

317079



Nº. 317.079

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BEECHAM GROUP LIMITED.

RESIDENCIA: Beecham House, Great West Road, Brent-
ford, Middlesex, INGLATERRA.--

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION
DE PENICILINAS".

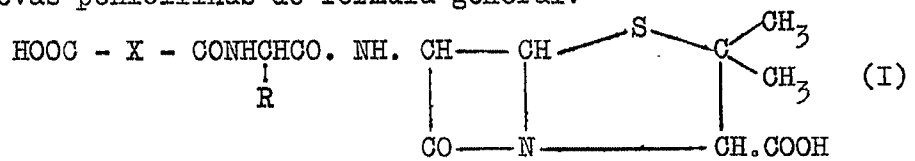
Prioridad: Patente británica n.º 36.206 del 3-9-64

317079



1 Este invento se refiere a nuevas penicilinas y par-
 ticularmente a una nueva clase de penicilinas que son deri-
 vados del ácido 6-aminopenicilánico y que tienen valor co-
 mo agentes antibacterianos, como suplementos nutritivos en
 5 los alimentos para animales, como agentes para el trata-
 miento de la mastitis en el ganado vacuno y como agentes -
 terapéuticos en el ganado aviar y animales, incluido el -
 hombre, especialmente en el tratamiento de enfermedades in-
 fecciosas causadas por las bacterias Gram-positivas y Gram-
 10 negativas.

De acuerdo con el presente invento se facilitan -
 nuevas penicilinas de fórmula general:



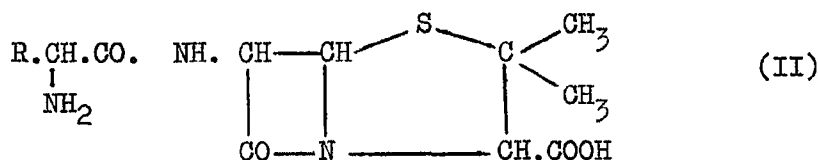
15 y sales no tóxicas de las mismas, donde R es un grupo al-
 quilo, aralquilo, arilo o heterocíclico que puede estar -
 sustituido y X es un enlace directo o un radical divalente
 alifático, aromático o heterocíclico que puede estar susti-
 tuído.
 20

Las sales son sales no tóxicas entre las que se in-
 cluyen las sales sódicas, potásicas, cálcicas y aluminicas
 y sales amónicas y de amonio sustituido, por ejemplo, sa-
 les de aminos no tóxicas tales como trialquilaminas, in-
 cluidas la trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil-
 25 beta-fenetilamina, l-efenamina, N,N'-dibenciletilediamina,
 deshidroabietilamina, N,N'-bis-deshidroabietiletilediami-
 na, y otras aminos que han sido utilizadas para formar sa-
 les con la bencilpenicilina.

30 Las nuevas penicilinas del presente invento pueden



1 prepararse haciendo reaccionar una α -aminopenicilina de fórmula general:



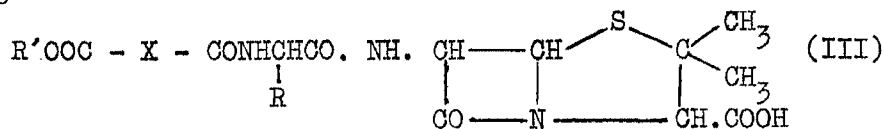
5

10

con un derivado reactivo del ácido dicarboxílico HOOC-X-COOH donde R y X tienen el significado definido anteriormente.- Entre los ejemplos de derivados reactivos adecuados se encuentran los anhídridos cíclicos $\text{X} \begin{array}{c} \text{CO} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array}$, los cloruros de monoácidos y biácidos y los mono-anhídridos y bi-anhídridos mixtos.

15

Alternativamente, las nuevas penicilinas pueden ser preparadas por hidrogenación catalítica de una penicilina intermedia (III) que contenga un grupo carboxilo protegido



20

donde R' es un grupo bencilo o bencilo sustituido y R y X son los definidos anteriormente.

