

00573



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS Y CARACTERIZACION
ESPECTROSCOPICA DE NUEVOS ANTIBIOTICOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ORGANICA)

P R E S E N T A

Q. ELIZABETH HUERTA SALAZAR



MEXICO, D. F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dr. Eugene Bratoeff Titeff
VOCAL: Dra. Martha Aibores Velasco
SECRETARIO: Dr. Eduardo Díaz Torres
1er. SUPLENTE: Dra. María Isabel Aguilar Laurents
2o. SUPLENTE: M. en C. Jorge Cárdenas Pérez

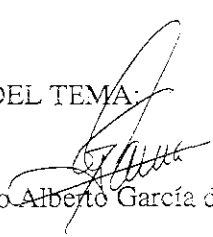
Lugar donde se desarrolló el tema:

Departamento de Química Orgánica

División de Estudios de Posgrado

Facultad de Química, U. N. A. M.

ASESOR DEL TEMA:


Dr. Gustavo Alberto García de la Mora

SUSTENTANTE:


Q. Elizabeth Huerta Salazar

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido este logro.

A mis padres Enrique Huerta Ramos y Celia Salazar Laguna, por su apoyo y confianza.

A mis hermanos: Celia, Norma, Ma. Elena, Alejandro y Enrique, ya que forman parte de lo que soy y de lo que hago.

Al Dr. Gustavo A. García de la Mora por su apoyo para llevar a buen término este trabajo.

A la maestra Yvonne Grillasca Rangel por su intervención directa en mi formación para el trabajo de laboratorio.

A la maestra Alejandrina Acosta Huerta por su apoyo y paciencia en todo.

A mis compañeros del laboratorio 206: Bety, Jorge, José Carlos, Tere, Estela y Edna, también de ustedes aprendí.

A mis compañeras de Aranda Candia y Ángeles y a mis compañeras del departamento.

A Adal por su amistosa participación siempre entusiasta y alegre.

Al jurado por sus apreciables sugerencias con relación al texto presentado.

AGRADECIMIENTOS

A la compañía Laboratorios Aranda S. A. de C. V. por su participación activa en la elaboración del presente trabajo, tanto humana como económica. En especial al Sr. Mario Luis Arrieta y al Ing. Mario Arrieta M., por el apoyo al proyecto de cefalosporinas y al Dr. Juan Azuara Salas, cuya participación ha permitido la continuidad del mismo.

Mi agradecimiento a:

Q. Alejandrina Acosta H.
Q. Irene Audeño M.
M. en C. Rubén Gabiño R.
Q. F. B. Graciela Chavez B.
Q. Maricela Gutierrez F.
Ing. Q. Luis Velasco

Por su valiosa colaboración al elaborar los espectros de U. V., I. R., RMN-¹H, RMN-¹³C y de espectrometría de masas.

CONTENIDO

RESUMEN.	1
SUMMARY.	2
INTRODUCCIÓN.	3
ANTECEDENTES.	
I. GENERALIDADES.	5
II. CEFALOSPORINAS.	
1.- <i>GENERALIDADES DE CEFALOSPORINAS.</i>	9
2.- <i>MECANISMO DE ACCIÓN.</i>	19
3.- <i>TOXICIDAD.</i>	20
III. FLUOROQUINOLONAS.	
1.- <i>GENERALIDADES DE FLUOROQUINOLONAS.</i>	21
2.- <i>MECANISMO DE ACCIÓN.</i>	23
3.- <i>INTERACCIÓN ADN-QUINOLONA.</i>	24
4.- <i>RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.</i>	25
5.- <i>TOXICIDAD DE LAS FLUOROQUINOLONAS.</i>	28
IV. COMBINACIÓN FLUOROQUINOLONA-CEFALOSPORINA.	29
OBJETIVOS.	37
DISCUSIÓN Y RESULTADOS.	
1.- <i>ALQUILACIÓN DE CIPROFLOXACINA.</i>	38
2.- <i>ALQUILACIÓN DE NORFLOXACINA.</i>	42
3.- <i>ACILACIÓN DE NORFLOXACINA.</i>	44
4.- <i>CQ-M-EPCA.</i>	48
5.- <i>CQ-M-EPEA.</i>	52
6.- <i>CQ-M-EPCT.</i>	60
7.- <i>n-BUTILAMIDA DE N-ACETILNORFLOXACINA.</i>	64
8.- <i>CQ-M-APEA.</i>	70

PARTE EXPERIMENTAL.	72
1.- <i>ALQUILACIÓN DE CIPROFLOXACINA.</i>	73
2.- <i>ALQUILACIÓN DE NORFLOXACINA.</i>	75
3.- <i>ACILACIÓN DE NORFLOXACINA.</i>	76
4.- <i>PREPARACIÓN DE CQ-M-EPCA.</i>	78
5.- <i>PREPARACIÓN DE CQ-M-EPEA.</i>	83
6.- <i>PREPARACIÓN DE CQ-M-EPCT.</i>	85
7.- <i>PREPARACIÓN DE Q-M-APEBu.</i>	90
8.- <i>PREPARACIÓN DE CQ-M-APEA.</i>	92
CONCLUSIONES.	94
BIBLIOGRAFÍA.	95
APÉNDICE A. ABREVIATURAS.	
APÉNDICE B. SELECCIÓN DE ESPECTROS.	

RESUMEN

En general, el uso inadecuado de los antibióticos ha generado la necesidad de crear nuevos fármacos, debido a que los anteriores ya no tienen la eficacia deseada en contra de algunos microorganismos resistentes. De esta manera han surgido combinaciones de agentes antimicrobianos con el fin de ampliar su actividad.

Recientemente se han estudiado las combinaciones de ciertas quinolonas con residuos de cefalosporinas. El presente trabajo fue un proyecto diseñado para la obtención y caracterización espectroscópica de sustancias, en las que un ácido 7-aminocefalosporánico como sal de trietilamina se aciló con el cloruro del ácido quinoloncarboxílico para dar productos de condensación con cierta actividad bactericida. Estos compuestos consisten en moléculas betalactámicas unidas a quinolonas a través de una unión amida.

Para la elucidación de las nuevas estructuras se usaron las técnicas espectroscópicas de RMN-¹H, RMN-¹³C e IR, con las siguientes moléculas: ciprofloxacina metilada, enrofloxacin, norfloxacina etilada, acetilnorfloxacina, CQ-M-EPCA (enrofloxacin unida al ácido 7-aminocefalosporánico), CQ-M-EPEA (norfloxacina etilada unida al ácido 7-aminocefalosporánico), CQ-M-EPCT (enrofloxacin unida al ácido 7-amino-3-[[[(1H-1,2,3-triazol-5-il)-tio]metil]cefalosporánico), Q-M-APEBu (acetilnorfloxacina unida a n-butilamina) y CQ-M-APEA (acetilnorfloxacina unida al ácido 7-aminocefalosporánico).

Los nuevos antibióticos que son combinaciones de cefalosporinas y quinolonas fueron denominados cefaquinolonas (CQ) o cefalonas, y su actividad antimicrobiana se encuentra aún en investigación con expectativas interesantes debido a que su actividad puede ser mayor a los fármacos conocidos actualmente. Para estos nuevos antibióticos la resistencia de parte de los microorganismos aún no se ha desarrollado.

SUMMARY

In general, the inadequate use of antibiotics has generated the necessity of creating new drugs since known drugs do not have the desired efficacy against some resistant microorganisms. In this way, combinations of antimicrobial agents have appeared with the purpose of extending their activity.

Recently the combinations of some quinolones with residues of cephalosporins have been studied; in this way the present project is designed to obtain these combinations and their spectroscopic study of substances in which an 7-aminocephalosporanic acid like triethylamine salt has been acylated with the quinolonecarboxylic chlorlyde acid to obtain products with some bactericidal activity. These compounds are betalactam molecules linked to quinolones through an amida bond.

Using for the elucidation of the new structures spectroscopy techniques like NMR-¹H, NMR-¹³C and IR, the molecules: methyl ciprofloxacin, enrofloxacin, ethyl norfloxacin, acetyl norfloxacin, CQ-M-EPCA (enrofloxacin links to 7-aminocephalosporanic acid), CQ-M-EPEA (ethylnorfloxacin links to 7-aminocephalosporanic acid), CQ-M-EPCT (enrofloxacin links to 7-amino-3-[[[(1H-1,2,3-triazol-5-yl)thio]methyl]cephalosporanic acid), Q-M-APEBu (acetylnorfloxacin links to n-butylamine and CQ-M-APEA (acetylnorfloxacin links to 7-aminocephalosporanic acid) were characterized.

The new antibiotics, which are combinations of cephalosporins and quinolones, are called cephaquinolones (CQ) or cephalones and their antimicrobial activity is still being researched with interesting expectations since their activity which could be greater than that of known drugs today. The resistance of the microorganisms to these new antibiotics has still not been developed.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos antiguos el hombre ha convivido con dolencias que afectan su calidad de vida y en ocasiones llegan a producirle la muerte. Si bien en un principio, su único medio de enfrentarlas era con medicamentos de uso local, más tarde en el siglo XIX, se establece que las bacterias podían ser los agentes causantes de algunas dolencias y desde entonces se ha visto obligado a hacer frente a éstas buscando los medios adecuados.

Actualmente se conocen como antibióticos a las sustancias químicas biosintetizadas por microorganismos y que suprimen o destruyen el crecimiento de otros microorganismos. También se incluye bajo este término a agentes antimicrobianos sintéticos como sulfanilamidas y quinolonas. De esta manera, la era moderna de la quimioterapia de infecciones empieza con el uso de la sulfanilamida en 1936 y la edad de oro de la terapia antimicrobiana empieza con la producción de la penicilina en 1941.

Entre los antibióticos más efectivos se encuentran las cefalosporinas que al igual que las penicilinas, son estructuras betalactámicas y poseen dos anillos fusionados: el betalactámico y el dihidrotiazónico, con un mecanismo de actividad semejante al de las penicilinas. Se les divide en 1^a, 2^a y 3^a generación y algunos autores se refieren a un grupo de cefalosporinas de amplio espectro como cefalosporinas de 4^a generación que han sido comercializadas recientemente.

Desde la 1^a generación de cefalosporinas se han hecho modificaciones sintéticas al núcleo básico de las mismas, obteniéndose cada vez mayor actividad antimicrobiana.

Otro grupo importante de antibióticos son las quinolonas, también llamadas fluoroquinolonas, 4-quinolonas y ácidos carboxilquinolónicos; son los fármacos de uso veterinario de mayor desarrollo, de los cuales se destacan tres generaciones:

La 1^a generación está constituida por derivados del ácido nalidíxico, la cual fue superada por la segunda generación de quinolonas que incluyen a la norfloxacin y la ciprofloxacina (fluoroquinolonas). La tercera generación de quinolonas difiere de la segunda en que tienen actividad mejorada contra ciertos microorganismos e incluyen a la enrofloxacin, ofloxacin y pefloxacin (fluoroquinolonas con un sustituyente 4'-metilpiperazinilo).

Las quinolonas pueden considerarse como una de las novedades más importantes de los últimos diez años en el mundo de los antimicrobianos. Las modificaciones que han sufrido las primeras dan lugar a estructuras mejoradas en su espectro antibacteriano.

Los antibióticos disponibles son eficaces, pero deben utilizarse con mejor criterio debido a posibles proliferaciones de microorganismos resistentes.

En general, el uso inadecuado de los antibióticos ha generado la necesidad de crear nuevos fármacos debido a que los anteriores ya no tienen la eficacia deseada en contra de algunos microorganismos resistentes. Por lo que la investigación para obtener antibióticos más potentes permanece como una tarea cotidiana. De esta manera han surgido combinaciones de agentes antimicrobianos con el fin de ampliar el espectro de actividad, debido a que modificaciones menores en la estructura molecular de un compuesto pueden alterar su biodisponibilidad y su eficacia, se ha observado la posibilidad de la formación de nuevos productos cuya estructura es preciso determinar para poder establecer los mecanismos de acción que se ven involucrados.

Recientemente se han estudiado las combinaciones de ciertas quinolonas con cefalosporinas.

En el presente trabajo se describe la síntesis y caracterización espectroscópica de nuevos antibióticos que pueden presentar actividad mejorada contra microorganismos más resistentes: combinaciones de quinolonas y cefalosporinas cuya actividad farmacéutica se encuentra aún en investigación.

GENERALIDADES.

La clasificación de los antibióticos basada en su estructura química y el mecanismo de acción propuesto se ha llevado a cabo históricamente de la siguiente forma¹:

- 1) Agentes que inhiben la síntesis de la pared bacteriana o bien activan enzimas que la deterioran causando la ruptura de la célula, incluyen: penicilinas y cefalosporinas.
- 2) Agentes que actúan sobre la membrana celular de los microorganismos incluyen: detergentes (compuestos con propiedades de detergente catiónico como las polimixinas) y agentes antihongos (como la anfotericina B un polieno cíclico y la bacitracina un polipéptido)².
- 3) Agentes que afectan la formación de ribosomas bacterianos causando inhibición reversible de la síntesis de proteínas, incluyen: cloranfenicol, tetraciclinas, eritromicina y clindamicina.
- 4) Agentes que se enlazan a la subunidad ribosomal 30s y alteran la síntesis de proteínas, incluyen: aminoglicosidos.
- 5) Agentes que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos, incluyen: rifamicina y quinolonas (inhiben el enrollamiento y la síntesis del ADN).
- 6) Antibióticos que bloquean pasos específicos esenciales para el metabolismo de los microorganismos incluyen: trimetoprim y sulfonamidas.

La figura No. 1 muestra los sitios de acción de los diferentes antibióticos sobre la célula bacteriana². Aunque podrían surgir categorías adicionales conforme se elucidan mecanismos de acción más complejos ya que hasta el momento, para algunos agentes antimicrobianos éstos permanecen desconocidos.

BACTERIA

1.- *PENICILINAS Y CEFALOSPORINAS:*
INHIBEN LA SÍNTESIS DE LA PARED
CELULAR Y LA BACTERIA PIERDE SU
ACTIVIDAD.

2.- *POLIMIXINAS Y BACITRACINAS:*
ATACAN LA MEMBRANA CELULAR
AFECTANDO LA PERMEABILIDAD
DE LA BACTERIA.

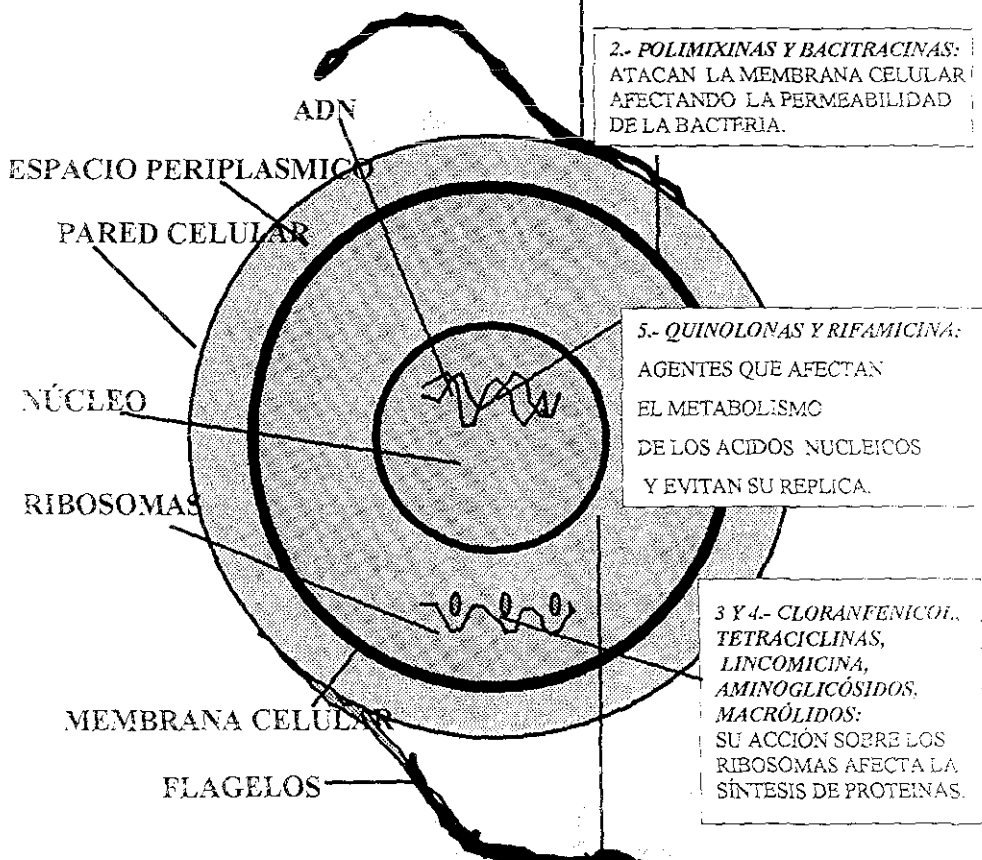


FIGURA No. 1

Debido a la necesidad de establecer parámetros de evaluación de actividad de los antibióticos ante los microorganismos, se ha considerado a éstos últimos, ser susceptibles al antibiótico si la dosis de fármaco utilizada es suficiente para producir el efecto necesario sobre ellos, a pesar de que las concentraciones del agente en plasma y tejidos permanezcan abajo de aquellas que se consideran tóxicas para el ser humano. Por el contrario, si la concentración de fármaco requerida para inhibir o matar al microorganismo es más grande de aquella que puede utilizarse con seguridad, los microorganismos se consideran resistentes al antibiótico¹.

El ensayo más común para la sensibilidad de los agentes antimicrobianos es el de Kirby-Bauer o técnica de difusión de disco; el cual se lleva a cabo colocando discos de papel filtro comercialmente disponibles, impregnados con cantidades específicas del fármaco en la superficie de placas de agar, sobre las cuales se siembra un cultivo de microorganismos. Después de 18 horas de incubación se determina la medida de la zona clara de inhibición y esto se relaciona con la actividad del fármaco contra la cepa ensayada¹.

Otro parámetro importante cuando se trabaja con antibióticos es la concentración más baja del agente que detiene el crecimiento visible después de 18 a 24 horas de incubación, esto se conoce como la Mínima Concentración Inhibitoria (MCI) o más comúnmente como MIC (Minimum Inhibitory Concentration). Mientras más bajo sea el valor del MIC esto indica mayor potencia del antibiótico¹.

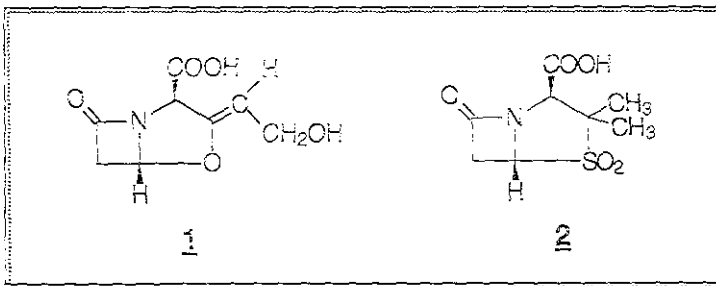
En la determinación de actividad antimicrobiana de una combinación de fármacos, se evalúa si el MIC de un fármaco se reduce, no cambia ó se incrementa en presencia de otro fármaco. Así se define al sinergismo como la inhibición del crecimiento microbiano con una combinación de fármacos, cuando su concentración es menor o equivalente al 25 % del MIC de cada fármaco actuando solo. Esto implica, que un fármaco está afectando al microorganismo de tal manera que lo hace más sensible al efecto inhibitorio del otro. Si se requiere de la mitad de la concentración inhibitoria de cada fármaco para producir la inhibición, al resultado se le llama aditivo. Una concentración inhibitoria fraccionada sugiere que los dos fármacos están trabajando independientemente uno del otro. Si más de la mitad del MIC de cada fármaco se necesita para producir el efecto inhibitorio, se dice que los fármacos son antagonistas¹.

Otro método para la evaluación de combinaciones de fármacos, está basado en la velocidad de su acción bactericida. Esto es, cultivos idénticos se incuban simultáneamente con la adición del antibiótico solo o en combinación. Si la combinación de antibióticos es más rápidamente bactericida que uno solo, al

resultado se le llama sinergismo. Si la velocidad bactericida de la combinación, es menor que la del fármaco solo, se dice que ocurre antagonismo. Si la velocidad bactericida es tan rápida como la del fármaco más bactericida se le llama indiferencia¹.

Existe un interés especial en combinaciones de fármacos con un inhibidor de betalactamasas, combinándolo con un antibiótico betalactámico del tipo de las penicilinas o cefalosporinas que son susceptibles a betalactamasas. Los inhibidores enzimáticos típicos son: clavulanato y sulbactam. Estas moléculas se enlazan a las betalactamasas y las inactivan, esto previene la destrucción de los antibióticos betalactámicos. El ácido clavulánico 1 producido por *Streptomyces clavuligerus* tiene una pobre actividad antimicrobiana intrínseca, pero actúa como inhibidor de betalactamasas producidas por microorganismos grampositivos. El ácido clavulánico es atacado más frecuentemente que un antibiótico betalactámico y bloquea el sitio de enlace de la betalactamasa¹.

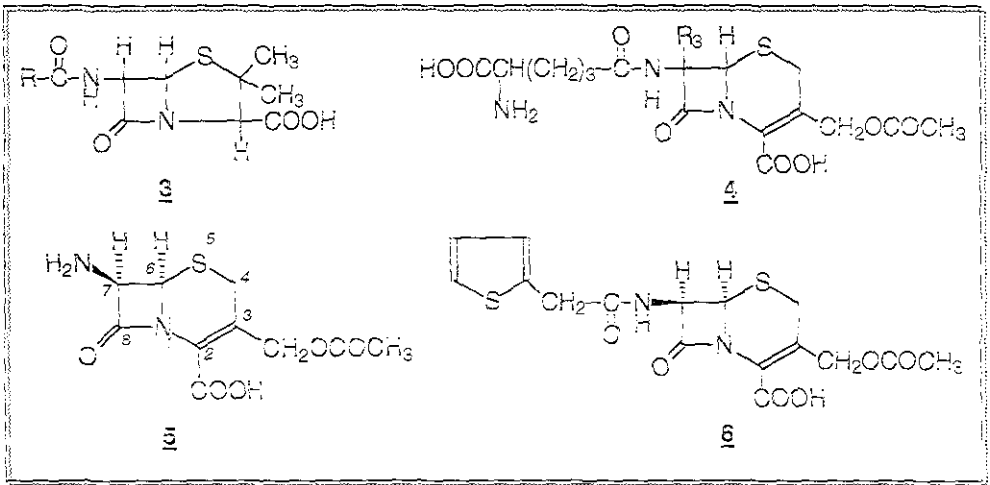
El sulbactam 2 es otro inhibidor betalactámico con estructura similar al ácido clavulánico. El sulbactam es una sulfona de ácido penicilánico.



II. CEFALOSPORINAS.

1.- GENERALIDADES DE CEFALOSPORINAS.

Después del descubrimiento de la penicilina (núcleo penicilánico 3) en 1929 por Fleming se inicia la era de los antibióticos biosintetizados. En 1948, Brotzu aísla por primera vez una cefalosporina a partir del hongo *Cephalosporium acremonium*. Los líquidos donde se cultivaba este hongo contenían tres tipos de antibióticos denominados cefalosporinas P, N y C¹. Con el aislamiento del núcleo activo de la cefalosporina C 4, y su posterior hidrólisis para la obtención del ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA) 5 y con la adición de cadenas laterales diferentes, ha sido posible producir compuestos semisintéticos con mucho mayor actividad antimicrobiana que la sustancia original.



La estructura básica de las cefalosporinas 5 contiene un anillo beta lactámico fusionado con un anillo de dihidrotiazina de seis miembros, un grupo NH₂ en C-7; un grupo COOH en posición C-2 y un doble enlace en la posición C-2.

Por otro lado, se ha detectado que aparentemente las modificaciones en la posición 7 del anillo betalactámico se asocian con diferencias en actividad antibacteriana¹ y las sustituciones en posición 3 del anillo de dihidrotiazina, están asociadas con cambios en el metabolismo y las propiedades farmacocinéticas del producto.

Comúnmente se divide por generaciones a las cefalosporinas y a pesar de que la división se basa en gran medida en el desarrollo cronológico de los fármacos, se pueden hacer algunas generalizaciones acerca del espectro de actividad antimicrobiana de cada generación. A continuación se enlistan algunas de estas generalizaciones^{3,4} mismas que fueron resumidas en la Tabla No. 1.

Primera generación: Estas cefalosporinas fueron introducidas en los años sesentas y son susceptibles a beta lactamasas, son eficaces contra cocos aerobios grampositivos, excepto *Enterococos* y *Staphylococcus aureus* y algunos anaerobios gramnegativos como *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, ejemplos de éstos, son: cefalotina 6 y cefalexina 7.

Segunda generación: Introducidas en los años 70s. son más resistentes a betalactamasas y tienen un amplio espectro de acción contra bacterias gramnegativas que incluyen *Enterobacter*, *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Presentan actividad disminuida contra cocos grampositivos como *S. aureus*; ejemplos de éstos son: cefamandole 8 y cefaclor 9.

Tercera generación: Presentan menos actividad contra microorganismos grampositivos y más contra gramnegativos como *Enterobacter*, *E. Coli*, *Klebsiella*, *P. mirabilis*, *Proteus* y *Serratia*; ej. cefotaxima 10.

Cuarta generación: Tienen un espectro de amplia acción y han sido comercializadas recientemente; son más resistentes a la acción de las betalactamasas y activas contra muchos microorganismos resistentes a los agentes de tercera generación u otros antibióticos betalactámicos. Su actividad contra organismos aerobios gramnegativos es comparable o superior a la de ceftazidima 11; comparable a la de cefotaxima 10 contra organismos grampositivos aeróbicos. Cabe mencionar que microorganismos como *S. aureus*, *Enterococos* y *B. fragilis* son resistentes a estos antibióticos; ejemplos de éstos son: cefepime 37 y cefpiroma 38.

Cefepime 37 tiene actividad contra una gran variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas incluyendo la mayoría de cepas resistentes a los aminoglicósidos y a cefalosporinas de tercera generación como ceftazidima 11. Es resistente a la mayoría de betalactamasas y tiene rápida penetración en células de bacterias gramnegativas.

El fármaco ha sido llamado cefalosporina de cuarta generación porque tiene un espectro "in vitro" que incluye muchos bacilos aeróbicos gramnegativos con resistencia adquirida a cefalosporinas de tercera generación⁵. Otra cefalosporina de 4^a generación cefpiroma **38** presenta gran estabilidad en presencia de betalactamasas, buena distribución en fluidos orgánicos y asociada con aminoglicósidos tiene acción sinérgica⁶.

La Tabla No. 1 muestra las características de las generaciones de las cefalosporinas de manera muy general asociada con su actividad "in vitro".

Tabla No. 1. Características de las generaciones de cefalosporinas.³

GENERACION	APARICION E. U. A.	ACTIVIDAD "IN VITRO"		
		Gram positivos	Gramnegativos	Sensibilidad a beta lactamasas
1 ^a	1960-1970	buena	moderada	relativamente susceptibles
2 ^a	Finales de 1970	buena	buena con más amplio espectro	resistentes
3 ^a	1980	moderada	muy buena con más amplio espectro	altamente resistentes
4 ^a	Finales de 1980 y principios de 1990	buena	muy buena	altamente resistentes

Las diferencias de las cefalosporinas están dadas por los sustituyentes en la cadena lateral de C-7, que junto con el sustituyente de la posición tres permite clasificar las cefalosporinas en cuatro grupos básicos:

- 1.- Derivados del 7-ACA **5**. Presentan un grupo acetilo en posición tres. Ej. cefapirina **12** y cefalotina **6**.
- 2.- Derivados del 7-ADCA **13** (ácido 7-amino-3-desacetoxicefalosporánico); con un grupo metilo en la posición tres. Ej. cefalexina **7** y cefadroxil **14**.

3.- Cefalosporinas que no presentan sustituyentes en C-4 o sustituyentes no carbonados. Ej. cefaclor 9 y cefroxadina 15.

4.- Cefalosporinas con sustituyentes heterocíclicos en posición tres. Ej. de grupos a introducir:

Grupo diazazol (cefazolina 16)

Grupo triazol (cefotriazina 17)

Grupo tetrazol (cefamandol 8)

Grupo triazina (ceftriaxona 18)

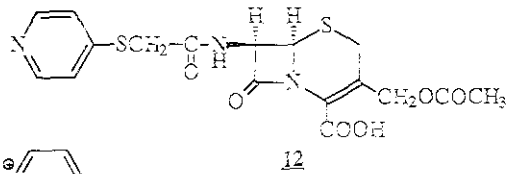
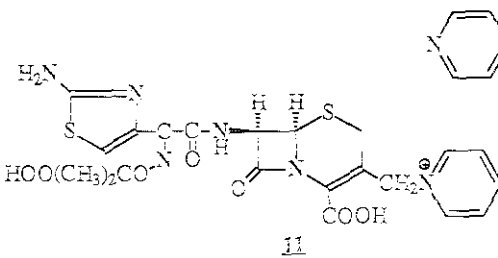
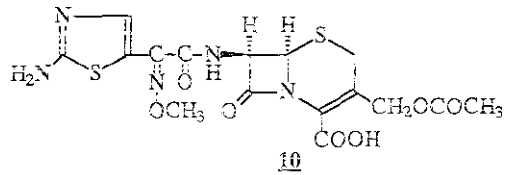
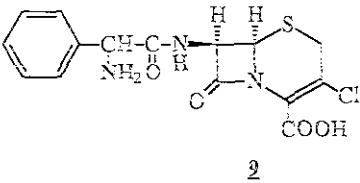
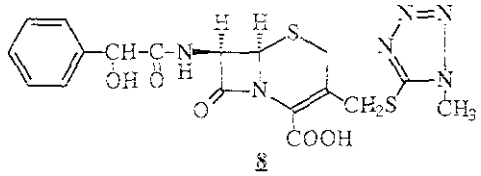
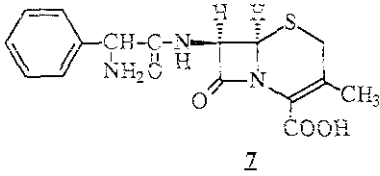
La Tabla No. 2 muestra la división actual de las cefalosporinas⁴. En general con la introducción de cada generación de cefalosporinas ha habido una pérdida de actividad grampositiva y un incremento en la actividad gramnegativa, así como a la resistencia de enzimas betalactamasas.

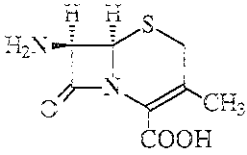
Tabla No. 2. Clasificación actual de cefalosporinas.⁴

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación	Cuarta generación
Cefadroxilo <u>14</u>	Cefaclor <u>9</u>	Cefixima <u>30</u>	Cefepime* <u>37</u>
Cefazolina <u>16</u>	Cefamandol <u>8</u>	Cefoperazona <u>26</u>	Cefpiroma <u>38</u>
Cefalexina <u>7</u>	Cefmetazol <u>20</u>	Cefotaxima <u>10</u>	
Cefalotina <u>6</u>	Cefonicid <u>21</u>	Cefpodoxima <u>31</u>	
Cefapirina <u>12</u>	Ceforanida <u>22</u>	Ceftazidima <u>11</u>	
Cefradina <u>19</u>	Cefotetan <u>23</u>	Ceftiofur <u>32</u>	
	Cefoxitina <u>24</u>	Ceftizoxima <u>27</u>	
	Cefprozil <u>29</u>	Ceftriaxona <u>18</u>	
	Cefuroxima <u>25</u>	Moxalactam <u>28</u>	
		Ceftibuten <u>33</u>	
		Cefetamet <u>34</u>	
		Cefodizima <u>35</u>	
		Cefzulodina <u>36</u>	

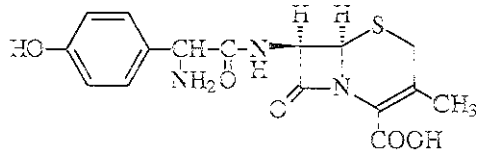
*Algunos autores la consideran de 5ª generación

FÓRMULAS ESTRUCTURALES DE LAS CEFALOSPORINAS MENCIONADAS¹.

