

JE.

266718 C. 7443.



P A T E N T E D E I N V E N C I O N

a favor de

MERCK & CO., Inc. de nacionalidad norteamericana, domiciliada en RAHWAY (New Jersey, E.U.) 126 East Lincoln Avenue,

por:

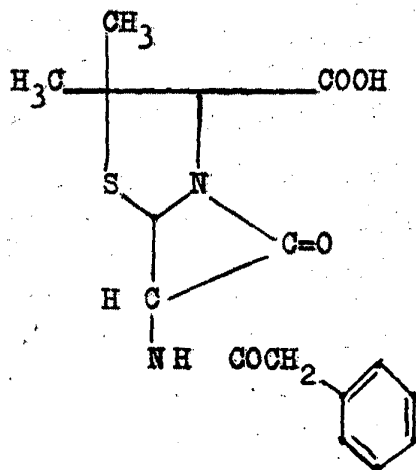
"Procedimiento para la obtención de fluoro-bencilpenicilina"

M e m o r i a d e s c r i p t i v a .

Esta invención se refiere a nuevos antibióticos. Más particularmente se refiere a nuevas penicilinas, fluoro-bencilpenicilinas, difluoro-bencilpenicilinas y sales de las mismas. Más concretamente, se refiere a un procedimiento para la preparación de estas nuevas penicilinas.



Es bien conocido que el descubrimiento de la actividad antibiótica en la familia de las sustancias conocidas como penicilinas de aplicación en la profesión médica es un instrumento valioso para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades infecciosas. La penicilina en el uso más común es conocida como penicilina G, o bencilpenicilina, que tiene la fórmula estructural siguiente:



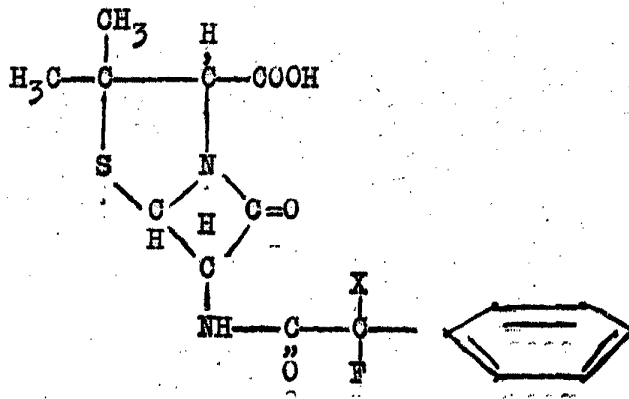
Esta penicilina particular es generalmente empleada en terapia en la forma de sus sales de metal o aminas. Las penicilinas conocidas al presente, tales como bencilpenicilina, son útiles agentes terapéuticos. Sin embargo, en la práctica, estas drogas presentan ciertas desventajas que sería deseable vencer. Por ejemplo, la penicilina G es rápidamente inactivada por medio de soluciones ácidas, siendo así rápidamente destruídas en el estómago después de su administración oral. Además, existe un grupo de gente que, como es sabido, es alérgica a las reacciones de la penicilina G o sus sales, haciendo así este método de tratamiento inasequible para ellos. Asimismo, algunos de los microorganismos patogénicos desarrollan acciones



que son resistentes a la acción antibiótica de las penicilinas conocidas hasta ahora.

Uno de los objetos de la presente invención es el de proveer nuevos compuestos penicilina que son ácido estables y que proveen niveles terapéuticos de sangre en seguida de su administración oral. Otro objeto es un procedimiento para la preparación de tales nuevos compuestos de penicilina y sus sales. Objetos adicionales de esta invención se pondrán de manifiesto en la siguiente descripción detallada.

En relación con algunos de sus aspectos más amplios, esta invención se refiere a  $\alpha$ -fluorobencilpenicilinas nuevas que tienen la siguiente fórmula estructural



en donde X es hidrógeno o fluorina y sales no-tóxicas de los mismos. Esta invención tiene por objeto, más concretamente, un procedimiento para preparar estas nuevas penicilinas por medio de la acilación del ácido 6-amino-penicilánico con un agente acilante adecuado para la introducción de un sustituyente fenilacetilo que tenga un radical fluoro unido al carbono  $\alpha$ . Estas nuevas penicilinas poseen importantes ventajas que no tienen los compuestos



penicilina previamente conocidos.