25

La penicilina intermedia o protegida (III) se prepara haciendo reaccionar la α -aminopenicilina (II) con un derivado reactivo del ácido R'OO-C-X-COOH (IV) o bien haciendo reaccionar el ácido 6-aminopenicilánico con un derivado reactivo del ácido R'OO-C-X-CONHCHCOOH (V). Tales derivados reactivos de los ácidos (IV) R y (V) incluyen los cloruros, bromuros, azidas, anhídridos, anhídridos mixtos y los compuestos intermedios formados a partir de los ácidos y un agente de condensación tal como la dicitclohexilcarbodiimida o carbonildiimidazol.

30



1 Las nuevas penicilinas del presente invento pueden
existir en dos formas epímeras y ha de entenderse que el -
invento incluye ambas formas D- y L- así como la mezcla DL-
Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

5

EJEMPLO 1

6/D- α -(o-carboxibenzamido) fenilacetamido/7 penicilanato -
sódico.

Una solución de anhídrido ftálico (3 g) en dicloru
ro de metileno (25 ml) se añade lentamente con agitación a
10 una solución enfriada preparada a partir de ácido 6/D(-)- α
-aminofenilacetamido/7penicilánico anhídrido (7 g), dicloruro
de metileno (50 ml) y trietilamina (8,4 ml). La mezcla se
agita a la temperatura ambiente durante dos horas y media
15 y después se diluye con éter seco hasta que la formación -
de un precipitado oleoso es aparentemente completa. El pre
cipitado solidifica cuando se agita mecánicamente con más
éter y a continuación se recoge y se disuelve en agua (25
ml). La solución acuosa se cubre con metil isobutil cetona
(25 ml) y se trata con ácido clorhídrico diluido, agitando
20 hasta llegar a pH 1,5. Se separan las dos capas y la fase
disolvente, que contiene la penicilina requerida en forma
de ácido libre, se lava con agua (2 x 20 ml) y después con
salmuera saturada (25 ml). La sal sódica de la penicilina
se precipita entonces añadiendo una solución 2N de 2-etil-
25 hexoato sódico en metil isobutil cetona. Se recoge el pre
cipitado y se lava primero con metil isobutil cetona, des
pués con éter seco, y se seca en un desecador a vacío. Por
ensayo colorimétrico con hidroxilamina se calcula que la -
pureza del producto (4,3 g) es del 69%. Cuando se somete a
30 cromatografía de papel da una zona única de actividad anti



1 bacteriana con un valor R_f distinto del de la penicilina -
de partida.

EJEMPLO 2

5 6- β -D- α -(β -carboxipropionamido)-fenilacetamido/penicilana-
to sódico.

Se repite el experimento descrito en el ejemplo 1,
excepto en que se utiliza anhídrido succínico (2 g) en lu-
gar de anhídrido ftálico. El rendimiento en sal sódica de
la penicilina resultante es de 4,2 g y por colorimetría -
10 con hidroxilamina se calcula la pureza en alrededor del 88%.

EJEMPLO 3

6- β -D- α -(β -carboxiacrilamido)-fenilacetamido/penicilana-
to sódico.

Se repite el experimento descrito en el ejemplo 1,
15 excepto en que el anhídrido ftálico es sustituido por an-
hídrido maleico (2 g) disuelto en dioxano (30 ml). El ren-
dimiento en sal sódica de la penicilina resultante es de
6,7 g y por colorimetría con hidroxilamina se calcula la
pureza en alrededor del 90%.

EJEMPLO 4

20 6- α -(o-carboxibenzamido)-3-tienilacetamido/penicilana-
to sódico.

Esta penicilina se prepara en la forma descrita -
en el ejemplo 1, pero partiendo de ácido 6-(α -amino-3-tie-
25 nilacetamido) penicilánico en lugar del ácido 6- β (-)- α -
aminofenilacetamido/ penicilánico.

EJEMPLO 5

30 6- α -(β -carboxipropionamido)2-furilacetamido/penicilana-
to sódico.

Esta penicilina se prepara en la forma descrita en



1 el ejemplo 2, pero partiendo de ácido 6-(α -amino-2-furila
cetamido) penicilánico en lugar del ácido 6- β (-)- α amino-
fenilacetamido γ penicilánico.

