

Case E 2123⁺



322386

322386

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DEL ACIDO 6-AMINO-PENICILÁNICO", a favor de la razón social suiza J.R. GEIGY, A.G., residente en BASILEA (Suiza).

=.=

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a un procedimiento para la preparación de nuevos derivados del ácido 6-amino-penicilánico, a sus sales y a la utilización de estas substancias en la quimioterapia.

5. Las penicilinas, conocidas desde hace mucho tiempo, como la bencilpenicilina (= Penicilina G) o la fenoximetil-penicilina (= Penicilina V), se han acreditado extraordinariamente para el tratamiento de las infecciones ocasionadas por bacterias grampositivas. Sin embargo, tienen la desventaja de ser ineficaces contra las razas de Staphylococcus
- 10.

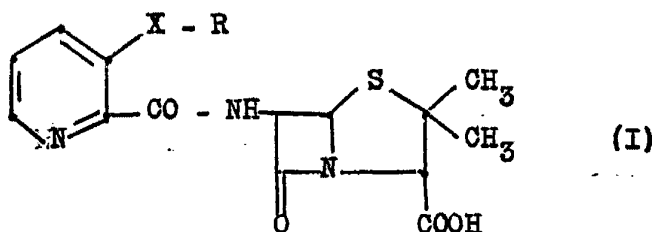
322386



aureus, llamadas "penicilino-resistentes", que producen la enzima penicilinas.

5. No obstante, desde que el ácido 6-amino-penicilánico se ha hecho asequible, como estructura fundamental de todas las penicilinas, se ha intentado hallar por vía semisintética, nuevas penicilinas que sean eficaces contra las razas resistentes de Staphylococcus aureus. Muestra esta propiedad la 2,6-dimetoxifenil-penicilina (metecilina), entre otras, que desde hace algún tiempo se halla en el
10. comercio. Tiene el inconveniente de que no es estable en presencia de ácido y muestra un espectro de acción restringido; por lo tanto, está limitada en su tipo de aplicación y en su extensión de empleo.

15. Ahora se ha hallado, sorprendentemente, que las penicilinas de la fórmula general I,



20.

en la que

- X significa oxígeno o azufre y
- R significa un radical alquílico o alquilénico de cadena recta con 4 átomos de carbono a lo sumo,



y sus sales con bases inorgánicas y orgánicas muestran una actividad antibacteriana característica frente a las bacterias grampositivas. Esta actividad se extiende asimismo a las razas de *Staphylococcus aureus*, que producen la enzima penicilinasa y es ineficaz en comparación de la bencilpenicilina.

5.

Las penicilinas preparables de acuerdo con la invención son estables ampliamente frente a la influencia de los ácidos minerales y por ello pueden administrarse no solo parentéricamente, sino también como sales o en forma de sus sales asimismo oralmente.

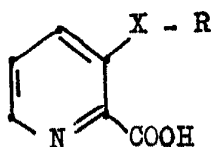
10.

Los nuevos compuestos de la fórmula general I y sus sales se obtienen de manera de por sí conocida; sin embargo, son de considerar en la elaboración y en la formación de sal las posibles propiedades de ion anfótero de los productos finales.

15.

Se hace reaccionar ácido 6-amino-penicilánico, o una sal del mismo, con un compuesto introductor del radical de un ácido de la fórmula general II

20.



(II)

en la que X y R tienen la misma significación antes indicada,

25.

y, si se desea, se transforma el compuesto obtenido de la

322386



fórmula general I en una sal con una base inorgánica u orgánica.

