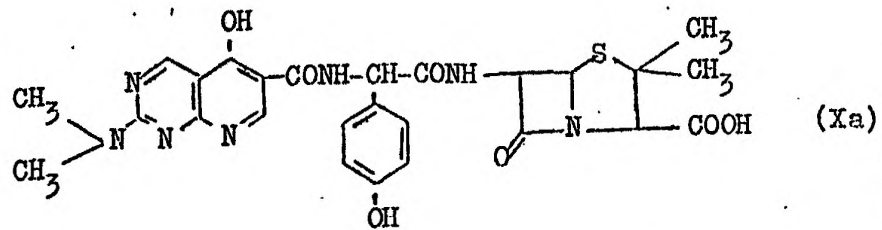
10 en la que el anillo A es un anillo bencénico o un anillo heteroaromático de 5 o 6 miembros, que contiene uno o dos átomos de nitrógeno como heteroátomos, en los que puede haber presentes uno o más grupos alcohol inferior, alcoxi inferior, alcohol inferior-tio, haloalcohol inferior, alcoholeno inferior-dioxi, halógeno, hidroxilo, nitro, amino libre o protegido, alcohol inferior-amino, dialcohol (inferior)-amino, y alcanóilo inferior-amino; X es oxígeno o azufre, e Y es hidrógeno, alcoxi inferior-carbonilo o alcanóilo inferior.

20 Los nuevos compuestos de penicilina de la invención expresados por la fórmula [I] ([Ia] y [Ib]), no caen dentro de la definición de la fórmula (X) descrita en la patente de Estados Unidos 4.003.887 y en la correspondiente patente británica.

25 La patente de Estados Unidos 4.003.887 describe un derivado O-acílico de un compuesto de la fórmula siguiente:

30

5



10

15

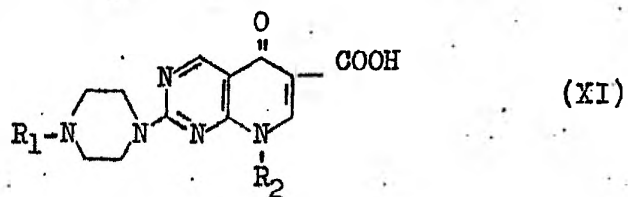
20

que resulta de la acilación del grupo hidroxilo del núcleo bencénico del derivado de amoxicilina (Xa) (al que se hará referencia como derivado de 2-dimetilaminopiridopirimidina, en el que el grupo amino de la amoxicilina está acilado por un resto de ácido piridopirimidinocarboxílico substituido por un grupo dimetilamino en la posición 2. El compuesto (Xa) es estructuralmente lo más similar a los nuevos compuestos de penicilina de esta invención. Sin embargo, como se muestra en las tablas I a III, los nuevos compuestos de penicilina de esta invención, se caracterizan por su actividad antibacteriana muy superior a la del compuesto (Xa), especialmente contra la *Pseudomonas aeruginosa*, y por su toxicidad para los animales de sangre caliente, muy inferior a la del compuesto (Xa).

25

Los presentes inventores describieron previamente que los compuestos de la fórmula

30



27077

en la que R_1 es un resto seleccionado de uno del grupo consistente en hidrógeno, alcohol que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxialcohol que tiene de 2 a 4 átomos de carbono, bencilo, bencilo sustituido por metoxi, fenilo, propargilo o acilo seleccionado del grupo consistente en alcanóilo inferior, trifluoroacetilo, alcoxi inferior-carbonilo y alcoxi inferior-carbonilo sustituido por fenilo, y R_2 es un resto seleccionado de uno del grupo consistente en hidrógeno, alcohol que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, alcohol que tiene de 2 a 4 átomos de carbono sustituido por hidroxilo o halógeno, vinilo, alilo o bencilo, poseen una actividad antibacteriana especialmente superior contra las bacterias gram-negativas, cuando R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 es un grupo etilo (ácido pipemídico) (patente de Estados Unidos 3.887.557). Como se muestra en las tablas I a III, este compuesto no muestra ninguna actividad antibacteriana notable contra las bacterias gram-positivas, mientras que los nuevos compuestos de penicilina de esta invención poseen una actividad antibacteriana superior contra las bacterias gram-positivas, así como contra las bacterias gram-negativas. Se señala, además, que los nuevos compuestos de penicilina de la invención, difieren estructuralmente del compuesto, debido a que la posición 2 del resto de ácido piridopirimidinocarboxílico como factor estructural, está sustituido específicamente por un grupo 4-formil- ó 4-acetil-1-piperazinilo, y el átomo de nitrógeno en la posición 8 no está sustituido por un sustituyente, tal como un grupo etilo.

Como resultado del estudio de los nuevos compuestos de penicilina de esta invención y de muchos compues

tos que tienen estructuras similares, los presentes inventores encontraron que, debido a que la posición II del res-
to piridopirimidina está sustituida por un grupo 1-pipera-
zinilo que contiene dos átomos de nitrógeno, los compues-
tos de penicilina de la invención expresados por la fórmu-
la I poseen una actividad antibacteriana notablemente supe-
rior, especialmente contra la Pseudomonas aeruginosa, a la
de los compuestos de penicilina resultantes de la substitu-
ción de la posición 2 por un grupo amino substituído que
contiene un átomo de nitrógeno, por ejemplo un grupo dimetil-
amino, o un grupo heterocíclico que contiene un átomo de ni-
trógeno, por ejemplo un grupo 1-pirrolidinilo; y que debido
a que la posición 4 del grupo piperazinilo está sustituida
por un grupo formilo o acetilo, los compuestos de penicili-
na de la invención poseen una toxicidad muy baja contra
los animales de sangre caliente, al tiempo que conservan
una alta actividad antibacteriana in vivo.

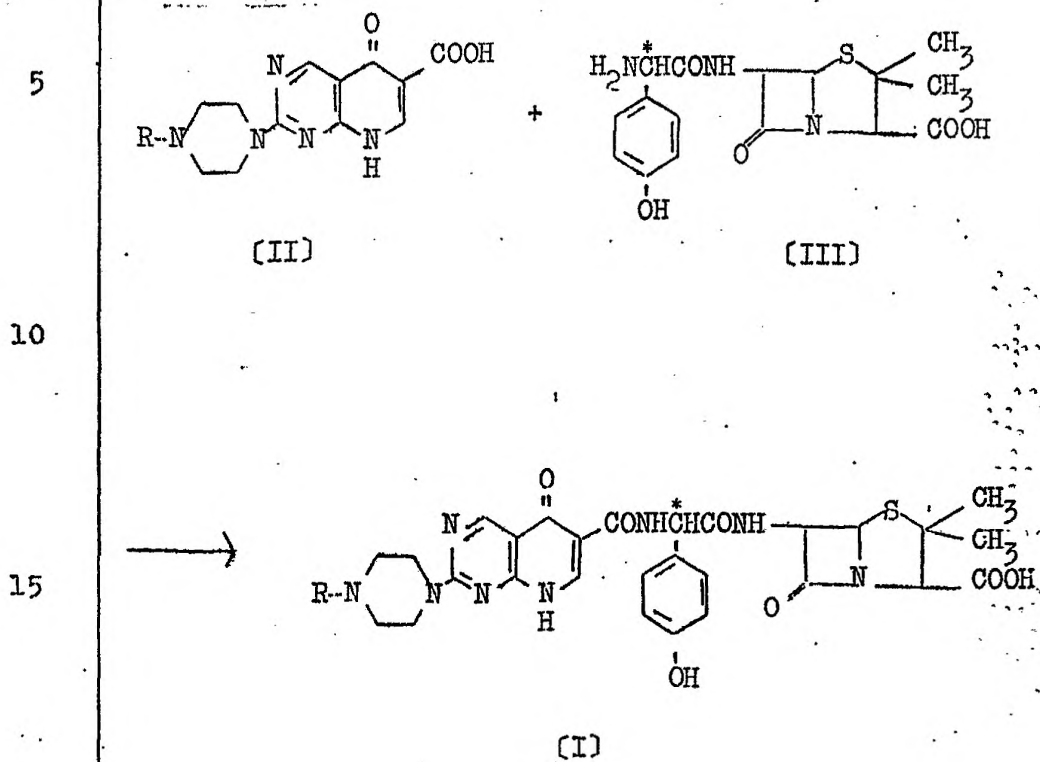
Los nuevos compuestos de penicilina de la fórmu-
la I y sus sales no tóxicas, farmacéuticamente aceptables,
pueden ser producidos, por ejemplo, por el procedimiento
(a) o por el procedimiento (b) que se describen a continua-
ción.

Procedimiento (a):

El plan general del procedimiento (a) puede
mostrarse mediante el siguiente esquema de reacción.

30

27077

Esquema de reacción (a)

20 en el que R, en las fórmulas [I] y [II], es el mismo que se ha definido anteriormente.

De acuerdo con el procedimiento (a), el nuevo compuesto de penicilina de esta invención, de la fórmula [I] o su sal no tóxica, farmacéuticamente aceptable, se prepara haciendo reaccionar un ácido 2-(4-formil- ó 4-acetil-1-piperazinil)-5,8-dihidro-5-oxopirido(2,3-d)-pirimidina-6-carboxílico (al que se hace referencia de modo genérico como "ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico"; a su producto 4-formil sustituido se hace referencia como

25

30

"2-FP sustituido" en lugar de "2-sustituido"; y a su producto 4-acetil sustituido se hace referencia como "2-AP sustituido" en lugar de "2-sustituido"), o su sal inorgánica u orgánica, o su derivado reactivo en el grupo carboxilo, con alfa-amino-para-hidroxibencilpenicilina (en forma abreviada AHBP) o su sal inorgánica u orgánica, o un derivado convertible en AHBP en un medio acuoso o no acuoso y, después, si se desea, hidrolizando o hidrogenolizando catalíticamente el producto resultante para formar un compuesto de penicilina de esta invención y, si se desea adicionalmente, convirtiendo el producto de reacción en una sal no tóxica, farmacéuticamente aceptable.

Los derivados reactivos en el grupo carboxilo del ácido 2-sustituido piridopirimidinocarboxílico de la fórmula [II] incluyen todos los derivados reactivos conocidos y utilizados en el sector de la producción de penicilinas o cefalosporinas.* Son ejemplos específicos, sus anhídridos de ácido formados con ácidos tales como ácidos alcohilcarbónicos (por ejemplo, ácido etilcarbónico, ácido isopropilcarbónico, ácido iso o sec-butilcarbónico), ácidos alcohol carboxílicos (por ejemplo, ácido piválico), ácido pentanoico, ácido isopentanoico, ácido 2-etilbutírico, y ácido 2-etilhexanoico), ácidos fosfóricos (por ejemplo, ácido dietilfosfórico), y ácidos sulfónicos (por ejemplo, ácido metanosulfónico); sus ésteres reactivos, tales como el éster para-nitrofenílico, el éster triclorofenílico, el éster paranitrofeniltio, el éster de N-hidroxipiperidina, el éster de N-hidroxisuccinimida o el éster de N-hidroxifthalimida; sus amidas reactivas, tales como N-carbonilimidazol ó N-carboniltetrazol; sus halogenuros de ácido, tales como

-cloruro de ácido; y sus azidas ácidas.

Los derivados convertibles en AHBP expresados por la fórmula [III] son muy conocidos en el sector de la producción de penicilinas semisintéticas, y pueden ser utilizados en el procedimiento (a) de esta invención. Ejemplos típicos de tales derivados son el éster trimetilsilílico, éster tritílico, éster para-nitrobencílico, y éster fenacílico. Los derivados obtenidos mediante la protección del grupo hidroxilo del núcleo bencénico del AHBP mediante, por ejemplo, un grupo etoxicarbonilo o benciloxicarbonilo, pueden ser utilizados también.

Las sales inorgánicas u orgánicas del ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico de la fórmula [II] y/o del AHBP de la fórmula [III], incluyen las sales de metales alcalinos, tales como las sales sódicas o potásicas, y las sales con bases orgánicas, tales como trietilamina ó N-etilmorfolina.

La reacción anterior se realiza a -40 a 40°C, durante 1 a 10 horas, en un disolvente, preferiblemente en presencia de una base. El disolvente, la base y las otras condiciones de reacción, son substancialmente las mismas que las utilizadas en la química de las penicilinas.

Por ejemplo, cuando se utiliza un anhídrido derivado del ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico de la fórmula [II] y cloroformiato de etilo, la reacción se lleva a cabo bajo enfriamiento o a la temperatura ambiente, en presencia de una amina terciaria, tal como trietilamina o N,N-dietilanilina, en un disolvente inerte, tal como acetona, tetrahidrofurano, dimetilformamida, cloroformo, diclorometano o hexametilfosforeamida, una mezcla

de tales disolventes inertes, agua, o un disolvente orgánico acuoso.

5 Cuando se utiliza un éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico de la fórmula [II], la reacción se lleva a cabo a 0-10°C durante una o dos horas, en presencia de una base, tal como trietilamina, lutidina, hidróxido sódico o carbonato sódico en dimetilformamida, diclorometano, dioxano, agua o una mezcla de estos disolventes.

10 La reacción del ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico de la fórmula [II] o de su sal, con AHBP de la fórmula [III] o su sal, se lleva a cabo ventajosamente en presencia de un agente de condensación, tal como N, N'-díciclohexil-carbodiimida.

15 Cuando se hace reaccionar el ácido 2-sustituído piridopirimidinocarboxílico o su sal o su derivado reactivo del grupo carboxilo, con un derivado convertible en AHBP de la fórmula [III], se forma algunas veces un producto de reacción que tiene un resto de AHBP, convertible en el compuesto de penicilina de esta invención, de acuerdo con las condiciones de reacción. Por ejemplo, ello
20 ocurre cuando el grupo carboxilo del producto de reacción está en forma de un éster, tal como un éster silílico, o cuando el grupo hidroxilo del núcleo bencénico del producto de reacción está protegido por un grupo protector, tal como un grupo acilo. En tal caso el producto se hidroliza o hidrogenoliza catalíticamente, de modo adicional, de una
25 manera acostumbrada, conocida en la química de las penicilinas, para formar el compuesto de penicilina de esta invención.
30

Si se desea, el compuesto de penicilina de la fórmula [I] así formado, puede convertirse en su sal no tóxica, farmacéuticamente aceptable, de una manera acostumbrada.

