

329357



21

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

Solicitante: BRISTOL-MYERS COMPANY

Residencia: SYRACUSE. NEW YORK 13201  
ESTADOS UNIDOS

Enunciado: " UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE ESTERES"

PRIORIDAD: de la solicitud de patente estadounidense  
Nº 474.155 del 22 de Julio de 1.965.

BAD ORIGINAL



21

1           Este invento se refiere a determinados ésteres activa  
dos del ácido 6-aminopenicilánico (y sales del mismo), nue  
vos y de gran utilidad, y a métodos para su preparación y  
para su empleo en la obtención de penicilinas conocidas y  
5           nuevas.

Diversas penicilinas han sido ampliamente utilizadas  
como agentes antibacterianos, particularmente en ciertas en  
fermedades bacterianas infecciosas de mamíferos y como su  
plemento en la alimentación de animales. Primeramente se  
10          preparó un número limitado de tales penicilinas por fermen  
tación directa, preferiblemente con adición de precursores  
de cadenas laterales. Más tarde se prepararon muchas más  
por acilación del ácido 6-aminopenicilánico (por ejemplo,  
Doyle et al., patentes estadounidenses núms. 2.941.995,  
15          3.047.467 y 3.164.404) que a su vez se preparaba por fer  
mentación sin precursor o por descomposición enzimática de  
penicilinas naturales. Además se han preparado unas pocas  
penicilinas por síntesis química (por ejemplo, Sheehan,  
patente estadounidense nº 3.159.617).

20          El objetivo principal de esta invención era proporcio  
nar nuevos compuestos intermedios para uso en la producción  
de penicilinas que ofrecieran otros caminos para la obten  
ción de las penicilinas conocidas (y en particular propor  
cionarán métodos prácticos a escala comercial para la pro  
25          ducción de ciertas penicilinas de las que previamente solo



2'

1 se disponía en cantidades de laboratorio) y también hicie-  
ran posible la síntesis de nuevas penicilinas no obtenibles  
por los métodos actualmente existentes.

5 El objetivo principal de la presente invención se ha  
alcanzado mediante la provisión, de acuerdo con la misma,  
de ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico y sales  
de adición con ácidos de los mismos.

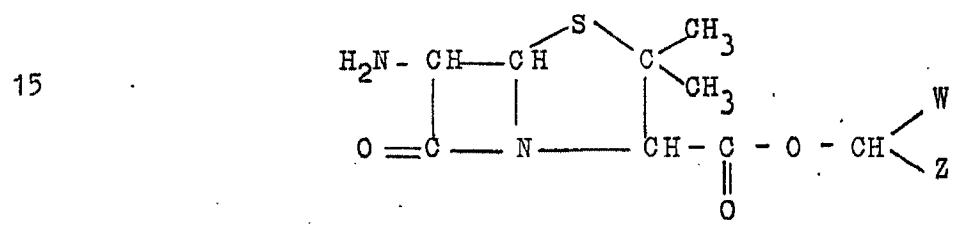
Los ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico  
incluidos dentro de los límites del presente invento son  
10 aquéllos que por simple ensayo son lo bastante estables pa-  
ra evitar la auto-condensación pero al mismo tiempo son lo  
bastante lábiles para permitir que la función protectora  
del carboxilo, ésto es, el grupo éster, pueda separarse cuan-  
do se desee para regenerar el grupo carboxilo sin destruir  
15 el sensible anillo de  $\beta$ -lactama, ya sea fotoquímicamente  
como se describe más adelante o por tratamiento con tiofe-  
nóxido sódico en un disolvente orgánico de acuerdo con  
Sheehan et al., J. Org. Chem. 29, 2006 (1964). Esta separa-  
ción del grupo éster puede realizarse sobre los propios és-  
20 teres (para producir ácido 6-aminopenicilánico) o después  
de que han sido acilados (para producir una penicilina).

Se ha encontrado que estos ésteres acilados tienen,  
sobre el uso en la síntesis previas del ácido 6-aminopenici-  
lánico propiamente dicho o de sus sales, ventajas tales co-  
25 mo una solubilidad muy mejorada en los disolventes orgánicos,



1 mayor estabilidad térmica y mayor estabilidad frente a los  
 reactivos ácidos, además de que se pueden emplear, como se  
 ha mencionado anteriormente y se describirá en los ejemplos,  
 para preparar nuevas penicilinas que no podrían obtenerse  
 5 de otro modo y para obtener penicilinas tales como el ácido  
 6-( $\alpha$ -guanidinofenilacetamido)-penicilánico que anteriormen-  
 te solo se preparaban con rendimientos muy bajos mediante  
 un procedimiento muy costoso y complicado (véase patente bel-  
 ga n<sup>o</sup> 634.374).

10 Más específicamente, el objetivo principal del presen-  
 te invento se ha alcanzado mediante la provisión, de acuer-  
 do con el mismo, de ésteres activados del ácido 6-aminopeni-  
 cilánico de fórmula



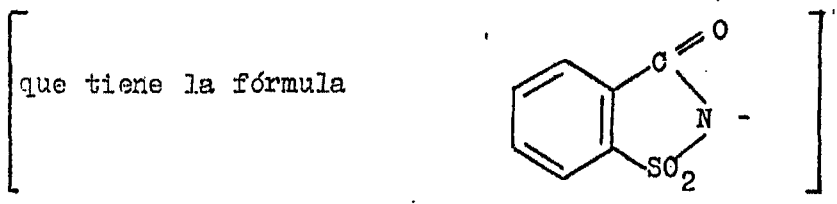
donde, cuando W representa hidrógeno, Z representa

- a) alcanóilo, por ejemplo acetilo, propionilo, n-butí-  
 20 rilo, n-decanoílo;
- b) aroílo, por ejemplo benzoílo, 1-naftoílo, 2-furoílo,  
 2-tenoílo;
- c) aroílo sustituido y especialmente benzoílo mono-sus-  
 tituido, por ejemplo p-nitrobenzoílo, p-aminobenzoílo, p-me-  
 25 tilbenzoílo, halobenzoílo, 3,4-dihidroxibenzoílo, p-fenil -



1 benzofilo, p-metanosulfonilbenzofilo;

d) N-ftalimido, N-succinimido, N-sacarino,



5

N,N-dialquilcarbamoilo, por ejemplo N,N-dietilcarbamoilo,  
N-alquilcarbamoilo;

e) ciano;

10

f) alcoxi, por ejemplo metoxi; alquiltio por ejem  
plo metilmercapto; ariloxi, por ejemplo fenoxi;

g) carbalcoxi, por ejemplo carbetoxi (procedente de  
bromoacetato de etilo);

15

h) carbobenzoxi, por ejemplo procedente de cloroace  
tato de bencilo;

i) carbamoilo, por ejemplo procedente de  $\alpha$ -cloro-  
acetamida;

j) benzoiloxi, por ejemplo procedente de benzoato de  
bromometilo; clorobenzoiloxi ;

20

k) carbofenoxi, por ejemplo procedente de cloroaceta  
to de fenilo;

l) carbo-terc-butoxi, por ejemplo procedente de bro  
moacetato de terc-butilo;

25

m) alquilsulfonilo, por ejemplo procedente de cloro-  
metilsulfona;



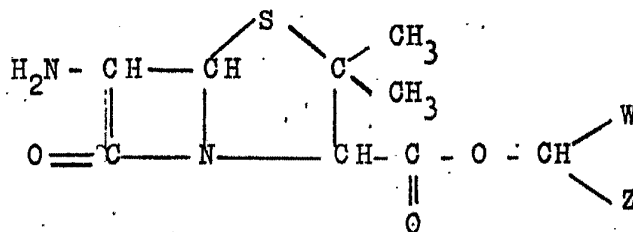


21

1 donde  $R$  representa benzoílo, naftoílo, furoílo, tenoílo, nitrobenzoílo, halobenzoílo, metilbenzoílo, metanosulfo-  
nilbenzoílo o fenilbenzoílo, y sales de adición con áci-  
dos de los mismos.

5 También se proporciona, de acuerdo con la presente invención, un procedimiento de preparación de ésteres ac-  
tivados del ácido 6-aminopenicilánico que consiste en des-  
acilar el correspondiente éster activado de una penicili-  
na biosintética con una amidasa y, más particularmente,  
10 el procedimiento de preparación de ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico de fórmula

15

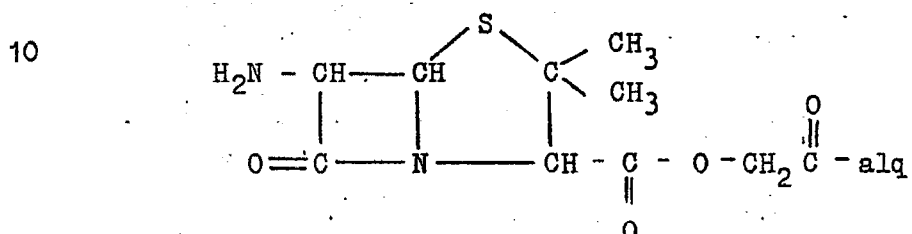


20 donde, cuando W representa hidrógeno, Z representa alcanolílo (inferior), benzoílo, naftoílo, furoílo, tenoílo, nitrobenzoílo, metilbenzoílo, halobenzoílo, fenilbenzoílo, N-ftalimido, N-succinimido, N-sacarino, N-alkil(inferior)carbamóilo, ciano, alcoxi (inferior), alkiltio (inferior), fenoxi, carbalcoxi, carbobenzoxi, carbamóilo, benciloxi, clorobenciloxi, carbofenoxi, carbo-terc-butoxi o alkil(inferior) sulfonilo y, cuando W representa carbalcoxi, Z representa  
25 carbalcoxi y, cuando W representa fenilo, Z representa benzoílo

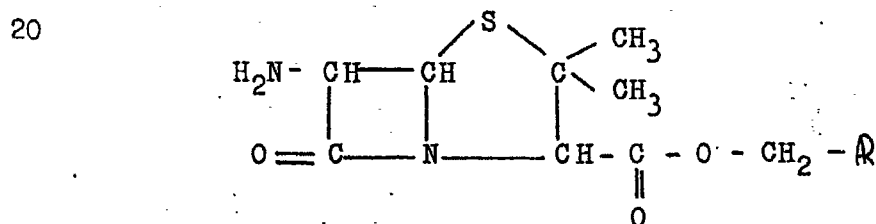


1 lo o ciano, o donde W y Z juntos representan 2-oxociclo-  
 alquilo que contiene de 4 a 8 átomos de carbono inclusi-  
 ve, y sales de adición con ácidos de los mismos; cuyo pro-  
 cedimiento consiste en desacilar el correspondiente éster  
 5 activado de una penicilina biosintética con una amidasa.

Una realización preferida es el procedimiento de  
 preparación de ésteres activados del ácido 6-aminopenicili-  
 lánico de fórmula



donde alq representa alquilo (inferior), que consiste en  
 15 desacilar el correspondiente éster activado de penicili-  
 na G o penicilina V con la amidasa del E. coli; otra rea-  
 lización preferida es el procedimiento de preparación de  
 ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico de fórmu-  
 la



25 donde R representa benzoilo, naftoilo, furoilo, tenoilo,

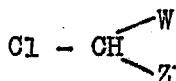
Nº 329.354



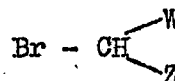
1 nitrobenzoílo, halobenzoílo, metilbenzoílo, metanosulfonil-  
benzoílo o fenilbenzoílo y sales de adición con ácidos de  
los mismos, que consiste en desacilar el correspondiente  
éster activado de penicilina G o penicilina V con la amida-  
5 sa del E. coli.

Los ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico  
del presente invento se preparan por un método general en  
dos etapas, en la forma siguiente:

Una penicilina biosintética, de la que se disponga fá-  
10 cilmente, tal como penicilina G o V en forma de una sal, por  
ejemplo la sal sódica o potásica, se hace reaccionar (pree-  
feriblemente alrededor de la temperatura ambiente o hasta unos  
40°C, en un disolvente anhidro tal como dimetilformamida o  
N,N-dimetilacetamida) con un equivalente de un haluro activo  
15 de fórmula



o



donde W y Z tienen el significado indicado anteriormente, pa-  
ra producir un éster activado de la penicilina (véase McDuffie et al., patente estadounidense nº 2.578.570) del cual  
20 se separa a continuación la cadena lateral por el proceso  
enzimático previamente usado en las propias penicilinas G y  
V. (véase Rolinson et al., patentes estadounidenses núms.  
3.014.845; 3.014.846; y la número 3.239.428 presentada el  
25 30 de abril de 1964 por nuestros colegas H. Takeda, I.

21



1 Iwatsuki y T. Miyano; patentes estadounidenses núms.  
3.161.573, 3.150.059, 3.144.395, 3.127.326, 3.121.667,  
3.116.218 y 3.109.779; patentes inglesas núms. 891.173,  
897.617, 924.455 y 957.685)

5 En el procedimiento preferido se emplea cloro-  
acetona o bromoacetona y penicilina G o penicilina V.

En el otro procedimiento preferido se emplea bro-  
muro de fenacilo, cloruro de fenacilo o un bromuro o  
cloruro de fenacilo sustituido en el anillo.

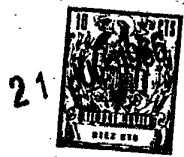
10 Alternativamente, los ésteres activados de peni-  
cilinas naturales pueden prepararse por tratamiento de  
un anhídrido mixto de la penicilina con un alcohol de  
fórmula



donde W y Z tienen el significado indicado anteriormente,  
siguiendo prácticamente procedimientos bien conocidos;  
véase D. A. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3636 (1953);  
R. I. Barnden et al., J. Chem. Soc. 3733 (1953).

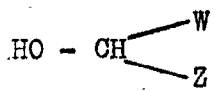
20 Los ésteres activados del ácido 6-aminopeniciláni-  
co del presente invento también se preparan, como se indi-  
ca en los ejemplos que siguen, por el siguiente método:

25 El ácido 6-aminopenicilánico en forma de sal, tal  
como sal de trietilamonio, se mezcla a unos 20-40°C, en  
un disolvente inerte como el cloruro de metileno o la di-



1 metilformamida, con uno o dos equivalentes aproximadamente  
de uno de los haluros activos descritos más arriba para  
formar el éster activado deseado del ácido 6-aminopenicilá  
nico, que se aísla adecuadamente en forma de su sal de adi  
5 ción con ácido con el ácido p-toluensulfónico.

Un tercer procedimiento para la preparación de los  
ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico consiste,  
como se indica en los ejemplos, en tratar con ácido p-toluen  
sulfónico el monohidrato de un éster activado preparado a  
10 partir del ácido 6-(N-tritilamino)-penicilánico y un al-  
cohol de fórmula



donde W y Z tienen el significado indicado anteriormente.  
15 La reacción se lleva a cabo en un disolvente inerte tal  
como acetona seca, a una temperatura comprendida entre 0°  
y 40°C, preferiblemente alrededor de la temperatura am-  
biente, empleando pesos aproximadamente equimoleculares de  
éster y ácido.

20 Los ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico  
de este invento son compuestos básicos, es decir aminas  
primarias, y forman sales de adición con ácidos por trata-  
miento con un equivalente de un ácido orgánico o inorgáni-  
co tal como clorhídrico, sulfúrico, sulfámico, bromhídrico,  
25 tartárico, yodhídrico, licólico, cítrico, maleíco, fosfó-



1 rico, succínico, acético y similares. No es necesario que  
estas sales sean no tóxicas o aceptables farmacológicamen  
te puesto que su utilidad primordial es la recuperación  
de estos productos para uso en reacciones posteriores, por  
5 ejemplo acilación, en las cuales el anión ácido no apare  
ce en el producto final.

