



324454 21

324454

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BEECHAM GROUP LIMITED

RESIDENCIA: Beecham Houses, Great West Road,

Brentford, Middlesex, INGLATERRA.-

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

Prioridad: Patentes británicas n.º 12138/65 del 23-3-65 y
30479/65 " 17-7-65.

324454

2



1

Este invento se refiere a un procedimiento para la preparación de penicilinas y particularmente concierne a la preparación de aminoacilpenicilinas.

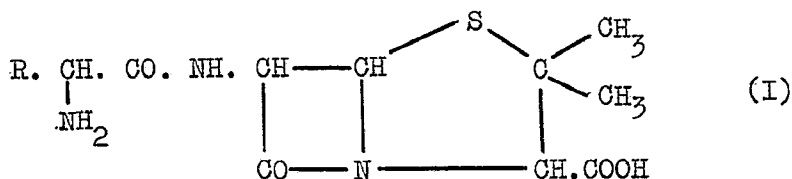
5

Las penicilinas producidas por el procedimiento de la presente invención tienen valor como agentes antibacterianos, como suplementos nutritivos en la alimentación de animales, como agentes para el tratamiento 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 infecciosas producidas por las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

10

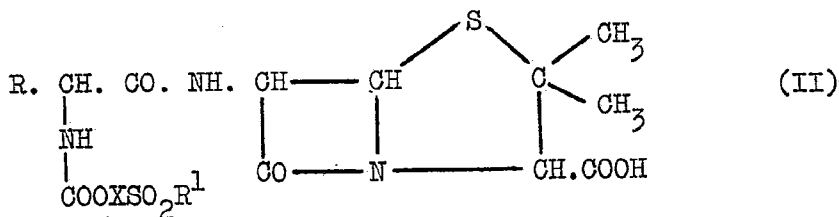
El presente invento proporciona un procedimiento para la preparación de penicilinas de fórmula:

15



y sales no tóxicas de la misma, donde R es un grupo alquilo, aralquilo, arilo o heterocíclico sustituido o no sustituido, que consiste en hacer reaccionar con un reactivo básico una penicilina N-protégida de fórmula:

20



25

donde R es el descrito anteriormente, X es un radical hidrocarbonado saturado divalente que contiene de 2 a 6 átomos de carbono unido a los grupos situados a ambos lados mediante átomos de carbono adyacentes y R¹ es un grupo alquilo, aralquilo o arilo sustituido o no sustituido, o -

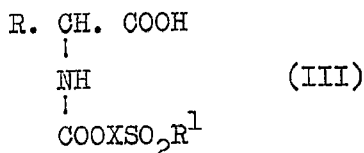
30



1 una sal no tóxica de la misma. Preferiblemente X es un ra-
dical etileno y R¹ es un grupo p-toluido.

Las sales son no tóxicas y comprenden sales metá-
licas no tóxicas tales como sódicas, potásicas, cálcicas
5 y de aluminio, la sal amónica y sales de amonio sustitui-
do, por ejemplo sales de aminas no tóxicas tales como -
trialquilaminas, incluídas la trietilamina, procaína, di-
bencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, l-efenamina, N,N'-
dibenciletilendiamina, deshidroabietilamina, N,N'-bis-des-
10 hidroabietiletilendiamina y otras aminas que han sido uti-
lizadas para formar sales con la bencilpenicilina.

Las penicilinas N-protegidas (II) se preparan ha-
ciendo reaccionar el ácido 6-aminopenicilánico o una sal
del mismo en medio acuoso o anhidro con un derivado reac-
15 tivo de un ácido carboxílico de fórmula general:



donde R, X, y R¹ tienen el mismo significado que antes.

20 Son ejemplos de derivados reactivos adecuados los
anhídridos mixtos (incluídos los obtenidos tratando una -
sal del ácido en medio anhidro con un clârocarbonato de -
alquilo) y los compuestos intermedios formados haciendo -
reaccionar el ácido con una carbodiimida, por ejemplo N,N'-
25 -díciclohexilcarbodiimida, o con carbonildiimidazol.