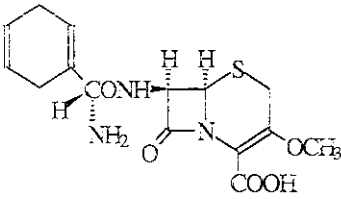




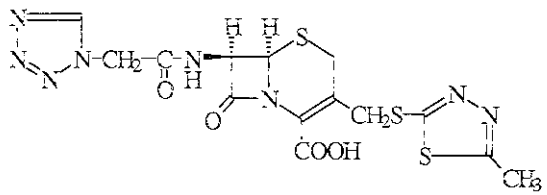
13



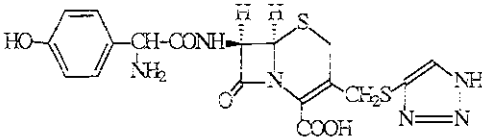
14



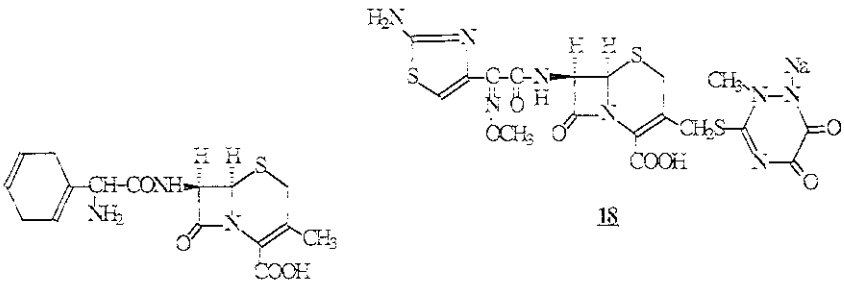
15



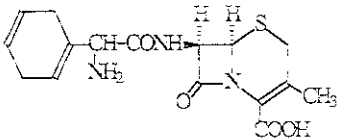
16



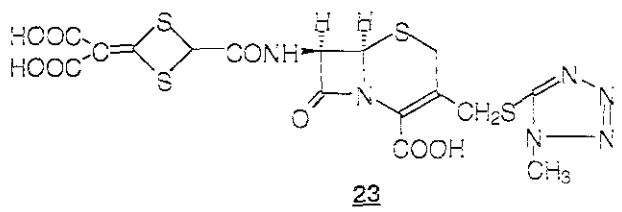
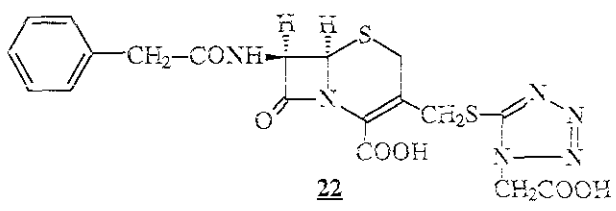
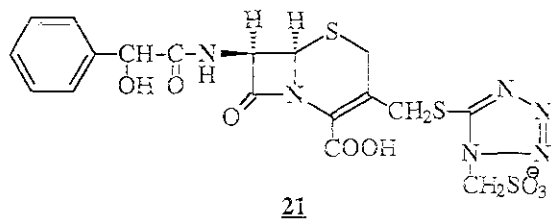
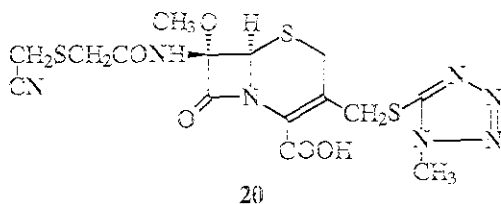
17

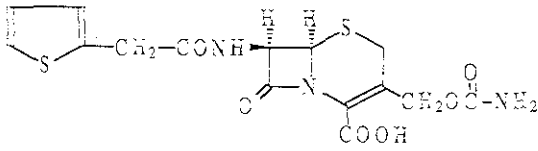


18

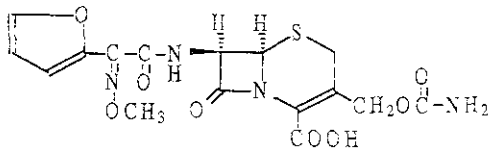


19

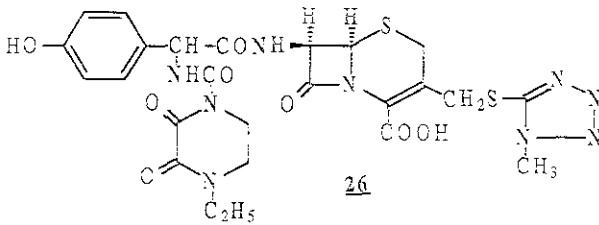




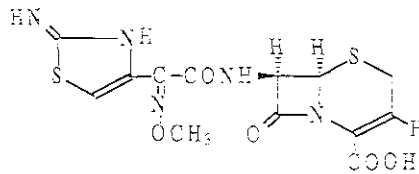
24



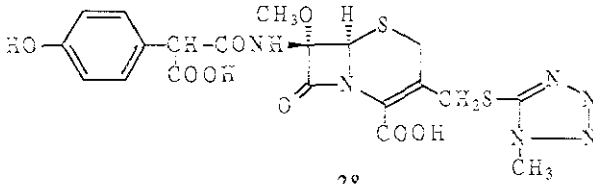
25



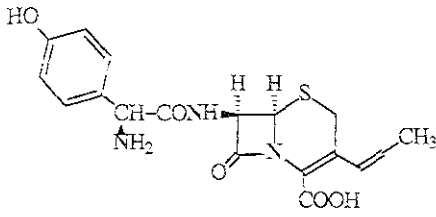
26



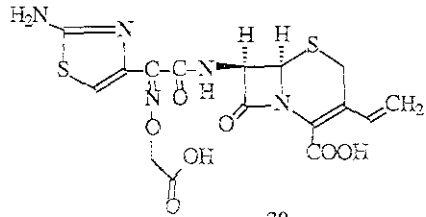
27



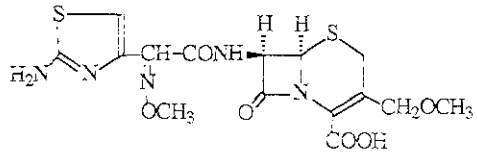
28



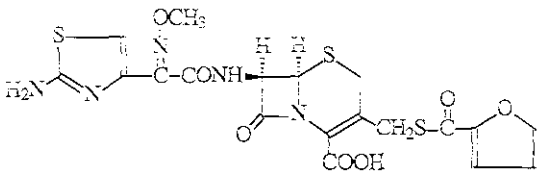
29



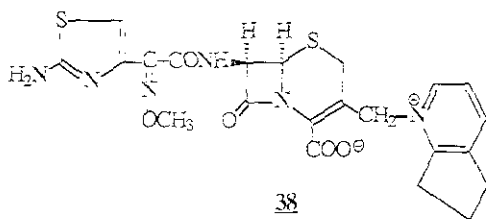
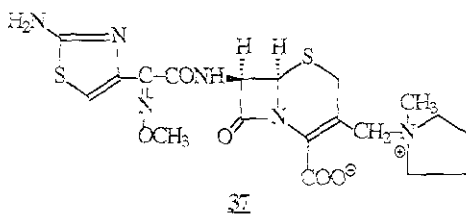
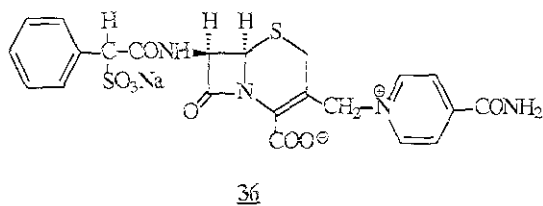
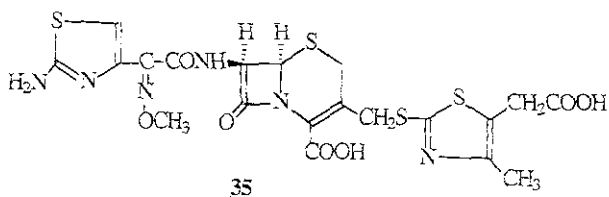
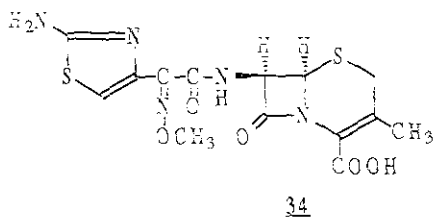
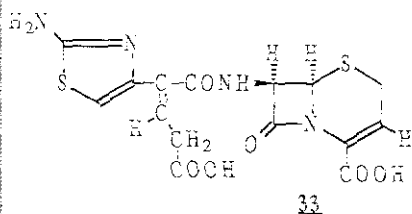
30



31



32



2.- MECANISMO DE ACCIÓN.

Las cefalosporinas son agentes bactericidas con actividad frente a bacterias grampositivas y gramnegativas. Actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, de forma similar a las penicilinas. Los núcleos básicos de los antibióticos tales como penicilinas y cefalosporinas tienen la estructura del anillo betalactámico en común, pero las cefalosporinas tienen un anillo de dihidrotiazina de seis miembros, mientras que las penicilinas contienen un anillo de tiazolidina de cinco miembros. El efecto bactericida de ambas clases se debe a la capacidad del anillo betalactámico para enlazarse a una enzima bacteriana, que es importante para la síntesis apropiada de la pared celular¹.

En bacterias grampositivas y gramnegativas, la capa de la pared celular está formada por moléculas de peptidoglicano. Una reacción de eslabonamiento cruzado involucrando al peptidoglicano, inducida por la enzima bacteriana transpeptidasa, da a la pared celular bacteriana la fuerza estructural para superar la alta presión osmótica intracelular. El anillo betalactámico se enlaza con la enzima transpeptidasa evitando la reacción de eslabonamiento cruzado, el debilitamiento y la eventual ruptura de la pared celular¹.

Cuando el anillo betalactámico se abre por hidrólisis tal como ocurre con la enzima betalactamasa, las cefalosporinas ya no son capaces de enlazarse a la transpeptidasa y se desactivan biológicamente. Probablemente la transpeptidasa es acilada por el anillo betalactámico con la ruptura del enlace -CO-N- del anillo betalactámico.

Es conocido que existen objetivos específicos para la acción de las penicilinas y cefalosporinas, los cuales son clasificados como: proteínas enlazantes a penicilina. Las proteínas enlazantes a penicilina de *E. coli* incluyen las transpeptidasas responsables de la síntesis del peptidoglicano. La inhibición de las transpeptidasas causa una lisis más rápida. (Las moléculas pequeñas de antibióticos betalactámicos pueden penetrar fácilmente la membrana citoplásmica y las proteínas enlazantes a penicilinas donde el estado final de la síntesis de los peptidoglicanos tiene lugar)¹.

El peptidoglicano es un componente heteropolimérico de la pared celular que le da estabilidad mecánica rígida debido a su estructura enrejada altamente entrecruzada.

3.- TOXICIDAD⁷.

Se pueden presentar reacciones de hipersensibilidad, sin embargo éstas parecen ser menos comunes con las cefalosporinas que con las penicilinas.

Los pacientes que presentan reacción ante la penicilina, parecen poco propensos a sufrir reacciones alérgicas luego de la administración de una cefalosporina.

Todas las cefalosporinas son bactericidas de amplio espectro que poseen baja toxicidad y su efecto adverso principal es un posible daño renal.

III. FLUOROQUINOLONAS.

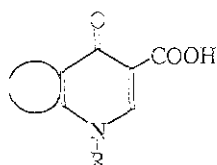
I.- GENERALIDADES DE FLUOROQUINOLONAS.

Las quinolonas son un grupo de antimicrobianos sintéticos y muy heterogéneo desde el punto de vista químico. Se les puede definir como derivados de un ácido-3-carboxílico-4-oxo de una naftiridina (4-naftiridona), de quinolina (4-quinolona), de cinolina (4-cinolina) o de piridopirimidina (4-pirimidona).

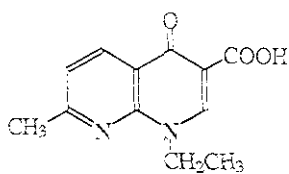
En sentido estricto, sólo son quinolonas las derivadas de la 4-oxoquinolina (4-quinolona) aunque el nombre genérico de quinolonas abarca los cuatro grupos debido al mismo mecanismo de acción. Las quinolonas se definen como ácidos 1,4-dihidro-4-oxo-3-piridincarboxílicos-1-sustituídos y que tienen una fusión de un anillo adicional 39.

Existen tres generaciones de compuestos químicamente relacionados a las quinolonas⁸. La primera relacionada con el ácido nalidíxico 40 que pertenece al grupo de las naftiridinas (1963); las modificaciones a su estructura han producido agentes antimicrobianos tales como el ácido oxolínico 41, el ácido pipemídico 42 y la cinoxacina 43. El descubrimiento de que los cambios en la estructura química de este grupo de compuestos modificaba de manera importante su actividad antimicrobiana, lo que condujo a que se sintetizaran nuevos agentes antimicrobianos, surgiendo así la segunda generación de quinolonas llamadas ácidos quinoloncarboxílicos ó 4-quinolonas, este término se usó como nombre genérico para el esqueleto común de 4-oxo-1,4-dihidroquinolonas; posteriormente, la introducción del grupo piperazinilo en posición 7 y un átomo de flúor en posición 6, produce las llamadas piperazinilfluoroquinolonas o fluoroquinolonas 44 tales como: norfloxacin 45 (1979) y ciprofloxacina 46, miembros aún de la segunda generación de derivados quinolónicos. La introducción de un sustituyente 4-aiquílpiperazinilo en la posición 7 de la quinolona da lugar a las fluoroquinolonas de 3^a generación, tales como enrofloxacin 53 y pefloxacin 49.

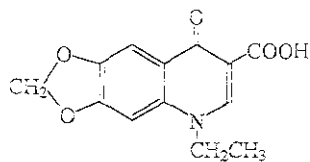
Las quinolonas son de los pocos antibióticos totalmente sintéticos. Inicialmente se obtuvieron a partir de un subproducto de la síntesis de cloroquina⁹, el ácido 7-cloro-1-etil-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico 47, que mostraba poca actividad antibiótica "in vitro", a partir del cual se diseñó y sintetizó el ácido nalidíxico 40.



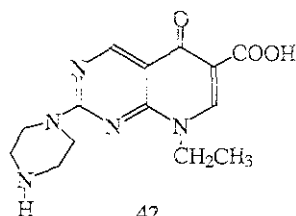
39



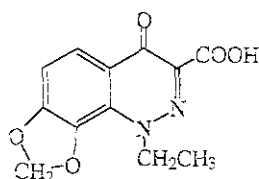
40



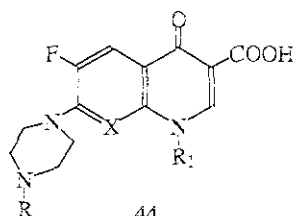
41



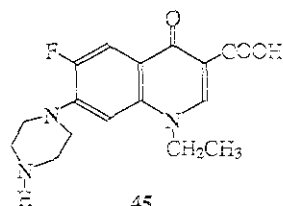
42



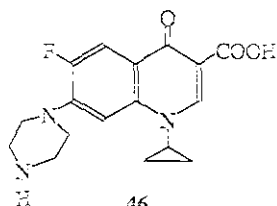
43



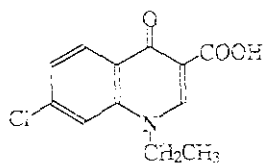
44



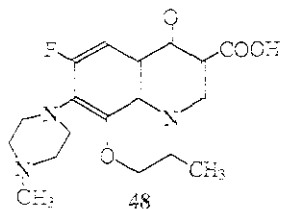
45



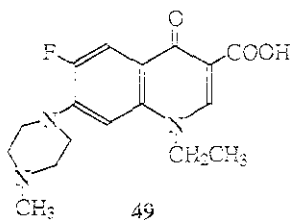
46



47



48



49

Los estudios clínicos con norfloxacin 45, ciprofloxacina 46, ofloxacina 48 y pefloxacina 49 han demostrado el valor de las nuevas fluoroquinolonas en muchas infecciones. Comúnmente las quinolonas matan bacterias más rápidamente que los antibióticos betalactámicos y debido a que se trata de fármacos totalmente sintéticos, era poco probable que los microorganismos dispusieran de enzimas capaces de inactivarlos. Sin embargo, su amplio espectro, buena tolerabilidad y gran actividad (potencia contra microorganismos gramnegativos tanto como grampositivos y organismos anaerobios) propiciaron la difusión de su uso y entonces las resistencias comenzaron a aparecer.

2.- MECANISMO DE ACCIÓN¹.

El sitio de acción de las fluoroquinolonas es la ADN-girasa (que existe sólo en las bacterias) o topoisomerasa II, enzima vital para la replicación del material genético bacteriano. De manera simplificada, se puede decir que dicho material se encuentra conglomerado y la función de la ADN-girasa consiste en alinearlo y girarlo en sentido contrario a la torsión normal de la doble hélice y de esta forma permitir que el material genético se replique, transcriba, repare y recombine. Así la inhibición de estos procesos generará el bloqueo de múltiples funciones celulares, muchas de ellas vitales; de ahí el carácter bactericida de las quinolonas. Las dos hebras de la doble hélice del ADN pueden separarse para permitir la replicación o transcripción del ADN, sin embargo el hecho de que se separen las hebras resulta en un excesivo enrollamiento positivo del ADN en el punto de separación. Para combatir este obstáculo mecánico, la enzima bacteriana ADN girasa introduce un enrollamiento contrario en el ADN.

Las quinolonas atraviesan las membranas externa (externa a la pared celular) e interna (membrana citoplasmática) de la célula bacteriana gramnegativa para interactuar con la ADN-girasa. Las rutas de penetración de la membrana externa no están completamente entendidas pero parecen involucrar la difusión a través de canales porosos, sin embargo muchos detalles mecánicos de la muerte bacteriana debida a quinolonas aún no han sido aclarados.

.- INTERACCIÓN ADN - QUINOLONA⁶.

Las quinolonas son agentes que interfieren con una amplia variedad de procesos relacionados con el ácido desoxirribonucleico (ADN). La ADN-girasa de *E. Coli* es un tetrámero compuesto de dos subunidades A y dos subunidades B. Las subunidades A, las cuales llevan a cabo la función de la girasa de cortar las hebras de ADN, son el sitio de acción comúnmente aceptado para las quinolonas; sin embargo, algunos autores⁶ proponen que las quinolonas no se enlazan a las enzimas sino al ADN. Según estos autores, las quinolonas forman puentes de hidrógeno con las bases del ADN y se sugiere que los enlaces se originan entre los grupos donadores de hidrógeno sobre la base y los grupos 4-ceto y/o 3-carboxilo del anillo de la quinolona.

Los modelos propuestos sugieren tres dominios funcionales sobre la molécula de quinolona: El dominio de enlace con ADN; el dominio de asociación con ella misma y el dominio de interacción fármaco-enzima. El dominio de interacción hipotético quinolona-enzima; es decir, el espacio ocupado por los sustituyentes en C-7, se propuso como una posible localización de grupos funcionales para posteriores enlaces del fármaco al complejo, y esta propuesta es consistente con la potencia incrementada observada para nuevas quinolonas anfotéricas con sustituyentes piperazínicos u otros sustituyentes básicos localizados en la posición mencionada. (Figura No. 2.)

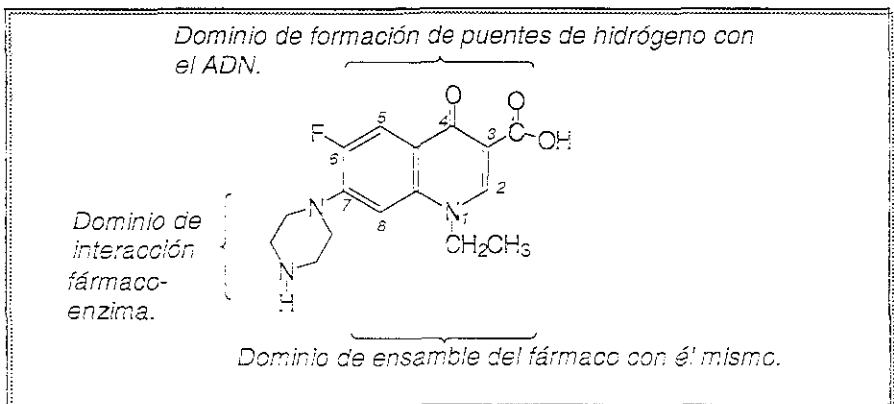


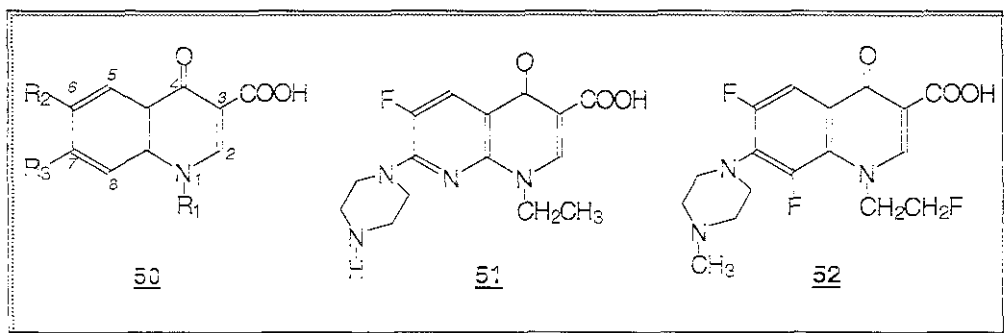
Figura No. 2

- RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD^{8,9,10}.

El descubrimiento de modificaciones importantes que originaba la introducción de un átomo de flúor en posición 7 y después de otras mejoras tanto de actividad como farmacocinéticas aportadas por estructuras como ciprofloxacina **46**, ofloxacina **48** etc., convirtió a esta generación de quinolonas en fármacos de primera línea frente a numerosas infecciones.

Como resultados de las observaciones al modificar la estructura básica de las fluoroquinolonas se han sugerido las siguientes generalidades:

El nitrógeno de la piridona **50** no puede remplazarse (a pesar de que los grupos enlazados a él pueden variarse sustancialmente). El carbono 2 puede variarse sólo de manera muy limitada, debido a que se disminuye la potencia significativamente. El carboxilo en el carbono 3 puede remplazarse por una tiazolidona (semejando a un grupo carboxilo en acidez) y las variaciones en C-4 difícilmente se han informado. Todas las otras posiciones de las quinolonas pueden variarse ampliamente. Los sustituyentes básicos en el carbono 7 sirven para orientar las moléculas de quinolonas y contribuyen al enlace con la enzima.



Por otro lado, se ha observado que un sustituyente flúor en posición 6 es superior en incremento de actividad a todos los otros cambios que se puedan hacer en la molécula.

Con relación a los sustituyentes del nitrógeno 1 se han hecho las siguientes observaciones: según Renau, T. E.¹⁰, la actividad antibacteriana impartida por

sustituyentes en el nitrógeno 1 sigue el orden ter-butilo > ciclopropilo > 2, 4-difluorofenilo > etilo = ciclobutilo > isopropilo.

La norfloxacin **45** presenta una mayor biodisponibilidad cuando se sustituye el etilo por un ciclopropilo (ciprofloxacina **46**) y se incrementa cuando se agrega un nitrógeno al anillo fusionado a la piridona en posición ocho (enoxacina **51**) o un grupo metilo adicional como en la pefloxacina **49**, algunos datos de biodisponibilidad⁹ se presentan en la Tabla No. 3.

Tabla No. 3. Biodisponibilidad de algunas fluoroquinolonas al variar el sustituyente en la posición N-1⁹.

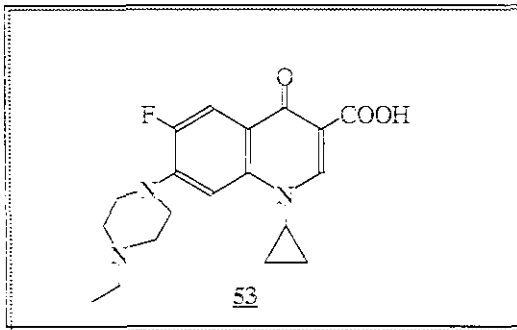
Quinolona	% bio-disponibilidad	Sustituyente en N-1	7-anillo	Sustituyente en Anillo 7	Posición 8
norfloxacin 45	10-20	etilo	piperazina	H	C
ciprofloxacina 46	30-40	ciclopropilo	piperazina	H	C
enoxacina 51	50-60	etilo	piperazina	H	N
pefloxacina 49	60-70	etilo	piperazina	metilo	C
ofloxacina 48	80-90	benzoxacina	piperazina	metilo	benzoxacina
fleroxacina 52	100	fluoroetilo	piperazina	metilo	C-F

Otros estudios⁹ han demostrado que las quinolonas con sustituyentes similares en tamaño al grupo etilo en la posición 1, tales como: $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{F}$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$ y $-\text{OCH}_3$ muestran buenas potencias inhibitorias comparables al análogo con etilo. Por lo que la diferencia de las observaciones de Renau¹⁰, Clifford⁹ sugiere que con relación al etilo otros grupos alquilo más pequeños o más grandes son generalmente menos activos "in vitro" e "in vivo".

sin embargo, Hooper⁸ describió que el sustituyente 1-ciclopropilo era el más benéfico, aun cuando, no se establecieron las razones del porque éste aumenta la actividad de la molécula; algunos estudios han mostrado que el sustituyente ciclopropilo interactúa con el anillo de quinolona o con el blanco bioquímico, especialmente contra microorganismos gramnegativos. Las quinolonas con sustituyente 1-ciclopropilo son más activas que sus análogos 1-isopropilo. Esta actividad se asocia con el carácter compactado y semiolefínico del anillo de ciclopropilo.

La posición que ha recibido mayor atención en las fluoroquinolonas es la siete. Se ha observado que cambios aparentemente pequeños en los sustituyentes de esta posición conllevan a efectos muy significativos sobre propiedades fisicoquímicas (solubilidad, pKa, etc.), potencia y farmacocinética. Por ejemplo las propiedades fisicoquímicas de compuestos con sustituyentes metilo y 1-piperazino son muy distintas. A su vez la sustitución en la posición 4' del grupo piperazino da a la pefloxacina **49** cinco veces más potencia que la norfloxacina **45**. Por otro lado, se encontró una potencia comparable para sustituyentes alquil piperazínicos, los cuales resultaron ser más potentes que los acil derivados⁸.

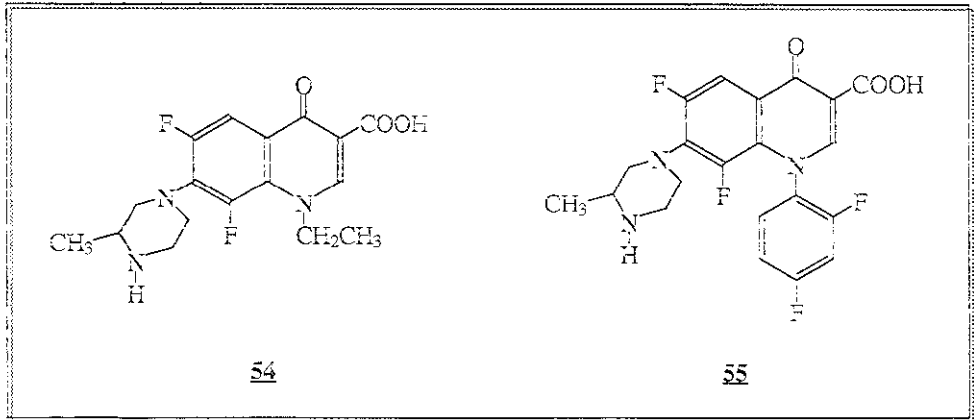
Uno de los compuestos a los que se ha dado mayor atención es la enrofloxacina **53** que tiene actividad superior contra patógenos gramnegativos y actividad comparable a la de penicilina G y gentamicina contra grampositivos.



En cuanto al C-8, uno de los problemas que se han observado es la fototoxicidad con los derivados halogenados en estudios clínicos en animales⁸. Sin embargo, aunque algunas propiedades antibacterianas se pueden asociar con determinados sustituyentes, hay que considerar globalmente a la molécula, ya que diversas sustituciones pueden actuar positiva o negativamente entre sí.

- TOXICIDAD DE LAS FLUOROQUINOLONAS⁸.

En la actualidad el uso de las quinolonas se ha extendido ampliamente, de tal modo, es importante conocer tanto la actividad como la toxicidad que pueden presentar. Así por ejemplo; la norfloxacin 45, se usa normalmente para infecciones del tracto urinario; la ciprofloxacina 46, la ofloxacina 48 y la lomefloxacina extendieron las aplicaciones clínicas de otros agentes nuevos a sitios adicionales y clases de infección, incluyendo: diarreas, infecciones del tracto respiratorio, de la piel, huesos, articulaciones y algunas enfermedades de transmisión sexual. Sin embargo, a mediados de 1992 había 5 agentes quinolónicos disponibles para uso clínico pero con uno de ellos, temafloxacina 55 se informó de anemia hemolítica en pacientes a quienes les fue administrada.



En general, los efectos adversos descritos con más frecuencia para las fluoroquinolonas son: náuseas, diarrea, vómitos, mareos e insomnio. Aun cuando el perfil toxicológico de las quinolonas incluye nefropatía, artropatía, efectos sobre el sistema nervioso central, toxicidad ocular, deterioro en la espermatogénesis, efectos cardiovasculares, posible mutagenicidad y fotosensibilidad. Algunos de estos efectos sólo han sido observados en animales, lo que significa que todavía no son muy claros en seres humanos.

Dada la toxicidad artrópica observada en animales, los antibióticos quinolónicos no se recomendaron inicialmente para pacientes pediátricos aunque no se ha detectado ningún daño al esqueleto en seres humanos. En animales, las quinolonas han

mostrado erosión de cartilago, pero el mecanismo de estos efectos en humanos es desconocido. Se ha recomendado que las fluoroquinolonas no se usen en pacientes con esqueleto en estado de crecimiento ni en mujeres embarazadas.

IV. COMBINACIÓN FLUOROQUINOLONA - CEFALOSPORINA.

La aparición de cepas cada vez más resistentes, ha creado la necesidad de sintetizar nuevos fármacos capaces de presentar actividad sobre estos microorganismos y debido a que la combinación con otros antibiótico algunas veces incrementa la efectividad de un fármaco, se ha considerado el uso de las fluoroquinolonas junto con otros antibióticos.

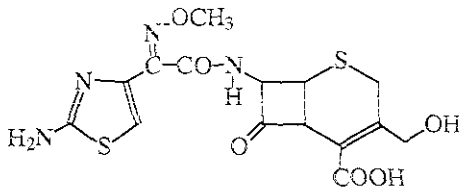
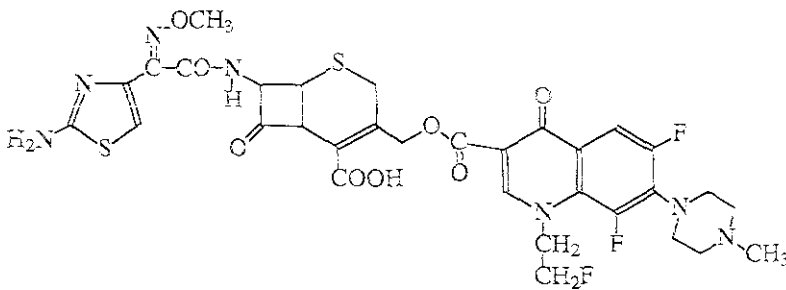
Con base en esta idea se han llevado a cabo pruebas de combinación de fluoroquinolonas con aminoglicósidos y con compuestos betalactámicos contra diversos microorganismos. Las combinaciones de compuestos betalactámicos y fluoroquinolonas son sinérgicas, sin embargo las combinaciones con aminoglicósidos no lo son⁸.

En la tarea de mejorar las propiedades de los antibióticos, han surgido varias combinaciones de agentes antimicrobianos; tal es el caso de fluoroquinolonas enlazadas a la posición 3' de cefalosporinas a través de un enlace éster¹¹ o a través de un nitrógeno cuaternario¹².

Se ha propuesto que la apertura nucleofílica del anillo betalactámico de una cefalosporina, conteniendo un sustituyente adecuado en C-3 puede resultar en una expulsión del sustituyente en dicha posición. Los sustituyentes normales de las cefalosporinas que son expulsados son acetilo, piridilo y una variedad de tetrazoles enlazados por azufre a heterociclos relacionados, estos sustituyentes no tienen actividad antimicrobiana; pero si se utilizan unidades con actividad antimicrobiana en la posición adecuada para ser expulsados, existe la posibilidad de tener un efecto sinérgico⁸.

Debido a que tanto las cefalosporinas como las quinolonas son bactericidas, esta combinación resulta adecuada. Ya que los ésteres simples de las fluoroquinolonas no son biológicamente activos, la teoría es que el componente quinolónico actúa hasta que es liberado por un nucleófilo⁸.

Algunos de estos híbridos al compararse con la cefalosporina inicial muestran mayor actividad contra ciertas cepas¹³. Uno de los fármacos de éste tipo es la combinación de desacetilcefotaxima **56** y fleroxacina **52**; al producto se le conoce como Ro 23-9424¹⁴, ¹⁵ **57**, éste mostró alta actividad contra cepas resistentes a cefotaxima **10** y fleroxacina **52** "in vitro" como *Haemophilus*, *Neisseria* y muchas cepas de estafilococos, estreptococos y *Pseudomonas aeruginosa*.