- Como compuestos para la introducción del radical de un ácido de la fórmula general II, son aptos en particular los haluros, de preferencia los cloruros y los bromuros, los anhídridos y los anhídridos mixtos en presencia de agentes receptores de ácido, los ácidos libres en presencia de agentes aceptores de agua y asimismo las ácidas y los ésteres activados como por ejemplo el éster de p-nitrofenilo.
5. En concepto de agentes aceptores de ácido entran particularmente en consideración en el procedimiento de este invento el bicarbonato, el carbonato o el hidróxido sódico o potásico en medio acuoso orgánico así como las bases orgánicas terciarias, como la trietilamina o la piridina en medio orgánico, por ejemplo en dioxano, tetrahidrofurano, acetona o cloroformo; y en concepto de agente aceptor de agua, por ejemplo la dicitclohexil-carbodiimida. Por anhídridos mixtos de ácido de la fórmula general II se entienden, de una parte, por ejemplo, los anhídridos con ácidos alifáticos inferiores, en particular el ácido acético, y de otra parte los anhídridos con semiésteres de ácido carbónico, como los obtenibles, por ejemplo, mediante reacción de ácidos de la fórmula general II con éster etílico, éster p-nitro-bencílico, éster isobutílico, éster alílico o éster alílico de ácido clorofórmico.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

El aislamiento de los productos de reacción de la fórmula general I, aparte de los medios de reacción

322386



- acuoso-orgánicos u orgánicos, se efectua, por ejemplo, mediante dilución con agua, acidificación en frío hasta un pH adecuado y recogida, en un disolvente orgánico no miscible en agua, del ácido 6-acilamino-penicilánico segregado.
5. Este puede extraerse de dicho disolvente con una solución acuosa, por ejemplo de bicarbonato sódico o potásico, y la solución acuosa obtenida de sal sódica o potásica de ácido 6-acilamino-penicilánico ser evaporada en vacío a temperaturas bajas, y de preferencia ser liofilizada. Para
10. la preparación de sales con bases orgánicas, por ejemplo con las que se mencionen más adelante, pueden hacerse reaccionar, por ejemplo, estas últimas con los ácidos libres en disolventes orgánicos o reunirse en agua las sales alcalinas de los ácidos con sales de las bases orgánicas, por ejemplo
15. los clorhidratos, y separarse y secarse las sales precipitadas. De las soluciones de los ácidos libres de las penicilinas en disolventes orgánicos pueden precipitarse sales metálicas asimismo mediante adición de una sal metálica soluble en butanol, como la sal potásica del ácido alfa-etilcaprónico, y eventualmente dilución con éter.
- 20.

Las sales de las nuevas penicilinas preparables de acuerdo con la invención son, por ejemplo, la sal sódica, potásica, amónica, magnésica o cálcica, o las sales de bases orgánicas, como la dietilamina, la trietilamina, la dietanolina,

25. la N-etil-dietilamina, la pirrolidina, la piperidina, la N-etil-piperidina, la 1-(beta-hidroxietil)-piperidina, la morfolina, la procaina, la bencilamina, la dibencilamina,

322386



la 1-fenil-2-propil-amina y otras aminas que se emplean con frecuencia para la preparaci3n de sales de penicilina.

- Los 3cidos 3-alcoxi-picol3nicos y 3-alqueniloxi-picol3nicos utilizables como materiales de partida son
5. obtenibles, por ejemplo, mediante reacci3n de la 3-hidroxi-picolinamida conocida con 3steres aptos para reacci3nde alcoholes o alquenoles inferiores, por ejemplo haluros alqu3licos inferiores o haluros alquen3licos inferiores, en presencia de un agente aceptor de 3cido, por ejemplo carbonato pot3sico o hidruro s3dico, e hidr3lisis de las 3-alcoxi- o bien
10. 3-alqueniloxi-picolinamidas originadas. Los 3cidos 3-alquiltio- y 3-alqueniltio-picol3nicos pueden prepararse por ejemplo mediante reacci3n del 3cido 3,3'-ditio-bis-picol3nico conocido y alquilaci3n subsiguiente in situ, por ejemplo
15. mediante adici3n paulatina de lej3a de sosa alcanc3lica a la soluci3n alcanc3lica del compuesto ditio y glucosa a temperatura ambiente o temperatura moderadamente elevada, a continuaci3n adici3n de un haluro alcalino inferior, por ejemplo yoduro met3lico o et3lico, bromuro n-prop3lico o n-but3lico,
20. y en caso necesario calentamiento a hidr3lisis del 3ster eventualmente originado. An3logamente se obtienen los 3cidos 3-alqueniltio-picol3nicos.