EJEMPLO 6

5 6- β α -(γ -carboxibutiramido)-fenilacetamido γ penicilanato
sódico.

Se añade una solución de anhídrido glutárico (2,3
g) en tetrahidrofurano (50 ml) sobre una solución agitada
de ácido 6- β (-)- α -aminofenilacetamido γ penicilánico tri-
10 hidrato (8,06 g) y trietilamina (2,84 ml) en agua (50 ml).
La solución se agita durante dos horas a la temperatura am
biente y se mantiene el pH entre 7 y 7,5 mediante adicio--
nes de trietilamina. La mezcla de reacción se evapora has-
ta la mitad de su volumen a presión reducida y temperatu--
15 ras inferiores a 20°C. Se cubre con isobutil metil cetona
(25 ml) y se añade suficiente ácido clorhídrico 5 N para -
que después de sacudir la mezcla el pH sea 2. Esta opera--
ción se repite una vez más. Los extractos orgánicos combi-
nados se lavan con agua (2 x 100 ml) y después con salmue-
20 ra saturada (2 x 100 ml) y se filtra a través de un papel
de filtro siliconizado. El filtrado se añade gota a gota -
con agitación sobre una solución 0,01 N (2 litros) de 2-
etilhexoato sódico en éter dietílico. Precipita un sólido
que se filtra al cabo de 30 minutos y se lava bien con -
25 éter dietílico y se seca a vacío sobre pentóxido de fósfo-
ro. La pureza del producto (9,2 g) se calculó por ensayo -
manométrico con penicilinasas en 71%. Cuando se somete a -
cromatografía de papel da una zona única de actividad anti-
30 bacteriana con un valor R_f distinto del de la penicilina -
de partida.

317079



1

EJEMPLO 7

6- \bar{D} - α -(carboximetoxiacetamido)-fenilacetamido penicilano sódico.

5

Se repite el experimento descrito en el ejemplo 6 excepto en que se sustituye el anhídrido glutárico por anhídrido diglicólico (2,32 g). El rendimiento en sal sódica de la penicilina resultante es de 6,8 g y por ensayo colorimétrico con hidroxilamina se calcula la pureza en 63%.

EJEMPLO 8

10

6- \bar{D} - α -(2-carboxipiridin-3-carbamido)-fenilacetamido penicilano sódico y 6- \bar{D} - α -(3-carboxipiridin-2-carbamido)-fenilacetamido penicilano sódico.

15

Se repite el experimento descrito en el ejemplo 1, excepto en que se utiliza anhídrido de 2,3-carboxipiridina (3,0 g) en lugar de anhídrido ftálico. El rendimiento de la mezcla de penicilinas, en forma de sus sales sódicas crudas, es de 7,0 g.

EJEMPLO 9

20

6- \bar{D} - α -(3-carboxipirazin-2-carbamido)-fenilacetamido penicilano sódico.

25

Se repite el procedimiento descrito en el ejemplo 1, excepto en que se utiliza anhídrido de 2,3-carboxipirazina (3,0 g) en lugar de anhídrido ftálico. El rendimiento en sal sódica de la penicilina resultante es de 6,9 g; y por ensayo manométrico con penicilinasas se calcula la pureza en un 74%. Una muestra sometida a cromatografía de papel presenta una zona única de actividad antibiótica.

EJEMPLO 10

30

6- \bar{D} - α -(β -carboxi- α,β -dicloro-acrilamido)-fenilacetamido penicilano sódico.

317079



1 Se añade lentamente con agitación una solución de
anhídrido dicloromaleico (1,7 g) en acetona (25 ml) sobre
una solución enfriada de ácido 6- \overline{D} (-)- α -aminofenilaceta-
mido $\overline{7}$ penicilánico trihidrato (4,0 g), agua (50 ml) y tri-
5 etilamina (1,4 ml). La solución transparente se agita a la
temperatura ambiente durante hora y media, se extrae con -
tres porciones de éter dietílico (3 x 100 ml) y la fase -
acuosa se cubre con metil isobutil cetona (50 ml) y se tra-
ta con ácido clorhídrico diluído hasta obtener un pH 1,5,
10 con agitación. Por ensayo colorimétrico con hidroxilamina
se calcula en un 73% la pureza de la sal sódica (1,6 g), -
que después es aislada en la forma descrita en el ejemplo 1.

