



362.413

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

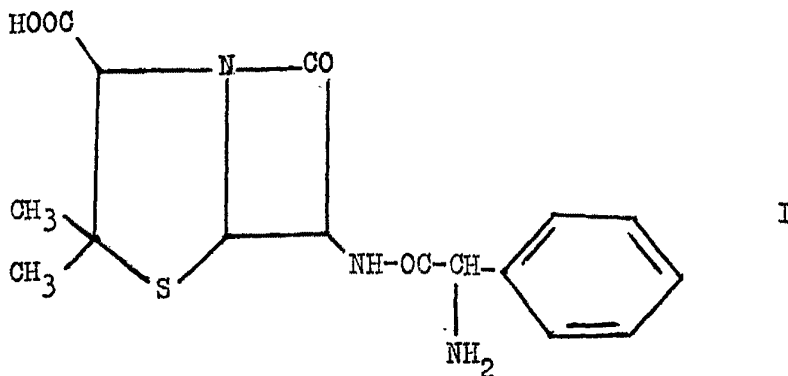
por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA SINTESIS DE DERIVADOS DE ACIDO 6-[D(-)-ALFA-AMINOFENILACETAMIDO]-PENICILANICO", e favor de la firma italiana ISTITUTO BIOCHIMICO ITALIANO S.a.s., residente en Via Brembo 65 MILAN (Italia).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a un procedimiento químico para la síntesis de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico (I)

5.

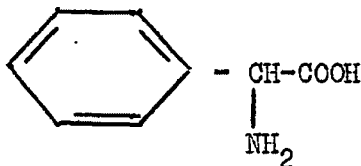




- que tiene extenso empleo terapéutico por estar dotado de amplio espectro antibacteriano, gran estabilidad frente a los ácidos y buena estabilidad frente a la penicilinasa (K.E. Price, A. Gourevitch, L.C. Cheney, Antimicrob. Agents Chemother. 1966, 670; F.P. Doyle y J.H.C. Nayler en Advances in Drug Research, Academic Press 1964, vol. 1, página 1).
- 5.

- Para obtener un producto que manifieste gran actividad antibiótica, es importante que el átomo de carbono adyacente al anillo aromático tenga la configuración D, pues si este átomo de carbono es racémico, o si tiene la configuración L, los productos resultantes están dotados de actividad antibiótica secundaria (K.E. Price, A. Gourevitch y L.C. Cheney, Antimicrob. Agents Chemother. 1966, 670).
- 10.

- Por consiguiente, es indispensable utilizar como material de partida un derivado conveniente, que tenga la forma D, de la 2-fenilglicina(II) y utilizar un procedimiento de síntesis que asegure la retención completa de la configuración del carbono asimétrico de D-(-)-2-fenilglicina (II)
- 15.
- 20.

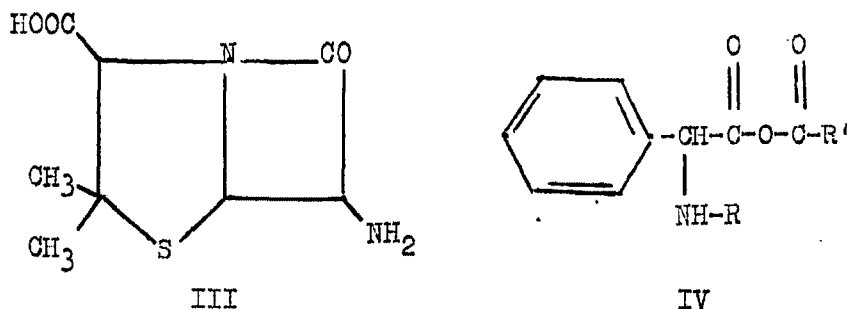


II

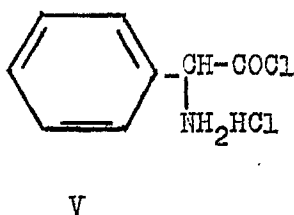


Los métodos que se conocen por la literatura para la síntesis de (I) utilizan un procedimiento de condensación entre el ácido 6-aminopenicilánico (III) y un anhídrido mixto de D(-)-2-fenilglicina (IV) o la D(-)-2-fenilglicina (V):

5.