- Los ejemplos que siguen definen el procedimiento de acuerdo con la invenci3n, no constituyendo sin embargo
25. en absoluto las 3nicas formas de realizaci3n. Las temperaturas est3n indicadas en grados cent3grados.



322386

EJEMPLO 1

- a) 69 g de 3-hidroxi-picolinamida (J. Chem. Soc. 1958, 4466-4470) (0,5 moles), 69 g de carbonato potásico (potasa, 0,5 moles) y 75 g de bromuro n-butílico (0,55 moles) se mantienen en 800 cc de dimetilformamida bajo agitación a 80°, hasta que una prueba, diluida en agua, muestra aproximadamente un pH de 8 (3-6 horas). Los componentes blancos y húmedos de la suspensión son entonces fácilmente solubles en agua (bromuro potásico). La mezcla reaccional se agita de nuevo todavía durante 5 minutos con un poco de carbono activo y se filtra. Se concentra el filtrado bajo vacío hasta sequedad y recristaliza el residuo verde en 300 cc de isopropanol. Con ello se obtiene la 3-n-butoxi-picolinamida como cristales casi incoloros, de punto de fusión 102-103°. Del agua madre puede todavía obtenerse otro producto reaccional de igual punto de fusión.

- b) 30 g de 3-n-butoxi-picolinamida se hierven a reflujo durante 14 horas en 300 cc de ácido clorhídrico 5-n y a continuación se concentra en vacío hasta sequedad. El residuo se extrae por dos veces mediante separación, por ebullición, con 200 cc cada vez de isopropanol. Las soluciones de isopropanol reunidas se concentran hasta sequedad y el residuo blanco se disuelve en la menor cantidad de agua posible. Se regula el pH de la solución con amoníaco a 4, y la solución amarilla se deja reposar a 0°, con lo que el producto reaccional se separa por cristalización paulatinamente.

322386



Se mucha y la serie se lava con muy poca cantidad de agua, luego con acetona y a continuación con éter. Se obtiene el ácido 3-n-butoxi-picolínico como cristales incoloros, de punto de fusión 128-130°. Del agua madre todavía se obtiene otro producto reaccional.

5.

De manera análoga se preparan igualmente los otros ácidos alcoxicopicolínicos utilizados como materiales de partida en los ejemplos siguientes.

c) 1,17 g de ácido 3-n-butoxi-picolínico (punto de fusión, 128-130° - descomposición) se disuelven en 30 cc de benceno y se hierven a reflujo durante 60 minutos con 0,6 cc de cloruro de rionilo y 0,2 cc de dimetilformamida. Se evapora en vacío, se disuelve el residuo de color pardo en un poco de benceno y es concentrado de nuevo. El cloruro de ácido bruto que permanece se seca durante 1 hora en vacío y a continuación se utiliza para la siguiente reacción.

15.

d) 1,9 g de sal dietilamónica del ácido 6-amino-penicilánico se disuelven en 30 cc de cloroformo exento de agua y 1,5 cc de dietilamina. Se enfria la solución a 0°. Se adiciona a ella, a gotas y en el término de 5 minutos, el cloruro de ácido bruto disuelto en 10 cc de cloroformo y la mezcla reaccional se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución, de color pardo claro, se concentra en el evaporador giratorio (temperatura de baño maría, 35°) y el residuo se fija en 30 cc de agua y 50 cc de metil-isobutil-cetona. El pH de la parte acuosa se regula, bajo agitación, a 2,1 con ácido sulfúrico 10-n, y las fases se

20.

25.

