



287-497

**287497**

**MEMORIA DESCRIPTIVA**  
que se acompaña a la solicitud de una

.....  
**PATENTE DE INVENCION**  
.....

por **VEINTE** años en España, por : **"PROCEDIMIENTO**  
**DE PREPARACION DE PENICILINAS"**.  
.....  
.....

a favor de

**BRISTOL-MYERS COMPANY**  
.....

domiciliado en **Thompson Road, East Syracuse (New York),**  
**Estados Unidos.**  
.....

**Prioridad:** de las solicitudes de patente estadounidenses  
nos. 190.774, 190.776 y 190.795, presentadas  
todas ellas el 27 de Abril de 1962.

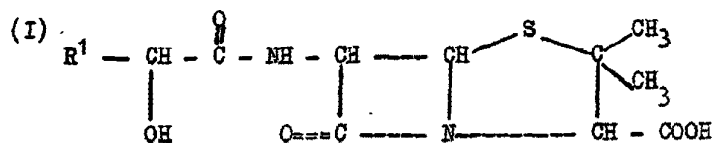
**Inventores:** Yvon Gaston Perron, canadiense,  
Lee C. Cheney, estadounidense y  
John C. Godfrey, estadounidense.



Esta invención se relaciona con un procedimiento de preparación de nuevos compuestos sintéticos valiosos como agentes antibacterianos, - como suplementos nutritivos en alimentos para animales, como agentes para el tratamiento de la mastitis en el ganado vacuno y como agentes terapéuticos para aves y otros animales, incluyendo al hombre, en el tratamiento, especialmente, de enfermedades infecciosas causadas por bacterias grampositivas y gramnegativas, y, más particularmente, se relaciona con ácidos 6-[alfa-hidroxi-alfa-(heterociclil)acetamido] penicilínicos y sales atóxicas de los mismos.

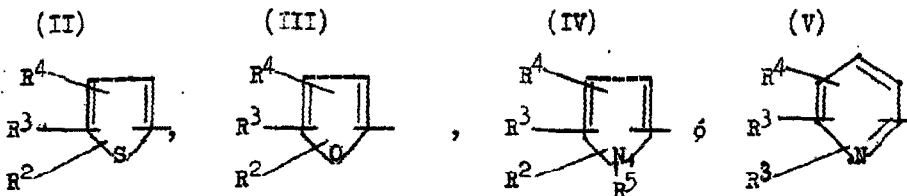
Los agentes antibacterianos tales como la bencilpenicilina han demostrado ser altamente eficaces en el pasado en la terapia de infecciones debidas a bacterias grampositivas, pero tales agentes ofrecen los graves inconvenientes de ser inestables en ácido acuoso, por ejemplo, al administrarse oralmente, y de ser ineficaces contra numerosas razas de bacterias, por ejemplo la mayoría de las bacterias gramnegativas. Los compuestos de la presente invención son particularmente útiles en el sentido de que poseen una potente actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas al administrarse parentérica u oralmente, mostrando también resistencia a la destrucción por ácido y penicilinas.

Se ofrece, de acuerdo con la presente invención, un miembro seleccionado del grupo consistente en los ácidos de fórmula





en la que  $R^1$  es



5 donde  $R^5$  es hidrógeno, alquilo (inferior), alcanilo (inferior), alquil (inferior)sulfonilo, fenilo, clorofenilo, fenetilo o un radical cicloalquilo que tenga de 5 a 7 átomos de carbono inclusive, y  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  son hidrógeno, cloro, bromo, fluoro, yodo, nitro, alquilo (inferior), alcoxilo (inferior), alquiltio (inferior), dialquil (inferior) amino, alcanilo (inferior)amino, alcanilo (inferior, alquil (inferior) sulfonilo, radicales cicloalquilos que tengan de 5 a 7 átomos de carbono inclusive, radicales cicloalcoxilos que tenga de 5 a 7 átomos de carbono inclusive, o radicales arilos, aralquillos, ariloxilos o aralquiloxilos sustituidos o sin sustituir. Incluidas en el ámbito de esta invención se encuentran las sales ácidas carboxílicas atóxicas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I, incluyendo sales metálicas atóxicas tales como de sodio, potasio, calcio y aluminio, la sal amónica y sales amónicas sustituidas, por ejemplo sales de aminas atóxicas tales como trialquilaminas, incluyendo trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil-beta-fenetilamina, l-efenamina, N,N'-dibencil-etilenodiamina, dehidroabietilamina, N,N', N,N'-bis-dehidroabietiletilenodiamina, N-alquil (inferior)piperidina (por ejemplo, N-etil piperidina) y otras aminas que hayan sido usadas para formar sales con bencilpenicilina. Incluidos también en el ámbito de la presente invención se encuentran los ésteres o amidas fácilmente hidrolizados que se convierten a la forma de ácido libre por hidrolisis química o enzimática. El término "alquil (inferior)", tal como aquí se emplea, significa radicales hidrocarburos alifáticos de cadena recta y ramificada que tengan de 1 a 6 átomos de carbono, tales como metilo, etilo,

10

15

20

25

30



propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, t-butilo, amilo, exilo, etc. Análogamente, cuando el término "(inferior)" se usa como parte de la descripción de otro grupo, por ejemplo "alcoxilo (inferior)", se refiere a la porción alquímica de tal grupo, que es por consiguiente como antes se describe en relación con "alquilo (inferior)".

Para ilustrar grupos que incluyan grupos alquilos (inferiores), se indica que alcoxilo (inferior) incluye radicales como metóxilo, -etoxilo, isopropoxilo, etc.; alquiltio(inferior) incluye metiltio, etiltio, butiltio, etc.; alcanóilo (inferior) incluye acetilo, propionilo, butirilo, etc.; alquil (inferior)sulfonilo incluye metilsulfonilo, etilsulfonilo, exilsulfonilo, etc.; dialquil (inferior) amino incluye dimetilamino, dietilamino, etilmetilamino, etc.,

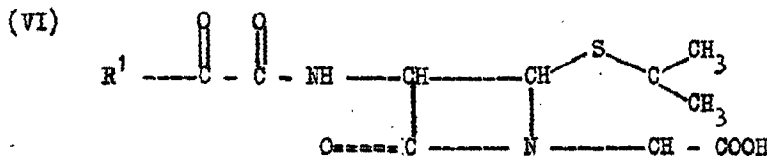
El átomo alfa-carbono del grupo acilo (al que va fijado el grupo hidroxilo) es un átomo de carbono asimétrico y los compuestos de esta invención pueden existir por consiguiente en dos formas isómeras ópticamente activas (los D- y L-diastereoisómeros), así como en mezcla de las dos formas ópticamente activas. Aunque el D-isómero es la forma preferida, todas esas formas isómeras de los compuestos se hallan incluidas en el ámbito de la presente invención. También se incluyen los ésteres fácilmente hidrolizados que se convierten a la forma ácida libre por hidrólisis química o enzimática.

Debe indicarse en relación con las anteriores consideraciones - sobre los diastereoisómeros de esta invención, que son posibles muchos otros isómeros aparte de los dos causados por el carbono asimétrico en la cadena lateral, debido a la presencia de átomos de carbono asimétricos en el núcleo del ácido 6-aminopenicilínico. Sin embargo, tales isómeros adicionales no son actualmente importantes, puesto que el ácido 6-aminopenicilínico, que es el producto de procesos de fermentación, es consistentemente de una configuración; tal ácido 6-aminopenicilínico se usa actualmente en la producción de los compuestos de esta inven



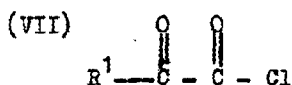
ción.

También se proporciona mediante la presente invención un grupo de alfa-ceto-penicilinas de fórmula



en la que R<sup>1</sup> tiene el significado expuesto anteriormente, y las sales ácidas carboxílicas de las mismas.

Estas alfa-ceto-penicilinas, que son también útiles agentes antibacterianos, lo son igualmente en la preparación de alfa-hidroxi-alfa-(heterocicli)acetamido penicilinas. Estas alfa-ceto-penicilinas de la fórmula VI anterior pueden prepararse mediante la reacción del ácido 6-aminopenicilínico, preferiblemente en forma de una sal neutra tal como sódica, potásica o trietilamínica, con un cloruro ácido de fórmula.



en la que R<sup>1</sup> tiene el significado expuestos anteriormente, o el equivalente funcional de dicho cloruro ácido, que puede actuar como agente acilador para el grupo amino primario del ácido 6-aminopenicilínico.