5 Puesto que el átomo de carbono con asterisco, adscribible al carbono alfa del radical para-hidroxifenilglicina de la fórmula [III] en el esquema de reacción (a), es un átomo de carbono asimétrico, el AHBP de la fórmula [III] incluye un isómero D, un isómero L y una mezcla D,L.

10 Si el isómero D del AHBP se utiliza como material de partida en el procedimiento (a), el compuesto de penicilina correspondiente de esta invención puede obtenerse en una forma D. Si se utiliza la mezcla D,L de AHBP como material de partida, se obtiene un compuesto de penicilina de esta invención en una forma mixta D,L. Como se ha
15 indicado en lo que antecede, las nuevas penicilinas de esta invención en la forma D, poseen actividades antibacterianas especialmente altas.

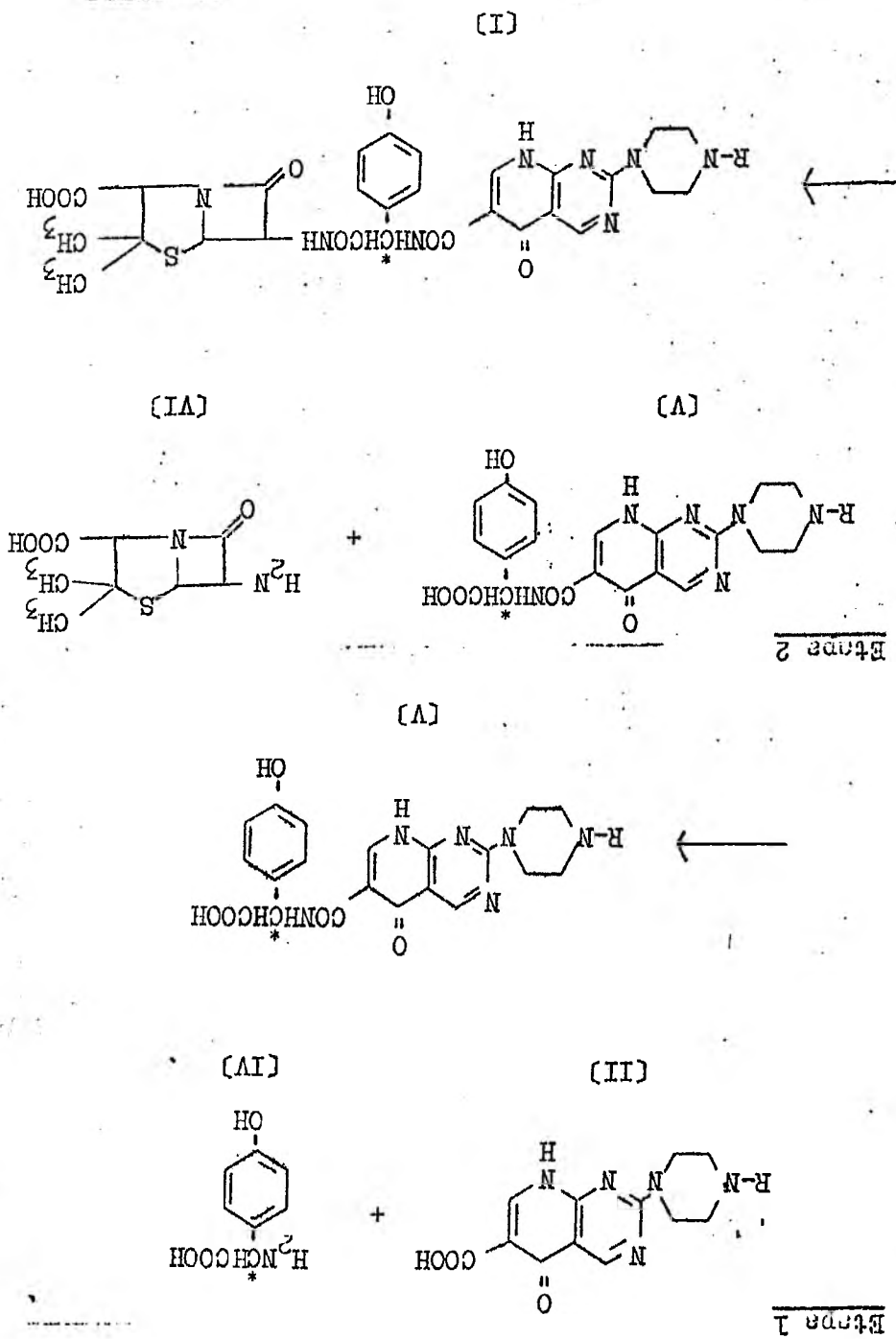
20 De aquí que en el procedimiento (a), el tipo de isómero de AHBP de la fórmula [III] utilizado como material de partida, se seleccione de acuerdo con el isómero deseado del producto final.

Procedimiento (b):

25 Los nuevos compuestos de penicilina de esta invención pueden producirse también mediante el procedimiento (b) mencionado a continuación. El plan general del procedimiento (b) puede expresarse mediante el siguiente esquema de reacción (b).

30

Esquema de reacción (b)



27077

30

25

20

15

10

5

en las que R es el mismo que se ha definido anteriormente.

El procedimiento (b) mostrado en forma esquemática anteriormente, consta de la etapa 1 y de la etapa 2. La etapa 1 comprende hacer reaccionar el ácido piridopirimidinocarboxílico 2-substituído de la fórmula [II], su sal inorgánica u orgánica o su derivado reactivo en el grupo carboxilo, con una para-hidroxifenilglicina de la fórmula [IV], o con su sal inorgánica u orgánica o con su derivado, para formar un ácido alfa-(5,8-dihidro-2-(4-formil o 4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido (2,3-d) pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxifenil-acético (al que se hará referencia como piridopirimidinocarbonil glicina 2-substituída o PPCG). La etapa 2 comprende hacer reaccionar la PPCG, su sal o su derivado reactivo en el grupo carboxilo, con ácido 6-aminopenicilánico de la fórmula [VI] (al que se hará referencia como 6-APA), con su sal inorgánica u orgánica o con su derivado convertible en 6-APA, hidrolizar o hidrogenolizar catalíticamente, de manera opcional, el producto resultante, para formar un compuesto de penicilina de la fórmula [I] y convertir opcionalmente el producto de reacción en su sal no tóxica, farmacéuticamente aceptable.

La sal inorgánica u orgánica o el derivado reactivo del grupo carboxilo, del ácido piridopirimidinocarboxílico 2-substituído de la fórmula [II] utilizado en la etapa 1, puede ser el mismo que los descritos con relación al procedimiento (a).

La reacción de la etapa I puede efectuarse a -40 a +40°C, preferiblemente a una temperatura inferior a la temperatura ambiente, en el mismo disolvente acuoso o

no acuoso que se ha descrito anteriormente con relación al procedimiento (a).

La PPCG de la fórmula \boxed{V} formada mediante la reacción de la etapa 1, es un compuesto nuevo.

5 En la etapa 2, se prefiere utilizar la PPCG en forma de sal o de su derivado reactivo en el grupo carboxilo.

10 Tales sales y derivados reactivos son los mismos que se han descrito anteriormente con relación a las sales y derivados reactivos en el grupo carboxilo del ácido piridopirimidinocarboxílico 2-substituido utilizado en el procedimiento (a). Un derivado de la PPCG, en el cual el grupo hidroxilo del núcleo bencénico está protegido por un grupo acilo, puede utilizarse como compuesto de partida

15 en la etapa 2.

Las sales del 6-APA o los derivados convertibles en 6-APA utilizados en la etapa 2, pueden ser sustancialmente los mismos que las sales o derivados de AHBP descritos anteriormente con relación al procedimiento (a), a excepción de un derivado de AHBP, en el cual el grupo hidroxilo del núcleo bencénico está protegido. Se prefiere utilizar 6-APA en forma de tal derivado en esta reacción.

20

Los derivados de 6-APA preferidos son, por ejemplo, su éster trimetilsilílico, su éster tritílico, su éster para-nitrobencílico, su éster fenacílico y su derivado O,N-bistrimetilsilílico.

25

Es especialmente ventajoso hacer reaccionar el derivado del 6-APA con la sal o con el derivado reactivo en el grupo carboxilo de la PPCG, en un medio apróximo.

30

Cuando se utiliza 6-APA en forma de ácido car

boxílico libre o de su sal, la reacción de la etapa 2 puede efectuarse, también, en un medio prótico o acuoso.

Preferiblemente, la reacción de la etapa 2 se realiza en un disolvente a una temperatura de -40 a 40°C, durante un tiempo de una hora a dos días, preferiblemente en presencia de una base. El disolvente, la base y las demás condiciones de reacción, son sustancialmente las mismas que las utilizadas en la química de la penicilina.

Por ejemplo, cuando un anhídrido derivado de la PPCG de la fórmula $\left[\text{V} \right]$ y cloroformiato de etilo han de hacerse reaccionar con un derivado del 6-APA, la reacción se efectúa enfriando o a la temperatura ambiente, en presencia de una amina terciaria, tal como trietilamina o N,N-dimetilanilina, en un disolvente inerte, tal como acetona, tetrahidrofurano, dimetilformamida, cloroformo, diclorometano, hexametilfosforemida, o una mezcla de estos disolventes inertes.

Cuando se ha de hacer reaccionar un éster N-hidroxisuccinimida de la PPCG con un derivado convertible en 6-APA, la reacción se efectúa a 0 a 20°C, durante un tiempo de una hora a 2 días, en presencia de una base, tal como trietilamina o lutidina, en dimetilformamida, diclorometano, dioxano o una mezcla de éstos.

Cuando la PPCG de la fórmula $\left[\text{V} \right]$ o su sal o su derivado reactivo en el grupo carboxilo o su derivado que tiene un grupo hidroxilo protegido en el núcleo bencénico, han de hacerse reaccionar con un derivado convertible en 6-APA, se forma algunas veces un producto de reacción que tiene un resto de 6-APA y/o PPCG convertible en el compuesto de penicilina de esta invención, dependiendo

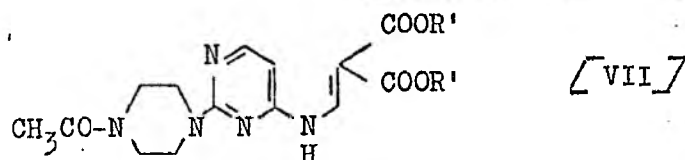
de las condiciones de reacción. Por ejemplo, ello ocurre cuando el grupo carboxilo del producto de reacción está en forma de un éster, tal como un éster silílico, o cuando el grupo hidroxilo del grupo bencénico del producto de reacción, está protegido por un grupo protector, tal como un grupo acilo. En tal caso, el producto de reacción se hidroliza o se hidrogenoliza catalíticamente, de una manera acostumbrada, conocida en la química de las penicilinas, para obtener el compuesto de penicilina de esta invención.

Los compuestos de penicilina obtenidos mediante el procedimiento (a) o mediante el procedimiento (b) pueden estar en forma de ácido carboxílico libre o de su sal, de acuerdo con los compuestos de partida, condiciones de reacción, etc. que se hayan seleccionado. El ácido carboxílico se convierte en una sal por tratamiento con una sustancia básica, tal como 2-etilhexanoato sódico, hidróxido sódico, o carbonato sódico. La sal, por otra parte, se trata con una sustancia ácida, si se desea, para formar un ácido carboxílico libre.

El aislamiento, la purificación, la extracción y la recristalización, así como otros tratamientos posteriores del producto, se efectúan de acuerdo con métodos acostumbrados en la química de las penicilinas.

El compuesto de partida de la fórmula [II] puede obtenerse mediante ciclización intramolecular de un compuesto de la fórmula general

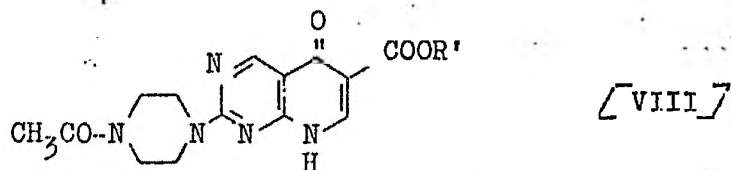
5



10

en la que R' es un grupo alcoholo que contiene de 1 a 6 átomos de carbono, para formar un compuesto de la fórmula general

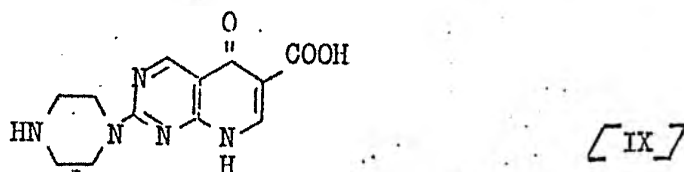
15



20

en la que R' es el mismo que se ha definido anteriormente, mediante hidrólisis del compuesto [VIII] para formar un compuesto de la fórmula

25



30

y, seguidamente, mediante la formilación o acetilación del compuesto [IX].

La formilación puede efectuarse haciendo reaccionar el compuesto de la fórmula [IX] con cualquier agente de formilación convencional, tal como N-formilimidazol, formiato de para-nitrofenilo, una mezcla de anhídrido acético y ácido fórmico, o una mezcla de ácido fórmico y formamida, opcionalmente en presencia de un disolvente inerte, tal como dimetilformamida. La reacción puede realizarse generalmente durante 30 minutos a varias horas, preferiblemente entre 1 y 3 horas. La temperatura de reacción es de 20 a 120°C, preferiblemente de 60 a 90°C. Cuando el agente de formilación utilizado es líquido, el agente puede utilizarse en exceso, para hacer que sirva también como disolvente.

La acetilación puede efectuarse mediante reacción del compuesto de fórmula [IX] con cualquier agente de acetilación convencional, tal como anhídrido acético, cloruro de acetilo, N-acetilimidazol, acetoxipiridinas o una cetena, opcionalmente en presencia de un disolvente inerte, tal como dimetilformamida. La reacción puede realizarse generalmente durante un tiempo de 30 minutos a varias horas, preferiblemente de 1 a 3 horas. La temperatura de reacción es de 20 a 120°C, preferiblemente de 60 a 90°C. Cuando el agente de acetilación utilizado es líquido, el agente puede ser utilizado en exceso para que sirva también como disolvente.

El ácido piridopirimidinocarboxílico 2-AP substituído, puede obtenerse también mediante hidrólisis del compuesto de la fórmula [VIII] en condiciones suaves.

en una mezcla de ácido clorhídrico y etanol por ejemplo.

