

285236



285236

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por VEINTE años en España, por "PROCEDIMIENTO

PARA LA PREPARACION DE PENICILINAS"

a favor de

Beecham Research Laboratories Limited

domiciliado en Great West Road, Brentford, Middlesex,

Inglaterra.

PRIORIDAD: de las solicitudes de patente británica Nos. 07751/62 y 07752/62 del 28 de febrero de 1.962.--

INVENTORES: Berndt Olof Harald Sjoberg y Bertil Ake Ekstrom, ambos de nacionalidad sueca.

"1a"

285236

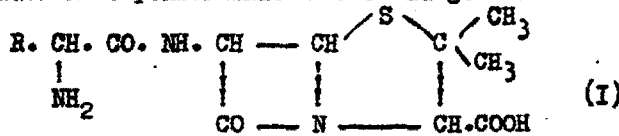


Esta invención se relaciona con penicilinas y más particularmente con un proceso de preparación de penicilinas alfa-amino-sustituidas a partir de derivados sililos reactivos del ácido 6-aminopenicilánico.

Hemos descubierto ahora que las penicilinas que contienen grupos aminos libres en la mitad acilo pueden prepararse a partir de una solución homogénea de un derivado sililo reactivo del ácido 6-aminopenicilánico, por ejemplo un éster trialquilsililo del ácido 6-N-trialquilsililaminopenicilánico en un disolvente orgánico anhidro con o sin una base orgánica presente. De esta manera, es posible obtener tales penicilinas en producciones superiores a las obtenidas con los métodos clásicos.

10

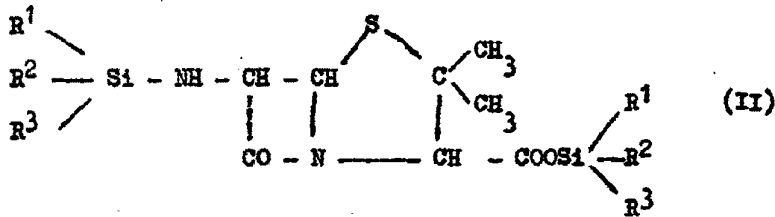
En consecuencia, la presente invención proporciona un proceso de preparación de penicilinas de fórmula general



15

y sales atóxicas de las mismas, donde R es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, arilo o aralquilo que puede ser sustituido, cuyo proceso comprende la reacción de un compuesto de la fórmula general:

20



25

en la que R¹, R² y R³ son iguales o diferentes, y cada uno de ellos es un grupo alquilo, arilo o aralquilo, o una solución o una solución del mismo, o las mezclas de reacción crudas que se obtienen cuando se deja reaccionar el ácido 6-aminopenicilánico con agentes sililantes, o soluciones de tales mezclas, con un derivado reactivo de un ácido carboxílico de fórmula general:

30



285236



5 separando ulteriormente los grupos sililos mediante solvolisis. El grupo amino de la fórmula III no puede tomar parte en la reacción en el sentido de que ha recibido la adición de un protón, está incluido en un anhídrido cíclico, tal como una oxazolid-2,5-diona, o está condensado con un hidroxialdehído aromático en una base Schiff.

10 Entre los Ejemplos de derivados reactivos figuran los ésteres activados, cloruros o bromuros ácidos carboxílicos, anhídridos ácidos o anhídridos mezclados con otros ácidos carboxílicos, sulfónicos o ácidos inorgánicos, o derivados obtenidos de un ácido carboxílico y una carbodiimida o una N,N'-carbonildiimidazola.

15 Las sales son sales atóxicas que incluyen sales metálicas atóxicas tales como sódicas, potásicas, cálcicas y aluminicas, amónicas y amónicas sustituidas, por ejemplo sales de aminas atóxicas tales como trietilaminas, incluyendo la trietilamina, procaina, dibencilamina, N-bencil-beta-fenetilamina, 1-efenamina, N,N1-dibenciletilenodiamina, dehidroabietilamina, N,N1-bis-dehidroabietiletilenodiamina, y otras aminas que se han usado para formar sales con la bencilpenicilina.

20 En una forma de la presente invención, se han preparado con buenas producciones penicilinas conteniendo grupos aminos libres en la mitad acilo reaccionando los derivados sililos del ácido 6-aminopenicilánico con anhídridos cíclicos de ácidos aminos, por ejemplo oxazolid-2,5-dionas, o con hidrocioruros de cloruros ácidos aminos.

25 Como aceptores de protones o agentes formadores de sales pueden usarse bases terciarias orgánicas tales como la trietilamina, N,N-dimetilanilina, etilpiperidina, 2,6-lutidina, quinolina o incluso un exceso del compuesto sililo.

