

406644



406644

Int. Cl.: C07D, A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un

PATENTE DE INVENCIÓN

SOLICITANTE: BRISTOL-MYERS COMPANY

RESIDENCIA: 345 Park Avenue, NEW YORK, N.Y. 10022
U.S.A.

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN
DE ANTIBIOTICOS".

Prioridad: Patente estadounidense n.º 180.070 del 13-9-71

406644

- 2 -



1 Esta invención se refiere a un nuevo compuesto anti-
bacteriano y a un procedimiento para la preparación del mis-
mo. Más especialmente, la invención se dirige a la prepara-
ción de los ésteres metoximetílicos de ampicilina y hetacili-
5 na, que por sí mismos son valiosas drogas antibióticas. Ade-
más, esta invención considera el uso de este éster de heta-
cilina como intermediario en la síntesis de otros antibió-
ticos conocidos.

10 El compuesto antibiótico de esta invención es un deri-
vado de la hetacilina.

15 La hetacilina es un derivado de la penicilina conocido
en forma ácida como ácido 6-(2,2-dimetil-5-oxo-4-fenil-1-
imidazolidinil)penicilánico. Este compuesto, es decir la he-
tacilina, y muchos compuestos estrechamente relacionados y
su preparación están descritos en la patente estadounidense
nº 3.198.804. Los ésteres de las bencilpenicilinas están des-
critos en la patente inglesa nº 1.003.479 y en la patente
estadounidense nº 2.650.218 y los ésteres aciloximetílicos
de ampicilina han sido discutidos por W.V. Daehne y colabo-
20 radores, en J. Med. Chem., 13, (4), 607-612, (1970). Esta
publicación también se refiere a publicaciones anteriores
sobre la hidrólisis de ésteres. El éster pivaloiloximetíli-
co de ampicilina está descrito también en la patente suda-
fricana nº 68/5952. También se describen varios ésteres de
penicilina en la patente estadounidense nº 3.528.965.

25 Los compuestos de esta invención se caracterizan por
la siguiente estructura:

30

406644



1 tos agentes acilantes son el ácido libre y los correspon-
dientes haluros de ácido carboxílico, v.g. los cloruros y
bromuros; los anhídridos de ácido, incluidos los anhídri-
dos mixtos y especialmente los anhídridos mixtos prepara-
5 dos a partir de ácidos más fuertes como los monoésteres
alifáticos inferiores de ácido carbónico, de ácido alquil-
y aril-sulfónico y de ácidos con mayor impedimento estéri-
co, como el ácido difenilacético. Además, puede utilizarse
una azida de ácido o un éster o tioéster activo (v.g. con
10 p-nitrofenol, 2,4-dinitrofenol, tiofenol, ácido tioacético)
o el propio ácido libre puede ser copulado con el ácido
6-aminopenicilánico después de haber hecho reaccionar prime-
ro dicho ácido libre con cloruro de N,N-dimetilcloroformi-
minio [véase la patente inglesa nº 1.008.170 y Novak y
15 Weichet, *Experientia* XXI/6, 360 (1965)] o mediante el uso
de enzimas o de un N,N'-carbonil-di-imidazol o un N,N'-car-
bonilditriazol (véase la memoria de la patente sudafricana
63/2684), de un reactivo de carbo-di-imida (especialmente
N,N-diciclohexil-carbo-di-imida, N,N'-di-isopropil-carbo-
20 di-imida o N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)carbo-di-imida;
[véase Sheehan y Hess, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 1067,
(1955)], o de un reactivo de alquililamina [véase R. Buijle
y H.G. Viehe, *Angew. Chem. International Edition*, 3, 582
(1964)], o de un reactivo de cetenimina [véase C.L. Stevens
25 y M.E. Monk, *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 4065 (1958)] o de
una sal de isoxazolio reactivo [véase R.B. Woodward, R.A.
Olofson y H. Mayer, *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 1010 (1961)].
Otro equivalente del cloruro de ácido es la correspondiente
azolida, es decir, una amida del ácido correspondiente cu-
30 yo nitrógeno amídico es un miembro de un anillo de cinco