Quando se desea, los productos del presente invento  
pueden convertirse, como se indica en los ejemplos, en los  
correspondientes ésteres activados de ácidos 6-acilamino-  
10 penicilánicos por reacción con un agente acilante para ami  
nas primarias, es decir, con un cloruro de ácido de fórmu  
la  $R - \overset{O}{\parallel} - Cl$  o con un equivalente funcional de dicho clo  
ruro de ácido como agente acilante del grupo amino prima  
rio. Entre estos equivalentes se encuentran los correspon  
15 dientes bromuros de ácido carboxílico, anhídridos de ácido,  
incluidos los anhídridos mixtos y particularmente los anhi  
dridos mixtos preparados a partir de ácidos más fuertes  
tal como monoésteres alifáticos inferiores del ácido carbó  
nico, de ácidos alquilsulfónicos y arilsulfónicos y de áci  
20 dos más impedidos como el ácido difenilacético. Además, pue  
de usarse una azida de ácido o un éster o tioéster activo  
(por ejemplo con p-nitrofenol, tiofenol, ácido tioacético)  
o puede combinarse el propio ácido libre con el éster acti  
vado mediante el empleo de enzimas o de un reactivo carbo  
25 di-imida [véase Sheehan y Hess, J. Amer. Chem. Soc. 77,



21 JUL

1 1067 (1955)] , de un reactivo alquinilamina [véase R.  
Buijler y H. G. Viehe, Angew, Chem. International Edi-  
tion 3, 582 (1964)], de un reactivo cetenimina [véase  
C. L. Stevens y M. E. Monk, J. Amer. Chem. Soc. 80,  
5 4065 (1958)], o de una sal de isoxazolio [véase R. B.  
Woodward, R. A. Olofson y H. Mayer, J. Amer. Chem. Soc.  
83, 1010 (1961)] . Otro equivalente del haluro de ácido  
es la correspondiente azolida, es decir, una amida del  
correspondiente ácido cuyo nitrógeno amídico es un miem-  
10 bro de un anillo casi aromático de cinco eslabones que  
contiene por lo menos dos átomos de nitrógeno, por ejem-  
plo imidazol, pirazol, los triazoles, bencimidazol, ben-  
zotriazol y sus derivados sustituidos. Un ejemplo del mé-  
todo general para la preparación de una azolida es el si-  
15 guiente: Se hace reaccionar N,N'-carbonildi-imidazol con  
un ácido carboxílico en proporciones equimoleculares, a  
la temperatura ambiente, en tetrahidrofurano, cloroformo,  
dimetilformamida o un disolvente inerte similar, para for-  
20 mar la imidazolida de ácido carboxílico con un rendimien-  
to prácticamente cuantitativo, con liberación de dióxido  
de carbono y un mol de imidazol. Los ácidos dicarboxíli-  
cos dan di-imidazolidas. El subproducto, imidazol, preci-  
pita y puede ser separado aislando la imidazolida, pero  
ésto no es esencial. En tales casos R representa cualquier  
25 radical deseado que se convertirá en la cadena lateral de



21

1 la penicilina final (en el sentido de que el grupo bencí-  
 lico es la cadena lateral de la penicilina G) que se for-  
 ma al separar a continuación el grupo éster activado para  
 liberar el carboxilo. La acilación con un ácido libre y el  
 5 reactivo carbodi-imida es particularmente útil puesto que  
 es eficaz con ácidos que no pueden convertirse fácilmente  
 o que no pueden convertirse en absoluto en los haluros o  
 anhídridos de ácido. Preferiblemente estas reacciones se  
 llevan a cabo a unos 0-25°C en un disolvente inerte anhi-  
 10 dro tal como acetona seca, utilizando la forma de base li-  
 bre del éster activado del ácido 6-aminopenicilánico, que  
 puede prepararse in situ a partir de una sal del mismo si  
 se desea. Además del agente acilante, se añade un mol de  
 una base como la trietilamina en el caso de que se libere  
 15 un ácido, como ocurre cuando se emplea un cloruro o un an-  
 hídrido de ácido. Después el producto se aísla por las téc-  
 nicas habituales, por ejemplo por separación del disolvente  
 seguida de recristalización en un disolvente.

Así en una ilustración típica del procedimiento que  
 20 emplea carbodi-imida, se disuelven en 3,0 ml de cloruro de  
 metileno 0,5 milimoles de 6-aminopenicilanato de fenacilo  
 (base libre) y 0,5 milimoles de dicitclohexilcarbodi-imida.  
 Sobre esta solución se añade una solución de 0,5 milimoles  
 de hidrocioruro del ácido  $\alpha$ -guanidinofenilacético en 1,0  
 25 ml de dimetilformamida pura. Después de dejar en reposo a



1        25°C durante 30 minutos, la dicitclohexilurea insoluble se separa por filtración. Diluyendo el filtrado con 50-75 ml de éter seco precipita después el producto hidrocioruro de fenacil- $\alpha$ -guanidinobencilpenicilina.

5            Los ésteres activados de los ácidos 6-acilaminopenicilánicos así obtenidos se transforman a continuación por el método del tiofenóxido sódico de Sheehan en las sales sódicas de las correspondientes penicilinas. Por cada mol de los primeros se añaden de uno a dos moles aproximadamente de tiofenóxido sódico disuelto en un disolvente inerte seco tal como dimetilformamida o sulfóxido de dimetilo. La mezcla se agita a la temperatura ambiente aproximadamente hasta que la reacción es completa (lo que con frecuencia requiere menos de 1 hora) y la penicilina así  
10        producida se recupera en la forma habitual, por ejemplo por extracción con disolvente basada en la naturaleza ácida del grupo carboxilo o por precipitación directa mediante adición de acetona, acetato de etilo o similares. Pueden emplearse temperaturas de 5°C solamente pero requieren tiempos de reacción más largos y con frecuencia dan rendimientos más bajos que los obtenidos a 20-35°C o, preferiblemente, a unos 25°C.

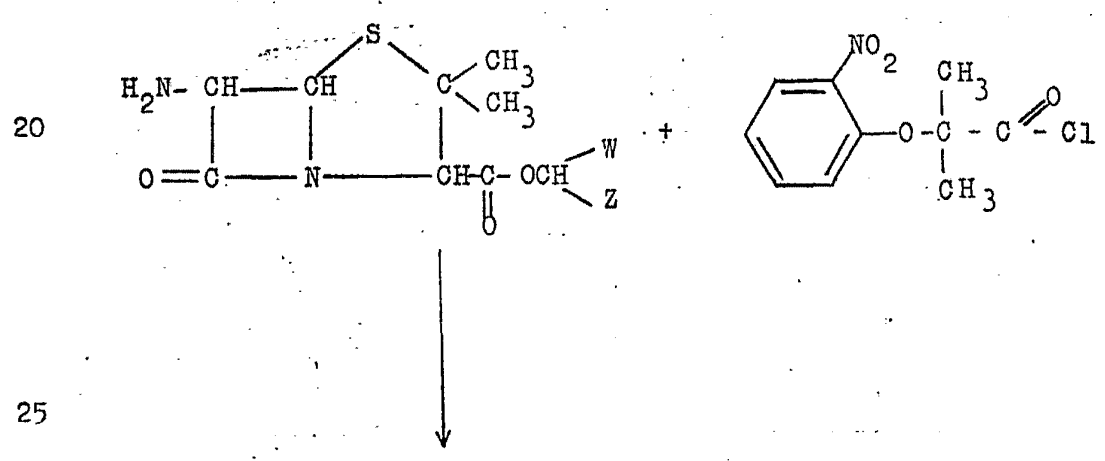
15            Los ésteres activados de los ácidos 6-acilaminopenicilánicos también pueden convertirse en las correspondientes penicilinas tratándolos con precaución con otras bases  
20        25



1       tales como hidróxido sódico, o acetato sódico o por expo-  
sición a la luz ultravioleta como se indica en los ejem-  
plos.

5       Pueden utilizarse los mismos métodos para convertir  
en el propio ácido 6-aminopenicilánico los ésteres activa-  
dos del ácido 6-aminopenicilánico obtenidos mediante las  
etapas consecutivas de formar un éster activado de una pe-  
nicilina natural y después separar enzimáticamente su ca-  
dena lateral.

10       Los ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico  
del presente invento son también valiosos materiales de  
partida para la preparación de derivados biológicamente ac-  
tivos del ácido 7-amino-cefalosporánico de acuerdo con el  
siguiente esquema de reacción, en el cual W y Z tienen el  
15       significado indicado anteriormente y preferiblemente W re-  
presenta hidrógeno y Z representa N-ftalimido:





21

1

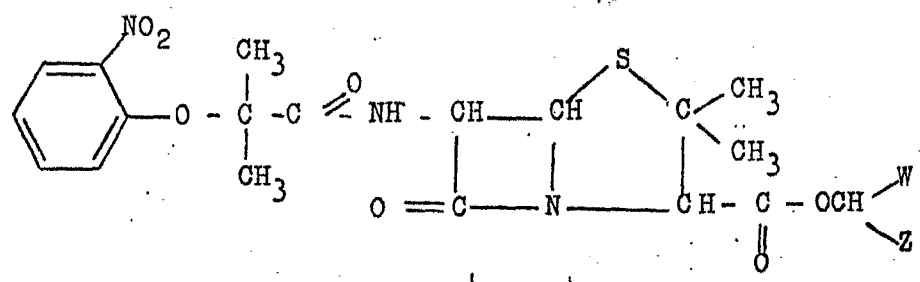
5

10

15

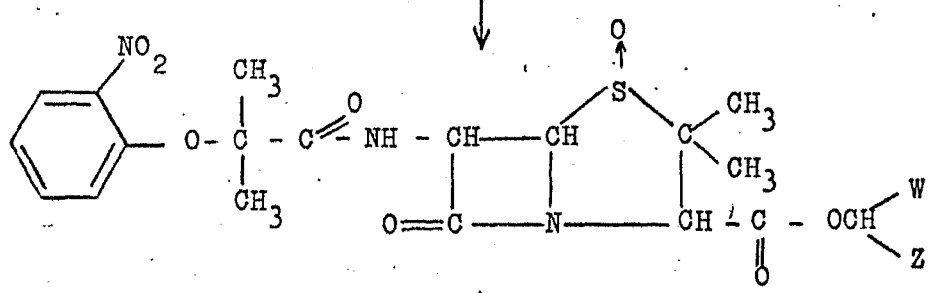
20

25



NaIO<sub>4</sub> o

ácido peracético; véase  
Chow et al., J. Org.Chem.  
27, 1381 (1962)

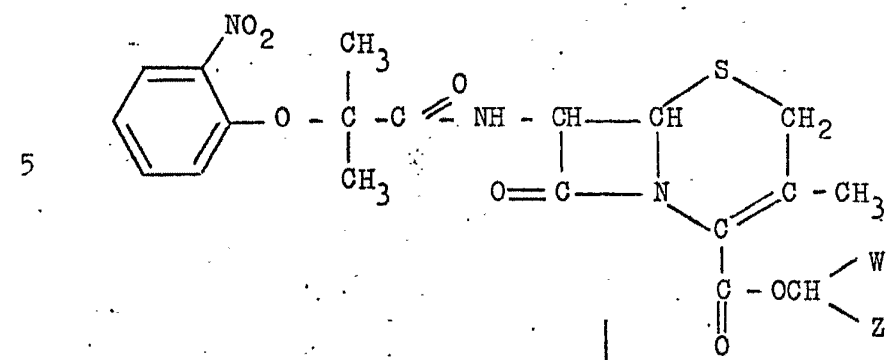


Ac<sub>2</sub>O o

catalizador ácido y calor;  
transposición de Pummerer,  
por Morin et al., J. Amer.  
Chem. Soc. 85, 1896-1897  
(1963)

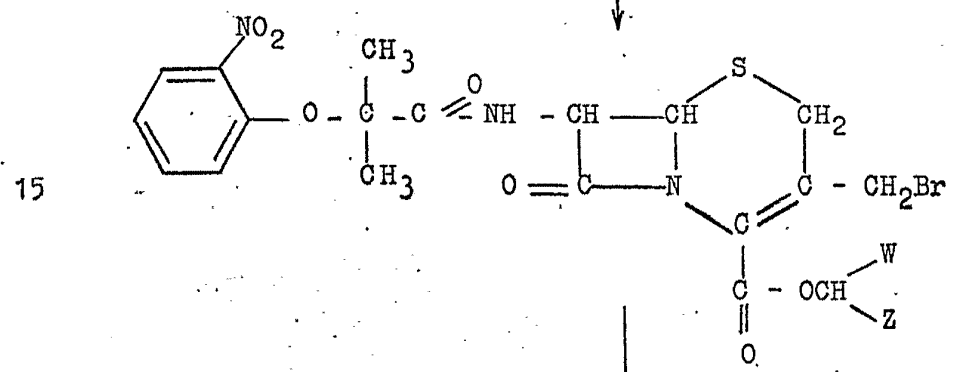


1



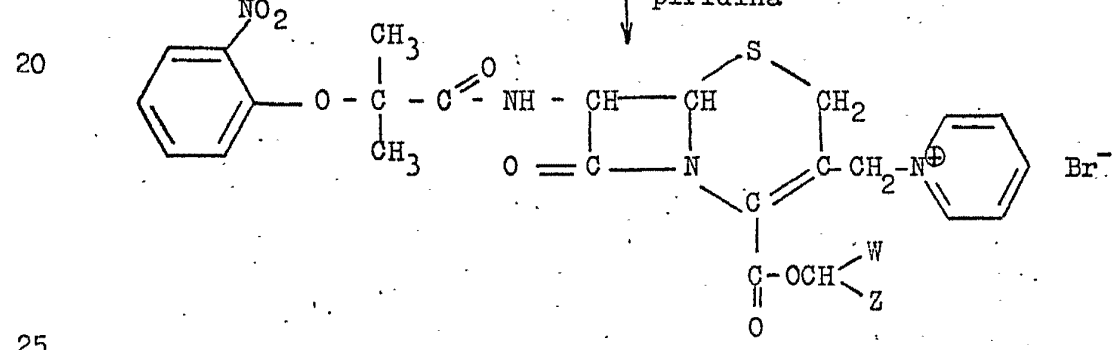
10

N-bromosuccinamida (NBS)  
más luz y/o peróxido



20

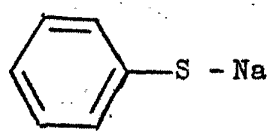
piridina



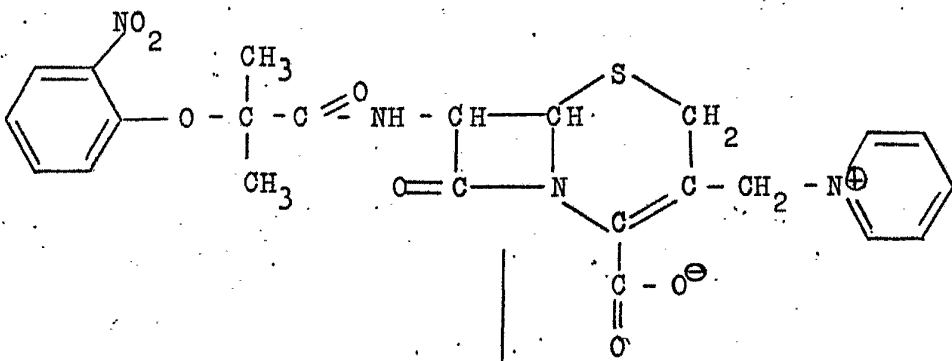


1

5



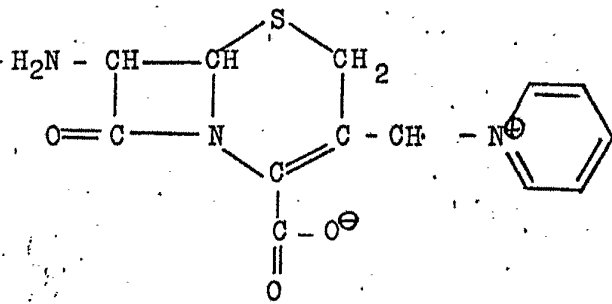
10



15

H<sub>2</sub> + Pd, temperatura ambiente

20

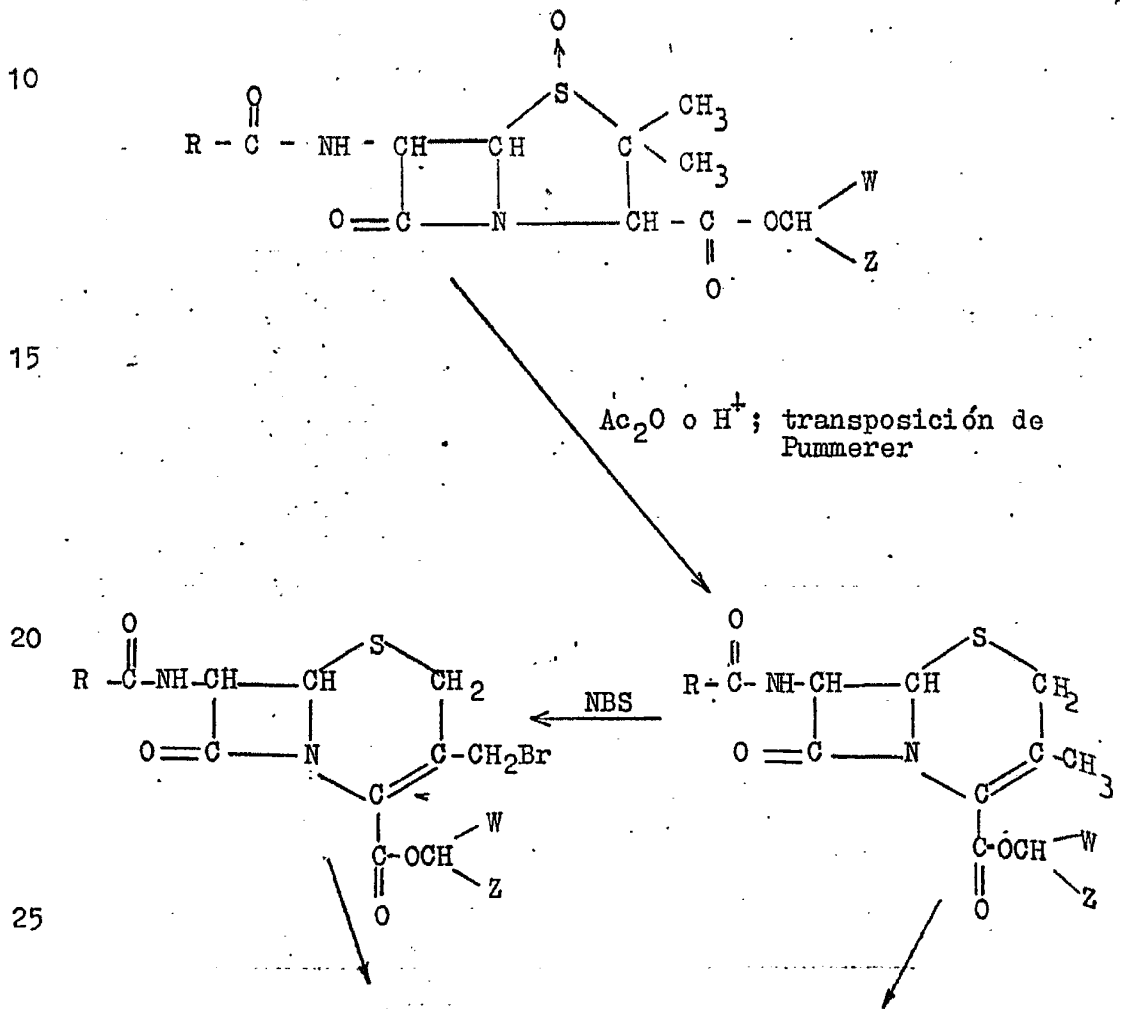


25

Así se prepara el núcleo de cefaloridina que puede acilarse y/o transformarse en otros compuestos de la fami