EJEMPLO 11

15 6- \overline{D} - α -(o-carboxifenilacetamido)-fenilacetamido $\overline{7}$ penicila-
nato sódico y 6- \overline{D} - α -(o-carboximetilbenzamido)-fenilaceta-
mido $\overline{7}$ penicilanato sódico.

20 Se repite el experimento del ejemplo 10, excepto -
en que se utiliza anhídrido homoftálico (1,6 g) en lugar -
de anhídrido dicloromaleico. El rendimiento de la mezcla -
de penicilinas, en forma de sus sales sódicas crudas es de
2,8 g.

EJEMPLO 12

25 6- \overline{D} - α -(m-carboxibenzamido)-fenilacetamido $\overline{7}$ penicilanato
sódico.

30 Se añade una solución de cloruro de isoftaloilo -
(2,0 g) en metil isobutil cetona (50 ml), en forma de cho-
rrito delgado continuo, sobre una solución acuosa intensa-
mente agitada de ácido 6- \overline{D} (-)- α -aminofenilacetamido $\overline{7}$ pe-
nicilánico trihidrato (4,0 g), agua (50 ml) y trietilami-
na (1,4 ml.). Después de agitar a la temperatura ambiente



1 durante 2 horas, se separan las dos fases y la fase orgánica se lava con agua (3 x 50 ml) seguida de solución de salmuera saturada (2 x 50 ml). A continuación se precipita la sal sódica de la penicilina por adición de una solución 2N
5 de 2-etilhexoato sódico en metil isobutil cetona. El precipitado se recoge, se lava primero con metil isobutil cetona y después con éter seco y se seca en un desecador de vacío.

 Por ensayo colorimétrico con hidroxilamina se calcula la pureza del producto (3,1 g) en un 83%. Sometida a
10 cromatografía de papel da una zona única de actividad antibacteriana.

EJEMPLO 13

6- β -D- α -(5-carboxipirazol-3-carbamido)-fenilacetamido/penicilanato sódico.

15 Se repite el experimento descrito en el ejemplo 12 excepto en que se utiliza cloruro de 3,5-dicarboxipirazol (1,9 g) en lugar de cloruro de isoftaloilo. El rendimiento en sal sódica de la penicilina resultante es de 2,5 g; la pureza se calcula en un 83% por ensayo manométrico con penicilanasas. Cuando se somete a cromatografía de papel da
20 una zona única de actividad antibacteriana.

EJEMPLO 14

6- β -D- α -(2-carboxi-3-nitrobenzamido)-fenilacetamido/penicilanato sódico.

25 Se repite el experimento del ejemplo 1, excepto en que se utiliza anhídrido 3-nitroftálico (3,8 g) en lugar de anhídrido ftálico. El rendimiento en sal sódica de la penicilina resultante es 1,4 g; la pureza se calcula en un
30 66% por ensayo colorimétrico con hidroxilamina.

EJEMPLO 15

317079⁶



1 6- \overline{L} - α -(β -carboxiacrilamido)-m-hidroxifenilacetamido/penicilanato sódico.

Se repite el experimento del ejemplo 1, excepto en que se utiliza anhídrido maleico (0,5 g) y ácido 6- \overline{L} (+)- α -amino-m-hidroxifenilacetamido/ penicilánico (1,8 g) en lugar de anhídrido ftálico y ácido 6- \overline{D} (-)- α -aminofenilacetamido/ penicilánico. Cuando se somete a cromatografía de papel, el producto da una zona única de actividad antibacteriana.

10 EJEMPLO 15

6- \overline{dL} - α -(β -carboxiacrilamido)-valeramido/ penicilanato sódico.

Se repite el experimento del ejemplo 15, excepto en que se utiliza ácido 6- \overline{dL} - α -amino-valeramido/ penicilánico (1,5 g) en lugar de ácido 6- \overline{L} (+)- α -amino-m-hidroxifenilacetamido/ penicilánico. Cuando se somete a cromatografía de papel, el producto da una zona única de actividad antibacteriana.