406644

- 5 -



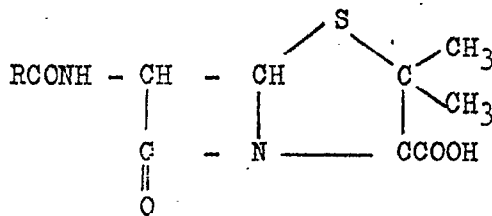
1 miembros cuasi-aromático que contiene por lo menos dos átomos de nitrógeno, es decir imidazol, pirazol, los triazoles, bencimidazol, benzotriazol y sus derivados sustituidos. Como ejemplo del método general para la preparación de una
5 azolida, se hace reaccionar N,N'-carbonil-di-imidazol con un ácido carboxílico en proporciones equimoleculares, a la temperatura ambiente, en tetrahidrofurano, cloroformo, dimetilformamida o un disolvente inerte similar, para formar la imidazolida de ácido carboxílico con un rendimiento prácticamente cuantitativo y liberación de dióxido de carbono
10 y un mol de imidazol. Los ácidos dicarboxílicos forman diimidazolidas. El subproducto, imidazol, precipita y puede ser separado y la imidazolida aislada, pero esto no es esencial. Los métodos para llevar a cabo estas reacciones y producir una penicilina y los métodos utilizados para aislar la penicilina así producida son muy conocidos en la técnica (véanse las patentes estadounidenses números
15 3.079.314, 3.117.126 y 3.129.224 y las patentes inglesas números 932.644, 957.570 y 959.054).

20 En los casos en que el agente acilante contenga un grupo amino libre, puede ser deseable protegerlo con un agente bloqueante adecuado. Estos grupos protectores son los de fórmula general ROCC-, donde R es un grupo alilo, bencilo, bencilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido o
25 tritilo. Sin embargo, habitualmente se prefiere utilizar hidrocioruro de cloruro de fenilglicilo como agente acilante.

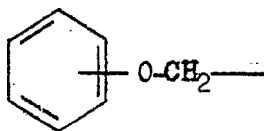
30 El éster de penicilina resultante, v.g. el éster metoximetílico de ampicilina, puede reaccionar con acetona para formar el éster de hetacilina de acuerdo con el procedimiento

406644

- 7 -



donde R es un radical orgánico del que se conocen muchos ejemplos en la técnica de la penicilina. Puede emplearse el grupo acilo de cualquiera de las penicilinas conocidas. Una cadena lateral especialmente adecuada es el grupo fenoximetilo.



Los radicales orgánicos ilustrativos son bencilo, furilmetilo, tienilmetilo, isoxazolilo y similares. Como es sabido, los diversos radicales orgánicos pueden estar sustituidos.

Otros ejemplos específicos de radicales alifáticos, radicales que contienen grupos carbocíclicos y radicales que contienen grupos heterocíclicos que definen el grupo R en las penicilinas de partida son los grupos vinilo, etoxi, ciclopentenilo, ciclohexilo, 2,4-diclorobencilo, 3,4-diclorobencilo, m-bromobencilo, o-bromobencilo, p-bromobencilo, m-clorobencilo, o-clorobencilo, p-clorobencilo, m-fluorbencilo, o-fluorbencilo, p-fluorbencilo, p-yodobencilo, p-nitrobencilo, p-clorofenoximetilo, m-nitrobencilo, o-nitrobencilo, 3-cloro-4-bromobencilo, m-trifluormetilbencilo, m-trifluormetilfenoximetilo, p-tolilmetilo, o-metilbencilo, m-metilbencilo, fenilmercaptobencilo, p-metilmercaptobencilo, o-metoxibencilo, m-metoxibencilo, o-metilfenoximetilo,

406644

- 8 -



1 p-metoxifenoximetilo, p-cianobencilo, estirilo, 3,4-dimetil-
bencilo, β -fenilbutirilo, p-carbetoxihidroxibencilo, β -naftil-
metilo, β -naftoximetilo, 1-bromo-2-naftilmetilo, 6-bromo-2-
5 naftilmetilo, 2-cloro-3-naftilmetilo, 6-flúor-2-naftilmeti-
lo, 1-nitro-2-naftilmetilo, β -naftilmercaptometilo, 6-meto-
xi-2-naftilmetilo, p-fenoxibencilo, p-bifenililmetilo,
p-isopropilbencilo y p-benciloxibencilo.