30 Las reacciones con los anhídridos se realizan ordinariamente a bajas temperaturas y con las condiciones reactivas usadas los ácidos carbámicos formados se estabilizan como sal con las bases. De esta manera, el grupo amino de los anhídridos no puede reaccionar más y se

285236



evitan indeseadas reacciones laterales. Cuando se deja subir la temperatura después de haberse completado la reacción de acoplamiento, se descompone la sal del ácido carbámico y se libera el grupo amino. Mediante adición de agua o un alcohol, se hidrolizan los grupos trialkilsililos y se obtiene la deseada penicilina.

En la acilación con hidroclozuros de cloruros de ácido amino, la base usada no debe ser tal que se separe en hidroclozuro del ácido amino. Después de completarse la reacción de acoplamiento, se separa fácilmente el hidroclozuro por adición de agua y ajuste del pH.

En otra forma de la invención, se trata una base Schiff de un ácido amino con un hidroxialdehído aromático, tal como 2-hidroxi-1-naftaldehído ó 5-clorosalicilaldehído con un éster del ácido cloroformico en un disolvente anhidro, tal como dimetilformamida, acetona, cloroformo o tetrahidrofurano, a una temperatura inferior a 0°C, y seguidamente el anhídrido mezclado obtenido se deja reaccionar in situ con un derivado sililo reactivo del ácido 6-aminopenicilánico. Luego se añade agua y se acidifica la mezcla a un pH 2 durante un corto período de tiempo para hidrolizar los grupos sililos y el grupo arilideno.

La separación de los grupos sililos se realiza con gran facilidad mediante adición de agua o de un alcohol a la mezcla en reacción. De esta manera los grupos sililos se transforman inmediatamente en disiloxanos o alcoxisilanos, que son solubles en disolventes orgánicos, y se separan convenientemente de la mezcla de reacción. La fácil separación de los grupos protectores usados de acuerdo con esta invención contrasta notablemente con las dificultades experimentadas con otros grupos protectores, por ejemplo el grupo carbobenciloxi, usados en la síntesis clásica de penicilinas aminas a partir del ácido 6-aminopenicilánico.

Los productos preparados de acuerdo con la presente invención pueden aislarse y purificarse mediante las técnicas usadas con otras



285236

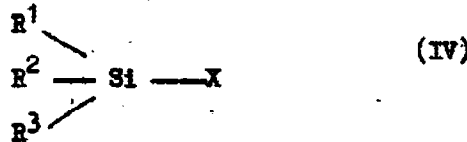
amino-penicilinas.

Si el ácido de la fórmula general III contiene uno o más centros asimétricos, las correspondientes penicilinas pueden existir en formas diastereoisómeras, todas las cuales son biológicamente activas.

5 Se comprenderá que esta invención abarca los diastereoisómeros, como asimismo mezclas de ellos.

Los derivados sililos del ácido 6-aminopenicilánico usados - como materiales de partida en el proceso de la presente invención se preparan reaccionando ácido 6-aminopenicilánico o una sal del mismo -

10 con un compuesto de la fórmula general:



15 en la que R¹, R² y R³ tienen el mismo significado que anteriormente se expone, y X es un halógeno o el grupo N $\begin{array}{l} R^4 \\ \diagdown \\ R^5 \end{array}$ ó S - R⁵, donde R⁴ es hidrógeno o R¹, y R⁵ es hidrógeno, R¹ ó



20 Así, los ésteres trialquilsililos del ácido 6-N-trialquilsililaminopenicilánico pueden prepararse tratando una sal del ácido 6-aminopenicilánico, por ejemplo la sal ácida, potásica, o cálcica, con un clorotrialquilsilano, en un disolvente orgánico tal como benceno, tolueno, formamida o dimetilformamida, en presencia de una -

25 base terciaria orgánica tal como trietilamina, etilpiperidina ó 2,6-lutidina. Después de agitar durante algunas horas, se obtiene una solución del compuesto sililo que si se desea puede usarse para la -

30 síntesis de penicilinas. Si el disolvente se separa bajo vacío, el compuesto sililo queda como residuo oleoso espeso que puede cristalizarse.

285236



Otro método de preparación de los compuestos sililos incluye el calentamiento de ácido 6-aminopenicilánico con un exceso de un hexaalquildisilazano a una elevada temperatura, mientras se separa continuamente la base liberada.

5 Otro método, preferido, de preparación de los derivados trialquilsililos del ácido 6-aminopenicilánico consiste en calentar una mezcla de ácido 6-aminopenicilánico con más de 2 moléculas-gramo de una N-trialquilsilildialquilamina, tal como la N-trimetilsilildietilamina ó N-trimetilsilildimetilamina, a una temperatura de 50 a 170°C, de manera que se destile la dialquilamina que se forma en la reacción. Esta se completa ordinariamente al cabo de una hora y se separa bajo vacío el exceso de trialquilsilildialquilamina, quedando el derivado trialquilsililo del ácido 6-aminopenicilánico como aceite espeso que puede cristalizarse.

