



3 03775

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por VEINTE años en España por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS COMPUESTOS ANTIBACTERIALES".

a favor de

BRISTOL-MYERS COMPANY

domiciliado en

Thompson Road, East Syracuse, New York, EE.UU.

PRIORIDAD: de las solicitudes de patentes  
estadounidenses no. 306.594 y  
No. 306.606, ambas del 4 de Sep  
tiembre de 1.963.

MP.



3 2 7 7 1954

5

Se refiere este invento a nuevos compuestos sintéticos - de valor como agentes antibacteriales, como suplementos de nutrición en los piensos, como agentes para el tratamiento de la mastitis en - el ganado y, como agentes terapéuticos en las aves de corral y en los animales de otro orden, incluido el hombre, en el tratamiento de en-

10

fermedades infecciosas causadas por bacterias grampositivas. Más particularmente, este invento se refiere a los ácidos 6-(ariloxi- y arilomercapto-acetamido) tiopenicilánicos sustituidos y sales de los - mismos.

Agentes antibacteriales tales como la bencilpenicilina han demostrado ser altamente efectivos en el pasado, en la terapia de infecciones debidas a bacterias grampositivas, pero tales agentes presentan los serios inconvenientes de ser inestables en ácido acuoso, por ejemplo cuando se trata de administración oral, y de ser inefectivos contra numerosas razas de bacterias de las llamadas resistentes.

15

Un objeto del presente invento es el de proponer compuestos útiles en el tratamiento de infecciones ocasionadas por las bacterias grampositivas, con inclusión particularmente de las razas resistentes de bacterias, por ejemplo, las razas resistentes a la bencilpenicilina de Staphylococcus aureus (Micrococcus pyogenes var. aureus)

20

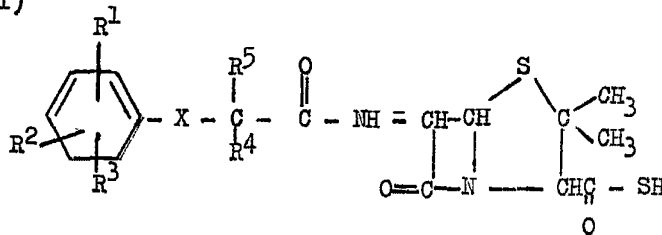
Otro objeto de la presente invención es el de proporcionar compuestos que, además de su poderosa actividad antibacterial, muestran resistencia a la destrucción por ácido.

25

Los fines del presente invento han sido conseguidos disponiendo un miembro tomado del grupo consistente en ácidos que poseen - la fórmula

30

(I)



303770



5 donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son, cada uno, un miembro seleccionado del grupo consistente en hidrógeno, halógeno, nitro, sulfamilo, trifluorometilo, alquilo (inferior), alcoxi (inferior), alquiltio (inferior), dialquilamino (inferior), alcancilamino (inferior), alcancil (inferior), alquilo (inferior) sulfonilo, cicloalquilo, como radicales, que poseen de 5 a 7 átomos de carbono, ambos inclusive, radicales de cicloalcoxi que poseen de 5 a 7 átomos de carbono, ambos inclusive, y radicales sustituidos o no sustituidos de arilo, aralquilo, ariloxi, ariltio, aralquiloxi y aralquiltio; donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son miembros tomados del grupo consistente en hidrógeno, alquilo (inferior), fenilo y fenilo-alquilo (inferior) (con inclusión del bencilo y de  $\alpha$ - y  $\beta$ -fenetilo, y de  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -fenilopropilo); y donde X es un miembro tomado del grupo consistente en azufre y oxígeno; y sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables.

15 Las sales no tóxicas, farmacéuticamente aceptables de los antedichos ácidos comprenden las sales metálicas no tóxicas tales - como de sodio, potasio, calcio y aluminio, la sal amónica y las sales amónicas sustituidas, por ejemplo las sales de las aminas no tóxicas tales como las trialquilaminas, incluyendo trietilamina, procaína, dibenzilamina, N-bencilo- $\beta$ -fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenziletilenodiamina, dehidroabietilamina, N-N'-bis-dehidroabietileno-diamina, N-alquilo (inferior) piperidinas, (por ejemplo, la N-etilopiperidina) y otras aminas que han sido utilizadas para formar sales con la bencilopenicilina. Comprende también este aspecto del -  
25 invento los esteres fácilmente hidrolizados que pasan a la forma tioácida libre por medio de hidrólisis química o enzimática.

30 El término "alquilo (inferior)" según se utiliza aquí significa radicales de hidrocarburo alifáticos de cadena tanto recta como ramificada, que poseen de 1 a 10 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, t-butilo, amilo



hexilo etc. De igual modo, cuando se emplea el término "(inferior)" como parte de la descripción de otro grupo, por ejemplo, "alcoxi - (inferior)", se refiere a la parte de alquilo de tal grupo que es, por consiguiente, según se ha descrito más arriba con respecto al "alquilo (inferior)". Para aclarar la forma en que están constituidos los grupos comprensivos de alquilo (inferior), señalaremos que el alcoxi (inferior) incluye radicales tales como metoxi, etoxi, - isopropoxi, etc.; el alcanoil (inferior) incluye acetilo, propionilo, butirilo, etc.; el alquilo (inferior) sulfonilo incluye metilo sulfonilo, etilosulfonilo, hexilosulfonilo, etc.; el di-alquilo (inferior) amino incluye dimetilamino, dietilamino, etilometilo-amino, etc.

El átomo de  $\alpha$ -carbono del grupo acílico (al que van ligados los grupos  $R^4$  y  $R^5$ ) es un átomo de carbono asimétrico cuando son diferentes  $R^4$  y  $R^5$  y, en tales casos, los compuestos de este invento pueden, por consiguiente, existir en dos formas isoméricas ópticamente activas (los diastereoisómeros D y L), así como en una mezcla de las dos formas ópticamente activas. Todas estas formas isoméricas de los compuestos quedan incluidas dentro del alcance del presente invento.

Ha de hacerse observar, en relación con la anterior consideración de los diastereoisómeros de este invento, que muchos isómeros distintos de los dos originados por el carbono asimétrico de la cadena lateral son igualmente posibles, debidos a la presencia de átomos de carbono asimétrico en el núcleo del ácido 6-aminopenicilánico. Tales isómeros adicionales no son, sin embargo, importantes aquí, ya que el ácido 6-aminopenicilánico que es el producto de los procesos de fermentación corresponde a una sola configuración y es tal ácido 6-aminopenicilánico el actualmente utilizado en la producción de los compuestos objeto de este invento.