1 lia de la cefalosporina por los métodos establecidos en  
la técnica. Un ejemplo adicional de tales transformacio  
nes es el siguiente, en el cual primero se prepara cual  
quier penicilina con una cadena lateral inactiva (R), co  
5 mo se ha indicado anteriormente, en forma de un éster acti  
vado de su sulfóxido y después se convierte en los corres  
pondientes derivados de la serie de la cefalosporina en  
la forma siguiente:





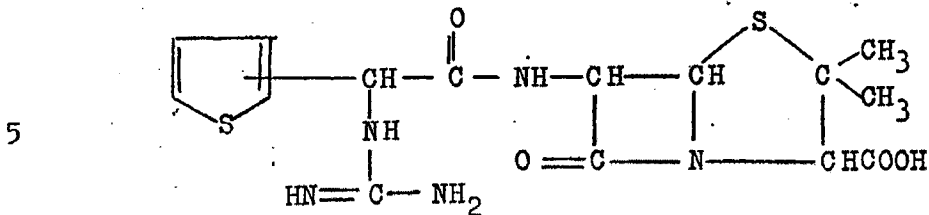


1 aminopenicilánico y recuperar la penicilina así producida.  
En las realizaciones preferidas de este procedimiento, el  
éster deriva del alcohol de fórmula  $\text{HO} - \text{CH}_2\text{C}(=\text{O}) - \text{alq}$ , don-  
de alq representa un alquilo(inferior), o del alcohol de  
5 fórmula  $\text{HO} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{R}$ , donde R representa benzoílo,  
naftoílo, furoílo, tenoílo, nitrobenzoílo, halobenzoílo,  
metilbenzoílo, fenilbenzoílo o metilsulfonilbenzoílo. Así  
pues., esta fotólisis se realiza en tetrahidrofurano o di-  
oxano, por ejemplo, a una temperatura de 0-30°C y preferi-  
10 blemente a unos 8°C, utilizando una lámpara de arco de mer-  
curio o xenon y preferiblemente luz de una longitud de on-  
da de 250-300 mμ.

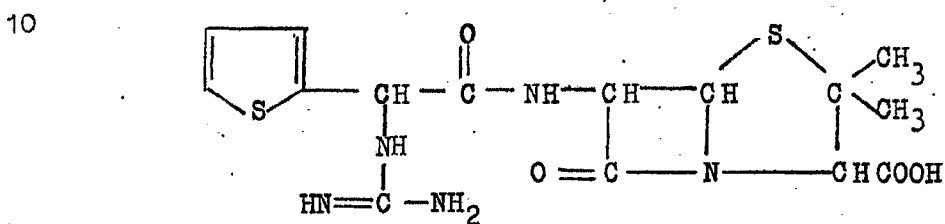
Otro objetivo de esta invención es proporcionar nue-  
vas penicilinas de valor como agentes antibacterianos, como  
15 suplementos nutritivos en alimentos para animales, como  
agentes para el tratamiento de la mastitis en el ganado va-  
cuno y como agentes terapéuticos en el ganado aviar y ani-  
males, incluido el hombre, en el tratamiento de enfermedades  
infecciosas causadas por las bacterias Gram-positivas y  
20 Gram-negativas y, especialmente, por las variedades resis-  
tentes a la bencilpenicilina de Staphylococcus aureus (Mi-  
crococcus pyogenes var. aureus) o para la descontaminación  
de objetos que contienen tales organismos, por ejemplo,  
equipo de hospitales, paredes de salas de operaciones y si-  
25 milares. Este objetivo de la presente invención se ha lo-



1 grado mediante la provisión, de acuerdo con la misma, de penicilinas de fórmula



y sales no tóxicas farmacológicamente aceptables de las mismas. La realización preferida es la penicilina de fórmula



15 y sales no tóxicas farmacológicamente aceptables de las mismas. Entre estas sales se encuentran las sales de ácido carboxílico de estas penicilinas, que comprenden sales metálicas no tóxicas tales como sales de sodio, potasio, calcio y aluminio, la sal amónica y las sales de amonio sustituido, por ejemplo sales de aminas no tóxicas tales como

20 trialquilaminas, incluidas la trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenciletildiamina, deshidroabietilamina, N,N'-bis-des-hidroabietiletildiamina, N-alkil(inferior)piperidina,

25 por ejemplo N-etilpiperidina, y otras aminas que han sido



1 utilizadas para formar sales con la bencilpenicilina; y  
las sales no tóxicas de adición con ácidos de las mismas  
(es decir las sales imínicas) que comprenden las sales de  
adición con ácidos minerales tales como hidrocioruro, hi-  
5 drobromuro, hidroyoduro, sulfato, sulfamato y fosfato y  
las sales de adición con ácidos orgánicos tales como ma-  
leato, acetato, citrato, oxalato, succinato, benzoato,  
tartrato, fumarato, malato, mandelato, ascorbato y simila-  
res. El átomo de carbono  $\alpha$  del grupo acilo (al cual va uni-  
do el grupo  $\alpha$ -guanidino) es un átomo de carbono asimétrico  
10 y los compuestos de esta invención pueden existir por lo  
tanto en dos formas isómeras ópticamente activas { los  
diestereoisómeros D-(-) y L-(+)} y como mezcla de las dos  
formas ópticamente activas; todas estas formas isómeras  
15 de los compuestos están incluidas dentro de los límites de  
esta invención.

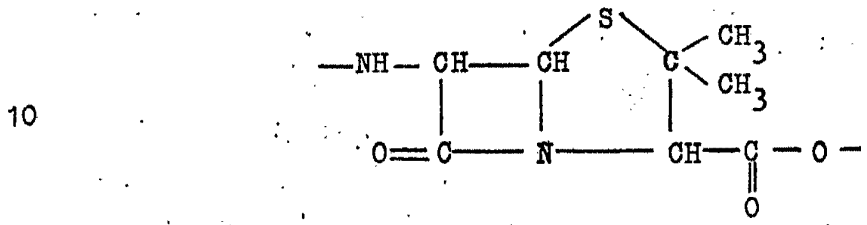
En relación con la anterior consideración sobre los  
diestereoisómeros de esta invención, debe notarse que son  
posibles otros muchos isómeros además de los dos produci-  
20 dos por el carbono asimétrico de la cadena lateral debido  
a la presencia de átomos de carbono asimétricos en el núcleo  
de ácido 6-aminopenicilánico. Sin embargo, estos isómeros  
adicionales carecen después de importancia puesto que el áci-  
do 6-aminopenicilánico, que es el producto de procesos de  
25 fermentación, presenta siempre una configuración única; este



1 ácido 6-aminopenicilánico es luego utilizado en la produc-  
ción de los compuestos de esta invención.

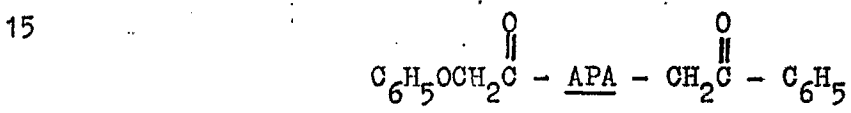
Materiales de partida

5 A continuación damos algunos ejemplos de preparación  
de materiales de partida útiles para la obtención de éste-  
res activados del ácido 6-aminopenicilánico. En el título  
de cada una de las preparaciones la porción



se representa simplemente por "- APA -".

Preparación nº 1



20 6-Fenoxiacetamidopenicilinato de fenacilo.- Se suspen-  
den 19,4 g (0,05 moles) de penicilina potásica V y 7,70 g  
(0,05 moles) de cloruro de fenacilo en dimetilacetamida, se  
25 agita durante 22 horas a 22°C y se vierte sobre 3 litros de  
salmuera diluída para precipitar el éster fenacílico de pe-  
nicilina V en forma de goma. Este producto se separa de la  
solución acuosa por absorción sobre tierra de diatomáceas  
que se recoge por filtración y se seca sobre el filtro succio  
nando después de lavar a fondo. El producto se separa

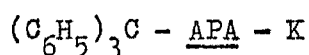


21

1 de la tierra de diatomeas eluyendo con 600 ml de acetona que después se filtra y concentra por destilación a vacío a 33°C. El residuo se disuelve en 300 ml de éter y se seca con sulfato sódico. El disolvente se separa por  
5 destilación a vacío dando el producto sólido que se disuelve tres veces en acetato de etilo y se destila a vacío hasta sequedad dando el producto, 6-fenoxiacetamido-penicilinato de fenacilo, en forma de 21,1 g de sólido vítreo.

10

Preparación nº 2



15

20

25

6-(N-tritilamino)-penicilinato potásico.— Se disuelven 60,0 g (0,278 moles) de ácido 6-aminopenicilánico en una mezcla de 220 ml de agua, 440 ml de alcohol isopropílico y 105,0 ml de trietilamina y se agita durante 5 minutos a la temperatura ambiente. Sobre esta solución se añaden en porciones 100,0 g (0,36 moles) de cloruro de tritilo, a lo largo de un período de 30 minutos. La mezcla de reacción se agita durante 4 horas a la temperatura ambiente y después durante 15 minutos más después de añadir 1200 ml de agua. La suspensión enturbiada se filtra. El filtrado se cubre con 1 litro aproximadamente de éter y se acidula hasta pH 2,6 con ácido clorhídrico concentrado. Se separa la capa etérea y la fase acuosa ácida se extrae dos veces más con porciones de 200 ml de éter. Los extractos



1 etéreos combinados que contienen el producto, ácido 6-  
(N-tritilamino)-penicilánico [ácido 6-(N-trifenilmetil-  
amino)-penicilánico] , se secan sobre sulfato sódico, se  
filtran y se añade sobre ellos una solución en 200 ml de  
5 éter de 50,8 g de 2-etilhexanoato potásico para precipi-  
tar 6-(N-tritilamino)-penicilanato potásico en forma de  
un sólido pesado, gelificado, que se recoge por filtración,  
se seca por succión utilizando un tabique de goma y por úl-  
timo se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dando 27,7 g. El espectro  
10 infrarrojo del producto concuerda con la estructura asigna-  
da. Ver también Sheehan y Henery-Logan, J. Amer. Chem. Soc.  
81, 5838-5839 (1959) y 84, 2983-2990 (1962) en la pág. 2989.

Preparación nº 3

15  $(C_6H_5)_3C - \underline{APA} - CH_2 \overset{O}{\parallel} C - C_6H_5$   
6-Trifenilmetilaminopenicilanato de fenacilo.- Una so-  
lución de 12,42 g (0,0250 moles) de 6-trifenilmetilaminopeni-  
cilanato potásico y 4,08 g (0,0275 moles) de 2-cloroaceto-  
fenona en 315 ml de N,N-dimetilacetamida (DMAc) se agita a  
20 25°C durante 5,0 horas. La mezcla se vierte sobre 2800 ml  
de solución al 5 % de cloruro sódico y el precipitado sólido  
se recoge por filtración y se seca. A continuación se di-  
suelve en 200 ml de éter y se rascan las paredes, precipi-  
tando 10,0 g (69,4 %) del producto, 6-trifenilmetilamino-  
25 penicilanato de fenacilo, p.f. 198,0-200,0°C, que se reco-



1 ge por filtración y se seca. Se recristaliza disolviéndolo en 300 ml de acetona seca, filtrando, separando la mayor parte del disolvente a vacío a 33°C y añadiendo 100 ml de éter seco. La recuperación es prácticamente cuantitativa y la muestra analítica tiene un p.f. de 200,5-201,5°C. Su espectro infrarrojo en KBr exhibe una banda NH a 3300 cm<sup>-1</sup>, una banda de carbonilo β-lactama a 1790 cm<sup>-1</sup>, una banda de carbonilo éster a 1760 cm<sup>-1</sup>, una banda de fenilacetona a 1710 cm<sup>-1</sup> y una banda típica del trifenilmetilo a 707 cm<sup>-1</sup>. Su espectro de RMN en CDCl<sub>3</sub> tiene una configuración compleja que representa 20 protones aromáticos a 8,0-7,0 δ, una configuración AB centrada a 5,3 δ que indica los dos protones β-lactama, una banda de resonancia a 4,45 δ que incluye el protón en C<sub>3</sub> y los dos protones próximos al grupo carbonilo de la porción fenacilo y dos bandas bien definidas a 1,62 y 1,50 δ que proceden de los 6 protones del grupo gem-dimetilo en C<sub>2</sub>.

Análisis: Calculado para C<sub>35</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 72,89; H, 5,59; N, 4,86. Encontrado: C, 72,75; H, 5,62; N, 4,78.

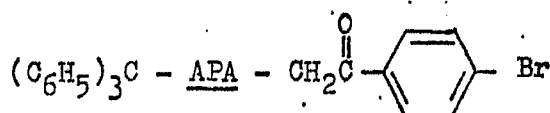
20 Cuando se utiliza 2-bromoacetofenona en lugar de 2-cloroacetofenona en el anterior procedimiento, se obtiene el mismo producto con un rendimiento comparable.

Ver también: J. C. Sheehan y G. D. Daves, Jr., J. Org. Chem. 29, 2006-2008 (1964).

25



1 Preparación nº 4

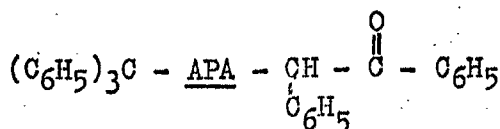


5 6-trifenilmetilaminopenicilinato de 4'-bromofenacilo.-

Una solución de 2,48 g (5,00 milimoles) de 6-trifenilmetilaminopenicilinato potásico y 1,53 g (5,00 milimoles) de 2,4'-dibromoacetofenona en 50 ml de N,N-dimetilacetamida se agita durante 5 horas a 25°C. La mezcla se vierte sobre 500 ml de solución al 5 % de cloruro sódico y el sólido que se separa se recoge por filtración y se lava con agua. Se disuelve en éter, se filtra y el disolvente y la humedad se eliminan a vacío, dando 3,15 g (96 %) de 6-trifenilmetilaminopenicilinato de 4'-bromofenacilo en forma de una espuma frágil. Se recristaliza dos veces en alcohol etílico caliente, 1,74 g (53 %), p.f. 83-84°C. Su espectro infrarrojo en KBr tiene la intensa banda típica del anillo de β-lactama a 1790 cm<sup>-1</sup>, la banda del carbonilo éster a 1765 cm<sup>-1</sup> y la banda de la fenilcetona a 1710 cm<sup>-1</sup>.

15 Análisis: Calculado para C<sub>35</sub>H<sub>31</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 64,13; H, 4,74. Encontrado: C, 63,94; H, 4,88.