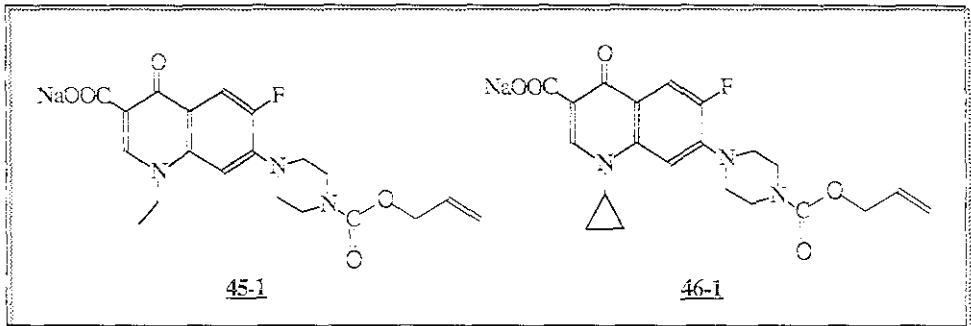
**56****57**

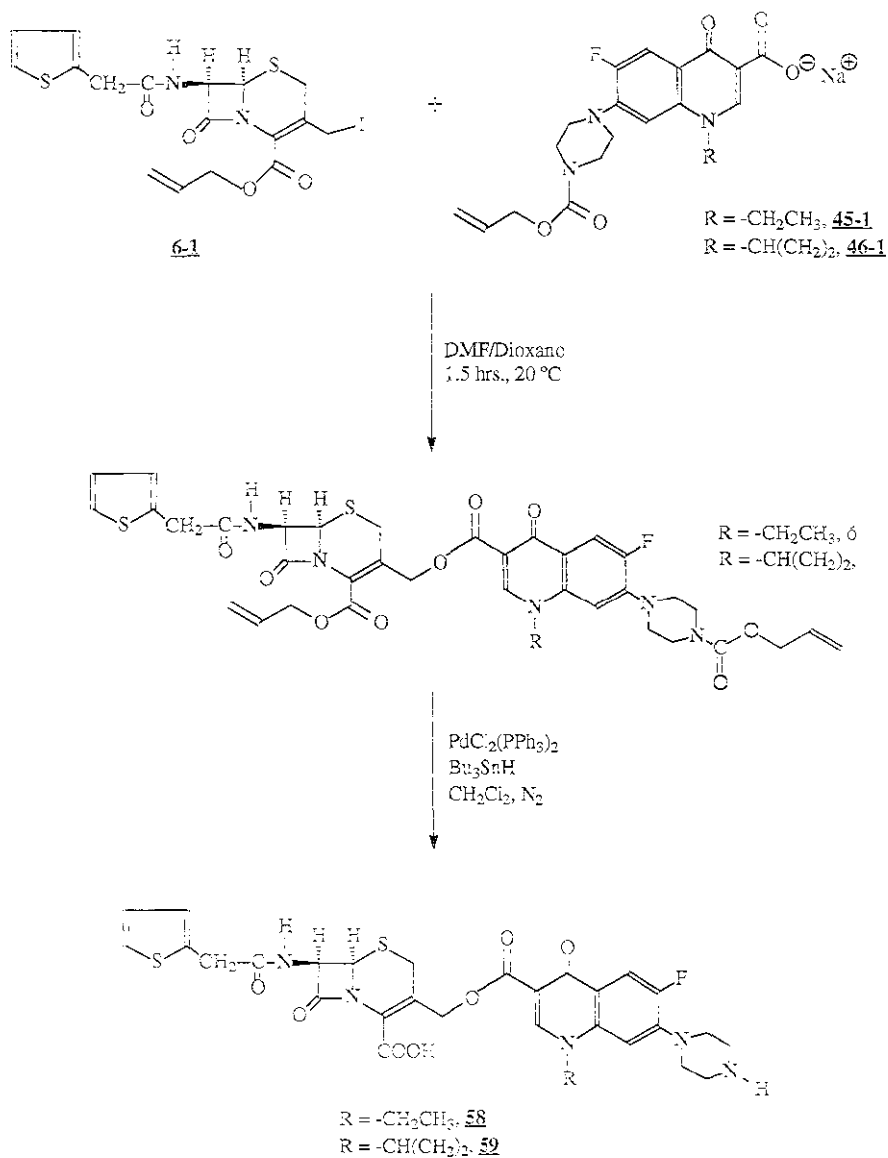
Además Ro 23-9424 **57** es activa contra *E. Coli*, la cual presenta resistencia a los componentes cefalosporánico y quinolónico por separado, esto sugiere que la molécula intacta puede tener actividad antibacteriana¹⁵.

Cuando se intentó probar si una cefalosporina sola y una fluoroquinolona sola tienen más o menos actividad por separado o en combinación, ya sea como mezcla únicamente o como éster, se obtuvieron resultados no del todo convincentes; ya que algunas veces la mezcla 1:1 muestra sinergismo y algunas veces, el éster como tal muestra mejor actividad que los componentes por separado¹⁶. Por lo tanto el futuro de los híbridos cefalosporina-quinolona no es todavía claro.

Es importante considerar que este tipo de compuestos con la posibilidad de liberar fluoroquinolonas no puede ser del todo aceptado para uso veterinario, debido a que algunas fluoroquinolonas administradas en animales podrían provocar el surgimiento de nuevas cepas resistentes en el hombre. En otras palabras, cuando se administra la fluoroquinolona a animales de consumo humano; el hombre podría estar adquiriendo las fluoroquinolonas en pequeñas dosis constantes; provocando resistencia latente en microorganismos y cuando sea necesario administrar las fluoroquinolonas en humanos éstas ya no tendrían efecto.

Fluoroquinolonas como norfloxacin 45 y ciprofloxacina 46, fueron aciladas por Demuth, T. P.¹⁶ con cloroformiato de alilo bajo condiciones modificadas de Schotten Baumann (NaOH/H₂O pH 9.5-11) y se prepararon las sales de sodio correspondientes 45-1 y 46-1; éstas se hicieron reaccionar con el yodo cefem alil éster de cefalotina 6-1 en las condiciones indicadas en el esquema 1 para la obtención de los ésteres 58 y 59¹⁶.



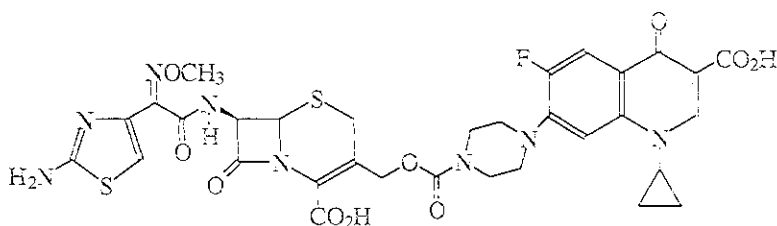


Esquema 1

os ésteres **58** y **59** presentan actividad mejorada comparada con cefalotina **6** contra bacterias gramnegativas "in vitro", comparadas con las correspondientes fluoroquinolonas presentan potencias mejoradas contra microorganismos ampositivos¹⁶.

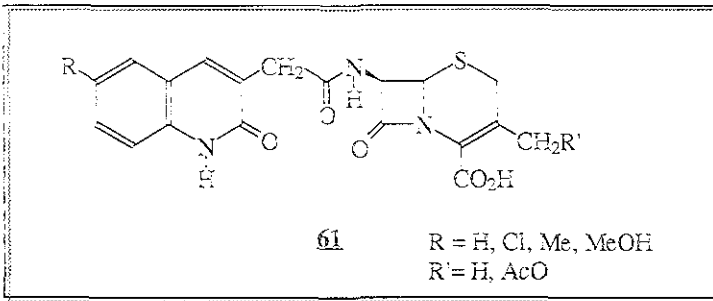
entre otras combinaciones de cefalosporinas con fluoroquinolonas se encuentran los siguientes ensayos:

llamado Ro-24-4383 **60** que contiene desacetilcefotaxima **56**, ligada por un enlace carbamato en la posición 4' del nitrógeno de la ciprofloxacina **46**, este producto demostró ser el más activo de una serie de antibacterianos de acción dual¹¹. Este tipo de compuestos probablemente actúan de la misma manera que los descritos anteriormente; es decir, liberando a la fluoroquinolona o probablemente como fluoroquinolona sustituida en menor medida por la facilidad de la liberación de ésta tima.

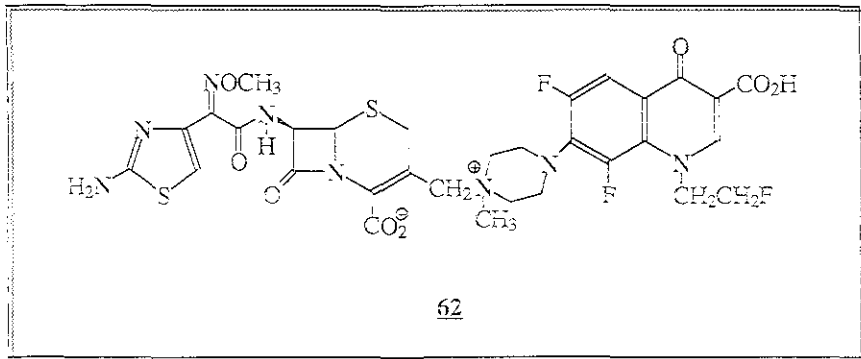


60

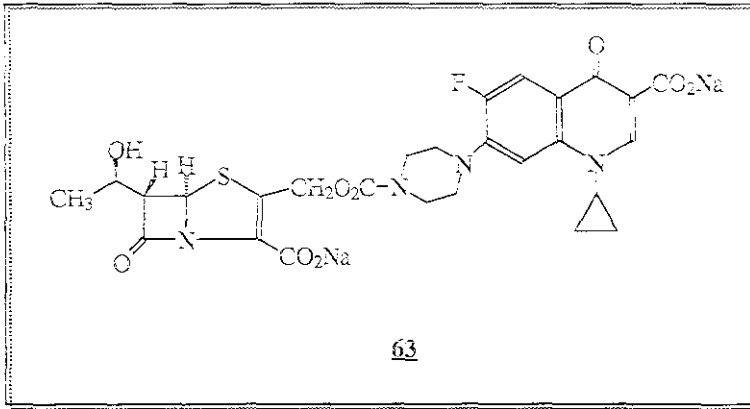
uno de los intentos de unir cefalosporinas a quinolonas originó la síntesis de compuestos como las 7β-(6-sustituidas-2-quinolon-3-acetamido) cefalosporinas **61**; a partir de la condensación de ácidos quinoloncarboxílicos con aminocefem carboxilatos. Las cuales muestran actividad comparable a cefazolina **16**¹⁷.



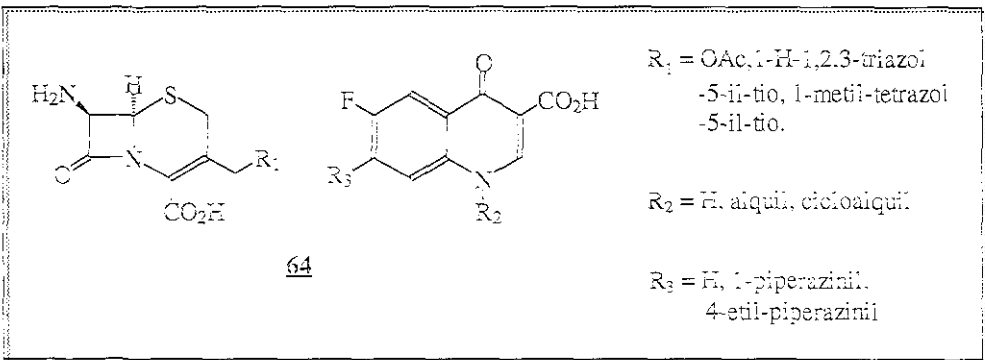
otros compuestos relacionados con la unión cefalosporina-quinolona, son sales cuaternarias de amonio. Cuando las cefalosporinas ejercen su actividad biológica, por la reacción con enzimas bacterianas, la apertura del anillo β -lactámico puede dar lugar a la expulsión del sustituyente en la posición 3' del mismo. Así se preparó otra serie de cefalosporinas en las cuales las quinolonas están enlazadas a la posición 3' del betalactámico a través de un nitrógeno cuaternario como en la estructura **62**; estos compuestos muestran actividad derivada de cefalosporina y de quinolona y actúan en un modo de acción dual¹².



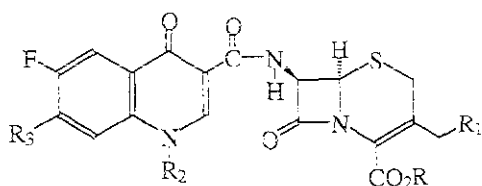
Landall¹⁸ informa de la síntesis de otro derivado quinolónico con un compuesto β -lactámico, en este caso un núcleo penicilánico **63**.



Por otro lado se tiene como antecedente la presentación de sales derivadas de cefalosporinas y fluoroquinolonas 64 para uso como bactericidas. Se describe alta actividad antiviral, antimicoplasma y antibacteriana¹⁹. Compuestos que no han sido caracterizados completamente.



Entre otros intentos de combinaciones de cefalosporinas y fluoroquinolonas, se encuentran los realizados por la compañía Laboratorios Aranda^{20,21}; en los que un ácido 7-aminocefalosporánico se acila con el ácido quinoloncarboxílico para dar productos de condensación como **65**, con cierta actividad bactericida. El presente trabajo es un proyecto en coordinación con dicha compañía para la obtención y caracterización espectroscópica de algunas de las moléculas descritas.



65

R = H⁺, Na⁺, K⁺, ⁺NH₄
 R₁ = H, OAc, 1-piridil-
 heterociclii-tio
 R₂ = H, Alquil, cicloalquil
 R₃ = Halógeno, piperazinilo
 sustituido o no
 sustituido

OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo fue la obtención de moléculas de compuestos betalactámicos unidos a quinolonas a través de una unión amida, formada entre la amina en C-7 de los primeros con el carboxilo de los segundos.

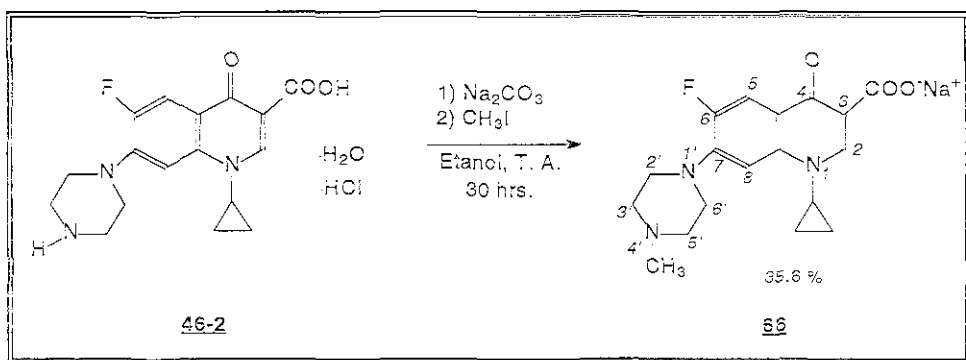
Para hacer posible la mencionada unión, fue necesario proteger las aminas secundarias de las quinolonas con el objeto de evitar las autocondensaciones.

Una vez llevada a cabo la síntesis se procedió a la determinación estructural de los nuevos productos denominados como cefaquinolonas o cefalonas, con la ayuda de los métodos espectroscópicos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno, Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece e Infrarrojo.

Las cefaquinolonas sintetizadas pueden ser de utilidad para el tratamiento de padecimientos infecciosos ocasionados por microorganismos resistentes a los antibióticos conocidos en la actualidad.

I.- ALQUILACIÓN DE CIPROFLOXACINA.

Uno de los compuestos de uso extendido, dentro del grupo de las fluoroquinolonas en terapéutica humana, es el clorhidrato de ciprofloxacina **46-2**; en este trabajo se consideró de interés la metilación del nitrógeno de la parte de la piperazina en la ciprofloxacina obtenida comercialmente (esquema 2); con el fin de obtener un producto diferente con posible actividad antimicrobiana en las condiciones propuestas a lo largo de este trabajo.



Esquema 2

La metilación del producto **46-2** se llevó a cabo con alguna dificultad, debido a la tendencia a la dimetilación con el reactivo metilante utilizado, yoduro de metilo, que por alguna razón favorece la dimetilación, llevando a la obtención del producto **66** con rendimiento relativamente bajo (35.6 %), sin embargo su estructura se determinó espectroscópicamente confirmándose su identidad como sal de sodio.

El espectro de I. R. del producto **66** muestra la banda asignada al carboxilato, en 3422 cm⁻¹, así como la del metilo unido al nitrógeno 4' del sustituyente 7- (4'-metil-1'-piperazinilo), en 2800 y 2950 cm⁻¹. El espectro presenta la banda de 1624 cm⁻¹ debido al alargamiento C=O del carbonilo conjugado en C-4; en 1580 cm⁻¹ se observa una banda correspondiente al alargamiento asimétrico del carboxilato en C-3 y en 1486 cm⁻¹ la banda asignada al alargamiento simétrico

del mismo carboxilato. En 1396 cm^{-1} se observa la banda correspondiente al alargamiento simétrico del metilo en el sustituyente 7-(4'-metil-1'-piperazinilo). En 1304 cm^{-1} se presenta una banda debida a la vibración del enlace C-N unido a un anillo aromático (C-7). Por último se observa la vibración del átomo de flúor unido a carbono aromático en 1266 cm^{-1} (C-6).

El espectro de RMN- ^1H (espectro No. 1) del compuesto **66** nos ayuda para la confirmación de la estructura: presenta un singulete en 8.75 ppm correspondiente al hidrógeno sobre el carbono 2.

En 7.92 ppm se observa una señal doble con $J_{\text{H-F}} = 13.5\text{ Hz}$ correspondiente al hidrógeno sobre el carbono 5, que es consistente con el acoplamiento con el núcleo de ^{19}F que se encuentra sobre el carbono 6. En 7.33 ppm aparece otra señal doble con $J_{\text{H-F}} = 7.5\text{ Hz}$ asignada al hidrogeno en la posición C-8.

También se presenta un multiplete en 3.46 ppm correspondiente al hidrógeno en C-1'' del ciclopropilo de ciprofloxacina.

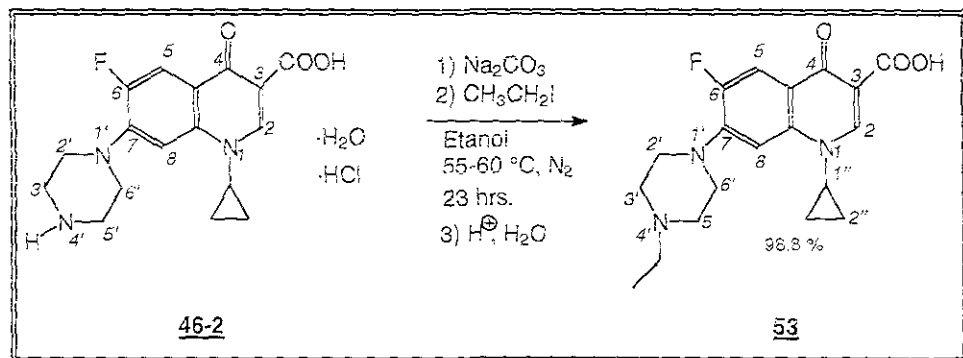
En 3.33 ppm hay otro multiplete que integra para 4 hidrógenos y se asigna a los metilenos en C-2' y C-6' de la piperazina; dicha señal aparece a campo bajo debido a su cercanía con el grupo aromático; un multiplete más que integra para 4 hidrógenos se presenta en 2.6 ppm y se asigna a los otros dos metilenos de piperazina C-3' y C-5'.

En 2.35 ppm tenemos la señal correspondiente al metilo como una señal singulete que integra para tres protones de la N-metilciprofloxacina, dicha señal es la que finalmente nos confirma la obtención del producto metilado, adicionalmente se observan las señales en 1.21 y 1.3 ppm como multipletes que integran para cuatro hidrógenos y se asignan a los dos metilenos del ciclopropilo C-2''.

Se observa una señal singulete en 5.2 ppm que corresponde a una impureza de cloruro de metileno al tratar de separar el producto **66** en forma de ácido.

Por el bajo rendimiento obtenido debido a la sobremetilación con el yoduro de metilo, se decidió no intentar mejores condiciones o rendimientos puesto que podíamos proteger el nitrógeno en cuestión por medio de una acilación o por la alquilación con un agente menos reactivo como el yoduro de etilo, además de las razones que se mencionarán posteriormente.

A partir de la reacción de alquilación de ciprofloxacina **46** con yoduro de etilo, se obtiene el producto conocido como enrofloxacin **53** (esquema 3). La reacción no presenta problemas de dialquilación y permite obtener el producto con muy buen rendimiento (98.8 %).



Esquema 3

La síntesis de la enrofloxacin se llevó a cabo aún cuando el producto se encuentra comercializado para medicina veterinaria, debido a que, se buscaba el marcaje isotópico de la misma, para obtener moléculas más complejas, a su vez marcadas y poder seguir el metabolismo del nuevo fármaco en un organismo; por lo anterior el método empleado fue la alquilación con yoduro de etilo.

La enrofloxacin **53** caracterizada por sus espectros de RMN-¹H e IR, constituye una de las materias primas de partida para las posteriores síntesis descritas en el presente trabajo.

El espectro de IR del producto **53** presenta una banda de absorción en 3436 cm⁻¹ correspondiente a la vibración de alargamiento O-H del ácido carboxílico sustituyente en C-3. Presenta también las bandas correspondientes al alargamiento C-H de CH₂ y CH₃, en 2928 y 2822 cm⁻¹; en 1732 cm⁻¹ aparece la banda de alargamiento C=O del ácido carboxílico y en 1628 cm⁻¹ la del alargamiento del carbonilo α, β-insaturado en C-4.

La estructura del compuesto **53** se confirmó con su espectro de RMN-¹H (espectro No. 2) en el que se observan las siguientes señales:

Un singulete en 8.7 ppm correspondiente al hidrógeno vinílico en C-2 (desplazado a bajo campo por la desprotección que genera el nitrógeno vecino y la conjugación de la doble ligadura con los carbonilos de C-4 y del ácido).

En 7.9 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 12 Hz debida al hidrógeno en el C-5 y en 7.45 ppm otro doblete con $J = 7$ Hz del hidrógeno sobre el C-8.

Se presenta una señal múltiple en 3.7 ppm que integra para un protón y se asigna al protón en posición C-1'' del sustituyente ciclopropilo.

En 3.4 ppm se observa una señal múltiple que integra para cuatro hidrógenos y se asigna a los metilenos en posición C-2' y C-6' del sustituyente piperazinilo, la señal de estos protones está desplazada a campo más bajo que la de los metilenos de las posiciones C-3' y C-5' debido a la cercanía de los primeros con el anillo aromático, aquellos se encuentran como un múltiple más que integra para cuatro hidrógenos aproximadamente en 2.6 ppm.

En 2.5 ppm tenemos la señal correspondiente al metileno del sustituyente etilo en posición 4' del piperazinilo, dicha señal se presenta como un cuadruplete que integra para dos protones, con una constante de acoplamiento de 7 Hz.

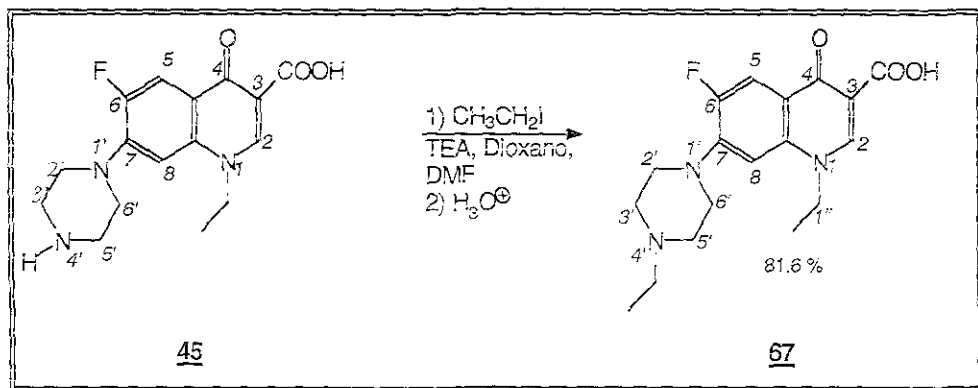
En 1.4 ppm se observa un múltiple que integra para cuatro protones, correspondiente a los metilenos del anillo de ciclopropilo C-2'' y finalmente en 1.1 ppm, se presenta un triplete que integra para tres protones con una constante de acoplamiento de 7 Hz y se asigna al metilo del grupo etilo, sustituyente en la posición 4' del piperazinilo, que junto con la señal cuadruplete centrado en 2.5 ppm del metileno descrito anteriormente, confirman la obtención del producto etilado.

El espectro de masas del compuesto **53** no deja lugar a dudas sobre la identidad del mismo, ya que se obtiene por la técnica de FAB⁺ un pico con m/z 360 correspondiente a $[M+1]^+$ siendo éste, el pico base del espectro, también se presenta un pico con m/z 342 correspondiente a $[M+1-18]^+$ la pérdida de agua de la molécula protonada.

2.- ALQUILACIÓN DE NORFLOXACINA.

La norfloxacin **45** una de las fluoroquinolonas más utilizadas actualmente como antimicrobiano en medicina humana, se etiló en la posición 4' de la piperazina con yoduro de etilo para obtener norfloxacin etilada **67**, con un rendimiento de 81.6 %, (esquema 4), compuesto utilizado en la síntesis de nuevas cefaquinolonas descritas más adelante en el presente trabajo.

Inicialmente la síntesis de norfloxacin etilada por el método descrito tuvo el mismo propósito que en el caso de enrofloxacin y de igual modo queda el procedimiento establecido, para su síntesis con yoduro de etilo, así como su utilización en la obtención de nuevos productos cefaquinolónicos.



Esquema 4

El producto **67** se caracterizó por sus espectros de RMN^{-1}H e IR.

En el espectro de IR de **67** se presentan las siguientes bandas características: 3430 cm^{-1} alargamiento O-H del COOH sustituyente del C-3; en 2972 cm^{-1} y 2910 cm^{-1} se observan bandas de alargamiento simétrico de los metilos C-2'' y del metilo de etilo sustituyente sobre N-4'. Las bandas en 2672 cm^{-1} y 2616 cm^{-1} corresponden a la vibración del enlace N-H en un nitrógeno cuaternario, por lo cual se sugiere que el producto se encuentra en una parte como

clorhidrato. En 1712 cm^{-1} se presenta la banda del alargamiento del carbonilo del ácido sustituyente en C-3 y en 1628 cm^{-1} el C=O de C-4; también se observa la banda de 1380 cm^{-1} correspondiente al alargamiento simétrico de los metilos en 1-etilquinolona y 7-(4'-etil-1'-piperazinilo). La banda de 1254 cm^{-1} se asigna al alargamiento del enlace C-F y las de 1510 cm^{-1} y 1480 cm^{-1} a la enaminona en posición 1,4.

El espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno del compuesto **67** (espectro No. 3) presenta las siguientes señales: en 8.42 ppm un singulete debido al protón vinílico de C-2.

En 7.75 ppm aparece un doblete asignado al protón en C-5 con $J = 13.5\text{ Hz}$ y en 6.82 ppm otro doblete con $J = 7\text{ Hz}$ correspondiente al protón en C-8. La multiplicidad de ambos se debe al acoplamiento con el átomo de flúor en C-6.

En 4.9 ppm aparece una señal muy intensa y se considera que es de agua DHO.

En 4.23 ppm aparece un multiplete debido al metileno en la 1-etilquinolona (C-1'') y en 1.43 ppm un triplete deformado, correspondiente al metilo (C-2'') en la misma 1-etilquinolona.

En 3.19 ppm se observa una señal multiplete que integra para cuatro protones y se asigna a los metilenos en posición C-2' y C-6' del sustituyente piperazinilo. En 2.66 ppm aparece otra señal multiplete que integra para cuatro protones, asignándose ésta a los metilenos C-3' y C-5' del sustituyente piperazinilo; estos últimos aparecen a campo más alto que los anteriores ya que no se ven influenciados por el anillo aromático.

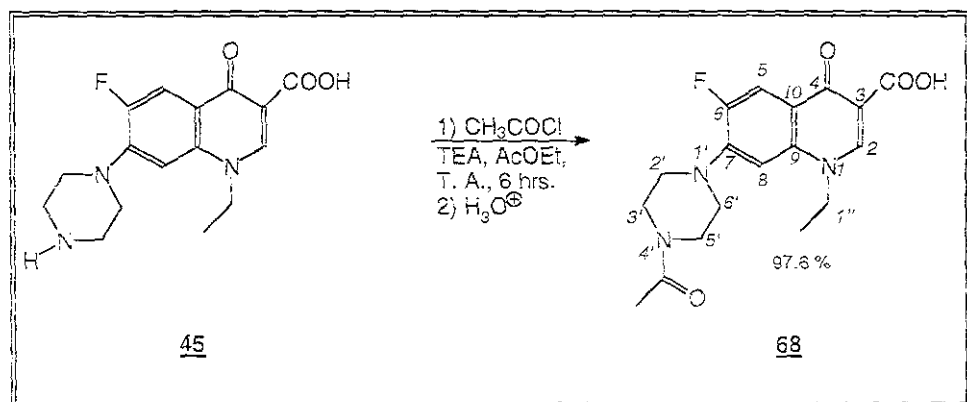
En 2.59 ppm se encuentra un cuarteto debido al metileno de etilo en el sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo), con $J = 6\text{ Hz}$, mismo que está acoplado con un triplete en 1.13 ppm correspondiente al metilo del mismo sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) con $J = 6\text{ Hz}$; este grupo etilo aparece desplazado a campo más alto que el de la 1-etilquinolona debido a la desprotección originada por la conjugación de la enaminona en éste último.

El espectro de masas del compuesto norfloxacin etilada **67** presenta una señal en m/z 348 correspondiente a $[M+1]^+$, siendo el P.M. de **67**, 347 g/mol. Presenta también el pico con 330 unidades de masa correspondiente a la pérdida de agua $[M+1-18]^+$.

3.- ACILACIÓN DE NORFLOXACINA.

Se sintetizó el compuesto N-acetilnorfloxacina **68**, como alternativa en la obtención de los productos combinados con un compuesto β -lactámico con posible actividad antimicrobiana.

La síntesis de la N-acetilnorfloxacina **68** se llevó a cabo partiendo de norfloxacina **45** y cloruro de acetilo como reactivo acilante (esquema 5). La acilación se realizó con muy buen rendimiento (97.6 %) y no presentó mayores problemas de aislamiento. El compuesto se caracterizó por sus espectros de IR, RMN- ^1H y ^{13}C y el espectro de masas confirma el P. M. del producto obtenido.



Esquema 5

El espectro de IR del compuesto **68** presenta la banda del alargamiento O-H del carboxilo en 3434 cm^{-1} . Se observan las bandas de C-H aromático en 3038 cm^{-1} y en 2976 cm^{-1} y 2842 cm^{-1} las correspondientes al alargamiento C-H de CH_3 y CH_2 respectivamente. En 1724 cm^{-1} se encuentra la banda de enlace $\text{C}=\text{O}$ del carbonilo del ácido y en 1630 cm^{-1} la del carbonilo conjugado en C-4 junto con el carbonilo de la amida. En 1506 cm^{-1} se observa una banda de alargamiento $\text{C}=\text{C}$ de aromático; en 1478 y 1382 cm^{-1} aparecen las señales de metilos y metilenos, por último una banda en 1248 cm^{-1} debida a la vibración del enlace C-F aromático.

El espectro de RMN-¹H del compuesto **68** (espectro No. 4) se llevó a cabo en una mezcla metanol-cloroforno deuterados y nos permite confirmar la estructura del mismo. En 8.52 ppm aparece una señal singulete correspondiente al hidrógeno sobre el carbono dos.

Centrado en 7.83 ppm aparece un doblete con $J = 12.9$ Hz, asignado al protón sobre C-5 y centrado en 6.77 ppm aparece otro doblete con $J = 7$ Hz asignado al protón sobre el carbono ocho.

Se observa un cuadruplete centrado en 4.22 ppm con $J = 7.2$ Hz que integra para dos hidrógenos y se asigna al metileno C-1'' de la N-acetilnorfloxacina.

Los protones de los metilenos en el sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo), se observan como cuatro multiples:

- a) Centrados en 3.64 y 3.55 ppm dos multipletes que integran para cuatro protones; los cuales pueden ser dos axiales y dos ecuatoriales, de los metilenos en C-3' y C-5'; cuyas señales se distinguen como resultado de la polarización de la amida, cuando por resonancia la carga negativa queda sobre el átomo de oxígeno^{22, 23}.
- b) Centrados en 3.19 y 3.12 ppm dos multipletes que integran para cuatro protones; los cuales pueden ser dos axiales y dos ecuatoriales, de los metilenos en C-2' y C-6' (que se mantienen en su posición, ver espectro No. 3); cuyas señales se distinguen como resultado de la polarización de la amida, cuando por resonancia la carga negativa queda sobre el átomo de oxígeno^{22, 23}.

La señal que confirma la identidad del compuesto es la que aparece en 1.98 ppm como un singulete que integra para tres hidrógenos y se asigna al metilo de acetilo en N-acetilnorfloxacina. La señal del metilo C-2'', se observa como triplete centrado en 1.39 ppm con $J = 7.2$ Hz que integra para tres protones.

El espectro de RMN-¹³C (espectro No. 5) contribuye en la identificación del producto **68** observándose las siguientes señales: 176.73 ppm correspondiente al carbonilo en C-4, 169.81 ppm asignado al carbonilo de acetilo y en 167.67 ppm la señal del carbonilo de carboxilo^{22, 23}.

También se observa la señal centrada en 153.27 ppm como un doblete con $J = 251.8$ Hz asignada al carbono 6 el cual se encuentra enlazado al átomo de flúor²⁴.

Con la ayuda del espectro DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), (espectro No. 6) se puede determinar la posición del metino del carbono 2, dicha señal aparece en 147.39 ppm.

Centrado en 145.44 ppm aparece un doblete con $J_{\text{orto}} = 10.56$ Hz asignado al C-7 no protonado en posición orto al sustituyente flúor, dicha constante se presenta como influencia de la vecindad del átomo de flúor.

En 136.97 ppm se observa una señal para un carbono no protonado, ya que dicha señal no aparece en el espectro No. 6 DEPT del producto **68** se asigna a C-9, carbono aromático, en posición para al sustituyente flúor.

Centrado en 120.60 ppm se observa un doblete con $J_{\text{meta}} = 7.54$ hz, dicha señal se asigna al carbono 10, un carbono aromático no protonado, la asignación se hace con base en la constante de acoplamiento que indica una posición meta respecto al sustituyente flúor²⁴.

Centrado en 112.36 ppm se observa un doblete con $J_{\text{orto}} = 23.16$ Hz correspondiente a un carbono protonado según el espectro No. 6 DEPT y se asigna al C-5, dicha constante corresponde a la posición orto con el enlace C-F.

En 107.50 ppm se observa una señal singulete que no aparece en el espectro No. 6 DEPT por lo que corresponde a un carbono no protonado y por su desplazamiento se asigna al carbono 3 sustituido con un grupo carboxilo.

A campo un poco más alto, centrado en 104.39 se observa un doblete con $J_{\text{meta}} = 3.02$ Hz, dicha señal aparece también en el espectro No. 6 DEPT como una señal de metino, por lo que se asigna a C-8, el cual se encuentra en posición meta al sustituyente flúor; la constante de acoplamiento es más pequeña de lo esperado (valor esperado 8 Hz, valor real 3 Hz) pero la presencia de dicha señal en el espectro No.6 DEPT, confirma al metino.

En 77.43, 77, 76.57 ppm aparecen las tres señales correspondientes a CDCl_3 .

En 49.75 ppm, se observa una señal que no aparece en el espectro No. 6 DEPT y no queda definido su origen.

En el intervalo de 49.0 y 49.7 ppm, se observan cuatro señales de metilenos: 49.68, 49.60, 49.08 y 49.03; resultando incierto asignar cuales de ellas pueden corresponder a los metilenos 1'', 2' y 5'.