Así, estas nuevas  $\alpha$ -fluorobencilpenicilinas poseen un espectro excelente de actividad antibiótica cuando se comparan con las penicilinas conocidas actualmente. También se ha observado que las fluorobencilpenicilinas son más estables en solución ácida que algunas de las penicilinas conocidas, de valor comercial, v.gr. bencilpenicilina. Además tiene igualmente importancia, que con la fluorobencilpenicilina, administrada oralmente se obtienen altos niveles de sangre.

Los compuestos citados se obtienen según la invención por medio de la reacción del ácido 6-amino-penicilánico con un agente acilante adecuado. Así, la  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina se obtiene por medio de la reacción del ácido 6-amino-penicilánico con un agente acilante adecuado para la introducción de un radical  $\alpha$ -fluoro-fenilacetilo, y similarmente, la  $\alpha, \alpha$ -difluorobencilpenicilina se prepara por la reacción del ácido 6-amino-penicilánico con un agente acilante capaz de introducir un sustituyente  $\alpha, \alpha$ -difluorofenilacetilo. Los agentes acilantes adecuados para este propósito son los haluros acilo, tales como el cloruro  $\alpha$ -fluoro-fenilacetilo, y el cloruro  $\alpha, \alpha$ -difluorofenilacetilo. En ciertos casos la acilación puede también efectuarse por el empleo de mezclas de anhídridos del ácido fenilacético convenientemente substituído. Esta etapa de acilación se puede efectuar así mismo por otros métodos que son bien conocidos en la técnica de las aminas acilantes. Generalmente, es preferible que la reacción de acilación se lleve a cabo a temperaturas variables entre 0 y 30°C. y a un pH de alrededor de 5 a 9.



Para la preparación de la  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina, se acila el ácido 6-amino-penicilánico mediante la mezcla de anhídrido. Así, se obtiene una solución de la mezcla de anhídrido agitando vigorosamente el ácido  $\alpha$ -fluoro-fenilacético y carbonato-cloro-isobutilo disuelto en una amina terciaria, tal como la trietilamina, mientras se mantiene la mezcla de reacción a una temperatura relativamente baja, preferiblemente menos de alrededor de 0°C.

La mezcla de anhídrido así formada se mezcla con ácido 6-amino-penicilánico en una solución acuosa de bicarbonato de sodio. Después de terminada la reacción de acilación, la mezcla de reacción se diluye con agua y se lava con éter. El pH de la solución acuosa se ajusta entonces a 2, por acidificación y el ácido libre de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina se extrae con metil isobutil cetona. La penicilina es posteriormente purificada por extracción en agua manteniendo el pH a 6.5 con la cantidad requerida de bicarbonato de sodio acuoso. La extracción acuosa resultante de la sal sódica de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina se lava con éter y se liofiliza para obtener el residuo, un sólido crudo que comprende la sal sódica de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina.

La acilación del ácido 6-amino-penicilánico para producir  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina, puede así mismo llevarse a cabo empleando el cloruro fenilacetilo apropiadamente substituído. Este procedimiento puede ser particular y ventajosamente empleado cuando el producto deseado es el compuesto  $\alpha, \alpha$ -difluorobencilpenicilina. Por razón de la naturaleza altamente reactiva del cloruro  $\alpha, \alpha$ -difluorofenilacetilo el procedimiento de acilación preferido emplea

93 ABR



un medio de reacción no-acuoso comprendiendo formamida-  
dimetilo seco con adición de trietilamina. Si el mono-  
fluoro-bencilpenicilina correspondiente es el producto de-  
seado, un modo satisfactorio de operar es mezclar el ácido  
5 6-amino-penicilánico y el cloruro  $\alpha$ -fluoro-fenilacetilo en  
una mezcla acuosa de solución de bicarbonato de sodio al  
3% y acetona. La sal sódica del fluorobencilpenicilina  
deseada puede entonces ser disuelta de la manera descrita  
para el método de preparación de mezcla de anhídrido. Des-  
10 pués del aislamiento de la sal metálica del compuesto de  
penicilina deseada el ácido libre puede ser obtenido por  
acidificación del producto aislado.