20 Preparación nº 5



25 6-Trifenilmetilaminopenicilinato de desilo.- Una so-

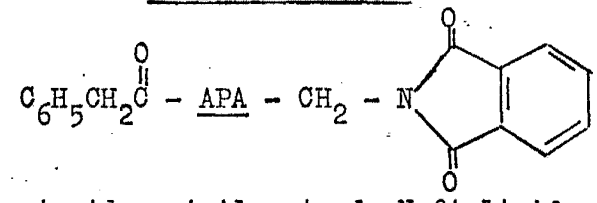


1 lución de 2,48 g (5,00 milimoles) de 6-trifenilmetilamino-  
 penicilinato potásico y 1,65 g (5,00 milimoles) de 2-cloro-  
 desoxibenzoína en 50 ml de N,N-dimetilacetamida se agita a  
 25° durante 16 horas. La mezcla de reacción se vierte so-  
 5 bre 500 ml de solución al 5 % de cloruro sódico y la goma  
 sólida que precipita se recoge por filtración. La goma se  
 seca y se lava a fondo con Skellysolve B. Por disolución  
 en una cantidad mínima de etanol hirviendo y enfriamiento  
 en hielo, se obtienen 1,51 g (46,5 %) de 6-trifenilmetil-  
 10 aminopenicilinato de desilo en forma de un sólido cristali-  
 no de p.f. 90°. La muestra analítica se recristaliza dos  
 veces más en etanol, p.f. 109-110°. Su espectro infrarrojo  
 en KBr muestra la  $\beta$ -lactama característica a 1790  $\text{cm}^{-1}$ , la  
 banda de carbonilo éster a 1755  $\text{cm}^{-1}$  y la banda de fenilce-  
 15 tona a 1705  $\text{cm}^{-1}$ .

Análisis: Calculado para  $\text{C}_{41}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ : C, 75,43; H,  
 5,56; N, 4,29; S, 4,91. Encontrado: C, 75,44; H, 5,52; N,  
 4,18; S, 5,38.

Preparación nº 6

20



6-Fenilacetamidopenicilinato de N-ftalimidometilo.-

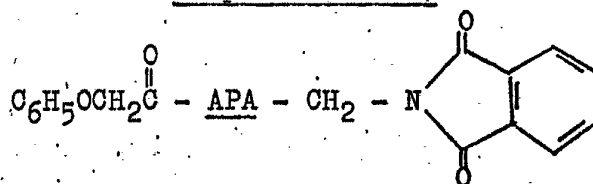
Una suspensión de 18,62 g (0,0500 moles) de penicilina G  
 potásica en 625 ml de N,N-dimetilacetamida conteniendo  
 25 12,00 g (0,0500 moles) de N-bromometilftalimida da muy rá-



21 JUN

1 pidamente una solución transparente al agitar a 25°. Se agi  
ta durante 16½ horas y se vierte sobre 5 litros de solución  
de cloruro sódico al 5 %. El producto sólido, 6-fenilaceta-  
midopenicilanato de N-ftalimidometilo, se recoge por fil-  
5 tración y se seca, dando 26,0 g. Se recristaliza en clorofo-  
rmo por adición de n-pentano, dando 17,2 g (69,8 %), p.f. 74°. Su espectro infrarrojo en KBr demuestra que tiene la estructu-  
ra esperada, con la banda de β-lactama y primera imida a  
1790 cm<sup>-1</sup>, éster a 1760 cm<sup>-1</sup>, segunda imida a 1730 cm<sup>-1</sup>, ami-  
10 da a 1670 cm<sup>-1</sup> y amida II a 1515 cm<sup>-1</sup>.

Preparación nº 7



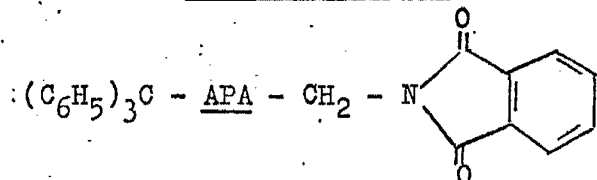
15 6-Fenoxiacetamidopenicilanato de N-ftalimidometilo.-  
Una suspensión de 3,88 g (0,0100 moles) de penicilina V pó-  
tásica en 125 ml de N,N-dietilacetamida conteniendo 2,40 g  
(0,0100 moles) de N-bromometilftalimida se agita a 25° du-  
rante 16 horas. La mezcla de reacción se vierte sobre 1 li-  
20 tro de solución al 5 % de cloruro sódico y el sólido amorfo  
resultante se recoge por filtración y se seca, dando 5,01 g  
(99 %). Se disuelve en una cantidad mínima de cloroformo y  
se vuelve a precipitar mediante adición de Skellysolve B. La  
goma precipitada de 6-fenoxiacetamidopenicilanato de N-fta-  
25 limidometilo se seca a vacío dando una espuma frágil, 3,46 g



1 (68,2 %). Sus espectros infrarrojo y RMN demuestran inequívocamente que posee la estructura esperada.

Preparación nº 8

5



6-Trifenilmetilaminopenicilanato de N-ftalimidometilo.-

Una mezcla de 480 mg (2,00 milimoles) de N-bromometilftalimida y 994 mg (2,00 milimoles) de 6-trifenilmetilaminopenicilanato potásico en 25 ml de N,N-dimetilacetamida se agita durante 5 horas a 25°. Por dilución con 200 ml de cloruro sódico al 5 % precipita el producto, 6-trifenilmetilaminopenicilanato de N-ftalimidometilo, en forma de sólido micro-cristalino. Se recrystaliza dos veces en etanol hirviendo, dando 530 mg (43,1 %), p.f. 110-111°. Su espectro infrarrojo (KBr) muestra la banda de β-lactama y una banda de imida a 1790 cm<sup>-1</sup>, el carbonilo éster a 1750 cm<sup>-1</sup>, la otra imida a 1730 cm<sup>-1</sup>, el éster C-O-C a 1200 cm<sup>-1</sup> y la banda de tritilo a 710 cm<sup>-1</sup>. Su espectro RMN en CDCl<sub>3</sub> es completamente concordante con la estructura esperada.

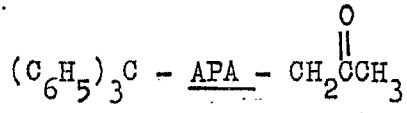
10

15

20

Preparación nº 9

25



6-Trifenilmetilaminopenicilanato de acetnilo.- So-

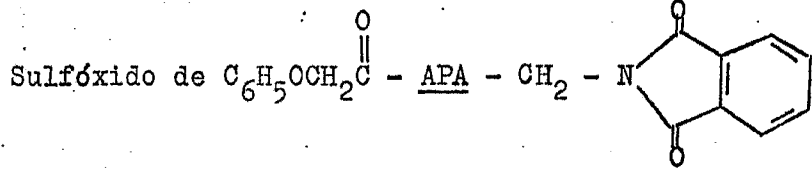
bre una suspensión vigorosamente agitada de 6,21 g (12,5 mi-



21

1 limoles) de 6-trifenilmetilaminopenicilano potásico en  
 180 ml de dimetilacetamida (DMAc) a la temperatura ambien-  
 te (22°) se añaden 2,04 g (22 milimoles) de cloroacetona  
 recién destilada. Al cabo de 3 horas la mezcla se añade lenta  
 5 mente a 1400 ml de solución al 5 % de cloruro sódico enfria  
 da (5°) y agitada. El sólido blanco, 6-trifenilmetilamino-  
 penicilano de acetono, que se separa se recoge por filtra  
 ción, se lava con agua y se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Se re-  
 cristaliza en una mezcla de acetona-isopropanol-agua dando  
 10 3,6 g (56 %) de agujas incoloras, p.f. 149-150°. El espec-  
 tro infrarrojo presenta máximos de absorción a 1785 cm<sup>-1</sup>  
 (carbonilo de β-lactama), 1760 cm<sup>-1</sup> (éster alifático), 1740  
 cm<sup>-1</sup> (cetona alifática) y 715 cm<sup>-1</sup> (grupo trifenilmetilo).  
 La estructura asignada al producto se confirma por el espec  
 15 tro RMN.

Preparación nº 10



20 Sulfóxido de 6-fenoxiacetamidopenicilano de ftali-  
 midometilo. - Se combinan 3,8 g (0,0094 moles) de sulfóxido  
 de penicilina V potásica y 2,4 g (0,01 moles) de N-bromo-  
 metilftalimida en 150 ml de dimetilacetamida y se agita duran  
 te la noche a la temperatura ambiente. Por dilución con  
 25 1300 ml de solución acuosa al 5 % de cloruro sódico se sepa-



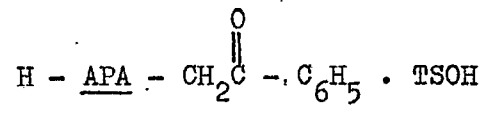
1 ra el producto, sulfóxido de 6-fenoxiacetamidopenicilano  
 de ftalimidometilo, en forma de sólido blanco que se recoge  
 por filtración. Al secarse al aire comienza a convertirse  
 en una goma y continúa la transformación cuando se guarda  
 5 durante la noche en un desecador a vacío. Por trituración  
 con Skellysolve B el producto se transforma en un sólido de  
 color blanco sucio, 2,8 g p.f. 99-102°.

Se repite la reacción empleando 6,9 g de sulfóxido  
 de penicilina V potásica y 4,2 g de N-bromometilftalimida  
 10 dando 3,65 g de sulfóxido de 6-fenoxiacetamidopenicilano  
 de ftalimidometilo.

Análisis: Calculado para  $C_{25}H_{23}N_3O_8S \cdot 2H_2O$ : C, 53,35;  
 H, 4,85. Encontrado: C, 53,62; H, 4,87.

Los siguientes ejemplos tienen por objeto ilustrar  
 15 el presente invento pero sin limitarlo. Todas las tempera-  
 turas se dan en grados centígrados. En el título de cada  
 ejemplo "TSOH" representa ácido p-toluensulfónico. "Skelly-  
 solve B" es una fracción de éter de petróleo que hierve a  
 60-68°C, constituida esencialmente por n-hexano.

20 Ejemplo 1



6-Aminopenicilanoato de fenacilo, sal de p-toluensul-  
fonato. - Una solución de 2,88 g (5,00 milimoles) de 6-tri-  
 25 fenilmetilaminopenicilanoato de fenacilo en 115 ml de acetona



1       seca se trata con 0,950 g (5,00 milimoles) de monohidrato  
del ácido p-toluensulfónico y se deja en reposo, agitando  
de vez en cuando, durante 75 minutos a 25°. A continuación  
se vierte sobre 500 ml de Skellysolve B (éter de petróleo,  
5       p.e. 60-68°) y se evapora a vacío a 33° en un evaporador  
rotatorio hasta que se separa toda la acetona y aproximada-  
mente la tercera parte del disolvente hidrocarburado. El  
resto del disolvente se separa por decantación del produc-  
to, que se adhiere a la pared del matraz. El producto se  
10       lava in situ con 100 ml de éter anhidro que después se de-  
canta. La adición de 15 ml de acetato de etilo hace que el  
producto cristalice. La mezcla se diluye con 300 ml de éter  
y el producto, 6-aminopenicilanoato de fenacilo, sal de p-  
toluensulfonato, se recoge por filtración y se seca, dando  
15       1,62 g, p.f. 138-140° (desc.). Cuando el disolvente hidro-  
carburado separado por decantación anteriormente se diluye  
hasta 1 litro con n-pentano, se recuperan 0,70 g del produc-  
to de partida puro. El rendimiento es por lo tanto del 84,5  
%. Se prepara una muestra para análisis disolviendo a la tem-  
20       peratura ambiente en una cantidad mínima de acetato de eti-  
lo, filtrando y precipitando con éter seco. Su espectro ul-  
travioleta en etanol al 95 % presenta tres máximos:  $\epsilon_{220} =$   
15.500,  $\epsilon_{241} = 13.500$  y  $\epsilon_{278} = 1300$ . Su espectro infrarro-  
jo en KBr presenta una intensa banda de  $\beta$ -lactama a 1795  
25       cm<sup>-1</sup>, una banda de carbonilo éster a 1760 cm<sup>-1</sup>, una banda de



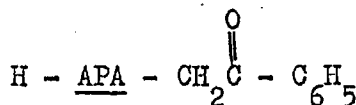
1 fenilcetona a  $1780\text{ cm}^{-1}$  y bandas típicas de la sal de p-  
toluensulfonato a  $1015$  y  $1002\text{ cm}^{-1}$ . Su espectro RMN en  
CDCl<sub>3</sub> muestra 9 protones aromáticos a  $8,0-7,0\delta$ , 2 pro-  
tones de la  $\beta$ -lactama como una configuración AB centrada  
5 a  $5,55$  y  $5,03\delta$ , los 2 protones de la porción fenacilo  
a  $5,48\delta$ , el protón C<sub>3</sub> a  $4,54\delta$ , 3 protones del metilo  
aromático a  $2,31\delta$ , y los 6 protones del grupo gem-dimeti-  
lo en C<sub>2</sub> como un duplete a  $1,70$  y  $1,66\delta$ .

Análisis: Calculado para C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>: C, 54,31; H,  
10 5,15; N, 5,51; S, 12,64. Encontrado: C, 54,25; H, 5,27;  
N, 5,33; S, 12,35.

$[\alpha]_D^{26} + 129^\circ$  (C = 1, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH al 95 %).

Ejemplo 2

15



20

25

6-Aminopenicilinato de fenacilo.- Una solución de  
444 mg (0,873 milimoles) de 6-aminopenicilinato de fena-  
cilo, sal de p-toluensulfonato, en 40 ml de acetato de eti-  
lo se extrae con 15 ml de solución al 1 % de bicarbonato  
sódico, se lava con cuatro porciones de 10 ml de agua y se  
evapora a sequedad en un evaporador rotatorio a  $33^\circ$ . La  
goma que se obtiene, 6-aminopenicilinato de fenacilo, bien  
seca, se disuelve en 1 ml de cloruro de metileno y se trans-  
forma en una espuma frágil mediante aplicación de alto va-  
cío. La espuma se desmenuza en n-pentano, se separa por fil-

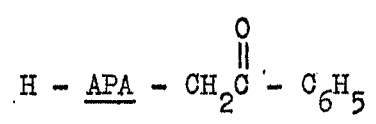


1 tración y se seca. La cantidad recuperada asciende a 240  
 mg (82,2 %). Su espectro infrarrojo en CHCl<sub>3</sub> presenta  
 una banda NH débil a 3380 cm<sup>-1</sup>, una intensa banda de β-lac-  
 5 tama a 1777 cm<sup>-1</sup>, una banda de carbonilo éster a 1760 cm<sup>-1</sup>  
 una banda de fenilcetona a 1706 cm<sup>-1</sup> y ningún indicio de  
 bandas de amida.

Análisis: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 57,46; H,  
 5,43. Encontrado: C, 58,28; H, 5,50.

Ejemplo 3

10



6-Aminopenicilánato de fenacilo por descomposición  
 enzimática de 6-fenilacetamidopenicilánato de fenacilo.-

15

Una solución de 1,00 g (2,21 milimoles) de 6-fenilacetami-  
 dopenicilánato de fenacilo en 10 ml de sulfóxido de dimeti-  
 lo se diluye con 90 ml de solución reguladora 0,2 M de fos-  
 20 fato, pH 7,0, y 100 ml de solución de amidasa de penicilina  
 G E. coli. Se sacude a 37° durante 4,0 horas recuperándose  
 0,68 g de material de partida cristalino, insoluble. La so-  
 25 lución se extrae con una porción de 300 ml y 3 porciones de  
 100 ml de acetato de etilo. Los extractos combinados se se-  
 can sobre sulfato sódico y se evaporan a sequedad a 33°. Se  
 obtiene un aceite amarillo constituido por partes aproxima-  
 damente iguales de sulfóxido de dimetilo y el esperado ami-  
 no-éster, como demuestra su espectro infrarrojo. Se disuel-

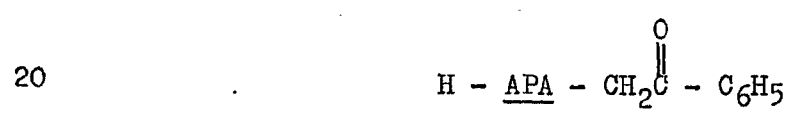
21



1 ve. en 75 ml de éter y se extrae con cinco porciones de  
 20 ml de agua. Por evaporación del disolvente quedan 47  
 mg de goma que, según demuestra su espectro infrarrojo  
 en cloroformo, resulta ser idéntica al 6-aminopenicilana-  
 5 to de fenacilo puro obtenido a partir de 6-trifenilmetil-  
 aminopenicilanoato de fenacilo por hidrólisis con monohi-  
 drato del ácido p-toluensulfónico. El rendimiento, corre-  
 gido teniendo en cuenta el material de partida recuperado,  
 es del 20 %.