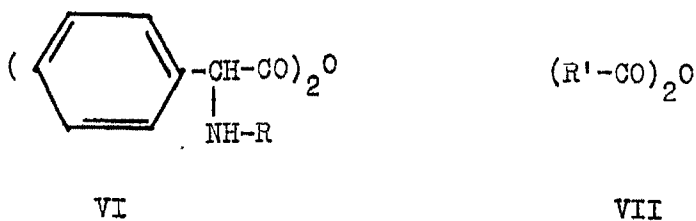


10.



15.

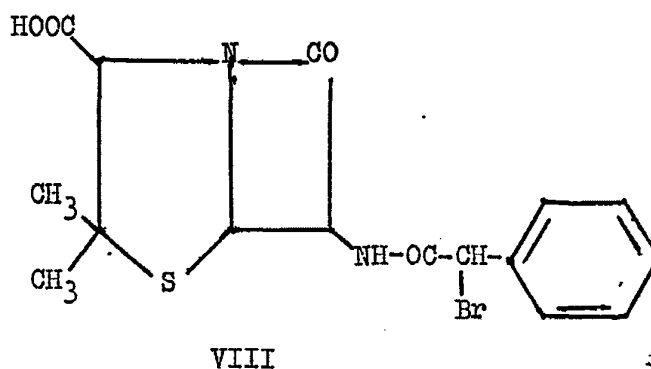
Sin embargo, en el primer caso dicho anhídrido mixto puede desproporcionarse con facilidad en la mezcla de los dos anhídridos (VI) y (VII) y por lo tanto puede producir dos productos diferentes de condensación con el ácido 6-amino-penicilánico (III); en el caso que nos ocupa, en la preparación del cloruro (V) puede producirse una racemización considerable:



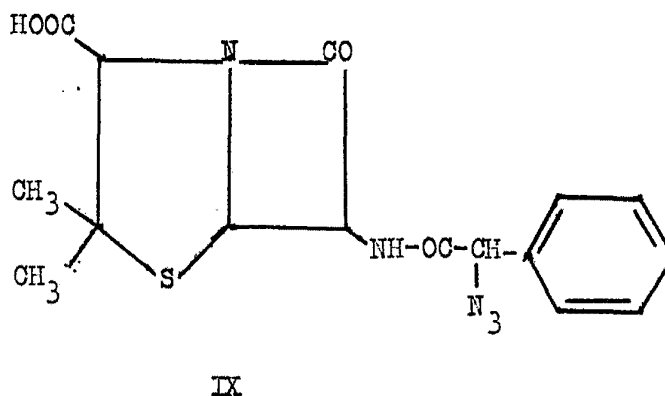


Por último, otros métodos, que utilizan como intermediarios el ácido 6-(alfa-bromofenilacetamido)-penicilánico (VIII) o el ácido 6-(alfa-acidofenilacetamido)-penicilánico (IX), proporcionan unicamente el producto racémico sobre el átomo de carbono adyacente al anillo aromático:

5.



10.



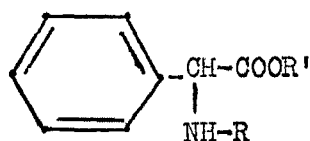
15.

Se ha descubierto que es posible obtener ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico (I) de gran pureza óptica si se parte de ácido 6-aminopenicilánico (III) y un derivado de D(-)-2-fenilglicina que esté activado en el



grupo carboxílico, obtenido a partir de N-hidroxiftalimida, N-hidroxipiperidina o N-hidroxisuccinimida. En otras palabras, como agentes de condensación se utilizan derivados de D(-)-2-fenilglicina que tienen la estructura siguiente (X):

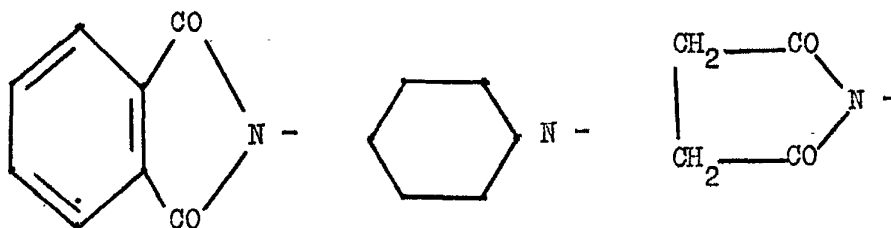
5.



10.

donde R es cualquiera de los grupos protectores del grupo amínico utilizados en la síntesis de los péptidos (por ejemplo,  $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}=\text{CH}-\text{COCH}_3$ ,  $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}=\text{CH}-\text{COOCH}_3$  [véase E. Dane y col., *Angew. chem. Internal. Ed.* 1, 658 (1962)],  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}$  [véase M. Bergmann y L. Zervas, *Ber.* 65, 1192 (1932)], y R' puede ser

15.



