



259767

9767

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

de

PATENTE DE INVENCION

formulada el 20 de Julio de 1960, con el núm. 259.767.

en

ESPAÑA

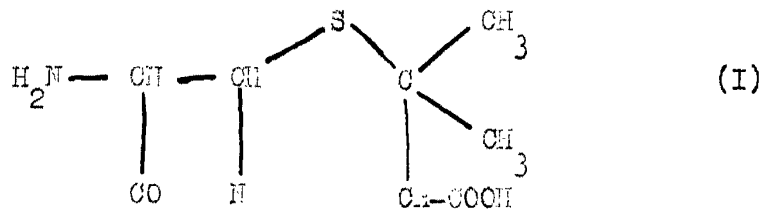
por VEINTIS años

a nombre de LØVENS KEMISKE FABRIK VED A. KONGSLEED, entidad danesa, establecida en 11, Ballerup Byvej, Ballerup, Dinamarca, por:

"UN METODO PARA LA PRODUCCION DE PENICILINAS"

Todas las penicilinas pueden considerarse como --  
acilderivados de ácido 6-amino-penicilánico, que tiene --  
la fórmula:

5



Este invento se refiere a un método para producir nuevas penicilinas que son productos de acilación de ácido 6-amino-penicilánico con ácidos aminocarboxílicos que están

10



259707



benzónico. Sin embargo, la reacción se realiza de modo más conveniente cuando se usa un anhídrido de ácido mixto de un ácido de la fórmula (III) con un monoéster de ácido carbónico, por ejemplo el éster etílico.

5            Cuando en la fórmula (III)  $R_2$  y  $R_3$  son hidrógeno, la fórmula representa un grupo de ácidos  $\alpha$ -aminocarboxílicos acilados, por ejemplo con  $n = 3$ , ácidos  $\gamma$ -acilaminobutíricos. Cuando en dicha fórmula  $n$  es 0 y  $R_2$  es hidrógeno, la fórmula representa acil derivados de un cierto número de ácidos alfa-aminocarboxílicos que se encuentran en las proteínas tales como alanina, leucina, lisina, asparaguina, glutamina y triptofano. Cuando  $n$  es 1 y  $R_2$  es hidrógeno, la fórmula representa beta-alaninas aciladas. Además, cuando  $n$  es 0,  $R_2$  es metilo y  $R_3$  es hidrógeno, la fórmula representa acilsarcosinas. Finalmente, cuando  $n$  es C,  $R_2$  y  $R_3$  son hidrógeno, y  $R_1$  es un grupo glicilo acilado o un grupo acil-glicil-glicilo, la fórmula representa acil-glicil-glicinas o acil-glicil-glicil-glicinas, respectivamente.

10

15

20            Las penicilinas producidas por el método del invento son capaces de ejercer efectos bacteriostáticos intensos contra bacterias patógenas.

          El ácido 6-amino-penicilánico puede producirse según se describe en "Nature", vol. 183 (1959), pág. 257, o según se describe en la Memoria descriptiva completa depositada en relación con las solicitudes de patentes británicas Nos. 15.605/1959, 21.195/1959, 28.080/1959 y 1.445/1960. El ácido aminocarboxílico acilado que se emplea para la acilación de ácido 6-amino-penicilánico en el método del invento puede producirse por los métodos -

25

30



25975

de acilación conocidos, por ejemplo, acilando el ácido - amino-carboxílico con el cloruro de acilo en cuestión. Por este método se obtuvo de la manera siguiente N-fenoxiacetil-D,L-prolina:

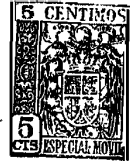
5 se disolvieron 2,3 gr. de D,L-prolina en 20 ml. de NaOH acuosa fría F, y sobre la solución se añadieron gota a gota, mientras se agitaba y se enfriaba con hielo, 3,74-gr. de cloruro de fenoxiacetilo junto con NaOH acuosa F, a tal velocidad que la mezcla permanecía ligeramente alcalina durante la adición. Posteriormente, la mezcla se acidificó a pH = 1,5 por adición de ácido clorhídrico. De este modo, el producto de acilación se separó como un aceite que cristalizó en presencia de la fase acuosa ras-  
cando la pared de la vasija con una espátula. Los cristales se filtraron y se recrystalizaron de agua. De este modo se obtuvieron 3,2 gr. de la sustancia deseada con punto de fusión 134-136°C.