10 Para establecer inequívocamente la estructura del  
 producto, se vuelve a acilar a 25°C en 2 ml de cloroformo  
 con un equivalente de cloruro de fenilacetilo y un equi-  
 valente de trietilamina. El producto neutro se recristali-  
 za en acetato de etilo y Skellysolve B dando 20 mg (31 %)  
 15 de 6-fenilacetamidopenicilanoato de fenacilo, identificado  
 por su punto de fusión, 130-134°, y su espectro infrarrojo  
 en KBr, que es idéntico al de una muestra auténtica.

Ejemplo 4



El 6-fenilacetamidopenicilanoato de fenacilo se con-  
 vierte enzimáticamente en 6-aminopenicilanoato de fenacilo  
 (6-APA de fenacilo) en la forma siguiente:

Substrato:

25 Dos ml de solución en acetona de éster fenacílico de



21

1 penicilina G (10 mg/ml) + 3,0 ml de solución reguladora  
0,2 M de fosfato, pH 7.

Condiciones de reacción:

5 Se añaden 15 ml de enzima sobre 5 ml de substratos  
(substrato de 1 mg/ml; acetona al 10 %). Unas muestras se  
sacuden a 32° y al cabo de 1/2, 1, 1½, 2 y 4 horas se to-  
men partes alícuotas y se mide el color de la base de  
Schiff del producto a 415 mμ después de diluir con un vo-  
lumen igual de una solución de 5,83 g de p-dimetilaminoben-  
10 zaldéhidó y 5,83 mg de hidroquinona en 350 ml de etanol ab-  
soluta diluida hasta 1000 ml con solución reguladora de  
ácido cítrico - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a pH 2,5.

Resultados:

|    | <u>Amidasa <i>Arthrobacter viscosus</i></u> |                              |                   |
|----|---|------------------------------|-------------------|
|    | <u>μg/ml de 6-APA<br/>de fenacilo</u>       | <u>% de conver-<br/>sión</u> |                   |
| 15 | 1/2 hora                                    | 80                           | 10,8              |
|    | 1 hora                                      | 120                          | 9,4 <sup>✱</sup>  |
|    | 1½ horas                                    | 180                          | 12,7 <sup>✱</sup> |
|    | 2 horas                                     | 290                          | 39,2              |
| 20 | 4 horas                                     | 360                          | 26,7 <sup>✱</sup> |

✱ El rendimiento teórico de 6-APA de fenacilo es 740  
μg/ml.

25



1

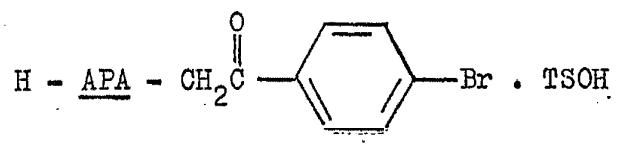
Amidasa E. coli

|             | <u>μg/ml de 6-APA de fenacilo</u> | <u>% de conversión</u> |
|-------------|-----------------------------------|------------------------|
| 1/2 hora    | 600                               | 81,1                   |
| 5 1 hora    | 950                               | 100 *                  |
| 1 1/2 horas | 1050                              | 100 *                  |
| 2 horas     | 700                               | 94,5                   |
| 4 horas     | 1000                              | 100 *                  |

10 \* Los valores para la amidasa E. coli son superiores al 100 % y se han corregido al 100 % introduciendo las correcciones proporcionales para la amidasa Arthrobacter viscosus.

Ejemplo 5

15



20

6-Aminopenicilanoato de 4'-bromofenacilo, sal de p-toluensulfonato. - Se deja en reposo a 25°, durante 75 minutos, una solución que contiene 219 mg (0,333 milimoles) de 6-trifenilmetilaminopenicilanoato de 4'-bromofenacilo y 63,4 mg (0,333 milimoles) de monohidrato de ácido p-toluensulfónico en 4,0 ml de acetona. A continuación se diluye con 100 ml de Skellysolve B y se separan la acetona y unos 30 ml del

25

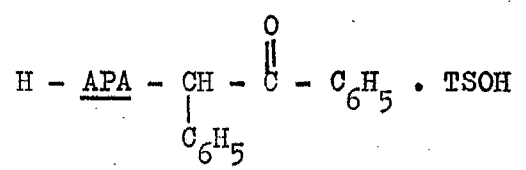


21

1 sólido, 6-aminopenicilanoato de 4'-bromofenacilo, sal de  
p-toluensulfonato, pesa 124 mg (63,7 %). Se reprecipita  
en cloruro de metileno mediante adición de Skellysolve B.  
Su espectro infrarrojo en KBr presenta una intensa banda  
5 de  $\beta$ -lactama a  $1795\text{ cm}^{-1}$ , una banda de carbonilo éster a  
 $1760\text{ cm}^{-1}$ , una banda de fenilcetona a  $1710\text{ cm}^{-1}$  y dos in-  
tensas bandas de sal de p-toluensulfonato a 1031 y 1007  
 $\text{cm}^{-1}$ .

Análisis: Calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_4\text{S}_2$ : C, 47,40;  
10 H, 4,52. Encontrado: C, 48,00; H, 4,85.

Ejemplo 6



15 6-Aminopenicilanoato de desilo, sal de p-toluensulfo-  
nato. - Una solución de 217 mg (0,333 milimoles) de 6-trife-  
nilmetilaminopenicilanoato de desilo en 4,0 ml de acetona se  
trata con 63,4 mg (0,333 milimoles) de monohidrato de ácido  
p-toluensulfónico y se deja en reposo a  $25^\circ$  durante 75 minu-  
20 tos. Se diluye con 100 ml de Skellysolve B y la acetona y  
aproximadamente la tercera parte del Skellysolve B se sepa-  
ran a  $33^\circ$  en un evaporador rotatorio. El producto, 6-amino-  
penicilanoato de desilo, sal de p-toluensulfonato, se separa  
en forma de un sólido que se adhiere a las paredes del ma-  
25 traz. El rendimiento es de 130 mg (74 %). Su espectro infra-

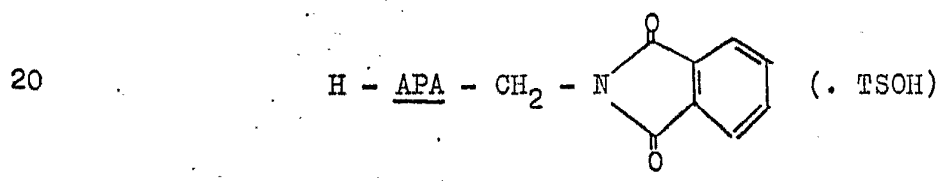


1 rrojo en  $\text{CHCl}_3$  presenta una intensa banda de  $\beta$ -lactama a  $1740 \text{ cm}^{-1}$ , una banda de carbonilo éster a  $1747 \text{ cm}^{-1}$ , una banda de fenilcetona a  $1694 \text{ cm}^{-1}$  y dos bandas típicas de la sal de p-toluensulfonato a  $1031$  y  $1006 \text{ cm}^{-1}$ .

5 Análisis: Calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ : C, 58,86; H, 5,28; N, 4,74. Encontrado: C, 58,57; H, 5,39; N, 4,46.

6-Aminopenicilanoato de desilo.- Una solución de 190 mg (0,327 milimoles) de 6-aminopenicilanoato de desilo, sal de p-toluensulfonato, en 20 ml de acetato de etilo se extrae con 7 ml de solución de bicarbonato sódico al 1 % y se lava a fondo con agua. Por separación del disolvente y cuidadoso secado a vacío quedan 90 mg (66 %) de 6-aminopenicilanoato de desilo en forma de espuma frágil. Su espectro infrarrojo en  $\text{CHCl}_3$  presenta una intensa banda de  $\beta$ -lactama a  $1775 \text{ cm}^{-1}$ , una banda de carbonilo éster a  $1747 \text{ cm}^{-1}$  y una banda de fenilcetona a  $1694 \text{ cm}^{-1}$ . No se observan bandas correspondientes al grupo amida.

Ejemplo 7

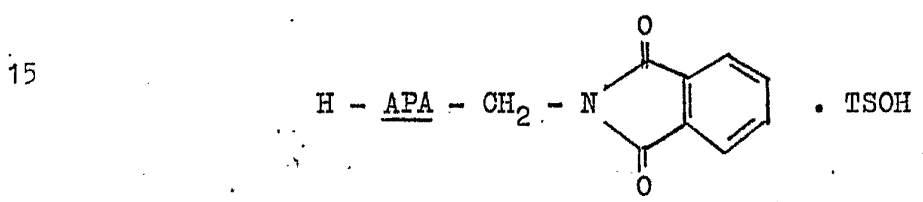


6-Aminopenicilanoato de ftalimidometilo, sal de p-toluensulfonato.- Se tratan 0,50 g de 6-fenilacetamidopenicilanoato de ftalimidometilo con amidasa E. coli siguiendo los procedimientos de los Ejemplos 3 y 4 para dar una solución



1 de 6-aminopenicilanoato de ftalimidometilo que se filtra y  
 se extrae primero con 1 litro de acetato de etilo y des-  
 pués con 500 ml del mismo. Los extractos combinados se se-  
 can sobre sulfato sódico y se filtran. Después de añadir  
 5 ácido p-toluensulfónico, se separa por destilación a vacío,  
 a 33°, el acetato de etilo y se añaden sobre el residuo  
 275 ml de éter anhidro para precipitar 6-aminopenicilanoato  
 de ftalimidometilo, sal de p-toluensulfonato, sólido, que  
 se recoge y se seca sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a vacío, dando 0,26 g. El  
 10 producto se disuelve en cloruro de metileno y se filtra.  
 Por adición de n-pentano reprecipita el producto que se  
 seca sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a vacío dando 220 mg, p.f. 104-105°C.

Ejemplo 8



6-Aminopenicilanoato de N-ftalimidometilo, sal de  
p-toluensulfonato.- Una solución transparente de 183 mg  
 20 (0,296 milimoles) de 6-tritilaminopenicilanoato de N-ftali-  
 midometilo y 63,4 mg (0,333 milimoles) de monohidrato de  
 ácido p-toluensulfónico en 4,0 ml de acetona seca se deja  
 en reposo a 25° durante una hora y cuarto. La solución se  
 diluye con 100 ml de Skellysolve B y se evapora hasta un  
 25 volumen de 50 ml en un evaporador rotatorio. Se añade una

21

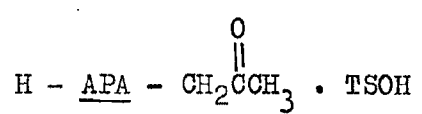


1 cantidad adicional de 50 ml. de Skellysolve B y el producto,  
 6-aminopenicilanoato de N-ftalimidometilo, sal de p-toluen-  
 sulfonato, que se adhiere a las paredes del matraz se sepa-  
 5 ra rascando y se recoge por filtración. El rendimiento en  
 producto crudo es de 102 mg (63 %). Se vuelve a precipitar  
 en unos pocos mililitros de cloruro de metileno por dilu-  
 ción con n-pentano, 80 mg (49 %), p.f. 104-105°. Su espec-  
 tro infrarrojo (KBr) concuerda por completo con la estructu-  
 ra esperada, presentando bandas NH,  $\beta$ -lactama, imida, éster  
 10 y bandas típicas de la sal de p-toluensulfonato.

Análisis: Calculado para  $C_{24}H_{25}N_3O_8S_2 \cdot H_2O$ : C, 50,96;  
 H, 4,81. Encontrado: C, 51,03; H, 4,78.

Ejemplo 9

15



20

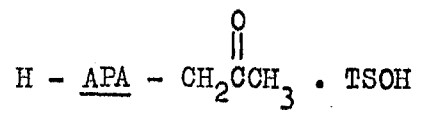
25

6-Aminopenicilanoato de acetonoilo, sal de p-toluensul-  
fonato. - Se agita durante 75 minutos a 22° una solución que  
 contiene 2,57 g (5 milimoles) de 6-trifenilmetilaminopenici-  
 lanato de acetonoilo y 0,95 g (5 milimoles) de monohidrato  
 del ácido p-toluensulfónico en 115 ml de acetona seca. La so-  
 lución transparente se añade sobre 500 ml de éter de petró-  
 leo, p.e. 40-60°, y los disolventes se evaporan a presión re-  
 ducida hasta un volumen de 80 ml. Se separa el disolvente  
 por decantación y el sólido residual se cristaliza por adi-  
 ción de 15 ml de acetato de etilo. Se añaden 300 ml de éter



1 y el producto sólido, 6-aminopenicilanoato de acetoni-  
sal de p-toluensulfonato, se recoge y se seca. El rendi-  
miento es de 1,7 g, p.f. 100-105° (desc.). Se purifica  
por agitación durante 15 minutos con 100 ml de acetato de  
5 etilo, disolviéndose las impurezas coloreadas y recogién-  
dose por filtración la sal que se seca a vacío. El produc-  
to (1,13 g, 52 %) tiene un p.f. de 108-110° (desc.). En  
el espectro infrarrojo se observan máximos de absorción a  
1795 (carbonilo β-lactama), 1760 (carbonilo éster), 1740  
10 (cetona alifática) y 1012 y 1036 cm<sup>-1</sup> (p-toluensulfonato).  
El espectro RMN concuerda con la estructura asignada.

Ejemplo 10

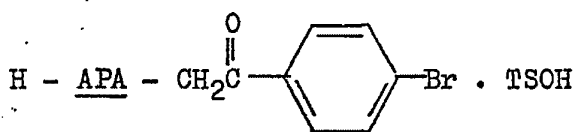


15 6-Aminopenicilanoato de acetoni-  
sulfonato. - Una solución que contiene 719,8 mg de 6-fenil-  
acetamidopenicilanoato de acetoni-  
21,6 ml de solución reguladora de fosfato a pH 7 se sacude  
a 37° durante 2,5 horas con 108 ml de amidasa en E. coli.  
20 La solución se extrae dos veces con 170 ml de acetato de  
etilo. Los extractos secos se tratan con 350,6 mg de mono-  
hidrato del ácido p-toluensulfónico y la solución transpa-  
rente se evapora hasta un volumen de 30 ml. El 6-aminopeni-  
cilanoato de acetoni-  
25 que se separa se recoge por filtración, se lava con éter de

21 JUL 

1     petróleo (p.e. 60-80°) y se seca a vacío. Se obtienen  
270 mg (33 %) de 6-aminopenicilinato de acetoni-  
lo, sal de p-toluensulfonato, con un p.f. y un espectro infrarro-  
jo idénticos a los de la muestra preparada a partir de  
5     6-trifenilmetilaminopenicilinato de acetoni-  
lo.

Ejemplo 11



10     6-Aminopenicilinato de p-bromofenacilo, sal mono-  
ácida de p-toluensulfonato..- Se prepara una pasta clara  
de 7,92 g (0,025 moles) de la sal cristalina de trietil-  
amonio del ácido 6-aminopenicilánico en 100 ml de cloruro  
de metileno y se añaden gota a gota, con agitación, 6,95 g  
15     (0,025 moles) de bromuro de p-bromofenacilo en 100 ml de  
cloruro de metileno, a lo largo de un período de 30 minu-  
tos. Se continúa agitando durante 2 horas a la temperatu-  
ra ambiente (22°) y después la solución enturbiada se la-  
va con agua (3 x 50 ml), NaHCO<sub>3</sub> al 2 % (3 x 50 ml) y agua  
20     (3 x 50 ml). La solución en cloruro de metileno se clari-  
fica entonces por filtración a través de sulfato sódico  
anhidro y se añade sobre la misma, gota a gota, una solu-  
ción de ácido p-toluensulfónico (al 2 % en acetato de eti-  
lo) hasta que el pH es 2. Se separan los disolventes a 20°  
25     y presión reducida y el residuo oleoso se vuelve a disol-



21

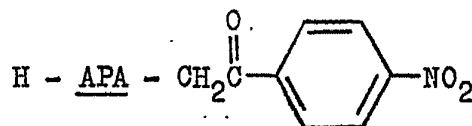
1 ver en 200 ml de acetato de etilo, eliminando de nuevo el  
disolvente a presión reducida. El aceite resultante se  
tritura entonces con 300 ml de éter seco y el residuo in-  
soluble en éter se tritura con 50 ml de acetato de etilo.  
5 La goma resultante se disuelve en 100 ml de acetona y se  
diluye hasta el punto de turbidez con éter seco. Rascando  
las paredes se inicia la cristalización y al cabo de 30 mi-  
nutos se han obtenido 1,7 g de 6-aminopenicilanoato de p-  
bromofenacilo, sal monoácida de p-toluensulfonato, que se  
10 lavan con éter y se secan a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Se obtiene  
una segunda masa cristalina (700 mg) y una tercera masa cris-  
talina (400 mg), cuyos espectros infrarrojos son idénticos  
a los de la primera. El rendimiento total es de 2,8 g, es  
decir el 19 % del teórico. El punto de fusión es de 155-  
15 156° y los espectros infrarrojo y RMN concuerdan por com-  
pleto con la estructura propuesta.