322386



- separah. La capa acuosa se extrae con 5 cc de metil-
 -isobutil-cetona. Los extractos de metil-isobutil-cetona
 se reúnen, se lavan con 5 cc de agua y se secan sobre sulfato
 sódico. La solución de metil-isobutil-cetona se extrae
 5. luego con tanta solución de bicarbonato sódico al 3%, que
 la parte acuosa alcanza el pH de 6,8. Se separan las fases,
 y la fase orgánica se sacude una vez más con 5 cc de agua.
 Las partes acuosas reunidas se lavan con 25 cc de éter y se
 liberan en el evaporador giratorio del éter disuelto. La
 10. solución clara obtenida de este modo, de la sal sódica de
 la 3-n-butoxi-2-piridil-penicilina, se concentra o bien
 liofiliza en alto vacío a baja temperatura. El producto,
 algo coloreado de gris claro, muestra en el espectro de infra-
 rojos (bromuro potásico) una banda fuerte a 5,65 micras,
 15. que es típica para el anillo beta-lactámico.

La concentración inhibidora mínima para diversas
 razas de Staphylococcus es, en la prueba de incorporación:
 (r = resistente, s = sensible a la penicilina G)

20.	Reza Staphylococcus	Aureus Geigy 5002 r	Aureus Geigy 5005 r	Lactis NCTC 8340 s	Aureus Smith s
	Concentración en microgramos/ cc	10	10	1	1

25. Se iniciaron intraperitonealmente unos ratones

322386



albinos con unos 20 millones de gérmenes vivos de *Staphylococcus aureus* Smith ATCC 13709. 18 mg/kg de la sal sódica de 3-n-butoxi-2-piridil-penicilina, aplicados intramuscularmente, pudieron curar la mitad de los animales (=CD₅₀).

5. EJEMPLO 2

La 3-n-propoxi-2-piridil-penicilina preparada con 1,09 g del ácido 3-n-propoxi-picolínico (punto de fusión, 117-118°, descomposición, obtenido sobre la 3-n-propoxi-picolinamida, punto de fusión 125-126°) y en lo demás bajo iguales condiciones, muestra en todas las pruebas propiedades similares que la penicilina descrita en el Ejemplo 1.

EJEMPLO 3

2 g del ácido 3-etoxi-picolínico (punto de fusión 151-153°, descomposición, obtenido sobre la 3-etoxi-picolinamida, punto de fusión 213-214°) se disuelven en 20 cc de acetona y 24 cc de dioxano, y luego se tratan, a 0-5°, con 2,0 cc de trietilamina y 1,58 cc de éster isobutílico del ácido clorofórmico. Después de 15 minutos de agitación a 0° se filtra y el filtrado se adiciona a una solución de 3,0 g de ácido 6-amino-penicilénico (85%) en 20 cc de agua y 2 cc de trietilamina. Al cabo de 15 minutos de agitación, a 0°, se elimina el baño de hielo y la mezcla reaccional se agita de nuevo durante 45 minutos a temperatura



322306

- ambiente. Luego se adicionan 20 cc de agua, que contienen 2 g de bicarbonato sódico, y la totalidad se lava por dos veces con 50 cc cada vez de éter. Se recubre la fase acuosa con 50 cc de metil-isobutil-cetona y se regula a un pH de 2,2
5. con ácido sulfúrico 10-n. Agitando pasa, en la destilación, la mayor parte del producto reaccional como ácido libre en la fase orgánica. Se separan las capas y la parte acuosa se extrae todavía por dos veces con 10 cc de cada vez de metil-isobutil-cetona. Los extractos orgánicos reunidos se
10. lavan exentos de ácido con 2 x 5 cc de agua y se secan sobre sulfato sódico. La solución se concentra luego, bajo vacío de trompa de agua, a la mitad del volumen; se trata con un pequeño exceso de la dosis calculada en alfa-etil-capronato potásico y, si todavía no precipita, se diluye con éter absoluto.
15. La sal potásica de la 3-etoxi-2-piridil-penicilina flocula paulatinamente. Se separa en la centrifuga del agua madre y se seca sobre anhídrido fosfórico bajo vacío.

20. El polvo, de color gris claro, muestra en el espectro infrarrojo (bromuro potásico) la banda beta-lactámica característica a 5,65 micras.