10 Más especialmente, en el procedimiento de esta inven-
ción, una sal de fenoximetilpenicilina en un medio de reac-
ción adecuado se puede hacer reaccionar con éter clorometil-
metílico a una temperatura comprendida entre unos 0°C y
50°C y preferiblemente entre 0°C y unos 30°C. Un medio de
reacción preferido es el cloruro de metileno al que se puede
añadir algo de dimetilformamida, generalmente en una propor-
15 ción de alrededor de 1 a 2 ml por cada 150 ml de cloruro de
metileno. La dimetilformamida también puede ser utilizada
como medio de reacción. El producto de reacción puede ser
recuperado por métodos convencionales.

20 El éster recuperado de fenoximetilpenicilina puede ser
después desacilado, ya sea enzimática o químicamente. La
producción enzimática de 6-APA está descrita en la patente
estadounidense nº 3.014.846. El método preferido de escisión
química se realiza formando un iminohaluro por reacción con
un agente halogenante, como pentacloruro de fósforo. El és-
25 ter se disuelve en un disolvente no acuoso, como cloruro de
metileno, benceno o cloroformo, al que se ha añadido una
cantidad adecuada de un agente aceptor de ácido, como dime-
tilanilina, piridina, quinoleína o lutidina. La cantidad de
agente aceptor de ácido debe ser suficiente para recoger el
30 ácido formado por la reacción de escisión. La temperatura

406644

- 9 -

13



1 de la reacción de cloración debe ser mantenida entre alrede-
dor de -50°C a unos 0°C para obtener la cloración completa
del éster. El iminocloruro es después tratado con un alcohol
5 en condiciones ácidas, con lo que se forma un iminoéter en
condiciones anhidras. Después se añade agua a la mezcla de
reacción para hidrolizar el éter. El iminoéter puede ser for-
mado convenientemente a temperaturas comprendidas entre
 -70°C y -30°C aproximadamente.

10 El procedimiento general de esta serie de reacciones
está descrito en la patente estadounidense nº 3.499.909,
junto con varios agentes halogenantes, agentes aceptores de
ácido, alcoholes y disolventes, todos los cuales son aplica-
bles en general a los ésteres metoximetílicos aquí descri-
tos.

15 Alternativamente, el éster 6-APA puede ser preparado
directamente a partir del ácido 6-aminopenicilánico por un
procedimiento en el que se suspende 6-APA a unos 25°C en clo-
ruro de metileno y se disuelve allí como sal de trietilami-
na. Después la mezcla de reacción se enfría a unos 0°C y se
20 esterifica con éter clorometilmetílico. El éster de 6-APA
puede ser aislado de la mezcla de reacción como base libre
o como sal de adición con ácido. La sal p-toluensulfónica
del éster de 6-APA ha sido descrita en la bibliografía por
Jackson y colaboradores, Chemical Communications, 14, 1970.

25 La acilación del éster de 6-APA para formar el éster
metoximetílico de ampicilina puede ser realizada siguiendo
procedimientos conocidos, como los descritos en las patentes
estadounidenses números 2.985.648 y 3.140.282.