La reacción de ciclización intramolecular para convertir el compuesto de la fórmula [VII] en el compuesto de la fórmula [VIII] y la hidrólisis para la conversión del compuesto de fórmula [VIII] en el compuesto de fórmula [IX], pueden efectuarse de acuerdo con la memoria de la patente de Estados Unidos 3.887.557.

La preparación de los nuevos compuestos de penicilina de la invención, y sus actividades farmacológicas, se describen a continuación. La siguiente descripción consta de cinco partes.

Parte I.

Las referencias 1 a 9 que muestran la preparación del compuesto de partida de la fórmula [II] utilizada en el procedimiento (a) (Referencias 1 a 7), y la preparación del compuesto de partida de la fórmula [V] utilizado en el procedimiento (D) (Referencia 7 y 8).

Parte II

Los Ejemplos 1 a 16 que muestran la preparación de los nuevos compuestos de penicilina de la invención, mediante los procedimientos (a) y (b).

Parte III

Las referencias 10 y 11 que muestran la preparación de los compuestos que están fuera del alcance de la invención, pero para los cuales no se ha conocido ningún método de preparación. Estas referencias sirven para valorar las acciones farmacológicas de los compuestos de peni-

- cilina de esta invención.

Parte IV

5 La referencia 12 que muestra la producción de productos farmacéuticos, utilizando los compuestos de penicilina de esta invención.

Parte V

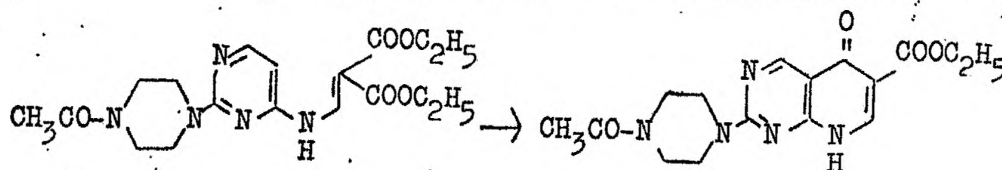
10 Los ensayos números 1, 2 y 3 y las Tablas I, II y III, que muestran las acciones farmacológicas de los compuestos de penicilina de la invención, de la Amoxicilina (un agente antibacteriano conocido), de los derivados de penicilina fuera del alcance de la invención, que tienen estructuras similares a los compuestos de penicilina
15 de esta invención, etc.

Al principio de cada uno de los ejemplos y referencias de las partes I a III, se muestra mediante una fórmula de reacción, el esquema del procedimiento empleado.

20 (Parte I) Referencias 1 a 9 que muestran el procedimiento para la preparación de los compuestos de partida utilizados en la presente invención.

Referencia 1

25

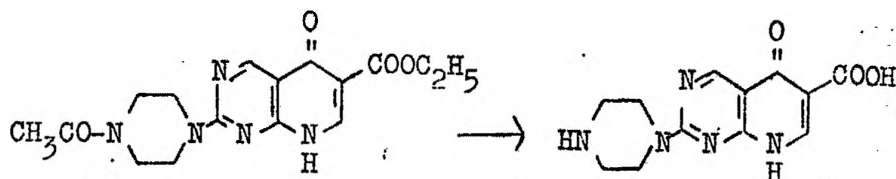


30

27077

A 16 ml de éter difenílico, mantenidos a 250-255°C, se añadieron, con agitación, 2,0 g de N-(2-(4-acetil-1-piperazinil)-4-pirimidinil)-aminometilennalonato de dietilo. La mezcla se sometió a reflujo suave durante 10 minutos y, seguidamente, se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. A la mezcla se añadieron 12 ml de n-hexano. El precipitado resultante se recogió, se lavó con etanol y se recristalizó en etanol, para dar 1,52 g de 2-(4-acetil-1-piperazinil)-5,8-dihidro-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxilato de etilo, de punto de fusión 300 a 302°C. (descomposición).

Referencia 2

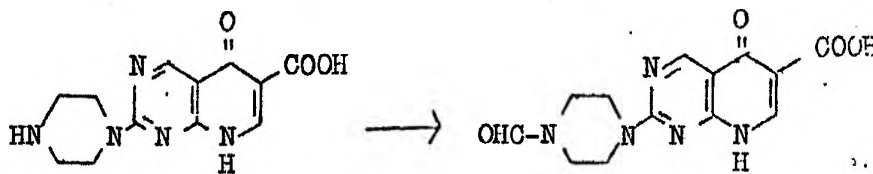


Una suspensión de 1.000 g de 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxilato de etilo y 800 ml de ácido clorhídrico concentrado en una mezcla de 1.200 ml de agua y 1000 ml de etanol, se sometió a reflujo durante 8 horas y se dejó en reposo durante la noche. Los cristales precipitados se recogieron, se lavaron con etanol, y se disolvieron mediante calentamiento en 10 litros de una solución acuosa de 250 g de hidróxido sódico. La solución se filtró, se ajustó a pH 7-8 con ácido acético, y se dejó en reposo durante la

noche mientras se enfriaba con hielo. El precipitado cristalino se recogió, se lavó con agua y se secó a 110°C, para dar 625 g de ácido 5,8-dihidro-2-(1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico, de punto de fusión 299 a 305°C (descomposición).

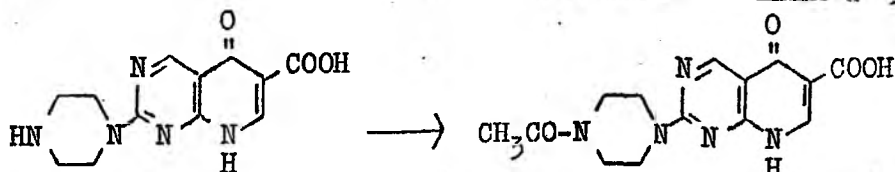
Análisis Calculado para $C_{12}H_{13}N_5O_3$: C, 52,36; H, 4,76; N, 25,45
 Encontrado C, 52,18; H, 4,63; N, 25,32

Referencia 3



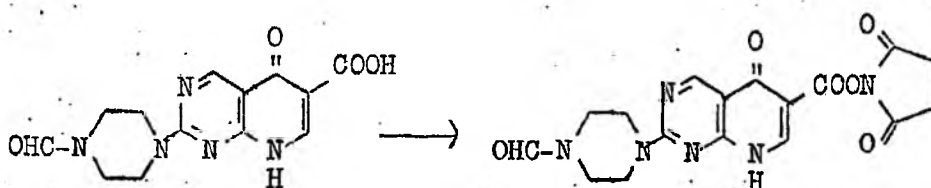
Se añadieron 140 ml de ácido fórmico, gota a gota, a 200 ml de anhídrido acético enfriados sobre un baño de hielo. La solución se calentó a 50°C durante 15 minutos y, seguidamente, se enfrió a 5°C. A la solución se añadieron 70 g de ácido 5,8-dihidro-2-(1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico. La mezcla se calentó a 80°C durante 3 horas y, seguidamente, se enfrió. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se lavaron con éter etílico para dar 72,5 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico, de punto de fusión superior a los 300°C.

Análisis Calculado para $C_{13}H_{13}N_5O_4$: C, 51,48; H, 4,32; N, 23,09
 Encontrado C, 51,41; H, 4,47; N, 23,04

Referencia 4

10 Por el mismo procedimiento que se ha descrito en la referencia 3, se obtuvieron 933 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico a partir de 900 g de ácido 5,8-dihidro-2-(1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 3.200 ml de anhídrido acético, de punto de fusión 15 298 a 300°C.

Análisis Calculado para $C_{14}H_{15}N_5O_4$: C, 52,99; H, 4,77; N, 22,07
Encontrado: C, 52,92; H, 4,57; N, 21,91

Referencia 5

Una suspensión de 273 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 299 ml de trietilamina en 3.500 ml de di 30 clorometano seco, se agitó bien a la temperatura ambiente,

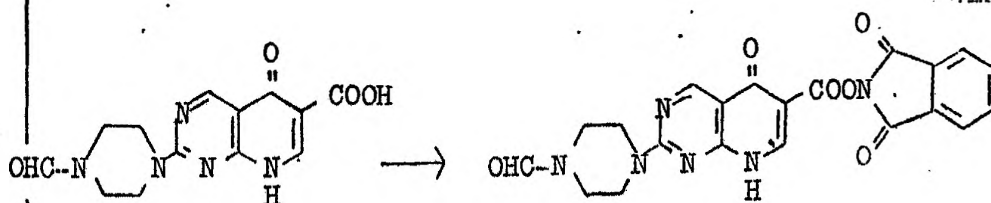
durante una hora. A la suspensión se añadieron, gota a gota, 221 g de cloroformiato de isopropilo, enfriando a 0-10°C, y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. A la mezcla se añadió una solución de 207 g de N-hidroxi succinimida en 350 ml de dimetilformamida, y la mezcla resultante se mantuvo a 5-10°C durante otras dos horas más. El producto cristalino se recogió por filtración y se lavó sucesivamente con 2.000 ml de agua y con 2.000 ml de acetona, para dar 326 g de N-(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-b)pirimidina-6-carboniloxi)succinimida, de punto de fusión superior a los 300°C.

Análisis Calculado para

$C_{17}H_{16}N_6O_6$: C, 51,00; H, 4,03; N, 20,99

Encontrado: C, 50,70; H, 3,89; N, 20,84

Referencia 6



Una suspensión de 6 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 6,1 ml de trietilemina en 100 ml de diclorometano seco, se agitó bien a la temperatura ambiente, durante una hora. A la suspensión se añadieron, gota a gota a 0-5°C, 3,8 ml de cloroformiato de etilo y la mezcla de

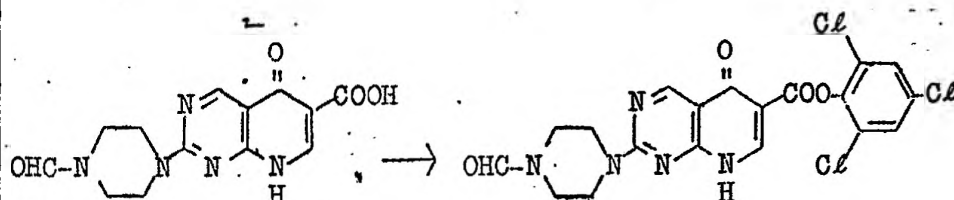
reacción se agitó durante una hora a 5-7°C. El material insoluble se separó por filtración y al filtrado se añadió una solución de 7,19 g de N-hidroxiftalimida en 10 ml de dimetilformamida. La mezcla resultante se mantuvo a la temperatura ambiente durante 2 horas. El producto cristalino se recogió por filtración y se lavó sucesivamente con diclorometano y acetona para dar 8,4 g de N-(5,8-dihidro-2(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboniloxi)ftalimida, de punto de fusión 285 a 288°C (descomposición).

Análisis calculado para

$C_{21}H_{16}O_6N_6$: C, 56,25; H, 3,60; N, 18,74

Encontrado: C, 56,03; H, 3,54; N, 18,59

Referencia 7



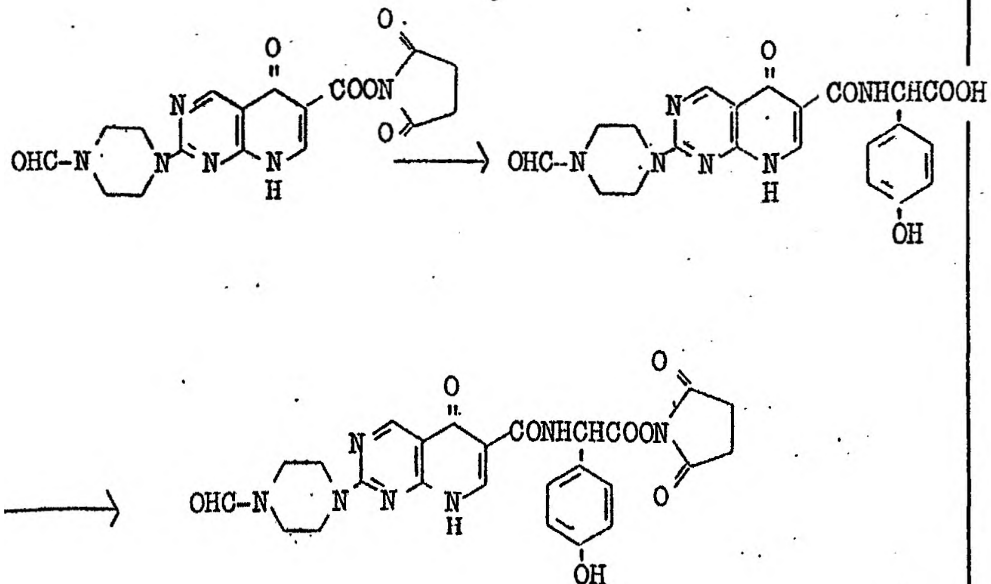
Una suspensión de 6 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 6,1 ml de trietilamina en 100 ml de diclorometano seco, se agitó bien a la temperatura ambiente, durante una hora. A la suspensión se añadieron a 0-5°C, 3,8 ml de cloroformato de etilo, y la mezcla de reacción se agitó durante una hora a 5-7°C. El material insoluble

se separó por filtración y al filtrado se añadió una solución de 8,68 g de 2,4,6-triclorofenol en 30 ml de diclorometano. La mezcla de reacción se mantuvo a la temperatura ambiente durante 3 horas. El producto cristalino se recogió por filtración y se lavó con diclorometano para dar 8,2 g de 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopiridina(2,3-d)pirimidina-6-carboxilato de 2,4,6-triclorofenilo, de punto de fusión 285 a 290°C (descomposición).

Análisis calculado para:

10 $C_{19}H_{14}O_4N_5Cl_3$: C, 47,28; H, 2,92; N, 14,50
 Encontrado: C, 47,12; H, 3,22; N, 14,72

Referencia 8



30

Una suspensión de 3,3 g de D-para-hidroxife

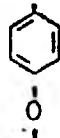
27077


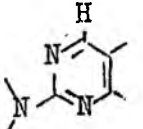
5 nilglicina y 5,6 ml de trietilamina en 50 ml de dimetilfor-
 mamida seca, se agitó a la temperatura ambiente durante
 una hora. A la suspensión se añadieron 8,0 g de N-(5,8-
 -dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxo-pirido(2,3-d)pi-
 rimidina-6-carboniloxi)succinimida. La mezcla se agitó a
 5°C durante una hora y, seguidamente, se agitó a la tempe-
 10 ratura ambiente durante 3 horas adicionales. El precipita-
 do resultante se recogió y se disolvió en agua helada. La
 solución acuosa se acidificó con ácido clorhídrico al 1.0%.
 Los cristales precipitados se recogieron y se recristali-
 zaron en metanol para dar ácido D-alfa-(5,8-dihidro-2-(4-
 -formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-car-
 boxamido)-para-hidroxifenilacético.