Las sales metálicas preparadas de acuerdo con los  
procedimientos descritos pueden ser purificadas posterior-  
15 mente empleando un procedimiento de sal amino insoluble.  
De esta manera, después de convertir la sal sódica en el  
ácido libre por acidificación, una sal amino como, por ejem-  
plo, la sal N-etil-piperidina de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina  
puede ser preparada por evaporación de una solución de  $\alpha$ -  
20 fluorobencilpenicilina y N-etil-piperidina en acetato amilo  
y acetona hasta que queda un residuo parcialmente sólido.  
La sal N-etil-piperidina de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina se ob-  
tiene entonces por trituration del residuo semi-sólido con  
una pequeña cantidad de metil isobutil cetona. De manera  
25 similar otras sales metálicas tales como la sal potásica u  
otras sales amino tales como la sal procaina, puede formar-  
se por la reacción del ácido de penicilina libre con hexa-  
noato de potasio 2-etilo para formar la sal potásica de pe-  
nicilina, o evaporando una solución del ácido libre de pe-  
30 nicilina y procaina para formar la sal procaina de penici-  
lina.



266718

Las sales de  $\alpha$ -fluoro-bencilpenicilina, o  $\alpha,\alpha$ -difluorobencilpenicilina, preparadas de acuerdo con el procedimiento de la invención pueden ser empleadas para la preparación de formas unitarias de dosificación adecuadas, Estas formas unitarias de dosificación, tales como table-  
 5     tas, cápsulas, soluciones, suspensiones, linimentos o polvos, pueden ser diseñadas específicamente para formulaciones orales, tópicas o inyectables de acuerdo con los métodos que son conocidos en el arte de la farmacopea.

10     Los siguientes ejemplos ilustran métodos para preparar los compuestos de la invención  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina,  $\alpha,\alpha$ -difluorobencilpenicilina y sales de metal álcali y aminas de los mismos.

EJEMPLO I

15      $\alpha$ -Fluorobencilpenicilina.

46 miligramos de ácido  $\alpha$ -fluoro-fenilacético fueron disueltos en 1 cc. de acetona seca conteniendo 30 mg. de trietilamina. Esta solución fué enfriada a  $-5^{\circ}\text{C}$ . y se añadieron agitando 41 mg. de clorocarbonato isobutilo en  
 20     1 cc de acetona seca. Se dejaron por espacio de  $-5^{\circ}\text{C}$ . para formar la mezcla de anhídrido. Esta mezcla fué entonces añadida con agitación a una solución enfriada de 60 mg. de ácido 6-aminopenicilánico en 2.4 cc. de  $\text{NaHCO}_3$  al 3% y 1 cc. de acetona. La acilación continuó a temperatura ambiente con agitación durante treinta minutos. La mezcla  
 25     de reacción fué entonces diluida con pocos cc. de agua y lavada con éter. Se añadió ácido hidroclicórico diluido a  $0^{\circ}\text{C}$  hasta que el pH quedó a alrededor de 2. La penicilina liberada fué extractada tres veces con 2 porciones de 2 cc. de metil isobutil cetona. El extracto fué combinado y la-  
 30



vado varias veces con 2 cc. de agua. La penicilina fué entonces extractada con solución acuosa  $\text{NaHCO}_3$  al 3% que fué añadida a gotas hasta que los extractos totales de agua presentaron un pH de 6.5. Este extracto acuoso fué lavado con éter y liofilizado. El sólido liofilizado comprendiendo  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina mostró actividad en un bioautógrafo contra el *Bacillus subtilis* con un  $R_f$  de alrededor de 0.59. El sistema revelado para el cromatograma fué butanol/etanol/agua (12:3:15).