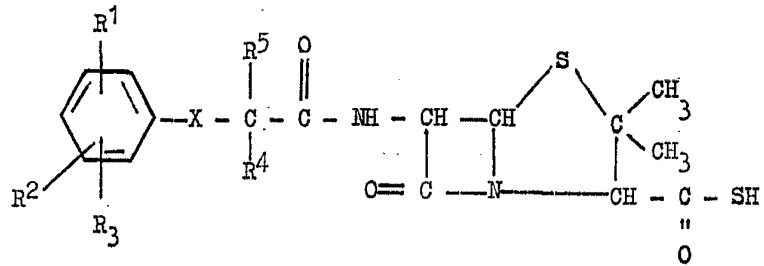
303775



Los compuestos del presente invento existen en formas tau-  
toméricas que pueden representarse como sigue.

(II)

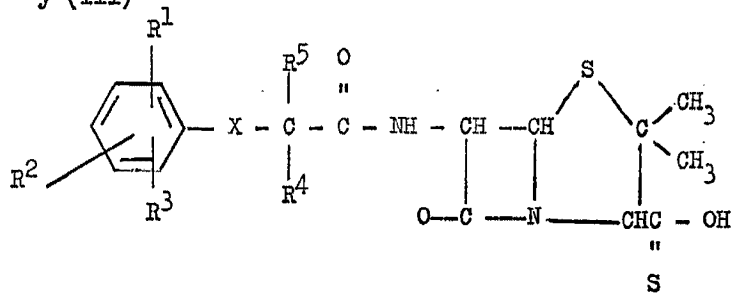
5



(forma tiófica)

y (III)

10



(forma tiónica)

15

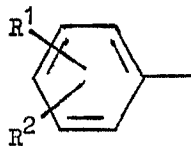
Por tal razón, se describen los productos del presente invento median-  
te el uso del término "tio", por ejemplo el compuesto en el que R<sup>1</sup>, -  
R<sup>2</sup> R<sup>3</sup> y R<sup>5</sup> son todos hidrógeno y R es metilo y X es oxígeno, se deno-  
mina "ácido 6-( -fenoxipropionamido) tiopenicilánico".

20

Un grupo preferente de compuestos de la Fórmula I está -  
constituído por aquellos en los cuales uno al menos de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup>  
es hidrógeno; así pues, la parte de fenilo de estos compuestos prefe-  
rentes pueden representarse por la fórmula

25

(IV)



30

donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen ambos el significado arriba expuesto. De estos -

4 SEP



303775

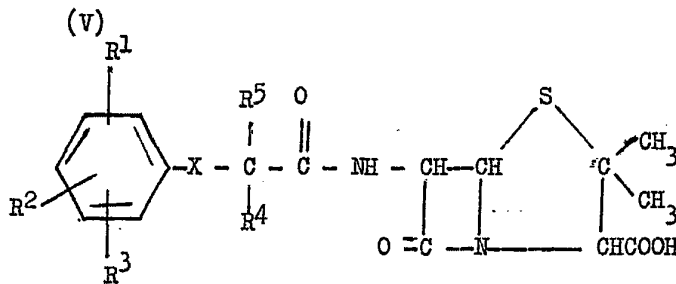
5

compuestos preferentes, un subgrupo preferente es aquel en el que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pertenecen al grupo consistente en hidrógeno, alcoxi (inferior), cloro, y arilo, aralquilo, ariltio, aralquiloxi y aralquiltio como radicales, que pueden sustituirse con grupos de alquilo (inferior), alcoxi (inferior) y cloro. Otro grupo preferente de compuestos está constituido por los de la fórmula I, donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son, cada uno de ellos, hidrógeno, y R<sup>5</sup> es alquilo (inferior).

10

Los compuestos del presente invento se han preparado de las correspondientes penicilinas, esto es, las penicilinas de la fórmula.

15



20

donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> y X corresponden a la representación precedente. Estas penicilinas pueden prepararse y aislarse por una diversidad de métodos actualmente conocidos en la técnica y descritos en muchas patentes de los Estados Unidos y del extranjero y en otra literatura científica.

25

Para preparar los compuestos de la presente invención, se prepara un derivado activo acilador de la penicilina de origen tal como un anhídrido o un cloruro ácido y se hace reaccionar con una fuente de origen de grupos sulfhidrúlicos, por ejemplo, sulfuro de hidrógeno, hidrosulfuro sódico o hidrosulfuro potásico. En un procedimiento preferente para la preparación de los compuestos objeto de la presente invención, se toma un anhídrido mezclado (por ejemplo, el anhídrido mezclado con ácido etoxi- o isobutoxi-carbónico), de una penicilina según se ha descrito más arriba y se prepara con

30



303776

arreglo a los procedimientos ilustrados en los ejemplos que figuran -  
más lejos. Se hace después reaccionar este anhídrido mezclado, con una  
sal álcali de sulfuro de hidrógeno, por ejemplo, sulfuro de hidrógeno  
sódico (NaHS), para producir los compuestos del presente invento, que  
5 pueden aislarse a continuación, y purificarse, con arreglo a procedi-  
mientos ya conocidos y descritos en la técnica actual.

Pueden igualmente utilizarse equivalentes en sus funcio-  
nes al anhídrido de penicilina mezclado indicado anteriormente. Uno  
de tales equivalentes es la azolida correspondiente a las penicilinas  
10 de la fórmula V más arriba expuesta, esto es una amida de la penicili-  
na correspondiente cuyo nitrógeno es un miembro de un anillo de cinco  
miembros semi-aromático que contiene por lo menos dos átomos de nitró-  
geno, a saber; imidazol, pirazol, triazoles, bencimidazol, benzotria-  
zol y sus derivados sustituidos. Como ejemplo del método general para  
15 la preparación de una azolida, se hace reaccionar N,N'-carbonilodiimi-  
dazol con un ácido carboxílico (penicilina en la forma ácida) en pro-  
porciones equimolares y a la temperatura ambiente, en tetrahidrofura-  
no , cloroformo, dimetiloformamida o un solvente inerte similar, pa-  
ra formar la imidazolida ácida carboxílica con un rendimiento cuantita-  
20 tivo prácticamente, con liberación de dióxido de carbono y un mol de  
imidazol. Los ácidos dicarboxílicos producen diimidazolidas. El pro-  
ducto derivado, el imidazol, precipita y puede separarse, aislándose  
la imidazolida, pero esto no es esencial.