15 IR (KBr): ν c=O 1710 cm^{-1}

RMN (DMSO- d_6 , δ):

5.40 (1H, d, $J=7\text{Hz}$ >N-CH-CO-),



8.12 (1H, s, -N  N-CHO), 9.12 (1H, s, )

25 Análisis calculado para

$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 53,61; H, 4,71; N, 17,87

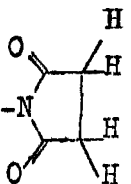
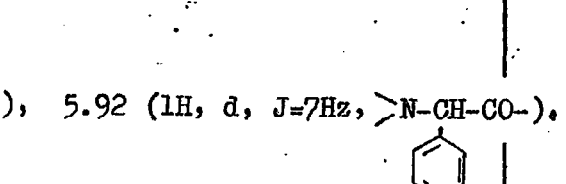
Encontrado: C, 53,87; H, 4,49; N, 17,55

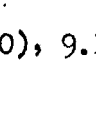
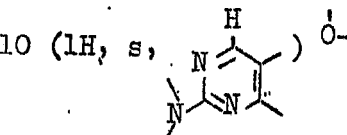
30 A una solución de 9,0 g de ácido D- α -(5,8-di-
 hidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-b)pirimi

dina-6-carboxamido)-para-hidroxifenilacético y 4,6 g de N-hidroxisuccinimida en 100 ml de dimetilformamida seca, se añadieron 5,8 g de dicitclohexilcarbodiimida a -10°C . La mezcla se agitó a $-10 - 0^{\circ}\text{C}$ durante una hora y, seguidamente, se dejó en reposo durante la noche a la temperatura ambiente. El precipitado se separó por filtración y al filtrado se añadieron 500 ml de agua helada. Los cristales precipitados se recogieron y se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución en acetonitrilo se secó sobre sulfato magnésico anhidro y se concentró bajo presión reducida. Los cristales resultantes se recogieron para dar 6 g de N-(D-alfa-(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazil)-5-oxopirido[2,3-d]pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxifenilacetoxi)-succinimida.

IR (KBr): $\nu_{\text{C=O}}$ 1730, 1780, 1810 cm^{-1}

RMN (DMSO- d_6 , δ):

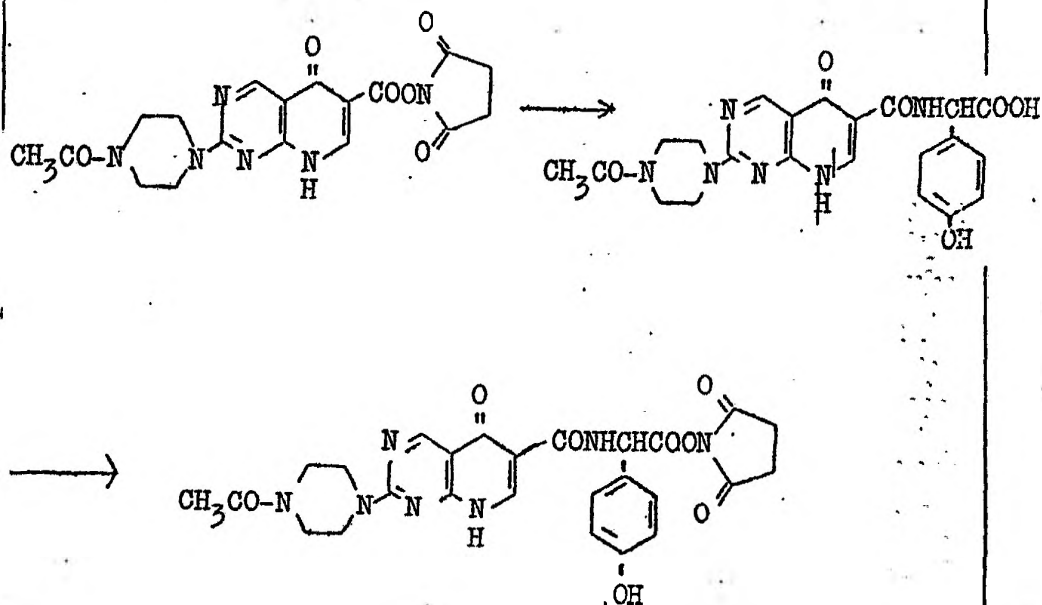
2.78 (4H, s, , 5.92 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, ).

8.12 (1H, s, , 9.10 (1H, s, ).

25

30

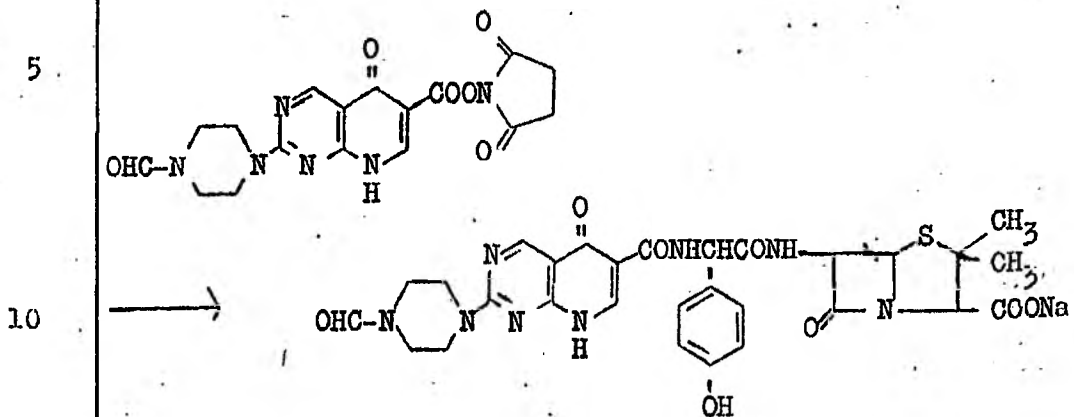
27077

Referencia 9

20 Por el mismo procedimiento que se ha descrito en la referencia 8, se obtuvo N-(D-α-(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-3-carboxamido)-para-ahidroxi-acetoxi)-succinimida a partir de D-para-hidroxifenilglicina y N-(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido[2,3-d]pirimidina-6-carboniloxi)succinimida.

(Parte II)- Ejemplos 1 a 16 que muestran la producción de los compuestos de penicilina (I) de la invención.

30

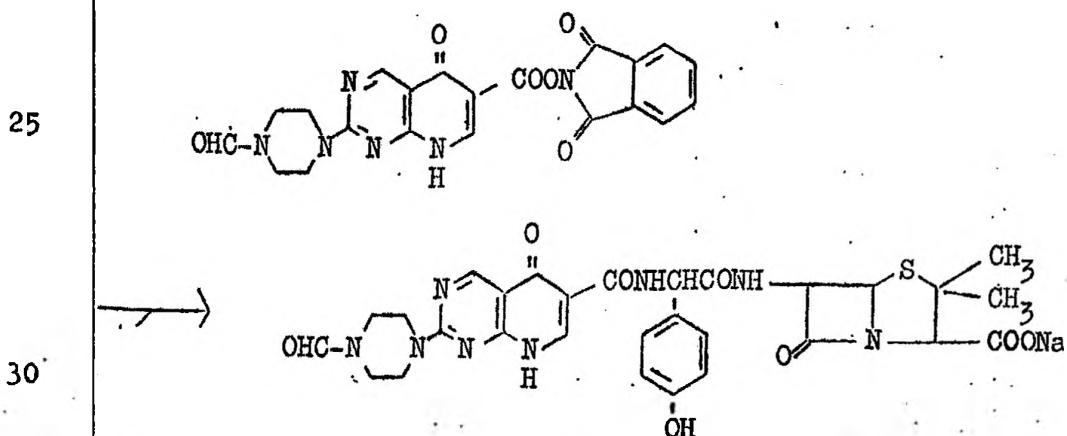
Ejemplo 1

A 2.000 ml de una solución acuosa de 22 g de hidróxido sódico se añadieron sucesivamente a 0-2°C, con enfriamiento, 230 g de D- α -amino-para-hidroxibencilpenicilina y 200 g de N-(5,8-dihidro-2-4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboniloxi)succinimida y la mezcla se agitó durante media hora. A la mezcla se añadieron 550 ml de una solución de hidróxido sódico 1 N y la mezcla resultante se mantuvo durante una hora adicional y, después, se filtró. Al filtrado se añadieron 3.000 ml de agua helada. La solución se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó dos veces con 4.000 ml de agua helada y se disolvió en un volumen suficiente de una solución de hidróxido sódico al 4% para ajustar el pH 6,5. La solución acuosa se filtró y el filtrado se liofilizó para dar 324 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazi-

A una solución de 230 g de D- α -amino-para-
 -hidroxibencilpenicilina y 76 ml de trietilamina en 1.000
 ml de dimetilformamida seca, se añadieron a 0-2°C, 200 g
 de N-(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido
 5 (2,3-d)pirimidina-6-carboniloxi)succinimida y la mezcla
 se agitó durante 1,5 horas. Sucesivamente, se añadió a
 la mezcla una solución al 30% de 2-etilhexanoato sódico en
 335 ml de n-butanol y 7.000 ml de acetona. El precipitado
 10 resultante se recogió por filtración, se lavó con acetona
 y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se aci-
 dificó con ácido clorhídrico al 10% y los cristales preci-
 pitados se recogieron, se lavaron bien con agua y se disol-
 15 vieron en una solución de hidróxido sódico al 2%. La so-
 lución se ajustó a pH 6,5 y se filtró. El filtrado se lio-
 filizó para dar 289 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-
 -2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-
 -6-carboxamido)-para-hidroxibencil penicilina.

Este compuesto se identificó con el compuesto
 del Ejemplo 1, mediante comparación de los espectros IR y
 20 RMN.

Ejemplo 3

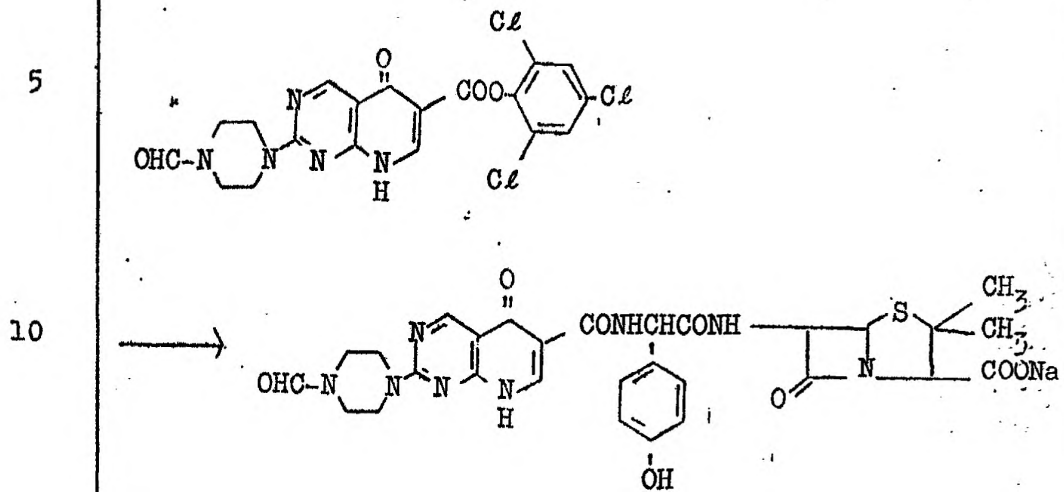


27077

A una solución de 4,61 g de D- α -amino-para-
-hidroxibencilpenicilina y 1,53 ml de trietilamina en 30 ml
de dimetilformamida seca, se añadieron 4,48 g de N-(5,8-
-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)piri-
5 midina-6-carboniloxi)ftalimina y la mezcla de reacción se
agitó a la temperatura ambiente durante una hora. El mate-
rial insoluble se separó por filtración y al filtrado se
añadieron sucesivamente una solución al 30% de 2-etilhexa-
noato sódico en 7,3 ml de N-butanol y 300 ml de acetona.
10 El precipitado resultante se recogió por filtración, se la-
vó con acetona y se disolvió en agua helada. La solución
acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El
precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en
60 ml de dimetilformamida. La solución se trató con 1,5 g
15 de carbón vegetal y se filtró. Al filtrado se añadieron,
sucesivamente, una solución al 30% de 2-etilhexanoato sódico
en 7 ml de n-butanol y 300 ml de acetona. El precipita-
do se recogió y se disolvió en agua helada. La solución
acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El
20 precipitado resultante se recogió, se lavó con agua y se
disolvió en una solución de hidróxido sódico al 2%, para
ajustar el pH a 6,5. La solución acuosa se filtró y liofi-
lizó para dar 4,83 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-
-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido (2,3-d)pirimidina-6-
25 -carboxamido)-para-hidroxibencil penicilina.

Este compuesto se identificó con el compuesto
del Ejemplo 1 por comparación de los espectros IR y RMN.