Análisis: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S.C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>SO<sub>3</sub>: C,  
47,18; H, 4,31; N, 4,80. Encontrado: C, 47,79; H, 4,31;  
N, 4,65.

20 Se obtiene el mismo producto empleando dimetilforma-  
mida (DMF) como disolvente y dos equivalentes de bromuro  
de p-bromofenacilo.

Ejemplo 12

25





1                    Preparación de 6-aminopenicilinato de trietilamonio.  
(cristalino).- Se agitan 43,2 g (0,2 moles) de 6-APA en  
400 ml de cloruro de metileno y se añaden de una sola vez  
56 ml de trietilamina (TEA). Se continúa agitando durante  
5 30 minutos y después la solución turbia se filtra a través  
de "Dicalite" (tierra de diatomáceas) con succión. El filtra  
do se evapora a vacío hasta volumen reducido teniendo cui-  
dado de no separar todo el exceso de TEA. En este momento  
se añaden unos 300 ml de acetato de etilo y se obtiene una  
10 solución agitando vigorosamente. Casi inmediatamente comien  
za la cristalización y al cabo de 15 minutos se recoge el  
producto por filtración, se lava con acetato de etilo y se  
seca al aire. Rendimiento: 45 g de 6-aminopenicilinato de  
trietilamonio cristalino (6-APA.TEA).

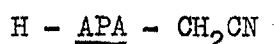
15                    6-Aminopenicilinato de p-nitrofenacilo, sal del áci-  
do p-toluensulfónico.- Sobre una solución agitada y fría  
(2°C) de 9,7 g (0,03 moles) de 6-APA.TEA cristalino en 50  
ml de dimetilformamida (DMF) se añade una solución de 14,7  
g (0,061 moles) de bromuro de p-nitrofenacilo en 50 ml de  
20 DMF, gota a gota y a lo largo de un período de media hora.  
Se aparta el baño de hielo y se continúa agitando durante  
2 horas. Continuando la experiencia en la misma forma que  
en el Ejempló 11 se obtienen 7,5 g de 6-aminopenicilinato  
de p-nitrofenacilo, sal del ácido p-toluensulfónico, que se  
25 . recristalizan en 200 ml de acetona hirviendo diluída hasta



21

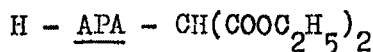
1 el punto de turbidez con éter seco, mediante rascado y en-  
friamiento. Rendimiento: 5 g, punto de descomposición 121°.

Ejemplo 13



5 6-Aminopenicilanoato de cianometilo.- Se combinan  
7,45 g de 6-N-tritilaminopenicilanoato potásico (0,015 moles)  
y 2,03 g (0,0155 moles) de cloroacetnitrilo en 140 ml de  
dimetilacetamida y se agita a la temperatura ambiente duran-  
te 3 horas. La solución se vierte sobre 1000 ml de solución  
10 acuosa al 5 % de cloruro sódico para precipitar el producto,  
6-N-tritilaminopenicilanoato de cianometilo, en forma de goma  
sólida que se recoge y disuelve en acetato de etilo y des-  
pués se seca por destilación a vacío de este último. El pro-  
ducto residual se suspende en Skellysolve B para formar un  
15 sólido blanco amorfo (3,45 g), p.f. 78-81°C. Empleando este  
producto siguiendo el procedimiento de los Ejemplos 1, 6 y  
9 se obtiene 6-aminopenicilanoato de cianometilo, que se ais-  
la en forma de su sal sólida del ácido p-toluensulfónico.

Ejemplo 14



20 6-Aminopenicilanoato de dicarbetoimetilo.- Se combi-  
nan 7,64 g (0,0216 moles) de penicilina G potásica y 5,26 g  
(0,022 moles) de bromomalonato de dietilo en 220 ml de di-  
metilacetamida y la mezcla se agita a 25°C durante 95 minu-  
25 tos y después se vierte sobre 1400 ml de solución acuosa al

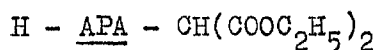


21 JUL

1 5 % de cloruro sódico. El producto, 6-fenilacetamidopeni-  
cilanato de dicarbetoximetilo, se extrae en éter y el ex-  
tracto etéreo se lava con agua, se seca sobre sulfato mag-  
nésico y se separa el disolvente por destilación a vacío  
5 dejando el producto en forma de aceite. Después de tritura-  
ción en Skellysolve B y separación del disolvente a vacío,  
el producto pesa 4,2 g. Empleando este producto en los pro-  
cedimientos de desacilación enzimática de los Ejemplos 3 y  
4 se obtiene 6-aminopenicilanoato de dicarbetoximetilo.

10

Ejemplo 15



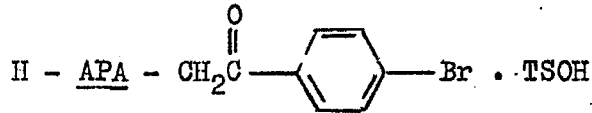
6-Aminopenicilanoato de dicarbetoximetilo.— Se mezclan  
7,45 g (0,015 moles) de 6-N-tritilaminopenicilanoato potási-  
co y 3,66 g (0,0153 moles) de bromomalonato de dietilo con  
15 200 ml de dimetilacetamida y se agita durante 1 hora a la  
temperatura ambiente. A continuación se vierte esta mezcla  
sobre 1300 ml de solución acuosa al 5 % de cloruro sódico  
para precipitar el producto 6-N-tritilaminopenicilanoato de  
dicarbetoximetilo, en forma de una goma que se recoge y se-  
ca por destilación relámpago con acetato de etilo. Se obtie-  
20 ne el producto en forma de sólido cristalino blanco cuya  
porción insoluble en acetona pesa 5,7 g, p.f. 167-169°C.  
Empleando este producto en el procedimiento de destritila-  
ción de los Ejemplos 1, 6 y 9 se obtiene 6-aminopenicilano-  
25 to de dicarbetoximetilo que se aísla en forma de su sal

21



1 sódica del ácido p-toluensulfónico.

Ejemplo 16



5 6-Aminopenicilinato de p-bromofenacilo, sal del

ácido p-toluensulfónico.- Sobre una solución agitada de 95,1 g (0,3 moles) de 6-aminopenicilinato de trietilammonio en 500 ml de cloruro de metileno se añade, de una sola vez, una solución de 83,4 g (0,3 moles) de bromuro de p-bromofenacilo en 500 ml de cloruro de metileno. Al cabo de 3 horas la solución se extrae con tres porciones de 500 ml de agua, tres porciones de 500 ml de NaHCO<sub>3</sub> al 5 % y tres porciones de 500 ml de agua. La solución en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se clarifica por filtración a través de sulfato sódico anhidro y después se trata con una solución saturada de hidrato de ácido p-toluensulfónico en acetato de etilo hasta que se obtiene un pH 2 (papel de pH húmedo). La solución resultante se concentra a presión reducida hasta la tercera parte de su volumen aproximadamente y el producto cristalino resultante se recoge por filtración y se lava con tres porciones de 200 ml de acetato de etilo. El rendimiento en sal del ácido p-toluensulfónico de 6-aminopenicilinato de p-bromofenacilo secada a vacío es de 71 g (39 % del teórico), p.f. 160°.

25 Análisis: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S·C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>SO<sub>3</sub>: C,

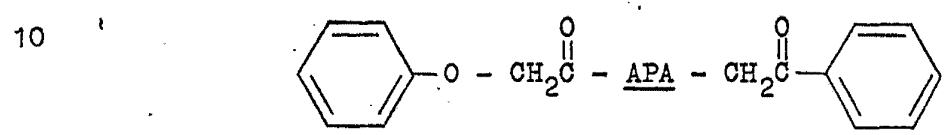


1 47,18; H, 4,31; N, 4,81. Encontrado: C, 47,41; H, 4,49; N, 4,62.

Acilación de ésteres activados de 6-APA

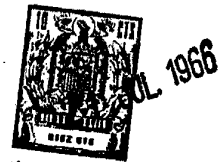
5 Los siguientes procedimientos servirán para ilustrar la conversión de los ésteres activados del ácido 6-aminopenicilánico en ésteres activados de las penicilinas por acilación.

Procedimiento nº 1



6-(α-Fenoxiacetamido)-penicilanato de fenacilo.-

15 Una solución de 236 mg (0,465 milimoles) de 6-aminopenicilinato de fenacilo, sal del ácido p-toluensulfónico, en 10 ml de acetona seca se enfría a -5°C y se añaden 0,072 ml (0,46 milimoles) de cloruro de fenoxiacetilo. Se añade, durante un periodo de 30 segundos, una solución enfría-  
20 da con hielo de 0,131 ml (0,93 milimoles) de trietilamina en 4 ml de acetona. Al cabo de dos minutos se observa la formación de un precipitado. La mezcla se agita durante una hora y tres cuartos a -5°C. Se separa el disolvente a 33° y el residuo se disuelve en 50 ml de éter y 20 ml de agua. La solución etérea se extrae sucesivamente con 10 ml de  
25 bicarbonato sódico al 1 %, 10 ml de ácido sulfúrico 0,5 N



1 y tres porciones de 10 ml de agua. El disolvente se separa  
a 33° y la goma residual de 6-( $\alpha$ -fenoxiacetamido)-penicila  
nato de fenacilo se seca por completo a vacío dando 160 mg.  
La mezcla se disuelve en 10 ml de cloruro de metileno, se  
5 filtra y el disolvente se separa a vacío dejando una espu-  
ma frágil que se tritura bajo n-pentano y se recoge por  
filtración. El rendimiento de 6-( $\alpha$ -fenoxiacetamido)-penici-  
lanato de fenacilo purificado es de 136 mg, 64 %. Su espec-  
tro infrarrojo en cloroformo presenta una intensa banda NH  
10 a 3400  $\text{cm}^{-1}$ , una banda de  $\beta$ -lactama a 1795  $\text{cm}^{-1}$ , de carbo-  
nilo éster a 1760  $\text{cm}^{-1}$ , bandas superpuestas de fenilcetona  
y amida a 1705  $\text{cm}^{-1}$  y la banda de amida II a 1515  $\text{cm}^{-1}$ . Su  
espectro RMN en  $\text{CDCl}_3$  demuestra la presencia de diez proto-  
nes aromáticos y el NH a 8,0 - 6,8 $\delta$ , cuatro protones a  
15 5,8 - 5,0 $\delta$  que incluyen los protones del anillo de  $\beta$ -lacta-  
ma y los dos protones adyacentes al carbonilo de la por-  
ción fenacílica, el protón único en  $\text{C}_3$  a 4,60 $\delta$ , los dos  
protones próximos al carbonilo de la porción fenoxiaceti-  
lica a 4,50 $\delta$  y los seis protones del gem-dimetilo a 1,68 $\delta$ .  
20 Los espectros infrarrojo y RMN de este producto son idénti-  
cos a los espectros del mismo material preparado a partir  
de penicilina V potásica y 2-cloroacetofenona siguiendo el  
procedimiento de McDuffie y Cooper, patente estadounidense  
nº 2.578.570.

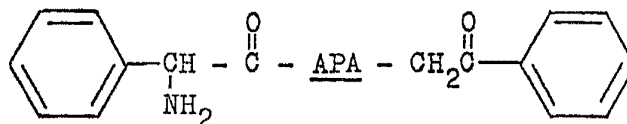
25 Análisis: Calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ : C, 61,52; H,



1 5,16. Encontrado: C, 62,43; H, 5,47.

Procedimiento nº 2

5



10

15

20

25

6-( $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -fenilacetamido)-penicilanoato de fenacilo. Una solución de 509 mg (1,00 milimoles) de 6-amino-penicilanoato de fenacilo, sal del ácido p-toluensulfónico, en 20 ml de acetona seca se enfría a  $-5^{\circ}$  y se suspenden en ella 206 mg (1,00 milimoles) de hidrocloreto de cloruro de D(-)- $\alpha$ -fenilglicilo. A lo largo de un periodo de 2 minutos se añade una solución de 304 mg (3,00 milimoles) de trietilamina en 14 ml de acetona y la mezcla se agita a  $-5^{\circ}\text{C}$  durante 1/2 hora. Después se deja que se temple a  $25^{\circ}$  durante 25 minutos. Se separa el disolvente a  $33^{\circ}$  y el residuo se disuelve en 20 ml de agua y 30 ml de acetato de etilo. Cristalizan trazas de fenilglicina que se separan por filtración. La solución en acetato de etilo se lava con tres porciones de 15 ml de agua, se evapora a sequedad a presión reducida y se convierte en una espuma frágil de 6-( $\alpha$ -amino- $\alpha$ -fenilacetamido)-penicilanoato de fenacilo a alto vacío. La espuma se desintegra bajo n-pentano, se recoge por filtración y se seca dando 405 mg (86,7 %). Se purifica para análisis disolviendo en 40 ml de cloruro de metileno, tratan-

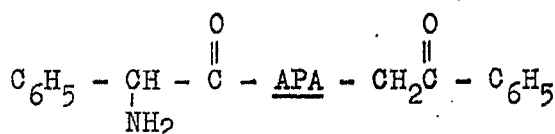


1966

1 do con 0,1 g de carbón activo decolorante, filtrando y vol  
viendo a aislar en forma de espuma frágil no higroscópica.  
Su espectro ultravioleta en etanol al 95 % presenta dos má  
ximos:  $\epsilon_{240} = 15.750$ ,  $\epsilon_{275} = 1.790$ . Su espectro infrarrojo  
5 en  $\text{CHCl}_3$  presenta bandas NH a  $3370 \text{ cm}^{-1}$  y  $3310 \text{ cm}^{-1}$ , de  $\beta$ -  
lactama a  $1785 \text{ cm}^{-1}$ , de carbonilo éster a  $1755 \text{ cm}^{-1}$ , de fe  
nilcetona a  $1705 \text{ cm}^{-1}$ , de amida a  $1690 \text{ cm}^{-1}$  y una banda de  
amida II a  $1495 \text{ cm}^{-1}$ . El espectro RMN de este compuesto en  
10  $\text{CDCl}_3$  revela diez protones aromáticos a  $8,0 - 7,2\delta$ , dos  
protones de  $\beta$ -lactama superpuestos con los dos protones  
próximos al carbonilo de la porción fenacética a  $5,5\delta$ , el  
protón en  $\text{C}_3$  y el protón  $\alpha$  con respecto a la función amina  
se observan a  $4,5\delta$  y los seis protones del gem-dimetilo  
aparecen como un duplete a  $1,72$  y  $1,70\delta$ .

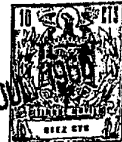
15 Análisis: Calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ : C, 61,65; H,  
5,39. Encontrado: C, 62,22; H, 5,91.

Procedimiento nº 3



20

6-D(-)- $\alpha$ -Aminofenilacetamido)-penicilanato de fena-  
cilo.- (Vía N,N'-díciclohexilcarbodi-imida). Una solución de  
167 mg (0,50 milimoles) de 6-aminopenicilanato de fenacilo y  
103 mg (0,50 milimoles) de N,N'-díciclohexilcarbodi-imida en  
25 3,0 ml de cloruro de metileno se añade sobre una suspensión

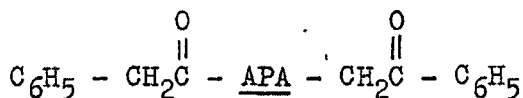


21 J

1 de 94 mg (0,50 milimoles) de hidrocioruro de D(-)-fenilgli  
cina en 1,0 ml de N,N-dimetilformamida. La mezcla se saca  
de vez en cuando a 25° durante 50 minutos. Después se  
5 filtra sobre tierra de diatomáceas ("Supercel") y se dilu  
ye con 75 ml de éter seco. El precipitado resultante, 218  
mg, se distribuye entre 8 ml de ácido clorhídrico 0,2 N y  
40 ml de acetato de etilo. La capa acuosa se lava con éter,  
se neutraliza con bicarbonato sódico y se extrae con aceta  
to de etilo. Por eliminación del disolvente en el extracto  
10 de acetato de etilo y secado a fondo del residuo quedan 39  
mg de 6-D(-)- $\alpha$ -aminofenilacetamido)-penicilanato de fena  
cilo en forma de goma espumosa. Su espectro infrarrojo en  
CHCl<sub>3</sub> que presenta bandas muy definidas e intensas a 1785  
cm<sup>-1</sup> para la  $\beta$ -lactama, 1755 cm<sup>-1</sup> (carbonilo éster), 1705  
15 cm<sup>-1</sup> (fenilcetona), 1685 cm<sup>-1</sup> (amida) y 1505 cm<sup>-1</sup> (amida  
II) demuestra que se trata de una muestra muy pura del com  
puesto del título cuando se compara con el mismo producto  
preparado a partir del hidrocioruro de cloruro de D(-)-fe  
nilglicilo.