10

EJEMPLO II

$\alpha$ -fluorobencilpenicilina

15

El cloruro ácido de ácido  $\alpha$ -fluoro-fenilacético fué preparado por reflujo de 2.8 gr. de ácido con 5 cc. de cloruro tionilo durante tres horas. El exceso de cloruro tionilo fué removido in vacuo. El cloruro ácido fué entonces destilado con alrededor de 5 mm. de presión y una temperatura de baño de alrededor de 130°C. El rendimiento fué de 2.15 gramos.

20

2.15 gramos de cloruro  $\alpha$ -fluoro-fenilacetilo en 25 cc. de acetona fueron añadidos a gotas con agitación a 2.56 gr. de ácido 6-amino-penicilánico en 100 cc. de  $\text{NaHCO}_3$  al 3% y 75 cc. de acetona a 0°C. La mezcla de acilación fué dejada durante quince minutos a 0°C, y después durante treinta minutos a temperatura ambiente. Fué entonces diluída con 4 cc. de agua y extractada con éter. La fase acuosa a 0°C fué bajada a pH2 con 2M de ácido fosfórico.

25

30

La penicilina liberada fué extractada tres veces con metil isobutil cetona en porciones de 20 cc. y el último solvente fué lavado varias veces con 10 cc. de agua. La nueva penicilina fué puesta en agua por adición con porciones de



NaHCO<sub>3</sub> al 3% hasta que los extractos acuosos combinados presentaron un pH de 6.5. La fase acuosa fué lavada con éter y liofilizada para obtener 3.71 gramos de residuo sólido comprendiendo  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina.

5 El material de esta pureza tenía potencia de peso seco con relación a la bencilpenicilina de sodio tomada como tipo de 744 unidades mg. contra el Bacillus subtilis, 910 meq./mg. contra Staphylococcus aureus y 160 meq./mg. contra Salmonella gallinarum.

10 En un ensayo espectral, la  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina resultó activa contra Proteus vulgaris 1810, Klebsiella pneumoniae B, Salmonella schottmuelleri, M1, Pseudomonas aeruginosa II, Eschericia coli W, Micrococcus pyrogenes y Di-plococcus pneumoniae I.

15 La estabilidad al ácido de la nueva penicilina a pH<sub>2</sub> durante dos horas fué superior a la bencilpenicilina. Así, después de dos horas, estando en solución ácida de pH<sub>2</sub>, la bencilpenicilina perdió toda su bioactividad original quedándole solo el 8%, mientras que la  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina retuvo el 80% de su bioactividad original.

20 Si se desea, es posible una purificación adicional de la  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina en forma de su sal N-etil piperidina. Esta fué formada por evaporación de una solución del ácido libre de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina en una solución de N-etil-piperidina en acetato amilo y acetona. Quedó un semi-sólido que después de la trituration con metil isobutil cetona dió una sal ensayando contra el Bacillus subtilis a 765 unidades/mg.

25 Una sal potásica de  $\alpha$ -fluorobencilpenicilina fué precipitada usando hexanoato de potasio 2-etilo en metil isobutil cetona.

30



EJEMPLO III

$\alpha,\alpha$ -Difluorobencilpenicilina.

El cloruro ácido del ácido  $\alpha,\alpha$ -difluoro-fenilacético fué preparado por reflujo de 8.7 gramos del ácido durante la noche con 17.5 gramos de pentacloruro fosforoso en 30 cc. de oxiclорuro fosforoso. El exceso de oxiclорuro fosforoso fué eliminado a un vacío ligero y a una temperatura del baño de 120°C. El cloruro de ácido residual fué puesto a una presión de alrededor de 5 mm. con la misma temperatura del baño. Peso 6.08 gramos.