Ejemplo 4



15

20

25

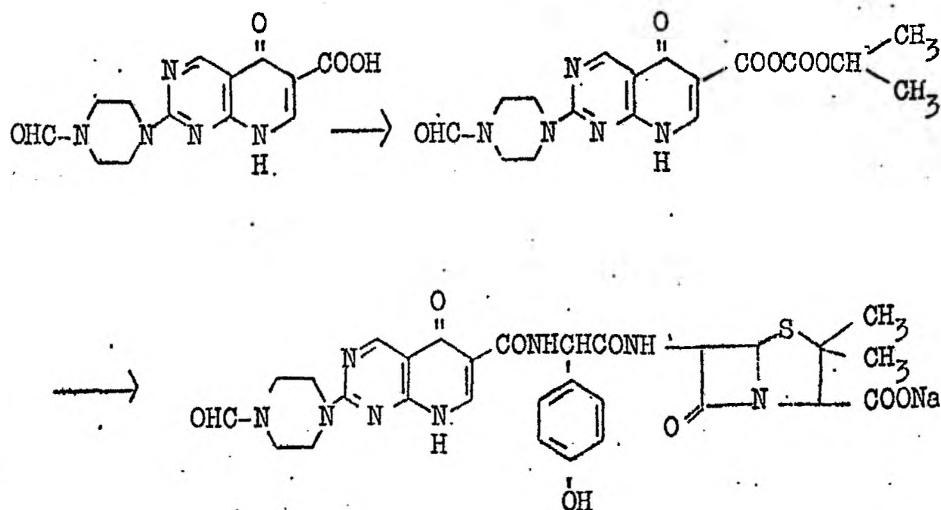
30

A una solución de 1,11 g de D- α -amino-para-hidroxibencilpenicilina y 0,38 ml de trietilemina en 10 ml de dimetilformamida seca, se añadieron 2,16 g de 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxilato de 2,4,6-triclorofenilo, y la mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 2 días. El material insoluble se separó por filtración y al filtrado se añadieron, sucesivamente, una solución al 30% de 2-etilhexanoato sódico en 1,5 ml de n-butanol y 150 ml de acetona. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con acetona y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en dimetilformamida. La solución en dimetilformamida se trató con carbón vegetal y se filtró. Al filtrado se

añadieron, sucesivamente, una solución al 30% de 2-etilhexanoato sódico en n-butanol y acetona. El precipitado se recogió y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en una solución de hidróxido sódico al 2% para ajustar el pH a 6,5. La solución acuosa se filtró y se liofilizó para dar 1,14 g de sal sódica de D-α-(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxaspiro(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencil penicilina.

Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 1, por comparación de los espectros IR y RMN.

Ejemplo 5



Una suspensión de 90 g de ácido 5,8-dihidro-

-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-
-6-carboxílico y 42 ml de trietilamina en 1.000 ml de di-
clorometano seco, se agitó bien a la temperatura ambiente,
durante una hora. A la suspensión se añadieron 36,8 g de
5 cloroformiato de isopropilo, con enfriamiento, y la mezcla
se mantuvo a 5-7°C durante una hora. A la mezcla se aña-
dió una solución de 126 g de D- α -amino-para-hidroxibencil
penicilina y 46 ml de trietilamina en 350 ml de dimetilfor-
mamida seca. La mezcla resultante se agitó a 5-7°C duran-
10 te 1,5 horas adicionales, y se dejó en reposo durante la
noche a -10°C.

El material insoluble se separó por filtra-
ción y al filtrado se añadieron, sucesivamente, una solu-
ción de 2-etilhexanoato sódico al 30% en 250 ml de n-buta-
15 nol y 3.000 ml de acetona.

El precipitado resultante se recogió por fil-
tración y se disolvió en agua helada. La solución acuosa
se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El preci-
pitado se lavó con agua y se disolvió en 380 ml de dimetil-
20 formamida. Después de tratamiento de la solución con 20 g
de carbón vegetal, se añadió sucesivamente a la solución
una solución al 30% de 2-etilhexanoato sódico en 130 ml de
butanol y 5.000 ml de acetona.

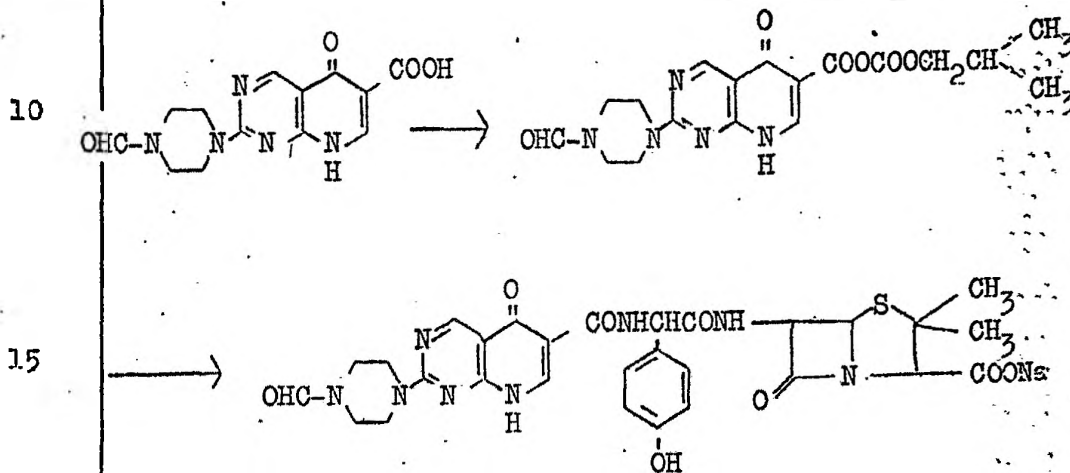
El precipitado resultante se recogió, se lavó
25 con acetona y se disolvió en agua helada. La solución
acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El
precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en
solución de hidróxido sódico al 2% para ajustar el pH a
6,5. La solución se filtró y se liofilizó para dar 78,7 g
30 de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil))

--5-oxopirido(2,3-d)-pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxi
bencilpenicilina.

Este compuesto se identificó con el compuesto
del Ejemplo 1 por comparación de los espectros IR y RMN.

5

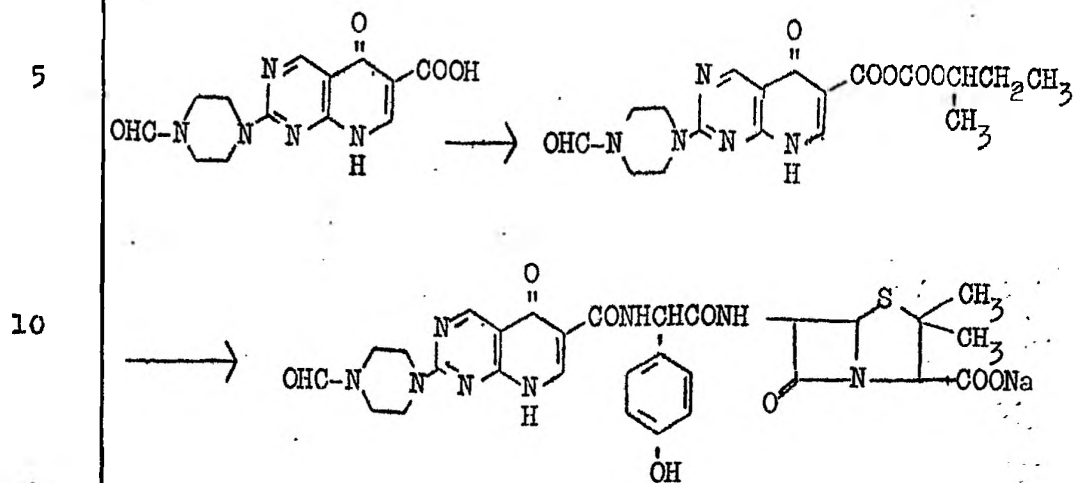
Ejemplo 6



Por el mismo procedimiento que se ha descrito
en el Ejemplo 5, se obtuvieron 155 g de sal sódica de D-α-
-(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-
-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxi-bencilpenicilina
a partir de 152 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-pipe-
razinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 79 ml
de cloroformato de isobutilo.

Este compuesto se identificó con el compuesto
del ejemplo 1, por comparación de los espectros IR y RMN.

30

Ejemplo 7

15

For el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 5, se obtuvieron 29 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-p-hidroxibencilpenicilina a partir de 30 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 13,7 g de cloroformiato de butilo secundario.

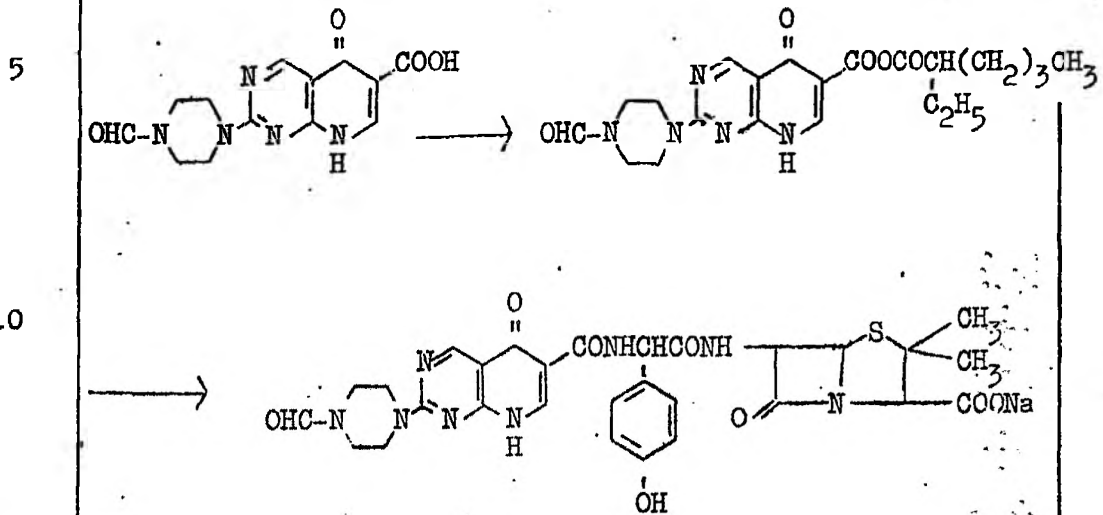
20

Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 1, mediante comparación de los espectros infrarrojo y RMN.

25

30

27077

Ejemplo 8

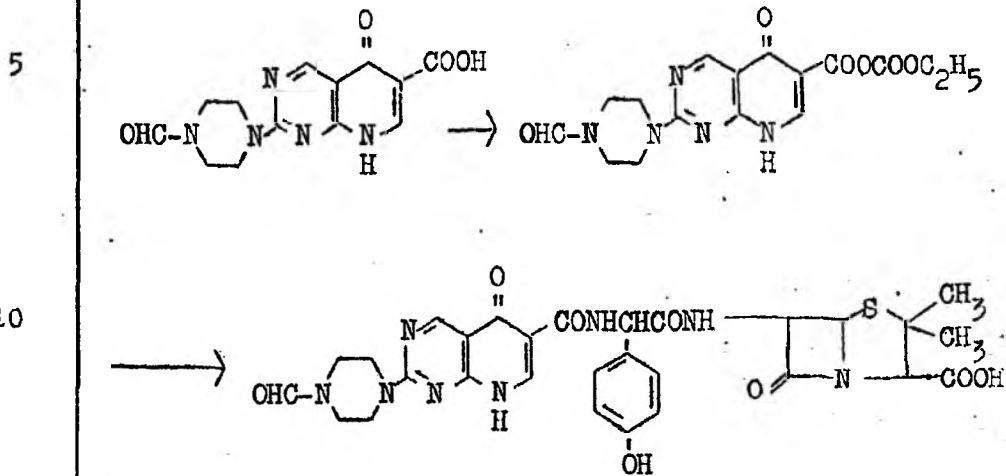
20

Por el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 5, a excepción de que la reacción se realizó a -10°C , se obtuvieron 15 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina a partir de 30 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 19,5 g de cloruro de 2-etilhexanoilo.

25

Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 1, por comparación de los espectros IR y RMN.

30

Ejemplo 9

15

20

Una suspensión de 3,0 g de ácido 5,8-dihidro-
-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-
-6-carboxílico y 1,66 ml de trietilamina en 50 ml de dime-
tilformamida seca, se agitó a la temperatura ambiente duran-
te 30 minutos. A la mezcla de reacción se añadieron, a 5-
-10°C, 1,14 ml de cloroforniato de etilo y la mezcla se agi-
to durante una hora.

25


Por otra parte, una suspensión de 5,0 g de
D-α-amino-para-hidrobencilpenicilina, 2,77 ml de trietil-
amina y 2,0 g de sulfato magnésico anhidro en 60 ml de dime-
tilformamida seca, se agitó a la temperatura ambiente duran-
te 30 minutos y el material insoluble se filtró. El filtra-
do se añadió a la suspensión anterior, a 5-10°C, y la mez-
cla se agitó durante 2 horas adicionales. El material in-


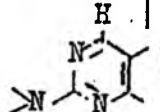
30

soluble se separó por filtración y al filtrado se añadió una solución al 20% de 2-etilhexanoato sódico en 10 ml de n-butanol. Seguidamente, se añadieron a ella 500 ml de éter etílico. Los cristales precipitados se recogieron y se disolvieron en 300 ml de agua. La solución en agua se acidificó con ácido clorhídrico diluido. El precipitado se recogió, se lavó con agua y se secó, para dar 3,4 g de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

RFN (DMSO- d_6 , δ):

8.10 (1H, s, -N  N-CHO), 4.19 (1H, s, $\overset{\text{H}}{\text{>C-COO-}}$),

5.77 (1H, d, J=8Hz, -N  CO), 9.12 (1H, s, )

Análisis calculado para: $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_8\text{O}_8\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$:

C, 49,43; H, 5,15; N, 15,90; S, 4,55

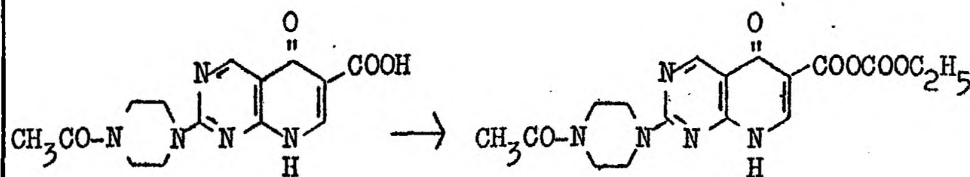
Encontrado: C, 49,64; H, 4,91; N, 15,86; S, 4,72

30

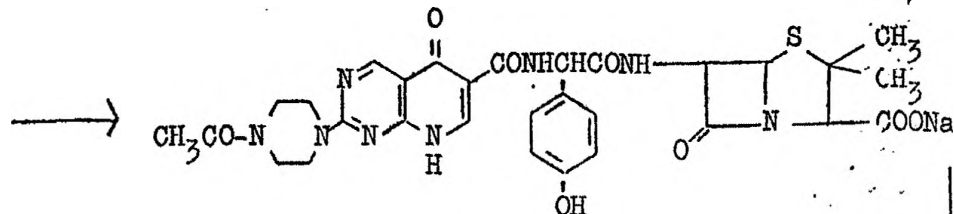
27077

Ejemplo 1.0

5



10



15

20

25

30

Una suspensión de 9,31 g de ácido 5,8-dihidro-
 -2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-
 -6-carboxílico y 4,98 ml de trietilamina en 180 ml de diclo-
 rometano sódico, se agitó bien a la temperatura ambiente,
 durante una hora. A la suspensión se añadieron, gota a gota,
 3,42 ml de cloroformiato de etilo, enfriando a 3-5°C,
 y la mezcla se agitó a 3-8°C durante una hora. A la mezcla
 de reacción se añadió una solución de 15 g de D- α -
 -amino-para-hidroxibencilpenicilina y 7,5 ml de trietilami-
 na en 120 ml de dimetilformamida seca, y la mezcla resultante
 se agitó durante 2 horas. El material insoluble se separó
 por filtración y al filtrado se añadieron, sucesivamente,
 una solución al 20% de 2-etilhexanoato sódico en 27
 ml de n-butanol y 1.000 ml de acetona. El precipitado re-

sultante se recogió por filtración y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%, y el precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en 250 ml de dimetilformamida. Después del tratamiento de la solución en dimetilformamida con carbón vegetal, se añadieron sucesivamente a la solución una solución al 20% de 2-etilhexanoato sódico en 27 ml de n-butanol, y 1.000 ml de acetona. El precipitado se recogió y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. Los cristales precipitados se recogieron, se lavaron con agua, se disolvieron en una solución al 2% de hidróxido sódico, y se ajustó el pH a 6,5. La solución obtenida se filtró y se liofilizó para dar 8,5 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)para-hidroxibencilpenicilina.

