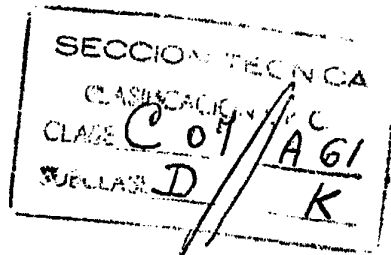


CAS RE/7052



362.514



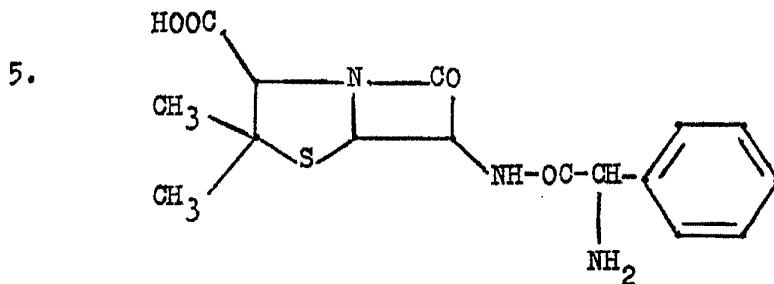
P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE DERIVADOS DE ACIDO 6-[D(-)-ALFA-AMINOFENILACETAMIDO]-PENICILANICO", a 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 producción de ácido 6-[D(-)alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico (I)

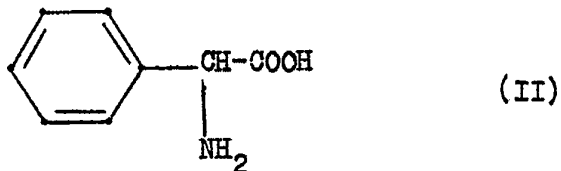


10.

El ácido 6-[D(-)alfa-aminofenilacetamido]-penicilá-

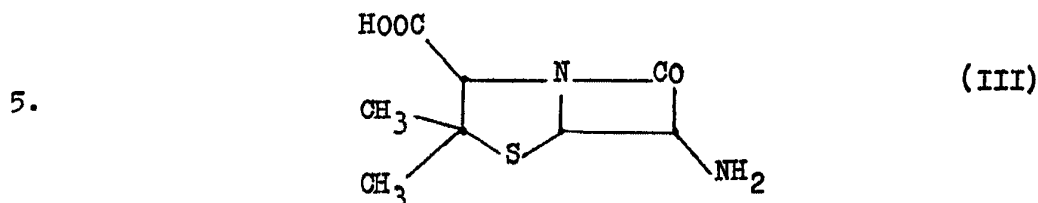


5. nico (I) es una penicilina semisintética, dotada de amplio espectro antibacteriano, que tiene gran estabilidad frente a los ácidos, es fácil de absorber por administración oral, propende poco a alearse con las proteínas del suero y es relativamente estable frente a la penicilinasa (K.E. Price, A. Gourevitch, L.C. Cheney- Antimicrob. Agents Chemother, 1966, 670; F.P. Doyle y J.H.C. Mayler en Advances in Drug Research, Academic Press, 1964, vol. 1, páginas 1),
10. A causa de estas propiedades, el producto ha encontrado amplia aplicación terapéutica y se recomienda especialmente para las infecciones gastrointestinales, respiratorias y urinarias.
15. La forma D, o sea el ácido 6-[D(-)alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, es más activa, como antibiotico, que la forma L, o sea el ácido 6-[L(+)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, y por consiguiente lo es también en comparación con la forma racémica (K.E. Price, A. Gourevitch, L.C. Cheney, Antimicrob. Agents Chemother. 1966,670).
20. Por lo tanto, es indispensable, para obtener anti-biótico (I) de gran actividad antibacteriana que, durante la síntesis del ácido 6-[D(-)alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico no se produzca racemización, ni siquiera parcial, del derivado de D(-)-2-fenilglicina (II)
- 25.