Tales equivalentes incluyen a los correspondientes bromuros ácidos carboxílicos, anhídridos ácidos y anhídridos mezclados con otros ácidos carboxílicos, incluyendo monoésteres, y particularmente ésteres alifáticos inferiores, de ácido carbónico. Las alfa-ceto-penicilinas de la presente invención pueden prepararse también mediante el uso de una azida ácida o un reactivo carbodiimida como describen Sheehan y Hess, J. Amer. Chem. Soc., 77, página 1067, (1955). Métodos generales de preparación y purificación de las alfa-ceto-penicilinas de la presente invención, de acuerdo con el procedimiento de anhídrido mezclado y el procedimiento del cloruro ácido, se describen e ilustran en las paten

287497

- 6 -



tes estadounidenses Nos. 2.941.995; 2.996.501; 2.985.648 y 2.951.839.

Los ácidos alfa-(heterociclil)-alfa-ceto-acéticos sustituidos y los correspondientes cloruros acetilicos que se usan en la preparación de los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante una diversidad de métodos sintéticos que son comunes en el arte. La mayoría de estos compuestos iniciales se describe en el arte anterior y muchos de ellos son comercialmente obtenibles. Detalladas explicaciones de métodos de preparación de estos materiales iniciales se encuentran en tales obras de consulta como "Chemistry of Carbon - Compounds", E.H. Rodd, Editor, (1956), Elsevier Publishing Company. La preparación del cloruro del ácido 2-tienilglioxílico es ilustrativa de tales métodos de preparación y se expone en los ejemplos que siguen. Los ácidos pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos descritos en general en J. Amer. Chem. Soc., 66, 1645-1648, (1944), - por medio de una reacción de tipo Friedel-Craft con el apropiado tiofeno o furano y un cloruro de ácido oxálico. La preparación del ácido 2-furil-glioxílico se describe en Chem. Ber., 87, páginas 276-282.

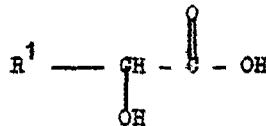
Una versión preferida de esta invención, mediante la cual pueden prepararse las alfa-hidroxipenicilinas de fórmula I, consiste en preparar primeramente la apropiada alfa-ceto-penicilina como se describe anteriormente y poner luego en contacto tal alfa-ceto-penicilina o una sal de la misma en un medio líquido con un equivalente por lo menos de borohidruro sódico, trimetoxiborohidruro sódico o borohidruro potásico para producir la correspondiente hidroxipenicilina o sal de la misma. Más específicamente, el proceso de producción de hidroxipenicilinas comprende el contacto, en un medio sustancialmente acuoso a un pH superior a 7 aproximadamente y a una temperatura del orden de -5 a 40°C. aproximadamente, de una alfa-ceto-penicilina descrita en la fórmula VI anterior, o una sal de la misma, con 1 a 12 equivalentes de borohidruro sódico, trimetoxiborohidruro sódico o borohidruro potásico, para producir la correspondiente hidroxipenicilina o sal de la -



5 misma, Cuando se usa como intermedio en el proceso químico, de producción de las alfa-hidroxicilinas, las alfa-ceto-penicilinas de fórmula VI pueden usarse en forma ácida o como sal; no es necesario que las sales sean atóxicas, pero el catión debe ser uno que no obstaculice la reacción de reducción química.

10 Otra versión preferida de esta invención, mediante la cual pueden prepararse las penicilinas de fórmula I, consiste en la reacción de ácido 6-aminopenicilínico, preferiblemente en forma de sal neutra tal como sódica, potásica o trietilamínica, con un ácido alfa-hidroxi alfa-(heterociclil) acético de fórmula.

(VIII)



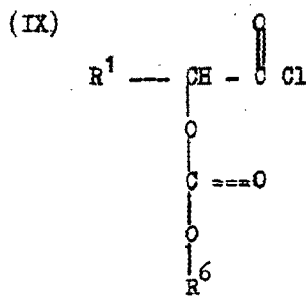
15 en la que R<sup>1</sup> tiene el significado descrito anteriormente, o el equivalente funcional de dicho ácido, que puede actuar como agente acilador para el grupo amino primario del ácido 6-aminopenicilínico. Tales equivalentes funcionales, y sus métodos de preparación, han sido descritos anteriormente. Las alfa-hidroxicilinas de la presente invención pueden prepararse también mediante el uso de una azida ácida  
20 o unreactivo carbodiimida.

25 Así, un excelente procedimiento de preparación de las penicilinas de fórmula I consiste en la reacción de apropiado ácido alfa-hidroxi-alfa-(heterociclil) acético con ácido 6-aminopenicilínico en presencia de un reactivo carbodiimida, que comprende la adición de una solución de una carbodiimida, tal como N,N' - dicitcloetilcarbodiimida, o N,N'-diisopropilcarbodiimida, en dioxano u otro disolvente tal como tetrahidrofurano, cloruro de metileno, etc., a una solución de una  
30 cantidad equimolar aproximadamente de una sal neutra del ácido 6-aminopenicilínico en una solución acuosa de dioxano, tetrahidrofurano, cloruro de metileno, etc. Se añade lentamente una solución una canti-



dad equimolar aproximadamente del deseado ácido alfa-hidroxi-alfa-  
 (heterociclil) acético y se remueve la mezcla durante 1 a 2 horas.  
 La dicitloexilurea que se forma como precipitado es separada por fil-  
 tración. Se liofiliza el filtrado y el sólido así obtenido se disuel-  
 ve en una pequeña cantidad de agua. Se ajusta el pH en 6-7 aproxima-  
 damente y se filtra la solución para separar cualquier material in-  
 soluble. Se enfría el filtrado a unos 5°C., se separa en capas con -  
 un cuarto de volumen aproximadamente de metil isobutil cetona y se -  
 acidifica a un pH 2 aproximadamente, mientras se remueve la mezcla.  
 La capa de metil isobutil cetona es separada y desechada. La capa acuo-  
 sa, que contiene el producto deseado, es enfriada a 0°C aproximada-  
 mente y extractada con una solución de dioctilsuccinato sódico ó 2-eti-  
 lexanoato potásico. El extracto es filtrado y neutralizado a un pH de  
 5 a 6 aproximadamente, en cuyo punto se forma un precipitado del de-  
 seado ácido 6- $\alpha$ -hidroxi-alfa-(heterociclil) acetamido penicilí-  
 nico.

Otra versión preferida de esta invención, mediante la cual pue-  
 den prepararse las penicilinas de fórmula I, consiste en la reacción  
 del ácido 6-aminopenicilínico, preferiblemente en forma de una sal  
 neutra tal como sódica o trietilamínica, con un cloruro de alfa-(hete-  
 rocicli)-alfa-(acilado hidroxil) acetilo de fórmula general.



en la que R<sup>1</sup> es como se describe anteriormente y R<sup>6</sup>OC- es un grupo  
 bloqueador destinado a proteger al grupo hidroxilo, o el equivalente  
 funcional de dicho cloruro ácido, que puede actuar como agente acila-



5 dor para el grupo amino primario del ácido 6-aminopenicilínico, y la  
ulterior separación del grupo bloqueador del grupo hidroxilo por hi-  
drogeneración bajo condiciones suficientemente suaves para evitar la  
destrucción del núcleo de penicilina. Tales equivalentes funcionales,  
y su preparación, han sido descritos anteriormente. Los compuestos de  
fórmula IX pueden prepararse fácilmente mediante la reacción del co-  
rrespondiente ácido alfa-hidroxi-alfa-(heterociclil) acético con el  
apropiado haluro ácido (por ejemplo, con cloruro de carbobenzoxilo),  
en el que R<sup>6</sup> es el grupo bencilo) y ulterior reacción del resultante  
10 ácido para formar el cloruro ácido o su equivalente funcional.

En el grupo bloqueador referido anteriormente, R<sup>6</sup> puede ser ali-  
lo, butilo terciario, fenilo, fenilo sustituido, bencilo o bencilo -  
sustituido.

El grupo bloqueador R<sup>6</sup>OC- puede separarse por hidrogenación  
15 del derivado protegido del ácido 6-aminopenicilínico en presencia de  
un catalizador tal como paladio, platino o rodio sobre un soporte iner-  
te tal como carbono, carbonato bórico, carbonato estróncico o tierra  
de diatomeas. La hidrogenación se lleva a cabo preferiblemente a la  
temperatura ambiente y a presión atmosférica en un disolvente tal como  
20 agua, disolvente orgánico no reducible tal como etanol o dioxano, o -  
soluciones acuosas de tales disolventes orgánicos, siendo el pH de la  
mezcla reactiva esencialmente neutro, por ejemplo de 5 a 9.