20 EJEMPLO 17

6- \overline{D} - α -(carboxicarbamido)-fenilacetamido/ penicilanato sódico.

Una solución de cloruro de oxalilo (25 ml) en tolueno seco (80 ml) se agita vigorosamente a una temperatura comprendida entre -10 y -5°C mientras se añade gota a gota una solución de alcohol bencílico (27,7 ml) en tolueno seco (20 ml). A continuación se agita la mezcla durante 2 horas sin enfriamiento externo, se clarifica por filtración y el filtrado se concentra a presión reducida (temperatura del baño 80°C) hasta un volumen de 70 ml.

30 Una porción del concentrado (14,7 ml), que contiene

317079



1 ne cloruro de carboxibenciloxycarbonilo, se disuelve en -
isobutil metil cetona (100 ml). Esta solución se enfría a
0°C y se añade de una sola vez, con vigorosa agitación so-
5 bre una solución enfriada con hielo de ácido 6- \sqrt{D} (-)- α -
amino-fenilacetamido $\sqrt{7}$ penicilánico trihidrato (20,15 g) en
solución acuosa 0,5 N de hidróxido sódico (100 ml). Se con-
tinúa agitando durante 40 minutos con suficiente intensi-
dad para mantener las dos fases íntimamente mezcladas.

A continuación se separan las dos fases y la fase
10 acuosa se cubre con isobutil metil cetona (25 ml). Se añ-
de ácido clorhídrico 5 N en cantidad suficiente para que -
la fase acuosa, después de ser sacudida, adquiera un pH de
2. Después se separan las dos capas y se lleva a cabo una
segunda extracción con disolvente en forma similar. Los ex-
15 tractos en disolvente combinados se lavan con agua (4 x 100
ml) y después con salmuera saturada (2 x 100 ml) y se fil-
tran a través de un papel de filtro siliconizado. La solu-
ción clarificada se añade gota a gota con vigorosa agita-
ción sobre 1,5 l. de una solución 0,033 N de 2-etilhexoato
20 sódico en éter. Se recoge el precipitado resultante, se la-
va con éter y se seca a vacío para dar 6- \sqrt{D} - α (benciloxi-
carbonilcarbamido)-fenilacetamido $\sqrt{7}$ penicilinato sódico. El
rendimiento en esta penicilina intermedia protegida es de
18,3 g y el ensayo manométrico con penicilanas indica una
25 pureza del 75%.

Una porción (5 g) de este compuesto intermedio di-
suelta en agua (50 ml) se añade a una suspensión acuosa -
(75 ml) de catalizador de paladio al 5% carbonato cálcico
(5 g), que previamente ha sido sacudida bajo atmósfera de
30 hidrógeno durante 1 hora. La mezcla se sacude bajo atmósfe

317079



1 ra de hidrógeno a la temperatura ambiente y presión atmos-
férica durante 1 hora más y después se filtra. El filtrado
unido a las aguas de lavado se evapora a baja temperatura
y presión reducida y el sólido residual se seca finalmente
5 sobre pentóxido de fósforo a vacío. El rendimiento en 6- \overline{D} -
 α -(carboxiacetamido) fenilacetamido $\overline{7}$ penicilanato sódico
es de 4,0 g y el ensayo manométrico con penicilanas indica
una pureza del 68%. Cuando se somete a cromatografía de
papel, da una zona única de actividad antibacteriana que
10 tiene un valor R_f distinto de los de la penicilina de par-
tida y penicilina intermedia.

EJEMPLO 18

6- \overline{D} - α -(carboxiacetamido)-fenilacetamido $\overline{7}$ penicilanato só-
dico.

