

Y/Ref: 319/322 "B-Penicillín"

317862



PATENTE DE INVENCION

M E M O R I A   D E S C R I P T I V A

S o b r e :

" METODO PARA LA PRODUCCION DE NUEVAS PENICILINAS "

- - - - -

Solicitante: LØVENS KEMISKE FABRIK PRODUKTIONSAKTIESELSKAB,  
entidad danesa, domiciliada en 11, Ballerup  
Byvej, BALLERUP, Dinamarca.

- - - - -

Inventor: Don Wagn Ole GODTFREDSSEN.

- - - - -

**POOR  
QUALITY**

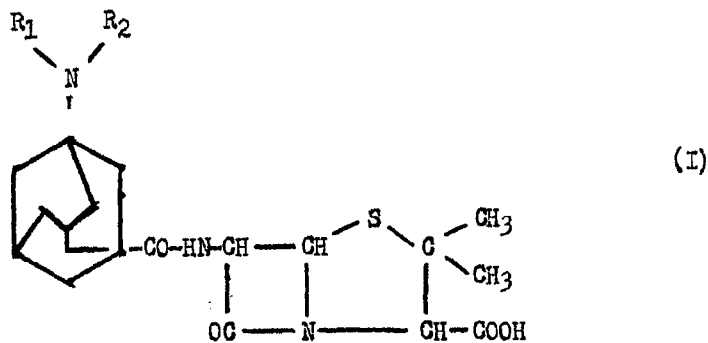
317862



La presente invención se relaciona con un método para producir ciertas nuevas penicilinas sintéticas.

En particular, la presente invención se relaciona con un método para producir 3-adamantilo sustituido-(1)-penicilinas de la fórmula general (I):

5. fórmula general (I):



10. donde cada una de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es un átomo de hidrógeno o un radical alquilo inferior que contiene 1 a 4 átomos de carbono, y se relaciona también con las sales farmacéuticamente aceptables o ésteres fácilmente hidrolizables de estas penicilinas.

15. Las penicilinas producidas de acuerdo con el método de la presente invención son antibióticos de espectro amplio y se caracterizan por ser resistentes a la enzima penicilinasasa, a la cual se denominará en lo que sigue "penasa", y además por poseer actividad antibacteriana que es ventajosamente elevada en comparación con la actividad de otras penicilinas resistentes a la penasa.

20. Las nuevas penicilinas son compuestas no tóxicas y son bien toleradas cuando se las administra. Poseen una estabilidad ácida que corresponde a la de la penicilina G, y por lo tanto se las administra apropiadamente en las formas de presentación farmacéuticas conocidas y preferidas para la penicilina G.

Se conocen las penicilinas resistentes a la penasa, tales como la meticilina (2,6-dimetoxifenilpenicilina) que se emplea intensamente en el tratamiento clínico de enfermedades infecciosas causa-

317862



das por estafilococos cuya resistencia a la penicilina se debe a la formación de dicha enzima.

La única ventaja de la mencionada meticilina es que es resistente a la penasa, puesto que su actividad antibacteriana, como

5. tal, es solo 1/100 de la de las penicilinas G ó V. Por lo tanto, estas últimas penicilinas son las mas preferibles y los profesionales de la medicina las usan en sus tratamientos de rutina de pacientes que adolecan de enfermedades infecciosas, y solamente interrumpirá su administración cuando su uso fracasa, lo cual indica que la enfermedad puede ser causada por un micro-organismo resistente a la penicilina, y que se debe prescribir la meticilina o una penicilina correspondiente.

10.

En tales casos se pierde un tiempo valioso en el tratamiento, lo cual sucede también cuando, a fin de elegir la penicilina mas

15. ventajosa, se emprende una previa determinación de la susceptibilidad del micro-organismo patógeno a las diversas penicilinas.

En las penicilinas producidas en el método de la presente invención, la mayor actividad antibacteriana asociada con por ejemplo penicilinas G y V, está combinada con la resistencia a la penasa de

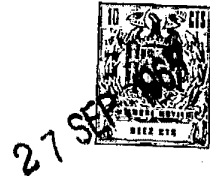
20. la meticilina, de manera que se puede aplicar ventajosamente las nuevas penicilinas en el tratamiento de rutina de enfermedades infecciosas sin pérdida de tiempo en el tratamiento y, además de la ventaja mencionada mas arriba, las nuevas penicilinas han demostrado resultar particularmente activas contra bacterias gram-negativas entre las cuales,

25. según se sabe, se presentan muchos micro-organismos patógenos menos susceptibles a las penicilinas, y algunas de las cuales son productoras de la penasa.

En las Tablas I y II, a las cuales se indican mas adelante, la actividad de una de las nuevas penicilinas ha sido mas elaboradamente

30. ilustrada bajo la forma de los resultados obtenidos en ensayos

317862



seriados comparativos de dilución.

En las tablas, la actividad de la penicilina en cuestión está expresada como el logaritmo negativo de su concentración que produce una inhibición del 50 % del crecimiento del micro-organismo

5. indicado.

Aparte de excepciones marcadas con un asterisco en las tablas, el medio de cultivo empleado en el ensayo es una solución de extracto de levadura/hidrolizado de caseína con una mezcla de L-cisteína.

10. La expresión WG 832 que se usa en las tablas, representan 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina.

TABLA I

<u>Penicilina</u>	<u>Organismo de ensayo</u>	
	<u>Staphylococcus aureus, no productor de penasa</u>	<u>Staphylococcus aureus, productor de penasa</u>
15. Meticilina	6,2	6,0 <sup>1)</sup>
WG 832	6,9	6,8 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> El sustrato contiene 50 % de suero.