- Si se trata la solución de metil-isobutil-cetona arriba citada de la penicilina libre con la dosis calculada de N-etil-piperidina, precipita la sal de la penicilina obtenida con N-etil-piperidina como un aceite viscoso, que se
25. separa mediante decantación y se seca en vacío. Es difícilmente soluble en agua. Se obtiene una sal insoluble en agua de la misma manera bajo utilización de N,N'-dibencil-etilen-



322386

diamina como base.

La sal sódica de la 3-etoxi-2-piridil-penicilina puede también obtenerse, en la forma citada en el Ejemplo 1, a partir de la solución de metil-isobutil-cetona con solución al 3% de bicarbonato sódico.

5.

Todas estas sales muestran en el espectro infrarrojo (bromuro potásico) las bandas características para el anillo beta-lactámico a 5,65 micras.

10.

La pureza de las sales es, en todos los casos, sin otra purificación, del 100%. La sal sódica contiene un mol de agua enlazada por mol de penicilina (calculada para $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S \cdot H_2O$:

nitrógeno 10,37%, azufre 7,91%;

hallado: nitrógeno 10,19% , azufre 7,92%).

15.

Estabilidad del ácido: a un pH de 2 y 24^h, el tiempo medio, es decir el tiempo en el que se destruye la mitad de la penicilina, es de 8 horas. Las concentraciones inhibitoras mínimas para las distintas razas de Staphylococcus ascienden en la prueba de incorporación:

20.

Raza de Staphylococcus	Aureus Geigy 5002 r	Aureus Geigy 5005 r	Lactis NCTC 8340 s	Aureus Smith s
Concentración en microgramos/cc	10	10	1	1

25.

En las infecciones son Staphylococcus aureus Smith en ratones albinos ascendió el CD₅₀ a 1,8 mg/kg en aplicación subcutánea, a 2,4 mg/kg en aplicación intramuscular y

322386



entre 3 y 7,5 mg/kg en administración oral de la penicilina de este Ejemplo.

E J E M P L O 4

- 2,36 g del ácido 6-amino-penicilánico se suspenden
5. en 100 cc de tetrahidrofurano/agua (1:1) y se trata con el suficiente bicarbonato sódico húmedo para que se origine una solución clara. A ello se adiciona una solución de 1,53 g de ácido 3-metoix-picolínico (punto de fusión 159-160^o, descomposición, obtenido sobre 3-metoxi-picolinamida, punto
10. de fusión 196-197^o, sublimación) en 40 cc de tetrahidrofurano y una solución de 2,04 g de dicitclohexilcarbodiimida en 40 cc de tetrahidrofurano. La totalidad se deja reposar durante 3 horas a 15^o, y luego se diluye con 350, cc de agua. Después de un cortor tiempo, sobrenada en la superficie una
15. masa semihúmeda, que es separada y se desecha. La solución se concentra primero en vacío., en el evaporador giratorio, y a continuación se liofiliza. El residuo se fija en 30 cc de agua y 55 cc de metil-isobutil-cetona y se trata como se especifica en el Ejemplo 1. Así se obtiene la sal sódica de la 3-metoxi-
20. -2- piridil-penicilina como polvo blanco. En el espectro infrarrojo (bromuro potásico) muestra la banda beta-lactámica típica a 5,65 micras. La concentración inhibidora mínima para algunas razas de Staphylococcus asciende, en la prueba de incorporación.

322386



	Raza de Staphylococcus	Aureus Geigy 5002 r	Aureus Geigy 5005 r	Lactis NCTC 8340 s	Aureus Smith s
5.	Concentración en microorganismos/cc	10	10	0,1	1

En las infecciones con Staphylococcus aureus Smith en ratones albinos, el CD_{50} ascendió a 2,4 mg/kg en aplicación intramuscular y 3,4 mg/kg en la administración oral de la penicilina de este ejemplo.