6.92 gramos de ácido 6-amino-penicilánico fueron disueltos en 75 cc. de dimetilformamida seca con la ayuda de 8.9 cc. de trietilamina. Esta solución fué entonces enfriada y agitada a 0°C. A la misma fueron añadidos a gotas 6.08 gramos de cloruro  $\alpha,\alpha$ -difluorofenilacetilo en 25 cc. de dimetilformamida seca. Después de una hora a 0°C., la mezcla de acilación fué vertida en hielo y agua y extractada dos veces con éter. La fase acuosa fué entonces bajada a pH 2 a 0°C., y extractada tres veces con metil isobutil cetona. Después de varios lavados con agua, la penicilina fué puesta en agua por adición gradual de  $\text{NaHCO}_3$  diluido hasta que el extracto acuoso combinado fué de alrededor de 6.5 pH. Esto requirió 30 cc. de  $\text{NaHCO}_3$  al 5%. La liofilización aportó 5.14 gramos de sal de sodio cruda de  $\alpha,\alpha$ -difluorobencilpenicilina. Sus potencias de peso seco con bencilpenicilina sódica como ensayo standard fueron de 382 unidades/mg. (Bacillus subtilis), 540 meq/mg, (Staphylococcus aureus) y 30 me2/ mg. (Salmonella galinarum).

La sal potásica se prepara por tratamiento de una solución de la penicilina libre disuelta en metil isobutil



cetona con hexanoato de potasio 2-etilo. El ensayo de peso seco de esta sal con purificación posterior fué de 445 unidades/mg. contra el Bacillus subtilis.

5 La  $\alpha,\alpha$ -difluorobencilpenicilina es mucho más estable al ácido que la bencilpenicilina. Así, después de dos horas de reposo en una solución ácida de pH2, la bencilpenicilina perdió toda su bioactividad original con excepción del 8%, mientras que la  $\alpha,\alpha$ -difluorobencilpáridina retuvo más del 75% de su bioactividad.

10 El ácido  $\alpha,\alpha$ -difluoro-fenilacético usado como material inicial en el proceso de este ejemplo puede ser preparado como sigue: 70 gramos de tetrafloruro de azufre y 40 gramos de fenilglioxilato etilo fueron calentados bajo presión autógena durante seis horas a 150°C. El producto  
15 crudo de reacción fué disuelto en cloroformo, lavado con bicarbonato de sodio diluido, secado y destilado. El rendimiento del  $\alpha,\alpha$ -difluoro-fenilacetato etilo fué de 33 gramos p.f. 93-7<sup>a</sup> (9 mm.). Diez gramos fueron hidrolizados por reflujo durante una hora y media con 10 cc. de ácido  
20 hidroclicórico concentrado y 20 cc. de ácido acético glacial. Un exceso de bicarbonato de potasio y agua fué añadido a la mezola de hidrólisis enfriada y el material neutro fué extractado con éter. La reacidificación y extracción con éter aportó ácido  $\alpha,\alpha$ -difluoro-fenilacético el cual después  
25 de destilación y varias cristalizaciones en éter de petróleo tenía un p.f. de 75-6<sup>a</sup>C.



N O T A

Se reivindica como objeto de esta patente:

5 1) Procedimiento para la obtención de fluoro-  
bencilpenicilina que consiste en poner en contacto ácido  
6-amino-penicilánico con un agente acilante  $\alpha$ -fluoro-fe-  
nilacetilo.

2) Procedimiento según la reivindicación 1, en  
el que el agente acilante es un haluro  $\alpha$ -fluoro-fenilace-  
tilo.

10 3) Procedimiento según la reivindicación 1, en  
el que el agente acilante es un cloruro  $\alpha$ -fluoro-fenilace-  
tilo.

15 4) Procedimiento según la reivindicación 1, en  
el que el agente acilante es un cloruro  $\alpha, \alpha$ -difluoro-feni-  
lacetilo.

5) Procedimiento para la obtención de fluoro-  
bencilpenicilina.

Esta memoria consta de doce páginas escritas  
por una sola cara.

BARCELONA, 13 de Abril de 1961.

P. A.

JOSÉ M. BOLIVAR  
P. A.