De acuerdo con la Tabla I, se puede ver que la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina es tan activa como la meticilina cuando el

20. organismo de ensayo es una cepa productora de penasa de Staphylococcus aureus, mientras que es seis veces mas activa que la meticilina cuando se la ensaya con una cepa no productora de penasa del mismo organismo. Se puede ver además que esta mayor actividad no se ve afectada por el suero que está presente en el medio de cultivo.

25. La ventajosa alta actividad de la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina contra bacterias gram-negativas está ilustrada en la siguiente tabla II.

TABLA II

<u>Organismo de ensayo gram-negativo</u>	<u>Penicilina</u>	
	<u>Meticilina</u>	<u>WG 832</u>
30. <u>Escherichia coli</u>	4,3	5,3

317862

27 ST



	<u>Proteus mirabilis</u>	4,4	5,5
	<u>Salmonella schottmuelleri</u>	<4	5,0
	<u>Salmonella typhosa</u>	<4	5,5
	<u>Shigella dysenteriae</u>	<4	5,7
5.	<u>Neisseria gonorrhoeae</u> (con susceptibilidad reducida a la penicilina)	6,3 <sup>(1)</sup>	7,2 <sup>(1)</sup>

<sup>1)</sup> Medio de ensayo: sustrato de ascitos de la sangre.

De acuerdo con la Tabla II, se puede ver que la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina es, término medio, 10 veces mas activa que la metilicina contra determinadas bacterias, a las cuales se debe considerar solamente como una selección representativa de las diversas bacterias patógenas contra las cuales son eficaces las penicilinas de la presente invención, y que sirven para ilustrar dónde, al combatir enfermedades, puede resultar importante este efecto específico. Aunque por lo general no se los considera patógenos, los organismos Escheria coli y Proteus mirabilis están a menudo involucrados en infecciones del sistema urinario.

Las propiedades ventajosas mencionadas mas arriba surgen también de las siguientes tablas en las cuales la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina está denominada WG 832.

20. TABLA III

Staphylococcus aureus: Experimentos de terapia.

Se infecta ratones endovenosamente con 0,2 ml de una solución diluida 1:10 de un cultivo de 24 hr de Staphylococcus aureus productor de penicilinas.

25. Tratamiento: 1 dosis diaria subcutáneamente durante 5 días comenzando en el día de la infección.

<u>Dosis (mg)</u>	<u>Cantidad de animales</u>	<u>Animales sobrevivientes al 34º día, %</u>	<u>Vida término medio en días</u>
Testigo	22	0	3,5

- 6 -  
317862



27

5.	Bencil- penicilina	3	20	20	10,0
		1	20	5	6,0
		0,3	20	0	6,6
	Meticilina	1	20	35	19,3
		0,3	20	5	10,0
		0,1	20	10	6,3
	WG 832	1	20	65	32,4
		0,3	20	55	21,1
		0,1	20	15	7,9

10.

TABLA IV

Staphylococcus aureus: Experimentos de terapia.

Se infecta ratones, de un peso término medio de 20 g, endovenosamente con 0,2 ml de una solución diluida 1:50 de un cultivo de 24 hr de Staphylococcus aureus susceptible a la penicilina.

15.

Tratamiento: 1 dosis diaria subcutáneamente durante 5 días comenzando en el día de la infección.

	Dosis (mg)	Cantidad de animales	<u>Animales sobrevivientes</u>		
			<u>6º día</u>	<u>20º día</u>	
20.	Testigo	10	3	3	
	Bencil- peni- lina	0,1	10	9	9
		0,03	10	10	9
		0,01	10	8	6
	Meticilina	0,3	10	6	4
		0,1	10	6	5
		0,03	10	6	2
	25.	WG 832	0,3	10	9
			0,1	10	9
		0,03	10	9	

De acuerdo con las Tablas III y IV, se puede ver que la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina tiene el mismo efecto, o mayor, que

- 7 -  
317862



el conocido compuesto meticilina contra una infección causada por un micro-organismo productor de penicilinasa, y que tiene el efecto considerablemente mayor, mencionado mas arriba, contra infecciones causadas por micro-organismos que no producen penicilinas.

5. La eliminación ventajosamente lenta, por parte del organismo, de las nuevas penicilinas ha quedado demostrado tanto en experimento con animales como en experimentos con seres humanos después de la administración 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina bajo la forma del anfo-ión, según se puede ver en las siguientes Tablas V y VI en las cuales se estima la excreción demorada, en base a concentraciones en sangre establecidas a intervalos apropiados de tiempo después de la administración de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina, y de la penicilina G y meticilina, respectivamente, como compuestos de referencia.
- 10.

15.

TABLA V

Concentraciones de suero en ratas que reciben 20 mg (100 mg/kg) de WG 832, meticilina y penicilina G-Na, subcutáneamente.

Los datos representan el término medio sobre 3 ratas.

Substancia	Concentraciones en suero ( $\mu\text{g/ml}$ ) hr después de la administración:				
	1/2	1	2	4	6
WG 832	77	55	22	2,9	0,3
Pen.G. Na	27	3,9	0,35	0,02	0,03
Meticilina	44	23	2,5	0,24	( <sup>1</sup> )

<sup>1</sup>) No hay actividad detectable.

25.

TABLA VI

Concentraciones en el suero en sujetos humanos que reciben 100 mg de WG 832 y penicilina G-Na intramuscularmente.

Los datos son el término medio sobre 2 sujetos.