20.

La condensación entre (III) y (X) se produce en condiciones de temperatura del orden de 0°C a 50°C, y preferentemente a 20°C, en cualquiera de los disolventes orgá-



- nicos comunes, como el 1,2-dimetoxietano, el cloruro de metileno, el cloroformo, el dioxano, el tetrahidrofurano o una mezcla respectiva. De preferencia se utilizan cantidades equimolares de (III) y (X). La sorprendente naturaleza de este
5. invento se debe a que normalmente, como saben los que trabajan en el campo de la síntesis de los péptidos, un aminoácido activado del tipo mencionado antes puede condensarse sobre un aminoéster mientras que se ha descubierto aquí que la condensación se desarrolla sobre el ácido 6-amino-penicilánico (III) libre o en forma de sal.
- 10.

- Otra novedad consiste en la característica especial del ácido 6-aminopenicilánico (III), que se polimeriza con bastante facilidad y, todavía más fácilmente, puede causar una ruptura del enlace de beta-lactama. Por consiguiente,
15. era imprevisible que pudiera desarrollarse una condensación como la descrita en esta solicitud sobre el ácido 6-aminopenicilánico (III) libre o que pudiera producirse sin causar una cantidad considerable de productos secundarios de polimerización, descomposición, hidrólisis, etc., de (III).

20. Por el contrario, en las condiciones utilizadas en este invento se obtienen rendimientos satisfactorios y productos suficientemente puros.

#### EJEMPLO 1

A 13,2 g de D(-)-2-fenilglicina en 88 cc de NaOH



acuoso normal se añaden a 0°C y con agitación 14,8 g de cloroformiato de bencilo, mientras se mantiene el pH a 8,5 por medio de la adición gradual de NaOH acuoso normal.

5. Después de 30 minutos de agitación a 0°C y por una hora a 20°C se extrae la mezcla con 100 cc de éter etílico y se acidifica la fase acuosa a pH 3 con ácido clorhídrico concentrado. Se enfria hasta 0°C en el curso de 3 horas, se separa por filtración el sólido segregado y se le seca en vacío a 40°C.
10. Se aislan 20,5 g de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético, de punto de fusión 132-133° y  $[\alpha]_D^{23} = -121^{\circ}$  (c = 4% en etanol).
15. A 5,9 g (20 milimoles) de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético en 200 cc de dioxano se añaden, a 0°C, 2,3 g (20 milimoles) de N-hidroxisuccinimida (preparada según G. W. Anderson y col., J. Am.Chem.Soc. 86 1839, 1964) y 4,12 g (20 milimoles) de dicitclohexilcarbodiimida. Al cabo de 24 horas de agitación a 0°C, se separa por filtración la dicitclohexilurea y se evapora el filtrado en vacío y a 40°C, hasta sequedad.
20. Se obtienen 7 g de éster N-hidroxisuccinimídico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético, que se utiliza tal cual, o sea en estado bruto, para la condensación siguiente.



5. 3,63 g (10 milimoles) de éster N-hidroxisuccinimídico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético en 100 cc de 1,2-dimetoxietano se tratan a 20°C con 2,16 g de ácido 6-amino-penicilánico (10 milimoles) en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles) de trietilamina.

Se agita la mezcla a 20°C por 3 horas, se le enfria hasta 0°C y se la extrae con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3%, a pH 7.

10. Se acidifica la solución acuosa a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, y se la extrae con 200 cc de éter etílico a 0°C.

15. Se vuelve a extraer la solución etérea con NaHCO<sub>4</sub> acuoso al 3%, a pH 7, y se hidrogena la fase acuosa a la temperatura ambiente, con presión normal y en presencia de 2 g de Pd/CaCO<sub>3</sub> hasta la absorción de la cantidad teórica de hidrógeno.

Después de separar el catalizador por filtración, se liofiliza la solución acuosa.

Se obtiene la sal sódica del ácido 6-]D(-)-alfa-aminofenilacetamido[-penicilánico;

20. Ensayo microbiológico (Sarcina lutea ATCC 9341 = 99% de una muestra patrón  
Ensayo yodimétrico = 100% " "  
Humedad = 1,03%  
Ensayo con HClO<sub>4</sub> en ácido acético = 99% de una muestra patrón.