Así pues, un buen procedimiento para preparar un compues-  
25 to objeto de la presente invención, por medio de un anhídrido mezcla-  
do con ácido etoxio isobutoxi-carbónico, comprende la mezcla de equi-  
valentes sustancialmente estequiométricos de un ácido (de la fórmula  
V arriba expuesta), cloroformato isobutílico (o etilcloroformato) y,  
si así se desea, un agente aglutinante ácido tal como una amina hidro-  
30 carbonílica o alifática terciaria (ligero exceso), por ejemplo, 2,6-lu

3037

4 SEP 1964



tidina o trietilamina, en un solvente no interferente y, de preferen-  
cia, miscible en agua, tal como dimetilformamida, y, si se desea, 2  
ml. de acetona durante un breve período de tiempo, por ejemplo, de 5  
5 a 60 minutos, en frío, por ejemplo a unos 5° C. A esta solución del  
anhídrido mezclado se añade a continuación una suspensión enfriada  
de sulfuro de hidrógeno sódico en un solvente inerte (por ejemplo, di-  
metilformamida). La mezcla de reacción se agita durante un período  
de una hora aproximadamente, para formar el producto deseado y se a-  
ñade después a un mayor volumen de agua. A continuación, puede extraer  
10 se, si se desea, la mezcla resultante a un valor pH alcalino, (tal  
como pH 8) puede utilizarse bicarbonato sódico acuoso, por ejemplo, si  
es necesario, para ajustar el valor pH) con un solvente inmisible -  
en agua, tal como éter, para separar los materiales de principio, -  
que no hayan sufrido reacción. El producto de la fase acuosa se con-  
vierte después en ácido libre, de preferencia en frío, bajo una capa  
15 de éter, mediante adición de ácido mineral diluido, por ejemplo, 5 N  
H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> a razón de un valor pH de 2 aproximadamente. Se extrae después  
el ácido libre de un solvente orgánico neutro inmisible en agua, tal  
como éter y se lava el extracto con agua, rápidamente, en frío, si se  
20 desea, secándose después, por ejemplo con Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> anhidroso. Después,  
se convierte el producto del extracto etéreo en su forma de ácido li-  
bre, en cualquier sal metálica o de amina que se desee, mediante tra-  
tamiento con la base apropiada, por ejemplo, con una amina libre tal  
como una base de procaína o una solución de 2-etilhexanoato potásico  
25 en n-butanol seco. Estas sales suelen ser insolubles en solventes ta-  
les como el éter y pueden recuperarse en forma pura por simple filtra-  
do.

Como quiera que algunas de las sustancias antibióticas ob-  
tenidas mediante el procedimiento objeto de este invento son compues-  
30 tos relativamente inestables susceptibles de experimentar rápidos cam-

303775



5 bios resultantes en pérdida de la actividad antibiótica, es deseable fijar condiciones de reacción que sean suficientemente moderadas para evitar su descomposición. Las condiciones de reacción fijadas dependerán en gran parte de la reactividad del reactivo químico que se utilice. En la mayoría de los casos, ha de establecerse un compromiso entre la utilización de condiciones muy suaves para un período largo y el uso de condiciones más fuertes para un tiempo más breve, con la posibilidad de que se descomponga algo de la sustancia antibiótica.

10 La temperatura a fijar para el procedimiento de preparación de los compuestos objeto del presente invento no excederá, en general, de los 30° C. y, en muchos casos, una temperatura apropiada es la temperatura ambiente. Además del uso de dimetiloformamida para la reacción, pueden utilizarse otros solventes orgánicos que no contengan átomos de hidrógeno reactivo. Ejemplos de tales solventes inerte son la dimetiloacetamida, el dicloruro de metileno, el cloroformo, la acetona, la acetona metilo-isobutílica y el dioxano. Es aconsejable, desde luego, una vigorosa agitación cuando se halla presente más de una fase, por ejemplo sólida y líquida, o dos fases líquidas.

20 Al concluir la reacción, se aíslan los productos si así se desea, mediante las técnicas utilizadas con fenoxietilopenicilina, bencilopenicilina y fenoximetilopenicilina. Así pues, puede extraerse el producto en éter dietílico o n-butanol, bajo un valor pH ácido y recuperarse después por liofilización o por conservación en una sal insoluble en solvente, como por neutralización con una solución de n-butanol y 2-etilhexanoato potásico, o puede precipitar el producto a partir de una solución acuosa como una sal, insoluble en agua, de una amina, o recuperarse directamente por liofilización, preferentemente en forma de una sal sódica o potásica. Cuando se ha constituido la sal de trietilamina, se convierte el producto en la forma -



5

10

15

20

25

30

ácida libre, y de aquí, a otras sales, en la forma utilizada con la fenoxietilopenicilina, la bencilopenicilina y otras penicilinas. Así, el tratamiento de tal compuesto de trietilamina en agua con hidróxido sódico lo convierte en sal sódica y la trietilamina puede separarse por extracción, como, por ejemplo, con tolueno. - El tratamiento de la sal sódica con un ácido acuoso fuerte convierte el compuesto en la forma ácida, que puede transformarse en otras sales de amina, por ejemplo, la procaína, por reacción con la base amina. Las sales así formadas se aislan por liofilización o, si el producto es insoluble, por filtración. Un método particularmente - bueno de aislar el producto como sal potásica cristalina comprende la extracción del producto de una solución acuosa ácida, (aproximadamente pH 2) en éter dietílico, la operación de secar el éter y la adición de, por lo menos, un equivalente de una solución de 2-etilhexanoato potásico (por ejemplo, 0,373 gm./ml) en n-butanol seco. La sal potásica en sus diversas formas precipita, usualmente - en forma cristalina, y es recogida por filtración o decantación.

Un método alternativo para la preparación de los compuestos objeto del presente invento comprende la acilación de ácido 6-aminotiopenicilánico con arreglo a procedimientos que son ya conocidos en la técnica actual, por ejemplo los procedimientos de cloruro ácido y anhídrido mezclados que se hallan descritos en muchas patentes de los Estados Unidos y extranjeras.

El ácido 6-aminotiopenicilánico puede prepararse a partir del ácido 6-aminopenicilánico protegiendo en primer lugar el grupo amino del ácido, 6-aminopenicilánico con un grupo protector adecuado, con formación de un anhídrido mezclado de dicho ácido 6-aminopenicilánico protegido por la reacción del ácido 6-aminopenicilánico protegido, con un ester de ácido clorocarbónico, por ejemplo clorocarbonato etílico, y después con reacción de tal anhídri-



dro mezclado, con sulfuro de hidrógeno sódico, separando a continuación el grupo protector por hidrogenación catalítica. Alternativamente, el ácido 6-aminotienpenicilánico puede prepararse por hidrólisis enzimática de ácido 6-(fenilacetamido) tienpenicilánico.