317862



Substancia	Concentraciones en suero (pg/ml)				
	hr después de la administración				
	1/2	1	2	3	4
WG 832	3,8	3,4	1,6	1,0	0,41
Pen. G. Na	3,1	1,9	0,47	0,21	0,07

5. En el método de la presente invención, se produce las penicilinas de la fórmula (I) haciendo reaccionar ácido 6-amino-penicilánico con un derivado funcionalmente reactivo de la fórmula (II);



(II)

10. donde  $R_1$  y  $R_2$  tienen el mismo significado definido mas arriba, siempre que cuando  $R_1$ , o tanto  $R_1$  como  $R_2$ , en la fórmula (I) son hidrógeno,  $R_1$  en la fórmula (II) podrá ser un grupo protector al cual se puede separar fácilmente mediante hidrogenación suave, y COY representa un radical capaz de reaccionar con el grupo amino de manera de dar por resultado la formación del compuesto de la fórmula general (I), o el
15. correspondiente compuesto que tiene un grupo amino protegido, después de lo cual se separa subsiguientemente el grupo protector, si está presente, mediante hidrogenación bajo condiciones suaves y se recupera el compuesto de la fórmula (I) como tal, o bajo la forma de una de sus sales.
20. Apropriadamente, el grupo protector mencionado mas arriba es el grupo carbobenzoxilo, pero otros grupos son apropiados, de los cuales se pueden mencionar los que tienen la fórmula  $R_3O.CO-$  en que se elige  $R_3$  de la clase que consiste en alilo, bencilo substituido, fenilo, fenilo substituido y tritilo.
25. Sin embargo, se ha comprobado inesperadamente que el átomo

317862



273

- de nitrógeno, fijado a la posición 3 de los ácidos 3-adamantano sustituido-(1)-carboxílicos, aplicados en el método de acuerdo con la presente invención, es tan comparativamente capaz de ser ionizado que es posible llevar a cabo la reacción, entre el derivado funcionalmente reactivo de un ácido 3-adamantano sustituido-(1)-carboxílico de esta clase, y ácido 6-amino-penicilánico, sin que tenga lugar una autocondensación bajo la formación de derivados poliméricos de adamantano. Se ha sugerido además que la obstrucción estérica en la molécula del adamantano da por resultado que son obtenibles derivados funcionales reactivos apropiados del ácido 3-adamantano sustituido-(1)-carboxílico sin previa protección del grupo amino primario o secundario fijado a la posición 3 de la molécula del adamantano, puesto que los productos posibles de reacción, resultantes de reacciones colaterales bajo la formación del derivado funcionalmente reactivo del ácido 3-adamantano sustituido-(1)-carboxílico, han demostrado ser inferiores y sin importancia para obtener un rendimiento y pureza satisfactorios de la 3-adamantilo sustituido-(1)-penicilina deseada por reacción entre el derivado funcionalmente reactivo del ácido 3-adamantilo sustituido-(1)-carboxílico y ácido 6-amino-penicilánico.

- Por lo tanto, en general no es necesario proteger el grupo amino en la posición 3 de la molécula de adamantano mientras se lleva a cabo el procedimiento que da por resultado la producción de las presentes penicilinas. Por ejemplo, se ha comprobado que la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina es producible con buenos rendimientos, simplemente haciendo reaccionar ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico con, por ejemplo, cloruro de tionilo, y dejando luego que el producto resultante reaccione con ácido 6-amino-penicilánico en un medio acuoso y a un valor apropiado de pH al cual el grupo amino del ácido 6-amino-penicilánico, desde todo punto de vista esencial, está no

317862



27  
ionizado, por ejemplo a un valor de pH comprendido aproximadamente entre 5,5 y 7,0.

Los derivados funcionales apropiados del ácido 3-adamantano no sustituido-(1)-carboxílico incluyen los haluros, tales como el

5. cloruro de ácido carboxílico; o el anhídrido de ácido carboxílico; anhídridos mixtos, tales como el anhídrido mixto con un monoéster de ácido carbónico, o con un ácido sulfónico; o la imidazolidina o azida del ácido carboxílico. Además, se puede usar el ácido carboxílico libre, por sí mismo, cuando se emplea una carbodi-imida, por ejemplo N,N'-díciclohexil-carbodi-imida, para llevar a cabo la reacción.

Se puede llevar a cabo el método de la presente invención de acuerdo con procedimientos conocidos, teniéndose sin embargo siempre debidamente en cuenta la relativa inestabilidad de la penicilina así obtenida.

15. Por ejemplo, es deseable llevar a cabo la reacción entre el derivado funcional del ácido adamantano sustituido-(1)-carboxílico y el ácido 6-amino-penicilánico a una temperatura de aproximadamente 0 °C, y de preferencia a un valor de pH en las proximidades del punto neutro, por ejemplo en presencia de un regulador de pH apropiado.
20. Bajo estas condiciones, la reacción quedará por lo general completa en 15 min hasta unas pocas horas.

- En ciertos casos, se puede aislar la penicilina resultante mediante métodos utilizados en general para la aislación de compuestos anfotéricos. Por consiguiente, se puede ajustar el valor de
25. pH de una solución acuosa del compuesto al punto isoeléctrico del compuesto en cuestión y, si lo hubiera, se puede recoger el producto, así precipitado, y purificarlo mas todavía por cristalización.

- A título de ejemplo, se puede aislar también las sales de las penicilinas, escasamente solubles, mediante una doble descomposición que se lleva a cabo en agua, o mezclas de agua y solvente or-
- 30.

317862



gánico apropiado en una manera conocida.