En el ejemplificado proceso de preparación de los compuestos -  
de fórmulas I y VI anteriores, los compuestos están a veces en solu-  
25 ción acuosa en forma de su sal sódica o potásica, Estos compuestos en  
fase acuosa pueden convertirse luego en el ácido libre, preferiblemen-  
te en frío bajo una capa de éter, mediante la adición de ácido mineral  
diluido, por ejemplo SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 5N a un p<sup>H</sup> 2. Luego puede extractarse el  
ácido libre en un disolvente orgánico neutro inmezclable con agua, -  
30 tal como éter, lavarse el extracto con agua rápidamente en frío, si



se desea, y secarse, por ejemplo con  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro, y recuperarse el ácido libre de la solución etérea. El producto contenido en el extracto etéreo en su forma de ácido libre puede convertirse luego en cualquier sal metálica o amina deseada, particularmente las sales aminas atóxicas farmacéuticamente aceptables antes descritas, por tratamiento con la base apropiada, por ejemplo una amina libre tal como base de procaína o una solución de 2-etilexanoato potásico en n-butanol seco. Estas sales son ordinariamente insolubles en disolventes tales como éter y pueden recuperarse en forma pura por simple filtración.

Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar esta invención, sin limitarla a ellos.

Ejemplo 1

Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil)acetamido/penicilínico.

Parte A: Preparación de ácido  $\alpha$ -tienilglicólico.

Se enfría a  $-5^\circ\text{C}$ . una mezcla de tiofeno (1,0 m-g; 84,0 g), cloruro de oxalil etilo (1,0 m-g; 137,0 g) y 1500 ml. de tetracloroetano y se añade tricloruro aluminico en porciones durante un período de 45 minutos. Se deja llegar la mezcla a la temperatura ambiente, se remueve durante tres hora y se vierte luego en una mezcla de hielo y  $\text{ClH}$ . Se separa cuidadosamente la capa orgánica y se agita, sucesivamente, con  $\text{ClH}$  6N, cinco porciones de agua y una vez con una solución diluida de carbonato sódico. Luego se seca la capa orgánica sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ , se filtra y se libera de disolventes por destilación. El producto,  $\alpha$ -tienilglicoxilato etílico, tiene un punto de ebullición de  $90-91^\circ\text{C}$  a una presión de 0,15 mm. de mercurio.

Se refluxe durante 12 horas una mezcla de reacción conteniendo  $\alpha$ -tienilglicoxilato etílico (64,4 g; 0,349 m-g), carbonato sódico monohidrato (116,0 g; 0,95 m-g) en 150 ml de etanol y 500 ml de agua. Después de refluir, se hierve la mezcla reactiva con carbón vegetal

027107



5 y se filtra, evaporándose hasta su secamiento el filtrado. El residuo sólido blanco es disuelto con ácido 6N clorhídrico frío y extractado con tres porciones de 300 ml. de éter. Los extractos combinados son secados luego y despojados del éter para producir un sólido que es recristalizado dos veces a partir de benceno hirviente. El resultante producto cristalino, ácido alfa-tienilglioxílico, pesa 19,0 g y funde a 88-90°C.

Parte B: Preparación de cloruro del ácido alfa-tienilglioxílico

10 Se refluxe suavemente durante 7 horas una mezcla de reacción conteniendo cloruro de tionilo (24 g; 0,2 m-g), ácido alfa-tienilglioxílico (15,6 g; 0,1 m-g) en 100 ml. de diclorometano y 0,5 cm<sup>3</sup> de piridina y luego se filtra. Los disolventes y exceso de cloruro de tionilo son separados del filtrado por evaporación bajo reducida presión. El resultante producto, cloruro del ácido alfa-tienilglioxílico, es recuperado como un aceite.

Parte C: Preparación de 6-alfa-(2-tienil)glioxilamido/penicilinato potásico

20 Se añade a gotas una solución del cloruro del ácido 2-tienil glioxílico (preparado como se describe en la Parte B anterior) en 100 ml de acetona a una solución enfriada y vigorosamente removida (-5°C) de ácido 6-aminopenicilínico (21,6 g; 0,1 m-g) y bicarbonato sódico (42,0 g; 0,5 m-g) en 200 ml de agua y 100 ml de acetona. Al completarse la adición de la solución, se remueve la mezcla de reacción a la temperatura ambiente durante dos horas. Luego se diluye dicha mezcla con 200 ml de agua y es extractada dos veces con metil isobutil cetona. La capa acuosa extractada es enfriada y acidificada a un PH 2 con PO<sub>4</sub>H<sub>3</sub> 6N (40%) y luego extractada una vez más con metil isobutil cetona. El extracto que contiene al producto deseado, ácido 6-alfa-(2-tienil)glioxilamido/penicilínico, es lavado con agua y secado sobre sulfato sódico anhidro. El tratamiento del extracto con 50 ml. de una



solución butanólica al 40% de 2-etilexanoato potásico, resulta en la precipitación de algo de la sal potásica del antedecor ácido inicial sin reaccionar. Se seca luego más la solución de metil isobutil cetona por destilación azeotrópica de tres cuartos de la metil isobutil cetona -  
5 bajo reducida presión y se diluye con éter seco (1 litro), que precipita la sal potásica de la penicilina. Esta sal potásica es secada al vacío sobre  $P_2O_5$  y recuperada como polvo soluble en agua, pesando 3,1 g, conteniendo la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibiendo al Staph. aureus Smith a una concentración del -  
10 0,001% en peso.

Parte D: Preparación de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil)-acetamido $\gamma$  penicilinato potásico.

A una solución helada de 6- $\alpha$ -(2-tienil) glicoxilamido $\gamma$ penicilinato potásico (2,1 g; 0,005 m-g) en 15 ml de agua destilada y trihidratoacetato sódico (1,0 g) se añade  $BH_4Na$  (0,21 g; 0,005 m-g) en porciones tales que la temperatura no pase de 10°C y no se pierda ninguna mezcla en reacción por espumado. Durante la adición, se mantiene el pH en 8 aproximadamente mediante la adición intermitente en gotas de ácido acético glacial. Se añade éter intermitentemente de acuerdo con las -  
15 necesidades, para evitar el espumado por descenso de la tensión superficial. Una vez completada la adición del  $BH_4Na$ , se remueve la mezcla en el baño de hielo durante unos 10 minutos, luego durante media hora sin el baño de hielo y seguidamente se pasa a un embudo separador y se  
20 extracta con éter. Luego se separa en capas la fase acuosa con 75 ml. de éter y se ajusta en un pH 2 mediante la adición de un 40% de  $PO_4H_3$ , mientras se mantiene fría en un baño de hielo. El extracto etéreo que  
25 contiene el producto, ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil) acetamido $\gamma$ penicilínico, es lavado luego con dos porciones de agua y secado brevemente sobre  $SO_4Na_2$  anhidro y filtrado. Se forma la sal potásica por  
30 la adición de 3 ml. de 2-etilexanoato potásico al 40% en n-butanol.

287A07

- 12 -



5 La adición de otros 50 ml. de n-butanol causa el precipitado del pro-  
ducto como la sal potásica, que cristaliza por restregamiento. Se lava  
el precipitado con 10 cm<sup>3</sup>. de n-butanol y 10 cm<sup>3</sup> de acetona y se seca  
luego bajo reducida presión. El 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil) aceta-  
10 mido- $\gamma$ -penicilinato potásico pesa 1,0 g, contiene la estructura beta-  
lactama y difiere de la ceto-penicilina inicial según muestra el aná-  
lisis infrarrojo (ausencia de banda de  $-C=O$  en el espectro infrarrojo),  
funde con descomposición a 228°C, inhibe al Staph. aureus Smith a una  
concentración de 0,05 mcg/ml. y exhibe contra dicho estafilococo, tras  
su inyección intramuscular en ratones, una  $CD_{50}$  de 0,6 mcg/kg.

#### Ejemplo 2

Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-furil)-  
acetamido- $\gamma$ -penicilínico.

##### Parte A: Preparación del cloruro del ácido 2-furilglicoxílico.

15 Se añade lentamente durante un período de una hora una solución  
conteniendo furano redestilado (68,05 g; 1,0 m-g), 200 ml de éter die-  
tílico seco y 200 ml de éter de petróleo (alcanos inferiores mezcla-  
dos, principalmente n-exano, hirviendo a 60-68°C) a una solución que  
20 contiene cloruro de oxalilo (126,9 g; 1,0 m-g), 750 ml de éter seco y  
750 ml. de éter de petróleo. La última solución se mantiene bajo ni-  
trógeno a -30°C en un baño de acetona - hielo seco durante la adición  
de la solución de furano. Una vez completada la adición, se remueve  
la mezcla en reacción durante media hora más a temperaturas comprendidas  
entre -30 y 0°C. y seguidamente se retiran los disolventes por destila-  
25 ción bajo reducida presión. El producto, cloruro del ácido 2-furilglio-  
xílico, precipita tras la separación de los disolventes, se recoge por  
filtración, se lava con éter de petróleo y se seca.

Parte B: Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(2-furil)-  
glicoxilamido- $\gamma$ -penicilínico.