15 Los derivados sililos son solubles en disolventes orgánicos como éter, tetrahidrofurano, dioxano, acetona, benceno, tolueno, éter de petróleo, cloruro de metileno, cloroformo, formamida y dimetilformamida, y también en las trialquilsilildialquileminas que pueden usarse como reactivos. Enfriando las soluciones en éter dietílico, éter de petróleo o N-trimetilsilil-dietilamina por ejemplo, el derivado sililo puede cristalizar.

25 Los grupos sililos sustituidos de los compuestos son separados fácilmente por adición de agua o un alcohol tal como metanol o etanol y, debido a su sensibilidad respecto a los agentes hidroxilantes, se preparan mejor bajo condiciones estrictamente anhidras.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1

30 Se mezclaron 4,3 g (0,02 molécula-gramo) de ácido 6-aminopenicilánico con 14,5 g (0,1 molécula-gramo) de N-trimetilsilildietilamina y se calentó la mezcla con agitación, pasándose una lenta corriente de

285236



5 nítrógeno seco a través de la mezcla en reacción. A 60-70°C se produjo una rápida disolución del ácido 6-aminopenicilánico y a 80°C destiló inicialmente un líquido. Pasados 20 minutos, se elevó gradualmente la temperatura a 150°C y se mantuvo a este valor durante 5 minutos a fin de completar la reacción. El tiempo total de la reacción fue de 45 minutos. Luego se dejó enfriar a 80°C la mezcla de la reacción, tras lo cual se destilaron todos los componentes volátiles, finalmente bajo vacío, quedando un residuo oleoso.

10 El residuo fue evacuado durante 1 hora a 0,5 mm de Hg produciendo éster trimetilsililo del ácido 6-N-trimetilsililaminopenicilánico - como aceite parduzco espeso, (7,1 g, correspondientes a una producción del 98,5% del producto crudo). Se disolvió el residuo en 30 ml de éster de petróleo seco (punto de ebullición 40/60°) y se separó una pequeña cantidad de productos insolubles por filtración. El derivado trimetilsililo se separó en forma de pequeñas agujas cristalinas incoloras, que se recogieron por filtración bajo condiciones rigurosamente secas. -
15 Después de lavar con éster de petróleo y secar en una corriente de nitrógeno seco, se obtuvieron 5,4 gramos de producto, que tenía un punto de fusión de 67 a 68°C.

20 Análisis: $C_{14}H_{28}N_2O_3Si_2$ (360,57): Si

Observado: 15,4

Calculado: 15,56

25 Se caracterizó el compuesto a través de su espectro IR, que - entre otras, mostró bandas de absorción a 3390, 2970, 1775, 1720, 1270-50 y 840 cm^{-1} , indicando la presencia de un grupo NH, grupos metilos, enlace beta-lactama, grupo éster carboxílico y grupos trimetilsililos, respectivamente. El compuesto era soluble en disolventes orgánicos anhidros tales como éster dietílico, dioxano, tetrahidrofurano, acetona, benceno, tolueno, éster de petróleo, cloroformo, cloruro de metileno, formamida y dimetilformamida. Mediante adición de etanol o metanol -
30

285236 1072



5 -acuosos a tales soluciones, se obtuvo inmediatamente un precipitado - blanco que se disolvió en álcali diluido y pudo reprecipitarse mediante adición de ácido. El espectro IR de este producto fue en todos los aspectos idéntico al del ácido 6-aminopenicilánico. La recuperación de ácido 6-aminopenicilánico fue casi cuantitativa.

10 Otros experimentos demostraron que la reacción con un resultado igualmente bueno podía efectuarse usando de 2 a 5 moléculas gramo de N-trimetilsilil-diethylamina por molécula-gramo de ácido 6-aminopenicilánico y empleando una temperatura de reacción que variase entre 70 y 170°C.

La N-trimetilsil diethylamina usada en este Ejemplo se preparó como se describe por Sauer y Hasek, J. Am. Chem. Soc., 68, 241 (1946).

Ejemplo 2

15 Se suspendieron 4,7 gramos (0,01 molécula-gramo) de la sal cálcica del ácido 6-aminopenicilánico en 25 ml de benceno seco; se añadieron 2,02 g (0,02 molécula-gramo) de triethylamina seca y 4,35 g (0,04 molécula-gramo) de trimetilclorosilano y se calentó la mezcla con agitación durante 3 horas a 60°C en una atmósfera de nitrógeno seco. Se filtró la mezcla de la reacción con precauciones para excluir la humedad y la resultante solución clara se evaporó bajo vacío, produciendo 2,1 g (29%) del éster trimetilsililo del ácido 6-N-trimetilsililaminopenicilánico como residuo oleoso. El espectro IR de este producto demostró una identidad con el producto obtenido en el Ejemplo 1.