En una forma preferida de la invención las penici-
linas N-protegidas (II) no se aíslan sino que se convier-
ten en aminopenicilinas directamente in situ.

Las aminopenicilinas (I) se forman por la acción
30 de una base sobre la penicilina N-protegida. Entre las ba

324454

21



1 cos tales como fenil litio, dimsil sodio y tiolatos de me
tales alcalinos tales como tiofenolato sódico. Los disol-
2 ventes adecuados para la reacción son terc-butanol, aceto-
5 nitrilo, formamida, dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida
y sulfóxido de dimetilo. En una forma de la invención, las
sales de los compuestos de fórmula general (II), disueltas
o suspendidas en disolventes orgánicos anhidros tales como
dimetilformamida o N,N-dimetilacetamida, se tratan durante
algunos minutos u horas a la temperatura ambiente con un -
10 ligero exceso de un compuesto órgano-metálico tal como terc
-butóxido potásico o tiofenolato sódico. A continuación la
mezcla se diluye con agua y se acidula, se extrae con un -
disolvente orgánico inmiscible con el agua tal como cloro-
formo para separar el compuesto II que no haya reaccionado
15 se reajusta a pH 4-5, y finalmente se concentra a vacío pa
ra dar la aminopenicilina.

Las penicilinas preparadas de acuerdo con la pre-
sente invención pueden contener átomos de carbono asimetrí-
cos en la cadena lateral y pueden existir en las formas D-
20 y L-. Debe entenderse que el presente invento incluye ambas
formas D- y L- así como mezclas de las mismas.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente inven-
ción:

Ejemplo 1

25 Una solución de 6- β -D- α -(2-p-toluensulfoniletoksi-
carbonilamino)- α -fenilacetamido γ penicilanato sódico (20
g) en agua (90 ml) se lleva y mantiene a pH 11,2 con trie-
tilamina y se agita a la temperatura ambiente durante 30
minutos, durante cuyo tiempo se forma un precipitado cris-
30 talino blanco. La mezcla se extrae con éter (100 ml) en -

324454



1 el que se disuelve el sólido y se desprecian los extrac--
tos. La fase acuosa se cubre con isobutilmetilcetona (100
ml) y la mezcla se agita vigorosamente y se lleva a pH 1,5
mediante adición de ácido clorhídrico concentrado. Se sepa
5 ran ambas capas y la fase acuosa se ajusta a pH 5,3 con so
lución 10 N de hidróxido sódico y después se deja en repo
so en el frigorífico durante tres horas. Se recogen los -
cristales incoloros que se separan, se lavan con agua (10
ml) y se secan en estufa de aire a 35-40°C dando ácido 6
10 Δ (-)- α -amino- α -fenilacetamido] penicilánico trihidrato
(3,06 g), p.f. 200-201° (descompuesto), Δ α $\frac{20}{D}$ + 257° (C=
O,5 en H₂O). (Encontrado: C, 47,5; H, 6,4; N, 10,6; S, 8,0.
Calculado para C₁₆H₁₉N₃O₄S. 3 H₂O: C, 47,6; H, 6,2; N, 10,4
S, 8,0%).

15

Ejemplo 2

En una serie de experimentos se trata la sal potásica del ácido 6- Δ - α -(2-p-toluensulfoniletotoxicarbonilami
no)- α -fenilacetamido] penicilánico con diferentes reacti
vos básicos en diversas condiciones. En cada experimento -
20 se disuelve o suspende en 5,0 ml del disolvente elegido
0,005 moles de la penicilina y se tratan con el reactivo -
básico durante un cierto tiempo. Después se añade agua y -
se neutraliza la mezcla de reacción, se lava dos veces con
éter y se determina su contenido en penicilina. La canti--
25 dad relativa del material de partida (A) y del ácido 6- Δ
(-)- α -amino- α -fenilacetamido] penicilánico (B) formado se
determina por cromatografía de papel. En el sistema disol
vente utilizado (butanol-etanol-agua 4: 1:5, capa superior)
los dos compuestos están bien separados (R_F = 0,65-0,70 y
30 0,35-0,40 respectivamente).