30 Se añade a gotas una solución de cloruro del ácido 2-furil-glio-  
xílico (31,9 g; 0,2 m-g) en 200 ml de acetona a una solución enfriada

287497

- 13 -



(-5°C) de ácido 6-aminopenicilánico (43,2 g; 0,2 m-g) y bicarbonato -  
sódico (84,0 g; 1 m-g) en 400 ml. de agua y 200 ml. de acetona. Después  
de completarse la adición de la solución del cloruro ácido, se remueve  
la mezcla de reacción a -5°C durante media hora y a la temperatura am-  
5 biente durante una hora. Luego se diluye la mezcla de reacción con -  
500 ml. de agua y se extracta dos veces con metil isobutil cetona. -  
La capa acuosa extractada es enfriada y acidificada a un pH 2 con PO<sub>4</sub>  
H<sub>3</sub> 6N (40%), extractándose luego unavez más con metil isobutil cetona.  
El extracto que contiene al producto deseado, ácido 6- $\sqrt{\text{alfa-(2-furil)-}}$   
10  $\text{gloxilamido}$  penicilínico, es lavado con agua y secado sobre sulfato -  
sódico anhidro.

El tratamiento del extracto seco con 100 ml. de una solución bu-  
tanólica al 50% de 2-etilexanoato potásico, tiene por resultado la pre-  
cipitación de la sal potásica del anterior ácido inicial, filtrándose  
15 y desechándose los sólidos. El filtrado, que es primeramente secado por  
destilación azeotrópica de parte de la metil isobutil cetona, es dilui-  
do con 3 litros de éter seco, tras lo cual precipita el producto y es  
recogido por filtración, lavado con éter seco y éter de petróleo y se-  
cado al vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. El producto, la sal potásica de ácido 6- $\sqrt{\text{alfa-}}$   
20  $\text{-(2-furil) gloxilamido}$  penicilínico, contiene la estructura beta-lac-  
tama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith  
a una concentración del 0,001% en peso.

Parte C: Preparación de 6- $\sqrt{\text{alfa-hidroxi-alfa-(2-furil)-}}$ acetami-  
do penidilinato potásico.

25 A una solución helada de ácido 6- $\sqrt{\text{alfa-(2-furil)gloxilamido}}$ pe-  
nicilínico (75 g; 0,2 m-g) en 500 ml. de agua destilada y acetato sódico  
trihidrato (27,2g), se añade BH<sub>4</sub>Na (7,4 g; 0,2 m-g) en porciones ta-  
les que la temperatura no pase de 10°C y no se pierda ninguna mezcla -  
de reacción por espumado. Durante la adición que requiere aproximada-  
30 mente una hora, se mantiene el pH en 8 aproximadamente mediante la adi-  
ción en gotas de ácido acético glacial. Se añade intermitentemente éter

287497

- 14 -



de acuerdo con las necesidades para evitar el espumado por descenso de la tensión superficial. Después de completada la adición del  $\text{EH}_4\text{Na}$ , se remueve la mezcla en el baño de hielo durante unos 10 minutos, y luego durante media hora sin el baño de hielo, pasándose seguidamente a un embudo separador y extractándose con 500 ml. de éter. Se separa en capas la fase acuosa con 400 ml. de éter y se ajusta luego a un pH 2 mediante la adición de un 40% de  $\text{PO}_4\text{H}_3$ , mientras se mantiene fría en un baño de hielo. El extracto etéreo que contiene al producto, ácido 6-alfa-hidroxi-alfa-(2-furil) acetamido penicilínico, es lavado luego con dos porciones de 400 ml. de agua y secado brevemente sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro, filtrándose seguidamente. Se forma la sal potásica y precipita como aceite mediante la adición de unos 40 ml. de 2-etilexanoato potásico al 40% en n-butanol. Se decanta el disolvente y se tritura el aceite con n-butanol, tras lo cual cristaliza la sal. El 6-alfa-hidroxi-alfa-(2-furil)-acetamido penicilinato potásico es recogido por filtración. Luego se disuelve el producto en una mezcla de 200 ml. de n-butanol y 20 ml de agua. Se separa el agua de la solución por destilación azeotrópica y precipita el producto, que se recoge por filtración, conteniendo la estructura beta-lactama y difiriendo de la ceto-penicilina inicial según muestra el análisis infrarrojo (ausencia de la banda de  $\text{C}=\text{O}$  en el espectro infrarrojo), inhibiendo al Staph. aureus Smith a una concentración del 0,001% en peso.

### Ejemplo 3

Preparación de la sal potásica del ácido 6-alfa-hidroxi-alfa-(2-tienil)-acetamido penicilínico.

#### Parte A: Preparación del ácido alfa-(2-tienil)glioxílico.

A una solución de 2-acetiltiofeno (100, 8 g; 0,8 m-g) en 600 ml. de piridina a 60°C, se añade dióxido de selenio (137 g; 1,24 m-g). Se remueve vigorosamente la mezcla y se calienta lentamente a 90°C, en cuyo punto empieza una reacción exotérmica. Cuando la temperatura de



la reacción pasa de 100°C, se enfría la mezcla. Después de media hora aproximadamente, se aplica de nuevo calor externo a la mezcla en reacción y se mantiene ésta a 90°C. durante dos horas. Luego se enfría a 20°C, se filtra a través de un auxiliar filtrante (tierra de infusorios) y se diluye con 600 ml. de agua. Se separa la piridina mediante destilación con vapor de agua y la resultante solución acuosa caliente es tratada con carbón vegetal, filtrada y concentrada a unos 200 ml. por evaporación. Esta solución es enfriada, acidificada a un pH de 1,5 a 2,0 con un 40% de  $\text{PO}_4\text{H}_3$ , saturada con sal y extractada con tres porciones de 300 ml. de éter. Los extractos combinados son lavados con tres porciones de 50 ml. de agua y secados sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro a 5°C. durante 2 horas. La solución etérea es concentrada al vacío después de filtrarse, secándose más mediante la adición de 200 ml. de benceno y la destilación azeotrópica del agua de la solución. El aceite amarillo claro que queda es disuelto en 700 ml. de benceno caliente y, al enfriarse, se obtienen 79 g de cristales amarillo claro de ácido alfa-(2-tienil) glioxílico, de un punto de fusión de 91°C. Concentrando el filtrado, se obtienen otros 18 g de ácido alfa-(2-tienil) glioxílico, dando una producción total de 97,0 g, ó un 83% de lo teórico.

Parte B: Preparación del cloruro del ácido alfa-(2-tienil)-glioxílico.-

Se calienta lentamente una mezcla de ácido alfa-(2-tienil)-glioxílico (70 g), 100 ml. de cloruro de tionilo redistilado y 2 gotas de piridina, con agitación a unos 60°C, en cuyo punto empieza una vigorosa reacción. Cuando cede el calor de la reacción (después de unos cinco minutos), se calienta la mezcla al reflujo durante una hora, Luego se separa el exceso de cloruro de tionilo bajo reducida presión y el producto, cloruro de alfa-(2-tienil) glioxililo, es destilado a -96°C., bajo una presión de 9 mm. de mercurio. El producto (70 g), un aceite amarillo, cristaliza al reposar en un sólido amarillo que tie-

2870



ne un punto de fusión de 33-34°C.

Parte C: Preparación de 6- $\alpha$ -(2-tienil)-glicoxilamido/-penicilinato potásico.

5 Se añade a gotas una solución del cloruro del ácido alfa-(2-tienil) glioxílico (71,6 g; 0,41 m-g) en 300 ml. de acetona a una solución enfriada y vigorosamente removida (-5°C) de ácido 6-aminopenicilínico (86,4 g; 0,4 m-g) y bicarbonato sódico (168,0 g; 2,0 m-g) en 600 ml. de agua y 300 ml. de acetona. Después de completarse la adición de la solución de cloruro ácido, se remueve la mezcla reactiva a la temperatura ambiente durante una hora. Luego se extrae la mezcla reactiva con 10 dos litros de metil isobutil cetona. La capa acuosa extractada es enfriada y acidificada a un pH 2 con  $\text{PO}_4\text{H}_3$  6N (40%) y se extrae luego con 1400 ml. de metil isobutil cetona. La capa de metil isobutil cetona es extractada con dos porciones de 1 litro de agua y dos porciones 15 de 400 ml. de soluciones salinas saturadas, secada por destilación azeotrópica a un volumen de 400 ml. y diluida con éter seco. La sal potásica del producto se forma añadiendo una solución de 2-estilexanoato potásico y que está separada y cristalizada tal y como se indica en el Ejemplo 2, Parte C. La sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(2-tienil) - 20 glioxilamido/-penicilínico (80 g) es secada al vacío sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  y recuperada como polvo soluble en agua, pesando 3,1 g, conteniendo la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibiendo al Staph, aureus Smith en concentraciones del 0,001% en peso.