20

Procedimiento nº 4



6-(2-Fenilacetamido)-penicilanato de fenacilo.-

25

Una solución de 254 mg (0,500 milimoles) de 6-aminopenici  
lanato de fenacilo, sal del ácido p-toluensulfónico, en 10



JUL 1968

1 ml de acetona seca se enfría a  $-5^{\circ}$ . Se añaden, con intensa  
agitación, 77 mg (0,50 milimoles) de cloruro de fenilaceti  
lo seguido inmediatamente por 101 mg (1,00 milimoles) de  
trietilamina en 4 ml de acetona enfriada con hielo. Inme -  
5 diatamente se forma un precipitado. La solución se agita  
durante 30 minutos a  $-5^{\circ}$ . Se separa el disolvente a vacío  
a  $33^{\circ}$  y el residuo se disuelve en 50 ml de éter y 20 ml de  
agua. Se separa el agua y se desprecia y la fase orgánica  
se extrae sucesivamente con 10 ml de ácido sulfúrico 0,5 N,  
10 20 ml de agua, 20 ml de bicarbonato sódico al 1 % y tres  
porciones de 10 ml de agua. A continuación se separa el di-  
solvente a  $33^{\circ}$ , se seca por completo el residuo cristalino  
y se recristaliza en acetato de etilo y Skellysolve B ca -  
lientes. El rendimiento es de 106 mg (46,9 %) de 6-(2-fenil  
15 acetamido)-penicilinato de fenacilo en forma de varillas  
gruesas, p.f.  $130-134^{\circ}$ . Por recristalización en la misma  
mezcla de disolventes, el punto de fusión asciende a  $136-138^{\circ}$ .  
Los espectros infrarrojo y RMN resultan idénticos a  
los de una muestra auténtica del compuesto del título pre-  
20 parada por el procedimiento de McDuffie y Cooper, patente  
estadounidense n<sup>o</sup> 2.578.570.

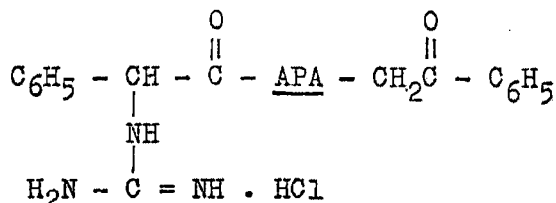
Análisis: Calculado para  $C_{24}H_{24}N_2O_5S$ : C, 63,70; H,  
5,35. Encontrado: C, 64,07; H, 5,42.

25



21

1 Procedimiento nº 5



5

Hidrocloreuro de 6-D(-)- $\alpha$ -guanidinofenilacetamidopenicilanato de fenacilo.- Una solución de 682 mg (2,04 milimoles) de 6-aminopenicilanato de fenacilo y 420 mg (2,04 milimoles) de N,N'-d ciclohexilcarbodi-imida en 12,0 ml de cloruro de metileno se añade sobre una solución de 469 mg (2,04 milimoles) de hidrocloreuro del ácido D(-)- $\alpha$ -guanidinofenilacético en 4,0 ml de N,N-dimetilformamida y la solución transparente resultante se agita a 25° durante 30 minutos. Al cabo de 2 minutos comienza a aparecer un precipitado de N,N'-d ciclohexilurea. Al final de la reacción se separan por filtración 262 mg (57,3 %) de este último sub-producto. El filtrado se diluye hasta 400 ml con éter seco y el producto cristalino se recoge por filtración y se seca, dando 978 mg (88,0 %), p.f. 134-140° (desc.). Se recristaliza dos veces disolviéndolo en acetona húmeda, diluyendo con acetato de etilo y separando la acetona y el agua en un evaporador rotatorio a 35°, recogiendo 740 mg de hidrocloreuro de 6-D(-)- $\alpha$ -guanidinofenilacetamido)-penicilanato de fenacilo, p.f. 145-149° (desc.). La purificación final se realiza sacudiendo el producto con una mezcla de 15 ml de ácido clorhídrico

10

15

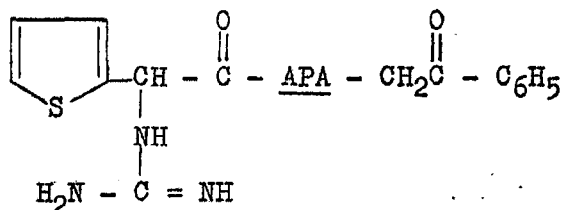
20

25



1 0,2 N, 30 ml de acetato de etilo y 30 ml de éter. Mediante  
este procedimiento se obtienen 589 mg (53,0 %) de hidroclo  
5 ruro de 6-D(-)- $\alpha$ -guanidinofenilacetamido)-penicilano de  
fenacilo en forma de cristales blancos, p.f. 146-147°  
(desc.). Su espectro infrarrojo (KBr) muestra una ancha  
banda de NH a 3300-3120  $\text{cm}^{-1}$ , de  $\beta$ -lactama a 1785  $\text{cm}^{-1}$ , de  
carbonilo éster a 1755  $\text{cm}^{-1}$ , de fenilcetona a 1695  $\text{cm}^{-1}$ , de  
amida e imina a 1665-1650  $\text{cm}^{-1}$  y de amida II a 1540-1515  
10  $\text{cm}^{-1}$ .

10 Procedimiento nº 6



15 Acido D(-)- $\alpha$ -(2-tienil)- $\alpha$ -guanidinoacético e hidro-  
cloruro.- Sobre una solución agitada de 200 g (aproximadamen-  
te 1,2 moles) de sulfato de O-metilpseudourea (Eastman Orga-  
nic Chemicals) en un litro de metanol se añaden 129,6 g (2,4  
20 moles) de metilato sódico a 5°C. La temperatura sube a 38° y  
después baja. Cuando la temperatura llega a 25° se retira el  
baño de hielo y la pasta clara se filtra a través de "Dicali-  
te" con succión. La torta del filtro se lava con tres porcio-  
nes de 100 ml de metanol y se combinan con el filtrado los  
25 líquidos de lavado. La solución en metanol se enfría y agita



21

1 en un baño de hielo mientras se añaden 62,9 g (0,4 moles)  
de D(-)- $\alpha$ -(2-tienil)-glicina. Una vez disueltos se fil -  
tra la mezcla por la acción de la gravedad, se siembra  
con el producto, ácido D(-)- $\alpha$ -(2-tienil)- $\alpha$ -guanidinoacé -  
5 tico, y se deja en reposo durante 96 horas a 5-10°C. El  
ácido D(-)- $\alpha$ -(2-tienil)- $\alpha$ -guanidinoacético cristalino  
se recoge por filtración, se lava con metanol y se seca al  
aire. El rendimiento es de 40 g (46 %) (desc. a 230°C).

10 Los 40 g de ácido D(-)- $\alpha$ -(2-tienil)- $\alpha$ -guanidino-  
acético se disuelven en 200 ml de agua y ácido clorhídrico  
concentrado (suficiente para producir la disolución). A  
continuación se separan el agua y el ácido clorhídrico a  
60°C y presión reducida. Después se añaden 2 litros de p-  
dioxano al aceite residual y frotando y rascando las pare-  
15 des se obtienen 42 g de hidrocloreuro del ácido D(-)- $\alpha$ -(2-  
tienil)- $\alpha$ -guanidinoacético cristalino, secado a vacío so-  
bre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> que descompone a 140°. Los espectros infrarrojo y  
RMN concuerdan con la estructura y no dan indicación de im-  
purezas del isómero L(-).

20 Hidrocloreuro de 6-[ $\alpha$ -guanidino- $\alpha$ -(2-tienil)-aceta-  
mido]-penicilinato de fenacilo. - Sobre 2,543 g (0,005 moles)  
de 6-aminopenicilinato de fenacilo, sal del ácido p-toluen-  
sulfónico, se añaden 200 ml de acetato de etilo y 100 ml de  
NaCO<sub>3</sub>H al 1 % y la mezcla se sacude hasta disolución comple-  
25 ta. La capa orgánica se lava con tres porciones de 50 ml de



JUL 1966

1 des y el mismo procedimiento anterior pero esta vez la sal  
del ácido p-toluensulfónico se suspende en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se añ  
den gota a gota 0,7 ml de trietilamina para liberar la ba  
se libre del éster in situ. Una vez completada la reacción  
5 y filtrada la diciclohexilurea, se separan los disolventes  
a alto vacío (0,10 mm de Hg) y  $20^\circ\text{C}$ , dejando un aceite que  
se tritura con 150 ml de éter seco. El éter se desprecia.  
La goma se trata entonces con 100 ml de acetato de etilo y  
50 ml de HCl 0,3 N. Sacudiendo la solución se forman dos  
10 fases y la capa orgánica se lava con tres porciones de 25  
ml de agua. La capa orgánica se filtra después a través de  
sulfato sódico y se evapora a presión reducida dando un  
aceite que todavía se seca más mediante dos destilaciones  
azeotrópicas más con acetato de etilo (100 ml). Por tritu  
15 ración en éter seco se obtiene un sólido (2,3 g) que se se  
ca a alto vacío sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Los análisis infrarrojo y RMN  
concuerdan con la estructura.

Procedimiento nº 7



25 Hidrocloruro de 6-[ $\alpha$ -guanidino- $\alpha$ -(2-tienil)-aceta-  
mido]-penicilanato de p-bromofenacilo.- Una mezcla de 11,70



1 g (0,020 moles) de 6-aminopenicilanoato de p-bromofenacilo,  
sal del ácido p-toluensulfónico, 200 ml de acetato de etilo  
y 300 ml de  $\text{NaHCO}_3$  al 5 % se sacude hasta que todo se  
5 ha disuelto. La capa orgánica se lava con una porción de  
200 ml de  $\text{NaHCO}_3$  al 5 %, tres porciones de 100 ml de agua  
y dos porciones de 100 ml de solución acuosa saturada de  
cloruro sódico. La capa de acetato de etilo se filtra des-  
pués a través de sulfato sódico y se evapora hasta dar un  
aceite a presión reducida. Se añaden 200 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se  
10 separan a presión reducida para eliminar el agua que pudie-  
ra quedar. Sobre este aceite se añaden 100 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se-  
guidos de 4,12 g (0,020 moles) de N,N'-diciclohexilcarbodi-  
imida y finalmente 4,71 g (0,020 moles) de hidrocloreuro de  
ácido D(-)- $\alpha$ -guanidino- $\alpha$ -(2-tienil)-acético en 50 ml de  
15 DMF, con agitación. Al cabo de unos minutos precipita N,N'-  
diciclohexilurea cristalina y al cabo de 30 minutos se se-  
para por filtración. El filtrado se diluye con 800 ml de  
éter seco y se enfría en un baño de hielo. La goma que pre-  
cipita se separa y se tritura con éter seco y acetato de  
20 etilo dando un semi-sólido que se disuelve en 300 ml de  
acetona, 300 ml de agua y 300 ml de acetato de etilo. Sobre  
esta solución se añaden 500 ml más de acetato de etilo y la  
mezcla se sacude. La capa inferior se separa y se coloca en  
un evaporador relámpago y a presión reducida y  $20^\circ\text{C}$  la ace-  
25 tona y el acetato de etilo residual se separan haciendo que



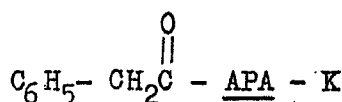
1 cristalice el hidrocloreto de 6-[ $\alpha$ -guanidino- $\alpha$ -(2-tienil)-  
acetamido]-penicilinato de p-bromofenacilo. Los cristales  
se recogen por filtración, se lavan con agua y se secan al  
aire. El rendimiento es de 3,2 g. Este producto se suspende  
5 en 100 ml de acetona durante 30 minutos, se filtra, se lava  
con acetona y se seca a vacío sobre  $P_2O_5$  durante 12 horas,  
dando 2,65 g (desc. a  $155^\circ C$ ). Los espectros infrarrojo y  
RMN demuestran que el producto es muy puro.

Análisis: Calculado para  $C_{23}H_{25}ClBrN_5O_5S_2$ : C, 43,74;  
10 H, 3,99; N, 11,10. Encontrado: C, 42,79; H, 4,51; N, 10,45.  
Corregido para el 6,00 % de agua: C, 45,1; H, 4,27; N, 11,07.

Ruptura de los ésteres activados de penicilinas

Los siguientes procedimientos servirán para ilustrar  
la conversión de los ésteres activados de las penicilinas en  
15 penicilinas.

Procedimiento nº 8



20 6-Fenilacetamidopenicilinato potásico.- Una solución  
de 2,27 g de 6-fenilacetamidopenicilinato de fenacilo y 1,00  
ml de anilina en 125 ml de tetrahidrofurano (THF) seco se  
agita con una corriente de nitrógeno y se fotoliza con una  
lámpara de arco de mercurio Hanovia de 100 watios, tipo SOL,  
durante 2 horas, a una temperatura exterior de  $7^\circ$ . El disol-  
25 vente se separa en un evaporador rotatorio a  $33^\circ$  y el residuo

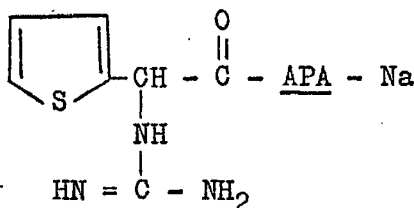
21



1 se disuelve en 150 ml de éter. La solución se extrae con  
tres porciones de 25 ml de bicarbonato sódico al 3 % y  
el éter disuelto se evapora a vacío. La solución básica  
se filtra sobre "Supercel", se acidula con ácido clorhí-  
5 drico 3 N y la espesa turbidez resultante se extrae con  
dos porciones de 100 ml de éter. La solución etérea se la  
va a fondo con agua helada, se seca sobre sulfato sódico  
y precipita el 6-fenilacetamidopenicilano potásico me-  
diante la adición de dos equivalentes de 2-etilhexanoato  
10 potásico en forma de solución al 50 % en n-butanol. El pro-  
ducto cristalino crudo, 1,88 g (100 %), presenta una acti-  
vidad de penicilina G de 960 unidades por miligramo, co-  
rrespondiente al 60,0 % de penicilina G pura. Se recrista-  
liza disolviéndolo en n-butanol húmedo y eliminando el  
15 agua formando un azeótropo a vacío a 35 °. El producto pu-  
rificado, 1,08 g (58,2 %), resulta contener 1500 unidades  
por miligramo, es decir el 94 % de sal potásica pura de pe-  
nicilina G. Su espectro infrarrojo es idéntico al del pro-  
ducto auténtico.

20

Procedimiento nº 9



25

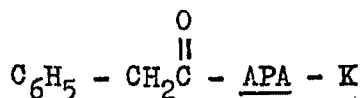
6-[α-(2-Tienil)-α-guanidinoacetamido]-penicilana-



1966

1 Se obtiene el mismo producto empleando en el procedimiento descrito arriba el éster de p-bromofenacilo descrito en el Procedimiento nº 7.

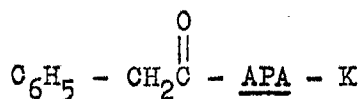
5 Procedimiento nº 10



10 6-Fenilacetamidopenicilinato sódico.- Una solución que contiene 452 mg (1,00 milimoles) de 6-fenilacetamidopenicilinato de fenacilo y 264 mg (2,00 milimoles) de tioxido sódico en 1,81 ml de dimetilformamida se deja en reposo a 25° durante 15 minutos. Por dilución con 180 ml de acetona seca precipitan 274 mg de penicilina G sódica cristalina, p.f. 225-227° (desc.). Su espectro infrarrojo en KBr es idéntico al de una muestra auténtica.

15 (Referencia: J.C. Sheehan y G.D. Daves, Jr., J. Org. Chem. 29, 2006 (1964)).

Procedimiento nº 11



20 6-Fenilacetamidopenicilinato potásico.- Una solución que contiene 2,27 g (4,29 milimoles) de 6-fenilacetamidopenicilinato de desilo y 1,07 g (11,5 milimoles) de anilina en 125 ml de dioxano se coloca entre las paredes de un pozo de inmersión de cuarzo fundido provisto de un tubo sumergido a través del cual se hace pasar una lenta

25



21 JUL

1 corriente de nitrógeno para efectuar la agitación. En el po  
zo central se coloca una lámpara de arco de mercurio Hano -  
via, tipo SOL, de 100 waticos, y el aparato se sumerge en un  
baño de agua a 8°, con circulación. La solución se fotoliza  
5 durante 2 horas. Se separa el disolvente a 35°, se disuelve  
el residuo en 200 ml de éter y se extrae con tres porciones  
de 25 ml de bicarbonato sódico al 9 %. Se separa el éter di  
suelto de las aguas de lavado bicarbonatadas reunidas que  
después se filtran sobre "Supercel" para eliminar unas tra-  
10 zas de goma que se producen. Por acidulación del filtrado  
con ácido sulfúrico 6 N se produce una intensa turbidez que  
se extrae rápidamente con 100 ml de éter. La solución eté -  
rea se lava con 50 ml de agua y dos porciones de 30 ml de  
solución saturada de cloruro sódico, se seca sobre sulfato  
15 sódico y se filtra. Por adición de 5,0 ml de 2-etilhexanoa-  
to potásico al 50 % (peso/volumen) en éter se produce la in  
mediata precipitación de penicilina G potásica cristalina.  
El rendimiento es de 0,98 g (61 %) de 6-fenilacetamidopeni-  
cilanato potásico cuyo espectro infrarrojo (KBr) demuestra  
20 que es idéntico a la sal potásica de penicilina G auténti -  
ca. Un bioensayo del producto indica que tiene una activi -  
dad de 1400 unidades por miligramo, lo que indica que la  
muestra tiene una pureza del 88 %.