25 La sal cálcica usada en este Ejemplo se obtuvo disolviendo ácido 6-aminopenicilánico con una cantidad calculada de hidróxido cálcico en agua y secando por congelación la solución resultante. La sal tenía una pureza del 96% según determinación con la prueba o ensayo con hidroxilamina. Antes de su empleo se secó bajo vacío sobre pentóxido de fósforo.

30

285236



5 Empleado 0,02 molécula-gramo de la sal sódica del ácido 6-aminopenicilánico en lugar de la sal cálcica en este Ejemplo y siguiendo el procedimiento anterior, se obtuvieron 1,8 g (25%) del derivado bis-trimetilsililo del ácido 6-aminopenicilánico. La identidad con el producto del Ejemplo 1 se determinó mediante análisis infrarrojo.

Ejemplo 3

10 Se mezclaron 10,8 g (0,05 molécula-gramo) de ácido 6-aminopenicilánico seco con 24,2 g (0,15 molécula-gramo) de exametildisilazano y se calentó la mezcla con agitación mientras se pasaba una lenta corriente de nitrógeno seco a través de ella, comenzando la reacción a 90°C con desprendimiento de amoníaco. Después de 3 horas a 120°C, se dejó enfriar la mezcla de reacción a la temperatura ambiente y se añadieron 25 ml de éter seco. Luego se filtró la mezcla bajo condiciones exentas de humedad y se concentró la resultante solución clara bajo vacío para dar 11,6 g, correspondientes a una producción del 64,5% del éster trimetilsililo del ácido 6-N-trimetilsililamino penicilánico como aceite espeso ligeramente amarillo. Este producto resultó ser, según análisis infrarrojo, idéntico al producto obtenido en el Ejemplo 1. El exametildisilazano usado en este Ejemplo se preparó de acuerdo con Sauer, J. Am. Chem. Soc., 66, 1707 (1944).

Ejemplo 4

Preparación del ácido 6-(alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico.

25 (a) A una solución enfriada con hielo de 0,01 molécula-gramo de éster trimetilsililo del ácido 6-N-trimetilsililaminopenicilánico y 1,30 g (0,01 molécula-gramo) de quinolina redestilada en 25 ml de tetrahidrofurano seco, se añadieron con agitación 2,06 g (0,01 molécula-gramo) de hidrocloreuro de alfa-aminofenilacetilcloruro. El matraz de la reacción fué enfriado en un baño de hielo y la reacción se protegió contra la humedad. Después de completarse la adición se continuó la agitación durante 15 minutos en un baño de -

30

285236



hielo y luego durante otros 60 minutos a la temperatura ambiente.

5 Seguidamente se añadieron 100 ml de agua y 30 ml de una solución normal de bicarbonato potásico, continuándose la agitación durante otros 5 minutos. La solución neutra fue lavada dos veces con éter y luego analizada por cromatografía en papel mostrando la presencia de la penicilina juntamente con una pequeña cantidad de ácido-6-aminopenicilánico. Se trabajó la solución por métodos convencionales produciéndose 2,27 g (65,3%) de la penicilina como polvo cristalino blanco con una pureza del 80%, determinada mediante ensayo alcalimétrico. El producto inhibió el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,03 mcg/ml.

15 El hidrocloreuro de alfa-aminofenilacetilcloruro se preparó reaccionando ácido D,L-alfa-aminofenilacético con pentacloreuro de fósforo en acetilcloruro durante 20 horas. Se aisló el producto por filtración y después de lavarse minuciosamente con éter de petróleo, se obtuvo un producto blanco que sinterizó por encima de 100°C, pero no mostro ningún punto de fusión preciso. El producto contenía un 34,2% de cloro (calculado para $C_8H_9Cl_2NO$: 34,41% Cl).

20 (b) Empleando un exceso doble de éster trimetilsililo del ácido N-trimetilsililaminopenicilánico respecto a la cantidad de hidrocloreuro de alfa-aminofenilacetilcloruro y omitiendo la base orgánica, pero por lo demás realizando la misma operación que se describe anteriormente en (a), se obtuvieron 2,14 g. (74%), calculado sobre la cantidad usada de hidrocloreuro de alfa-aminofenilacetilcloruro, 25 1,7 g (0,0085 molécula-gramo). El producto obtenido era idéntico al obtenido en (a).