5

El grupo protector arriba citado tiene la fórmula general  $R^6\text{OCO-}$ , donde  $R^6$  es alilo, butilo terciario, fenilo o fenilo sustituido, bencilo o bencilo sustituido, o donde  $R^6\text{OCO-}$  es el grupo tritílico  $(\text{Ph})_3\text{C-}$ . Según se utiliza aquí, la abreviación Ph se entiende significa el grupo fenílico.

10

Los compuestos del presente invento son de utilidad en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias grampositivas, incluyendo particularmente las razas de bacterias resistentes, por ejemplo las razas resistentes a la penicilina de Staphylococcus aureus (Micrococcus pyogenes var. aureus). Los compuestos objeto de la presente invención, además de su potente actividad antibacteriana, presentan resistencia a la destrucción por ácido.

15

Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar este invento, sin que el mismo quede limitado a ellos.

#### Ejemplo I

20

#### Preparación de 6-(Fenilomercaptoacetamido) tienpenicilánato potásico

Una solución de 6-(fenilomercaptoacetamido) tienpenicilánato potásico (12,13 gm., 0,0300 ml) e hidrocloreuro de trietilamina (6,17 gm., 0,0450 mol) en cloruro de metileno (420 ml.) se agita durante - media hora a 25° C. Se forma un buen precipitado de cloruro potásico.

25

El cloruro de metileno se evapora bajo una presión reducida, dejando un aceite residual. El residuo se disuelve en dimetilofornamido (150 ml.) y se enfría a 0° a -5° C. Se añade en una sola vez cloroformato etílico (3,25 gm., 0,0300 mol). Se agita la mezcla durante 10 minutos y se añade, en una sola vez, una suspensión de trihidrato e hidrosul-

30

furo sódico (6,7 gm., 0,06 mol) en dimetilofornamida (100 ml.). Se con



5

tinúa la agitación durante 25 minutos y la solución se vuelve verde-  
 castaño oscuro. Se vierte la solución en agua (1100 ml.) y se acidifi-  
 ca a pH 2 con ácido sulfúrico diluido. Se extrae el ácido 6-(fenil-  
 lomerceptoacetamido) tiopenicilánico en éter, se lava con agua y se  
 seca con sulfato sódico anhidroso. Se añade 2-etilhexanoato potási-  
 co (0,03 mol) como solución al 50% de 2-etilhexanoato potásico en  
 éter. Se forma un precipitado cristalino, que se recoge, se lava con  
 acetona y éter, y se seca. El producto, 6-(fenilomerceptoacetamido)  
 tiopenicilanoato potásico, pesa 6,99 gr., presenta un punto de fusión  
 de 220° a 225° C. con descomposición, y la estructura se confirma -  
 por análisis infrarrojo. Presenta el siguiente análisis elemental:

10

Calculado para  $C_{16}H_{17}N_2O_3S_3K$ :

C, 45,68%; H, 4,08%; N, 6,66%; S, 22,87%.

Hallado: C, 45,88%; H, 4,02%; N, 6,45%; S, 22,36%.

15

Se halló que el producto inhibía Staph. aureus Smith a  
 una concentración de 0,008 - 0,016 mcg./ml., y Staph. aureus BX- -  
 1633-2 a 100 mcg./ml.

Ejemplo 2

Preparación de 6-(4-Metoxifenilotioacetamido)

20

tiopenicilanoato potásico.

25

Una solución de 6-(4-metoxifenilotioacetamido)penicilana-  
 to sódico (5,71 mg., 0,01365 mol) e hidrocloreuro de trietilamina -  
 (2,82 mg., 0,0205 mol) en cloruro de metileno (190 ml.) se agita du-  
 rante media hora a 25°C. Se evapora el cloruro de metileno bajo una  
 presión reducida, dejando aceite residual. Se disuelve el residuo en  
 dimetiloformamida (68 ml), y se enfría a -7°C. Se añade, en una sola  
 vez, cloroformato etílico (1,62 gm., 0,0136 mol). Se agita la mezcla  
 durante 10 minutos a -2°C. y se añade, en una sola vez, una suspensión  
 de trihidrato de hidrosulfuro sódico (3,00 gm., 0,0273 mol) en forma  
 mida de dimetilo (45 ml.). Se continúa agitando durante 25 minutos -

30

303775



de 0 a 5° C. Se añade agua (500 ml.) a la solución y después se acidifica a razón de un valor pH 2,1 con ácido sulfúrico diluido, dando una fuerte turbiedad. Se extrae en éter el ácido 6-(4-metoxifenilotioacetamido)-tiopenicilánico, se lava con agua, y se seca con sulfato sódico anhidroso . Se añade 2-etilhexanoato potásico (0,015 mol) como solución al 50% de 2-etilhexanoato potásico en éter. Se forma un precipitado cristalino, que es recogido, lavado con acetona y secado. El producto, 6-(4-metoxifenilotioacetamido)-tiopenicilanato potásico, pesa 1,36 gm., presenta un punto de fusión de 210° - 212°C. con descomposición, y la estructura es confirmada por análisis infrarrojo. Posee el siguiente análisis elemental:

Calculado para  $C_{19}H_{19}N_2O_4S_3K H_2O$ :

C, 43,56%; H, 4,52%; S, 20,53%

Hallado: C, 43,50%; H, 3,98%; S, 19,85%

Se halló que el producto inhibía Staph. aureus Smith a una concentración de 0,016 mcg./ml., y Staph. aureus BX-1633-2 a 25-50 mcg./ml.

Ejemplo 3

6-(fenoxiacetamido)-tiopenicilanato potásico.-

Se suspenden 6-(fenoxiacetamido)-penicilanato potásico (47,6 gm.) e hidrocloreuro de trietilamina (25,4 gm.) en cloruro de metileno (1740 ml.) y se agita durante media hora a la temperatura ambiente. El cloruro de metileno se evapora bajo una presión reducida, dejando un aceite residual. Se disuelve el residuo en dimetilofor-  
mamida (617 ml.) y se enfría a -5° C. El cloroformato etílico (11,8 ml.) se añade en una sola vez. Se agita la mezcla durante 10 minutos y se añade en una sola vez una suspensión de trihidrato de hidrosulfuro sódico (27,2 gm.) en dimetilofor-  
mamida. Se continúa la agitación durante 25 minutos. Se vierte la mezcla en agua helada (4500 ml.) y se acidifica a razón de un valor pH 2,0 con ácido sulfúrico diluido.