EJEMPLO 2

En vez de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 1, se la acidifica a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, se la lava con 200 cc de éter etílico y se la trata con NaOH acuoso normal, a 0°C, hasta pH 4,5.

Después de reposo por una noche a 0°C, se aparta por filtración el sólido sedimentado y se le lava con agua a temperatura de hielo.

Después de secar, se obtiene trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que tiene las características siguientes:

	Humedad (pérdida de peso después de 3 horas en vacío a 60°C)	= 13,78%
	Ensayo microbiológico (Sarcina lutea ATCC 9341)	= 99,5% de una muestra patrón
	Ensayo yodimétrico	= 100% " "
15.	Ensayo con metilato de litio en dimetilformamida	= 100% " "
	$[\alpha]_D^{20} = + 263^{\circ}$ (c = 0,5 en agua).	

EJEMPLO 3

A 5,9 g (20 milimoles) de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético como el obtenido en el Ejemplo 1, en 200 cc de dioxano, se añaden a 0°C 3,26 g de



- N-hidroxiftalimida (preparada según R.H. Mazur y G. Plume; véase L.F. Fieser y M. Fieser, "Reagent for Organic Synthesis", John Wiley, 1967, pág. 485) y 4,12 g (20 milimoles) de díciclohexilcarbodiimida. Después de agitar a 0°C por 24
5. horas, se separa de díciclohexilurea por filtración y se evapora el filtrado en vacío y a 40°C hasta sequedad.
- Se obtienen 7,5 g de éster N-hidroxiftalimídico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético, que se utiliza tal cual, o sea en estado bruto, para la condensación siguiente.
- 10.
- 4,3 g (10 milimoles) de éster N-hidroxiftalimídico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético en 100 cc de 1,2-dimetoxietano se tratan a 20°C con 2,16 g (10 milimoles) de ácido 6-aminopenicilánico en 100 cc de
15. cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles) de trietilamina. Se agita la mezcla a 20°C por 5 horas, se la enfría hasta 0°C y se la extrae con NaHCO acuoso al 3% a pH 7.
- Se acidifica la solución acuosa a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, y se la extrae con 200
20. cc de éter etílico, a 0°C.
- Se vuelve a extraer la solución etérea con NaHCO acuoso al 3%, a pH 7, y se hidrogena la fase acuosa a la temperatura ambiente, con presión normal y en presencia de 2 g de Pd/CaCO<sub>3</sub> hasta la absorción de la cantidad teórica de



hidrógeno.

Después de separar el catalizador por filtración se liofiliza la solución acuosa.

- Se obtiene la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico.
5. Ensayo microbiológico (Sarcina lutea ATCC 9341) = 102% de una muestra patrón
- Ensayo yodimétrico = 101% " "
- Humedad (K.F.) = 0,78%
10. Ensayo con ácido perclórico en ácido acético = 99,8% de una muestra patrón.

#### EJEMPLO 4

- En vez de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 3, se la acidifica a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, se la lava con 200 cc de éter etílico y se la trata con NaOH acuoso normal a 0°C, hasta pH 4,5.
- 15.

Después de una noche de reposo a 0°C, se separa por filtración la materia sólida sedimentada y se la lava con agua a temperatura de hielo.

20. Después de secar, se obtiene trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que tiene



las características siguientes:

	Humedad (pérdida de peso en vacío a 60°C)	= 14,3%
	Ensayo microbiológico (Sarcina lutea ATCC 9341)	= 103% de una muestra patrón
5.	Ensayo yodimétrico	= 102% " "
	Ensayo con metilato de litio en dimetilformamida	= 101,5% " "
	$[\alpha]_D^{20} = + 262^{\circ}$ (c = 0,25% en H <sub>2</sub> O).	

EJEMPLO 5

10. A 5,9 g (20 milimoles) de ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonilamino-alfa-fenilacético como el obtenido en el Ejemplo 1, en 200 cc de dioxano, se añaden a 0°C 2,02 g de N-hidroxipiperidina (preparada según B.O. Handford y col., J. Chem.Soc. 1965, 6814) y 4,12 g (20 milimoles) de dicitclohexilcarbodiimida.
- 15.

Después de 24 horas de agitación a 0°C, se separa por filtración la dicitclohexilurea y se evapora el filtrado en vacío y a 40°C, hasta sequedad.

20. Se obtienen 6 g de éster N-hidroxipiperidínico de ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonilamino-alfa-fenilacético, que se utiliza tal cual, o sea en bruto, para la condensación siguiente.