(c) A partir de 4-feniloxazolid-2,5-diona

30 Se añadió con agitación una solución de 5,85 g (0,033 molécula-gramo) de 4-fenil-oxazolid-2,5-diona en 25 ml de dimetilformamida - seca a una solución de 0,03 molécula-gramo de éster trimetilsililo del

285236



ácido 6-N-trimetilsililaminopenicilánico en 25 ml de dimetilformamida
seca, conteniendo 3,54 g (0,033 molécula-gramo) de 2,6-lutidina redestilada
seca. La reacción se efectuó bajo condiciones estrictamente anhidras
y el matras de la reacción fue enfriado a -40°C. La adición se completó
en 20 minutos y seguidamente se agitó la mezcla durante 3 horas. Luego
se añadieron 5 ml de agua y 50 ml de éter y el precipitado que se formó
fue aislado por filtración. Después de lavar y secar, se obtuvieron 7,9 g
de un polvo ligeramente amarillo que mediante cromatografía en papel y
ensayo microbiológico mostró un contenido de un 30% de la penicilina.
Esto corresponde a una producción total del 22%. La 4-fenil-oxazolid-2:5-diona
se preparó de acuerdo con Leuchs y Geiger, Ber. 41, 1722 (1908).

Ejemplo 5

Preparación del ácido 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico.

A partir de 43,3 g (0,2 molécula-gramo) de ácido 6-aminopenicilánico
seco y 87,8 g (0,6 molécula-gramo) de N-trimetilsilil dietilamina,
se preparó 0,2 molécula-gramo de éster trimetilsililo del ácido 6-N-
trimetilsililaminopenicilánico como anteriormente se describe.

Se disolvió en 250 ml de tetrahidrofurano seco juntamente con 33 g
(0,254 molécula-gramo) de quinolina redestilada y se enfrió en hielo.
Luego se añadieron con agitación y en porciones, durante 10 minutos,
55,5 g (0,27 molécula-gramo) de hidrocloruro cloruro del ácido D-alfa-
aminofenilacético. Durante la adición la temperatura subió aproximadamente
a 10°C. Después de agitar durante otros 40 minutos a la temperatura
ambiente, la resultante solución casi clara fue vertida en 2 litros
de agua, con agitación eficiente. Se neutralizó la mezcla con hidróxido
2N sódico, se filtró y se lavó dos veces con éter a fin de separar
la quinolina.

Después de secar con congelación, se obtuvieron 77,2 g de un
polvo pardo claro con una pureza del 52% (ensayo con hidroxilamina).

285236



Esto corresponde a una producción corregida del 57% de la penicilina.

La cromatografía en papel demostró que el producto contenía - la deseada penicilina como único compuesto antibiótico. La penicilina se obtuvo subsiguientemente con una pureza del 85,2% (ensayo alcalimétrico). Este producto presentaba una rotación óptica de $[\alpha]_D^{23} = + 257^\circ$ (neutralizador fosfato pH 7,0) e inhibió el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración del 0,01 mcg/ml.

El hidrocioruro de D-alfa-aminofenilacetilcloruro usado en este Ejemplo se preparó a partir del ácido D-amino-fenilacético y pentacloruro de fósforo. Se obtuvo como compuesto lábil incoloro conteniendo un 32,5% de cloro (calculado para $C_8H_9Cl_2NO$: 34,41% Cl). De acuerdo con su espectro infrarrojo, probablemente contenía algo de hidrocioruro del ácido alfa-aminofenilacético como impureza.

Ejemplo 6

Preparación del ácido 6-(alfa-amino-alfa-fenilpropionamido) penicilánico.

A una solución fría, helada, de 0,22 molécula-gramo de éster - trimetilsililo del ácido 6-N-trimetilsililaminopenicilánico y 46,5 g (0,36 molécula-gramo) de quinolina redestilada en 250 ml de tetrahidrofurano seco, se añadieron 59,1 g (0,268 molécula-gramo) de hidrocioruro de DL-alfa-metil-alfa-aminofenilacetilcloruro con agitación durante 10 minutos. Durante la adición subió la temperatura aproximadamente a 20°C, manteniéndose a esta temperatura durante otros 35 minutos. Se tuvo cuidado de excluir la humedad de la mezcla de la reacción. La solución casi clara se vertió en 2 litros de agua y se neutralizó con hidróxido 2N sódico, se filtró y se lavó dos veces con éter. Se obtuvieron 2,53 litros de solución con un contenido de penicilina de 25,1 mg/ml, que corresponde a 63,5 g. de penicilina, es decir, una producción del 80%. La penicilina fue aislada con una pureza del 73,2% (ensayo alcalimétrico) e inhibió el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,63 mcg/ml.

285236



El cloruro ácido fue preparado reaccionando ~~el ácido~~ ácido alfa-metil-
-alfa-aminofenilacético con pentacloruro de fósforo. Se obtuvo como -
polvo blanco con un contenido de cloro del 30,5% (el $C_9H_{11}Cl_2NO$ requie-
re un 32,22% de Cl). De acuerdo con su espectro IR, contenía algo de
5 hidrocioruro del ácido alfa-metil-alfa-aminofenilacético como impureza.