Parte D: Preparación del 6- $\alpha$ -hidroxi-alfa-(2-tienil)-acetamido/-penicilinato potásico

25 A una solución helada de 6- $\alpha$ -(2-tienil) glioxilamido/-penicilinato potásico (78 g; 0,2 m-g), 500 ml de agua y 100 ml. de éter y acetato sódico trihidrato (40 g; 0,3 m-g), se añade  $\text{BH}_4\text{Na}$  (11,1 g; 0,3 m-g) en pequeñas porciones durante un período de una hora aproximadamente. Durante la adición se mantiene el pH en 8-9 aproximadamente me- 30



diante la adición en gotas de ácido acético glacial. Una vez completa la adición del  $BH_4Na$ , se deja alcanzar lentamente a la mezcla los  $20^{\circ}C$ . durante un período de una hora. Se añade periódicamente ácido acético para mantener el pH en 8 aproximadamente. Luego se extrae la mezcla con éter y se desecha el extracto etéreo. Luego se separa en capas la fase acuosa con 500 ml. de éter y se ajusta seguidamente a un pH 2 mediante la adición de un 40% de  $PO_4H_3$  mientras se mantiene fría en un baño de hielo. El extracto etéreo que contiene el producto, el ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil) acetamido/penicilínico, es lavado luego con tres porciones de 100 ml. de agua y se seca brevemente sobre  $SO_4Na_2$  anhidro, filtrándose seguidamente. Se forma la sal potásica por la adición de 2-etilexanoato potásico al 5% en n-butanol, hasta que no se produce más nebulosidad. Se enfría la mezcla de reacción durante 15 minutos en un baño de hielo y se decanta el éter. La adición de 500 ml. más de n-butanol causa la precipitación del producto como la sal potásica con cristalización inducida por restregamiento. El precipitado se recupera por filtración después de reposar en hielo durante una hora. Se lava el producto con acetona, se seca y seguidamente se recrystaliza cinco veces a partir de porciones de 400 ml. de butanol húmedo (10%) de agua en volumen. El producto obtenido después de la última recrystalización, un diastereoisómero de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil)-acetamido/penicilinato potásico, pesa 3,3 g, contiene la estructura beta-lactama determinada por análisis infrarrojo, tiene una rotación óptica de  $+253^{\circ}$ , difiere de la ceto-penicilina inicial según muestra el análisis infrarrojo (ausencia de la banda de  $-C=O$  en el espectro infrarrojo), funde con descomposición a  $234^{\circ}C$ , inhibe al Staph. aureus Smith a una concentración de 0,1 mcg/ml. y exhibe contra el Staph. aureus Smith, al inyectarse intramuscularmente en ratones, una  $CD_{50}$  de 4,4 mcg/kg.

Ejemplo 4

Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -

287497



(2-tienil)- acetamido/ penicilínico.

5

Se disuelve ácido alfa-(2-tienil) glicófilico (15,6 g, 0,1 m-g) en una mezcla de 220 ml. de dioxano seco y 44 ml. de acetona seca. Se añade trietilamina seca (0,1 m-g) y se enfría la solución a 0°C con vigoroso removido, usando tubos de  $Cl_2Ca$  para protegerla contra la humedad atmosférica. Se añade cloroformato etílico (0,1 m-g) con vigoroso removido a un ritmo tal que la temperatura de la mezcla no pase de 4°C. Se forma así una suspensión de  $(CH_3CH_2)_3N.ClH$ . Se remueve la mezcla a 0°C durante media hora.

10

Se prepara una solución separada de ácido 6-aminopenicilínico, (21,6 g; 0,1 m-g) añadiendo una solución fría (5°C) de trietilamina - (0,1 m-g) en 30 ml. de agua al ácido 6-aminopenicilínico mientras se enfría en un baño de hielo. Unos minutos de removido produce una solución clara, viscosa y de color ámbar. Esta solución se añade cuidadosamente, sin removido, a la mezcla preparada en A anterior. La mayor parte de la solución de ácido 6-aminopenicilínico cae al fondo del - matraz. Luego se remueve la mezcla durante una hora a 6-8°C, en cuyo tiempo se desprende dióxido de carbono. Luego se añade a la mezcla de la reacción con removido una solución de  $CO_3HNa$  (0,084 m-g) en 400 ml. de agua, que ha sido enfriada a 10°C. Se extracta la mezcla con dos porciones de 320 ml. de éter helado. Las porciones etéreas son desechadas y se separa en capas la mezcla de la reacción mediante la adición de 500 ml. de metil isobutil cetona fría. Se acidifica la mezcla a unos 10°C. mediante la adición de 56 ml. de  $SO_4H_2$  6N (0,168 m-g) y se pasa inmediatamente a un embudo separador. La capa de metil isobutil cetona es recogida y la capa restante extractada con otros 500 ml. de metil isobutil cetona fría. Los dos extractos de metil isobutil cetona son combinados, lavados con 120 ml. de agua helada, agitados con suficiente  $SO_4Na_2$  hasta secarse y filtrados. Al filtrado se añade 2-etilhexanoato potásico (0,110 m-g) como solución al 50% en n-butanol -

15

20

25

30

287497

- 19 -



El producto precipitado es recogido, obteniéndose más producto como precipitado mediante la adición de éter al filtrado. Los precipitados combinados pesan 20,5 g. El producto inhibe al Staph. aureus Smith a una concentración de 3,1 mcg/ml.

5

Ejemplo 5

Preparación de 6- $\sqrt{\text{alfa-(3-tienil)glioxilamido}}$  penicilinato potásico.-

10

Se repite el proceso descrito en el Ejemplo, 3, partes B y C, con la excepción de que se emplea ácido alfa-(3-tienil)glioxílico (preparado a partir de 3-acetiltiofeno en vez de 2-acetiltiofeno por el procedimiento descrito en el Ejemplo 3; Parte A) en lugar del ácido alfa-(2-tienil)-glioxílico. El producto final, la sal potásica del ácido - 6- $\sqrt{\text{alfa-(3-tienil)glioxilamido}}$ penicilínico, contiene la estructura - beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a concentraciones del 0,001% en peso.

15

Ejemplo 6

Preparación de 6- $\sqrt{\text{alfa-hidroxi-alfa-(3-tienil)acetamido}}$  penicilinato potásico.-

20

Se repite el proceso descrito en el Ejemplo 3, parte D, con la excepción de que se emplea 6- $\sqrt{\text{alfa-(3-tienil) glioxilamido}}$  penicilinato potásico preparado en el Ejemplo 5, en lugar del 6- $\sqrt{\text{alfa-(2-tienil) glioxilamido}}$  penicilinato potásico. El producto final, la sal potásica del ácido 6- $\sqrt{\text{alfa-hidroxi-alfa-(3-tienil)acetamido}}$  penicilínico, contiene la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a concentraciones del 0,001% en peso.

25

Ejemplo 7

Preparación de un diastereoisómero de 6- $\sqrt{\text{alfa-hidroxi-alfa-(2-tienil) acetamido}}$  penicilinato potásico.

30

A una solución de la sal sódica del ácido 6-aminopenicilínico - (4,77 g; 0,02 m-g) en 100 ml de agua y 165 ml de dioxano, enfriada -

287497

26



- 20 -

a 10°C. aproximadamente, se añade una solución de N,N'-dicicloexilcarbodiimida (4,13 g; 0,02 m-g) en 50 ml. de dioxano.

Al cabo de un minuto aproximadamente, se añade a la solución -  
otra de ácido 3-tienilglicólico (3,48 g; 0,022 m-g) preparada como se  
5 describe en S.Gronowitz, Arkiv. Kemi, 11, 519 (1957) [CA 52, 10050 A  
(1958)] y resuelta a la forma (+) descrita en J.Gronowitz, Arkiv. Kemi  
13, 231-8 (1958), con un punto de fusión de 123,5-124°C y  $[\alpha]_D^{25}$  -  
+ 102,5°, en 50 ml. de dioxano, y se remueve la mezcla con enfriamiento  
10 durante hora y media aproximadamente. Se separa por filtración la di-  
cicloexilurea, que empieza a precipitar unos 5 minutos después de la  
adición del ácido, se lava con 25 ml. de agua fría y se liofiliza el  
filtrado.

El residuo de liofilización es tratado con 75 ml. de agua fría,  
se ajusta el pH en 6,5 con bicarbonato sódico y se filtra la solución  
15 para separar material insoluble. El filtrado es enfriado, separado en  
capas con 75 ml. de acetato de etilo y acidificado a un pH 2 con ácido  
2N, fosfórico. Se separan las capas y se extracta la capa acuosa con  
otra porción de 75 ml. de acetato etílico. Los combinados extractos -  
de acetato etílico son secados brevemente sobre sulfato sódico anhi-  
dro y se añade 0,02 m-g de 2-etilexanoato potásico al 50% en n-buta-  
20 nol. Se recupera por filtración la sal potásica de un diastereoisóme-  
ro de ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-tienil)-acetamido penicilínico.  
Contiene la estructura beta-lactama determinada por análisis infrarro-  
jo e inhibe al Staph, aureus Smith a una concentración del 0,001% en  
25 peso.