5. A partir de sus sales de amina escasamente solubles, se puede transformar apropiadamente la penicilina, por ejemplo a su sal sódica por reacción con bicarbonato de sodio acuoso en presencia de un solvente inmiscible con agua, con lo cual se separa la amina. Se puede aislar entonces una sal sódica cruda mediante secado por congelación de la fase acuosa y se la puede someter entonces a purificación adicional.

10. Entre las sales apropiadas de las penicilinas de la presente invención, se puede mencionar las sales de metal alcalino, las sales de metal alcalinotérreo, la sal de amonio, y sales de aminas no tóxicas, tales como trialquilaminas, por ejemplo trietilamina; procaina, dibencilamina, N,N'-dibencil-etilenodiamina, y otras aminas utilizadas para formar sales con penicilinas conocidas.

15. Los materiales de partida de la fórmula (II), a los cuales se usa en el método mencionado mas arriba, son sustancias que eran hasta ahora desconocidas, a las cuales se puede producir a partir del ácido 3-bromo-adamantano-(1)-carboxílico fácilmente accesible al cual se describe en Chemische Berichte 95 669 (1962) Stetter y Mayer.

20. Por tratamiento de este ácido con acetonitrilo en ácido sulfúrico, se obtiene el ácido 3-acetamino-adamantano-(1)-carboxílico hasta ahora desconocido que, por saponificación, es convertido a la correspondiente amina libre y, si así fuera conveniente, se puede mono- ó dialquilar el ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico para producir

25. ácidos 3-mono- ó 3-dialquilamino-adamantano-(1)-carboxílicos.

Se puede también preparar el compuesto 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina haciendo reaccionar con ácido 6-amino-penicilánico el ácido 3-azido-adamantano-(1)-carboxílico hasta ahora desconocido, bajo la forma de uno de sus derivados funcionalmente reactivos tales

30. como el haluro, después de lo cual se hidrogena la 3-azido-adaman-

- 12 -  
317862



275

tilo-(1)-penicilina resultante de manera de formar la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina deseada.

5. Se ha comprobado que resulta particularmente apropiado, en este último método, llevar a cabo la hidrogenación a un valor fijo de pH en las proximidades del punto neutro que se obtiene mediante neutralización sucesiva del grupo amino altamente básico que se forma bajo hidrogenación, por ejemplo mediante adición automática de ácido.

10. En esta forma de llevar a la práctica la presente invención, se forma la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina con rendimiento y pureza extremadamente buenos, debido a que se evita las reacciones colaterales, y debido a que se puede llevar al óptimo la hidrogenación debido al control del procedimiento por medio del ácido consumido con referencia a la neutralización mencionada mas arriba.

15. Se puede obtener también el ácido 3-azido-adamantano-(1)-carboxílico, utilizado como material de partida en esta última forma de llevar a la práctica la presente invención, a partir de ácido 3-bromo-adamantano-(1)-carboxílico, haciendo reaccionar este último compuesto con azida de litio en un solvente inerte y anhidro, por ejemplo dimetilformamida.

20. La 3-amino-adamantano-(1)-penicilina, preparada en la manera descrita mas arriba, tiene p.f. = 235 °C (desc.) y  $\frac{[\alpha]_D^{20}}{c} = +253^\circ$  (en agua). Su solubilidad en agua, como un anfo-ión, alcanza aproximadamente a 4,5 % (por peso), y un análisis elemental de un producto, cuyo contenido de agua alcanza a 4,8 % (por peso) determinado por el método Karl Fischer, proporciona el siguiente resultado:

25. Hallado: C 55,65; H 7,15; N 10,10 %  
Calc. para  $C_{19}H_{27}N_3O_4S \cdot H_2O$ : C 55,46; H 7,10; N 10,21 %

#### EJEMPLO I

a) ácido 3-acetamino-adamantano-(1)-carboxílico

30. Durante 20 hr se somete a reflujo una mezcla de ácido 3-



bromo-adamantano-(1)-carboxílico (5,8 g), acetonitrilo (45 ml) y ácido sulfúrico concentrado (9 ml).

Después de enfriar, se vierte la mezcla en agua (250 ml), y se concentra la suspensión resultante bajo presión reducida para

5. eliminar la mayor parte del acetonitrilo.

Se agrega hidróxido de sodio acuoso (3%) hasta que el pH es 4,0 (aproximadamente 24 ml).

Se separa por filtración al precipitado, se le lava con agua y se le seca de manera de obtener 4,4 g del producto deseado, p.f. =

10. 230-240 °C. Dos recristalizaciones a partir de metanol-acetonitrilo elevan el punto de fusión a 254-258 °C.

b) ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico

Durante 5 hr se somete a reflujo una solución de ácido 3-acetamino-adamantano-(1)-carboxílico (3,0 g) en hidróxido de sodio

15. 4N (40 ml). Después de enfriar, se ajusta el pH de la solución a 7 mediante ácido acético. Se separa por filtración el precipitado cristalino, se le lava con etanol y se le seca para obtener 2,20 g del compuesto deseado, p.f. = > 330 °C. Para purificar el compuesto, se suspende 2,0 g del mismo en agua (10 ml). Se agrega NaOH 4N (2 ml)

20. y se filtra la solución resultante a través de un auxiliar de filtración que se conoce bajo la denominación comercial "Dicalite". Se ajusta el filtrado a pH = 6,5 mediante ácido acético. Se separa por filtración el precipitado cristalino así formado, se le lava con un poco de agua seguido por alcohol, y se le seca de manera de obtener

25. 1,55 g de ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico puro.