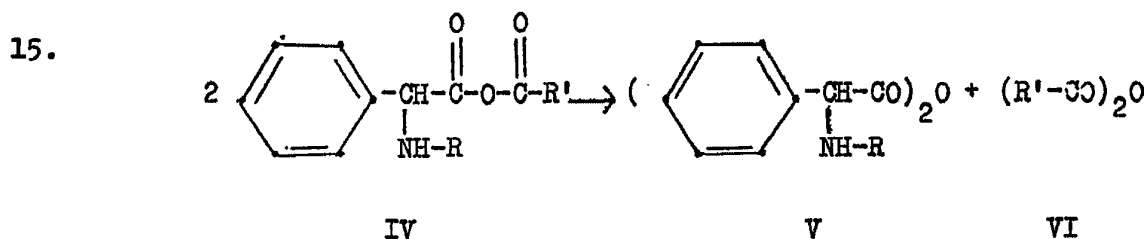


que se usa para obtener la condensación con el ácido 6-aminopenicilánico (III)



Entre los métodos que se conocen en la literatura para la síntesis del antibiótico (I), algunos utilizan un procedimiento de condensación entre el ácido 6-aminopenicilánico (III) y un anhídrido mixto de D(-)-2-fenilglicina (IV) (por ejemplo, el que se obtiene con el uso del cloroforniato de etilo),

Sin embargo, en tales condensación el anhídrido mixto puede causar un desproporcionamiento, verbigracia:



20. y en consecuencia rendimientos bajos de (I), o una mezcla de productos que derivan de la reacción de ácido 6-aminopenicilánico (III) con los dos anhídridos (V) y (VI).

Otros métodos utilizan, como agente de condensación, el cloruro del clorhidrato de D(-)-2-fenilglicina (VII)



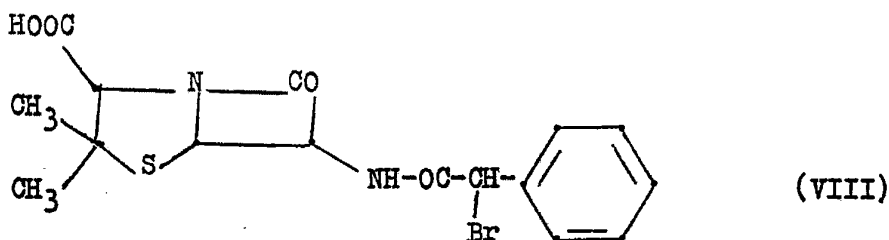


Sin embargo al preparar dicho cloruro (VII) puede producirse considerable racemización del producto.

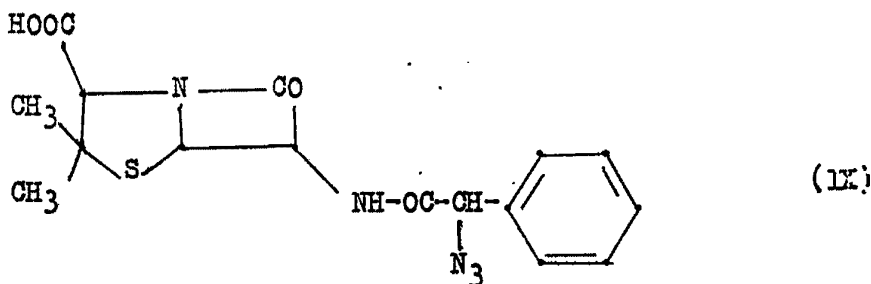
Por último, otros métodos utilizan el ácido 6-(alfa-bromofenilacetamido)-penicilánico (VIII) o el ácido 6-(alfa-acidofenilacetamido)-penicilánico (II)

5.

10.



15.

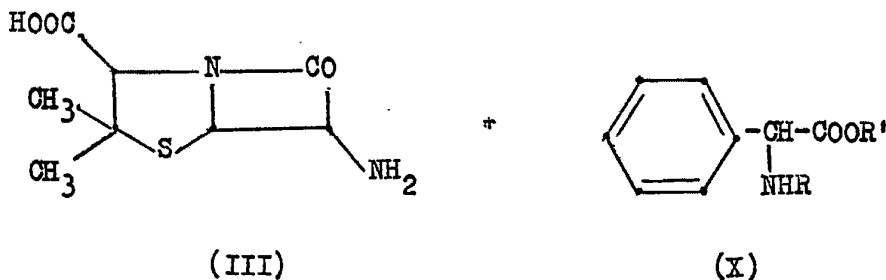


Sin embargo, de tales productos solo se obtiene la forma racémica (sobre el átomo de carbono adyacente al anillo aromático) del ácido 6-(alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico.