#### Ejemplo 8

Preparación de un diastereoisómero de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-  
30 furil)-acetamido penicilinato potásico.

Se repite el procedimiento del Ejemplo 7, con la excepción de -



que se emplea ácido 2-furilglicólico, preparado como se describe en Chem. Ber., 87, 276 (1954), en lugar del ácido 3-tienilglicólico. El producto, un diastereoisómero de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-furil) acetamido penicilínico, contiene una estructura beta-lactama determinada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a una concentración del 0,001% en peso.

#### Ejemplo 9

#### Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-piridil) acetamido penicilínico.

Parte A: Se enfría a 0°C una suspensión de la sal cúprica del ácido  $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-piridil)acético (40,5 g; 0,220 m-g) en 200 m. de agua. Se introducen burbujas de gas de sulfuro de hidrógeno a través de la suspensión durante media hora. Luego se filtra la suspensión y se somete a vacío el filtrado a 25°C. para separar el exceso de sulfuro de hidrógeno. La resultante solución pardo clara, que contiene ácido  $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-piridil)acético, tiene un volumen de 160 ml. Se diluye a 660 ml. con la adición de dioxano.

Parte B: Se disuelven ácido 6-aminopenicilínico (43,2 g; 0,200 m-g) y bicarbonato sódico (16,8 g; a 0,200 m-g) en 1000 ml. de agua. Se diluye esta solución con 1600 ml. de dioxano y se enfría a 15°C. Mientras se remueve, se añade una solución de dicitcloexilcarbodiimida (41,2 g; 0,200 m-g) en 500 ml. de dioxano y, al cabo de un minuto, se añade la solución de ácido  $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-piridil)-acético, preparada en la Parte A anterior. La precipitación de dicitcloexilurea empieza pasados unos tres minutos. Se remueve la mezcla en reacción durante 2 horas (con temperatura, al comienzo, de 15,7°C., que desciende a 13,5°C al terminarse el removido) y se filtra para separar dicitcloexilurea (24,3 g). El filtrado es liofilizado y el material seco resultante de la liofilización es extractado con dos porciones de 600 ml. de acetato etílico y filtrado.



5 Parte C: Los sólidos insolubles en acetato etílico son extra-  
tados con tres porciones de 500 ml. de acetona seca y se filtran los  
extractos combinados. Se añade al filtrado una solución de 2-etil-exa-  
noato potásico (20,0 g) en éter, lo que tiene por resultado la forma-  
ción de un precipitado (12,8 g). Se recrystaliza una porción de este  
10 filtrado (2,8 g) a partir de alcohol etílico absoluto, siendo induci-  
da la cristalización mediante la adición de acetato etílico. El pro-  
ducto, la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-piridil) ace-  
tamido/penicilínico (2,2 g), es secado al vacío durante la noche a -  
25°C. Tiene un punto de fusión de 190-195°C con descomposición, con-  
tiene el anillo beta-lactama mostrado por análisis infrarrojo, inhi-  
be al Staph. aureus Smith a una concentración de 0,8 mcg/ml. y exhi-  
be contra dicho estafilococo, al inyectarse intramuscularmente en ra-  
tones, una  $CD_{50}$  de 16 mg./kg.

15 Ejemplo 10

Preparación de la sal sódica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(3-  
piridil)acetamido/ penicilínico.

20 Se disuelven ácido 6-aminopenicilínico (121,1 g; 0,0976 m-g) y  
bicarbonato sódico (8,20 g; 0,0976 m-g) en 490 ml de agua y 812 ml. -  
de dioxano y la resultante solución es enfriada a 12°C. A esta solu-  
ción, mientras se remueve, se añade una solución de dicitcloexilcarbo-  
nimida (20,1 g; 0,0976 m-g) en 245 ml de dioxano y, pasados 45 segun-  
dos, se añade una solución de hidrocioruro del ácido  $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -  
25 (3-piridil) acético (18,5 g; 0,0976 m-g) (obtenida por la hidrólisis  
ácida de hidrocioruro del ácido  $\alpha$ -benzoiloxi- $\alpha$ -(3-piridil)acé-  
tico) y bicarbonato sódico (8,20 g; 0,0976 m-g) en 78 ml. de agua y  
245 ml. de dioxano. La precipitación de dicitcloexilurea empieza casi  
inmediatamente. La temperatura de la mezcla en reacción desciende de  
12,9 a 10,1°C durante un tiempo de reacción de una hora. Se filtra la  
30 mezcla para separar dicitcloexilurea (19,7 g) y se liofiliza el fil-



trado. El material seco resultante de la liofilización es disuelto en 400 ml. de agua y filtrado para separar un material insoluble. Se ajusta el filtrado a un pH 2,0 con ácido 6N sulfúrico y se extracta con dos porciones de 200 ml. de acetato etílico, que se desechan. Se ajusta la solución acuosa en un pH de 3,8 con bicarbonato sódico y se liofiliza. El residuo seco es triturado con 55 ml. de agua y se disuelve el material insoluble (11,2 g) en 40 ml. de agua y 360 ml de acetona. Se filtra la solución y se trata con 4 g de 2-etilexanoato sódico en éter. Luego se seca la solución por centelleo, usando porciones adicionales de acetato etílico para eliminar los vestigios de humedad. El producto, la sal sódica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(3-piridil) acetamido penicilínico, es recogido por filtración, con un peso de 6,5 g. un punto de fusión de 213-216°C con descomposición, conteniendo la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo, inhibiendo al Staph. aureus Smith a una concentración de 3,1 mcg/ml. y exhibiendo contra dicho estafilococo, al inyectarse intramuscularmente, en ratos una  $CD_{50}$  de 22,5 mg/kg.

Ejemplo 11

Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil) acetamido penicilínico.

Parte A: Preparación del cloruro de ácido 2-pirrolilgloxílico

Se añade lentamente durante un período de una hora una solución conteniendo pirrol redestilado (63,5 g; 0,95 m-g), 200 ml. de éter dietílico seco y 200 ml. de éter de petróleo (alcanos inferiores mezclados, principalmente n-exano, hirviendo entre 60 y 68°C) a una solución conteniendo cloruro de oxalilo (112,0 g; 0,88 m-g), 750 ml. de éter seco y 750 ml. de éter de petróleo. Se mantiene la última solución bajo nitrógeno a -30°C en un baño de acetona - hielo seco durante toda la adición de la solución de pirrol. Una vez completada la adición, se remueve la mezcla de reacción durante media hora más a temperaturas comprendidas



entre 30 y 0°C y seguidamente se separan los disolventes por destilación bajo reducida presión. El producto, cloruro del ácido 2-pirrolilglicoxílico, precipitado tras la separación de los disolventes, se recoge por filtración, se lava con éter de petróleo, se seca y muestra un peso de 112 g y un punto de fusión de 72 a 73°C.

Parte B: Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(2-pirrolil) glicoxilamido/penicilínico.

Se añade a gotas una solución de cloruro del ácido 2-pirrolilglicoxílico (20,0 g; 0,13 m-g) en 100 ml de acetona a una solución enfriada (-5°C) de ácido 6-aminopenicilínico (21,6 g; 0,1 m-g) y bicarbonato sódico (42,0 g; 0,5 m-g) en 200 ml de agua y 100 ml. de acetona. Una vez completada la adición de la solución de cloruro ácido, se remueve la mezcla de reacción a -5°C durante media hora y a la temperatura ambiente durante una hora. Luego se diluye la mezcla de reacción con 500 ml. de agua y se extracta dos veces con metil isobutil cetona. La capa acuosa extractada es enfriada y acidificada (pH = 2) con  $\text{PO}_4\text{H}_3$  6N (40%) y luego extractada una vez con metil isobutil cetona. El extracto que contiene al producto deseado, ácido 6- $\alpha$ -(2-pirrolil)glicoxilamido/penicilínico, es lavado con agua y secado sobre sulfato sódico anhidro. El tratamiento del extracto con 50 ml. de una solución butanólica al 40% de 2-etil hexanoato potásico, tiene por resultado la precipitación, como sal potásica, de una pequeña cantidad del ácido inicial. El filtrado, que se seca primeramente por destilación azeotrópica de parte de la metil isobutil cetona, es diluido con éter seco, tras lo cual precipita el producto y es recogido por filtración, secado al vacío sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  y recuperado como polvo soluble en agua. El producto, la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(2-pirrolil) glicoxilamido/penicilínico, pesa 40,0 g (80% de la teoría), funde con descomposición a 120-130°C, contiene la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a una concentración de 1,6 - mg/ml.