303779



Se extrae al ácido 6-(fenoxiacetamido) tiopenicilánico en éter, se lava con agua, y se seca con sulfato sódico anhidroso. Se añaden cuarenta y nueve ml. de una solución al 50% de 2-etilhexanoato potásico en éter. Se forma un precipitado cristalino, que se recoge, se lava con acetona y se seca. El producto, 6-(fenoxiacetamido)-tiopenicilana

5 to potásico, pesa 15,4 gm. y presenta un contenido del anillo  $\beta$ -lactama, según muestra el análisis infrarrojo, mostrando un punto de fusión de 196° - 207° C. con descomposición después de recristalización con agua y n-butanol y el siguiente análisis elemental:

10 Calculado para  $C_{16}H_{17}N_2O_4S_2$ :  
 C, 47,51%; H, 4,24%; N, 6,93%.  
 Hallado: C, 47,59%; H, 4,18%; N, 7,14%.

El producto inhibe el Staph. aureus Smith a razón de una concentración de 0,016 mog./ml., y el Staph. aureus BX-1633-2 a 50-100 mog./ml.

15

Ejemplo 4

Preparación de 6-(DL- $\alpha$ -fenoxipropionamido) tiopenicilاناتo potásico

Se añade ácido sulfúrico diluido a una solución de 6-(DL- $\alpha$ -fenoxipropionamido)penicilاناتo potásico (10 gm., 0,025 mol), disuelto en agua (100 ml.) hasta alcanzar un valor pH 2. Se extrae el ácido penicilínico de esta solución en éter, se lava con agua y se seca con sulfato magnésico anhidroso. Se evapora el éter bajo una presión reducida, dejando un aceite residual que se azeotropa tres veces con acetato atílico para extraer toda traza de agua. Se disuelve el residuo en dimetiloformamida (125 ml.) y se enfría a 5° C. en un baño de hielo. Se añade 2,6-lutidina (2,7 gm., 0,0254 mol), seguida de la adición a gotas de cloroformato etílico (2,7 gm., 0,0254 mol). Se agita la mezcla durante 15 minutos y se añade en una sola vez una suspensión de hidrosulfuro sódico, (5,6 gm., 0,06 mol) en dimetiloformamida (100 ml.). Se agita la solución durante una hora y la misma se

20

25

30



vuelve color castaño oscuro. Se vierte la solución en agua ( 1 litro) y se acidifica a un valor pH 2 con ácido sulfúrico diluido. El ácido 6-(DL- $\alpha$ -fenoxipropionamido) tiopenicilánico se extrae en éter, se lava con agua, y se seca con sulfato magnésico anhidroso.

5 Se añade 2-etilhexanoato potásico (5 gm) y se recoge el precipitado cristalino, hallándose que pesa 4,5 g,. La recristalización procedente de agua y acetona produce 1,1 gm. del producto, 6-(DL- $\alpha$ -fenoxipropionamido) tiopenicilano potásico, en forma de placas incoloras que muestran contener el anillo de  $\beta$ -lactama, según el

10 análisis infrarrojo, presentan un punto de fusión de más de 240°C. con descomposición y dan el siguiente análisis elemental:

Calculado para  $C_{17}H_{19}N_2O_4S_2K \cdot 1/2H_2O$ : C, 47,8%; H, 4,74%; S, 14,9%.

Hallado: C, 48,2%; H, 4,52%; S, 13,8%.

Se halló que el producto inhibe el Staph. aureus Smith a una concentración de 0,031 mcg./ml., y el Staph. aureus BX-1633-2 (una raza resistente a la bencilopenicilina) a una concentración de 0,40 mcg./ml. y que muestra en inyecciones intramusculares en los ratones un  $CD_{50}$  contra el Staph. aureus Smith de 1,1 mg./Kg. y contra el Staph. aureus BX-1633-2 de 68 mg./Kg.

15

#### Ejemplo 5

#### Preparación de 6-(D- $\alpha$ -fenoxipropionamido) tiopenicilano potásico

Se añade ácido sulfúrico diluido a una solución de 6-(D- $\alpha$ -fenoxipropionamido) penicilano potásico (5 gm., 0,0125 mol) en agua (150 ml.) hasta alcanzar un valor pH de 2. Se extrae el ácido penicilínico de esta solución en acetato etílico (200 ml.), se lava con agua y se seca con sulfato magnésico anhidroso. Se evapora el acetato etílico a 35° C. El residuo se disuelve en dimetiloformamida (150 ml.) y se enfría a 5° C. en un baño de hielo. Se añade 2,6 luti

25 dina (1,33 gm., 0,0125 mol), seguida de la adición a gotas de cloroformato etílico (1,33 gm., 0,0125 mol). Se agita la mezcla durante

30

4 SEP 1964

5 15 minutos y se añade en una sola vez una suspensión de hidrosulfuro  
 sódico (2,5 gm., 0,0447 mol) en dimetilofornamida (100 ml.) Se agita  
 la solución durante 20 minutos y después se vierte en agua (1 litro)  
 y se acidifica a un valor pH 2 con ácido sulfúrico diluido. El ácido  
 6-(D- $\alpha$ -fenopropionamido) tiopenicilánico que se forma se extrae en  
 éter, se lava con agua y se seca con sulfato magnésico anhidroso. Se  
 añade 2-etilhexanoato potásico (3 gm.) y se recoge el precipitado -  
 10 cristalino. La recristalización a partir de agua y n-butanol produce  
 1,7 gm. del producto, 6-(D- $\alpha$ -fenoxipropianamido) tiopenicilanato po-  
 tásico, que muestra contener el anillo de  $\beta$ -lactama según se aprecia  
 por análisis infrarrojo, posee un punto de fusión superior a 195° C.  
 con descomposición y el siguiente análisis elemental:

Calculado para C H N O S K: C,48,78%; H,4,58%; N,6,7%; S,15,4%.  
 17 19 2 4 2

Hallado : C,49,25%; H,4,68%; N,6,84%; S,14,52%.