En 49.31 se observa una de las siete señales del metanol deuterado, las otras señales identificadas para este disolvente son: 49.03, 48.74, 48.46, 48.18, 47.89 y 47.60; estas señales presentan constantes de acoplamiento de 21.57, 21.65 y 21.15 Hz e intensidades aproximadas a las de un heptuplete: 1, 3, 6, 7, 6, 3, 1.

Las señales de metilenos a campo alto, según el espectro No. 6 DEPT, en 45.83 y 40.92, se asignaron a los carbonos en posición alfa al nitrógeno de la amida, carbonos C-3' y C-5', con orientaciones anti y syn al oxígeno, el cual puede quedar con una carga negativa al tautomerizarse la amida^{22, 23}.

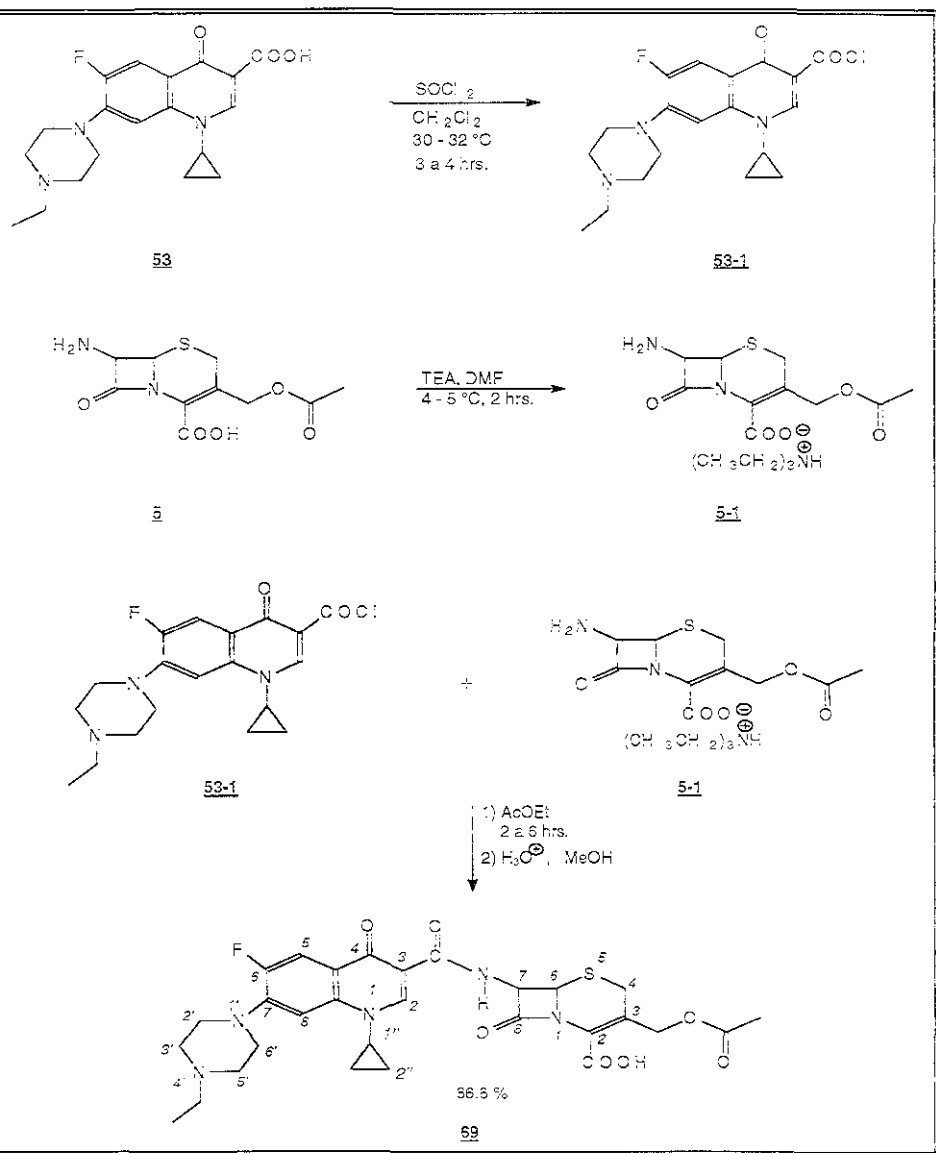
Por último, en el espectro No. 6 DEPT, se pueden distinguir las señales correspondientes a los metilos presentes; es decir, el metilo del grupo acetilo aparece en 20.64 ppm, campo bajo por la unión a carbonilo, confirmando la formación del producto **68**. En 14.05 ppm aparece la otra señal de metilo asignada al metilo C-2''.

4.- CQ-M-EPCA 69.

Dentro de los principales objetivos en el presente trabajo se considera la obtención de los productos de condensación de las fluoroquinolonas con compuestos β -lactámicos como 7-ACA 5 y 7-TACA 72. Con este propósito se sintetizó y caracterizó uno de los productos que posteriormente en pruebas microbiológicas ha presentado mayor actividad antimicrobiana, con respecto a los compuestos de partida y a los otros productos sintetizados en este trabajo.

El producto definido como CQ-M-EPCA 69 se obtuvo de la condensación de Enrofloxacin 53 con 7-ACA 5 a partir del cloruro de ácido de enrofloxacin 53-1 y la sal de trietilamina de 7-ACA 5-1 (esquema 6); se logró un buen rendimiento después de varios ensayos (86.6 %), algunos de los cuales se presentan en la parte experimental de este trabajo; la pureza del producto permitió su caracterización por los métodos espectroscópicos de IR y RMN-¹H, el espectro de masas contribuye a determinar su peso molecular.

El espectro de IR del producto 69 presenta la banda correspondiente al alargamiento N-H y O-H de la amida y del ácido carboxílico respectivamente en 3428 cm⁻¹. Presenta también otras bandas importantes para la identificación del producto como son la señal de 3091 cm⁻¹ de la vibración C-H aromático y en 2984 cm⁻¹ y 2848 cm⁻¹ las bandas de metilos y metilenos en la parte del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo). El espectro muestra una banda de absorción en 2456 cm⁻¹, que podría corresponder a la presencia de un enlace N-H, es decir, ⁺NR₃H, debida a una amina terciaria protonada, por lo que se propone la presencia de clorhidrato, debido al método de síntesis, aunque en muy baja proporción por el tamaño de dicha banda. Por otro lado se presenta una señal en 1772 cm⁻¹ asignada al carbonilo del β -lactámico. Es importante mencionar que las β -lactamas absorben entre 1750 cm⁻¹ y 1730 cm⁻¹ y que la fusión del anillo de la lactama con otro anillo generalmente aumenta la frecuencia en la proporción de 20 a 50 cm⁻¹, por lo que no queda lugar a dudas en la asignación de la banda del carbonilo del β -lactámico en la posición descrita.



Esquema 6

El espectro de IR muestra también una banda intensa en 1734 cm^{-1} característica del grupo acetato y fue asignada al sustituyente metilacetato en la posición C-3 de la unidad de 7-ACA. Se encuentra otra señal intensa en 1666 cm^{-1} asignada al carbonilo de la carboxamida, dicha señal es la de mayor importancia en la caracterización del producto, ya que confirma la condensación de las materias de partida enrofloxacin 53 y 7-ACA 5. En 1608 cm^{-1} se observa la señal correspondiente al carbonilo α,β -insaturado en la posición C-4 de la unidad de enrofloxacin. Finalmente se observan señales en 1534 cm^{-1} y 1478 cm^{-1} debidas a la vibración de la enamina. La banda en 1478 cm^{-1} podría corresponder también a la presencia de la forma clorhidrato en cierta proporción. La banda de 1384 cm^{-1} se asigna a los metilos presentes (acetilo y etilpiperazinilo), La banda de 1258 cm^{-1} se asigna a la vibración C-F de la unidad fluoroquinolónica.

El espectro de RMN- ^1H del producto 69 (espectro No. 7) presentó algunas dificultades para su obtención debido a la solubilidad del producto en los disolventes comunes, finalmente se obtuvo en una mezcla de cloroformo y dimetilsulfóxido deuterados; sin embargo, debido a la necesidad de calentamiento para lograr la solubilidad total, se presentaron señales adicionales indicando la isomerización del producto; es decir, la doble ligadura entre los carbonos C-2 y C-3 de la unidad de 7-ACA de la molécula, se isomeriza a la posición C-3, C-4; que aún sin ser la más estable se detecta en cierta proporción al momento de calentar la muestra.

No obstante se interpretó el espectro de RMN- ^1H logrando asignar las siguientes señales:

La señal en 10.6 ppm es un doblete que integra para un protón y se asigna al hidrógeno de la amida, presentando una constante de acoplamiento de 9.3 Hz.

En 8.58 ppm se observa un singulete correspondiente al hidrógeno en la posición C-2 de la unidad de enrofloxacin.

En 7.8 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 13.6 Hz correspondiente al hidrógeno en la posición C-5 de la unidad de enrofloxacin.

En 7.55 ppm aparece otro doblete con $J = 5.5\text{ Hz}$, esta señal se asigna al hidrógeno en la posición C-8 de la unidad de enrofloxacin.

Entrada en 5.92 ppm se presenta una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 9 y 5 Hz que integra para un protón y se asigna al protón en la posición C-7 de la unidad de 7-ACA. En 5.08 ppm se encuentra un doblete con una constante de 5 Hz, correspondiente al protón sobre el carbono 6 de la unidad de 7-ACA.

En 5.01 y 4.8 ppm se observa un sistema AB que integra para dos hidrógenos con una $J = 12.6$ Hz, esta señal se asigna al metileno del sustituyente acetilacetato en posición C-3 de la unidad de 7-ACA que aparece a campo bajo por la electronegatividad del oxígeno y la vecindad con el doble enlace en C-2 de la misma unidad.

En 3.6 ppm se presenta una señal múltiple que integra para cuatro hidrógenos asignada a los metilenos de las posiciones C-2' y C-6' del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) de la unidad de enrofloxacin; así mismo se observa la señal multiplete de los metilenos C-3' y C-5' en 3.5 ppm en el mismo 7-(4'-etil-1'-piperazinilo); la asignación se hizo en base a la cercanía de los primeros al grupo aromático, por lo que quedan desprotegidos y se desplazan a campo más bajo.

En 3.31 ppm se observa una señal múltiple que integra para dos protones del metileno de etilo en posición 4' del grupo piperazinilo, esta señal debe de ser un cuarteto pero no se observa claramente su multiplicidad.

En 3.07 la señal que se observa como un singulete ancho, se asigna al metileno en posición C-4 de la unidad de 7-ACA, ésta debe corresponder a un sistema AB.

La señal de 2.5 ppm se asigna al dimetilsulfóxido utilizado como disolvente.

En 2.00 ppm aparece una señal singulete que integra para tres protones y corresponde al metilo de acetilo en 7-ACA, por otro lado tenemos la señal de 1.26 ppm que integra para tres protones pero se presenta como un multiplete (triplete deformado) y se asigna al metilo del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo).

Por último a campo más alto aparecen las señales de 1.4 y 1.1 ppm como multipletes debido a 4 hidrógenos de los dos metilenos del ciclopropilo los

cuales se consideran más protegidos que el del sustituyente en posición 4' de piperazina.

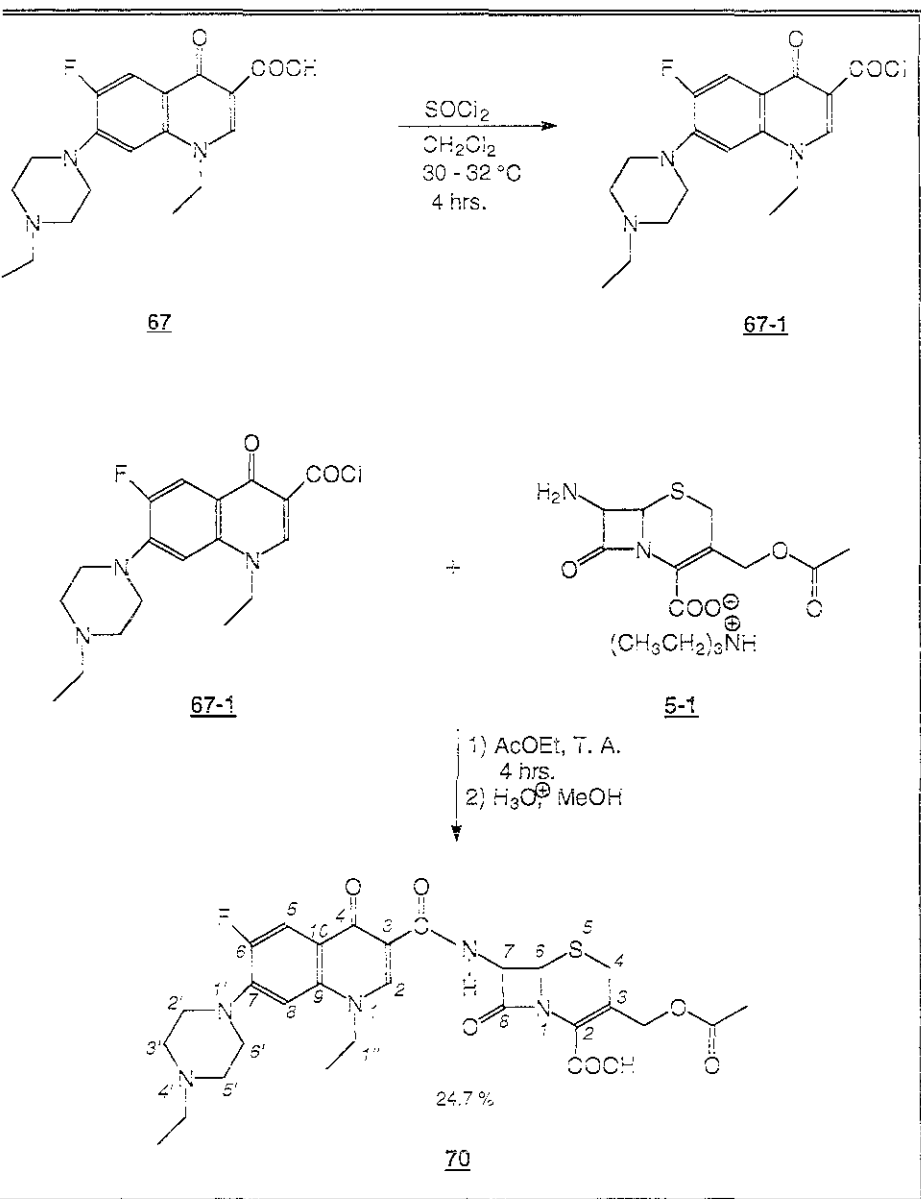
En el espectro No. 7 se observan también unas pequeñas señales en 6.2 y 7.05 ppm, que se propone, corresponden a pequeñas impurezas del producto **69**, isomerizado de la doble ligadura en 2,3 a una doble ligadura en 3,4 de la unidad de 7-ACA (señales de protones de C-2 y C-4 respectivamente).

En el espectro de masas del producto **69**, obtenido por el método de FAB⁺ se observó una señal a m/z 614 con una abundancia relativa de 5.9 %, correspondiente a [M+1]⁺, siendo el peso molecular del producto **69** de 613.66 g/mol. Se observa también la señal a m/z 342 con abundancia relativa de 100 % correspondiente a [M-271]⁺ originada por la ruptura del grupo funcional amida en su enlace C-N y consecuente pérdida del residuo de 7-ACA.

Con los datos espectroscópicos presentados se identificó el producto CQ-M-EPCA **69**. Después de lograr una pureza lo suficientemente aceptable (98 % por HPLC) se han realizado pruebas microbiológicas que sugieren una actividad semejante a la de otras cefalosporinas de tercera generación como el ceftiofur **32**, en la presencia de algunas cepas resistentes^{20,21}, lo cual convierte al producto **69** en una alternativa dentro de la gama de antibióticos comercializados actualmente.

5.- CQ-M-EPEA **70**.

El producto CQ-M-EPEA **70** se obtiene de la condensación de norfloxacin etilada **67** con 7-ACA **5**. Después de haber caracterizado el compuesto **67** se llevó a cabo la reacción de condensación del cloruro de ácido de norfloxacin etilada **67-1** con la sal de tretimina de 7-ACA **5-1** (esquema 7), la reacción es básicamente la misma que para CQ-M-EPCA **69** y sólo hay algunos cambios en el método de separación y aislamiento del producto final, obteniéndose éste con un rendimiento de 24.7 %.



Esquema 7

La caracterización del producto se llevó a cabo por la interpretación de los espectros de IR, RMN- ^1H y RMN- ^{13}C , y el espectro de masas contribuyó para determinar su peso molecular.

El espectro de IR muestra las bandas características de la vibración O-H y N-H del ácido y la amida en 3424 cm^{-1} . En 2982 cm^{-1} se observa la banda correspondiente a la vibración de metilos en los sustituyentes 1-etil y 7-(4'-etil-2'-piperazinilo) en la unidad quinolónica, así como, el metilo del acetato de la unidad de 7-ACA.

Se observa una banda en 2467 cm^{-1} , misma que se sugiere, corresponde a un nitrógeno terciario protonado R_3NH^+ , con lo que se tendría la presencia de hidrato en una pequeña proporción por el tamaño de la banda y debido al método de aislamiento del producto.

En 1768 cm^{-1} se observa una banda intensa que se asigna al carbonilo en C-8 de la parte de 7-ACA (β -lactámico) cuya posición no deja lugar a dudas de acuerdo con el razonamiento descrito para la misma banda en la discusión del espectro de infrarrojo del producto CQ-M-EPCA 69.

La banda de 1730 cm^{-1} es una banda que se asigna al carbonilo de acetato de la unidad de 7-ACA. En 1662 cm^{-1} se observa otra banda de vibración C=O y se asigna a la carboxamida formada al llevar a cabo la condensación de 7-ACA con la fluoroquinolona, esta banda es la que de alguna manera confirma la obtención del producto 70; por otro lado en 1620 cm^{-1} se observa la banda del carbonilo α,β -insaturado en la posición C-4 de la unidad de fluoroquinolona y la banda en 1606 cm^{-1} se asigna a la doble ligadura conjugada con este último carbonilo. Las bandas en 1538 cm^{-1} y 1490 cm^{-1} se asignan a la vibración generada por la enamina (1,4) en la fluoroquinolona.

Se observa también la banda de 1388 cm^{-1} asignada a los metilos y la de 1260 cm^{-1} correspondiente a la vibración C-F de la fluoroquinolona.

El espectro de RMN- ^1H del producto 70 (espectro No. 8), se obtuvo en una mezcla de cloroformo y metanol deuterados y presenta las señales esperadas para el mismo.

Se observa en 8.56 ppm una señal singulete que integra para un protón y se asigna al hidrógeno en la posición C-2 de la unidad fluoroquinolónica.

Centrado en 7.81 ppm se encuentra un doblete con una constante de acoplamiento de 12.6 Hz dicha señal corresponde, según su constante de acoplamiento, al hidrógeno orto al enlace C-F, en la posición C-5, de la fluoroquinolona. La señal en 7.48 corresponde a residuos de cloroformo usado como disolvente. Aparece otro doblete centrado en 7.29 ppm con una constante de acoplamiento de 7.2 Hz, esta señal integra también para un protón y se asigna al hidrógeno en posición meta al enlace C-F, es decir, al protón sobre C-8 de la unidad de fluoroquinolona.

Por otro lado, se tiene otra señal que integra para un protón y aparece centrada en 6.06 ppm como un doblete con una constante de acoplamiento de 5.1 Hz dicha señal se asigna al protón sobre el C-7 de la unidad de 7-ACA, la señal se desplaza a campo bajo debido a que se encuentra vecina a un grupo electroattractor como la amida; otra señal es la centrada en 5.15 ppm que aparece como un doblete con una constante de acoplamiento de 5.1 Hz, misma que integra para un protón y se asigna al hidrógeno en la posición C-6 de la unidad de 7-ACA.

Otro sistema AB en 5.01 y 4.91 ppm con una constante de acoplamiento gem de 12.6 Hz, se asigna a los protones del metileno del sustituyente en C-3 de la unidad de 7-ACA (Es más electronegativo el oxígeno que el azufre por lo que este metileno aparece a campo más bajo que el de C-4 de la unidad de 7-ACA).

Centrado en 4.66 ppm se observa un sexteto con una constante de acoplamiento de 7.2 Hz; dicha señal se encuentra acoplada con el triplete centrado en 1.5 ppm con $J = 7.2$ Hz que corresponde al metilo C-2'' de la unidad quinolónica. El hecho de que no se observe un cuarteto en 4.66 ppm, hace pensar que los protones del metileno en C-1'', no son equivalentes dentro de la molécula CQ-M-EPEA 70 y que se tiene un sistema ABX_3 , en el que, la señal de 1.5 ppm corresponde a los protones X y la de 4.66 a los protones AB del metileno.

Aproximadamente en 4.2 ppm aparece un cuádruplete asignado a una impureza de acetato de etilo, junto con las señales de 2.02 y un triplete en 1.25 ppm.

En 4.14 ppm aparece una señal atribuida al agua de HOD de la muestra y de los protones de intercambio de la amida y del ácido carboxílico.

Las señales en 3.83 ppm y 3.38 ppm que aparecen como multipletes, se asignan a los metilenos C-2'/6' y C-3'/5', respectivamente, del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) en la unidad de fluoroquinolona; los primeros por estar unidos a nitrógeno que a su vez está unido a un anillo aromático y los segundos por la unión sólo con nitrógeno unido a grupos alifáticos.

Centrado en 3.60 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 17.7 Hz, que junto con el doblete centrado en 3.33 ppm con $J = 17.7$ Hz, se asigna a los protones del metileno en posición C-4 de la unidad de 7-ACA.

En 3.32 ppm, se distingue una señal pequeña del metanol residual empleado como disolvente.

La señal centrada en 3.19 ppm es un cuadruplete y tiene una constante de acoplamiento de 7.5 Hz dicha señal se asigna al metileno de etilo terminal en posición 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) de la unidad fluoroquinolónica; ya que se acopla con la señal triplete que aparece en 1.46 ppm, la cual, integra para tres protones y por lo tanto se asigna al metilo terminal del mismo sustituyente. En 1.5 ppm se observa otro triplete con $J = 7.2$ Hz y se asigna a C-2''. Por último aparece la señal en 2.08 ppm como un singulete que integra para tres protones y que por su desplazamiento se asigna al metilo del sustituyente acetilo en la unidad de 7-ACA.

Debido a que se encuentran todas las señales correspondientes al producto **70**, su identidad queda determinada y aún es posible añadir más datos debido a la obtención del espectro de resonancia de ^{13}C el cual se obtuvo en una mezcla de cloroformo y metanol deuterados.

El espectro de ^{13}C del producto **70** (espectro No. 9) presenta las siguientes señales características: En 174.54 ppm aparece una señal de carbonilo, misma que se asigna por su desplazamiento a campo bajo, al carbonilo de la posición C-4 en la unidad de fluoroquinolona.

En 170.99 ppm aparece otra señal correspondiente a carbonilo, ésta tiene un desplazamiento característico de un acetato y por lo tanto se asigna al carbonilo del acetato de la unidad de 7-ACA.

En 166.88 ppm se encuentra otra señal de carbonilo, que en esta ocasión se puede identificar con la de un carbonilo de ácido y por lo tanto se asigna a la del carbonilo del ácido de 7-ACA.

A campo ligeramente más alto aparece la señal de carbonilo de la amida formada (normalmente en 165 ppm), o bien, de la amida del anillo β -lactámico, dicha señal se asigna a ambos carbonilos en 164.9 ppm, ya que su intensidad es mayor que la de las señales de los carbonilos descritos inicialmente.

Centrado en 153.41 ppm se observa un doblete con una $J = 249.44$ Hz; dicho acoplamiento corresponde al de un átomo de carbono aromático unido con un átomo de flúor, por lo que se asigna al C-6 de la unidad de fluoroquinolona.

Con la ayuda del espectro DEPT del producto **70**, (espectro No. 10), se puede identificar la señal de 146.31 ppm con la de un carbono protonado, y como es una señal sencilla, ésta se asigna al carbono C-2 de la unidad fluoroquinolónica.

La señal centrada en 143.94 ppm que se presenta como un doblete con constante de acoplamiento de 10.93 Hz, es un carbono no protonado, se asigna por su desplazamiento a campo bajo y por su constante de acoplamiento, al carbono orto al sustituyente flúor, C-7 de fluoroquinolona.

En 136.04 ppm aparece otra señal de carbono no protonado, que debido a su desplazamiento, se asigna al C-9 de fluoroquinolona (por comparación con la señal para el mismo carbono en el espectro No. 5, del producto **68** descrito anteriormente).

En 132.36 ppm aparece una señal de carbono con hibridación sp^2 no protonado y se asigna al carbono C-3 de la unidad de 7-ACA (desplazamiento calculado para un carbono con hibridación sp^2 enlazado a carbono sp^2 con un sustituyente -COOH: 132.2 ppm)²⁴.

En 123.22 hay una señal de carbono no protonado y se asigna al carbono C-10 de la unidad de fluoroquinolona, por comparación con la interpretación de los espectros de RMN-¹³C de la quinolona APE producto **68** (espectros No. 5 y 6), en los que sí se observan las constantes de acoplamiento.

En 113.99 ppm se observa una señal de carbono no protonado que se asigna al carbono 2 de la unidad de 7-ACA, sustituido directamente con un grupo ácido, por lo que se desplaza a campo más alto que el carbono C-3 de la misma unidad de 7-ACA.

Centrado en 111.81 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 23.1 Hz misma que corresponde según el espectro No. 10 DEPT del producto **70**, a un carbono protonado, de tal manera que se asigna al otro carbono aromático protonado y vecino en posición orto al sustituyente flúor en la unidad de fluoroquinolona C-5.

En 109.25 ppm aparece una señal de carbono no protonado y se asigna al carbono C-3 de la unidad de quinolona, sustituido en posición gem por dos grupos carbonilo α , β -insaturados.

En 107.81 ppm se observa una señal para carbono protonado, según el espectro No. 10 DEPT, esta señal se asigna al carbono C-8 de la unidad de quinolona, aún cuando no se observa la constante de acoplamiento que sería de 3 Hz.

Las señales de 77.44, 77 y 76.58 ppm corresponden al cloroformo deuterado, utilizado como disolvente de la muestra.

La señal en 63.86 ppm corresponde a un metileno según el espectro No. 10 DEPT y es asignada por su desplazamiento a campo bajo, a un metileno unido a oxígeno, en este caso al del metilacetato, sustituyente en posición C-3 de la unidad de 7-ACA.

Las señales en 58.37 ppm y 56.15 ppm que según el espectro No. 10 DEPT, corresponden a metinos, se asignan a los carbonos C-7 y C-6, respectivamente, de la unidad de 7-ACA; ya que el C-7 se encuentra unido a una amida y a un carbonilo lo que lo desproteje mandándolo a campo más bajo que al C-6.

En 51.76 ppm, aparece otra señal correspondiente a metileno, según el espectro No. 10 DEPT y se asigna a los dos metilenos de piperazina C-2' y C-6', unidos directamente a nitrógeno aromático. En 51.01 ppm se observa una señal de metileno según el espectro No. 10 DEPT y se asigna a los carbonos C-3' y C-5' del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo). Estas señales fueron asignadas por la intensidad presentada.

La señal de 49.12 ppm corresponde a metileno según el espectro No. 10 DEPT y se asigna al metileno unido directamente al nitrógeno 1 de la quinolona, C-1''. La conjugación del nitrógeno de enamínona desproteje al metileno C-1'', desplazándolo a campo más bajo que el del sustituyente etilo en posición 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) del producto **70**, que se encuentra en 46.92 ppm.

La señal antes descrita en 49.12 ppm, se sobrepone con la primera de las siete señales correspondientes al metanol deuterado que se usó como disolvente. Las señales del metanol son las siguientes: 49.12, 48.81, 48.53, 48.24, 47.97, 47.68, y 47.38 (determinadas por sus constantes de acoplamiento: 23.07, 20.87 y 21.97 Hz y por sus intensidades aproximadas a las de un heptuplete: 1, 3, 6, 7, 6, 3, 1).

En 25.43 ppm, se observa otro metileno, según el espectro No. 10 DEPT y éste se asigna al metileno de la posición C-4 de la unidad de 7-ACA, ya que el desplazamiento está de acuerdo para un metileno unido directamente a azufre.

Con la ayuda del espectro No. 10 DEPT se encuentran tres señales correspondientes a metilos con los siguientes desplazamientos: 20.11 ppm, 13.86 ppm y 8.47 ppm dichas señales se asignan a los metilos en el acetato de 7-ACA, al metilo C-2'', y al del etilo terminal sustituyente en posición 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) de la quinolona, respectivamente, dichas señales corresponden a los desplazamientos esperados para cada metilo²⁴.

El espectro de masas del producto **70** contribuye a su identificación, ya que presenta una señal a m/z 602 $[M+1]^+$ siendo el peso molecular del producto **70** de 601.65 g/mol; se observa también la señal de m/z 330 $[M-271]^+$ correspondiente a la ruptura del enlace C-N de la nueva amida formada al perder la unidad de 7-ACA.

6.- CQ-M-EPCT 72.

Otra de las moléculas sintetizadas corresponde a la condensación de enrofloxacin 53 con 7-TACA 71, un compuesto β -lactámico semejante a 7-TACA 5 pero sustituido con el grupo metilentiatriazol en la posición C-3 (esquema 8).

La obtención de este producto se llevó a cabo con suficiente éxito (rendimiento de 80.72 %) y las pruebas microbiológicas "in vitro" mostraron actividad semejante y en ocasiones mayor a la de CQ-M-EPCA 69 contra ciertos microorganismos. La actividad en vivo continúa en estudios y al parecer es equivalente a la de una cefalosporina de tercera generación como ceftiofur 32.

La molécula se caracterizó por sus espectros de IR y RMN- ^1H , y la espectrometría de masas contribuye para confirmar su peso molecular

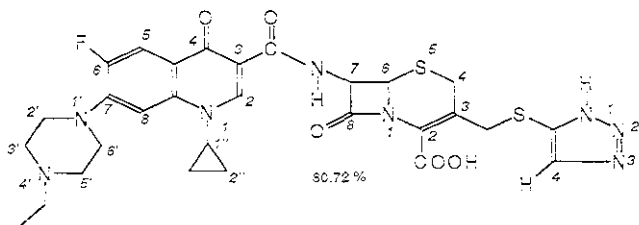
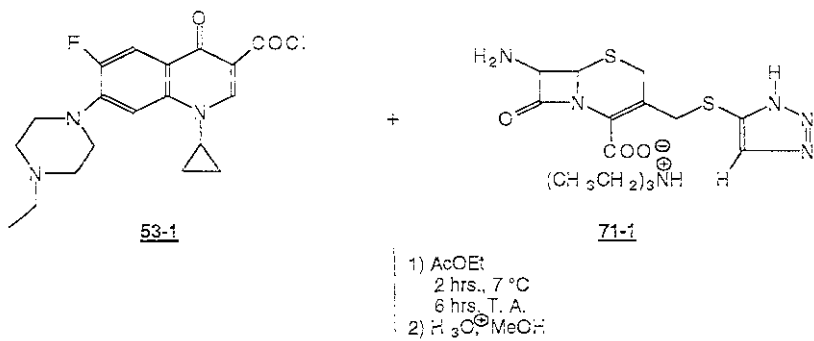
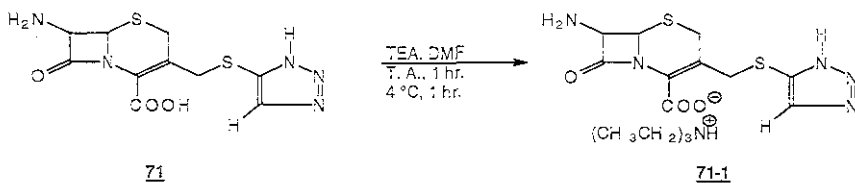
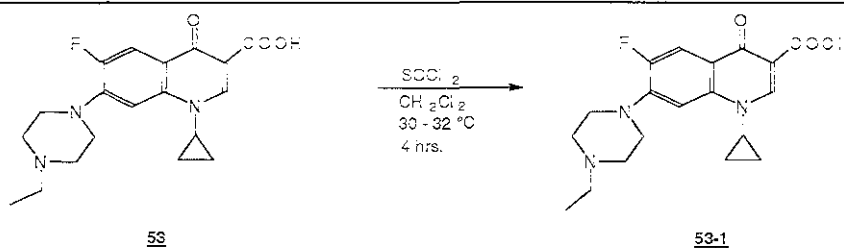
El espectro de IR muestra la banda característica del alargamiento de los enlaces N-H y O-H en 3424 cm^{-1} ; en 3229 cm^{-1} se observa la banda de alargamiento de los enlaces C-H de aromático y en 3139 cm^{-1} la banda de C-H del grupo ciclopropilo.

Las bandas correspondientes a metilos y metilenos se observan en 2983 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} .

En 1768 cm^{-1} se encuentra la banda del carbonilo β -lactámico en la unidad de 7-TACA, en 1651 cm^{-1} el de la carboxamida originada al llevarse a cabo la condensación indicada inicialmente. En 1626 cm^{-1} se observa otra banda asignada al carbonilo α,β -insaturado en la posición C-4 de la unidad de enrofloxacin.

La banda de 1605 cm^{-1} se asigna al enlace C=C 2,3 de la quinolona y las de 1536 cm^{-1} y 1493 cm^{-1} a la vibración generada por la enamina en la unidad de enrofloxacin. En 1386 cm^{-1} aparece la banda del metilo y en 1346 cm^{-1} una banda debida a la amina aromática.

Por último se observa la banda de la vibración C-F de la posición C-6 de la fluoroquinolona en 1259 cm^{-1} .



Esquema 8

El espectro de RMN-¹H del producto **72** se obtuvo en una mezcla de dimetilsulfóxido y cloroformo deuterados (espectro No. 11), en él se observan las siguientes señales:

Centrado en 10.69 ppm aparece un doblete correspondiente al hidrógeno de la amida y presenta una constante de acoplamiento de 9.3 Hz.