- 7 -
324454

21



1 El ácido 6- β - α -(2-p-toluensulfoniletoxicarbonila
mino)- α -fenilacetamido/penicilánico utilizado en el expe-
5 rimento se prepara por tratamiento del ácido 6-aminopenici-
lánico en solución acuosa a pH 7 con cloruro de 2-p-toluen-
sulfoniletoxicarbonilo. Se extrae con éter a pH 2 y después
se aísla en forma de su sal potásica extrayendo la solu- -
ción etérea con solución de bicarbonato potásico y secando
por congelación la fase acuosa obtenida.

10 Los resultados de los experimentos se dan en la si-
guiente tabla:

15

20

25

30

324454

8 bis

- 8 -



1	Reactivo	Equiv. utilizados	Disolvente	Tiempo de reacción (horas)	Rendimiento de penicilina, %	Composición del producto, %	
						A	B
	KOH	1,1	C ₂ H ₅ OH	0,15	7	40	60
5	C ₂ H ₅ ONa	1,1	C ₂ H ₅ OH	0,1	28	50	50
	C ₆ H ₅ Li	1,1	H-CO ₂ (CH ₃) ₂	1	54	10	40
	$\text{Z}(\text{CH}_2\text{SOCH}_2)_2^- \text{Na}^+$	1,1	CH ₃ SOCH ₃	0,75	88	10	60
10	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	(CH ₃) ₃ COH	1,5	90	60	40
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ CN	1	30	-	100
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ SOCH ₃	1	35	-	70
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	H-CO ₂ (CH ₃) ₂	1	76	-	95
15	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	H-CO ₂ (CH ₃) ₂	0,1	96	-	100
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ CO ₂ (CH ₃) ₂	1	103	5	95
20	C ₆ H ₅ SNa	1,1	H-CO ₂ (CH ₃) ₂	1	81	-	100

25

30

324454

- 8 -

	<u>Reactivo</u>	<u>Equiv. uti- lizados</u>	<u>Disolvente</u>	<u>Tiempo de reacción (horas)</u>	<u>Rendimie: penicil. %</u>
1	KOH	1,1	C ₂ H ₅ OH	0,15	7
5	C ₂ H ₅ ONa	1,1	C ₂ H ₅ OH	0,1	28
	C ₆ H ₅ Li	1,1	H-CON(CH ₃) ₂	1	54
	Δ CH ₃ SOCH ₂ ⁻ Na ⁺	1,1	CH ₃ SOCH ₃	0,75	88
10	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	(CH ₃) ₃ COH	1,5	90
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ CN	1	30
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ SOCH ₃	1	35
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	H-CON(CH ₃) ₂	1	76
15	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	H-CON(CH ₃) ₂	0,1	96
	(CH ₃) ₃ C-OK	1,1	CH ₃ CON(CH ₃) ₂	1	103
	C ₆ H ₅ SNa	1,1	H-CON(CH ₃) ₂	1	81
20					
25					
30					

4454

- 8 -

8 bis



solvente	Tiempo de reacción (horas)	Rendimiento de penicilina, %	Composición del producto, %	
			A	B
$2\text{H}_5\text{OH}$	0,15	7	40	60
$2\text{H}_5\text{OH}$	0,1	28	50	50
$-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	1	54	10	40
H_3SOCH_3	0,75	88	10	60
$\text{CH}_3)_3\text{COH}$	1,5	90	60	40
H_3CN	1	30	-	100
H_3SOCH_3	1	35	-	70
$-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	1	76	-	95
$-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	0,1	96		100
$\text{H}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	1	103	5	95
$-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	1	81	-	100