15 Se halló que el producto inhibía el Staph. aureus Smith -  
 a una concentración de 0,125 mcg/ml., y el Staph. aureus BX-1633-2 -  
 (una raza resistente a la benzilopenicilina) a una concentración de -  
 6,25 mcg./ml. y que presenta ba en inyección intramuscular en los ra-  
 tones un  $GD_{50}$  contra el Staph. aureus Smith de 1,8mg./kg.

Ejemplo 6

Preparación de 6-(L- $\alpha$ -fenoxipropionamido)tiopenicilanato potásico

20 Se añade ácido sulfúrico diluido a una solución de 6-(L-  
 $\alpha$ -fenoxipropionamido) penicilanato potásico (5 gm., 0,0125 mol) en  
 agua (150 ml.) hasta que se alcanza un valor pH 2. Se extrae el ácido  
 25 penicilínico de esta solución en acetato etílico (200 ml.), se lava -  
 con agua y se seca con sulfato magnésico anhidroso. El acetato elítico  
 se evapora a 35° C. El residuo se disuelve en dimetilofornamida (150  
 ml.) y se enfría a 5° C. en un baño de hielo. Se añade 2,6-lutidina  
 (1,33 gm., 0,0125 mol). seguido de adición a gotas de cloroformato -  
 30 etílico (1,33 gm., 0,0125 mol). Se agita la mezcla durante 15 minutos



303775

5 y se añade en una sola vez una suspensión de hidrosulfuro sódico -  
(2,5 gm., 0,0447 mol) en dimetiloformamida (100 ml.). Se agita la so-  
lución durante 20 minutos y se vierte a continuación en agua (1 li-  
tro), acidificándose a un valor pH 2 con ácido sulfúrico diluido. -  
El ácido 6-(L- $\alpha$  fenoxipropionamido) tiopenicilánico se extrae en -  
éter, se lava con agua y se seca con sulfato magnésico anhidroso. Se  
añade 2-etilohexanoato potásico (3 gm.) y se recoge el precipitado  
cristalino. La recrystalización a partir de agua y n-butanol produce  
10 2,5 gm. del producto, 6-(L- $\alpha$  fenoxipropionamido) tiopenicilanato po-  
tásico, que muestra un punto de fusión superior a 215° C, con descom-  
posición y el siguiente análisis elemental:

Calculado para C H N O S K: C, 48,78%; H, 4,58%; N, 6,7%; S, 15,4%.  
17 19 2 4 2

Hallado : C, 50,22%; H, 4,98%; N, 6,77%; S, 14,18%.

15 Se halló que el producto inhibía el Staph. aureus Smith  
a una concentración de 0,016 mcg/ml., y el Staph. aureus BX-1633-2 -  
a una concentración de 0,8 mcg./ml, y presentaba, en inyección intra-  
muscular en los ratones una CD<sub>50</sub> contra el Staph. aureus Smith de 1,0  
mg./kg.

Ejemplo 7

20 Preparación de 6-( $\alpha$ -isopropilofenoxiacetamido)tiopenicilanato potásico

25 Se añade ácido sulfúrico diluido a una solución de 6-( $\alpha$ -  
isopropilofenoxiacetamido) tiopenicilanato potásico (5,3 gm., 0,0125  
mol) en agua (150 ml.) hasta que se alcanza un valor pH 2. Se extrae  
el ácido penicilínico de esta solución en acetato etílico (200 ml.),  
se lava con agua, y se seca con sulfato magnésico anhidroso. Se eva-  
pora el acetato etílico a 35° C. Se disuelve el residuo en dimetilo-  
formamida (150 ml.) y se enfría hasta 5° C. en un baño de hielo. Se  
añade 2,6-lutidina (1,33 gm., 0,0125 mol), seguido de la adición a -  
gotas de cloroformato etílico (1,33 gm., 0,0125 mol). Se agita la mez-  
30 cla durante 15 minutos y se añade en una sola vez una suspensión de

30377



hidrosulfuro sódico /2,5 gm., 0,0447 mol) en dimetiloformamida (100ml.)  
 Se agita la solución durante 20 minutos y se vierte a continuación en  
 agua (1 litro), acidificándose a un valor pH 2 con ácido sulfúrico di-  
 luído. Se extrae el ácido 6-( $\alpha$ -isopropilfenoxiacetamido) tiopenicilá-  
 nico en éter, se lava con agua, y se seca con sulfato magnésico anhídro  
 so. Se añade 2-etilhexanoato potásico (3 gm.) y se recoge el precipi-  
 tado cristalino. La recristalización de acetato etílico y Skellysolve  
 produce 2,3 gm. del producto, 6-( $\alpha$ -isopropilfenoxiacetamido) tiopeni-  
 cilanato, que muestra contener el anillo  $\beta$ -lactama, según se comprue-  
 ba por análisis infrarrojo, posee un punto de fusión superior a 170°C.  
 con descomposición, inhibe el Staph. aureus Smith a una concentración  
 de 0,125 mcg./ml., y el Staph. aureus 52-75 (una raza resistente a la  
 bencilpenicilina) a una concentración de 0,8 mcg./ml. y presenta en -  
 inyección intramuscular en los ratones un  $CD_{50}$  contra el Staph. aureus  
 BX-1633-2 de 24 mcg./kg.

Ejemplo 8

Preparación de 6- $\overline{D}$  (+) - $\alpha$ fenoxibutiramido/penicilanato potásico

Se disuelve 6- $\overline{D}$  (+)- $\alpha$ -fenoxibutiramido/penicilanato (3,0  
 gm.) en agua (30 ml.) y se añade acetato etílico. Después de enfriar a  
 5° C., se añade ácido fosfórico diluido (40%) hasta que se alcanza un  
 valor pH 2. Se extrae el ácido penicilínico en el acetato etílico y se  
 efectúa una nueva extracción con nuevo acetato etílico. Se lavan los  
 extractos combinados con agua helada, se secan con sulfato magnésico -  
 anhidroso, y se evapora hasta secar. El residuo se disuelve en dimeti-  
 loformamida (30 ml.) y se enfría a 0° C. en un baño de hielo. Se añade  
 2,6-lutidina (0,53 gm., 0,005 mol), seguido de la adición a gotas de -  
 cloroformato etílico (0,52 gm., 0,005 mol.), formando un precipitado.-  
 Se agita la mezcla durante 10 minutos a 0° C. y se añade en una sola -  
 porción una solución de trihidrato de hidrosulfuro sódico. (1,1 gm., 0,  
 01 mol) en dimetiloformamida (30 ml.). La solución verde resultante se