#### Ejemplo 1

#### Sal potásica de N-fenoxiacetilaminometil-penicilina.

20 Se disolvieron en 10 ml. de tetrahidrofurano 927 - mg. de fenoxiacetilglicina y 0,42 ml. de trietilamina. La solución se enfrió a -10°C., después de lo cual se añadieron 0,3 ml. de clorocarbonato de etilo, gota a gota, mientras se agitaba. Después de mantener la suspensión durante 10 minutos a -10°C., se enfrió a -30°C., y de este modo el hidrocloreuro de trietilamina así cristalizado, se separó por filtración. Sobre 3,5 ml. del filtrado, se añadió una solución de 254 mg. de 6-amino-penicilinato potásico en 3 ml. de agua, se ajustó el pH de la solución a 7 añadiendo una solución diluída de hi-

259767



dróxido potásico, y la mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente mientras se agitaba hasta que se había alcanzado una temperatura de + 15° C., después de lo cual se mantuvo durante 1 hora a temperatura ambiente, mientras se agitaba. Posteriormente, se añadieron 12 ml. de butanol normal y la mezcla resultante se concentró por destilación in vacuo. Después de haber separado por destilación el tetrahidrofurano y el agua, se separaron 290 mg. de la sal potásica de fenoxiacetilamino metil-penicilina, cristalina, bruta. Se separó la sal por filtración y se recristalizó de metanol/éter. Se obtuvieron así 220 mg. de dicha sal con un grado de pureza de 95%.

Ejemplo 2

Sel potásica de N-fenoxiacetil-2-pirrolidil-penicilina

Se suspendieron 275 mg. de fenoxiacetil-D,L-prolina en 5 ml. de tetrahidrofurano anhidro, se añadieron 0,155 ml. de trietilamina, y la mezcla se enfrió a -5° C. Posteriormente, se añadieron 0,11 ml. de clorocarbonato de etilo, gota a gota, con agitación, en el curso de 10 minutos. Después de enfriar a -30° C., se separó por filtración el hidrocloreuro de trietilamina, se añadió al filtrado una solución de 254 mg. de la sal potásica de ácido 6-amino-penicilánico en 3 ml. de agua, y la mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 90 minutos. Posteriormente, se añadieron 20 ml. de butanol normal, y la solución se concentró hasta un volumen de 1,5 ml. por evaporación in vacuo. Por adición de éter, precipitó de la solución concentrada la sal potásica amorfa de la penicilina desecada. Esta sal se filtró, se lavó --



259767

con éter y se secó. Se obtuvieron así 450 mg. de la sal con un grado de pureza de 94,5%. La velocidad de descomposición de esta penicilina por penicilinasas es solamente 20% de la bencil-penicilina.

5 Por el método descrito en los dos ejemplos, se produjeron otras 52 penicilinas, y se determinó por diluciones en serie la actividad bacteriostática de la totalidad de las 54 penicilinas frente a (I) *Staphylococcus aureus* (una cepa que no produce penicilinasas), (II) *Bacillus subtilis*, y (III) *Klebsiella pneumoniae*. En la tabla siguiente se indican estas actividades en las columnas I, II y III, expresadas como el logaritmo negativo de la concentración de la penicilina que produce 50% de inhibición del crecimiento. En la columna IV se indica la resistencia frente a la actividad de descomposición de penicilinasas (de *Bacillus cereus*) expresada como la proporción  $a : b$ , donde  $a$  es la velocidad a que se descompone la nueva penicilina, y  $b$  es la velocidad a que se descompone la bencilpenicilina.

10

15

No.	Penicilina	I	II	III	IV
1	Acetilaminometil-penicilina	6.3	7.3	5.2	1.10
2	Benzoilaminometil-pen.	6.9		4.7	0.83
3	Fenoxiacetilaminometil-pen.	7.3	6.9	4.4	0.96
4	N-(p-clorofenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.3	7.3	4	1.10
5	N-(o-clorofenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.4	7.3	4.2	1.00
6	Cloroacetilaminometil-pen.	5.9	6.3	4.4	1.15
7	N-(p-metoxifenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.3	6.8	4.7	1.70