Análisis

Calculado para:  $C_{11}H_{17}NO_2$ : C 67,66; H 8,78; N 7,17 %

Hallado: C 67,49; H 8,93; N 7,24 %

EJEMPLO II

- 30.

3-amino-adamantil-(1)-penicilina

- 14 -  
317862



278

- Durante 1 hr se somete a reflujo ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico (1 g) con cloruro de tionilo (4,6 ml). Se separa bajo presión reducida el exceso de cloruro de tionilo. Se disuelve el residuo en benceno (3 ml), y se evapora la solución resultante bajo
5. presión reducida para eliminar los vestigios de cloruro de tionilo. Se repite este procedimiento de modo que queda 1,3 g de un residuo sólido prácticamente incoloro. El análisis elemental y el espectro infrarrojo sugieren que este producto es cloruro de ácido 3-tionilamino-adamantano-(1)-carboxílico. Se disuelve 500 mg de este producto
10. en acetona seca (8 ml), y se agrega la solución resultante a través de 20 min con agitación, a una suspensión de ácido 6-amino-penicilánico (520 mg) en acetona acuosa al 50 % (20 ml), previamente ajustada a pH = 7,0 mediante trietilamina. Durante este procedimiento, se mantiene un valor de pH = 7,0 mediante la adición de una solución
15. 1N de trietilamina en acetona acuosa al 50 % desde un titulador automático. Al término de la reacción, que tiene lugar a la temperatura ambiente, se obtiene una solución clara. Se separa la acetona bajo presión reducida y se ensaya la solución acuosa resultante con respecto a su actividad antibacteriana mediante el método de
20. tasa de ágar, usando Sarcina lutea como organismo de ensayo, y una muestra pura de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina como compuesto de referencia. De acuerdo con este ensayo, se forma 70 % de la cantidad teórica de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina. La cromatografía con papel revela que está presente un solo compuesto antimicrobiano, y
25. que es idéntico a la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina auténtica.

- Se concentra la solución acuosa bajo presión reducida hasta un volumen de 4 ml. La adición de acetona (40 ml) proporciona un precipitado aceitoso que, después de decantación de adición de nueva acetona, proporciona 900 mg de un sólido semicristalino que contiene
30. 50 % de la cantidad teórica de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina.

317862



lina.

EJEMPLO III

3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

- Durante 1 hr se somete a reflujo ácido 3-amino-adamantano-
5. (1)-carboxílico (1,0 g) con cloruro de tionilo (4,6 ml). Después de enfriar, se separa bajo presión reducida el cloruro de tionilo en exceso. Se disuelve el residuo en benceno seco (3 ml) y se evapora la solución bajo presión reducida para eliminar los vestigios de cloruro de tionilo. Se disuelve el residuo (1,3 g) en benceno seco (20
10. ml) y se hace burbujear cloruro de hidrógeno seco a través de la solución durante 15 min de manera de obtener un depósito de un material cristalino incoloro. Se evapora la humedad bajo presión reducida de manera que queda 1,3 g de clorhidrato de cloruro de ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico. A la temperatura ambiente se a-
15. grega por pequeñas porciones este material a una suspensión agitada de ácido 6-amino-penicilánico (520 mg) en agua (10 ml) previamente ajustada a pH = 5,5 mediante NaOH acuoso 1N. Durante esta etapa se mantiene un pH de 5,5 mediante la adición de NaOH acuoso 1N, controlándose la adición mediante un titulador automático.
20. Se ensaya la solución resultante con respecto a su actividad antibacteriana mediante el método de la taza de ágar usando Sarcina lutea como organismo de ensayo. De acuerdo con este ensayo, se ha formado aproximadamente 30 % de la cantidad teórica de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina. La cromatografía con papel revela que es-
25. tá presente en la solución un solo compuesto antibacteriano, y que es idéntico a la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina auténtica.

EJEMPLO IV

3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

- a) En agua enfriada con hielo se enfría una solución de áci-
30. do 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico (195 mg) en hidróxido de so-

317862



27 SEP

- dic 2N (1 ml), y se agrega cloruro de carbobenzoxilo (0,18 ml). Se secude completamente la mezcla durante 10 min. Después de acidificación con ácido clorhídrico, se extrae la mezcla mediante éter. Se lava la fase etérea con agua, se la seca y se la evapora hasta sequedad de manera de obtener 200 mg de ácido 3-carbobenzoxiamino-adamantano-(1)-carboxílico, p.f. = 112-114 °C. La muestra analítica, a la cual se obtiene después de recristalización a partir de éter-hexano, tiene p.f. = 115-115,5 °C.

Análisis

10.           Calculado para:  $C_{19}H_{23}NO_4$ : C 69,28; H 7,04; N 4,25 %  
                  Hallado: C 69,49; H 7,08; N 4,19 %
- b)           Durante 90 min se somete a reflujo ácido 3-carbobenzoxiamino-adamantano-(1)-carboxílico (500 mg) con cloruro de tionilo (4 ml). Bajo presión reducida se separa el cloruro de tionilo en exceso y se disuelve en acetona (7 ml) el residuo que consiste en cloruro de ácido 3-carbobenzoxiamino-adamantano-(1)-carboxílico crudo.
15.           A 0 °C se agrega la solución resultante a una solución de ácido 6-amino-penicilánico (330 mg) en solución de bicarbonato de sodio al 3 % (10 ml), con agitación.
20.           Después de agitar durante 30 min, se extrae la mezcla con éter. Se separa la fase acuosa, se la ajusta a pH = 2,5 mediante ácido sulfúrico diluido, y luego se la extrae inmediatamente con éter. Se lava con agua el extracto etéreo y se la seca, después de lo cual se agrega bencil-β-feniletilamina (0,2 ml) para precipitar la sal de
25.           bencil-β-feniletilamina cristalina de la 3-carbobenzoxiamino-adamantilo-(1)-penicilina a la cual se recoge, se lava con éter y se seca para obtener un rendimiento de 89 % del producto puro.
- c)           En bicarbonato de sodio acuoso al 3 % (15 ml) se suspende 650 mg de la sal de bencil-β-feniletilamina de 3-carbobenzoxiamino-
30.           no-adamantilo-(1)-penicilina, descripta mas arriba. Se agrega aceta-