324454²

Ejemplo 3

1

5

10

15

20

25

30

La sal potásica de la α -(2-p-toluensulfoniletoxi-carbonilamino)- γ -metiltiopropilpenicilina (4 g, 0,0065 moles) se agita en 100 ml de dimetilformamida seca y se trata con tiofenolato sódico (0,9 g, 0,007 moles) durante una hora. La mezcla se vierte sobre agua, se acidula hasta pH 2 y se lava con cloroformo. La fase acuosa se ajusta a pH 4,5 y se concentra a vacío a la temperatura ambiente dando varias fracciones de material sólido. Una de las fracciones (1,1 g) contiene α -amino- γ -metiltiopropilpenicilina con una pureza del 45% (ensayo con hidroxilamina con la sal potásica de la bencilpenicilina como patrón).

Este producto contiene en su espectro infrarrojo una intensa banda a 1.770 cm^{-1} , característica del anillo β -lactama de una penicilina, y se ha encontrado que inhibe el desarrollo de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,25 mcg/ml.

De forma similar se preparan las siguientes aminopenicilinas a partir de los correspondientes compuestos 2-p-toluensulfoniletoxicarbonilo. En la tabla se dan: rendimiento y pureza de la fracción más pura obtenida en cada caso y la concentración de inhibición mínima (C. M. I.) contra el Staph. aureus Oxford observada para este producto en un ensayo de dilución en serie sobre placas de agar.

<u>Penicilina</u>	<u>Rendimiento, %</u>	<u>Pureza, %</u>	<u>C.M.I. (mcg/ml)</u>
α -aminopropilpenicilina	39	34	1,25
α -aminobutilpenicilina	23	31	1,25
α -aminopentilpenicilina	70	39	0,63
α -amino- γ -metiltiopropilpenicilina	42	38	0,25

324454

21



1

Ejemplo 4

5

10

La sal potásica de la α -(2-p-toluilsulfoniletoxi-carbonilamino)- γ -metilbutilpenicilina (2,7 g, 0,0045 moles) y terc-butóxido potásico (5,5 ml de solución 0,89 N en terc-butanol, 0,0049 moles) se agitan juntos en 50 ml de dimetilformamida seca durante diez minutos. La mezcla se vierte sobre agua y se acidula a pH 2 y se lava con éter. La fase acuosa se ajusta entonces a pH 4,5 y se concentra a vacío dando 0,5 g de α -amino- γ -metilbutilpenicilina con una pureza del 55 % (ensayo con hidroxilamina con la sal potásica de bencilpenicilina como patrón).

15

Ejemplo 5

20

25

Una solución mecánicamente agitada de la sal potásica del ácido 6/D- α -(2-p-toluensulfoniletoxicarbonilamino)- α -fenilacetamido/7penicilánico (pureza 94 %; 6,1 g, 0,0094 moles) en dimetilformamida (100 ml) se trata con terc-butóxido potásico 0,99 N en terc-butanol (11,1 ml, 0,011 moles) a la temperatura ambiente. Al cabo de 5 minutos la mezcla resultante se enfría a -5° y se añade gota a gota, con vigorosa agitación, ácido clorhídrico 2 N (10 ml, 0,02 moles). A la solución casi clara así obtenida se añade éter (100 ml) dando un precipitado de ácido 6/D (-)- α -amino- α -fenilacetamido/7 penicilánico, que después de lavado con éter y seco pesa 4,7 g y tiene una pureza del 54% (ensayo con hidroxilamina); esto es, el rendimiento total es del 77 %.