La señal de 8.64 ppm es un singulete y se asigna al protón en la posición C-2 de la unidad de enrofloxacin.

En 8.16, aparece una señal que se asigna al cloroformo residual.

En 7.82 ppm se observa un doblete con $J = 12.3$ Hz que integra para dos protones y se puede asignar por su desplazamiento y constante de acoplamiento al protón en posición orto al sustituyente flúor, en la posición C-5 de la unidad de enrofloxacin. Esta señal, no presenta la intensidad 1:1, propia de un doblete, por lo que se considera que en 7.79 ppm, se encuentra sobrepuesto, un singulete que integra para un protón y por su desplazamiento a campo bajo, se asigna al protón en la posición C-4 del grupo triazol.

Centrado en 7.52 ppm encontramos otro doblete con una constante de acoplamiento de 7.2 Hz mismo que integra para un protón y se asigna al de la posición meta al sustituyente flúor, en C-8 de la unidad de enrofloxacin.

Desplazándose a campo un poco más alto se encuentra la señal centrada en 5.98 ppm que aparece como un doblete dobleteado con constantes de acoplamiento de 9 y 5.1 Hz, respectivamente, esta señal integra para un protón y se asigna al de la posición C-7 en la unidad de 7-TACA, la primera constante corresponde al acoplamiento con el protón de la amida, descrita inicialmente, y la segunda al acoplamiento con el protón de la posición C-6 de 7-TACA cuya señal se presenta como un doblete centrado en 5.13 ppm con una constante de acoplamiento de 5.1 Hz.

Por otro lado aparece un sistema AB 4.10 y 3.96 ppm con una constante gem de 13.2 Hz, y se asigna al metileno sustituyente en la posición C-3 de la unidad de 7-TACA.

Centrado en 3.74 ppm se encuentra un doblete con una constante de acoplamiento gem de 17.1 Hz, la señal se asigna a uno de los protones del

metileno en la posición C-4 de la unidad de 7-TACA; por su constante de acoplamiento y por comparación con la señal de 3.60 ppm, en la unidad de 7-TACA del espectro No. 8 para el producto CQ-M-EPEA **70**, antes descrito. La otra señal de protón del metileno en C-4 en la unidad de 7-TACA, se localiza sobrepuesta en el multiplete que se observa a 3.4 ppm; esta misma posición se le asigna al hidrógeno que se encuentra en C-1'' del ciclopropilo de la unidad de enrofloxacin.

En el espectro se observan otras señales en 3.05, 2.90, 1.23 y 1.09 ppm entre las que se encuentran sobrepuestas las de los metilenos del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) de la unidad de enrofloxacin.

Por otro lado se considera que la señal centrada en 2.73 ppm, corresponde al cuadruplete del metileno del etilo en la unidad de enrofloxacin, ya que éste presenta una constante de acoplamiento de 7.2 Hz.

En 1.35 y 1.33 ppm se observa un multiplete y se asigna a los metilenos del ciclopropilo en la unidad de enrofloxacin.

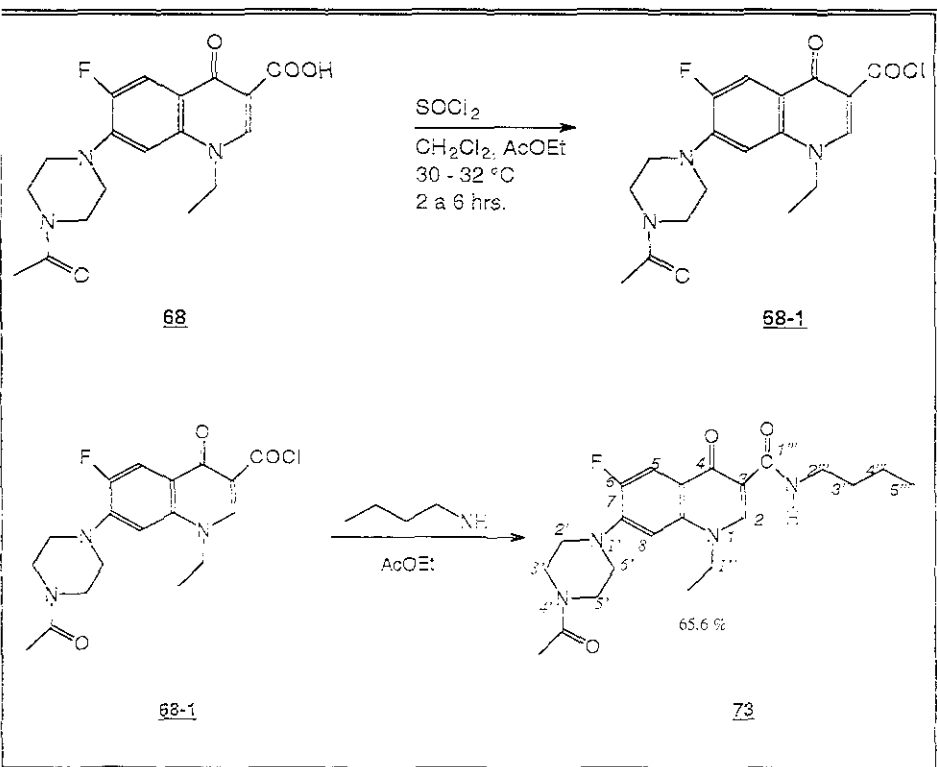
En 1.19 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de 7.2 Hz, por lo que se puede asignar al metilo de etilo terminal del sustituyente 7-(4'-etil-1'-piperazinilo) de la unidad de enrofloxacin.

El producto **72** queda identificado por las señales, tanto de la amida (protón en 10.70 ppm), como por las señales de los protones de las posiciones C-7 y C-6 de la unidad β -lactámica en 5.60 y 5.12 ppm y sus respectivas constantes de acoplamiento.

El espectro de masas del producto CQ-M-EPCT **72** muestra una señal a m/z 655 que corresponde con el peso molecular del mismo más una unidad $[M+1]^+$ (el P. M. del producto **72** es de 654.73 g/mol), debido a que se utilizó la técnica FAB⁺ para su determinación. El fragmento con m/z 342 $[M-312]^+$ corresponde al residuo de enrofloxacin por pérdida de la unidad de 7-TACA, por la ruptura entre C-N del enlace amídico, estos datos contribuyen para la caracterización del producto.

n-BUTIL AMIDA DE *N*-ACETILNORFLOXACINA **73**.

Después de la obtención exitosa del compuesto **68** *N*-acetilnorfloxacina se consideró la importancia de llevar a cabo la condensación de éste con los compuestos β -lactámicos 7-ACA y 7-TACA. De ésta manera, con el fin de observar la viabilidad de la formación del producto de condensación para la obtención de una amida, se utilizó inicialmente, *n*-butilamina una amina relativamente estable y de fácil manipulación; así se obtuvo la amida butílica de *N*-acetilnorfloxacina Q-M-APEBu **73** con un rendimiento de 65.6 % (esquema 9), misma que se caracterizó con sus espectros de IR, RMN-¹H y RMN-¹³C.



Esquema 9

El producto presenta las siguientes bandas características en el espectro de IR:

En 3232 cm^{-1} aparece una banda correspondiente a la vibración de alargamiento del enlace N-H de la amida formada al condensarse el carboxilo en C-3 con la n-butilamina.

En 3038 cm^{-1} se observa una banda característica de la vibración del alargamiento del enlace C-H aromático en los carbonos C-5 y C-8 de la estructura de la fluoroquinolona.

En 2958 cm^{-1} se observa una banda asignada a la vibración de los metilos en C-2'' y en 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo) de la unidad quinolónica, así como al metilo terminal del sustituyente n-butilo.

La señal de carbonilo en 1652 cm^{-1} , se asigna al carbonilo de la acetamida sustituyente en el grupo piperazinilo; junto con el carbonilo de la amida formada en posición C-3 de la quinolona.

Por otro lado se observa la banda de 1620 cm^{-1} que en esta ocasión se presenta más pequeña y se asigna al carbonilo α , β -insaturado en posición C-4 de la unidad de quinolona.

En 1602 cm^{-1} se puede observar la banda característica del doble enlace (en posición 2,3); conjugado con el carbonilo en posición 4 de la quinolona; además se observan en 1540 cm^{-1} y 1490 cm^{-1} dos bandas características del alargamiento del enlace C=C y del sistema conjugado enamínona.

En 1430 cm^{-1} se observa una banda que se sugiere corresponde a la flexión del enlace $\text{CH}_3\text{-CO}$ en el grupo acetilo del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo).

En 1372 cm^{-1} se observa una banda de flexión de los grupos metilo de los sustituyentes etilo y n-butilo de la molécula.

Se observa por último la banda correspondiente a la vibración C-F en el carbono seis de la unidad de fluoroquinolona en 1252 cm^{-1} y en 752 cm^{-1} se presenta una banda de vibración característica de la cadena alifática del esqueleto de n-butilo con cuatro carbonos alifáticos lineales.

El espectro de RMN-¹H del producto **73** (espectro No. 12) presenta señales que lo caracterizan en la siguiente forma:

La señal de 9.96 ppm aparece como un triplete que integra para un protón, dicha señal se asigna al protón de la amida, debido al desplazamiento a campo bajo; además esta señal desaparece al agregar agua deuterada a la muestra.

La señal que aparece en 8.7 ppm es un singulete que integra para un protón y se puede asignar al protón en la posición C-2 de la unidad de fluoroquinolona.

En 8.04 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 13 Hz que integra para un protón y se asigna al protón del carbono 5 en posición orto al sustituyente flúor.

La señal de 7.24 ppm corresponde a residuo de cloroformo, utilizado para disolver la muestra.

Aparece un doblete centrado en 6.75 ppm con $J = 6.6$ Hz que integra para un protón y se puede asignar al hidrógeno en posición C-8, meta al carbono sustituido con flúor, de la unidad quinolónica.

En 4.23 ppm aparece centrado un cuadruplete con $J = 7.2$ Hz que integra para dos protones, dicha señal corresponde al metileno C-1'' de la quinolona.

Los protones de los metilenos en el sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo), se observan como cuatro multipletes:

a) Centrados en 3.81 y 3.65 ppm dos multipletes que integran para cuatro protones; los cuales pueden ser dos axiales y dos ecuatoriales, de los metilenos en C-3' y C-5'; cuyas señales se distinguen como resultado de la polarización de la amida, cuando por resonancia la carga negativa queda sobre el átomo de oxígeno^{22,23}.

b) Centrados en 3.24 y 3.18 ppm dos multipletes que integran para cuatro protones; los cuales pueden ser dos axiales y dos ecuatoriales, de los metilenos en C-2' y C-6' (que se mantienen en su posición, ver espectro No. 3); cuyas señales se distinguen como resultado de la polarización de la amida, cuando por resonancia la carga negativa queda sobre el átomo de oxígeno^{22,23}.

Centrado en 3.41 ppm, se encuentra un cuarteto con una constante de acoplamiento de 7.5 Hz, integra para dos protones y se asigna a los protones unidos directamente al nitrógeno de la n-butilamida en posición C-2''.

En 2.12 ppm aparece una señal singulete que integra para tres protones y se asigna al metilo terminal del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo) de la unidad quinolónica.

Entre 1 y 2 ppm aparece un grupo de señales que integran para siete protones, de las cuales se asigna el triplete centrado en 1.50 ppm con $J = 7.2$ Hz al metilo en posición C-2'', ya que la constante de acoplamiento de 7.2 Hz por la interacción con el metileno de C-1'' (cuadruplete en 4.22 ppm) y su desplazamiento nos permiten esta asignación.

Las otras señales entre 1 y 2 ppm son el quinteto centrado en 1.58 ppm y el sexteto en 1.40 ppm que se asignan a los metilenos en posiciones C-3''' y C-4''' respectivamente de la cadena n-butílica, el último se encuentra a campo más alto debido a que está más lejos del nitrógeno de la amida por lo que se considera más protegido.

Aproximadamente en 1.2 ppm, se observa una señal multiplete que se puede considerar como grasa del disolvente y posiblemente n-butilamina.

Por último, en 0.91 ppm se observa un triplete con una $J = 7.5$ Hz, dicha señal integra para tres protones y se puede asignar al metilo terminal del sustituyente n-butilo.

El espectro de RMN-¹³C del producto **73** (espectro No.13) se obtuvo en cloroformo deuterado y presenta todas las señales que lo caracterizan.

La señal en 175.28 ppm se asigna al carbonilo en C-4 de la quinolona. En 169.11 ppm se observa una señal que se asigna al carbonilo de la acetamida en posición 4', señal característica para este grupo. En 164.91 ppm se observa otra señal de carbonilo correspondiente con el carbonilo C-1''' de la amida en C-3, esta amida se encuentra más protegida por la presencia del grupo enamina de la quinolona por lo que se desplaza a campo más alto que la amida del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo).

Centrado en 153.13 ppm aparece un doblete con una constante de acoplamiento de 246.2 Hz, esta constante de acoplamiento corresponde a un carbono aromático unido a flúor y se asigna al C-6 de la unidad de fluoroquinolona.

Con la ayuda del espectro No. 14 DEPT del producto **73**, se observa una señal en 146.72 ppm correspondiente a un metino y por el desplazamiento a campo tan bajo se asigna al carbono 2 de la unidad de quinolona.

En el espectro No. 13 aparece una señal de carbono no protonado en 144.62 ppm y se asigna al carbono 7 de la unidad de quinolona; por comparación con el espectro No. 5 del producto **68** APE.

En 136.34 ppm aparece otra señal que corresponde a un carbono no protonado y se asigna, por su desplazamiento al carbono nueve de la unidad quinolónica.

Centrado en 113.20 ppm se encuentra un doblete correspondiente a un metino y con una constante de acoplamiento de 26.4 Hz, dicha señal se asigna al carbono C-5 en posición orto al sustituyente flúor.

La señal de 113.026 ppm, que forma parte del doblete descrito arriba, no presenta la intensidad esperada de un doblete, por lo que se sugiere la presencia de otra señal sobrepuesta, dicha señal se asigna al carbono 10 de la unidad quinolónica.

En 111.74 ppm se observa una señal singulete, de carbono con hibridación sp^2 no protonado, que por su desplazamiento, se asigna al carbono tres de la unidad quinolónica.

Con la ayuda del espectro No. 14 DEPT se observa una señal de metino en 104.05 ppm, dicha señal no presenta constante de acoplamiento pero se asigna al C-8 de la unidad quinolónica, por comparación con el espectro No. 6 DEPT del producto APE **68**.

Las señales de 77.47, 77 y 76.53 ppm, corresponden a residuos de cloroformo deuterado, disolvente empleado para obtener el espectro.

En el espectro No. 13 del producto **73**, se observa una señal en 53.91 ppm, dicha señal aparece también en el espectro No. 14 DEPT; en ambos espectros la

intensidad de la señal es muy pequeña, por lo que se considera como una impureza de la materia prima.

Las siguientes señales corresponden a metilos y metilenos observados en el espectro No. 14 DEPT del producto **73**:

La señal de 50.42 ppm, se asigna al metileno en posición 1'' de la quinolona.

Las señales de 49.60 y 49.02 ppm, se asignan a los metilenos C-2'/6' del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo) anti y syn al oxígeno de la amida. Las señales de 46.10 y 38.87 ppm, se asignan a los metilenos C-3'/5' del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo) anti y syn al oxígeno de la amida; dichas señales aparecen a campo más alto que las descritas anteriormente para los carbonos C-2'/6', debido a que las primeras se ven protegidas de alguna manera al polarizarse la amida^{25,26}.

En 41.10 ppm se observa la primera señal del sustituyente n-butilo, asignándose dicha señal al carbono 2''' de la amida; desplazamiento característico de un carbono de alquilo lineal unido directamente al nitrógeno de una amida. Enseguida se observa otra señal de metileno en 31.65 ppm que se asigna al carbono de la posición 3''' del n-butilo ya descrito.

En el espectro No. 13 del producto **73**, se observa una señal en 29.55 ppm, que no aparece en el espectro No. 14 DEPT; la señal presenta muy poca intensidad y se considera como impureza de la materia prima.

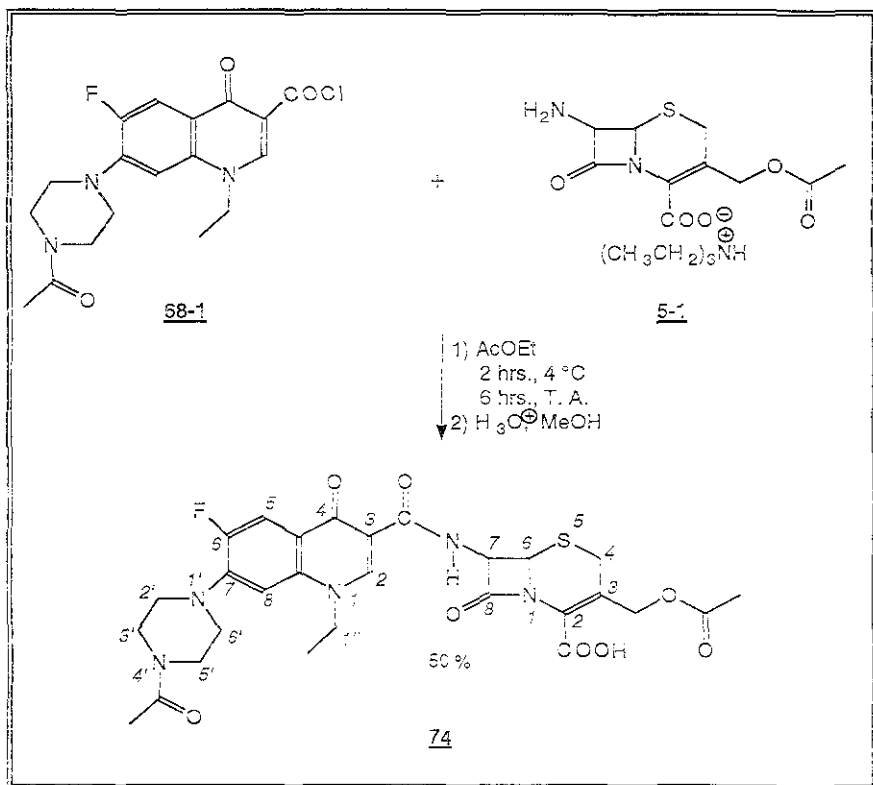
La señal de 21.15 ppm se observa en el espectro No. 14 DEPT, como una señal de metilo y se asigna por su desplazamiento a campo bajo al metilo terminal de la amida en el sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo).

En 20.22 ppm se observa una señal de metileno que por su desplazamiento se asigna al metileno en posición 4''' del sustituyente n-butilo.

Por último, en 14.39 y 13.69 ppm se observan dos señales correspondientes a metilo según el espectro No. 14 DEPT, y se asignan, el primero al carbono C-2'' de la quinolona y el segundo al carbono terminal del sustituyente n-butilo, C-5'''.

8.-CO-M-APEA 74.

Después de llevar a cabo la condensación del compuesto APE 68 con n-butilamina se intentó la condensación de APE 68 con 7-ACA 5, buscando obtener otro producto con posible actividad antimicrobiana. En esta reacción el único problema que se presentó fue el aislamiento del producto (rendimiento 50 %), ya que debido a la presencia del grupo acetilo sobre la piperazina se provoca que la molécula presente propiedades de solubilidad diferentes a los productos antes descritos. La obtención del producto se lleva a cabo haciendo reaccionar el cloruro de ácido de APE 68-1 con la sal de trietilamina de 7-ACA 5-1 (esquema 10).



Esquema 10

El producto CQ-M-APEA 74 se caracterizó por su espectro de IR.

El espectro de IR muestra una banda en 3465 cm^{-1} asignada al alargamiento de los enlaces N-H y O-H de la amida y del ácido respectivamente.

En 3163 cm^{-1} se observa la banda de alargamiento de la vibración C-H de aromático y en 2978 cm^{-1} la de la vibración de metilos.

En 1780 cm^{-1} se encuentra una banda asignada a la vibración del alargamiento C=O de la β -lactama en la unidad de 7-ACA.

En 1733 cm^{-1} se observa otra banda de carbonilo asignada en esta ocasión al acetato en la posición C-3 de la unidad de 7-ACA.

Otros carbonilos presentes son los que aparecen en las posiciones de 1661 cm^{-1} y 1627 cm^{-1} correspondientes, la primera banda, al de la posición C-3 de la carboxamida conjugada, mismo que indica la formación de la amida al condensarse las dos unidades (APE y 7-ACA), dicho carbonilo se sobrepone con el carbonilo del sustituyente 7-(4'-acetil-1'-piperazinilo) de la unidad quinolónica. El último carbonilo en 1627 cm^{-1} se asigna al carbonilo α , β -insaturado en posición C-4 de la misma unidad quinilónica.

En 1537 cm^{-1} y 1489 cm^{-1} se observan las bandas correspondientes a la vibración de la enaminona de la unidad quinolónica.

En 1445 cm^{-1} se observa una banda de flexión de los enlaces de metileno y en 1385 cm^{-1} la de los metilos.

La banda de 1250 cm^{-1} se asigna igual que en las anteriores fluoroquinolonas a la vibración del enlace C-F en C-6 de la unidad de fluoroquinilona.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , se realizaron en equipos Varian Gemini 200, VXR-300S o EM 390; la frecuencia de observación de protón fue de 300 MHz o 90 MHz y la frecuencia de observación de carbono fue de 75 MHz; en los disolventes o mezcla de disolventes indicados para cada espectro.

Los desplazamientos están descritos en partes por millón (ppm) con respecto al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Las constantes de acoplamiento están dadas en Hertz; las abreviaciones s, d, dd, t, c y m se refieren a singulete, doblete, doble de dobles, triplete, cuartete y multiplete, respectivamente.

Los espectros de Infrarojo se obtuvieron en los espectrofotómetros Perkin-Elmer 399B, Perkin-Elmer 120, Philips PYE UNICAM SP3-200, en pastilla de KBr.

Los espectros de ultravioleta se realizaron en los espectrofotómetros Perkin-Elmer-Hitachi 200, Perkin-Elmer LAMBDA 2, Varian Cari 100 en solución de buffer de fosfatos al 1 % en metanol.

Los espectros de masas se obtuvieron en un equipo JEOL JMS- SX102A por la técnica de FAB⁺.

La cromatografía en capa fina (c. c. f.) se llevó a cabo con sílica gel 60F₂₅₄ usando luz ultravioleta como revelador.

1. ALQUILACIÓN DE CIPROFLOXACINA

1- Ciciopropil - 6 - flúor - 1, 4 - dihidro - 4 - oxo - 7- [4' - (metil) - 1' - piperaziniil] - 3 - quinolincarboxilato de sodio. **66**

En un matraz bola de dos bocas con capacidad para 100 ml, se suspendieron 100 mg de clorhidrato de ciprofloxacina monohidratada **46-2** (2.5918×10^{-4} mol) en 10 ml de etanol absoluto. En una de las bocas se adaptó una trampa de humedad con sílica gel, se agitó magnéticamente y se agregaron 0.0827 g (7.8026×10^{-4} mol, 3 eq.) de carbonato de sodio anhidro; después se adicionaron 0.0178 ml (2.859×10^{-4} , 1.1 eq.) de yoduro de metilo y se mantuvo la agitación a temperatura ambiente por treinta horas. Se detuvo la agitación y se filtró la mezcla al vacío para eliminar el exceso de carbonato de sodio sólido; se evaporó el etanol en el rotavapor y el sólido obtenido se lavó con etanol y después con agua helada (10 ml), para eliminar el carbonato de sodio residual; se obtuvieron 29 mg de producto con un 35.56 % de rendimiento.

Ciprofloxacina metilada **66**:

Polvo color crema, p.f. 222-226 °C (mezcla de materia prima y producto).

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 8.75 (1H, s, C-2), 7.92 (1H, d, C-5, J = 13.5 Hz), 7.33 (1H, d, C-8, J = 7.5 Hz), 3.46 (1H, m, C-1'' ciclopropilo), 3.33 (4H, m, CH₂, C-2'/C-6' piperazino), 2.6 (4H, m, CH₂, C-3'/5' piperazino), 2.35 (3H, s, CH₃, N-metilciprofloxacina), 1.21 y 1.3 (4H, m, CH₂ ciclopropilo); 5.2 ppm CH₂Cl₂.

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3422 (COO⁻Na⁺), 2800, 2950 (CH₃, CH₂), 1624 (C=O, C-4), 1580 (COO⁻Na⁺, asimétrica, C-O), 1486 (COO⁻Na⁺, simétrica, C-O) 1396 (CH₃), 1304 (Ar-N), 1226 (C-F).

U. V. λ_{max} = 278 nm

Ácido 1- ciclopropil - 6 - flúor - 1, 4 - dihidro - 4 - oxo - 7- [4' - (etil) - 1' - piperazinil] - 3 - quinolincarboxílico. **53**

En un matraz bola de 100 ml se colocaron 15 ml de Etanol grado reactivo; en una de las bocas se adaptó atmósfera de nitrógeno mientras se agregaban los reactivos por la otra boca. Se adicionaron 100 mg de clorhidrato de ciprofloxacina monohidratada **46-2** (2.59×10^{-4} mol), 3 equivalentes (0.0826 g) de carbonato de sodio anhidro y 1.1 equivalentes de yoduro de etilo (0.023 ml) a una temperatura de 55- 60 °C y con agitación magnética, la solución se tornó amarillo claro. La reacción se completó en 23 horas. Se filtró al vacío y se evaporó el etanol en el rotavapor. El sólido obtenido se redisolvió en 15 ml de agua destilada y el pH se ajustó a 7.0 con solución acuosa de ácido clorhídrico al 10 % y se hicieron tres extracciones con 5 ml de cloruro de metileno cada una. Las fracciones orgánicas, se lavaron con agua destilada y se les agregó sulfato de sodio anhidro, una vez filtrada la mezcla se evaporó el disolvente en el rotavapor. Se obtuvieron 92 mg de enrofloxacin **53** como polvo amarillo con un rendimiento de 98.8 %.

Enrofloxacin **53**:

Polvo amarillo, **p.f.** 219 - 221 °C

RMN-¹H (CDCl₃, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.7 (H, s, C-2), 7.9 (H, d, C-5, J = 12 Hz), 7.45 (H, d, C-8, J = 7 Hz), 3.7 (H, m, C-1'' ciclopropilo), 3.4 (4H, m, C-2'/6' piperazinilo), 2.53 (4H, m, C-3'/C-5' piperazinilo), 2.5 (2H, c, CH₂ 7-(4'-etil-1'-piperazinilo), J = 7 Hz), 1.4 (4H, m, C-2'' ciclopropilo) y 1.1 (3H, t, CH₃, 7-(4'-etil-1'-piperazinilo), J = 7 Hz).

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3436 (COOH, C-3); 3088 (C-H aromático); 2928, 2822 (CH₃, CH₂); 1732 (C=C, ácido), 1628 (C=C, C-4), 1508 (C=C, aromático), 1382 (CH₃).

U. V. λ_{max} = 279.5 nm

EM por FAB⁻: m/z 360 [M+1]⁻ (Enrofloxacin P.M. 359 g/mol).
m/z 342 [M+1-18]⁻ (M-18, H₂O).

2. ALQUILACIÓN DE NORFLOXACINA.

Ácido 1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-[4'-(etil)-1'-piperazini]-3-quinolincarboxílico. **67**

En un matraz bola de dos bocas de 100 ml se suspendieron 3.2 g (0.01 mol) de norfloxacin **45** en 17 ml de dimetilformamida (DMF) y 13 ml de dioxano, se adicionaron 3.5 ml (0.025 mol, 2.5 eq.) de trietilamina (TEA). Con agitación magnética a temperatura ambiente por 30 minutos y trampa de humedad, se agregaron 1.2 ml (0.015 mol, 1.5 eq.) de yoduro de etilo y se calentó a 70 °C con canasta de calentamiento por tres horas, seguidamente la mezcla se enfrió a 10 °C con baño de hielo, agregándose 17 ml de agua fría; se ajustó el pH a 7.5 con solución ácida de HCl al 18.75 % en agua. Se agitó por dos horas a una temperatura de 5 a 10 °C y después se mantuvo en reposo por una hora. La suspensión se filtró al vacío y se lavó con 30 ml de agua fría obteniéndose 2.83 g de norfloxacin etilada **67**, polvo amarillo, con un rendimiento de 81.57 %.

Norfloxacin etilada **67**:

Polvo amarillo, p.f. 243-244 °C desc.

RMN-¹H (D₂O, Na₂CO₃): δ (ppm) 8.42 (H, s, C-2), 7.75 (H, d, C-5, J = 13.5 Hz), 6.82 (H, d, C-8, J = 7 Hz), 4.9 (DHO), 4.23 (2H, m, C-1'' etilo de norfloxacin), 1.43 (3H, t-deformado, CH₃, C-2''), 3.19 (4H, m, C-2'/C-6' etilpiperazino), 2.66 (4H, m, C-3'/C-5' piperazino), 2.59 (2H, c, CH₂, etilpiperazino, J = 6 Hz), 1.13 (3H, t, CH₃, etilpiperazino, J = 6 Hz).

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3430 (COOH, sustituyente en C-3), 2972 y 2910 (CH₃, CH₂) 2672 y 2616 (N-4' protonado), 1712 (C=O, ácido), 1628 (C=O, C-4), 1510 y 1480 (enaminona 1,4 y C=C aromático), 1380 (CH₃), 1254 (C-F).

U. V. λ_{max.} = 279.8 nm

EM por FAB⁺: m/z 348 [M+1]⁺ (norfloxacin etilada, EPE, P. M. 347);

m/z 330 [M+1-18]⁺ (M-18, H₂O).

3. ACILACIÓN DE NORFLOXACINA.

Ácido 1- etil - 6 - flúor - 1, 4 - dihidro - 4 - oxo - 7- [4' - (acetil) - 1' - piperazinil] - 3 - quinolincarboxílico. **68**

A un matraz boia de tres bocas de un litro se le adaptó una trampa de humedad con cloruro de calcio, un agitador mecánico y un termómetro. En dicho matraz se suspendieron 64 g de Norfloxacin (0.2 mol) en 700 ml de acetato de etilo seco. Se agitó 30 minutos para homogeneizar y se agregaron 120 ml (0.8656 mol, 4.3 eq.) de trietilamina; se enfrió a 10 °C y por medio de un embudo de adición se agregaron 22 ml (0.3 mol, 1.5 eq.) de cloruro de acetilo. Después de una hora en agitación a temperatura ambiente se observó por cromatografía en capa fina (ccf) la formación de un producto. Se mantuvo con agitación mecánica a temperatura ambiente por un total de seis horas y después en reposo por toda la noche agregándose 12 ml más de cloruro de acetilo (0.16 mol, 0.8 eq. Total: 2.3 eq.). Al día siguiente se disolvió la suspensión agregando un exceso de trietilamina y agua destilada. Se utilizaron 600 ml de agua destilada y el pH de la mezcla fue de 7.3; se agregaron 240 ml de trietilamina, el pH se elevó a 9.8 cuando el producto en suspensión se disolvió completamente. Se transfirió la solución a un embudo de separación y se separaron las fases; la fase acuosa se colocó en un matraz de tres bocas de un litro agregándose ácido clorhídrico concentrado hasta tener un pH de 7.0 y el producto precipitado. Después de agitar una hora a temperatura ambiente y una hora con baño de hielo-agua se filtró la mezcla con vacío, se lavó el producto con agua helada y se secó en la estufa a una temperatura de 40 a 50 °C. Se obtuvieron 70.5 g de producto amarillo claro con un rendimiento de 97.6 %.

N-Acetilnorfloxacin **68**:

Poivo amarillo, p.f. 270-280 °C

RMN-¹H (CD₃OD, CDCl₃): δ (ppm) 8.52 (H, s, C-2), 7.83 (H, d, C-5, J = 12.9 Hz), 6.77 (H, d, C-8, J = 7 Hz), 4.22 (2H, c, CH₂, C-1'', J = 7.2 Hz), 3.64 (2H_{axial}, m, C-3' y C-5'), 3.55 (2H_{ecuatorial}, m, C-3' y C-5'), 3.19 (2H_{axial}, m, C-2' y C-6'), 3.12 (2H_{ecuatorial}, m, C-2' y C-6'), 1.98 (3H, s, CH₃ N-acetilo), 1.39 (3H, t, CH₃, C-2'', J = 7.2 Hz).

RMN-¹³C (CDCl₃, CD₃OD): δ (ppm) 176.73 (C=O, C-4), 169.81 (C=O acetilo), 167.67 (COOH), 153.27 (d, C-6, J = 251.8 Hz), 147.39 (C-2), 145.44 (d, C-7, J = 10.56 Hz), 136.97 (C-9), 120.60 (d, C-10, J = 7.54 Hz), 112.36 (d, C-5, J = 23.16), 107.50 (C-3), 104.39 (d, C-8, J = 3.02 Hz), 77.43, 77 y 76.57 (CDCl₃), 49.75 (sin asignación), 49.68, 49.60, 49.08 y 49.03 (metilenos 1'', 2' y 6', asignación incierta), 49.31, 49.03, 48.74, 48.46, 48.18, 47.89, y 47.60 (CD₃OD, J = 21.57, 21.65, 21.15 Hz), 45.83 (CH₂, C-3', anti), 40.91 (CH₂, C-5', syn), 20.64 (CH₃ acetilo), 14.05 (CH₃, C-2'').

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3434 (COOH, C-3), 3038 (C-H, aromático), 2976 y 2842 (CH₃, CH₂) 1724 (C=O, ácido), 1630 (C=O, C-4 y amida), 1506 (C=C, aromático), 1478 y 1382 (CH₃), 1248 (C-F, C-6).

U. V. λ_{max.} = 283 nm

4. PREPARACIÓN DE CQ-M-EPCA 69.

Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-ciclopropil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4'-(etil)-1'-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.