IR (KBr): $\nu_{C=O}$ 1760 cm^{-1}

RMN (DMSO- d_6 , δ):

2.05 (3H, s, CH_3CON N-), 3.95 (1H, s, $>C-COO-$),
 5.79 (1H, d, $J=8Hz$, -N-CH-CO-),



25

9.12 (1H, s,)

30

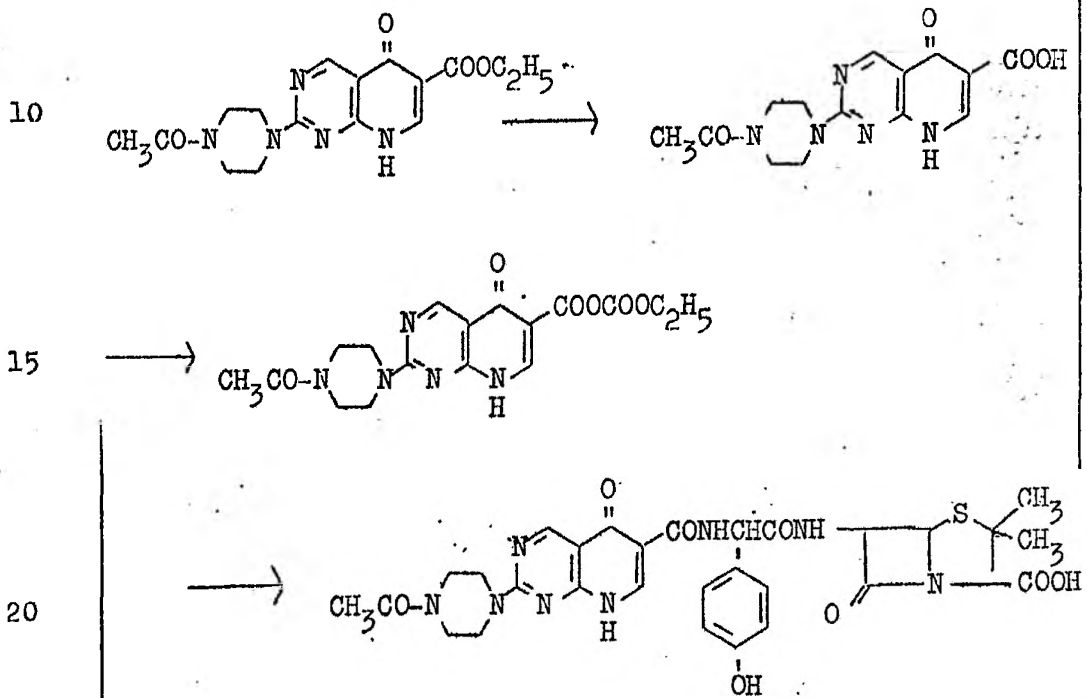
-Análisis calculado para: $C_{30}H_{31}N_8O_8SN_3 \cdot 4H_2O$:

C, 47,49; H, 5,18; N, 14,77; S, 4,23

Encontrado: C, 47,59; H, 4,95; N, 14,56; S, 4,02

5

Ejemplo 11



25

Una suspensión de 20 g de 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxilato de etilo en una mezcla de 60 ml de ácido clorhídrico al 4% y 20 ml de etanol, se sometió a reflujo a 120°C, durante 1,5 horas. Después de enfriar, se recogió el precipitado, se lavó con agua y, seguidamente, con agua calien-

30

27077

te, y se disolvió en una solución de hidróxido sódico al 10%. El material insoluble se separó por filtración y el filtrado se acidificó con ácido clorhídrico diluido. El precipitado resultante se recogió y se recristalizó en sulfoxido de dimetilo, para dar 10 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico de punto de fusión 298 a 300°C.

Una suspensión de 1,57 g de ácido 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 0,73 ml de trietilamina en 20 ml de dimetilformamida seca, se agitó a la temperatura ambiente durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se añadieron 0,5 ml de cloroformato de etilo a -5 a -10°C, y la mezcla se agitó durante una hora.


Por otro lado, una suspensión de 2,10 g de D- α -amino-para-hidroxibencilpenicilina, 1,05 ml de trietilamina y 1,0 g de sulfato magnésico anhidro en 20 ml de dimetilformamida sódica, se agitó a la temperatura ambiente durante 30 minutos, y el material insoluble se separó por filtración. El filtrado se añadió a la suspensión anterior a -5 a -10°C, y la mezcla se agitó durante 2 horas adicionales. El material insoluble se separó por filtración y al filtrado se añadió una solución al 20% de 2-etilhexanoato sódico en 7,5 ml de n-butanol y, seguidamente, se añadieron a ella 200 ml de éter etílico. Los cristales precipitados se recogieron y se disolvieron en una solución de bicarbonato sódico. La solución acuosa se acidificó con ácido clorhídrico diluido y el precipitado se recogió, se lavó con agua y se secó para dar 1,35 g de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidi

-na-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

RMN (DMSO- d_6 , δ):

5

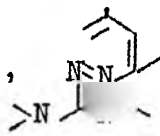
2.06 (3H, s, CH_3CON  N-), 4.20 (1H, s, $>\text{CH}-\text{COO}-$),

10

5.78 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, $>\text{N}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{O}^-}{\text{C}}}-\text{CO}-$),



15

9.12 (1H, s, )

Análisis calculado para: $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$:

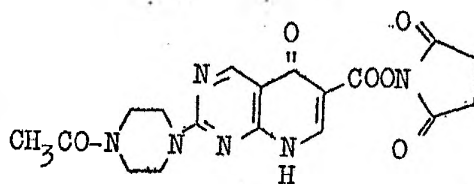
20

C, 48,91; H, 5,47; N, 15,21; S, 4,35

Encontrado: C, 48,81; H, 4,99; N, 14,78; S, 4,19

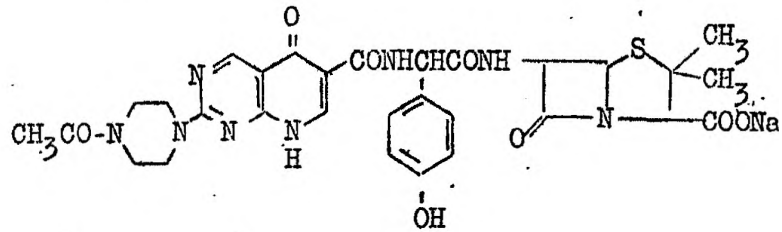
Ejemplo 12

25



30

5



10

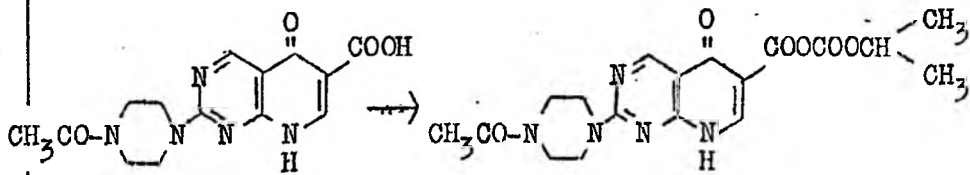
Por el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 1, se obtuvo la sal sódica de D-α-(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina, a partir de D-α-amino-para-hidroxibencilpenicilina y N-(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboniloxi)-succinimida.

15

Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 10, por comparación de los espectros infrarrojo y RMN.

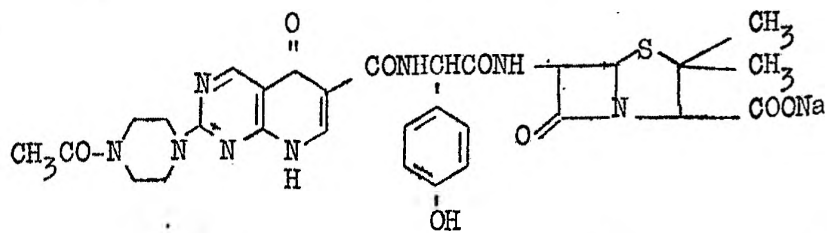
20

Ejemplo 13



25

30



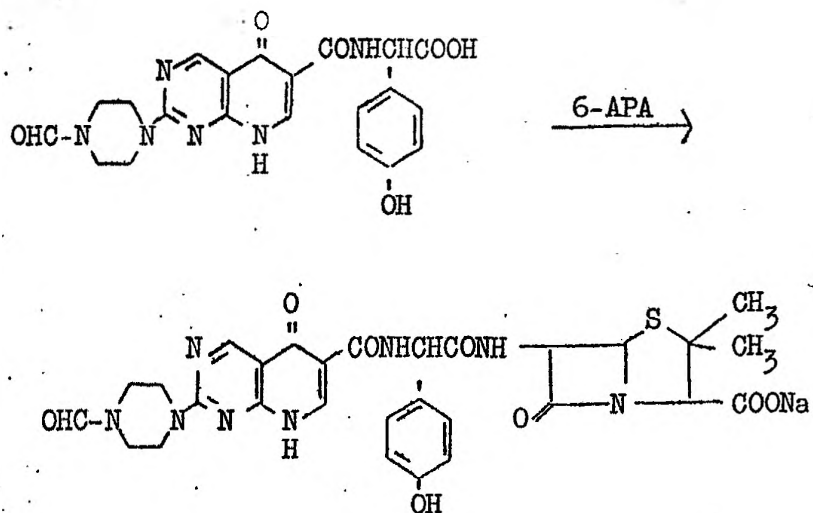
Por el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 5, se obtuvo la sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina a partir de

5 ácido 5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y cloroformiato de isopropilo.

Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 10, por comparación de los espectros infrarrojo y de resonancia magnética nuclear.

10

Ejemplo 14



Una suspensión de 0,43 g de ácido 6-aminopenicilánico y 0,5 ml de N,O-bis(trimetilsilil)acetamida en 10 ml de dimetilformamida seca, se agitó a la temperatura ambiente durante media hora. A la solución resultante se

30

añadieron 0,9 g de ácido D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxifenilacético y la mezcla se enfrió en un baño de hielo.

5 A la mezcla se añadieron 0,6 g de díciclohexil carbodiimida. La mezcla de reacción se mantuvo a 0-5°C durante una hora y, seguidamente, se dejó en reposo a la temperatura ambiente durante 3 horas. El precipitado se separó por filtración y al filtrado se añadieron 50 ml de agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado se recogió y se disolvió en una solución al 3% de bicarbonato sódico. El material insoluble se separó por filtración y el filtrado se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%, mientras se enfriaba. El precipitado se recogió, se lavó con agua y se disolvió en una solución de hidróxido sódico al 2%. La solución acuosa se ajustó a pH 6,5, se filtró y se liofilizó, para dar la sal sódica dextro- y levo- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

10

15

20

$$[\alpha]_D^{25} = +130^{\circ}\text{C. (C=1, H}_2\text{O)},$$

$$\text{IR (KBr): } \nu \text{ C=O } 1760 \text{ cm}^{-1}$$

RMN (DMSO- d_6 , δ):

3.99 (s, -CH-COO-, D-form), 4.00 (s, -CH-COO-, forma D),

5.81 (d, J=8Hz, -N-CH-CO; forma D),



30

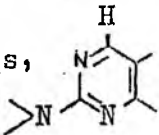
5.74 (d, J=8Hz, -N-CH-CO-, forma L),



5

8.11 (s, -N N-CHO, forma D y L),

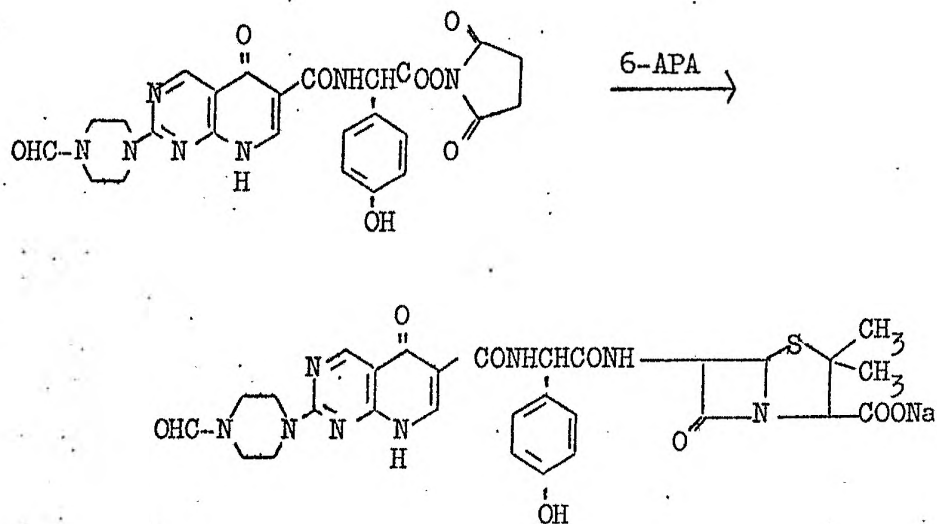


9.12 (s, , forma D y L)

10

15

Ejemplo 15



20

25

30

A una mezcla de 0,65 g de ácido 6-aminopenicilina

27077

lénico y 0,76 ml de cloruro de trimetilsililo en 20 ml de diclorometano seco, se añadieron 0,83 ml de trietilamina a 0-5°C., y la mezcla se agitó a 0-5°C durante media hora. A la mezcla se añadieron 1,1 g de N-(D- α -(5,8-dihidro-2-
5 -(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxifenilacetoxi)succinimida y 0,3 ml de trietilamina.