20.

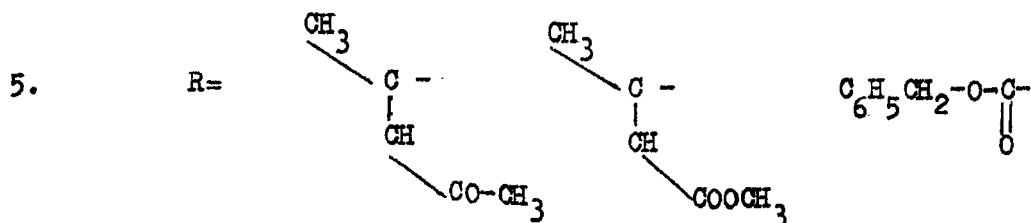
Ahora se ha descubierto que es posible obtener ácido 6-[D(-)alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico (I) de pureza óptica partiendo de ácido 6-aminopenicilánico (III) y un éster activo de D(-)-2-fenilglicina (X):

25.

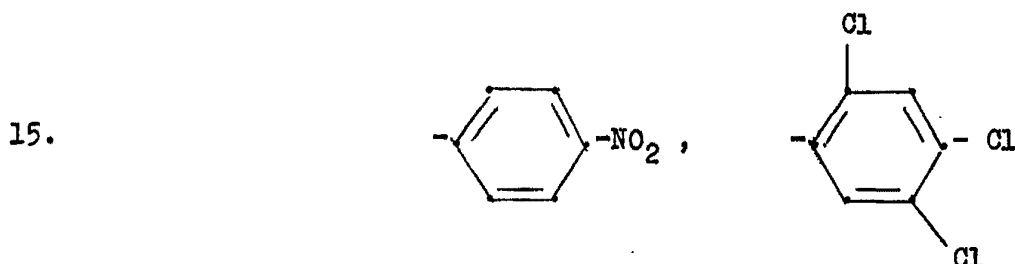




donde R es cualquiera de los grupos protectores del grupo amino conocido por la literatura para la síntesis de compuestos péptidos; por ejemplo



o sea, derivados obtenidos condensando D(-)-2-fenilglicina y acetilacetona, acetoacetato de etilo (E. Dana y col., *Angew. Chem. Internat. Ed.* 1, 658, 1962) o cloruro de carbobenzoilo (M. Bergmann y L. Zervas, *Ber.* 65, 1192, 1932), mientras que R' puede ser  $-\text{CH}_2\text{-CN}$ ,



20. Los grupos protectores del grupo amino se separan con facilidad por uno de los métodos conocidos por la literatura, o sea la hidrólisis ácida o la hidrogenación catalítica.

25. La condensación entre (III) y (X) se produce en condiciones suaves, a temperatura del orden de 0° a 40°C, y preferentemente a 20°C, en uno de los disolventes orgánicos comunes (acetato de etilo, cloruro de metileno, tetrahidrofurano o una mezcla respectiva), de preferencia utilizando cantidades equimolares de (III), empleado en forma de sal tri-



etilamónica en cloruro de metileno, y de (X), a temperatura de 20°C y por 2 a 20 horas. Aunque no es esencial, puede ser preferible utilizar un amortiguador para mantener el índice de pH entre 6 y 8.