TECNICA A:

En un matraz bola de 250 ml se colocaron 100 ml de cloruro de metileno R. A. y se adicionaron 1.2 ml de cloruro de tionilo (0.0165 mol, 8.25 eq); se agitó magnéticamente a 25 °C y se agregaron 0.72 g de enrofloxacina 53 (0.002 mol, 1 eq.) poco a poco, manteniéndose la mezcla con agitación a una temperatura de 30-32 °C y con trampa de humedad durante tres horas. Enseguida se agregaron 5 ml de acetato de etilo anhidro y se mantuvo la agitación a 15 °C; se filtró al vacío con burbujeo de nitrógeno seco y se lavó con acetato de etilo anhidro. El sólido obtenido (cloruro de ácido de enrofloxacina 53-1) se transfirió a un matraz bola de 250 ml que contenía 100 ml de acetato de etilo anhidro y se mantuvo a una temperatura de 5 °C con baño de hielo-agua; se agregan 0.7 ml de trietilamina y la suspensión registra pH de 7.0; que no propiamente corresponde a un valor de pH, ya que por definición $\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$.

Por otro lado se preparó la sal de trietilamina de 7-ACA 5-1; para ello, se suspendieron 0.52 g de 7-ACA 5 (0.0019 mol, 0.95 eq.) en 4 ml de dimetilformamida, se sumergió el matraz en baño de hielo-agua y con agitación magnética se adicionaron 0.52 ml de trietilamina (0.00375 mol, 1.97 eq. con respecto a 7-ACA) hasta disolución completa del 7-ACA.

La solución de la sal de 7-ACA con trietilamina 5-1 recién preparada se adicionó al matraz que contenía la suspensión del cloruro de ácido de la enrofloxacina 53-1, la adición se hizo lentamente con pipeta pasteur a 0-5 °C, con agitación vigorosa y burbujeo de nitrógeno seco, se mantuvo la temperatura de reacción por tres horas treinta minutos y enseguida se agregaron 15 ml de agua destilada.

La mezcla de reacción registró un pH de 7.0 a 7.5 y se le ajustó el pH con trietilamina a 8.0-8.3, se agitó durante 15 minutos y después la mezcla se filtró por gravedad, transfiriéndose a un embudo de separación; se separaron las fases y la fase orgánica se lavó con 15 ml de agua destilada; las fracciones

acuosas se juntaron y se les agregaron 3 ml de metanol para favorecer la precipitación. El pH de la fracción acuosa se ajustó a 5.8-6.0 con una solución de HCl (37 % en agua)-Metanol, 1:1 volumen-volumen, se mantuvo la mezcla con agitación lenta a temperatura ambiente por una hora y con baño de hielo-agua por dos horas. El precipitado formado se filtró al vacío, se lavó con agua fría y después con acetona fría; se secó con vacío, obteniéndose 390 mg de precipitado crema con un rendimiento de 33.4 %.

CQ-M-EPCA 69:

Polvo color crema, p. f. 180-189 desc.

RMN-¹H (CDCl₃ y DMSO-d₆): δ (ppm) 10.6 (H, s, N-H amida, J = 9.3 Hz), 8.58 (H, s, C-2, enrofloxacin), 7.8 (H, d, C-5, enrofloxacin, J = 13.6 Hz), 7.55 (H, d, C-8, enrofloxacin, J = 5.5 Hz), 5.92 (H, dd, C-7 (7-ACA), J = 9 y 5 Hz), 5.08 (H, d, C-6 (7-ACA), J = 5 Hz), 5.01 y 4.8 (2H, sistema AB, C-3 (7-ACA), J = 12.6 Hz), 3.6 (4H, m, CH₂, C-2'/6' piperazino), 3.5 (4H, m, CH₂, C-3'/5' piperazino), 3.31 (2H, m, CH₂ N-etilpiperazinilo), 3.07 (2H, s ancho, CH₂, C-4, 7-ACA), 2.5 (DMSO-d₅), 2.00 (3H, s, CH₃, acetilo de 7-ACA), 1.26 (3H, t, deformado, CH₃ N-etilpiperazinilo), 1.4 y 1.1 (4H, m, CH₂ ciclopropilo), 6.2 y 7.05 (isomero 3,4).

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3428 (N-H, amida; COOH), 3091 (C-H aromático), 2984 y 2848 (CH₃, CH₂), 2456 (νNR₃H), 1772 (C=O, β-lactámico), 1734 (Acetato de 7-ACA), 1666 (C=O, Amida), 1608 (C=O, C-4), 1534 y 1478 (C=C, aromático, enamina), 1384 (CH₃) 1346 (C-N, Amina aromática), 1258 (C-F, C-6, quinolona).

U. V. λ_{max} = 179.8 nm

EM por FAB⁺: m/z 614 [M+1]⁺ (Abundancia relativa: 5.9 %, CQ-M-EPCA, P. M. 613 g/mol). m/z 342 [M-271]⁺ (Abundancia relativa: 100 %, ruptura del enlace amida C-N, entre enrofloxacin y 7-ACA).

TECNICA B:

Se utilizó un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml adaptado con trampa de humedad de cloruro de calcio, termómetro y corriente de nitrógeno seco. En dicho matraz se colocaron 100 ml de cloruro de metileno y 1.2 ml de cloruro de tionilo (0.165 mol, 8.25 eq.) y con agitación magnética a una temperatura de 25 °C, se fueron agregando poco a poco 0.72 g de enrofloxacin **53** (0.002 mol, 1 eq.). Con la ayuda de una canasta de calentamiento la temperatura se elevó a 30-32 °C manteniéndose dicha temperatura por cuatro horas mientras se burbujeó nitrógeno seco.

La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le agregaron 15 ml de acetato de etilo seco. El termómetro se cambió por un tubo poroso conectado por una manguera de taygon a un matraz Kitasato y éste a su vez a una bomba de vacío. El líquido presente en la mezcla de reacción se drenó por succión con la ayuda del tubo poroso conectado al vacío, con el fin de lavar el cloruro de ácido de enrofloxacin retirando el exceso de cloruro de tionilo, agregándose acetato de etilo dos veces más y permitiendo que en cada lavado se llegara casi a sequedad de la mezcla. Después se agregaron 100 ml de acetato de etilo anhidro y se enjuagó el tubo poroso dentro del matraz antes de retirarlo.

Enseguida se enfrió la mezcla a 10 °C y se le adaptó un embudo de adición conteniendo la solución de la sal de trietilamina de 7-ACA **5-1** preparada como se indicó en la Técnica A, ésta se adicionó por goteo y después se permitió elevar la temperatura a 18-20 °C. Se mantuvo la mezcla con agitación vigorosa y atmósfera de nitrógeno seco por dos horas más a dicha temperatura.

Finalmente se detuvo la agitación y se enfrió la mezcla a 10 °C, se agregaron 15 ml de agua destilada, registrándose un pH de 7.0 a 7.5 el cual se ajustó a 8-8.3 con trietilamina y se filtró la mezcla por gravedad, transfiriéndose a un embudo de separación. Se separaron las fases; la fase orgánica se lavó con 10 ml de agua destilada y se juntó con la primera fracción acuosa. A la fracción acuosa se le agregaron 5 ml de metanol para favorecer la precipitación. Se le ajustó el pH a 5.8-6.0 con una solución de HCl (37 % en agua)-Metanol, 1:1 v-v; se mantuvo la mezcla a temperatura ambiente por una hora, después con baño de hielo-agua por dos horas con agitación lenta, se filtró al vacío lavándose con agua fría y después con acetona, se secó al vacío y se

obtuvieron 0.5046 g de un precipitado color crema con un rendimiento de 43.7 %. Datos espectroscópicos y p. f. indicados en la Técnica A previamente descrita.

TECNICA C:

En un matraz de tres litros de fondo redondo y de tres bocas, adaptado con trampa de humedad de cloruro de calcio, agitador magnético y termómetro, se adicionaron 800 ml de cloruro de metileno y se enfrió a 5 °C con baño de hielo agua. Al disolvente frío se agregaron 120 ml (1.65 mol, 8.2 eq.) de cloruro de tionilo mezclando vigorosamente. Posteriormente se adicionaron 72 g de enrofloxacin 53 (0.2 mol, 1 eq.) manteniendo la temperatura entre 5 y 10 °C durante toda la adición. Se retiró el baño de hielo y con la ayuda de una canasta de calentamiento se elevó la temperatura hasta 32-34 °C y se continuó con la agitación por cuatro horas. Enseguida se retiró la canasta de calentamiento y se adicionaron 500 ml de acetato de etilo anhidro, se continuó la agitación por 30 minutos a temperatura ambiente y después se enfrió a 10 °C con la ayuda de un baño de hielo-agua. La suspensión se filtró con vacío y se lavó con 900 ml de acetato de etilo anhidro y frío. El sólido obtenido (cloruro de ácido de enrofloxacin 53-1) se secó colocando una película de polietileno sobre el embudo de filtración durante la succión con vacío, se resuspendió en el matraz inicial con 700 ml de acetato de etilo frío, ajustando el pH del medio a 7.0 con aproximadamente 9 ml de trietilamina.

Por otro lado se preparó la sal de trietilamina de 7-ACA 5-1. En un matraz Erlen-Meyer de un litro se enfriaron 400 ml de dimetilformamida (DMF) en baño de hielo; se agregaron al matraz 64 ml de trietilamina (0.46 mol, 2.3 eq.) y 60 g de 7-ACA 5 (0.22mol, 1.1 eq.), se agitó magnéticamente hasta disolución completa, aproximadamente dos horas a 5 °C.

La solución de la sal de trietilamina de 7-ACA 5-1 recién preparada, se transfirió a un embudo de adición de 500 ml y se adaptó al matraz que contenía la suspensión del cloruro de ácido de enrofloxacin 53-1. Se llevó a cabo la adición de la sal de 7-ACA por medio de un goteo lento durante un período de 45 a 60 minutos a una temperatura de 5 a 10 °C con baño de hielo. Después de la adición se agitó la mezcla de reacción a la temperatura indicada

por una hora más y seis horas a temperatura ambiente, tiempo en el que la reacción llegó a su término monitoreada por cromatografía en capa fina (c.c.f.). El matraz de reacción se mantuvo a 4 °C por toda la noche; al día siguiente se continuó la agitación magnética y se determinó el pH del medio ajustándolo a 6.5 con solución de ácido fosfórico (85 % en agua)-metanol, 1:15, v-v, aproximadamente 40 ml, manteniendo la agitación por dos horas a 5 °C.

La suspensión se filtró al vacío y el sólido obtenido se lavó con 200 ml de acetato de etilo y después con 150 ml de metanol fríos. El sólido se transfirió al matraz de reacción inicial que ahora contenía 400 ml de agua destilada y 200 ml de metanol fríos. El pH de la mezcla se ajustó a 6.5 con 20 ml de solución acuosa de trietilamina al 6 % y se agitó durante dos horas a una temperatura de 5 °C. La mezcla se filtró al vacío y el sólido se lavó con 150 ml de metanol y después con 400 ml de acetona fríos. El sólido de color crema se secó en la estufa a 40 °C por dos horas obteniéndose 106.47 g con un rendimiento de 86.6 %.

Los datos espectroscópicos del producto obtenido están indicados en la Técnica A previamente descrita.

5. PREPARACIÓN DE CQ-M-EPEA 70.

Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4'-(etil)-1'-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.

En un matraz de tres bocas de fondo redondo de 250 ml al que se le adaptaron un termómetro y una trampa de humedad, se colocaron 50 ml de cloruro de metileno y 3.7 ml de cloruro de tionilo (0.0509 mol, 8.03 eq.) y se agregaron 2.2 g de norfloxacinilada 67 (0.0063 mol, 1 eq.). La mezcla se calentó a una temperatura de 30 °C y se agitó magnéticamente por cuatro horas, enseguida se le adicionaron 50 ml de acetato de etilo anhidro y se enfrió a 25 °C. Se filtró la mezcla al vacío y se lavó el sólido con acetato de etilo seco y finalmente se cubrió con película de polietileno para lograr secarlo lo más posible. El sólido seco (Cloruro de ácido de norfloxacinilada 67-1) se regresó al matraz de reacción inicial y se suspendió en 100 ml de acetato de etilo anhidro. El pH de la mezcla se ajustó a 7.0 con trietilamina, aproximadamente 0.5 ml.

Una solución de sal de trietilamina de 7-ACA 5-1 preparada con 1.56 g de 7-ACA 5 (0.00573 mol, 0.9 eq.) en 12 ml de DMF y 1.5 ml de trietilamina (0.0108 mol, 1.7 eq.) se goteó sobre la suspensión con pH 7 antes descrita.

La mezcla de reacción se dejó en agitación a 5 °C por una hora y después a temperatura ambiente por cuatro horas. Se detuvo la agitación y se filtró la mezcla al vacío; el sólido se lavó con acetato de etilo (10 ml) y después con acetona (15 ml), se redisolvió con agua destilada (20 ml) y trietilamina a un pH de 9.0 y después se le adicionó solución de ácido clorhídrico (37 % en agua)-metanol, 1:1, v-v, hasta pH de 4.0, observándose la formación de un precipitado amarillo el cual se filtró al vacío y se lavó primero con agua y después con acetona: se obtuvieron 0.850 g del producto 70 con un rendimiento de 24.7 %.

CQ-M-EPEA 70:

Poivo crema, p.f. 180-189 °C desc.

RMN-¹H (CDCl₃ y CD₃OD): δ (ppm) 8.561 (1H, s, C-2 quinolona), 7.81 (H, d, C-5 quinolona, J = 12.6 Hz), 7.48 (CDCl₃), 7.29 (H, d, C-8 quinolona, J = 7.2 Hz), 6.06 (H, d, C-7 (7-ACA), J = 5.1 Hz), 5.15 (H, d, C-6 (7-ACA),

J = 5.1 Hz), 5.01 y 4.91 (2H, sistema AB, CH₂, C-3 (7-ACA), J = 12.6 Hz), 4.66 (2H, sextuplete, CH₂, C-1'', J = 7.2 Hz), 4.2, 2.02, 1.25 (c, s, t, impureza acetato de etilo), 4.14 (HOD), 3.83 (4H, m, CH₂, C-2'/6' piperazinilo), 3.38 (4H, m, CH₂, C-3'/5' piperazinilo), 3.60 y 3.33 (2H, d y d, C-4 de 7-ACA, J = 17.7 y 17.7), 3.32 (Metanol), 3.19 (2H, c, CH₂ N-etilpiperazinilo, J = 7.5 Hz), 2.08 (3H, s, CH₃ acetilo en 7-ACA), 1.5 (3H, t, CH₃, C-2'', J = 7.2 Hz), 1.46 (3H, t, CH₃, N-etilpiperazinilo, J = 7.2 Hz).

RMN-¹³C (CDCl₃, CD₃OD): δ (ppm) 174.54 (C=O, C-4, quinolona), 170.989 (C=O, acetato, 7-ACA), 166.88 (COOH, 7-ACA), 164.9 (2C=O, amida y β-lactámico), 153.41 (d, C-F, C-6, J = 249.44 Hz), 146.31 (CH, C-2, quinolona), 143.94 (d, C-7, quinolona J = 10.93 Hz), 136.04 (C-9, quinolona), 132.36 (C-3, 7-ACA), 123.22 (C-10, quinolona), 113.99 (C-2, 7-ACA), 111.81 (d, CH, C-5, J = 23.08 Hz), 109.25 (C-3, quinolona), 107.81 (CH, C-8, quinolona), 77.44, 77 y 76.58 (CDCl₃), 63.86 (CH₂, C-3, metilenoacetato 7-ACA), 58.31 (CH, C-7, 7-ACA), 56.10 (CH, C-6, 7-ACA), 51.76 (CH₂, C-2'/6', piperazinilo), 51.01 (CH₂, C-3'/5', piperazinilo), 49.12 (CH₂, C-1'' quinolona), 49.12, 48.81, 48.53, 48.24, 47.97, 47.68 y 47.38 (CD₃OD, J = 23.07, 20.87 y 21.97 Hz), 46.86 (CH₂, N-etilpiperazinilo), 25.37 (CH₂, C-4, 7-ACA), 20.11 (CH₃, acetilo, 7-ACA), 13.87 (CH₃, C-2'', quinolona), 8.48 (CH₃, N-etilpiperazinilo).

I. R. (KBr, cm⁻¹): 3424 (N-H, amida; COOH), 2982 (CH₃, CH₂) 2467 (R₃NH⁺), 1768 (C=O, β-lactámico), 1730 (Acetato de 7-ACA), 1662 (C=O, Amida, 7-ACA-Quinolona), 1620 (C=O, C-4) 1606 (C=C), 1538 y 1490 (N=C=C, enaminona de quinolona), 1388 (CH₃), 1260 (C-F, C-6, quinolona).

U. V. λ_{max} = 179.8 nm

EM por FAB⁺: m/z 602 [M+1]⁺ (CQ-M-EPEA, P. M. 601.65 g/mol)
m/z 330 [M-271]⁺ (Ruptura amida, C-N, entre EPE y 7-ACA)

6. PREPARACIÓN DE CQ-M-EPCT 72.

Ácido 7-[(1-ciclopropil-6-flúor-1,4 - dihidro- 4-oxo- 7-(4'-(etil)-1'-piperazinil-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-5-tio-3-[[[(1H-1, 2, 3 -triazol-5-il)tio)metil]]-(6R-trans)- 1- azobiciclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.

TECNICA A:

En un matraz de fondo redondo de tres litros con tres bocas (al que se le adaptaron una trampa de humedad de cloruro de calcio, un termómetro y un agitador mecánico) se colocaron 800 ml de cloruro de metileno enfriado previamente a 4 °C; se mantuvo el matraz en baño de hielo agua mientras se agregaban 120 ml de cloruro de tionilo (1.7 mol, 8.5 eq.), se agitó y se fueron agregando 72 g (0.2 mol, 1 eq.) de enrofloxacina 53 lentamente. Se retiró el baño de hielo y la temperatura se elevó a 30-32 °C con la ayuda de una canasta de calentamiento, manteniéndose la agitación por 4 horas. Se detuvo el calentamiento y se agregaron 500 ml de acetato de etilo, continuando con la agitación a temperatura ambiente por 30 minutos. Después se sumergió el matraz en baño de hielo-agua, hasta alcanzar una temperatura de 10 °C; se filtró al vacío y se lavó bien con acetato de etilo frío (900 ml), se secó el sólido lo más posible cubriéndolo con una película de polietileno. El sólido seco (cloruro de ácido de enrofloxacina 53-1) se transfirió al matraz de reacción inicial y se suspendió en 700 ml de acetato de etilo. La suspensión se agitó y el pH se ajustó a 7.0 con trietilamina (8 ml); se mantuvo en baño de hielo-agua-sal para agregar la solución de la sal de trietilamina de 7-TACA 71-1.

Por otro lado se preparó la solución de la sal de trietilamina de 7-TACA 71-1 de la siguiente forma: en un matraz Erlen-Meyer de un litro se colocaron 400 ml de dimetilformamida y 67.1 ml de trietilamina grado síntesis (0.484 mol, 2.42 eq., 10 % de exceso de trietilamina con respecto al total de moles de enrofloxacina 53 y 7-TACA 71). Se mantuvo con agitación magnética a temperatura ambiente mientras se adicionaban 75.2 g de 7-TACA 71 (0.24 mol, 1.2 eq., 20 % de exceso de 7-TACA 71, con respecto a los moles totales de enrofloxacina 53). La suspensión se mantuvo con agitación a temperatura ambiente hasta que se disolvió el total de 7-TACA 71, aproximadamente una hora y después se mantuvo en baño de hielo- agua a 4 °C por una hora antes de agregarse al cloruro de ácido de la enrofloxacina 53-1.

La solución de la sal de trietilamina de 7-TACA **71-1** preparada, se fue adicionando con un goteo constante a la suspensión del cloruro de ácido de la enrofloxacin **53-1** a una temperatura de 7 °C por un tiempo de una hora, manteniéndose el matraz con agitación mecánica vigorosa y sumergido en un baño de hielo-agua-sal para mantener la temperatura. Después se dejó la mezcla en agitación a 7 °C por una hora más y enseguida se retiró el baño de hielo, conservándose a temperatura ambiente por seis horas más. El curso de la reacción se monitoreó por c.c.f; el matraz de reacción se selló bien y se mantuvo a 7 °C en reposo por toda la noche. Al día siguiente se continuó con la agitación mecánica para homogeneizar la mezcla, se determinó pH y se ajustó éste a 7.0 con solución de H₃PO₄ (85 % en agua)-MeOH, 1:15 v-v, aprox. 25 ml. La mezcla de reacción se mantuvo dos horas más con agitación a una temperatura de 4 °C. Después se filtró al vacío, se lavó con 160 ml de acetato de etilo, 100 ml de metanol y 230 ml de acetona fría, el sólido se secó en la estufa a 40 °C. Este sólido se vertió sobre un matraz que contenía 772 ml de solución acuosa de trietilamina al 6 %, se agitó hasta disolución completa, se adicionaron 386 ml de metanol y se mantuvo la temperatura a 20 °C. Posteriormente se agregó con un goteo lento solución de H₃PO₄ - metanol (1:15, v-v), hasta tener un pH de 8.1, se mantuvo la agitación por 10 minutos a 20 °C. Después se continuó la adición de solución ácida hasta tener un pH de 7.0 (total de solución ácida: 300 ml), observándose la formación paulatina de precipitado color crema. La suspensión se mantuvo con agitación por dos horas a 4 °C filtrándose enseguida al vacío y lavándose con 160 ml de agua destilada, 100 ml de metanol y 230 ml de acetona fría, cuando se eliminó la mayor parte de acetona posible, se secó el producto en la estufa a 40 °C. Se obtuvieron 105.7 g de sólido amarillo con un rendimiento de 80.72 %.

CQ-M-EPCT 72:

Polvo amarillo, p.f. 198-206 °C desc.

RMN-¹H (DMSO-d₆, CDCl₃): δ (ppm) 10.69 (H, d, N-H amida, J = 9.3 Hz), 8.64 (H, s, C-2, quinolona), 8.15 (CHCl₃) 7.81 (H, d, C-5, quinolona, J = 12.3 Hz), 7.79 (1H, s, C-4, triazol), 7.52 (H, d, C-8, quinolona, J = 7.2 Hz), 5.98 (1H, dd, C-7 (7-TACA), J = 9 y 5.1 Hz), 5.13 (1H, d, C-6 (7-TACA), J = 5.1 Hz), 4.10 y 3.96 (2H, sistema AB, CH₂, C-3 (7-TACA), J = 13.2 Hz), 3.74 (1H, d, CH₂, C-4 (7-TACA), J = 17.10 Hz), 3.4 (2H, m, uno de CH₂, C-4 (7-TACA) y el otro de C-1'', quinolona), 3.05, 2.90, 1.23 y 1.09 (8H, m, 4CH₂, C-2'/6' y C-3'/5' sobrepuestos), 2.73 (2H, c, CH₂, N-etilpiperazinilo, J = 7.2 Hz), 1.19 (3H, t, CH₃, N-etilpiperazinilo, J = 7.2 Hz) 1.35 y 1.33 (4H, m, CH₂, ciclopropilo).

I.R. (KBr, cm^{-1}): 3424 (N-H, amida, COOH), 3229 (C-H, aromático), 3138 (C-H, ciclopropilo), 2983 (CH_3 , CH_2), 2850 (CH_2), 1767 (C=O, β -lactama), 1661 (C=O, amida), 1626 (C=O, C-4), 1605 (C=C, 2, 3, quinoiona), 1536 y 1493 (N-C=C), 1386 (CH_3), 1346 (C-N, amina aromática), 1258 (C-F, C-6, quinolona; C-O, éster).

U. V. λ_{max} = 279 nm

EM por FAB⁺: m/z 655 $[\text{M}+1]^+$ (CQ-M-EPCT, P. M. 654 g/mol)

m/z 342 $[\text{M}-312]^+$ (Ruptura C-N, amida entre enrofloxacina y 7-TACA).

TECNICA B:

En un matraz de tres litros de fondo redondo y tres bocas (adaptado con trampa de humedad de cloruro de calcio, agitador mecánico y termómetro) se adicionaron 800 ml de cloruro de metileno (grado reactivo) y se enfriaron a 5 °C con baño de hielo-agua. Al disolvente frío se agregaron 120 ml de cloruro de tionilo (1.65 mol, 8.2 eq.) iniciándose la agitación. Posteriormente se adicionaron 72 g (0.2 mol, 1 eq.) de enrofloxacin **53** manteniendo la agitación vigorosa y la temperatura entre 5 y 10 °C durante toda la adición, al término de la cual se retiró el baño de hielo-agua incrementándose la temperatura hasta 32-34 °C con canasta de calentamiento. La agitación se continuó a dicha temperatura por cuatro horas. Al término de este periodo, se adicionaron 500 ml de acetato de etilo anhidro y se retiró la canasta de calentamiento, el sistema se enfrió a 10 °C con baño de hielo. La suspensión se filtró al vacío y se lavó con 900 ml de acetato de etilo frío. El cloruro de ácido de la enrofloxacin obtenida **53-1**, se cubrió con película de polietileno para evitar el contacto con el ambiente y cuando estuvo casi seco se transfirió al matraz de reacción para suspenderlo en 700 ml de acetato de etilo frío, ajustando el pH del medio a 7.0 con trietilamina (9 ml); nuevamente el valor registrado, no corresponde por definición, a un valor de pH propiamente dicho.

Por otro lado se preparó la solución de la sal de 7-TACA **71-1** con trietilamina de la siguiente forma: En un matraz Erlen-Meyer de un litro se agregaron 400 ml de dimetilformamida y se le adicionaron 67 ml de trietilamina (0.48 mol, 2.4 eq.). Sobre esta solución se agregaron 75.2 g de 7-TACA **71** (0.24 mol, 1.2 eq.) con agitación magnética, hasta lograr la disolución total del mismo (una hora a temperatura ambiente). Esta solución se enfrió a 5 °C en baño de hielo para ser adicionada a la solución del cloruro de ácido de enrofloxacin **53-1**.

La solución de la sal de trietilamina de 7-TACA **71-1**, se transfirió a un embudo de adición de 500 ml y se colocó sobre el matraz que contenía el cloruro de ácido de la enrofloxacin **53-1**. Se adicionó gota a gota, en un período de 45 a 60 minutos, manteniendo la temperatura entre 5 y 10 °C con baño de hielo-sal. Después de la adición se agitó la mezcla de reacción por una hora a esta temperatura y ocho horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se mantuvo el matraz a 7 °C por toda la noche. Al día siguiente se continuó la agitación mecánica y se determinó el pH del medio.

ajustándolo a 7.0 con 11.5 ml de solución de ácido fosfórico (85 % en agua)-metanol, 1:15 v-v, manteniendo la agitación por dos horas a 5 °C. La suspensión se filtró al vacío y el sólido se lavó con 200 ml de acetato de etilo y después con 200 ml de metanol frío. Una vez que se eliminó a la mayor cantidad posible de disolvente, el sólido obtenido se transfirió al matraz de reacción inicial, donde previamente se habían enfriado 600 ml de agua destilada y 300 ml de metanol. El pH del sistema se ajustó a 7.0 con 10 ml de solución acuosa de trietilamina al 6 % y se agitó por dos horas a 5 °C. La suspensión se filtró al vacío y el sólido se lavó con 150 ml de metanol y después con 350 ml de acetona frías. El producto se secó en la estufa a 40 °C. Obteniéndose 101.17 g de sólido crema, ligeramente amarillo con un rendimiento de 77.16 %.

Los datos espectroscópicos están indicados en la Técnica A previamente descrita.

7. PREPARACION DE Q-M-APEBu 73.

n-Butil-[1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4'-(acetil)-1'-piperazini)-3-quinolin]-3-il-carboxamida.

En un matraz de fondo redondo de tres bocas con capacidad de 100 ml (adaptado con trampa de humedad y termómetro), se colocaron 25 ml de cloruro de metileno (grado reactivo) y se suspendieron 2 g de N-acetilnorfloxacina 68 (0.0055 mol, 1 eq.), se agregaron 3.23 ml de cloruro de tionilo (0.044 mol, 8.7 eq.) y se mantuvo la mezcla con agitación magnética a una temperatura de 30-32 °C por 20 minutos, se adicionaron 20 ml de acetato de etilo anhidro y se mantuvo la agitación por dos horas más a una temperatura de 30 °C. Después de este tiempo se filtró la mezcla de reacción con vacío y se lavó con acetato de etilo anhidro; se cubrió el embudo con una capa de polietileno para secar lo más posible evitando el contacto directo del sólido con la atmósfera. El sólido obtenido (cloruro de ácido de N-acetilnorfloxacina 68-1) se transfirió a un matraz de fondo redondo de 100 ml con tres bocas; se le adicionaron 25 ml de acetato de etilo seco y se ajustó el pH a 7.0 con trietilamina (por definición no es propiamente pH). Se agregaron a esta mezcla 1.08 ml de n - butilamina (0.011 mol, 2 eq.); la temperatura se elevó espontáneamente a 38 °C, se mantuvo la agitación por una hora y al final la temperatura fue de 28 °C. Se filtró la mezcla de reacción con vacío y se lavó el sólido; primero con acetato de etilo y después con acetona. Se obtuvieron 1.5 g de sólido amarillo con un rendimiento de 65.6 %. El producto se purificó por c.c.f. (mezcla de elución de acetato de etilo-metanol: 6:4), obteniéndose un rendimiento de 86.9 %. Rendimiento del producto purificado: 57 %.

Q-M-APEBu 73:

Polvo blanco, p.f. 232-234 °C

RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 9.96 (1H, t, N-H, amida), 8.7 (1H, s, C-2), 8.04 (1H, d, C-5, J = 13 Hz), 7.24 (CHCl₃), 6.75 (1H, d, C-8, J = 6.6 Hz), 4.23 (2H, c, CH₂, C-1'', J = 7.2 Hz), 3.81 (2H_{axial}, m, C-3' y C-5'), 3.65 (2H_{ecuatorial}, m, C-3' y C-5') 3.24 (2H_{axial}, m, C-2' y C-6'), 3.18 (2H_{ecuatorial}, m, C-2' y C-6'), 3.41 (2H, c, C-2''', J = 7.5 Hz), 2.12 (3H, s, CH₃, acetilpiperazinilo), 1.58 (2H, quinteto, CH₂, C-3''', J = 7.5 Hz), 1.5 (3H, t, CH₃, C-2'' J = 7.2 Hz),

1.40 (2H, sexteto, CH₂, C-4''', J = 7.5 Hz), 1.2 (m, grasa disolvente), 0.91 (3H, t, CH₃, C-5''', J = 7.5 Hz).

RMN-¹³C (CDCl₃): δ (ppm) 175.28 (C=O, C-4, quinolona), 169.11 (C=O, acetilamida), 164.99 (C=O, C-1''', amida), 153.13 (d, C-F, C-6, J = 246.20 Hz), 146.63 (CH, C-2, quinolona), 144.62 (C-7, quinolona), 136.34 (C-9, quinolona), 113.08 (d, CH, C-5, J = 23.00), 113.03 (C-10), 111.74 (s, C-3), 104.05 (CH, C-8), 77.47, 77 y 76.53 (CDCl₃), 53.91 (impureza de materia prima), 50.41(CH₂, C-1''), 49.60 (CH₂, anti, C-2'), 49.02 (CH₂, syn, C-6'), 46.10 (CH₂, anti, C-3'), 38.87 (CH₂, syn, C-5'), 41.10 (CH₂, C-2'''), 31.65 (CH₂, C-3'''), 29.55 (impureza de materia prima), 21.15 (CH₃, Acetamida), 20.22 (CH₂, C-4'''), 14.39 (CH₃, C-2''), 13.69 (CH₃, C-5''').

I.R. (KBr, cm⁻¹): 3232 (N-H, amida), 3038 (C-H, aromático), 2958 (CH₃, CH₂), 1652 (C=O, amida N-4'-piperazinilo y amida sustituyente en C-3 de la quinilona), 1620 (C=O, C-4), 1602 (C=C, 2, 3), 1540 y 1490 (N-C=C), 1430 (CH₃, Acetilo), 1372 (CH₃), 1252 (C-F, C-6, quinolona), 752 (CH₂-CH₂, n-butilo).

U. V. λ_{max.} = 283 nm

8. PREPARACIÓN DE CQ-M-APEA 74.

Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4'-(acetil)-1'-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicciclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.

En un matraz bola de tres bocas de 500 ml (al que se le adaptaron una trampa de humedad de cloruro de calcio, un termómetro y un agitador mecánico) se colocaron 100 ml de cloruro de metileno enfriado a 4 °C con baño de hielo y se agregaron 15.4 ml de cloruro de tionilo (0.212 mol, 8.5 eq.). La temperatura de la mezcla se mantuvo entre 0 y 5 °C mientras se agregaban 9.03 g de N-acetilnorfloxacinina 68. Al final de la adición se conservó la mezcla de reacción a una temperatura entre 0-5°C por seis horas. Después de este período se agregaron 100 ml de acetato de etilo anhidro, se agitó la mezcla por 30 minutos más a 4 °C y después se filtró con vacío y se lavó con acetato de etilo seco y frío, se cubrió el sólido con película de polietileno para evitar el contacto con la humedad de la atmósfera, cuando ya estuvo seco el sólido (cloruro de ácido de N-acetilnorfloxacinina 68-1) se transfirió al matraz de reacción inicial, mismo que fue enjuagado con acetato de etilo seco. Se suspendió el sólido en 100 ml de acetato de etilo anhidro, se agitó mecánicamente y el pH se ajustó a 7.0 con 6 ml de trietilamina (por definición el valor no es propiamente de pH).