20

25

30

259767



No.	Penicilina	I	II	III	IV
	8 N-(m-clorofenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.3	6.8	5.0	1.20
	9 n-butirilaminometil-pen.	6.8	7.6	5.0	0.68
5	10 N-(p-nitrofenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.8	7.8		1.10
	11 N-( $\alpha$ -fenoxi-iso-butiril)-aminometil-pen.	6.9	6.8	4	0.80
	12 Arimetilacetil-aminometil-pen.	6.8	6.8	4.5	0.66
10	13 N-( $\alpha$ -fenil-iso-butiril)-aminometil-pen.	6.8	6.3	4	0.77
	14 N-(2,6-dimetil-fenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.0	6.8	4.0	0.73
	15 N-(2,4-dicloro-fenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.4	7.3	4.2	1.00
15	16 N-(m-nitrofenoxiacetil)-aminometil-pen.	6.9	6.8	4.5	1.10
	17 N-(o-nitrofenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.0	7.1		1.15
20	18 N-(m-trifluorometil-fenoxiacetil)-aminometil-pen	6.8	6.7		1.19
	19 N-(3-metil-6-isopropil-fenoxiacetil)-aminometil-pen.	6.9	6.3		1.00
25	20 N-(2,4-dimetil-fenoxiacetil)-aminometil-pen.	7.5	6.9		1.13
	21 Undecilenoil-aminometil-pen.	7.2	6.9	3.9	1.60
	22 N-(p-metilbencenosulfonil)-aminometil-pen.	6.3	6.4	4.0	0.63
	23 N-(metanosulfonil)-aminometil-pen.	5.8	6.3	4.3	0.58
30	24 Fenoxiacetil-glicil-aminometil-pen.	6.8	6.8	4.5	0.62

25307



No.	Penicilina	I	II	III	IV
25	N-(Fenoxiacetil-glicil-glicil)-aminometil-pen.	6.4	6.8	4.7	0.62
26	$\beta$ -Fenoxiacetaminoetil-pen.	6.8	7.2	4.2	0.73
5	27 N-(p-metilbencenosulfonil)- $\beta$ -aminoetil-pen.	7.4	6.7	5.0	0.79
	28 N-acetil- $\beta$ -aminoetil-pen.	6.4	6.0	5.3	0.54
	29 P-(2,6-dimetil-fenoxiacetil)- $\beta$ -aminoetil-pen.	6.9	6.8	4.4	0.43
10	30 N-(2,4-dicloro-fenoxiacetil)- $\beta$ aminoetil-pen.	6.9	6.3	4.2	0.58
	31 N-(m-nitrofenoxiacetil)- $\beta$ -aminometil-pen.	6.4	6.3	4.0	0.51
	32 N-trimetilacetil- $\beta$ -aminoetil-pen.	6.6	6.0	4.9	0.63
15	33 N-(p-nitrofenoxiacetil)- $\beta$ -aminoetil-pen.	6.5	6.3	4.0	0.60
	34 N-(o-nitrofenoxiacetil)- $\beta$ -aminoetil-pen.	6.3	6.3		0.67
	35 N-carbobenzoxi- $\xi$ -aminopentil-pen.	8.3	7.8	4.6	0.55
20	36 N-acetil- $\xi$ -aminopentil-pen.	6.9	6.8		0.61
	37 N-fenilacetil- $\xi$ -aminopentil-pen.	7.6	7.3		0.61
	38 N-fenoxiacetil- $\xi$ -aminopentil-pen.	7.5	7.3		0.68
	39 N-benzoil- $\xi$ -aminopentil-pen.	7.2	6.9		0.51
	40 $\alpha$ -fenacetilaminoetil-pen. (L)	6.4	7.5	4.6	0.63
25	41 $\alpha, \epsilon$ , -di-(fenoxiacetilemino)-pentil-pen. (L)	6.3	5.8	4	0.68
	42 $\alpha$ -fenoxiacetamino- $\beta$ -metil-n-butil-pen. (D,L)	6.4	6.3	4.2	0.82
	43 $\alpha$ -fenoxiacetamino-n-pentil-pen. (D,L)	6.9	6.5	4.6	0.84
30					