3,68 g de éster N-hidroxipiperidínico de ácido



5. D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético en 100 cc de 1,2-dimetoxietano se tratan a 20°C con 2,16 g de ácido 6-aminopenicilánico (10 milimoles) en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g de trietilamina, en las condiciones que se han indicado en el Ejemplo 1.

10. Después de extraer con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3%, extraer con éter etílico hasta pH 2 y reextraer con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3%, de la manera indicada en el Ejemplo 1, la solución acuosa suministra, por hidrogenación catalítica y liofilización, la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que tiene las características siguientes:

Ensayo microbiológico (Sarcina lutea ATCC 9341)	=	100%	de una muestra patrón
Ensayo yodimétrico	=	98,8%	" "
Ensayo con HClO <sub>4</sub> en ácido acético	=	97,6%	" "
15. Humedad (K.F.)	=	1,32%	

#### EJEMPLO 6

20. En vez de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 5, se la acidifica a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, se la lava con 200 cc de éter etílico y se la trata con NaOH acuoso normal, a 0°C y a pH 4,5.

Después de una noche de reposo a 0°C, se separa por filtración la materia sólida sedimentada y se la lava con agua a temperatura de hielo.



Después de secar, se obtiene trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que tienen las características siguientes:

- |     |  |                                      |
|-----|--|--------------------------------------|
|     | Humedad (pérdida de peso en vacío a 60°C)                  | = 13,83%                             |
| 5.  | Ensayo microbiológico ( <i>Sarcina lutea</i><br>ATCC 9341) | = 98,3% de una muestra<br>tra patrón |
|     | Ensayo yodimétrico   | = 101% " "                           |
|     | Ensayo con metilato de litio en<br>dimetilformamida        | = 97,6% " "                          |
| 10. | $[\alpha]_D^{20} = + 265^{\circ}$ (c = 0,25 en agua).      |                                      |

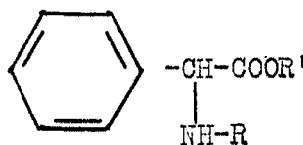


N O T A

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente italiana núm. 24360 A/68 del,29 de noviembre de 1968.

5. 1. Un procedimiento para la síntesis de derivados de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, esencialmente trihidrato, caracterizado por condensarse ácido 6-aminopenicilánico con un derivado de D(-)-2-fenilglicina de la fórmula

10.



donde R es cualquiera de los grupos protectores comunes del grupo amínico que se usan en la síntesis de las sustancias péptidas (por ejemplo, R =  $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} -$  = CH - COCH<sub>3</sub>

15.

$\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} = \text{CH} - \text{COOCH}_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2 - \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} -$ ) y R' representa cualquiera de los grupos de succinimida, ftalimida o piperidina, a temperatura del orden de 0° a 50°C.

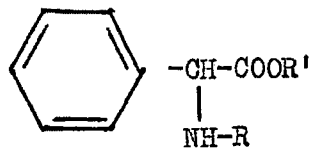
20.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1 para la síntesis de la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-amino-



fenilacetamido]-penicilánico, caracterizado por condensarse ácido 6-aminopenicilánico con un derivado de D(-)-2-fenilglicina de la fórmula

5.



donde R es cualquiera de los grupos protectores comunes del grupo amínico que se usan en la síntesis de las sustancias pépticas (por ejemplo, R = CH<sub>3</sub> - C(=O) - CH<sub>2</sub> - COCH<sub>3</sub>,

10.

CH<sub>3</sub> - C(=O) - CH<sub>2</sub> - COOCH<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> - O - C(=O) - ) y R' representa cualquiera de los grupos de succinimida, ftalimida o piperidina, a temperatura del orden de 0°C, a 50°C, y aislarse en estado de sal sódica el producto obtenido.

15.

3. Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el derivado de D(-)-2-fenilglicina es el éster N-hidroxisuccinimídico del ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonilamino-alfa-fenilacético.

20.

4. Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el derivado de D(-)-2-fenilglicina es el éster N-hidroxi-ftalimidico del ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonilamino-alfa-fenilacético.



# 362413

5. Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado en que el derivado de D(-)-2-fenilglicina es el éster N-hidroxipiperidínico del ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético.
5. 6. Un procedimiento como se define en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por efectuarse la condensación, de preferencia, a temperatura de unos 20°C.
10. 7. Un procedimiento para la síntesis de derivados de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva, que consta de 17 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola cara

Madrid, a

11 ENE 1969

p.a.

D. P.

Firmado: JOSE RODRIGUEZ

mg