Por otro lado se preparó una solución de la sal de 7-ACA con trietilamina 5-1 de la siguiente forma: en un matraz Erlen-Meyer de 250 ml se colocaron 50 ml de dimetilformamida y 8 ml de trietilamina, se agitó mecánicamente mientras se agregaban 7.48 g de 7-ACA 5, el matraz se mantuvo en baño de hielo durante la adición. Cuando todo el sólido se hubo disuelto se vertió la solución en un embudo de adición de 125 ml y se agregó con goteo constante a la suspensión del cloruro de ácido de N-acetilnorfloxacinina 68-1 obtenida anteriormente. La adición duró 15 minutos y la mezcla se mantuvo con agitación mecánica a una temperatura de 4 °C durante este tiempo y por dos horas más; después se mantuvo a temperatura ambiente por seis horas más. La mezcla se mantuvo toda la noche en reposo a temperatura ambiente. Al día siguiente se volvió a agitar la mezcla de reacción y se determinó su pH (entre 8.0 -9.0). Se filtró la mezcla de reacción con vacío y se separaron 1.87 g de sólido amarillo y por c.c.f. se observa que se trata de materia prima N-acetilnorfloxacinina 68 y se desecha, sin embargo a las aguas madres del

filtrado se les agregaron 15 ml de agua destilada y se determinó un pH de 8.3. Se separaron las fases y se repitió la extracción con 15 y 10 ml de agua cada vez. Las fases acuosas se juntaron y se les determinó un pH de 7.84; esta fase acuosa se lavó con acetato de etilo y se le agregaron 6 ml de solución de ácido fosfórico (85 % en agua)-metanol, 1:15, v-v, hasta tener un pH de 6.5. Se mantuvo la mezcla en agitación por dos horas a 4 °C. Se filtró la mezcla con vacío y se lavó el sólido con agua destilada, se dejó secar en la estufa con vacío a 40 °C por dos horas obteniéndose 7.68 g 50 % de rendimiento.

CQ-M-APEA 74:

Polvo crema, p. f. 200-218 °C

I.R. (KBr, cm^{-1}): 3465 (N-H, amida, COOH), 3163 (C-H, aromático), 2978 (CH_3 , CH_2), 1780 (C=O, β -lactama), 1732 (C=O, acetilo de 7-ACA), 1660 (C=O, amida entre APE y 7-ACA, junto con la acetilamida), 1626 (C=O, C-4), 1536 y 1488 (N-C=C), 1445 (CH_3 , acetilo, CH_2), 1384 (CH_3), 1250 (C-F, C-6, quinolona; C-O, éster).

U. V. λ_{max} = 280 nm

En el presente trabajo se obtuvieron y caracterizaron espectroscópicamente las siguientes moléculas: ciprofloxacina metilada 66, enrofloxacina 53, norfloxacina etilada 67, norfloxacina acetilada 68, CQ-M-EPCA 69, CQ-M-EPEA 70, CQ-M-EPCT 72, Q-M-APEBu 73 y CQ-M-APEA 74.

Se logró la N-metilación de la ciprofloxacina obteniéndose el producto 66, el cual representa una alternativa en la formación de nuevos antibióticos quedando abierta la depuración del método para su obtención a mayor escala.

Se obtuvo enrofloxacina 53 a partir de ciprofloxacina y yoduro de etilo para su posterior uso en la formación de nuevos productos antibacterianos; con la posibilidad de tener moléculas marcadas isotópicamente. A partir de la enrofloxacina 53, 7-ACA 5 y 7-TACA 71 se sintetizaron los nuevos antibacterianos CQ-M-EPCA 69 y CQ-M-EPCT 72. Estos productos han mostrado ser los de mayor actividad, de los obtenidos en el presente trabajo.

Se llevó a cabo la N-etilación de la norfloxacina para obtener EPE 67 y utilizar este compuesto en la síntesis de la molécula CQ-M-EPEA 70 antibacteriano novedoso cuya actividad es prometedora.

Se obtuvo con éxito el producto norfloxacina acetilada 68. Con 68 se demostró primero la posibilidad de acilación de una amina como la n-butilamina, obteniéndose el producto 73 y posteriormente se utilizó 68 para la formación de CQ-M-APEA 74 para la cual aún se deben realizar estudios de actividad antibacteriana.

Las quinolonas sintetizadas se utilizaron para la formación de nuevos antibióticos denominados como cefaquinolonas ó cefalonas, obteniéndose y caracterizándose los productos CQ-M-EPCA 69, CQ-M-EPEA 70, CQ-M-EPCT 72 y CQ-M-APEA 74. Estos productos contienen una parte de la molécula totalmente sintética, por lo cual el surgimiento de resistencias pudiera ser limitado.

Por último, se continúan los estudios de actividad antibacteriana, farmacocinética, biodisponibilidad y toxicidad, sistemáticamente, para verificar la efectividad de los productos sintetizados.

BIBLIOGRAFÍA

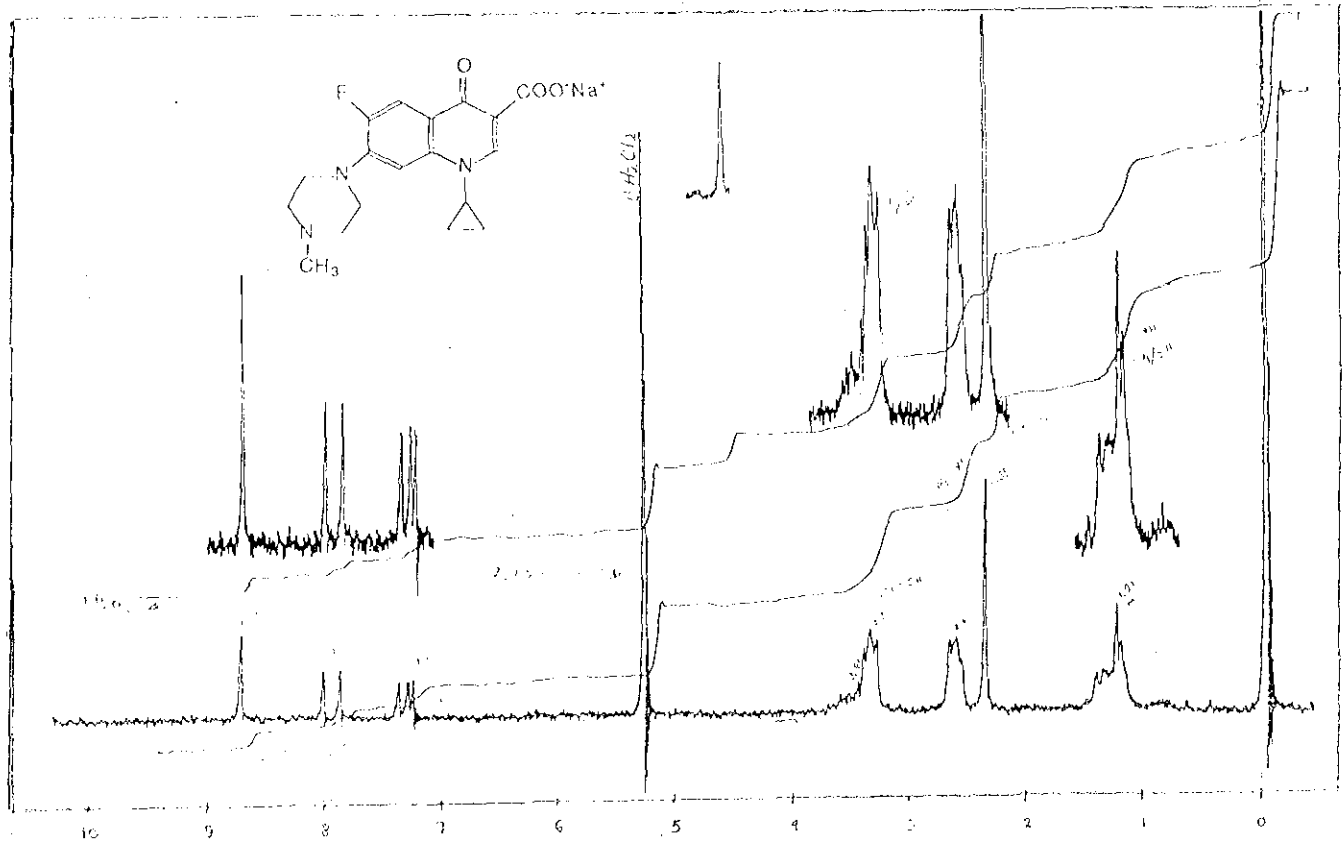
- 1.- Goodman and Gillman "The pharmacological Basis of Therapeutics" octava edición. Pergamon Press. U. S. A., 1991; pp 1018-1023, 1034-1038, 1057-1061, 1065-1068, 1085-1091, 1093.
- 2.- Bowman, W. C. y Rand, M. J. "Farmacología" 2ª edición, Editorial Interamericana. México D. F. 1984; pp. 34.3, 34.30, 34.33.
- 3.- Thomson, T. D. *JAVMA*, **1984**, 185 (10), 1109-1114.
- 4.- Richard Adams, H. "Veterinary Pharmacology and Therapeutics", 7ª edición. Iowa, State University Press., 1998, 778-781.
- 5.- Guillum, J. G. y Polk, R. E. "Focus on cefepime: a fourth generation, extended spectrum cephalosporin". *Hosp. Formul.* **1994**, 29(7), 503-8, 513-14 (C. A. 1994, 121, 221117n).
- 6.- Yakovlev, V. P. y Levshin, I. B. "Cefpirome, a new fourth generation cephalosporin", *Antibiot. Khimioter.* **1996**, 41 (12), 5-6, (C. A. **1997**, 126, 311596a).
- 7.- Beers, M. H. y Berkow, R. M. D. "El manual Merck de diagnóstico y terapéutica". 10ª edición en español. Editorial Harcourt. Madrid, España 1999; pp. 1113-1116, 1125-1126.
- 8.- Hooper, D. C. and Woltson, J. S. "Quinolona antimicrobial agents" 2ª edición, American Society for microbiology. U. S. A., 1993; pp. 1-51.
- 9.- Clifford, S; Heifetz, C. L. y Domagala, J. M. "The new generation of quinolonas" V. 5, U. S. A., 1990; pp. 1-43.
- 10.- Renau, T. E. y Sánchez. J. P. *J. Med. Chem.* **1996**, 39 (3), 729-735.
- 11.- Albrecht, H. A. y Beskid, G. *Chemotherapy*, **1991**, 37, 310-317.
- 12.- Albrecht, H. A. y Beskid, G. *J. Med. Chem.* **1991**, 34 (2), 669-675.
- 13.- Albrecht, H. A. y Beskid, G. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 77-85.

- 14.- Jones, R.N. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1989**, 33, 944-950.
- 15.- Georgopapadakov N. H. y Bertasso, A. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **1993**, 37 (3), 559-565.
- 16.- Demuth, T. P. *J. Antibiot.* **1991**, 44, 200-209.
- 17.- Chen, Q. P. Duan, T. A. *Yaoxua Xuebao* **1989**, 24 (9), 659-667 (ch.) (C. A. **1990**, 112, 178414g).
- 18.- Randal, J. L. PCT Int. Appl. WO 9604, 247 (C. A. 1996, 129, 33384f).
- 19.- Corpi, C. M. A. y Azuara, S. J. PCT Int. Appl. WO 9720, 849. *Solicitud de Patente Mexicana* (C. A. 1997, 127, 65643x).
- 20.- Corpi, C. M. A. PCT Int. Appl. WO 9523, 153 *Solicitud de Patente Mexicana* (C. A. 1996, 124, 8504s).
- 21.- Macouzet, G. S. "Farmacocinética sérica y residuos en vacas lecheras con una nueva molécula de la familia de las cefaquinolonas (CQMEPCA)" Tesis, División de Estudios de Posgrado e investigación, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, **1999**.
- 22.- Breitmaier, E. y Voelter, W. "Carbon-13-NMR Spectroscopy High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry", 3ª edición, VCH Verlagsgesellschaft mbH. República Federal de Alemania, 1990, pp. 215-232.
- 23.- Kalinowski, H. O. Y Berger, S. "Carbon-13-NMR Spectroscopy", John Wiley and Sons, 1ª edición. Gran Bretaña, Inglaterra, 1988, pp. 190-219
- 24.- Pretsch, E.; Seibl, J. y otros. "Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos". Editorial Alhambra, 2ª edición. España, 1985, pp C90, C250,-C265.
- 25.- Pihlaja, K. y Kleinpeter, E. "Carbon-13 NMR Chemical Shifts in Structural and Stereochemical Analysis" VCH Verlagsgesellschaft mbH. U. S. A. 1994, pp. 312.

7-ACA.	Ácido 7-amino cefalosporánico.
7-ADCA.	Ácido 7-amino-3-desacetoxicefalosporánico.
7-TACA.	Ácido 7-amino-3-[[1H-1,2,3-triazol-5-il)-tio]metil]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.
AcOEt.	Acetato de etilo.
ADN.	Ácido desoxirribonucleico.
APE.	Norfloxacin Acetilada. Ácido 1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-(acetil)-1-piperazinil)-3-quinolincarboxílico.
Aprox.	aproximadamente.
c. c. f.	Cromatografía en capa fina.
c.	cuartete.
CQ-M-APEA.	Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-[4-(acetil)-1-piperazinil]-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.
CQ-M-EPCA.	Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-ciclopropil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-(etil)-1-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.
CQ-M-EPCT.	Ácido 7-[(1-ciclopropil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-(etil)-1-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-5-tio-3-[[1H-1,2,3-triazol-5-il)metil]-(6R-trans)-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.
CQ-M-EPEA.	Ácido 3-[(acetiloxi)metil]-7-[(1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-(etil)-1-piperazinil)-3-quinolin)-3-il-carboxamida]-8-oxo-(6R-trans)-5-tio-1-azobicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxílico.
đ.	doblete.
dd	doble de dobles.
DEPT.	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.
desc.	descomponer.
DMF.	Dimetilformamida.
<i>E. coli.</i>	<i>Escherichia coli.</i>
E. M.	Espectrometría de Masas.
Enro.	Enrofloxacin.
EPE.	Etilnorfloxacin. Ácido 1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-[4-(etil)-1-piperazinil]-3-quinolincarboxílico.
eq.	equivalente.
E. U. A.	Estados Unidos de Norteamérica.

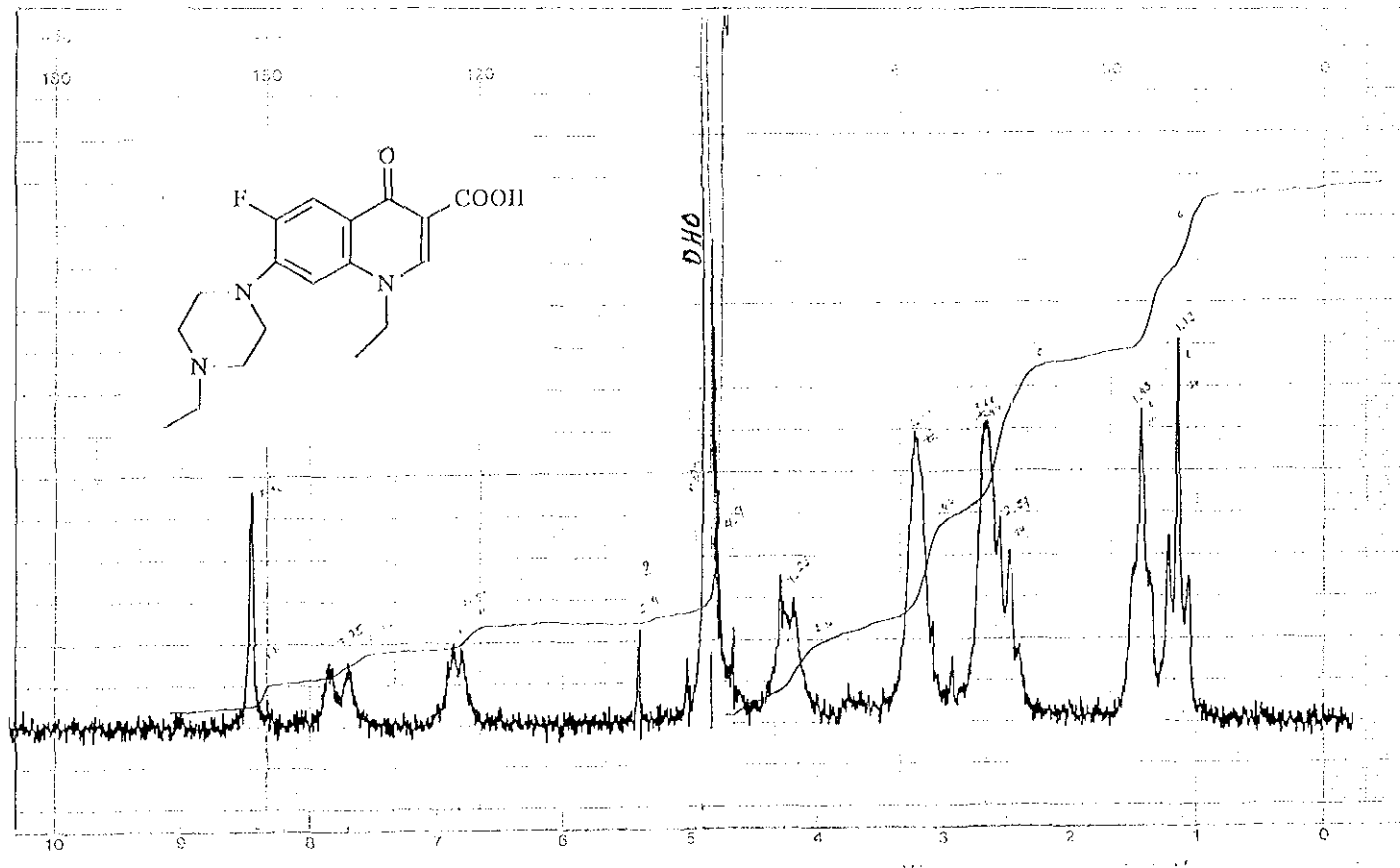
FAB ⁺	Fast Atom Bombardment.
g.	gramo.
HPLC.	High Performance Liquid Chromatography.
hrs.	horas.
Hz.	Hertz.
IR.	Infrarrojo.
Kg.	Kilogramo.
m.	masa.
m	múltiple.
MCI.	<i>Mínima concentración inhibitoria.</i>
MeOH.	Metanol.
mg.	miligramo.
MIC.	Minimum inhibitory concentration.
ml.	mililitro.
nm.	nanómetro.
P. M.	Peso molecular.
<i>P. mirabilis.</i>	<i>Proteus mirabilis.</i>
p.f.	punto de fusión.
ppm.	partes por millón.
Q-M-APFB::	n-Butil-[(1-etil-6-flúor-1,4-dihidro-4-oxo-7-(4-(acetil)-1-piperazinil)-3-il-3-carboxamida.
RMN- ¹³ C.	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece.
RMN- ¹ H.	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
s.	singulete
<i>S. aureus.</i>	<i>Staphylococcus aureus.</i>
Sustit.	Sustituyente.
T. A.	Temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).
t.	triplete.
TEA.	Trietilamina.
ter-Bu.	Terbutilo.
U.V.	Ultravioleta.
v.	volumen.
z.	carga.
λ_{max}	Longitud de onda máxima.

END OF SWEEP



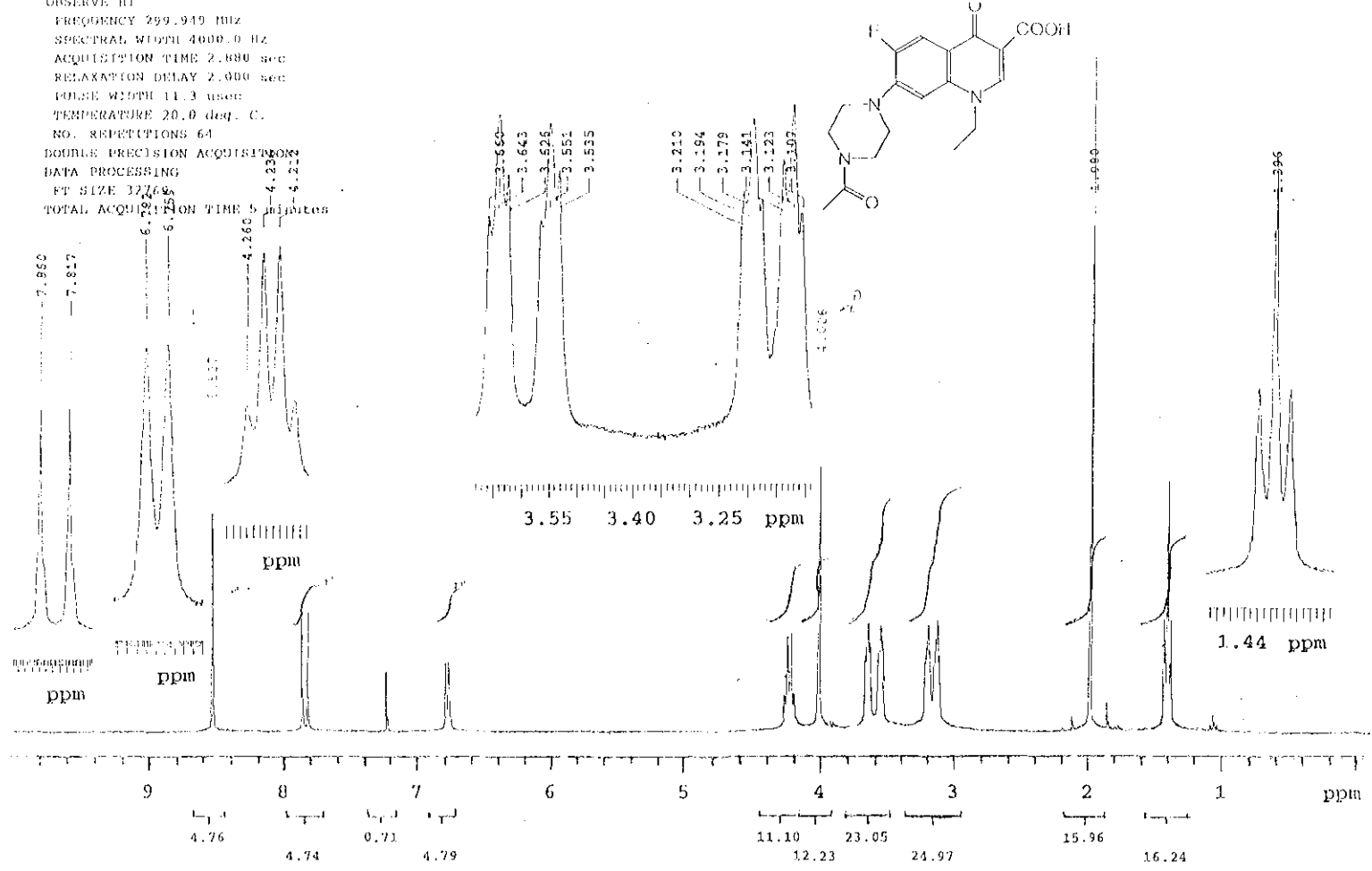
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

Espectro No. 1. Ciprofloxacina metilada 66. (90 MHz), $CDCl_3$



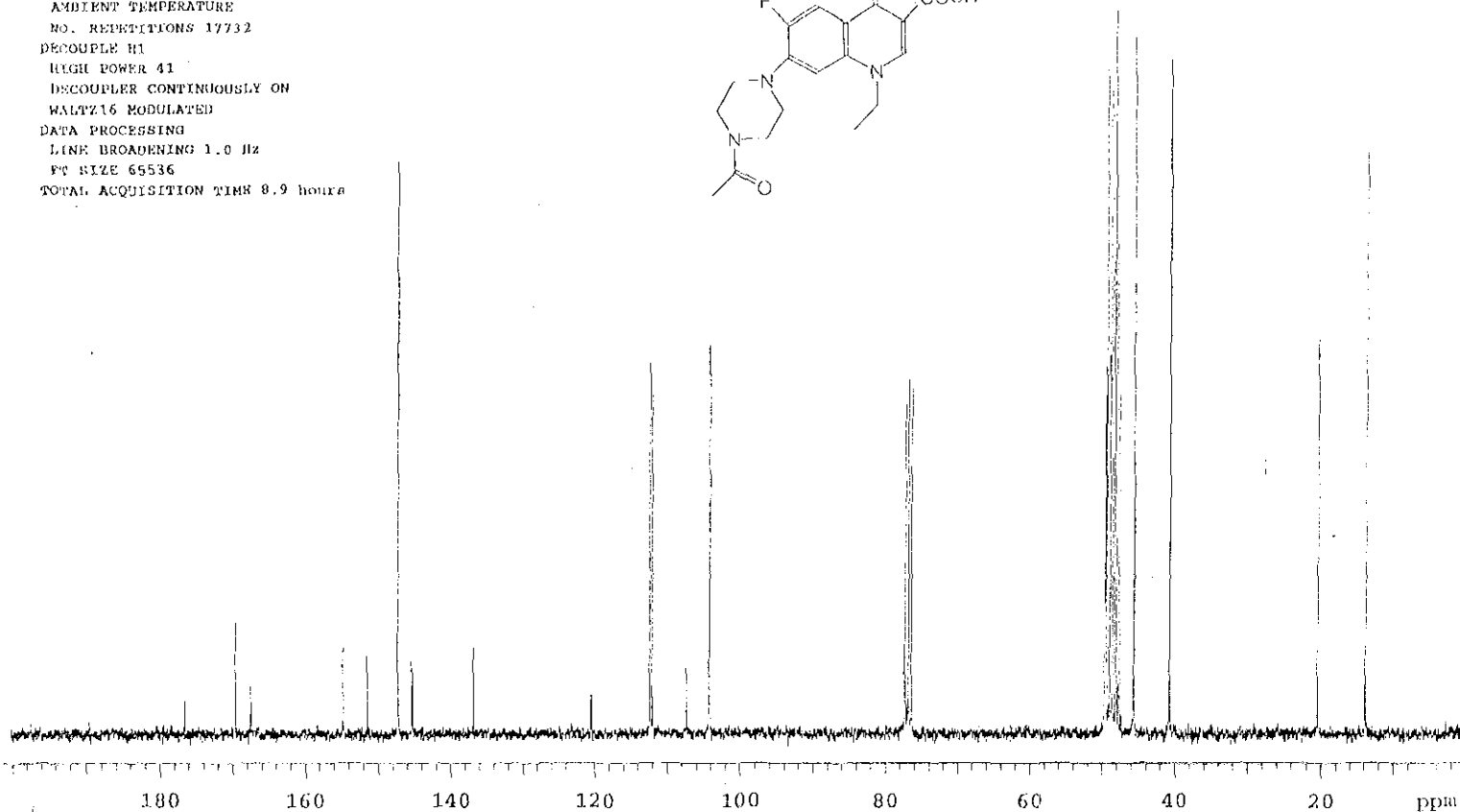
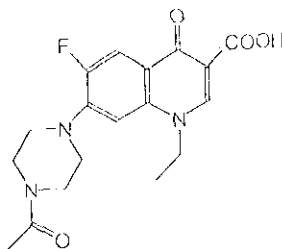
Espectro No. 3. Norfloxacin citada 67. (90 MHz). D₂O y Na₂CO₃

OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.949 MHz
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 2.680 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 PULSE WIDTH 11.3 usec
 TEMPERATURE 20.0 deg. C.
 NO. REPEATS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 5 minutes



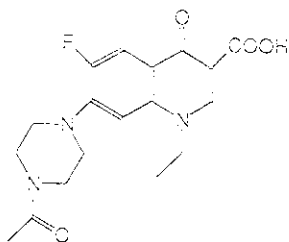
Espectro No. 4, Norfloxacin acetilada 68, (300 MHz), CD₃OD y CDCl₃

OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 16501.7 Hz
ACQUISITION TIME 1.815 sec
RELAXATION DELAY 0.000 sec
PULSE WIDTH 14.2 usec
AMBIENT TEMPERATURE
NO. REPETITIONS 17732
DECOUPLE H1
HIGH POWER 41
DECOUPLER CONTINUOUSLY ON
WALTZ16 MODULATED
DATA PROCESSING
LINE BROADENING 1.0 Hz
FT SIZE 65536
TOTAL ACQUISITION TIME 8.9 hours



Espectro No. 5. Norfloxacin acetilada 68. (75 MHz), CD₃OD y CDCl₃

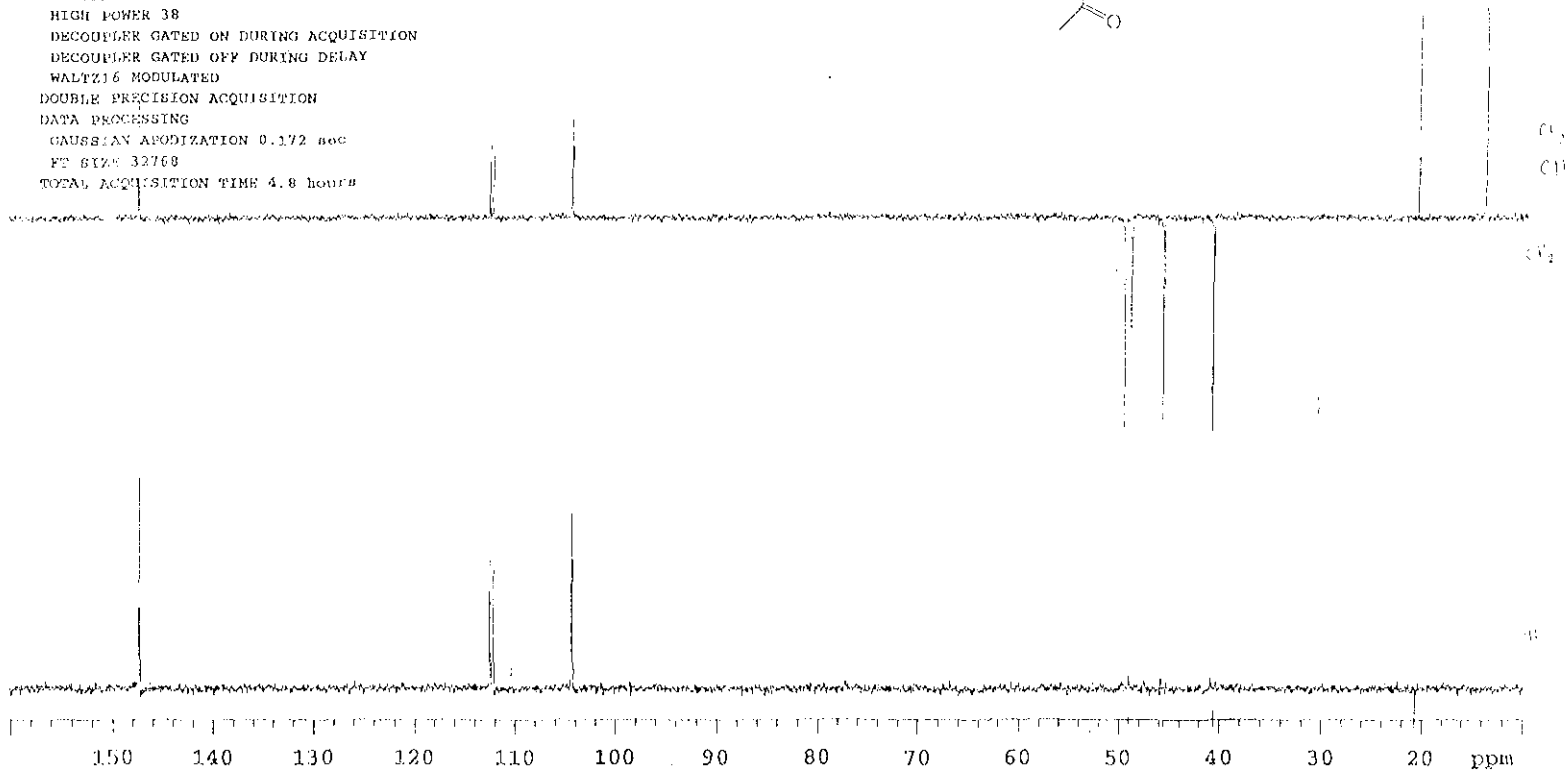
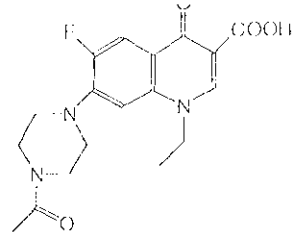
freq ppm	intensity
176.728	5.74864
169.811	19.6202
167.674	8.43958
154.942	15.2507
151.604	13.7747
147.391	98.5706
145.515	12.863
145.375	11.5219
136.969	15.2352
120.658	7.16182
120.551	6.85065
112.519	63.8989
112.212	62.3217
107.505	11.5986
104.407	66.8746
104.367	63.4198
77.4273	56.6758
77	61.1676
76.5727	59.8243
49.753	58.3098
49.6796	62.9047
49.5995	114.554
49.3124	19.5795
49.0854	64.9296
49.0319	111.427
48.7449	107.443
48.4578	124
48.1774	105.879
47.8903	58.4507
47.6032	18.4482
46.8272	119.996
40.9199	116.075
20.6433	67.9356
14.0535	100.729