5. La sorprendente naturaleza de este invento se debe al hecho de que normalmente, como es bien sabido por los que actúan en el campo de la síntesis de los compuestos péptidos, para una reacción sobre un éster de aminoácido puede usarse como agente condensante un éster activo, del tipo mencionado antes, de un aminoácido (véase, por ejemplo, L.F. Fierer y M. Fierer; Reagents for Organic Synthesis, John Wiley 1967, pág. 743, 485, 486); mientras aquí se ha comprobado que la condensación se produce sobre el ácido 6-aminopenicilánico (III) libre o sobre sus sales.
- 10.
15. Otra novedad es la especial característica del ácido 6-aminopenicilánico (III), que se polimeriza con facilidad y que, con mayor facilidad todavía, causa rupturas de la ligadura de beta-lactama. Por consiguiente, no era pronosticable a priori que una condensación como la descrita en esta solicitud pudiera desarrollarse sobre el ácido 6-aminopenicilánico (III) o que pudiera producirse sin causar considerables cantidades de productos de polimerización secundaria, de descomposición, de hidrólisis, etc.
- 20.
25. En cambio, con las condiciones de reacción indicadas en este invento, se obtienen buenos rendimientos y un producto suficientemente puro.



EJEMPLO 1

5. A 35°C, se trataron con 50,5 g (0,334 moles) de D(-)-2-fenilglicina, hasta disolución, 22,5 g de KOH al 85% (0,34 moles) disueltos en 300 cc de metanol. La solución límpida se calentó luego a 60°C y se trató con 47,7 g (0,36 moles) de acetoacetato de etilo disueltos en 190 cc de metanol.
- Se sometió la mezcla a reflujo y agitación por 10 minutos y luego se la concentró en vacío y a 45°C, hasta sequedad.
10. Se añadieron a la masa sólida 600 cc de alcohol isopropílico, se filtró, se lavó con alcohol isopropílico y se secó en vacío a 50°C.
15. Se obtuvieron 88 g de sal potásica de N[2-(1-carboxietil-1-propenil)]-D(-)-2-fenilglicina, de punto de fusión 220-221°C. 6 g (20 milimoles) de la sal potásica de N[2-(1-carboxietil)-1-propenil]]-D(-)-2-fenilglicina en 100 cc de acetato de etilo se sometieron a reflujo por 3 horas con 2,27 g (30 milimoles) de cloroacetónitrilo, en presencia de 3 g de trietilamina. Se enfrió la mezcla, se la lavó rápidamente
20. con solución de ácido clorhídrico al 2%, a la temperatura del hielo, luego rápidamente con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 2%, a temperatura del hielo, y por último rápidamente con agua a la temperatura del hielo.
25. Después de evaporar en vacío y a 30°C, hasta sequedad, se obtuvieron 4 g de éster cianometílico de N-[2-(1-carboxietil-1-propenil)]-D(-)-fenilglicina, que se utilizó en estado bruto para la reacción sucesiva.



3,02 g (10 milimoles) del éster cianometílico de D[2-(1-carboxietil-1-propenil)]-D(-)-2-fenilglicina en 100 cc de acetato de etilo se trataron a 20°C con una solución obtenida a 0°C a partir de 2,16 g (10 milimoles) de ácido 6-aminopenicilánico en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles) de trietilamina.

5. Se agitó la mezcla por 8 horas a 20°C, se la enfrió hasta 0°C y a esta temperatura se le añadió ácido clorhídrico normal hasta alcanzar un pH de 2, en un período de 90 minutos. Luego se separó la fase acuosa y se la trató, a 0°C y en un período de 90 minutos, con NaOH normal hasta pH 4,5. Se separó trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que se filtró, se lavó con agua y se secó:

15. en vacío a 60°) = 13,5%  
índice de pH (solución al 1% en agua) = 4,2  
prueba microbiológica (Sarcina lutea ATCC 9341) = 102% de una muestra patrón

20. prueba iodimétrica = 98% de una muestra patrón  
prueba con metilato de litio en dimetilformamida = 99% de una muestra patrón  
bandas infrarrojas en 1780, 1690, 1610, 1590 y 1500 cm<sup>-1</sup>  
[alfa]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 260° (c = 0,25% en agua).

### EJEMPLO 2

25. Se disolvieron en 200 cc de solución metanólica normal de KOH, a 50°C, 32,6 g (216 milimoles) de D(-)-2-fenil-



glicina y se trató la solución a 60°C con 30 g (300 milimoles) de acetilacetona disueltos en 50 cc de metanol.