Parte C: Preparación de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)-acetamido $\gamma$  penicilinato potásico.

A una solución helada de sal potásica de ácido 6- $\alpha$ -(2-pirrolil) glicoxilamido $\gamma$  penicilínico potásico (37,5 g; 0,1 m-g) en 400 ml. de agua destilada y acetato sódico trihidrato (13,6 g; 0,1 m-g), se añaden 5  $\text{BH}_4\text{Na}$  (3,7 g; 0,1 m-g) en porciones tales que la temperatura no pase de 10°C y no se pierda ninguna mezcla de reacción por espumado. Durante la adición, que requiere una hora aproximadamente, se mantiene el pH en 8 aproximadamente por adición intermitente en gotas de ácido acético glacial. Se añade intermitentemente éter de acuerdo con las necesidades para evitar el espumado por descenso de la tensión superficial. 10 Una vez completada la adición del  $\text{BH}_4\text{Na}$ , se remueve la mezcla en el baño de hielo durante unos 10 minutos y luego durante media hora sin el baño de hielo, pasándose seguidamente a un embudo separador y extractándose con 15 500 ml. de éter. Se separa en capas la fase acuosa con 400 ml. de éter y se ajusta luego en un pH 2 mediante la adición de un 40% de  $\text{PO}_4\text{H}_3$  mientras se mantiene fría en un baño de hielo. El extracto etéreo que contiene al producto, ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)acetamido $\gamma$ -penicilínico, se lava luego con dos porciones de 400 ml. de agua y se seca brevemente sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro y se filtra. Se formó la sal 20 potásica por la adición de 40 ml. de 2-etilhexanoato potásico al 40% en n-butanol y 200 ml. más de éste causaron el precipitado del producto como la sal potásica con cristalización inducida por restregamiento. El 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)acetamido $\gamma$ penicilinato potásico fue 25 recogido por filtración, con un peso de 6,0 g, conteniendo la estructura beta-lactama y difiriendo de la ceto-penicilina inicial según mostró el análisis infrarrojo (ausencia de la banda de  $\text{-C=O}$  en el espectro infrarrojo); fundió con descomposición a 225°C, inhibió al Staph. aureus Smith a una concentración de 0,4 mcg/ml y exhibió contra dicho estafilococo, tras su inyección intramuscular en ratones, una  $\text{CD}_{50}$  de 0,85 30 omg/kg.

287497

- 26 -

Ejemplo 12Preparación de un diastereoisómero de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)acetamido/penicilinato potásico.

5 Se disolvió un total de 50 g de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)acetamido/penicilinato potásico obtenido por el procedimiento del Ejemplo 11, en una mezcla de 750 ml. de n-butanol y 200 ml. de agua. Se filtró la solución y se almacenó en un matraz a 30°C. hasta que empezó la cristalización. Los cristales (8 g) fueron recogidos por filtración y sucesivamente recristalizados a partir de porciones de 900, 700  
10 y 500 ml. respectivamente, de n-butanol húmedo. Después de la última recristalización, se obtuvo un diastereoisómero de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(2-pirrolil)acetamido/penicilinato, potásico, que contenía la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo, tenía una rotación de  $[\alpha]_D^{25} = 239^\circ$  (c = 0,5% en agua), un punto de descomposición de -225° aproximadamente, inhibía al Staph. aureus Smith a una concentración de 0,4 mcg/ml y exhibió contra dicho estafilococo, tras su inyección intramuscular en ratones, una  $CD_{50}$  de 1,1 mcg/kg.

Ejemplo 13Preparación de la sal sódica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil) acetamido/penicilínico.Parte A: Preparación del cloruro del ácido N-fenil-2-pirrolil-glioxílico.

25 Se enfría a - 35°C una solución de cloruro de oxalilo (44,0 g; 0,35 m-g) en 325 ml. de éter de petróleo (alcanos inferiores mezclados, principalmente n-hexano, hirviendo a 60-68°C aproximadamente) y 375 ml. de éter seco. A esta solución bajo nitrógeno, se añade lentamente, durante un período de 20 minutos, una solución de N-fenil-pirrol (50,0 g; 0,35 m-g) en 250 ml. de éter seco. Después de mezclar los reactivos, se ponen gradualmente a la temperatura ambiente y luego se remueven durante  
30 te media hora más, refluendose seguidamente durante la noche, en cuyo

287497

- 27 -



5 tiempo se observó desprendimiento de gas de ClH. Después de refluir, se separan por evaporación 500 ml. de disolvente, se filtra la restante solución y se retira luego por evaporación el resto del disolvente. El producto resultante, cloruro de N-fenil-2-pirrolilglioxililo, se obtiene como producto oleoso crudo que pesa 84 g.

Parte B: Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil) glioxilamido penicilínico.

10 Se añade a gotas una solución de cloruro del ácido N-fenil-2-pirrolilglioxílico crudo (84,0 g de producto oleoso crudo de la Parte A anterior) en 250 ml. de acetona, a una solución enfriada (-5°C) de ácido 6-aminopenicilínico (64,8 g; 0,3 m-g) y bicarbonato sódico (126,0 g; 1,5 m-g) en 600 ml. de agua y 600 ml. de acetona. Una vez completada la adición de la solución de cloruro ácido, se remueve la mezcla de reacción a -5°C durante media hora y a la temperatura ambiente durante 15 una hora. Luego se diluye la mezcla de reacción con 500 ml. de agua y se extracta dos veces con metil isobutil cetona. Se enfría la capa acuosa extractada y se acidifica a un pH 2 con  $\text{PO}_4\text{H}_3$  6N (40%) y luego se extracta una vez con metil isobutil cetona. El extracto que contiene al producto deseado, el ácido 6- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil) glioxilamido penicilínico, es lavado con agua y secado sobre sulfato sódico anhidro. Durante el proceso de secado, se forma en el extracto un precipitado, ácido 6- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil) glioxilamido penicilínico, que se recoge por filtración, con un peso de 18,0 g, un punto de fusión de 154-155°C con descomposición, contiene el anillo betalactama 25 mostrado por análisis infrarrojos e inhibe al Staph aureus Smith a una concentración de 0,8 mcg/ml.

30 El tratamiento del extracto filtrado con 100 ml. de una solución butanólica al 50% de 2-etilexanoato potásico tiene por resultado la precipitación (como aceite) de sal potásica del ácido anterior. Luego se separan los disolventes del precipitado por destilación y se tritura el precipitado con 1,8 litros de éter seco, después de lo cual cristaliza la sal. La sal potásica fué recogida por filtración, lavada con



éter seco y éter de petróleo y secada al vacío sobre  $P_2O_5$ . El producto ácido 6- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil)gloxilamido penicilínico potásico, pesa 72,0 g (80% de la teoría), funde con descomposición a 120-130°C, contiene la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a concentraciones del 0,001% en peso.

Parte D: Preparación de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil) acetamido penicilinato sódico.

A una solución helada de ácido 6- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil)-gloxilamido penicilínico (16,0 g) en 100 ml. de agua destilada y acetato sódico trihidrato (6,0 g) se añadió  $BH_4Na$  (1,0 g) en porciones tales que la temperatura no pasase de 10°C y no se perdiese ninguna mezcla en reacción por espumado. Durante la adición, que requirió aproximadamente una hora, se mantuvo el pH en 8 aproximadamente mediante la adición y gotas de ácido acético glacial. Se añadió éter intermitentemente en la medida necesaria para evitar el espumado por descenso de la tensión superficial. Una vez completada la adición del  $BH_4Na$ , se removió la mezcla en el baño de hielo durante unos 10 minutos y luego durante media hora sin el baño de hielo, transfiriéndose seguidamente a un embudo separador y extractándose con 125 ml. de éter. Se separó en capas la fase acuosa con 100 ml. de éter y se ajustó luego en un pH 2 mediante la adición de un 40% de  $PO_4H_3$  mientras se mantenía fría en un baño de hielo. El extracto etéreo que contenía al producto, ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil)acetamido penicilínico, fue lavado con dos porciones de 100 ml. de agua, secado brevemente sobre  $SO_4Na_2$  anhidro y filtrado. Se formó y precipitó la sal sódica como aceite por la adición de unos 20 ml. de 2-etilexanoato sódico al 40% en n-butanol. Se decantó el disolvente y se trituró el aceite con éter seco, tras lo cual cristalizó la sal. El 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-fenil-2-pirrolil)acetamido penicilinato sódico fue re-



5 cogido por filtración, con un peso de 13,0 g, conteniendo la estructura beta-lactama y difiriendo de la ceto-penicilina inicial según mostró el análisis infrarrojo (ausencia de la banda de  $\text{C}=\text{O}$  en el espectro infrarrojo), fundiendo con descomposición a 226°C (oscureciéndose lentamente por encima de 120°C) e inhibiendo al Staph. aureus Smith a una concentración de 0,4 mcg/ml.