Espectro No. 5. Norfloxacin acetilada; 68. (75 MHz), CD₃OD y CDCl₃

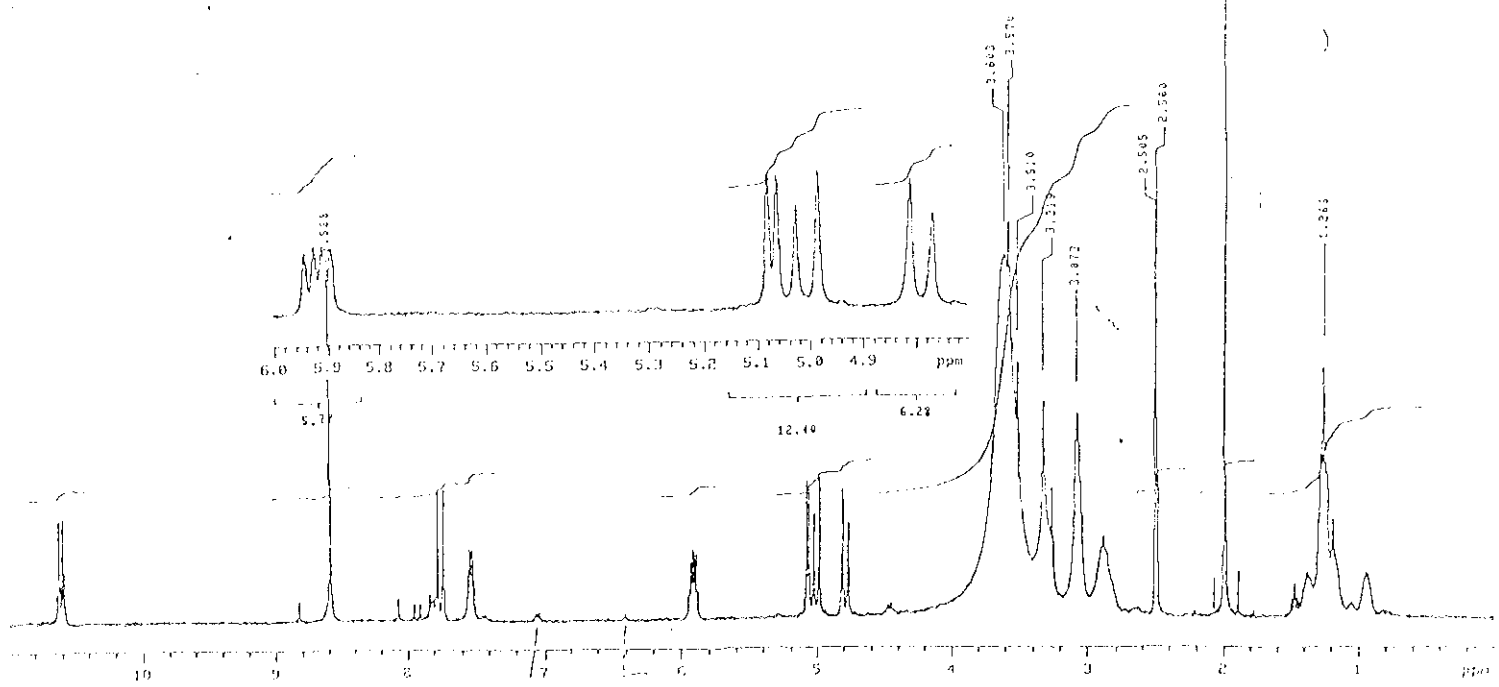
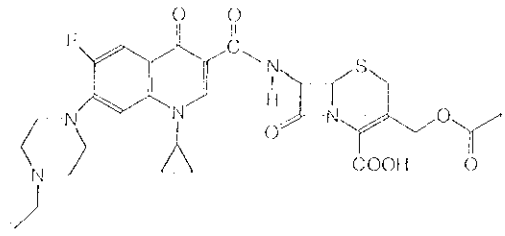
PULSE SEQUENCE dept
OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 18001.8 Hz
ACQUISITION TIME 0.400 sec
RELAXATION DELAY 1.500 sec
PULSE WIDTH 8.0 usec
TEMPERATURE 20.0 deg. C.
NO. REPETITIONS 4560

DECOUPLE H1
HIGH POWER 38
DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
WALTZ16 MODULATED
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
GAUSSIAN APODIZATION 0.172 sec
F2 SIZE 32768
TOTAL ACQUISITION TIME 4.8 hour#



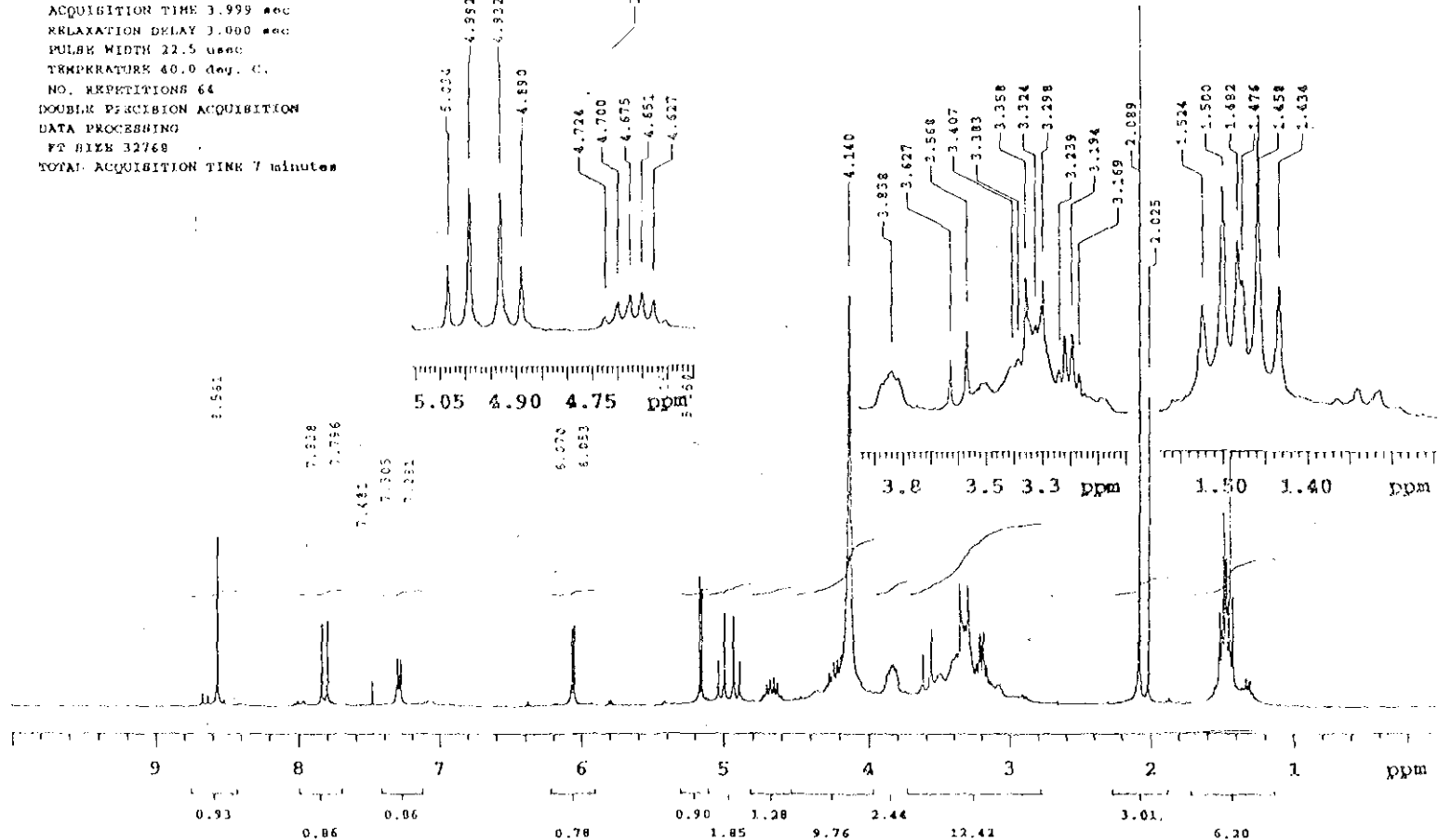
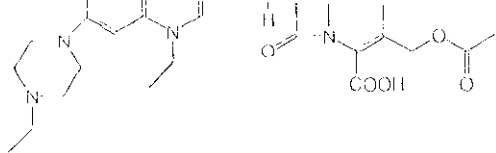
Espectro No. 6. Norfloxacin acetilada 68. (75 MHz, DEPT). CD₃OD y CDCl₃

NO. REPEATITIONS 123
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 12 minutes



Espectro No. 7. CQ-M-EPCA 69. (300 MHz). DMSO-d₆ y CDCl₃

EPEA
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.950 MHz
 SPECTRAL WIDTH 4088.7 Hz
 ACQUISITION TIME 3.999 sec
 RELAXATION DELAY 3.000 sec
 PULSE WIDTH 22.5 usec
 TEMPERATURE 40.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 7 minutes

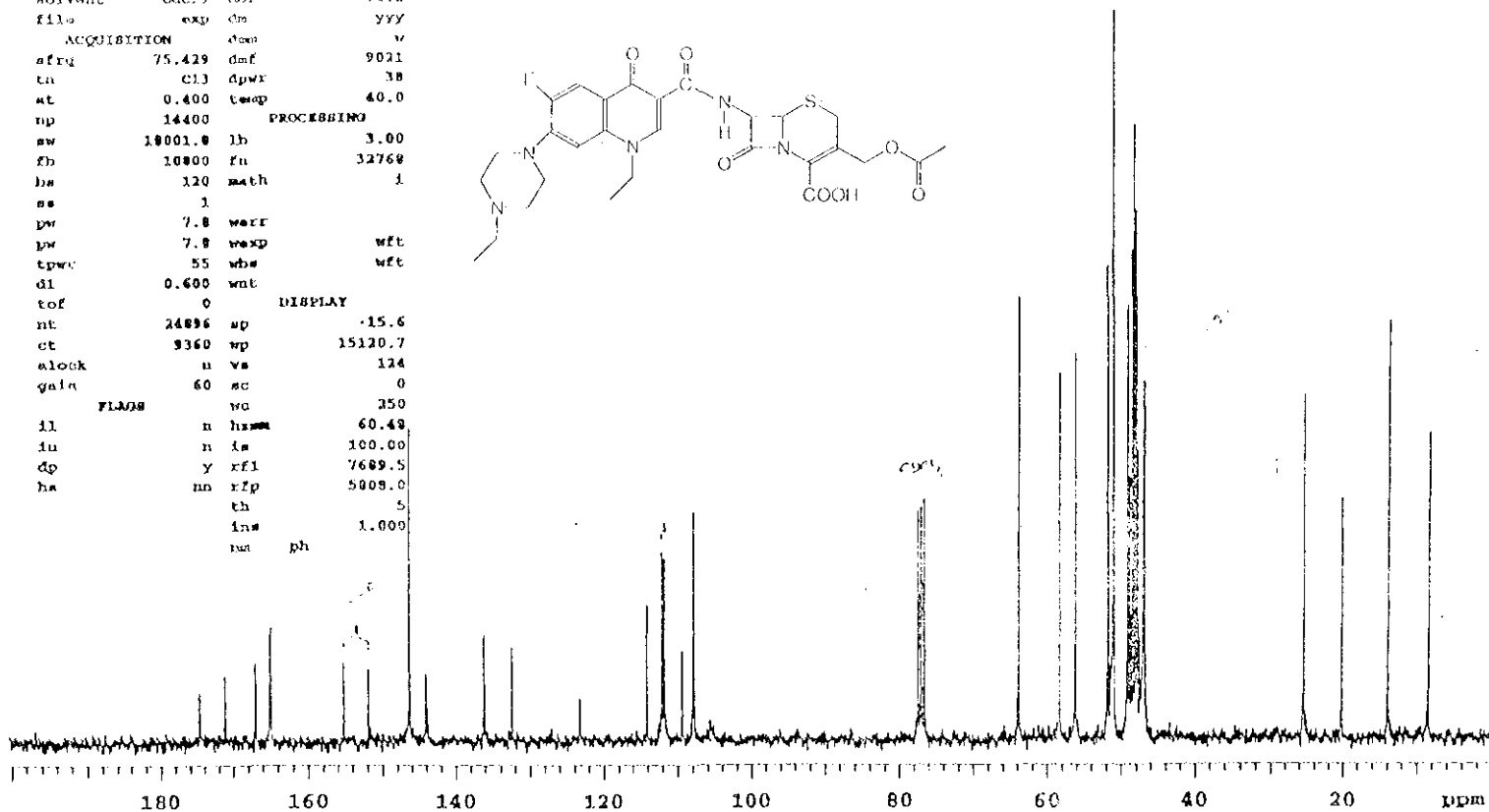
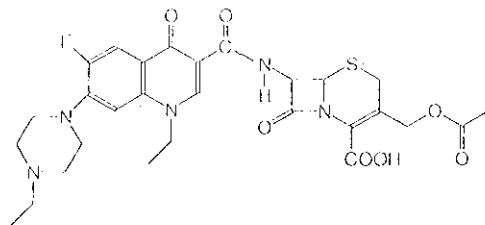


Spectro No. 8. CQ-M-EPEA 70. (300 MHz). CD₃OD y CDCl₃

RPEA

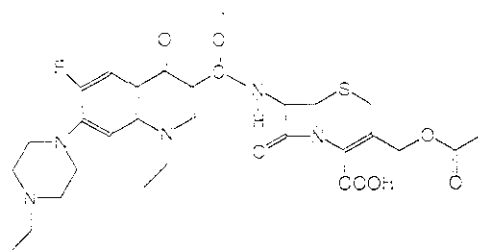
exp3 pulse sequence: s2pul

SAMPLE		OKC. & VT	
date	Oct 4 96	dn	H1
solvent	cdcl3	dof	-74.3
file	exp	dm	yyy
ACQUISITION		conv	
afreq	75.429	dmf	9021
ca	0.13	dpwr	30
at	0.400	temp	40.0
ap	14400	PROCESSING	
aw	10001.0	lb	3.00
fb	10000	fu	32768
ba	120	math	1
sa	1		
pw	7.0	warr	
pw	7.0	wexp	wft
tpwr	55	wba	wft
dl	0.600	wat	
tof	0	DISPLAY	
nt	24896	up	-15.6
ct	9360	wp	15120.7
clock		u	vs
gain	60	sc	0
FLAGS		wa	350
il	n	hsm	60.49
iu	n	is	100.00
dp	y	rfl	7689.5
ha	nn	rzp	5009.0
		th	5
		ins	1.000
		na	ph



Espectro No. 9. CQ-M-EPEA 70. (75 MHz). CD₃OD y CDCl₃

freq ppm	intensity
174.544	7.57017
170.989	10.4419
166.881	12.2459
164.9	18.5334
135.067	12.4821
151.76	11.6207
146.312	52.8653
144.01	10.5963
143.865	9.28945
136.042	17.2308
132.356	15.0675
123.223	6.36454
113.987	22.3653
111.962	31.4954
111.656	30.3227
109.252	14.446
107.81	38.304
77.437	38.4588
77	39.03
76.5775	40.3827
63.8602	74.7654
58.3682	61.9663
56.154	65.1822
51.7692	80.2577
51.3322	13.3512
51.0117	124
49.1179	73.5547
48.812	44.4104
48.5352	82.8138
48.2439	104.15
47.9671	89.6299
47.6757	48.9015
47.3844	16.6433
46.9182	60.7235
25.4312	58.2128
20.1141	40.4672
13.8647	70.6933
8.47474	51.903

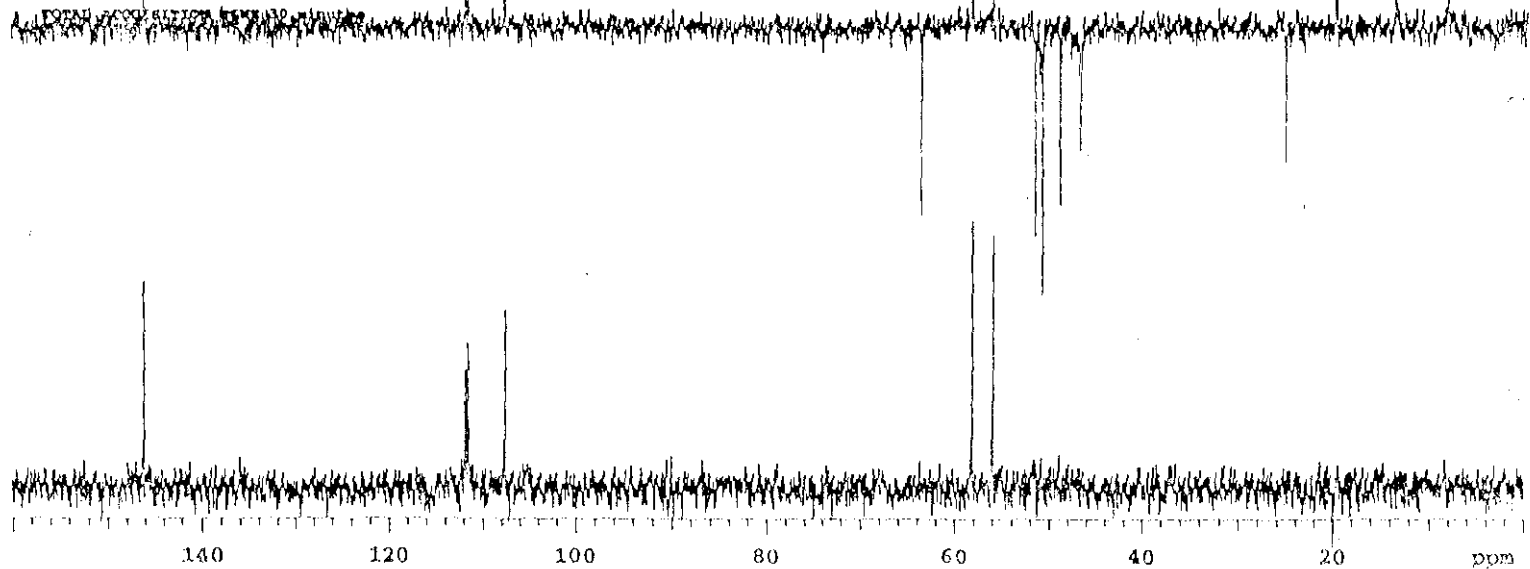
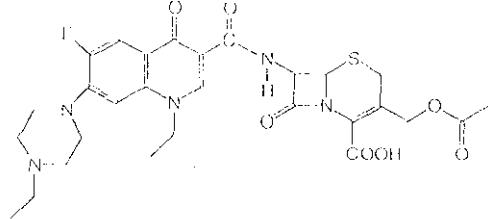


Espectro No. 9. CQ-M-EPEA 70. (75 MHz). CD₃OD y CDCl₃

Index	freq ppm	intensity
15	8.422995	32.9506
14	13.807	36.7116
13	20.0505	28.8617
12	25.3682	-22.7801
11	46.8644	-20.7941
10	49.0603	-30.0935
9	50.9476	-45
8	51.7073	-35.4525
7	56.0991	21.5957
6	58.3069	24.579
5	63.7908	-31.8977
4	107.697	16.1984
3	111.591	9.62143
2	111.899	11.9933
1	146.262	18.0841

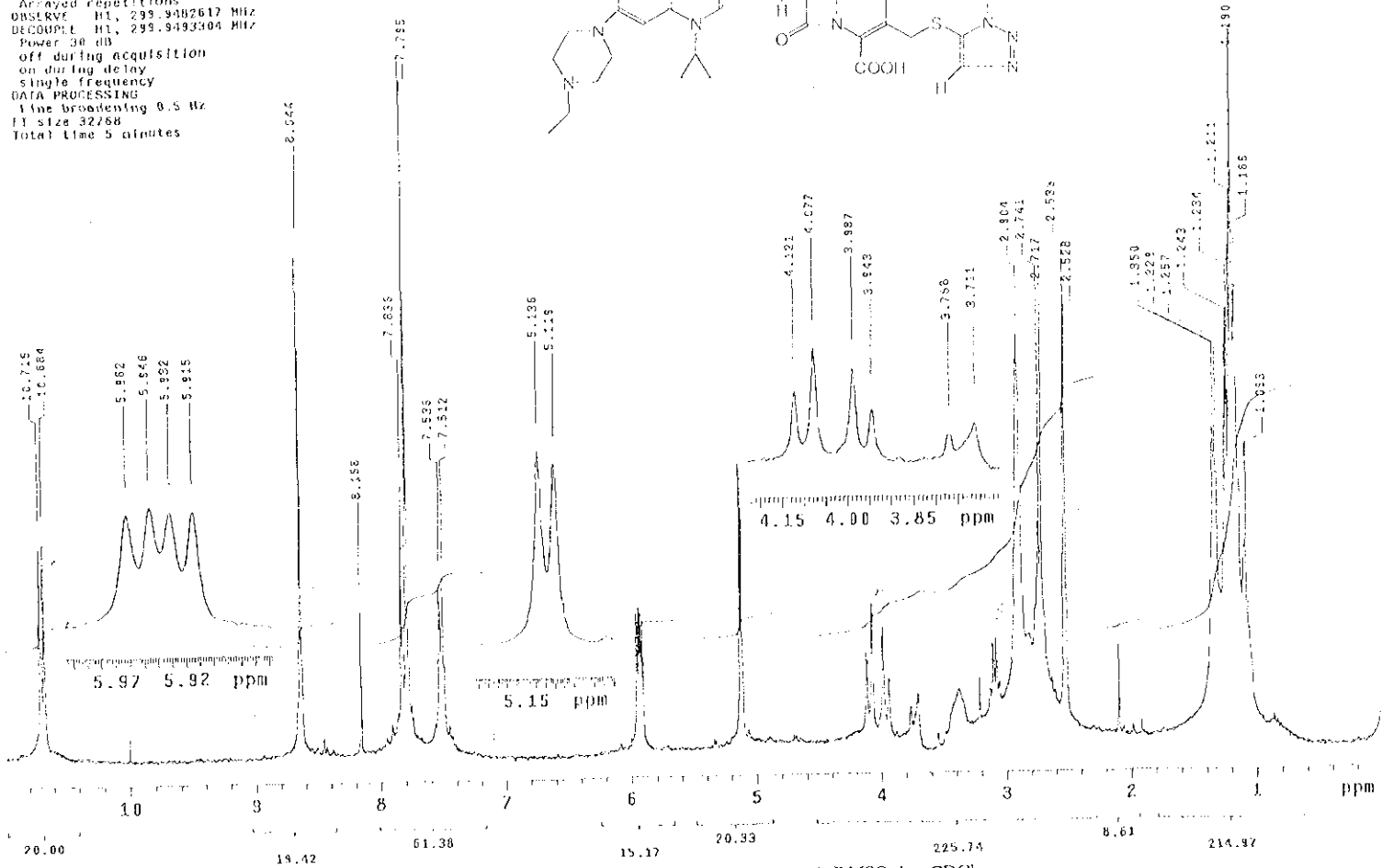
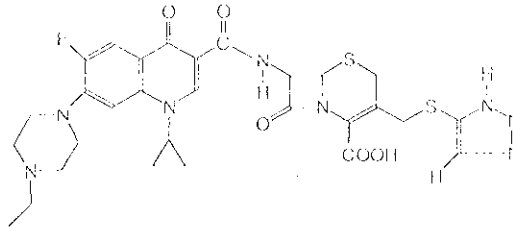
CPMA
PULSE SEQUENCE dept
OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 14668.1 Hz
ACQUISITION TIME 0.604 sec
RELAXATION DELAY 2.000 sec
PULSE WIDTH 7.8 usec
TEMPERATURE 40.0 deg. C.
NO. REPEATITIONS 352

DECOUPLE H1
HIGH POWER 3B
DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
WALTZ16 MODULATED
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
LINE BROADENING 0.9 Hz
GAUSSIAN APODIZATION 0.154 sec
FT SIZE 32768



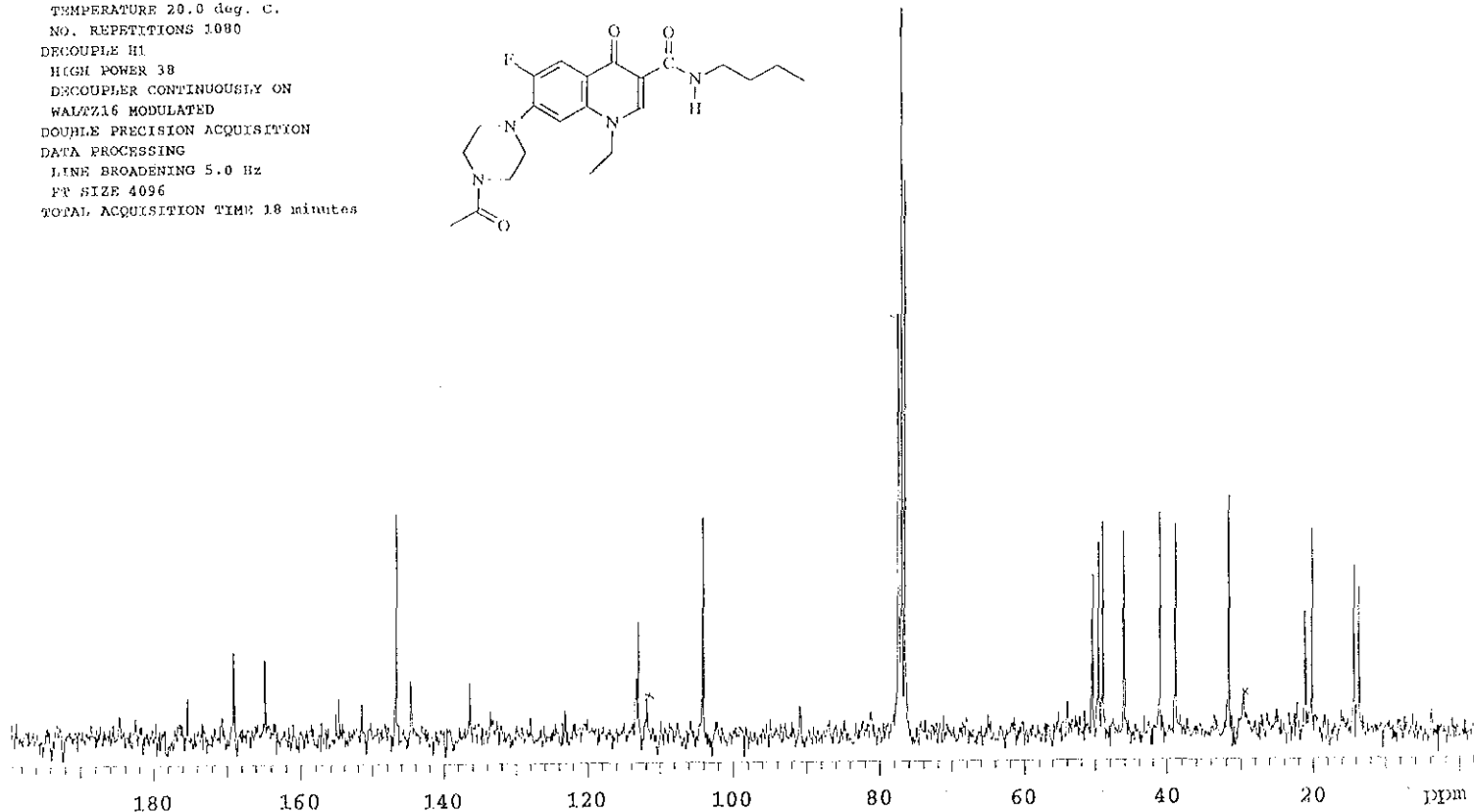
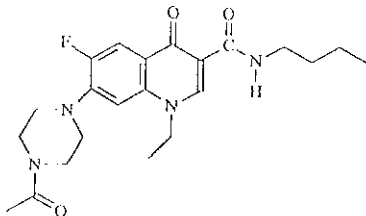
Espectro No. 10. CQ-M-EPTA 70, (75 MHz, DEPT), CD₃OD y CDCl₃

Relax. delay arrayed
 1st pulse arrayed
 2nd pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.020 sec.
 Width 4000.0 Hz
 Arrayed repetitions
 OBSRV: H1, 295.9482617 MHz
 DECPMT: H1, 295.9493304 MHz
 Power 30 dB
 off during acquisition
 on during delay
 single frequency
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.5 Hz
 FI size 32768
 Total time 5 minutes



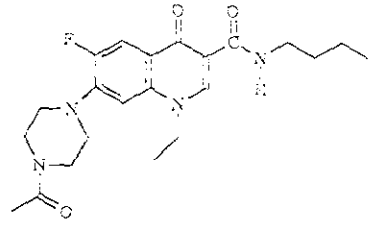
Espectro No. 11. CQ-M-EPCT 72. (300 MHz). DMSO-d₆ y CDCl₃

Elizabeth 16-1-98 AA
OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 18001.8 Hz
ACQUISITION TIME 0.400 sec
RELAXATION DELAY 0.600 sec
PULSE WIDTH 2.7 usec
TEMPERATURE 20.0 deg. C.
No. REPETITIONS 1080
DECOUPLE H1
HIGH POWER 38
DECOUPLER CONTINUOUSLY ON
WALTZ16 MODULATED
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
LINE BROADENING 5.0 Hz
FT SIZE 4096
TOTAL ACQUISITION TIME 18 minutes



Espectro No. 13. Q-M-APEBu 73. (75 MHz). CDCl₃

ppm	intensity
.285	6.34654
.106	14.175
.908	12.9075
1.765	6.17692
1.501	5.19705
16.72	37.5835
4.622	9.14627
6.344	8.6875
3.376	9.3349
3.026	18.9493
1.744	5.79866
14.049	36.5504
7.4664	71.4146
77	124
5.5336	94.4716
3.9153	4.78727
0.4176	26.4756
9.6015	32.0965
9.0185	35.5148
6.1038	33.8797
1.0905	37.1205
18.8753	35.049
11.6467	39.8637
29.5481	5.79799
21.1537	20.0048
20.221	34.1771
14.3915	27.6216
13.692	23.876



Espectro No. 13. Q-M-APEBu 7A. (75 MHz). CDCl₃

Index	Freq ppm	Intensity
1	146.635	23.6551
2	113.231	13.514
3	112.926	13.2066
4	103.967	24.1794
5	54.4081	-5.39557
6	50.4166	-20.51
7	49.5426	-26.3297
8	48.989	-36.8552
9	46.0609	-33.6479
10	41.0352	-33.0385
11	38.8501	-43.75
12	31.5955	-29.6293
13	21.1506	37.0915
14	20.1746	-26.4269
15	14.3185	38.3486
16	13.6921	23.2805

OBSERVE C13

FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 18001.8 Hz
ACQUISITION TIME 0.400 sec
RELAXATION DELAY 1.500 sec
PULSE WIDTH 8.0 usec
TEMPERATURE 20.0 deg. C.
NO. REPETITIONS 176

DECOUPLE H1

HIGH POWER 38
DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
WALTZ16 MODULATED

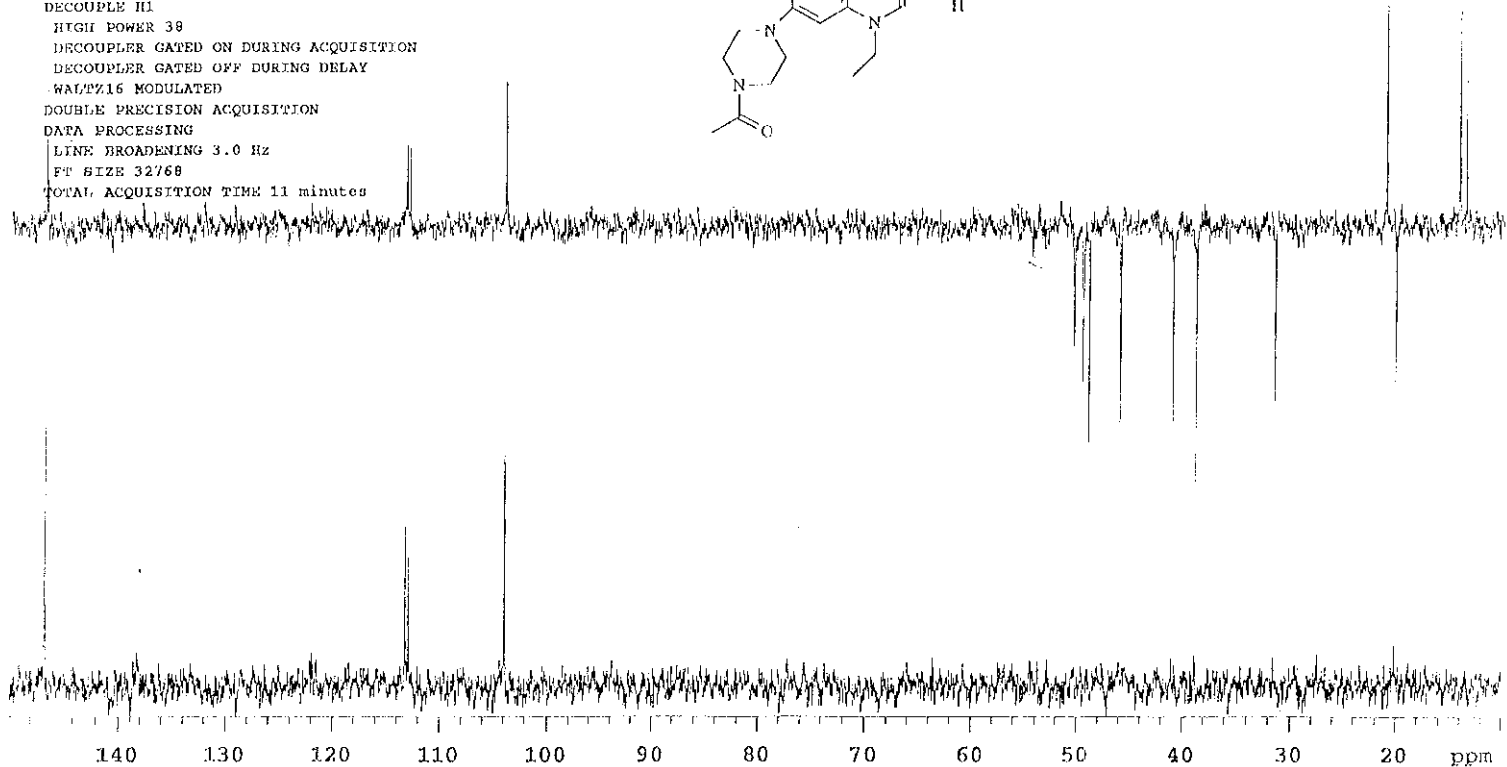
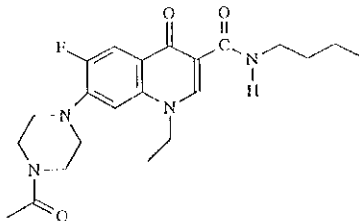
DOUBLE PRECISION ACQUISITION

DATA PROCESSING

LINE BROADENING 3.0 Hz

FT SIZE 32768

TOTAL ACQUISITION TIME 11 minutes



Spectro No. 14. Q-M-APEBu 73. (75 MHz, DEPT). CDCl₃