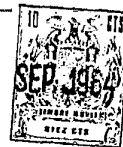
5 agita durante 25 minutos y se vierte en una mezcla previamente enfria-  
da (5 - 10° C.) de agua (150 ml.), acidificada a un valor pH 1,5 con  
ácido fosfórico diluido (40%) y benceno (100 ml.) con fuerte agita-  
ción. Se extrae el ácido 6- $\sqrt{D}$  (+) - $\alpha$ -fenoxibutiramido- $\gamma$ -tiopenicilá-  
nico en benceno y se efectúa una nueva extracción con nuevo benceno.  
Los extractos combinados se lavan y se secan. Se añade 2-etilhexanoa  
to potásico (0,005 mol) como solución al 50% de 2-etilhexanoato po-  
tásico en butanol. Se añade Skellysolve B (una fracción de éter de -  
petróleo que posee un grado de ebullición de 60 - 68°C aproximadamen-  
10 te, consistente esencialmente en n-hexano), a la citada solución, en  
friando y agitando hasta que ésta se enturbia y se separa un aceite.  
Se decanta la solución y se calienta hasta secar. Se tritura el resi-  
duo con éter, y se forma un sólido blanco que se extrae por filtrado,  
se lava con éter seco, se seca en vacío y presenta un peso de 2,5 gm.  
15 El producto, 6- $\sqrt{D}$ (+)- $\alpha$ -fenoxibutiramido) tiopenicilano, presenta -  
un punto de fusión de 140° - 145° C. con descomposición, y la estruc-  
tura queda confirmada por análisis infrarrojo.

El producto inhibe el Staph. aureus Smith a una concentra-  
ción de 0,062 - 0,125 mcg./ml., y el Staph. aureus BX-1633-2 a una -  
20 concentración de 3,1 mcg.(ml).

#### Ejemplo 9

Preparación de 6- $\sqrt{L}$  (-)- $\alpha$ -fenoxibutiramido- $\gamma$ -tiopenicilano potásico

Se disuelve 6- $\sqrt{L}$  (-) - $\alpha$ -fenoxibutiramido- $\gamma$  penicilano  
potásico (2,08 gm., 0,005 mol) en agua (30 ml.) y se añade acetato -  
25 etílico. Después de enfriarse a 5° C., se añade ácido fosfórico diluí-  
do (40%) hasta alcanzarse un valor pH 2. Se extrae el ácido penicilí-  
nico en el acetato etílico y se efectúa una nueva extracción con nue-  
vo acetato etílico. Los extractos combinados se lavan con agua helada,  
se secan con sulfato magnésico anhidroso, y se evaporan hasta se-  
30 car. El residuo se disuelve en dimetilformamida (30 ml.) y se enfría



5 hasta 0° C. en un baño de hielo. Se añade 2, 6-lutidina (0,53 gm., -  
 0,005 mol) seguido de la adición a gotas de cloroformato etílico (0,  
 52 gm., 0,005 mol), formándose un precipitado. La mezcla se agita du  
 rante 10 minutos a 0° C, y se añade en una sola porción una solución  
 de trihidrato de hidrosulfuro sódico (1,1 gm., 0,01 mol) en dimetilo  
 formamida (30 ml.) La solución verde resultante se agita durante 25  
 minutos y se vierte en una mezcla de agua previamente enfriada (5° -  
 10° C.) (150 ml) acidificada a pH 1,5 con ácido fosfórico diluido -  
 (40%) y benceno (100 ml.), agitando fuertemente. Se extrae el ácido  
 10 6-L(-) -~~α~~-fenoxibutiramido]tiopenicilánico en benceno y se efectúa  
 una nueva extracción con nuevo benceno. Se lavan y secan los estrac  
 tos combinados. Se añade 2-etilhexanoato potásico(0,005 mol) como -  
 solución al 50% de 2-etilhexanoato potásico en butanol. Se añade Ske  
 llysolve B a la solución, enfriándose y agitándose hasta que la solu  
 15 ción se enturbia y se separa el aceite. Se decanta y calienta la so  
 lución hasta la sequedad. Se tritura el residuo con éter, y se forma  
 un sólido blanco que se extrae por filtrado, se lava con éter seco y  
 se seca in vacuo. El producto, 6-L(-)-~~α~~-fenoxibutiramido) tiopenici  
 lanato potásico, muestra pesar 2 gramos, poseer un punto de fusión -  
 20 de 145 - 149° C. con descomposición, y la estructura se confirma por  
 análisis infrarrojo.

Se halló que el producto inhibía el Staph.aureus Smith a  
 una concentración de 0,062 - 0,125 mcg./ml., y el Staph. aureus BX-  
 1633-2 a una concentración de 0,80 mcg./ml.

25 Ejemplo 10

En el procedimiento del Ejemplo 6, los 2,08 gramos de -  
 6-L(-)- -fenoxibutiramido] penicilanoato potásico se reemplazan por  
 3,32 gramos de la misma sal para producir en el primer resultado 4,0  
 gramos del producto deseado, 6-L(-)-~~α~~-fenoxibutiramido]tiopenicila  
 30 nato en forma cristalina, presentando una pureza de aproximadamente

4 SEP 1964

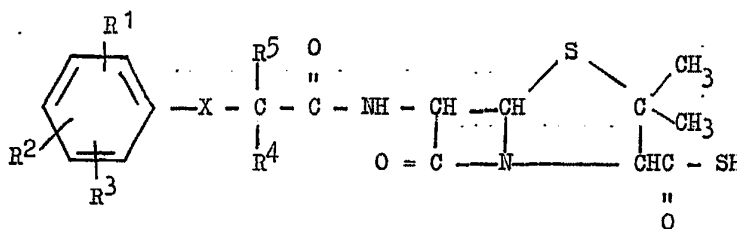


95% (según demuestran los estudios de NMR), una rotación específica de  $[\alpha]_D^{26} - 177^\circ$  (C = 1/2% H<sub>2</sub>O) y un grado de punto de fusión de 155-160° C. con descomposición.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita, recaerá sobre las siguientes:

- REIVINDICACIONES -

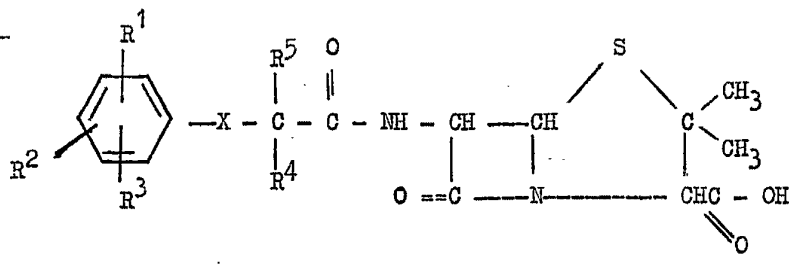
1ª.- Un procedimiento para la preparación de nuevos compuestos antibacteriales de la fórmula general



donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son cada uno un miembro perteneciente al grupo - consistente en hidrógeno, halógeno, nitro, sulfamilo, trifluorometilo, alquilo (inferior), alcoxi (inferior), alquiltio (inferior), dialquilo (inferior) amino, alcanoil (inferior) amino, alcanoil (inferior), alquilo (inferior) sulfonilo y cicloalquilo, como radicales, - que poseen de 5 a 7 átomos de carbono, ambos inclusive, radicales de cicloalcoxi que poseen de 5 a 7 átomos de carbono, ambos inclusive, y radicales de arilo, aralquilo, ariloxi, ariltio, aralquiloxi y aralquiltio, sustituidos o no sustituidos; donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son miembros - pertenecientes al grupo consistente en hidrógeno, alquilo (inferior), fenilo y feniloalquilo (inferior) (con inclusión del bencilo, α- y -β-fenetilo y α-, β- y γ-fenilopropilo); y donde X es un miembro perteneciente al grupo consistente en sulfuro y oxígeno; y las sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos; caracterizados por el hecho de que un derivado acilador activo de una penicilina de la fórmula general

5  
10  
15  
20  
25  
30

300775 = 4 SEP 1950



5

donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y X corresponden a la definición expuesta más arriba, se hace reaccionar con una fuente de origen de grupos sulfhídricos, en un solvente no interferente a una temperatura de -25° C. a -50° C., aproximadamente, separándose el producto deseado de la mezcla de reacción.

10

2ª.-Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que el derivado acilador activo de la penicilina inicial pertenece al grupo consistente en cloruro ácido, bromuro ácido, anhídrido y anhídrido mezclado con azolidas de dicha penicilina.

15

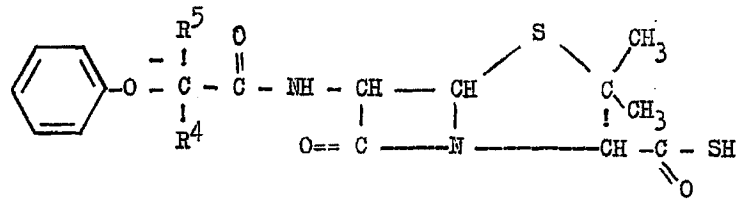
3ª.- Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado en el hecho de que el derivado acilador activo de la penicilina inicial es el anhídrido de dicha penicilina mezclado con un ester de ácido clorocarbónico.

20

4ª.- Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado en el hecho de que la fuente de origen de los grupos sulfhídricos es un compuesto perteneciente al grupo consistente en sulfuro de hidrógeno, hidrosulfuro sódico, hidrosulfuro potásico y sus hidratos.

25

5ª.- Un procedimiento, según reivindicación 1, para la preparación de compuestos de la fórmula general.



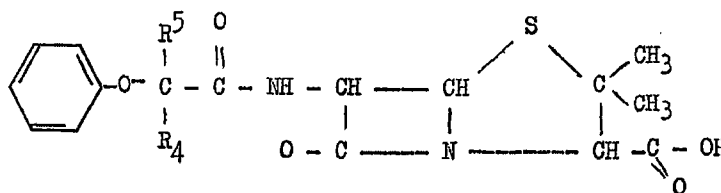
30

3037754



donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno un miembro perteneciente al grupo consisten-  
 tente en hidrógeno y alquilo (inferior); y las sales no tóxicas far-  
 maceúticamente aceptables de dichos compuestos, caracterizado en el  
 hecho de que un derivado acilador activo de una penicilina de la fór-  
 mula general

5



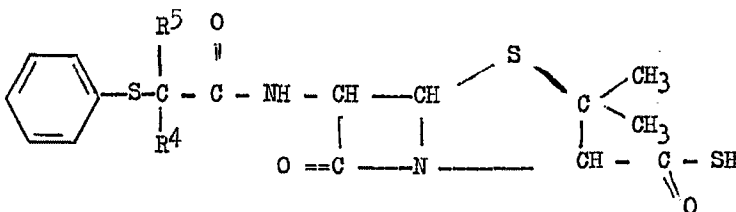
10

donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> corresponden a la definición expuesta más arriba, se -  
 hace reaccionar con un compuesto perteneciente al grupo consistente  
 en sulfuro de hidrógeno, hidrosulfuro sódico, hidrosulfuro/potásico, y sus hi-  
 dratos, en un solvente no interferente, a una temperatura de 0° C., -  
 virtualmente, separando el producto deseado de la mezcla de reacción.

15

6ª.- Un procedimiento según la reivindicación 1, para la  
 preparación de compuestos de la fórmula general

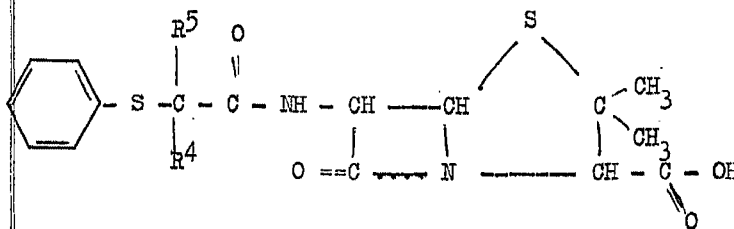
20



25

donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno un miembro perteneciente al grupo consisten-  
 te en hidrógeno y alquilo (inferior); y las sales no tóxicas de dichas  
 compuestos, farmaceúticamente aceptables, caracterizado en el hecho de  
 que un derivado acilador activo de una penicilina de la fórmula gene-  
 ral.

30



303775

4 SEP



5

donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> corresponden a la fórmula expuesta más arriba, se hace reaccionar con un compuesto perteneciente al grupo consistente en sulfuro de hidrógeno, hidrosulfuro sódico, hidrosulfuro potásico y sus hidratos, en un solvente no interferente, a una temperatura de 0° C. virtualmente, separando el producto deseado de la mezcla de reacción.

7ª.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS ANTIBACTERIALES".

10

Todo tal y conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria que consta de veinticuatro páginas mecanografiadas.

Madrid, 4 de Septiembre de 1.964

ALFONSO UNGRIA

P. P.

15

20

25

30