30

Una parte del producto (2,3 g) se purifica disol-

324454 21

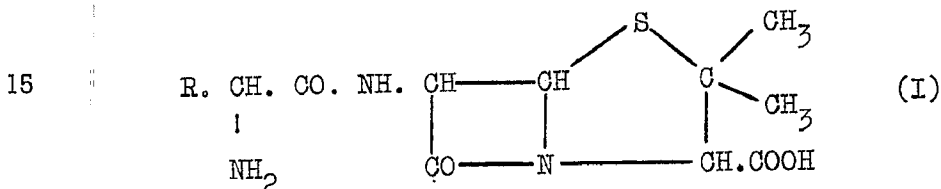


1 viéndolo en agua (32 ml) a pH 1,8 y reprecipitándolo ajus-
 tando el pH a 4,5. Después de dejar en reposo durante 30 -
 minutos en un baño de hielo se filtra la penicilina, se la
 va y se seca dando 0,35 g con una pureza del 88,5 %. $\frac{27}{D}^{20}$
 5 : + 252g (C = 0,1, amortiguador citrato-fosfato a pH 4,5).
 Después de concentrar las aguas madres se obtiene una se-
 gunda masa cristalina (0,6 g) con una pureza del 74%. Esto
 corresponde a un rendimiento total del 46%.

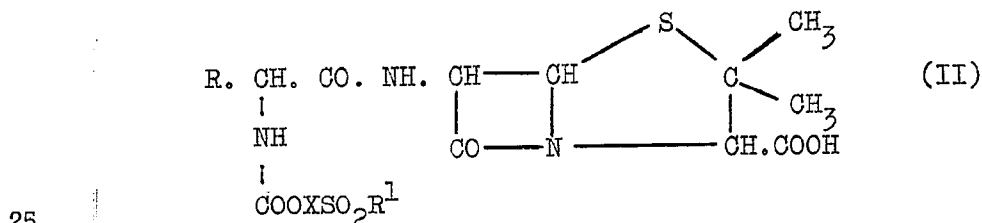
En resúmen, la Patente de Invención que se solici-
 10 ta, recaerá sobre las siguientes:

- REIVINDICACIONES -

1. Un procedimiento para la preparación de penici-
 linas de fórmula:



y sales no tóxicas de la misma, donde R es un grupo alqui-
 lo, aralquilo, arilo o heterocíclico sustituido o no susti-
 20 tuído, que consiste en hacer reaccionar con un reactivo bá-
 sico una penicilina N-protégida de fórmula:



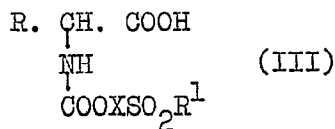
donde R es el grupo definido anteriormente, X es un radi-
 cal hidrocarbonado saturado divalente que contiene de 2 a
 6 átomos de carbono unido a los grupos situados a ambos -
 lados mediante átomos de carbono adyacentes y R¹ es un -
 30 grupo alquilo, aralquilo o arilo sustituido o no sustitui-
 do, o una sal no tóxica de la misma.



324454

1 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, don
de X es un radical etileno y R¹ es un grupo p-toluido.

3. Un procedimiento según las reivindicaciones 1 ó
2, donde las penicilinas N-protégidas (II) se preparan ha-
5 ciendo reaccionar el ácido 6-aminopenicilánico o una sal -
del mismo en un medio acuoso o anhidro con un derivado -
reactivo de un ácido carboxílico de fórmula general:



10 donde R, X y R¹ son los definidos en la reivindicación 1.

4. Un procedimiento según la reivindicación 3, don
de el derivado reactivo es un anhídrido mixto.

5. Un procedimiento según la reivindicación 3, don
15 de el derivado reactivo es el compuesto intermedio formado
haciendo reaccionar el ácido (III) con una carbodiimida o
con carbonildiimidazol.

6. Un procedimiento según cualquiera de las prece-
dentes reivindicaciones donde el reactivo básico es un hi-
20 dróxido de metal alcalino, carbonato de metal alcalino, hi-
dróxido de metal alcalinotérreo, alcóxido de metal alcalino,
amina alifática terciaria o hidróxido de amonio cuaterna--
rio.

7. Un procedimiento según la reivindicación 6 don-
25 de la reacción se lleva a cabo en solución acuosa o par- -
cialmente acuosa, a pH comprendido entre 8 y 11,5 y a una
temperatura comprendida entre 0°C y 50°C.

8. Un procedimiento según cualquiera de las reivin-
dicaciones 1, a 5 donde la penicilina N-protégida (II) o -
30 una sal de la misma se trata con una base no acuosa para -