La mezcla se agitó a 0-10°C durante una hora y, seguidamente, se dejó en reposo durante la noche a la
10 temperatura ambiente.

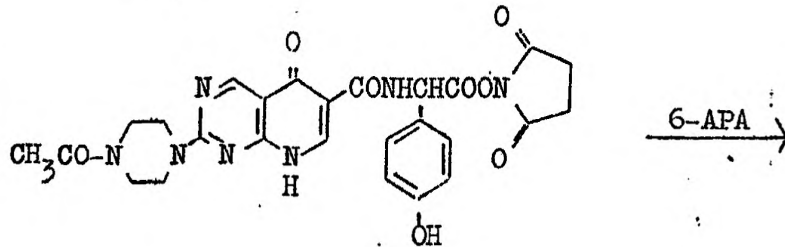
La mezcla de reacción se extrajo con una solución al 3% de bicarbonato sódico y el extracto se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%.

El precipitado se recogió y se disolvió en una
15 pequeña cantidad de dimetilformamida. A la solución se añadieron 1 ml de solución de 2-etilhexanoato sódico al 30% y, seguidamente, 50 ml de acetona. El precipitado se recogió y se disolvió en agua helada. La solución acuosa se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado se
20 recogió, se lavó con agua y se disolvió en una solución de hidróxido sódico al 2%. La solución se ajustó a pH 6,5, se filtró y se liofilizó para dar sal sódica de dextro y
25 levo- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

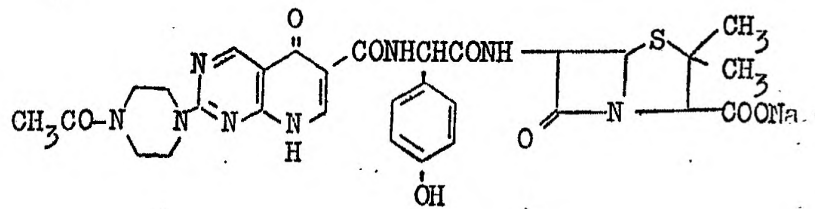
Este compuesto se identificó con el compuesto del Ejemplo 14, mediante comparación de los espectros infrarrojo y de resonancia magnética nuclear.

Ejemplo 16

5



10



15

20

Por el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 15, se obtuvo la sal sódica de dextro y levo- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamida)-para-hidroxibencilpenicilina, a partir de ácido 6-aminopenicilánico y N-(D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxifenilacetoxi)succinimida.

25

(Parte III)

30

Las siguientes referencias 10 y 11 muestran la preparación de compuestos fuera del alcance de la invención, la cual preparación no ha sido todavía publicada,

hídrico al 10%. La capa orgánica se separó, se lavó con agua y se extrajo con una solución saturada de bicarbonato sódico. El extracto se ajustó a pH 1,5 con ácido clorhídrico al 10%. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó para dar 1,6 g de D- α -(5,8-dihidro-2-pirrolidino-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

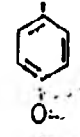
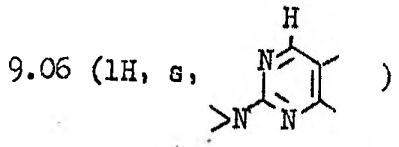
5

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

10

RMN(DMSO- d_6 , δ):

4.20 (1H, s, >CH-COO-), 5.78 (1H, d, J=8Hz, -N-CH-CO-)



15

Análisis calculado para: $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_7\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$:

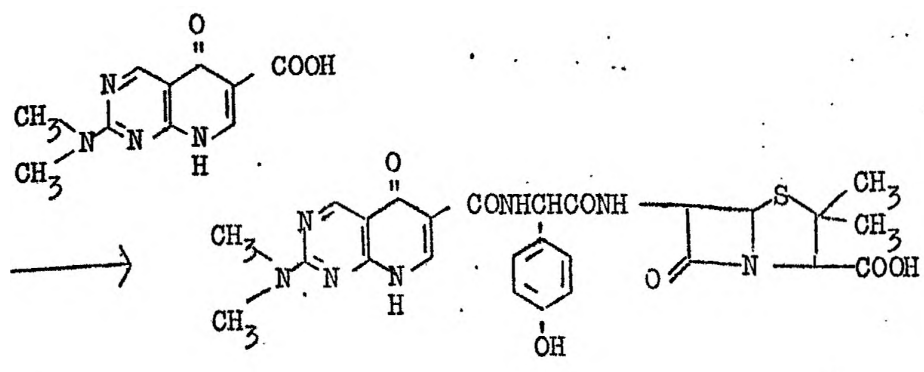
C, 50,83; H, 5,33; N, 14,82; S, 4,85

20

Encontrado: C, 51,07; H, 4,87; N, 15,13; S, 4,79

Referencia 11:

25



30

For el mismo procedimiento que se ha descrito en la referencia 11, se obtuvieron 0,56 g de D- α -(5,8-dihidro-2-dimetilamino-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina, a partir de 1,18 g de ácido 5,8-dihidro-2-dimetilamino-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxílico y 1,58 g de D- α -amino-para-hidroxibencilpenicilina.

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

RMN(DMSO- d_6 , δ):

3.20 (6H, s, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{N-} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$), 4.20 (1H, s, >CH-COO-),

5.78 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ | \\ \text{N-CH-CO-} \end{array}$), 9.08 (1H, s, $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{N} \\ / \quad \backslash \\ \text{N} \quad \text{N} \end{array}$)

Análisis calculado para: $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_7\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$:

C, 49,12; H, 5,23; N, 15,42; S, 5,04

Encontrado: C, 48,86; H, 4,82; N, 15,77; S, 5,14

(Parte IV)

Referencia 12 que muestra la producción de productos farmacéuticos utilizando los compuestos de penicilina de la invención.

Referencia 12

(1) En una zona aséptica, se disolvieron 251 g de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-

-hidroxibencilpenicilina en 2.008 ml de agua destilada para inyecciones. La solución se filtró por un filtro Millipore (tamaño de poro de 0,22 micras; producto de la Millipore Corporation, Bedford, Estados Unidos de América). La solución se vertió en una cantidad de 2,0 ml en cada uno de 1.000 viales (capacidad 10 ml), y se liofilizó. Cada uno de los viales se cerró herméticamente a continuación, con un tapón de caucho y una cápsula de aluminio. Así, se obtuvieron viales (número A) conteniendo cada uno de ellos 250 mg del ingrediente activo.

Una solución salina fisiológica para inyecciones se cargó en ampollas en una cantidad de 2,0 ml en cada una de ellas, y se cerraron herméticamente para obtener ampollas (Nº B). La solución fisiológica salina de las ampollas (Número B) se vertió en los viales (Nº A) para producir inyecciones para administración intravenosa.

(2) El agua destilada para inyecciones se vertió en una cantidad de 2,0 ml, en los viales (nº A), y la solución se disolvió en una solución al 5% de glucosa para inyecciones (250 ml). Así, se prepararon soluciones para infusión continua.

(3) De la misma manera que se ha descrito anteriormente, a excepción de que se utilizaron 502 g del ingrediente activo, se prepararon 1000 viales (Nº C) conteniendo cada uno de ellos 500 mg de sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

(Parte V)

Los siguientes ensayos números 1, 2 y 3 ilus-

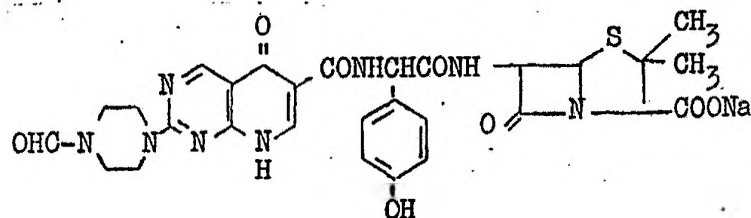
— tran las actividades farmacológicas de los compuestos de penicilina de esta invención, en comparación con las de los compuestos fuera del alcance de la invención.

5

Compuesto 1

Sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina.

10



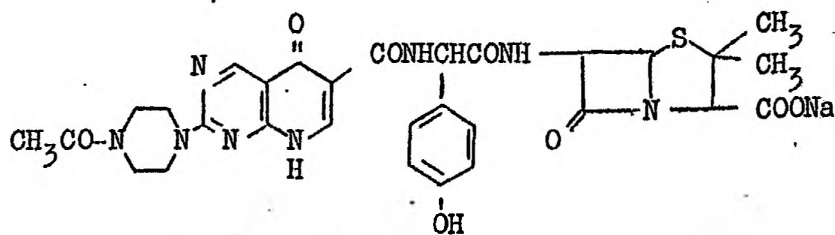
15

(el compuesto de esta invención)

Compuesto 2

Sal sódica de D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina

20



25

(el compuesto de esta invención)

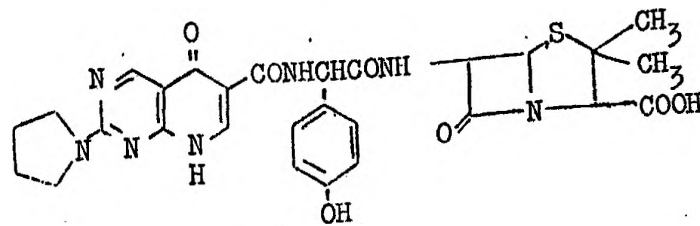
Compuesto A

30

D- α -(5,8-dihidro-2-pirrolidino-5-oxopirido

(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxi-bencilpenicilina

5



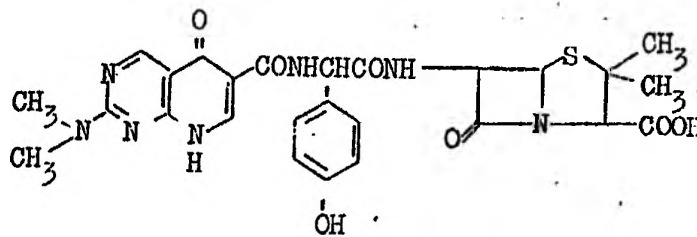
10

(el compuesto obtenido en la referencia 10)

Compuesto B

D- α -(5,8-dihidro-2-dimetilamino-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxi-bencilpenicilina.

15



20

(el compuesto obtenido en la referencia 11)

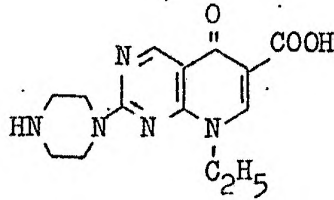
Compuesto C

Acido 5,8-dihidro-8-etil-2-(1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxilico (ácido pipenídico)

25

30

5



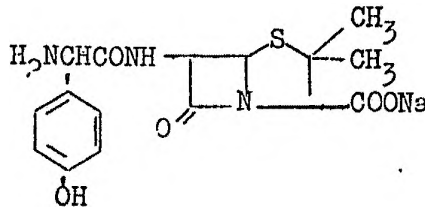
(el compuesto descrito en la patente de Estados Unidos
3.887.557)

10

Compuesto D

Sal sódica de D- α -amino-para-hidroxibencilpe
nicilina (Amoxicilina)

15



20

(El compuesto descrito en la patente de Estados Unidos
3.674.776)

Ensayo Nº 1

25

Las concentraciones inhibitoras mínimas (micro
gramos/ml) in vitro, se muestran en la Tabla I.

30

Tabla I - Actividad antibacteriana in vitro contra 20 cepas de bacterias

Compuesto Bacterias		1					
		1	2	A	B	C	D
5	Staphylococcus aureus 209P JC-1	0,78	1,56	0,78	0,78	12,5	0,1
	Staphylococcus aureus No. 50774	1,56	1,56	0,78	0,78	25	0,1
10	Streptococcus faecalis P-2473	3,13	6,25	6,25	3,13	>200	0,78
	Streptococcus pyogenes 55A	0,006	0,006	<0,1	0,025	>100	0,025
	Corynebacterium pyogenes C-21	3,13	0,78	0,78	0,78	25	0,39
15	Escherichia coli NIHJ JC-2	3,13	3,13	3,13	6,25	1,56	6,25
	Escherichia coli P-5101	1,56	0,78	1,56	1,56	3,13	6,25
	Escherichia coli P-140a *	12,5	12,5	12,5	25	3,13	>200
	Salmonella typhimurium S-9	0,78	0,78	1,56	1,56	3,13	0,78
20	Salmonella enteritidis No. 1891	0,78	0,78	0,39	0,78	1,56	0,39
	Shigella flexneri 2a	3,13	3,13	1,56	3,13	3,13	6,25
	Shigella flexneri 4a P-330	3,13	3,13	3,13	6,25	1,56	25
	Klebsiella pneumoniae No. 13	12,5	12,5	6,25	12,5	6,25	200
25	Enterobacter cloacae P-2540	6,25	6,25	3,13	12,5	1,56	>200
	Pseudomonas aeruginosa Tsuchijima	0,78	0,78	1,56	1,56	12,5	200
	Pseudomonas aeruginosa No. 12	3,13	3,13	3,13	3,13	25	>200
30	Serratia marcescens IFO 3736	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	50
	Proteus morgani Kono	6,25	6,25	6,25	6,25	3,13	200
	Proteus rettgeri P-2503	25	25	6,25	6,25	6,25	50
	Proteus mirabilis P-2381	3,13	6,25	3,13	3,13	3,13	1,56

27077

Nota: Las cifras numéricas de la tabla muestran las concentraciones inhibitoras mínimas (MIC) (microgramos/ml)

Método: Chemotherapy 22(6), 1126 (1974)

5 (-) : Cepa resistente a la Ampicilina y a la Cephalexina, aislada clínicamente.

La siguiente conclusión puede deducirse de la Tabla I.

10 (1) El compuesto J descrito en la patente de Estados Unidos 3.887.557 posee una inferior actividad antibacteriana contra las bacterias gram-positivas, tales como Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes y Corynebacterium pyogenes, que los compuestos de penicilina 1 y 2 de la invención.