Después de mantener la mezcla en reflujo por 60 minutos, se la enfrió y se la concentró en vacío hasta 100 cc.

5. Después de enfriar hasta 0°C, se separó por filtración la sal potásica de N-(1-metil-2-acetilvinil)-D(-)-2-fenilglicina (50 g), de punto de fusión 222-224°C.

10. 5,42 g (20 milimoles) de la sal potásica de N-(1-metil-2-acetilvinil)-D(-)-2-fenilglicina en 100 cc de acetato de etilo se sometieron a reflujo por 3 horas con 2,27 g (30 milimoles) de cloroetonitrilo, en presencia de 3 g de trietilamina.

15. Después de elaborada como en el Ejemplo 1, la mezcla dio 3,82 g de éster cianometílico bruto, que se utilizó de inmediato para la condensación siguiente.

20. 2,72 g (10 milimoles) del éster cianometílico obtenido antes se trataron en acetato de etilo con 2,16 g (10 milimoles) de ácido 6-amino-penicilánico en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g de trietilamina, en las condiciones que se han indicado en el Ejemplo 1.

Se obtuvo trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, idéntico en sus características fisicoquímicas a la muestra para obtenida en el Ejemplo 1.

### EJEMPLO 3

25. Se añadieron a 33 g de D(-)-2-fenilglicina en 219 cc de NaOH normal, a 0°C, 37 g de cloroformiato de bencilo, con



agitación y manteniendo el índice de pH a 8-9 por adición de NaOH acuoso normal.

Al final se agitó por 30 minutos a 0°C y por una hora a 20°C y luego se extrajo la mezcla con 200 cc de éter etílico.

5.

La fase acuosa separada de acidificó a 0°C con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar el pH 3.

Después de una noche a 0°C, se separó el sólido por filtración, se le lavó con agua y se le secó en vacío, lo que dio 48 g de ácido D(-)-alfa-benciloxi-carbonilamino-alfa-fenilacético, de punto de fusión 130-132°C,  $[\alpha]_D^{23} = -121^{\circ}$  (c = 4% en etanol).

10.

5,9 g (20 milimoles) del ácido D(-)-alfa-benciloxi-carbonilamino-alfa-fenilacético en 200 cc de acetato de etilo se trataron con 2,27 g (30 milimoles) de cloroacetonitrilo y 3 g de trietilamina. Se sometió la mezcla a reflujo por 8 horas y, después de enfriarla hasta 0°C, se la lavó rápidamente a 0°C con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 2% y con agua.

15.

Después de la evaporación del disolvente a 30°C y en vacío, se obtuvo el éster cianometílico, que se utilizó en estado bruto para la condensación siguiente.

20.

3,24 g (10 milimoles) del éster cianometílico obtenido antes, en 100 cc de acetato de etilo, se trataron a 20°C con una solución obtenida a 0°C a base de 2,16 g (10 milimoles) de ácido 6-aminopenicilánico en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles) de trietilamina.

25.

Después de agitar por 8 horas a 20°C, se enfrió la



mezcla hasta 0°C y se la extrajo con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3% hasta un índice de pH de 7.

La solución acuosa, acidificada hasta pH 2 con ácido clorhídrico concentrado, a 0°C, se extrajo con 200 cc de éter etílico.

5.

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

10.

Después de separar el catalizador por filtración, se liofilizó la solución acuosa, lo que dio la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico.

Prueba microbiológica (*Sarcina lutea*

15.

ATCC 9341)	= 97% de una muestra patrón
Prueba iodimétrica	= 96% de una muestra patrón
Humedad (K.F.)	= 1,1%
Prueba con HClO <sub>4</sub> en ácido acético	= 99% de una muestra patrón:

20.

#### EJEMPLO 4

En lugar de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 3, se la acidificó a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta llegar el pH 2, y después de lavarla con éter etílico (200 cc), se la ajustó a pH 4,5 con hidróxido sódico normal, a 0°C.

25.

Después de una noche a 0°C, se separó por filtración



trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico. Después de secado a 40°C y en vacío, este compuesto resultó idéntico en sus características fisicoquímicas a la muestra obtenida en el Ejemplo 1.