Ejemplo 7

Empleando los conocidos hidrocioruros cloruros de glicina y DL-
leucina, se prepararon las correspondientes penicilinas como se descri-
be en el Ejemplo 6.

	<u>Producción</u>	<u>Pureza</u>	<u>CIM μ</u>
Alfa-aminometilpenicilina	55%	65%	0,63
alfa-amino-gamma-metilbutilpenicilina	45%	67%	0,25

μ Concentración inhibidora mínima contra el Staph. aureus Oxford en
mcg/ml.

Ejemplo 8

Preparación del ácido 6-(D-alfa-amino-gamma-metilvaleramido)-peniciláni-
co.

Se calentó ácido 6-aminopenicilánico (2,2 g) con N-trimetilsil-
lildietilamina (5,8 g) durante 45 minutos a 80°C, mientras se retiraba
20 continuamente la dietilamina formada por destilación a una presión li-
geramente reducida. El exceso de la N-trimetilsildietilamina se separó
al vacío, quedando el derivado trimetilsililo del ácido 6-aminopenicilá-
nico como residuo viscoso, que se disolvió en 40 ml de éter seco. A -
esta solución se añadió quinolina (1,55 g) seguido de hidrocioruro de
25 cloruro de D-leucilo (2,4 g), mientras se agitaba y enfriaba en un baño
de hielo. Pasados 45 minutos, se vertió la mezcla de reacción en 150
ml de agua, se neutralizó con hidróxido sódico diluido y se lavó bien
con éter. Mediante cromatografía en papel la fase acuosa mostró un
30 contenido de 1,6 (49%) de un ácido 6-(D-alfa-amino-gamma-metilvaleramí-
do)-penicilánico, junto con 0,6 g de ácido 6-aminopenicilánico sin -

285230



reaccionar. La penicilina fue aislada por concentración de la solución acuosa bajo vacío a 20°C, después de ajustar el pH en 5,0. La reprecipitación a partir de agua produjo 1,15 g con una pureza del 69,8% - (ensayo alcalimétrico). Por cromatografía en papel se demostró que el producto estaba exento de ácido 6-aminopenicilánico.

Esta sustancia resultó inhibir el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,25 mcg/ml y contener en su espectro IR una fuerte banda a 1770 cm^{-1} , indicando la presencia de un anillo beta-lactama.

El hidrocloreto del cloruro de D-leucilo (observados Cl, 35,9; el $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}$ requiere un 38,11% de Cl) se preparó reaccionando D-leucina con una cantidad equivalente de pentacloreto de fósforo en tetracloreto de carbono.

Ejemplo 9

Preparación del ácido 6-(D-alfa-amino-beta-fenilpropionamido)-penicilánico

Se calentaron ácido 6-aminopenicilánico (3,1 g) y N-trimetilsilil-dimetilamina (10 g) durante 15 minutos a 60°C mientras se pasaba una lenta corriente de nitrógeno a través del matraz de la reacción a fin de separar la dimetilamina a medida que se formaba. El exceso de la N-trimetilsilildimetilamina fue destilado bajo vacío quedando el derivado trimetilsililo del ácido 6-aminopenicilánico como residuo viscoso, que se disolvió en 25 ml de benceno seco. Se añadió a la solución N,N-dimetilanilina (1,6 g) seguido de hidrocloreto del cloruro de D-fenilalanilo (3,0 g) en porciones durante 5 minutos, mientras se agitaba y enfriaba en un baño de hielo. Después de agitar durante 1 hora, se vertió la mezcla de reacción casi clara en 50 ml de agua, se neutralizó mediante la adición de hidróxido 2N sódico y se lavó bien con éter. Por cromatografía en papel la fase acuosa resultó contener 3,1 g (86%) de ácido 6-(D-alfa-amino-beta-fenilpropionamido)



penicilánico junto con una pequeña cantidad de ácido 6-aminopenicilánico sin reaccionar. Después de acidificar a un pH de 5,0, se concentró la solución acuosa bajo vacío a 20°C, en virtud de lo cual precipitó 1,1 g de la penicilina con una pureza del 89% (ensayo con hidroxilamina).

Esta sustancia resultó inhibir el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,13 mog/ml y contener en su espectro IR una fuerte banda a 1780 cm^{-1} mostrando la presencia de un anillo beta-lactama.

El hidrocloreto del cloruro de D-fenilalanilo (observado: Cl, 30,2; el $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}$ requiere un 32,2% de Cl), se preparó agitando D-fenilalanina con un equivalente de pentacloruro de fósforo en cloruro de metileno. Probablemente contenía algo de hidrocloreto de la fenilalanina como impureza (débil absorción IR a 1720 cm^{-1}).