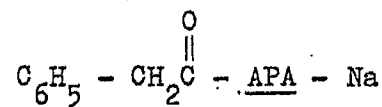
25



JUL. 1966

1

Procedimiento nº 12



5

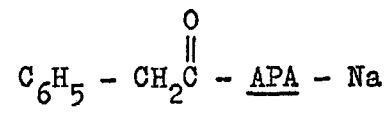
10

15

6-Fenilacetamidopenicilanoato sódico.- Una solución que contiene 452 mg (1 milimol) de 6-fenilacetamidopenicilanoato de fenacilo y 264 mg (2 milimoles) de tiofenóxido sódico en 2 ml de dimetilformamida (DMF) seca se deja en reposo a la temperatura ambiente (22°) durante 15 minutos. Sobre la solución agitada se añaden 40 ml de acetona seca. Al cabo de 10 minutos se separa un sólido cristalino que se recoge por filtración, se lava con éter seco y se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. El rendimiento en 6-fenilacetamidopenicilanoato sódico es de 310 mg, 79 %. La identidad del producto se establece por comparación de su espectro infrarrojo con el del producto auténtico y también por co-cromatografía en capa delgada con bencilpenicilina auténtica sobre gel de sílice, utilizando un sistema de disolventes de acetona - benceno - ácido acético (12:12:1).

20

Procedimiento nº 13



25

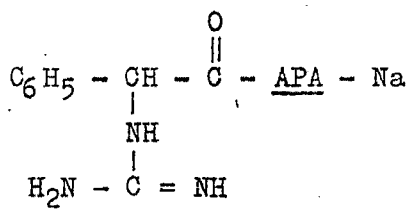
6-Fenilacetamidopenicilanoato sódico.- Una solución que contiene 296 mg (0,6 milimoles) de 6-fenilacetamidopenicilanoato de ftalimidometilo y 79 mg (0,6 milimoles) de tiofenóxido sódico en 1,1 ml de DMF seca se deja en reposo a

21 JUL 1958  
DIEZ CTS

1 la temperatura ambiente (22°) durante 4 horas. Sobre la so  
lución agitada se añaden 40 ml de acetona seca. La solución  
agitada y fría (5°) deposita 6-fenilacetamidopenicilanato  
sódico en forma de sólido cristalino. Este se recoge por  
5 filtración, se lava con éter y se seca a vacío sobre pentó  
xido de fósforo. El rendimiento en sal sódica de bencilpe-  
nicilina es de 61 mg, 24 %. Las comparaciones descritas an-  
teriormente demuestran que el producto es idéntico a la  
bencilpenicilina auténtica.

10

Procedimiento nº 14



15

6-[D(-)-α-guanidinofenilacetamido]-penicilanato

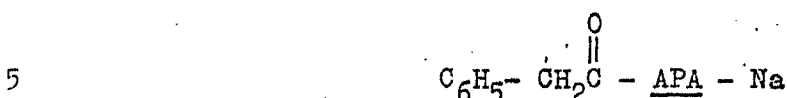
sódico.- Sobre una solución de 261 mg (0,48 milimoles) de  
hidrocloruro de 6-[D(-)-α-guanidinofenilacetamido]-penici-  
lanato de fenacilo y 48 mg (0,48 milimoles) de trietilami-  
na en 1,5 ml de DMF seca se añaden 126 mg (0,96 milimoles)  
20 de tiofenóxido sódico. Después de 15 minutos a la tempera-  
tura ambiente (22°), la mezcla se trata con 30 ml de aceta-  
to de etilo para dar el 6-[D(-)-α-guanidinofenilacetami-  
do]-penicilanato sódico en forma de sólido de color crema.  
Este sólido se recoge por filtración, se lava con éter y  
25 se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Los espectros infrarrojo y



1968

1 RMN demuestran que se ha roto el éster fenacílico y que el  
producto está contaminado con IMF. P.f. 192-194° (desc.).

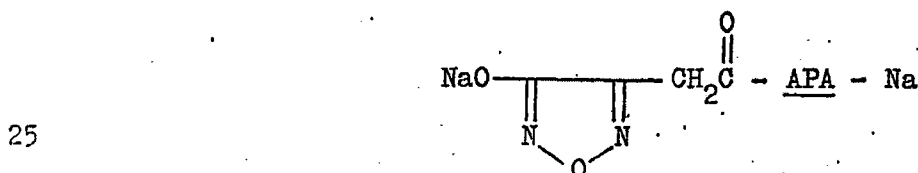
Procedimiento nº 15



6-Fenilacetamidopenicilinato sódico. - Una solución  
que contiene 348 mg (0,89 milimoles) de 6-fenilacetamidope  
nicilinato de acetoniilo y 275 mg de tiofenóxido sódico en  
1,5 ml de DMF se deja en reposo a 22° durante 15 minutos.  
10 Se añaden 40 ml de acetona y la solución se agita a 5° du  
rante 15 minutos. Se recoge por filtración un sólido cris  
talino, se lava con acetona y se seca a vacío. El rendimien  
to en 6-fenilacetamidopenicilinato sódico es de 266 mg, 83  
%. El espectro RMN del producto es idéntico al de la ben  
15 cilpenicilina potásica auténtica. La cromatografía en capa  
delgada sobre gel de sílice en un sistema de disolventes de  
acetona - benceno - ácido acético (12:12:1) muestra una so  
la zona que corresponde exactamente con la dada por la ben  
cilpenicilina potásica auténtica.

20 Con un periodo de reacción de 50 minutos se obtiene  
un rendimiento del 81 %.

Procedimiento nº 16





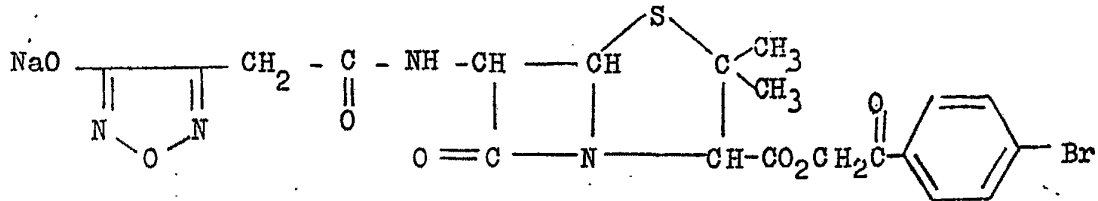
1                    6-(3-Hidroxi-4-furazanacetamido)-penicilanato disódico y éster p-bromofenacílico.- Sobre una solución agitada de 5,85 g (0,01 moles) de 6-aminopenicilanato de p-bromofenacilo, sal del ácido p-toluensulfónico, en 25 ml de dimetilformamida (DMF) se añaden 1,4 ml (0,01 moles) de trietilamina (TEA) seguidos de 1,44 g (0,01 moles) de ácido 3-hidroxi-4-furazanacético y finalmente 2,06 g (0,01 moles) de N,N'-d ciclohexilcarbodi-imida en 50 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La solución agitada comienza inmediatamente a precipitar N,N'-d ciclohexilurea y al cabo de 15 minutos se separa la urea por filtración y el filtrado se diluye hasta 300 ml con acetato de etilo. Esta solución se lava con tres porciones de 200 ml de agua y dos porciones de 100 ml de solución saturada de NaCl. La solución en acetato de etilo se seca durante 45 minutos sobre sulfato sódico anhidro y se filtra. La solución se evapora a presión reducida hasta dar un aceite. Se añaden 200 ml de acetato de etilo y la solución se filtra y destila de nuevo. La goma resultante se redisuelve en 100 ml de acetato de etilo y se añaden con agitación 6,9 ml de NaEH al 60 % (aproximadamente 0,02 moles) (2-etilhexanoato sódico en n-butanol). Por eliminación de los disolventes a presión reducida y trituración con éter seco se obtienen 5 g de un sólido cuyo espectro infrarrojo indica que posee la estructura deseada:

25



JUL. 1968

1



5

10

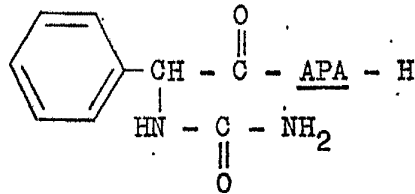
Los 5 g se disuelven en 50 ml de DMF y se añaden con agitación 1,32 g de tiofenóxido sódico. Al cabo de 10 minutos se vierte la mezcla sobre 300 ml de acetato de etilo con intensa agitación. El precipitado resultante se recoge por filtración, se lava con acetato de etilo (5 x 50 ml) y se seca al aire. El producto sólido se suspende entonces durante 30 minutos en 200 ml de isopropanol, se filtra, se lava con isopropanol y Skellysolve B (éter de petróleo, p.e. 60-68°C). El rendimiento en 6-(3-hidroxi-4-furazanacetamido)-penicilinato disódico es de 3,8 g cuando se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

15

Análisis: Calculado para C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S.2Na: C, 37,40; H, 3,14; N, 14,51. Encontrado: C, 38,65; H, 3,46; N, 12,94. Karl Fisher H<sub>2</sub>O = 6,60 %.

Procedimiento nº 17

20



25

Acido D(-)-α-ureidofenilacético.- Este compuesto ha sido descrito por Dakin y Dudley [J. Biol. Chem. 18, 49

21 JUL



1 (1914)]. Se emplea el siguiente procedimiento que es algo  
distinto al descrito por estos autores.

Una suspensión de 50 g (0,33 moles) de ácido D(-)-  
α-aminofenilacético en 900 ml de agua se calienta a 90° y  
5 se añade con agitación, a lo largo de un periodo de unos  
20 minutos, una solución de 32,4 g (0,400 moles) de ciana  
to potásico en 100 ml de agua. La solución transparente re  
sultante se enfría a unos 25° y se agita durante 4 horas.  
Después de acidular hasta pH 4 con ácido clorhídrico 6 N,  
10 se recoge por filtración el producto precipitado. Por re-  
cristalización en 1,5 litros de agua se obtienen 43,6 g  
de ácido D(-)-α-ureidofenilacético, p.f. 193-195° (desc.),  
[α]<sub>D</sub> -136,7° (c = 1 en hidróxido amónico 1 N).

6-Aminopenicilanato de p-bromofenacilo.- Una solu-  
15 ción de 6,5 g de 6-aminopenicilanato de p-bromofenacilo,  
sal del ácido p-toluensulfónico, en una mezcla de agua y  
acetato de etilo se alcaliniza con solución acuosa satura  
da de bicarbonato sódico. Se separa la fase de acetato de  
etilo, se lava dos veces con agua, se seca con sulfato só-  
20 dico anhidro y se separa el disolvente a presión reducida  
dando 6-aminopenicilanato de p-bromofenacilo en forma de  
un aceite de color amarillo.

6-[D(-)-α-ureidofenilacetamido]-penicilanato de  
p-bromofenacilo.- El 6-aminopenicilanato de p-bromofenaci-  
25 lo obtenido arriba se disuelve en 65 ml de tetrahidrofura-

21 JUL



1 no. Se añaden 4,23 g (0,0100 moles) de meto-p-toluensulfo  
nato de 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4)-etil)-carbodi-  
imida y después, con agitación, 45 ml de dimetilformamida  
5 para dar una solución. La solución se enfría en un baño  
de hielo y se añaden, con intensa agitación, 1,94 g  
(0,010 moles) de ácido D(-)- $\alpha$ -ureidofenilacético, resul-  
tando una solución transparente. Se retira el baño de hie-  
lo y la mezcla de reacción se agita durante dos horas. Se  
filtra la mezcla de reacción para separar el sólido cris-  
10 talino que se forma. El filtrado se destila sobre un eva-  
porador rotatorio relámpago hasta que la mayor parte del  
tetrahidrofurano se ha eliminado. Sobre el residuo se añ-  
de cloruro de metileno y la solución resultante se extrae  
tres veces con agua, una vez con solución acuosa de bicar-  
15 bonato sódico y después dos veces más con agua. La fase  
de cloruro de metileno seca (sobre sulfato sódico anhidro)  
se evapora parcialmente en un evaporador rotatorio relám-  
pago transformando el producto residual en un gel espeso.  
Este residuo se tritura con éter anhidro dando, después  
20 de filtración y secado a vacío, 4,1 g de 6-[D(-)- $\alpha$ -ureido-  
fenilacetamido]-penicilinato de p-bromofenacilo.

Acido 6-[D(-)- $\alpha$ -ureidofenilacetamido]-peniciláni-  
co.- Una solución de 1,87 g (0,0143 moles) de tiofenóxido  
sódico en 25 ml de dimetilformamida se añade de una sola  
25 vez sobre una solución de 4,1 g (0,0071 moles) de 6-[D(-)-



1966

1.  $\alpha$ -ureido]-penicilinato de p-bromofenacilo en 25 ml de dimetilformamida con breve enfriamiento. La mezcla de reacción se deja en reposo a la temperatura ambiente durante 20 minutos, se diluye con 250 ml de agua con enfriamiento y se extrae dos veces con metilisobutilcetona y una vez con acetato de etilo. La fase acuosa se cubre con acetato de etilo y se hace fuertemente ácida con ácido fosfórico al 42 %. Se lleva a cabo una segunda extracción con acetato de etilo. Los extractos en acetato de etilo combinados que contienen la forma ácida de la penicilina se secan sobre sulfato sódico anhidro y se tratan con 2,4 ml (0,007 moles) de 2-etilhexanoato sódico en 1-butanol haciendo que se separe un aceite. La mezcla resultante se destila después sobre el evaporador rotatorio relámpago para separar el agua en forma de azeótropo con acetato de etilo, añadiendo acetato de etilo limpio a medida que se necesite para mantener el volumen constante. El acetato de etilo se separa por decantación de la masa parcialmente solidificada, se tritura el residuo con acetona y el sólido resultante se recoge por filtración. Se obtienen 2,6 g de 6-[D(-)- $\alpha$ -ureidofenilacetamido]-penicilinato sódico.

La sal sódica se disuelve en 60 ml de agua, se filtra la solución y se acidula con ácido fosfórico al 42 % dando ácido 6-[D(-)- $\alpha$ -ureidofenilacetamido]-peni-



1 cilánico; peso 1,30 g, p.f. 174-179° (desc.). Los espec-  
tros infrarrojo y RMN concuerdan con la estructura.

Análisis: Calculado para  $C_{17}H_{20}N_4O_5S$ : C, 52,03;  
H, 5,14; N, 14,28. Encontrado: C, 51,62; H, 5,13, 5,18;  
5 N, 13,97.

Este producto in vitro presenta unas Concentra-  
ciones Mínimas de Inhibición de 0,25 mcg/ml frente al  
Staphylococcus aureus Smith y de 25-100 mcg/ml frente al  
S. aureus BX-1633-2 resistente a la bencilpenicilina y  
10 de 1,6-3,1 mcg/ml frente al Shigella sonnei y de unos  
0,8 mcg/ml frente al Salmonella enteritidis y de unos  
3,1 mcg/ml frente al S. typhosa y en ratones frente al  
S. aureus Smith presentan un  $CD_{50}$  de unos 1,1 mg/kg por  
administración intramuscular.

15 Aunque en la memoria precedente se han expuesto  
con detalles específicos y se han elaborado varias rea-  
lizaciones de esta invención con fines ilustrativos, se-  
rá evidente para los expertos en la técnica que esta in-  
vención es susceptible de otras realizaciones y que mu-  
20 chos de los detalles pueden variarse ampliamente sin  
apartarse del concepto básico y del espíritu y alcance  
de la invención.

25



15 JUN



1 ción 1 caracterizado porque dicho éster activado de una pe-  
nicilina biosintética es el correspondiente éster activado  
de penicilina V o penicilina G.

5 3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindica-  
ción 1 ó 2 caracterizado porque dicha amidasa es una ami-  
dasa de E. coli o Arthrobacter VISCOSUS.

4. Se reivindica por último, como objeto sobre el  
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita :  
"UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE ESTERES".

10 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la  
presente Memoria descriptiva que consta de setenta y nueve  
páginas mecanografiadas.

Madrid, 21 de julio de 1.966

BERNARDO UNGRIA

P.P.

15

20

25