5. EJEMPLO 5

Se trataron 5,9 g (20 milimoles) del ácido D(-)-alfa-benciloxi-carbonilamino-alfa-fenilacético obtenido en el Ejemplo 3, en 200 cc de ácido acético, con 5 cc de piridina y luego con 10,92 g (30 milimoles) de carbonato de di-(p-nitrofenilo).

10.

Se mantuvo la mezcla a 100° por 5 horas y luego se la evaporó a 30°C y en vacío. Se disolvió el residuo con 200 cc de acetato de etilo y se lavó la solución con ácido clorhídrico 2-n, a 0°C, luego con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso saturado, a 0°C, y por último con agua hasta neutralidad.

15.

Evaporando el disolvente en vacío y a 30°C, hasta sequedad, se obtuvieron 5 g de éster p-nitrofenílico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonil-alfa-fenilacético, que se utilizó en estado bruto para la condensación siguiente.

20.

4,06 g (10 milimoles) del éster p-nitrofenílico de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonil-alfa-fenilacético, en 200 cc de acetato de etilo, se trataron a 20°C con una solución obtenida a 0°C a base de 2,16 g (10 milimoles) de ácido 6-aminopenicilánico en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles) de trietilamina.

25.

Después de agitar a 20°C por 20 horas, se extrajo la mezcla a 0°C con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3%, hasta alcanzar al pH 7.



La fase acuosa, acidificada a 0°C con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar el pH 2, se extrajo con 200 cc de éter etílico.

5. Se volvió a extraer la solución etérea con NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 3%, hasta pH 7, se añadieron a la fase acuosa 1,5 g de Pd/CaCO<sub>3</sub> y se la hidrogenó a la temperatura ambiente y a presión ordinaria hasta la absorción de la cantidad teórica de hidrógeno.

10. Después de separar el catalizador por filtración, se liofilizó la solución acuosa, lo que dio la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que resultó idéntica en sus características fisicoquímicas a la muestra obtenida en el Ejemplo 3.

#### EJEMPLO 6

15. En lugar de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 5, se la acidificó a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH 2, y después de lavarla con 200 cc de éter etílico se la trató con NaOH normal a 0°C, hasta alcanzar el pH 4,5.

20. Después de una noche a 0°C, se separó el sólido por filtración y se le secó en vacío a 40°C, lo que dio trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que resultó idéntico en sus características fisicoquímicas a la muestra obtenida en el Ejemplo 1.

#### 25. EJEMPLO 7

Se trataron con 4 g de 2,4,5-triclorofenol, 2 -10°C, y con 4,12 g (20 milimoles) de dicitclohexilcarbodiimida 5,9 g



(20 milimoles) de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-  
-alfa-fenilacético en 200 cc de acetato de etilo.

Después de agitar por 3 horas a 0°C, se separó por  
filtración dicitclohexilurea y se evaporó el filtrado hasta  
5. sequedad, en vacío y a 30°C.

Se obtuvo éster 2,4,5-triclorofenílico de ácido D(-)-  
-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacético(bruto), que  
se utilizó tal cual estaba para la condensación siguiente.

10. 4,63 g (10 milimoles) del éster 2,4,5-triclorofenili-  
co de ácido D(-)-alfa-benciloxicarbonilamino-alfa-fenilacéti-  
co, en 200 cc de acetato de etilo, se trataron a 20°C con una  
solución, obtenida a 0°C, de 2,10 g de ácido 6-aminopenicilá-  
nico en 100 cc de cloruro de metileno y 2,02 g (20 milimoles)  
de trietilamina.

15. Después de agitar la mezcla por 20 horas a 20°C, se  
la extrajo a 0°C con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso al 3%, hasta alcanzar  
el pH 7.

20. Se acidificó la fase acuosa, a 0°C, con ácido clorhí-  
drico concentrado, hasta pH 2, y se la extrajo con 200 cc de  
éter etílico. Se volvió a extraer la solución etérea con  
 $\text{NaHCO}_3$  acuoso al 3%, hasta alcanzar el pH 7, y se hidrogenó  
la fase acuosa, a la temperatura ambiente y con presión nor-  
mal, con 2 g de  $\text{Pd}(\text{CaCO}_3)$  hasta la absorción de la cantidad  
teórica de hidrógeno.