317862



27 SEP

- to de etilo (15 ml) y se agita la mezcla hasta que se obtiene dos fases claras. Se separa la fase acuosa y se la agrega a una suspensión prehidrogenada de paladio al 5 % sobre carbonato de calcio (5 g) en agua (15 ml), después de lo cual se sacude la mezcla bajo una presión
5. de 1 atmósfera de hidrógeno. Cuando cesa el consumo de hidrógeno (después de 30 min), se separa por filtración al catalizador y se le lava con agua. Se ajusta el filtrado y los lavados combinados hasta pH = 6 mediante ácido sulfúrico diluido, y se seca por congelación de manera de obtener un rendimiento de 400 mg de la 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina.
10. tilo-(1)-penicilina.

EJEMPLO V

3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

- a) Durante 18 hr se somete a reflujo una mezcla de ácido 3-bromo-adamantano-(1)-carboxílico (5,0 g) y azida de litio (10 g) en dimetilformamida (40 ml). Después de enfriar, se concentra la solución
15. bajo presión reducida y se disuelve el residuo en agua. Se acidifica la solución (40 ml) con ácido clorhídrico y se extrae con éter (2 X 25 ml). Se lava con agua los extractos combinados, se los seca y se los evapora para obtener 2,5 g de un producto que, además del
20. compuesto de ácido 3-azido-adamantilo-(1)-carboxílico, contiene un poco de ácido 3-hidroxi-adamantano-(1)-carboxílico. Este último compuesto es insoluble en tetracloruro de carbono y se le separa por tratamiento con este solvente. Se evapora hasta sequedad este filtrado, que contiene el ácido 3-azido-adamantilo-(1)-carboxílico, y se
25. cromatografía el residuo sobre una columna de 50 g de gel de sílice. La elución con pentano-éter (85:15) proporciona 1,3 g de ácido 3-azido-adamantilo-(1)-carboxílico puro, p.f. = 101-102 °C.

El espectro infrarrojo (KBr) contiene una banda fuerte en  $2110 \text{ cm}^{-1}$ .

30. b) Durante 1 hr se somete a reflujo ácido 3-azido-adamantilo-

18  
317862



- (1)-carboxílico (1,55 g) con cloruro de tionilo (3 ml). Se separa bajo presión reducida el cloruro de tionilo en exceso, y se disuelve en acetona (25 ml) el residuo que consiste en cloruro de ácido 3-azido-adamantilo-(1)-carboxílico crudo. A través de 15 min y a 5 °C, se agrega la solución resultante a una solución de ácido 6-amino-penicilánico (1,53 g) en una solución al 3 % de bicarbonato de sodio (30 ml) con agitación. Después de agitar durante 1 hr a 5 °C, se lava la mezcla dos veces con 25 ml de éter. Se cubre la fase acuosa con una capa de 50 ml de éter y se ajusta a pH = 2,1 mediante ácido sulfúrico diluido, pasando la penicilina libre a la fase orgánica. Se separa las capas y se extrae la fase acuosa dos veces nuevamente con porciones de 5 ml de éter.
- 5.
- 10.
- Se agrega agua (10 ml) a los extractos etéreos combinados y se agrega entonces con agitación bicarbonato de potasio acuoso concentrado hasta que el pH de la fase acuosa es 7,0. Se separa la fase acuosa, se agrega *n*-butanol (50 ml) y se destila la mezcla bajo presión reducida para separar el agua. Se agrega otras cantidades de *n*-butanol y se continúa la destilación hasta que se separó la totalidad del agua. Durante este procedimiento, cristaliza la sal potásica de 3-azido-adamantil-(1)-penicilina. Se la separa por filtración, se la lava con acetona y se la seca de manera de obtener 2,1 g de un producto que es 95 % puro.
- 15.
- 20.
- c) Se agrega una solución de la sal potásica de 3-azido-adamantil-(1)-penicilina (400 mg) en agua (10 ml) a una suspensión prohidrogenada de paladio al 5 % sobre carbonato de calcio (800 mg) en 5 ml de agua. Se sacude esta mezcla bajo una presión de 1 atmósfera de hidrógeno durante 1 hr. Se separa el catalizador por filtración y se le lava con agua (2 X 10 ml). Se ajusta el filtrado y los lavados combinados hasta pH = 6 mediante ácido clorhídrico diluido y se seca por congelación de manera de obtener 330 mg de la 3-amino-adamantil-(1)-pe-
- 25.
- 30.

317862



nicilina con una pureza de 72 %.

El espectro infrarrojo demuestra que desapareció la fuerte banda azido a  $2110\text{ cm}^{-1}$  en el espectro del material de partida, mientras que todavía está presente la banda a  $1775\text{ cm}^{-1}$  debida al ani-

5. llo  $\beta$ -lactamo.