Ejemplo 10

Preparación del ácido 6-(alfa-amino-sigma-metileptanamido)-penicilánico.

Se calentó ácido 6-aminopenicilánico (4,3 g, 0,02 molécula-gramo) junto con N-trimetilsilil-dietilamina (14,5 g) durante 45 minutos a 80°C, mientras se separaba continuamente la dietilamina formada aplicando una ligera succión al matraz de la reacción. El exceso de la N-trimetilsilil-dietilamina fue destilado bajo vacío quedando el derivado trimetilsililo del ácido 6-aminopenicilánico como residuo, que se disolvió en 50 ml de benceno seco. Se añadió N,N-dimetilanilina (2,4 g, 0,02 molécula-gramo), seguido de una solución de hidrocloreto del cloruro de alfa-amino-sigma-metileptancilo (0,02 molécula-gramo) en 25 ml de cloruro de metileno, mientras se agitaba y enfriaba en un baño de hielo. Después de 90 minutos, se vertió la mezcla de reacción en 100 ml de agua, se neutralizó mediante la adición de hidróxido 2N sódico y se lavó con éter. Mediante cromatografía en papel la fase

285235



FEB. 1963

acuosa resultó contener 3,3 g (46%) del ácido 6-(alfa-amino-sigma-metileptanamido)-penicilánico junto con algo de ácido 6-aminopenicilánico sin reaccionar. El pH se ajustó en 5,0 y se concentró la fase acuosa bajo vacío a la temperatura ambiente, dando 1,4 g de la penicilina como precipitado blanco. El producto tenía una pureza del 63% (ensayo con hidroxilamina) y contenía aproximadamente un 10% de ácido 6-aminopenicilánico como impureza.

Este producto resultó inhibir el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,63 mcg/ml y contener en su espectro IR una fuerte banda a 1776 cm^{-1} , mostrando la presencia de un anillo beta-lactama.

El hidrocloreto del cloruro de alfa-amino-sigma-metileptanoilo usado en este Ejemplo se preparó reaccionando ácido alfa-amino-sigma-metileptanoico (3,2 g, 0,02 molécula-gramo) con una cantidad equivalente de pentacloreto de fósforo en cloruro de metileno hasta que se obtuvo una solución clara. El disolvente fue destilado bajo vacío a 20°C a fin de separar el oxicloruro de fósforo formado y el residuo volvió a disolverse en cloruro de metileno y a usarse directamente. El espectro IR de esta solución mostró una fuerte banda a 1770 cm^{-1} atribuible a una mitad de cloruro ácido.

Ejemplo 11

Preparación del ácido 6-(alfa-amino-beta-metil-beta-fenilbutiramido)-penicilánico.

Se calentó ácido 6-aminopenicilánico (1,5 g) durante 45 minutos a 80°C con N-trimetilsilil dietilamina (7,0 g) mientras se pasaba nitrógeno seco a través del matraz de la reacción para separar la dietilamina a medida que se forma. El exceso de la N-trimetilsilil dietilamina fue destilado bajo vacío y el residuo se disolvió en 25 ml de benceno seco. Se añadió N,N-dimetilanilina (0,83 g) seguido de hidrocloreto de cloruro de alfa-amino-beta-metil-beta-fenilbutirilo

285230



18 FEB 1960

(2,2 g), con agitación y enfriamiento en un baño de hielo. Después de una hora se vertió la mezcla de la reacción en 50 ml de agua, se neutralizó y se lavó con éter. Mediante cromatografía en papel, se observó que la fase acuosa contenía como única sustancia antibiótica 1,9 g (70%) del ácido 6-(alfa-amino-beta-metil-beta-fenilbutiramido)-penicilánico, que después de su acidificación a un pH de 5,0 con ácido clorhídrico diluido, fue aislado concentrando la solución bajo vacío a 20°C. Se obtuvo 0,8 g con una pureza del 59% (hidroxilamina).

Esta sustancia resultó inhibir el desarrollo del Staph. aureus Oxford a una concentración de 6,25 mcg/ml y contener en su espectro - IR una fuerte banda a 1776 cm⁻¹ mostrando la presencia de un anillo beta-lactama.

El hidrocloreuro de cloruro de alfa-amino-beta-metil-beta-fenilbutirilo (observado: Cl, 25,9; el C₁₁H₁₅ClNO requiere un 28,5% de Cl) se preparó reaccionando el ácido alfa-amino-beta-metil-beta-fenilbutírico con una cantidad equivalente de pentacloruro de fósforo en cloruro de metileno. Probablemente fue contaminado por algo de hidrocloreuro del ácido amino (débil absorción IR a 1720 cm⁻¹).