259767



No.	Penicilina	I	II	III	IV
44	$\alpha$ -cloroacetamino- $\gamma$ -metil-n-butil- pen. (L)	5.8	5.8	3.9	0.71
45	$\alpha$ -trifluoroacetaminoetil-pen. (D,L)	5.8	6.7	4.3	0.77
5	46 $\alpha$ -fenoxiacetamino- $\beta$ -carboxamido- etil-pen. (D,L)	6.1	6.3	4.6	0.92
47	$\alpha$ -fenoxiacetamino- $\delta$ -carboxamido- n-propil-pen. (I)	6.3	6.3	4.2	0.96
10	48 $\alpha$ -fenoxiacetamino- $\gamma$ -metilmercapto- n-propil-pen. (D,L)	6.8	6.3		0.56
49	$\alpha$ -fenoxiacetaminoetil-pen. (D,L)	6.4	6.3	4.5	0.92
50	$\alpha$ -fenoxiacetamino- $\delta$ -ureido-n- butil-pen. (D,L)	6.8	6.8		1.00
15	51 $\alpha$ -fenoxiacetamino- $\beta$ -indil-(3)- etil-pen. (D,L)	6.8	5.8	4	0.32
52	$\gamma$ -carbобензоxi-amino- $\gamma$ -carbamil- n-propil-pen. (I)	6.3	6.4		0.78
53	N-fenoxiacetil-N-metil-aminoetil- pen.	6.8			1.10
20	54 N-fenoxiacetil-2-pirrolidil-pen. (D,L)	6.4	6.3	4.3	0.20

Las penicilinas se ensayaron en forma de sus sales potásicas. Después de la denominación de la penicilina, se indica con L,D o D,L, la forma óptica del ácido amino carboxílico acilado empleado para su producción. Los puntos de fusión de las penicilinas y de sus sales no pudieron determinarse a causa de que estas sustancias se descomponen antes de fundir.

La presente solicitud que corresponde a la presentada en Gran Bretaña, el 21 de Julio de 1959, bajo el nú



259767

mero 25.033/59 y 26 de Agosto de 1959, número 29.248/59, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente estatuto sobre Propiedad Industrial.

5

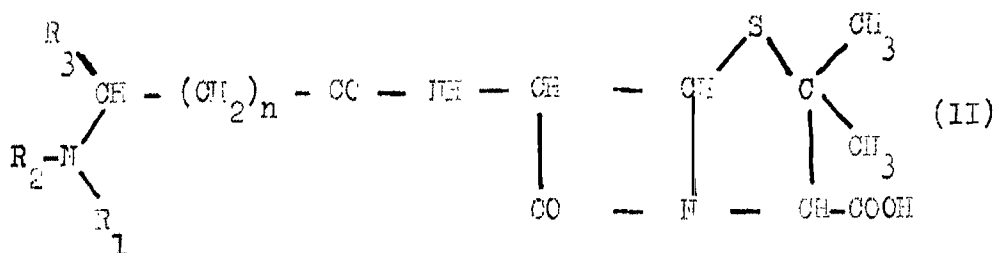
PATENTE

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

10

1.- Un método para la producción de penicilinas de la fórmula general:

15



20

en la que R<sub>1</sub> es un grupo acilo que incluye un grupo glicilo acilado y un grupo glicil-glicilo acilado; R<sub>2</sub> es hidrógeno o metilo; R<sub>3</sub> es un grupo hidrocarbonado alifático, normal o ramificado, con no más de 4 átomos de carbono, cuyo grupo puede estar sustituido por un grupo alcoxi bajo, un grupo metilmercapto, un grupo aminoacilado, un grupo fenilo, un grupo carboxamido, un grupo indilo, un grupo ureido o un grupo guanidino; o R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> forman juntos con el átomo de carbono y el átomo de nitrógeno, con el que están unidos, un anillo pirrolidina; y n es 0, 1, 2, 3, ó 4; caracterizado porque se hace reaccionar ácido 6-amino-penicilánico con un anhídrido mixto de un-

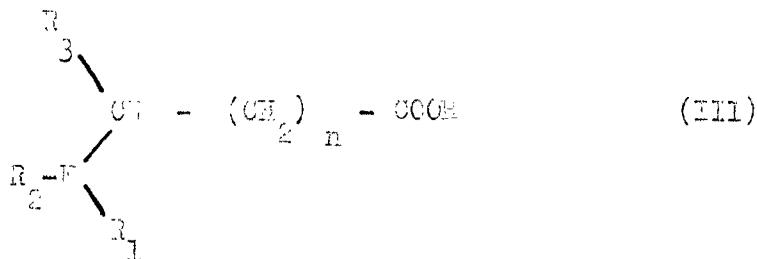
30

259767



ácido de la fórmula general:

5



con otro ácido, en cuya fórmula  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $n$  tienen la significación definida anteriormente.

10

2.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1, - caracterizado porque se hace reaccionar ácido C-amino-penicilánico con un anhídrido de ácido mixto de un ácido - de la fórmula (III) con un monoéster de ácido carbónico.

3.- Un método para la producción de penicilinas.

15

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

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

Madrid,

*[Handwritten signature and date]*

G.D. 596