Sobre una placa de agar sembrada con Staphylococcus aureus se dispone un cromatograma sobre papel (solvente: papel "Whatman" Nº 1 de acetato de etilo saturado con agua, regulado mediante citrato de sodio al 10 % hasta pH = 5,6). Después de incubación a 37 °C, se observa una sola zona bien definida de inhibición cerca del lugar inicial, mientras que no se alcanza a detectar otras zonas de inhibición ("Whatman" es una denominación comercial).

EJEMPLO VI

3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

15. Se ajusta a pH = 8,5 una suspensión prehidrogenada de paladio al 10 % sobre carbonato de calcio (12 g) en agua (250 ml). Con agitación se agrega lentamente una solución de 22,8 g (50 milimoles) de la sal potásica de 3-azido-adamantilo-(1)-penicilina en 100 ml de agua, mientras se hace burbujear una corriente de hidrógeno a través de la suspensión. Durante este procedimiento se mantiene el pH a 8,5 mediante la adición de ácido acético 2N, controlándose la adición mediante un titulador automático. Cuando queda completa la hidrogenación (es decir cuando cesa el consumo de ácido), se separa el catalizador por filtración y se lava sobre el filtro con 3 porciones de 25 ml de agua, después de lo cual se ajusta los filtrados y lavados combinados a pH = 6,50 mediante ácido acético. Se agrega n-butanol (750 ml) y se concentra la mezcla resultante bajo presión reducida, de manera que se separa el agua azeotrópicamente. A la solución butanólica residual se agrega agua (3 ml) y se induce la cristalización mediante rascado o sembrado. Después de reposar durante la no-

317862



27 SEP

che en un refrigerador, se recoge los cristales que consisten en una forma hidratada del producto deseado, se los lava con n-butanol seguido por acetona, y se los seca. En la siguiente manera se recristaliza el producto así obtenido. A una solución de 10 g en agua (100

5. ml), se agrega lentamente con agitación acetona (600 ml). Después de reposar, se separa por filtración los cristales, se los lava con acetona y se los seca de manera de obtener 8,0 g de la penicilina deseada bajo la forma de su monohidrato, p.f. = 235 °C (desc.) y  $[\alpha]_D^{20} = +253^{\circ}$  (en agua).

10. Análisis

Hallado: C 55,67; H 7,15; N 10,10 %

Calc. para  $C_{19}H_{27}N_3O_4S \cdot H_2O$ : C 55,46; H 7,10; N 10,21 %

- Mediante el método de Karl Fischer se determina que el contenido de agua es 4,8 %. La penicilina pura tiene una solubilidad en agua de aproximadamente 4,5 % bajo la forma del anfo-ión.
- 15.

EJEMPLO VII

3-dimetilamino-adamantilo-(1)-penicilina

a) ácido 3-dimetilamino-adamantano-(1)-carboxílico

- A una solución de ácido 3-amino-adamantano-(1)-carboxílico (10 g) en hidróxido de potasio acuoso 0,5 M (100 ml) se agrega formaldehído acuoso al 35 % (8 ml) y, después de reposar durante 15 min, se agrega catalizador paladio al 10 % sobre carbonato de calcio (6 g).
- 20.

- Se sacude la mezcla bajo 1 atmósfera de hidrógeno aproximadamente a 50 °C. Durante 24 hr se consume 2,3 lt de hidrógeno, y después de esto ha cesado el consumo.
- 25.

- Después de separar el catalizador por filtración, se ajusta el filtrado a pH = 7,0 mediante ácido clorhídrico diluido y se evapora hasta sequedad. Se trata el residuo con 250 ml de etanol caliente, se separa por filtración el material insoluble (KCl), y se evapora el
- 30.

317862



filtrado bajo presión reducida. Se recrystaliza el residuo cristalino (12 g) a partir de etanol de manera de obtener 8,8 g del compuesto deseado.

Análisis: Calc. para  $C_{13}H_{21}NO_2$ ,  $1/2 H_2O$

5. C 67,31; H 9,54; N 6,04 %

Hallado: C 67,70; H 9,46; N 5,98 %

b) 3-dimetilamino-adamantilo-(1)-penicilina

- Se somete a reflujo ácido 3-dimetilamino-adamantano-(1)-carboxílico (1,6 g) con cloruro de tionilo (3 ml) durante 1 hr. Se separa el cloruro de tionilo en exceso bajo presión reducida, se suspende en acetona seca (3 ml) el residuo que consiste en clorhidrato de cloruro de ácido 3-dimetilamino-adamantano-(1)-carboxílico crudo, y se agrega la suspensión a través de 20 min, y con agitación, a una solución de ácido 6-amino-penicilánico (1,53 g) en solución acuosa al 3 % de bicarbonato de sodio (50 ml). Después de agitar durante 1 hr a 0-5 °C, se lava la mezcla dos veces con 50 ml de éter. Se ajusta la fase acuosa a pH = 6,5 mediante ácido 2-etilhexanoico y se concentra bajo presión reducida hasta un volumen de 20 ml. La adición de acetona (80 ml) proporciona la penicilina deseada bajo la forma de un polvo amorfo blanco con una pureza de 85 %.
- 10.
- 15.
- 20.

- Substituyendo en el precedente procedimiento el ácido 3-dimetilamino-adamantano-(1)-carboxílico por ácido 3-metil-etilamino-adamantano-(1)-carboxílico y ácido 3-dietilamino-adamantano-(1)-carboxílico, respectivamente, se obtiene 3-metil-etilamino-adamantano-(1)-penicilina y 3-dietilamino-adamantilo-(1)-penicilina, respectivamente.
- 25.