EJEMPLO 5

a) 3,04 g del ácido ditio-3,3'-dipiridil-2,2'-dicarboxílico (preparado según I. Org. Chem 19, 711-717 (1954)) se disuelven en 115 cc de alcohol absoluto y se calienta a 60°. A ello se adicionan 3,74 g de glucosa en pequeñas porciones. Luego, a igual temperatura, se adicionan a gotas 2,37 g de hidróxido sódico, disueltos en 50 cc de alcohol absoluto, y a continuación se agita todavía durante 2 horas. Tras el enfriado se adicionan a gotas, en el espacio de 15 minutos, 9,25 g de yoduro etílico recién destilado. Se agita, luego, durante 2 horas a 25° y durante 4 horas a 60°, y a continuación se deja repostar durante 14 horas. Después de filtración, se concentra el filtrado en vacío hasta sequedad y el residuo se fija en 50 cc de agua/cloroformo (1:1);



- Se separan las fases y la parte acuosa se lava por dos veces con un poco de cloroformo. El pH de esta solución asciende solamente a 9. Se regula a 4,7 con ácido clorhídrico 2-n. Se extrae la solución del éter en un aparato de extracción
5. continua según Kutscher-Studel. Los residuos del extracto dan, recristalizados en cloroformo/éter, cristales blancos de ácido 3-etiltio-picolínico, de punto de fusión 114-116°.
- b) La penicilina obtenida, preparada de manera análoga al Ejemplo 3, muestra en el espectro infrarrojo (bromuro potásico) la banda característica a 5,65 micras. Su actividad antibacteriana corresponde a la descrita en el Ejemplo 3.
- 10.

E J E M P L O 6

- De manera análoga al Ejemplo 3 se preparan a partir de los ácidos que se relacionan a continuación, otras penicilinas de la fórmula I. Todos los productos muestran en el espectro infrarrojo (bromuro potásico) la banda característica para la beta-lactama a 5,65 micras; Sus concentraciones inhibitoras mínimas para *Staphylococcus aureus* Smith ascienden, en la prueba de incorporación, 1 ppm (microgramos/cc).
- 15.
- 20.

322386



Acido

Penicilina

ácido 3-aliloxi-picolínico	3-aliloxi-2-piridil-penicilina
ácido 3-metiltio-picolínico	3-metiltio-2-piridil-penicilina
ácido 3-n-propiltio-picolínico	3-n-propiltio-2-piridil-penici- lina
ácido 3-aliltio-picolínico	3-aliltio-2-piridil-penicilina.



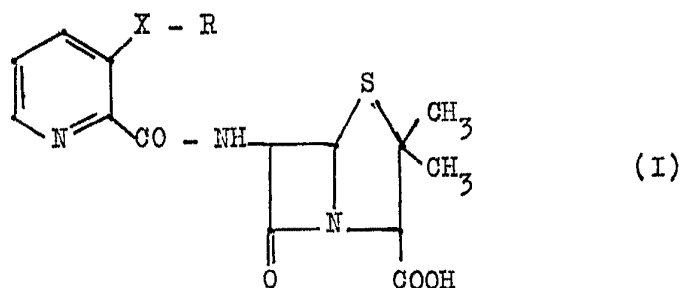
322386

N O T A

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente suiza nº 1285/65 del 29 de Enero de 1965.

5. 1. Procedimiento para la preparación de nuevos derivados del ácido 6-amino-penicilánico y sus sales, caracterizado porque se preparan 2-piridil-penicilinas substituidas de la fórmula general I

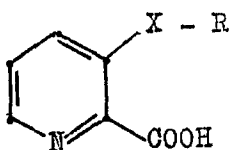
10.



15. en la que
X significa oxígeno o azufre y
R significa un radical alquílico o alquenílico de cadena recta, con 4 átomos de carbono a lo sumo, haciendo reaccionar ácido 6-amino-penicilánico o una de sus sales con un compuesto introductor del radical de un ácido
20. de la fórmula general II,



322386



(II)

5. en la que X y R tienen la misma significación que se ha indicado antes, y, si se desea, el compuesto obtenido de la fórmula general se transforma en una sal con una base inorgánica u orgánica.

10. 2. Procedimiento para la preparación de nuevos derivados del ácido 6-amino-penicilánico.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 18 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 28 de Enero 1966

p.a.

JAIME ISERN

E. P.

Firmado: LUIS REY PADILLA