15 Se calientan juntos durante una hora a 80°C malona
to de monobencilo (5,82 g, p.f. 50-51°C) y cloruro de tio-
nilo (5 ml), y después se elimina la materia volátil a pre-
sión reducida (temperatura del baño 70°C). El cloruro de -
ácido oleoso residual se disuelve en isobutil metil cetona
20 (50 ml) y se añade de una sola vez sobre una solución vigo-
rosamente agitada de ácido 6- \overline{D} (-)- α -aminofenilacetamido $\overline{7}$
penicilánico trihidrato (12,1 g) en solución acuosa 0,6 N
de hidróxido sódico (50 ml). La mezcla se agita vigorosa-
mente durante 40 minutos, se separa algo de sólido y des-
25 pués se separan las dos capas. La fase acuosa se extrae dos
veces con isobutil metil cetona a pH 2 por el procedimien-
to descrito en el ejemplo 17 y los extractos clarificados
se añaden sobre una solución etérea de 2-etilhexoato sódi-
co para dar 6- \overline{D} - α -(benciloxicarbonilacetamido)-fenilace-
30 tamido $\overline{7}$ penicilanaato sódico (6 g, pureza 49%, por ensayo co

317079



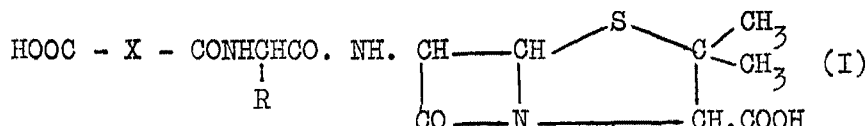
1 lorimétrico con hidroxilamina).

Una porción (4,1 g) de esta penicilina intermedia protegida se somete a hidrogenación catalítica por el procedimiento descrito en el ejemplo 17, utilizando 25 g de catalizador de paladio al 5% - carbonato cálcico previamente hidrogenado. El 6/D- α -(carboxiacetamido)-fenilacetamido penicilinato sódico resultante (2,8 g) tiene una pureza del 34% determinada por ensayo colorimétrico con hidroxilamina. Cuando se somete a cromatografía de papel da una zona única de actividad antibacteriana, que tiene un valor R_f distinto de los de las penicilinas de partida e intermedia.

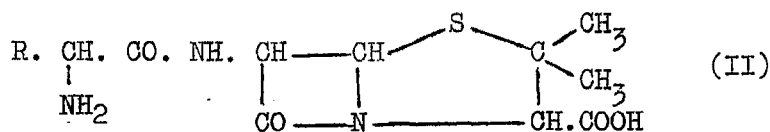
En resúmen, la Patente de Invención que se solicita, recaerá sobre las siguientes:

15 - REIVINDICACIONES -

1. Un procedimiento para la preparación de penicilinas de fórmula general:



20 y sales no tóxicas de las mismas, donde R es un grupo alquilo, aralquilo, arilo o heterocíclico que puede estar sustituido y X es un enlace directo o un radical divalente alifático, aromático o heterocíclico que puede estar sustituido, cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar una α -aminopenicilina de fórmula general



con un derivado reactivo de un ácido de fórmula general:



317079



1 donde Y es un grupo hidroxilo o el grupo OR' donde R' es -
un grupo bencilo o bencilo sustituido que posteriormente -
es eliminado.

5 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado porque cuando Y es un grupo hidroxilo el deri-
vado reactivo es un anhídrido cíclico $X \begin{matrix} \diagup \text{CO} \\ \diagdown \text{CO} \end{matrix} O$, un cloruro
de monoácido o biácido o un monoanhídrido ó bianhídrido -
mixto.

10 3. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado porque cuando Y es el grupo OR' el derivado -
reactivo es un cloruro, bromuro, azida, anhídrido o anhi-
drido mixto de ácido.

15 4. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado porque cuando Y es el grupo OR' el derivado -
reactivo es un compuesto intermedio formado a partir del -
ácido y un agente de condensación.

5. Un procedimiento según la reivindicación 4, ca-
racterizado por ser el agente de condensación dicitclohexil
carbodiimida o carbonildiimidazol.

20 6. Un procedimiento según cualquiera de las reivin-
dicaciones 1, 3, 4 ó 5, en el cual la eliminación del gru-
po R' se realiza por hidrogenación catalítica.

25 7. Se reivindica por último como objeto sobre el -
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PENICILINAS".

30



317079

1 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente Memoria descriptiva que consta de quince páginas
mecanografiadas.

5

Madrid, 3 de Septiembre 1.965

ALFONSO UNGRIA
p.p.

(Fdo. Juan Pedraza)

10

15

20

25

30