EJEMPLO VIII

Sal de trietilamina de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

- A una suspensión de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina (410 mg) en agua (3 ml) se agrega trietilamina (0,15 ml). La adición de a-
- 30.

317862



27  
cetona (15 ml) a la solución clara resultante, hace que el compuesto deseado se cristalice bajo la forma de cristales incoloros, a los cuales se recoge, se lava con acetona y se seca bajo presión reducida.

- En la misma manera, se prepara las sales con trimetilamina, metildietilamina, trietanolamina y etilpiperidina.
- 5.

EJEMPLO IX

Sal sódica de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina

- A una suspensión de 3-amino-adamantilo-(1)-penicilina (410 mg) en agua (3 ml) se agrega gota por gota, con agitación, hidróxido de sodio acuoso 1 N (1,0 ml). La adición de acetona (20 ml) precipita la sal sódica deseada bajo la forma de un polvo amorfo al cual se separa por filtración, se lava con acetona y se seca bajo presión reducida a la temperatura ambiente.
- 10.

- En una manera similar, se prepara las sales de litio, potásica y cálcica.
- 15.

317862

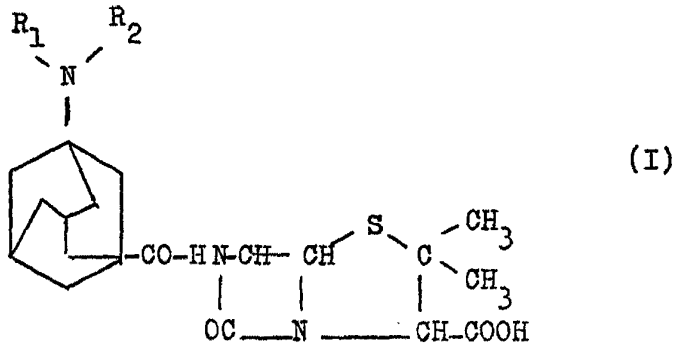


N O T A

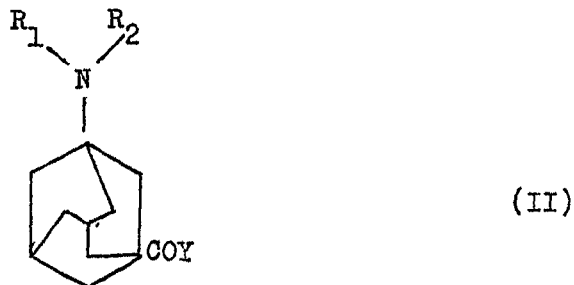
La Patente de Invención, que se solicita por veinte años, para España, de acuerdo con la vigente Legislación, deberá recaer sobre: "MÉTODO PARA LA PRODUCCION DE NUEVAS PENICILINAS", con Prioridad de las demandas británicas números 39.459/64, de fecha 28 de Septiembre de 1964 y 4.325/65, de fecha 1 de Febrero de 1965, según las características esenciales de las siguientes

REIVINDICACIONES

10. 1ª.- Método para la producción de nuevas penicilinas, de la fórmula(I):



en que cada una de las R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es un átomo de hidrógeno a un radical alquilo inferior que contiene 1 a 4 átomos de carbono, y sus sales, caracterizado por el hecho de que se hace reaccionar ácido 6-amino-penicilánico con un derivado funcionalmente reactivo de la fórmula general (II):



317862



- donde  $R_1$  y  $R_2$  tienen los mismos significados definidos más arriba siempre que, cuando  $R_1$  o ambas  $R_1$  y  $R_2$  de la fórmula (I) son hidrógeno,  $R_1$  en la fórmula (II) puede ser un grupo protector al cual se puede separar fácilmente mediante hidrogenación suave, y COY representa un radical capaz de reaccionar con el grupo amino de manera de dar por resultado la formación del compuesto de la fórmula general (I), o el correspondiente compuesto que tiene un grupo amino protegido, después de lo cual se separa subsiguientemente el grupo protector, si está presente, mediante hidrogenación bajo condiciones suaves, y se recupera como tal el compuesto de la fórmula (I) o bajo la forma de una de sus sales; o, cuando ambas  $R_1$  y  $R_2$  en la fórmula general (I) son átomos de hidrógeno, se puede producir la 3-amino-adamantilo-
5. te hidrogenación suave, y COY representa un radical capaz de reaccionar con el grupo amino de manera de dar por resultado la formación del compuesto de la fórmula general (I), o el correspondiente compuesto que tiene un grupo amino protegido, después de lo cual se separa subsiguientemente el
10. grupo protector, si está presente, mediante hidrogenación bajo condiciones suaves, y se recupera como tal el compuesto de la fórmula (I) o bajo la forma de una de sus sales;
15. (1)-penicilina haciendo reaccionar ácido 6-amino-penicilánico con un derivado funcionalmente reactivo de ácido 3-azido-adamantano-(1)-carboxílico, después de lo cual se hidrogena catalíticamente la 3-azido-adamantilo-(1)-penicilina resultante, de manera de producir la 3-amino-adamantilo-(1)-
20. penicilina a la cual se recupera como tal o bajo la forma de una de sus sales.

2ª.- METODO PARA LA PRODUCCION DE NUEVAS PENICILINAS.

Según queda sustancialmente descrito en la presen-

.../..

317862



te memoria, que consta de veinticinco hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 27 de Septiembre de 1965

LØVENS KEMISKE FABRIK PRODUKTIONS-  
TIESELSKAB

P. P. FRANCISCO GARCIA CABRERIZO  
P. P.