25. Después de separar el catalizador por filtración, se  
liofilizó la solución acuosa, lo que dio la sal sódica del  
ácido 6[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que re-



sultó idéntico en sus características fisicoquímicas a la muestra obtenida en el Ejemplo 3.

EJEMPLO 8

5. En lugar de liofilizar la solución acuosa obtenida en el Ejemplo 7, se la acidificó a 0°C con ácido clorhídrico concentrado, hasta alcanzar pH 2, se la lavó con 200 cc de éter etílico y se la ajustó a pH 4,5, a 0°C, con NaOH normal.

10. Después de una noche de reposo a 0°C, se separó por filtración trihidrato de ácido 6-[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, que resultó idéntico en sus características fisicoquímicas a la muestra obtenida en el Ejemplo 1.

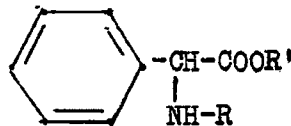
= . =



N O T A

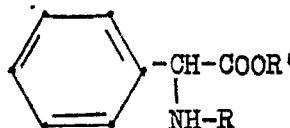
Se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente italiana nº 24361/68 del 29 de noviembre de 1968.

5. 1.-Un procedimiento para la producción de derivados de ácido 6[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico, caracterizado por condensarse ácido 6-amino-penicilánico con un éster activo de la fórmula



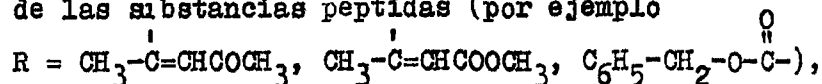
10. en la que R es cualquiera de los cuerpos protectores comunes del grupo amínico que se usan en la síntesis de las sustancias péptidas (por ejemplo, R =  $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}=\text{CH}-\text{COCH}_3$ ,  $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}=\text{CH}-\text{COOCH}_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$ ), mientras que R' representa el grupo cianometílico, el grupo p-nitrofenílico o el grupo 2,4,5-triclorofenílico
15. a temperaturas del orden de 0° a 40°C.

20. 2.-Un procedimiento para la producción de la sal sódica del ácido 6-[D(-)-alfa-aminifenilacetamido]-penicilánico, caracterizado por condensarse ácido 6-aminopenicilánico con un éster activo de la fórmula





en la que R es cualquiera de los grupos protectores comunes del grupo amínico que se usan en la síntesis de las sustancias péptidas (por ejemplo



5. mientras que R' representa un grupo cianometílico, un grupo p-nitrofenílico o un grupo 2,4,5-tricloro-  
fenílico,

a temperaturas del orden de 0° a 40°C, y aislarse el producto de la reacción en estado de sal sódica.

10. 3.-Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el éster activo es el éster cianometílico de la N-[2-(1-carboxietil-1-propenil)]-D(-)-2-fenilglicina.

15. 4.-Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el éster activo es el éster cianometílico de la N-(1-metil-2-acetilvinil)-D(-)-2-fenilglicina.

20. 5.-Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el éster activo es el éster cianometílico del ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonil-amino-alfa-fenilacético.

25. 6.-Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el éster activo es el éster p-nitrofenílico del ácido D(-)-alfa-benciloxycarbonil-alfa-fenilacético.

- 7.-Un procedimiento como se define en las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que el éster activo es el



éster 2,4,5-triclorofenílico del ácido D(-)-alfa-benciloxi-carbonilamino-alfa-fenilacético.

5. 8.- Un procedimiento como se define en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que la temperatura de trabajo es, preferentemente, de 20°C.

9.- Un procedimiento como se define en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por emplearse el ácido 6-aminopenicilánico en estado de sal trietilamónica.

10. 10.-Un procedimiento para la producción de derivados de ácido 6[D(-)-alfa-aminofenilacetamido]-penicilánico.

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

15. Barcelona, para Madrid, a 7 de enero de 1969  
p.a.

  
Firmado: JOSE RODRIGUEZ