15 (2) La Amoxicilina, un agente antibacteriano actualmente muy utilizado y conocido, que se designa como "Compuesto D" en la Tabla I (patente de Estados Unidos 3.674.776) es substancialmente ineficaz contra las bacterias patógenas gram-negativas, tales como Escherichia coli P-140a, que es una cepa resistente a la ampicilina y a la Cephalexina, aislada clínicamente, y contra otras bacterias Gram-negativas, especialmente las bacterias poco patógenas, tales como Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Pseudomonas aeruginosa y Serratia marcescens, mientras que los compuestos de penicilina de esta invención muestran actividades antibacterianas muy elevadas contra estas bacterias.

25
30 Ensayo N.º 2 (eficacia in vivo)

Los contenidos de los viales (Nº A y Nº C) preparados en la referencia 12, se disolvieron, cada uno de ellos, en agua desionizada, y se prepararon inyecciones que tenían diversas concentraciones.

5

El compuesto D se disolvió en agua desionizada. Los compuestos A, B y C se disolvieron en una solución acuosa de carbonato sódico (pH 8 - 9) para preparar inyecciones de diversas concentraciones.

10

Cada una de las inyecciones se administró a ratones, en las condiciones descritas a continuación, y las dosis eficaces medias (DE_{50}) obtenidas se muestran en la Tabla 2.

Condiciones experimentales:

15

Ratones: Ratones macho (ddY) que pesaban aproximadamente 20 g

Infección: *Staphylococcus aureus* Nº 50774;

Infección intravenosa con DI_{50} de 50 a 100 (aproximadamente 5×10^8 células/ratón) de una suspensión bacteriana en solución salina.

20

Escherichia coli P-5101;

Infección intraperitoneal con DI_{50} de 50 a 100 (aproximadamente 9×10^6 células/ratón) de una suspensión bacteriana en caldo de triptófano-soja - mucina 4%.

25

Pseudomonas aeruginosa Nº 12;

Infección intraperitoneal con DI_{50} de 50 a 100 (aproximadamente 5×10^3 células/ratón) de una suspensión bacteriana en caldo de triptófano-soja - mucina 4%.

Medicación: dos veces, aproximadamente 5 minutos y 6 horas después de la infección;

30

Observaciones: *Staphylococcus aureus* No. 50774 --- 14 días

Escherichia coli P-5101 } ---

Pseudomonas aeruginosa No. 12 } --- 7 días

Tabla II - Eficacia in vivo contra la infección sistémica

5	Bacteria	Staphylococcus aureus	Escherichia coli		Pseudomonas aeruginosa	
		No 50774	P-5101		No 12	
	Vía		sc	iv	sc	iv
	Compuesto	sc	sc	iv	sc	iv
	1	2,1	3,7	2,9	2,1	4,1
10	2	3,3	4,6	3,9	5,0	6,0
	A	aproximada mente 10	8,6	-	38,6	-
15	B	aproximada mente 10	11,0	-	32,4	-
	C	> 50	6,3	4,6	37,7	42,7
20	D	0,34	3,4	3,2	> 200	-

Nota: Les cifras numéricas de la tabla muestran la DE_{50} (mg/kg). Los valores DE_{50} se calcularon de acuerdo con el método de Behrens-Kaerber (Arch. Exp. Path. Pharm., 162, 480 (1931)).

sc: administración subcutánea

iv: administración intravenosa

De la Tabla II se puede sacar la siguiente conclusión.

(1) Los compuestos 1 y 2 de la invención muestran una excelente actividad antibacteriana in vivo.

(2) Los compuestos 1 y 2 de esta invención poseen una actividad antibacteriana especialmente elevada contra la *Pseudomonas aeruginosa*, y tienen un valor DE_{50} de 2 a 6 mg/kg en la administración parenteral.

(3) Las actividades antibacterianas contra la *Pseudomonas aeruginosa* de los Compuestos 1 y 2 de esta invención en la administración parenteral, son aproximadamente de 6 a 20 veces tan elevadas como las de los compuestos A y B, que son compuestos de penicilina que resultan de la sustitución de la posición 2 del resto de piridopirimidina de los compuestos 1 y 2 por un grupo 1-pirrolidinilo o dimetilamino, en lugar del grupo 4-sustituido-1-piperazinilo.

(4) Los compuestos 1 y 2 de esta invención tienen una actividad antibacteriana muy superior contra la *Pseudomonas aeruginosa*, en administración parenteral, a la del compuesto C (ácido pipemídico, conocido como producto farmacéutico que tiene una actividad especialmente contra la *Pseudomonas aeruginosa*).

Ensayo N.º 3 (Toxicidad aguda)

Inyecciones que contenían los compuestos 1 y 2 y los compuestos A, B y C, en diversas concentraciones, que se prepararon en el ensayo N.º 2, se administraron a ratones macho (ddY) (4 a 8 en cada grupo) en una dosis de 0,1 ml por cada 10 g de peso de cuerpo. El número de rato

nes muertos se contó al cabo de un lapso de 7 días, y se calculó el valor de la dosis letal media (DL_{50} , mg/kg). Los resultados se muestran en la Tabla III.

Se calculó la proporción de DL_{50} a DE_{50} sobre la *Pseudomonas aeruginosa* N.º 12 de la Tabla II, a saber un índice quimioterapéutico, y los resultados se muestran también en la Tabla III.

Tabla III. - Toxicidad aguda en ratones

Compuesto N.º	Vía	DL_{50} (mg/kg)	Índice quimioterapéutico (DL_{50}/DE_{50})
1	sc	> 6000	> 3000
	iv	4518	1102
2	sc	> 6000	> 1200
	iv	4518	753
A	sc	< 1000	< 26
	iv	< 1000	-
B	sc	1072	33
C	sc	2244	60
	iv	707	17

Nota:

Los valores DL_{50} se calcularon de acuerdo con el método de Behrens-Kaerber.

De la Tabla III se puede sacar la siguiente conclusión.

(1) Los valores DL_{50} de los compuestos 1 y 2 de esta invención, son aproximadamente de 4 a 10 veces tan altos como los de los compuestos A y B y, por lo tanto, tienen una seguridad muy alta.

(2) Los índices quimioterapéuticos de los compuestos 1 y 2 de esta invención son de aproximadamente 10 a 100 veces más altos que los de los compuestos A, B y C. Esto demuestra que los compuestos de penicilina de esta invención poseen una excelente actividad antibacteriana contra el *Pseudomonas aeruginosa*.

Como se muestra en las Tablas I a III, los nuevos compuestos de penicilina de la invención muestran un amplio margen de actividades antibacterianas superiores contra diversas bacterias Gram-positivas y bacterias Gram-negativas, tanto en un ensayo in vitro como en un ensayo in vivo. En particular, los compuestos de penicilina de esta invención muestran una actividad antibacteriana superior en administración parenteral, contra las cepas resistentes a la ampicilina, contra las cuales la Amoxicilina no muestra actividad antibacteriana. Aquellos muestran, particularmente, una actividad antibacteriana superior contra las bacterias del género *Pseudomonas*, contra las cuales la Amoxicilina y muchos otros antibióticos conocidos son substancialmente ineficaces. De los diversos compuestos de penicilina de esta invención, el derivado formílico de la fórmula [Ia], especialmente su isómero dextro, es especialmente superior en cuanto a actividad antibacteriana.

Los compuestos de penicilina de la invención

poseen además una gran seguridad, como lo muestran los valores DL_{50} dados en lo que antecede, y muestran excelentes índices quimioterapéuticos. La elevada seguridad se comprueba también mediante examen hematológico e histopatológico de animales experimentales, después de una administración parenteral continua.

Los compuestos de penicilina de la invención muestran, además, una elevada concentración en el plasma, incluso varias horas después de la administración parenteral a los animales de sangre caliente, y mantienen una elevada concentración en la orina, durante periodos de tiempo muy largos.

Los nuevos compuestos de penicilina seleccionados de la invención, poseen características muy superiores a las de los diversos agentes antibacterianos conocidos, debido a su amplio espectro antibacteriano, a su alta actividad antibacteriana, a su gran seguridad, a sus elevadas concentraciones en sangre y en orina después de la administración, etc.

Se ha encontrado por los presentes inventores que utilizando los compuestos de penicilina de la invención para animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos, la administración parenteral es mucho más ventajosa que la administración oral. En la administración parenteral, se prefiere disolver el compuesto de penicilina de la invención en un medio para inyecciones, líquido, no tóxico, e inyectar la solución por vía intramuscular, intravenosa o subcutánea.

También es posible disolver o mezclar el compuesto de penicilina de la invención, en o con un medio lí

quido o base de unguento no tóxicos, y aplicar la solución o la mezcla directamente en la lesión. También puede ser utilizado en forma de supositorio, después de mezclarlo o disolverlo con o en una base para supositorios.

5 Ejemplos del medio líquido no tóxico utilizado para la preparación de las inyecciones, que contienen el compuesto de penicilina como ingrediente activo, incluyen el agua desionizada y esterilizada, una solución salina fisiológica, una solución de glucosa para inyectables,
10 una solución de Ringer y una solución de aminoácidos para inyectables.

El compuesto de penicilina puede disolverse también en otros medios para inyectables, y administrarse como tal por vía parenteral.

15 La dosis del compuesto de penicilina de la invención en la administración al hombre, debe ajustarse de acuerdo con la edad, peso del cuerpo y estado del paciente, vía de administración, número de administraciones, etc. Usualmente, la dosis para adultos es de 0,1 a 10 g/día,
20 preferiblemente de 0,2 a 4 g/día. Como se ha señalado, en vista de sus propiedades farmacológicas, los compuestos de penicilina de esta invención son administrados convenientemente por vía parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea), en forma de una inyección disuelta
25 en un medio líquido farmacéuticamente aceptable.

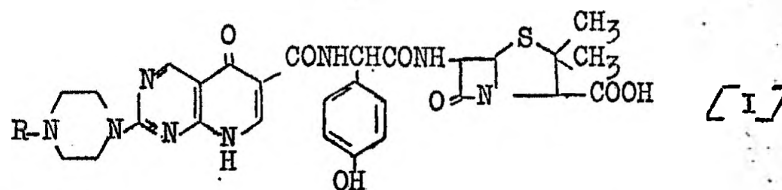
30

27077

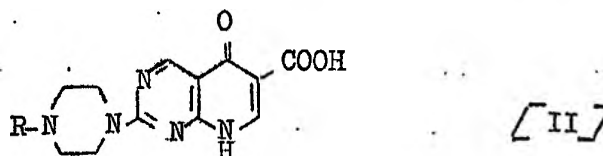
REIVINDICACIONES

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

10 1.ª.- Un procedimiento para preparar un compuesto de penicilina de la fórmula



20 en la cual R es un grupo formilo o acetilo, o una sal farmacéuticamente aceptable y no tóxica del mismo, que comprende (A) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula



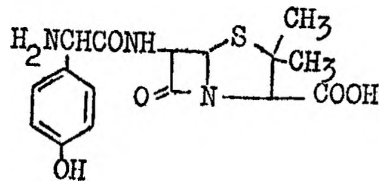
30

27.017

~~27.017~~

en la que R es el mismo que se ha definido anteriormente, o su sal o su derivado reactivo del grupo carboxilo, con 6-alfa-amino-para-hidroxibencilpenicilina de la fórmula

5



[III]

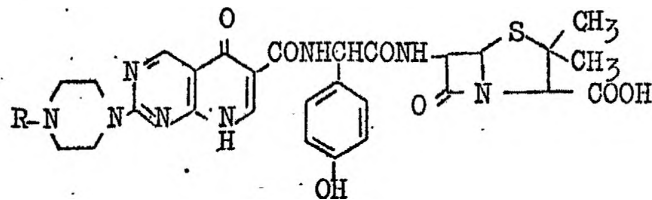
10

o su sal o sus derivados, (B) hidrolizar o hidrogenolizar catalíticamente, opcionalmente, el producto de reacción y (C) convertir opcionalmente el producto de reacción en una sal no tóxica farmacéuticamente aceptable.

15

2ª.- Un procedimiento para preparar un compuesto de penicilina de la siguiente fórmula:

20



25

[I]

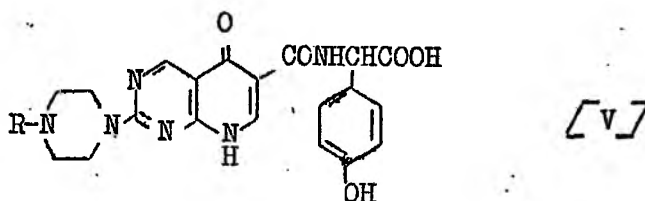
30

en la que R es un grupo formilo o acetilo, o una sal far-

27077

macéuticamente aceptable y no tóxica del mismo, que comprende: (A) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula

5



10

en la que R es el mismo que se ha definido anteriormente, o su sal o su derivado reactivo del grupo carboxilo, con ácido 6-amino-penicilánico, o con su sal o con su derivado, (B) opcionalmente, hidrolizar o hidrogenolizar catalíticamente el producto de reacción y (C) opcionalmente, producir el producto de reacción en una sal aceptable farmacéuticamente y no tóxica.

20

3ª.- El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª o 2ª, en el cual el derivado reactivo en el grupo carboxilo del ácido carboxílico de la fórmula [II] o [V], es un halogenuro de ácido, un anhídrido de ácido, una amida activa, o un éster activo.

25

4ª.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual se utiliza 6-D- α -amino-para-hidroxibencilpenicilina, como la 6-amino-para-hidroxibencilpenicilina.

30

5ª.- El procedimiento para preparar D- α -(5,8-dihidro-2-(4-formil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)piri

midina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina, o una sal no tóxica y farmacéuticamente aceptable de la misma, de acuerdo con las reivindicaciones 1ª ó 4ª.

5 6ª.- Procedimiento para preparar D- α -(5,8-dihidro-2-(4-acetil-1-piperazinil)-5-oxopirido(2,3-d)pirimidina-6-carboxamido)-para-hidroxibencilpenicilina, o una sal no tóxica y farmacéuticamente aceptable de la misma, de acuerdo con las reivindicaciones 1ª ó 4ª.

10 7ª.- UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN COMPUESTO DE PENICILINA".

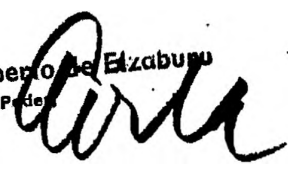
Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de setenta y cuatro hojas escritas a máquina por una sola cara.

15

Madrid, 03. SET. 1977

P.A. Alberto de Elizaburu
Por Poder



20

25

30

27077

MPB.-