Empleando el método esbozado en los Ejemplos 8 a 11, se prepararon también las siguientes amino-penicilinas:

	Acilación producida	Pureza	CTM
Acido 6-(D-alfa-aminopropionamido)-penicilánico	43	51	2,5
Acido 6-(L-alfa-aminopropionamido)penicilánico	41	38	1,25
Acido 6-(D-alfa-amino-beta-metilbutiramido)-penicilánico	35	44	2,5
Acido 6-(L-alfa-amino-beta-metilbutiramido)-penicilánico	27	42	25
Acido 6-(L-alfa-amino-gamma-metilvaleramido)-penicilánico	34	39	2,5
Acido 6-(L-alfa, sigma-diaminovaleramido)-penicilánico	30	46	12,5

285236



	<u>Acilación producida</u>	<u>Pureza</u>	<u>CM</u>
Acido 6-(alfa-amino-beta-fenilpropionamido)-penicilánico	83	50	0,63
Acido 6-(L-alfa-amino-beta-fenilpropionamido)-penicilánico	53	51	2,5

5 En la Tabla se indican la acilación producida, determinada mediante cromatografía en papel de la solución de la reacción, la pureza del producto aislado determinada por el método de hidroxilamina y la concentración inhibidora mínima (CIM) en mg/ml del producto contra el Staph. Aureus Oxford.

10 Ejemplo 12

Preparación del ácido 6-(alfa-amino-gamma-metilmercapto-butilamido)-penicilánico.

15 Se disolvió N-(2-hidroxi-1-naftal)-DL-metionina (3,0 g) en 25 ml de dimetilformamida anhidra junto con trietilamina seca (2,0 g). A esta solución se añadió éster etílico del ácido clorofórmico (2,2 g) con agitación a -10°C y después de 15 minutos una solución en 25 ml de éster anhidro del derivado trimetilsililo del ácido 6-aminopenicilánico, preparado como se describe en el Ejemplo 8 a partir del ácido 6-aminopenicilánico (2,2 g) y N-trimetilsilildietilamina (7g). Inmediatamente después de la adición se elevó la temperatura de la mezcla reactiva a 25°C y se mantuvo en este valor durante 1 hora. Se añadió agua (75 ml) y se acidificó la mezcla a un pH 2 y se enfrió en un baño de hielo durante 30 minutos, mientras se continuaba la agitación. Se neutralizó la mezcla y se lavó bien con éter. Mediante cromatografía en papel se observó que la solución acuosa obtenida contenía 0,9 g (25%) de ácido 6-(alfa-amino-gamma-metilmercaptobutilamido)-penicilánico, junto con una cantidad igual de ácido 6-aminopenicilánico sin reaccionar. Después de una acidificación a un pH de 5,0, se precipitó la penicilina concentrando la solución bajo vacío a 20°C. Se obtuvo 0,5 g de la penicilina con una pureza del 41% (ensayo hidroxilámico).

20

25

30

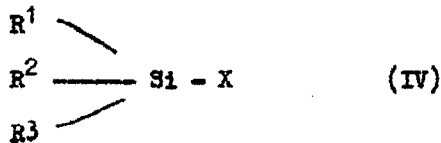


(III)



y ulteriormente la separación de los grupos sililos por solvolisis.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que se emplea como derivado sililo del ácido 6-aminopenicilánico las mezclas de reacción crudas obtenidas cuando reacciona el ácido 6-aminopenicilánico con agentes sililantes de fórmula general:



donde R¹, R² y R³ son como se definen en la reivindicación 1, y X es halógeno o el grupo N^{R⁴} ó S-R⁵, donde R⁴ es hidrógeno o R¹, y R⁵ es hidrógeno, R¹ ó



3. Procedimiento según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el derivado reactivo del ácido carboxílico es un éster activado, cloruro o bromuro ácido, anhídrido ácido o anhídrido mezclado con otro ácido carboxílico, sulfónico o inorgánico, o un derivado obtenido del ácido carboxílico y una carbodiimida o una N,N'-carbonildiimidazola.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la reacción se lleva a cabo en presencia de una base terciaria orgánica.

5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la reacción se lleva a cabo en un exceso del compuesto sililo.

6. Procedimiento según cualquiera de las anteriores reivindicaciones en el que se reacciona un derivado trialquilsililo del ácido 6-aminopenicilánico con un anhídrido cíclico de un ácido amino, o con un hidrocioruro de cloruro de ácido amino.

7. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de -

285236



ARL 157

recaer la Patente de Invención que se solicita: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PENICILINAS"

Todo conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de veintiuna páginas escritas a máquina.

5

Madrid, 18 de febrero de 1.963

ALFONSO UNGRIA

P.P.