Ejemplo. 14

Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)acetamido/ penicilínico.

10 Parte A: Preparación del cloruro de ácido N-metil-2- pirrolilglicoxílico.

15 Se enfría a -30°C. una solución de cloruro de oxalilo (112,0 g; 0,88 m-g) en 1000 ml. de éter de petróleo (alcanos inferiores mezclados, principalmente n-hexano, hirviendo a 60-68°C aproximadamente) y - 1000 ml. de éter seco. A esta solución se añade lentamente a gotas una solución de N-metilpirrol (60,0 g; 0,74 m-g) en 200 ml. de éter seco. Después de mezclarse, se remueven los reactivos durante 30 minutos sobre un baño de hielo seco - acetona y luego durante media hora más después de la retirada del baño. Se filtra luego la solución y se separa 20 el disolvente del resultante filtrado amarillo claro por evaporación a 30°C bajo reducida presión para obtener el producto, cloruro de N-metil-2-pirrolilglicoxililo, como aceite amarillo que pesa 124 g.

Parte B: Preparación de la sal potásica del ácido 6- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)glicoxilánido/ penicilínico.

25 Se añade a gotas una solución de cloruro de ácido N-metil-2-pirrolilglicoxílico crudo (40,0 g de producto oleoso de la Parte A anterior; 0,23 m-g) en 200 ml. de acetona, a una solución enfriada (-5°C) de ácido 6-aminopenicilánico (43,2 g; 0,2 m-g) y bicarbonato sódico (84 g; 1 m-g) en 400 ml. de agua y 200 ml. de acetona. Después de - 30 completarse la adición de la solución del cloruro ácido, se remueve -

257407

20



5

la mezcla de reacción a  $-5^{\circ}\text{C}$  durante media hora y a la temperatura ambiente durante 1 hora. Luego se diluye la mezcla de reacción con 500 ml. de agua y se extrae dos veces con metil isobutil cetona. La capa acuosa extractada es enfriada y acidificada a un pH 2 con  $\text{PO}_4\text{H}_3$  6N (40%) y luego se extrae una vez con metil isobutil cetona. El extracto que contiene al producto deseado, ácido 6- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)glioxilamido penicilínico, es lavado con agua y secado sobre sulfato sódico anhidro.

10

El tratamiento del extracto secado con 100 ml. de una solución butanólica al 50% de 2-etilexanoato potásico tiene por resultado la precipitación de la sal potásica sin reaccionar del anterior ácido inicial, que es separado por filtración. El filtrado, que es ulteriormente secado por destilación azeotrópica de parte de la metil isobutil cetona, es diluido luego con 3 litros de éter seco, tras lo cual precipita el producto y es recogido por filtración, lavado con éter seco y éter de petróleo y secado al vacío sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$ . El producto, 6- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)glioxilamido penicilinato potásico, pesa 75 g, - funde con descomposición a  $120-150^{\circ}\text{C}$ , contiene la estructura beta-lactama mostrada por análisis infrarrojo e inhibe al Staph. aureus Smith a una concentración de 1,6 mcg/ml.

15

20

Parte C: Preparación de 6- $\alpha$ -hidroxi- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)acetamido penicilinato potásico.

25

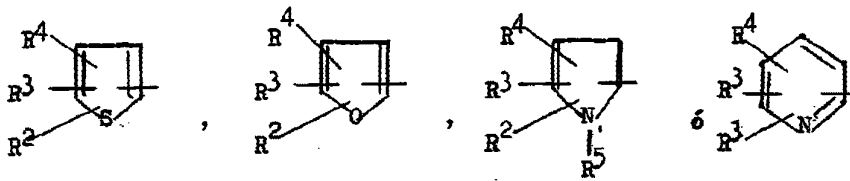
A una solución helada de ácido 6- $\alpha$ -(N-metil-2-pirrolil)-glioxilamido penicilínico (70 g de producto de la Parte B anterior) en 500 ml. de agua destilada y acetato sódico trihidrato (27,2 g), se añade  $\text{BH}_4\text{Na}$  (7,4 g; 0,2 m-g) en porciones tales que la temperatura no pase de  $10^{\circ}\text{C}$  y no se pierda ninguna mezcla de reacción por espumado. Durante la adición, que requiere aproximadamente una hora, se mantiene el pH en 8 aproximadamente mediante la adición a gotas de ácido acético glacial. Se añade éter intermitentemente de acuerdo con las nece-

30

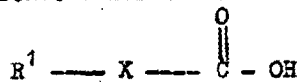




en la que R<sup>1</sup> tiene la fórmula



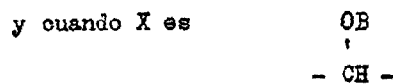
en las que R<sup>5</sup> es hidrógeno, alquilo, alcanilo, alquilsulfonilo, cicloalquilo, fenilo, clorofenilo o fenetilo, y R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son hidrógeno, halógeno, nitro, alquilo, alcoxilo, alquiltio, dialquilamino, alcanilo, alcanilamino, alquilsulfonilo, cicloalquilo, cicloalcoxilo o grupos arilos, aralquilos, ariloxilos o aralquiloilos sustituidos o sin sustituir, y sales atóxicas de las mismas, se comprende la reacción de ácido 6-aminopenicilínico con una cantidad equimolar aproximadamente de un ácido, o equivalente funcional del mismo, de fórmula general



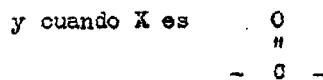
en la que R<sup>1</sup> es como se define anteriormente y X es



donde B es un grupo bloqueador, en un disolvente adecuado a una temperatura de -50 a 40°C aproximadamente;

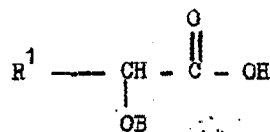


la hidrogenación en presencia de un catalizador;



la reducción de la función carbonilo con un agente reductor borohidruro; y la recuperación de la deseada penicilina.

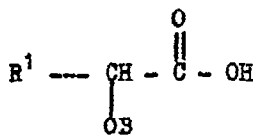
2º.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el ácido tiene la fórmula





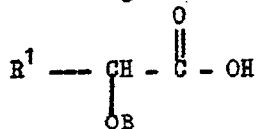
5 en la que  $R^1$  es como se define anteriormente, y en el que el grupo bloqueador B es un grupo de fórmula general  $R^6 - O - C -$ , en la que  $R^6$  es un grupo alquilo, bencilo, bencilo sustituido, fenilo o fenilo sustituido, y el producto de la reacción con ácido 6-aminopenicilínico es subsiguientemente hidrogenado para separar el grupo bloqueador y producir la deseada penicilina.

3<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 2, en el que el ácido



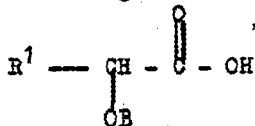
es en forma del cloruro ácido, bromuro ácido, anhídrido o anhídrido - mezclado.

4<sup>a</sup> Procedimiento según la reivindicación 2, en el que el ácido.



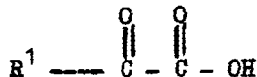
es en forma del anhídrido mezclado, preparado por reacción del ácido hidroxil carboxílico sustituido, o sal del mismo, con un éster de ácido clorocarbónico.

5<sup>a</sup> Procedimiento según la reivindicación 2, en el que el ácido



es acoplado con ácido 6-aminopenicilínico, o sal del mismo, en presencia de una carbodiimida.

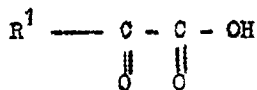
25 6<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el ácido es el ácido a-ceto de fórmula



en la que  $R^1$  es como se define anteriormente, y el producto de la reacción con ácido 6-aminopenicilínico es subsiguientemente reducido para producir la deseada penicilina.

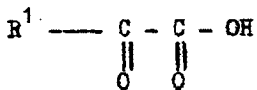


7<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el ácido



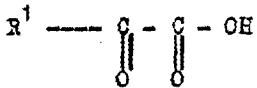
5 es en forma de su cloruro ácido, bromuro ácido, anhídrido o anhídrido mezclado.

8<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el ácido



10 es en forma de un anhídrido mezclado, preparado por reacción del ácido alfa-ceto, o sal del mismo, con un éster de ácido clorocarbónico.

9<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el ácido



15 es acoplado con ácido 6-aminopenicilínico, o sal del mismo, en presencia de carbodimida.

10<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el agente reductor es borohidruro sódico, trimetoxiborohidruro sódico o borohidruro potásico.

11<sup>a</sup>.- Se reivindica por último, como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención cuyo registro se solicita: "PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE PENICILINAS".

25 Todo tal y como se describe en la presente memoria que consta de treinta y cuatro páginas escritas a máquina.

Madrid, 27 de Abril, 1963

ALFONSO UNGRIA

P.P. *[Handwritten signature]*