30 La sal toluensulfónica antes mencionada del éster de
6-APA puede ponerse en contacto con un agente acilante, como

406644



1 hidrocloruro de cloruro de 2-fenilglicilo, en un medio acuoso ácido a temperatura baja. En términos amplios, el agente acilante se emplea en las proporciones de alrededor de 1 a 3 moles por mol de 6-APA y la temperatura debe estar comprendida entre -10°C y $+20^{\circ}\text{C}$ aproximadamente. El pH del medio de reacción debe ser inferior a 4 y preferiblemente alrededor de 1,5 a 3,0, habitualmente entre 2,0 y 2,8. El medio de reacción es de preferencia una mezcla de agua y disolventes orgánicos como acetona, cloruro de metileno o tetrahidrofurano. El éster acilado puede ser recuperado elevando el pH del medio de reacción hasta 4 aproximadamente o más, por ejemplo entre 4 y 7. Cualquier sólido puede ser separado por filtración para dar una solución del éster de ampicilina.

15 En un procedimiento preferido, el éster se disuelve en una mezcla de cloruro de metileno y acetona a la temperatura del baño de hielo, generalmente entre unos 0° y 5°C . Después se añade una pequeña cantidad de agua, alrededor del 2,5 % calculado sobre el volumen del disolvente orgánico. La mezcla resultante se mantiene a unos 0°C hasta que el cloruro de ácido se ha disuelto. Después el producto de reacción puede ser recuperado por métodos normales. Esta reacción puede ser efectuada en condiciones anhidras.

20 El éster metoximetílico de ampicilina puede ser convertido en el correspondiente éster de hetacilina por reacción con acetona acuosa, a un pH comprendido entre 6,5 y 9,5 aproximadamente. En general, esta etapa del procedimiento puede llevarse a cabo a una temperatura comprendida entre unos -10°C y 15°C , aunque generalmente se prefiere emplear temperaturas del orden de 0° a 5°C . El pH y la tempera-

406644



1 tura deben ser mantenidos durante un periodo de tiempo que
sea suficiente para conseguir la conversión sustancial en
hetacilina, v.g. entre unas 12 y 170 horas, lo que depende
de las restantes condiciones. Transcurrido el periodo de
5 reacción, el éster metoximetílico de hetacilina puede ser
recuperado ajustando el pH de la mezcla de reacción entre
1,5 y 2,0 con un ácido como el ácido clorhídrico y extra-
yendo con un disolvente adecuado como cloruro de metileno.
El éster de hetacilina es recuperado de la fase orgánica en
10 la forma habitual.

El éster de hetacilina puede ser convertido convenientemente en hetacilina por hidrólisis del grupo éster en condiciones ácidas o suavemente alcalinas. El éster puede ser hidrolizado en ácido clorhídrico a una concentración de 1 a
15 6 N, a temperaturas comprendidas entre unos 0°C y 40°C. En ácido clorhídrico concentrado, el producto es recuperado como la sal hidrocloreto que puede ser fácilmente disuelto de nuevo en un disolvente adecuado, como agua o una mezcla de agua y un líquido orgánico como acetona o metil-isobutilcetona y después reprecipitado llevando el pH al punto iso-
20 elétrico de la hetacilina en forma de ácido libre, es decir alrededor de 2,5. La precipitación de la sal hidrocloreto puede ser favorecida por el uso de un soluto adecuado, como cloruro amónico.

25 El carbono α de la cadena lateral acíclica es un átomo de carbono asimétrico y, por lo tanto, los compuestos de esta invención pueden existir en formas isoméricas ópticamente activas así como en forma racémica que es una mezcla de las dos formas ópticamente activas. Todos estos isómeros ópticos y mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcan-
30

406644

- 12 -



1 ce de esta invención.

Los siguientes ejemplos ilustran los principios y práctica de esta invención.

EJEMPLO 1

5 Ester metoximetílico de penicilina V

Se suspenden 38,8 g de fenoximetilpenicilinato potásico en 150 ml de cloruro de metileno y la mezcla se enfría a unos 5°C mediante un baño refrigerante y se añaden 9,5 g (0,118 moles) de éter clorometilmetílico y 0,5 ml de dimetilformamida. Se retira el baño refrigerante y la mezcla se agita durante 1½ horas aproximadamente, mientras se deja que la mezcla alcance la temperatura ambiente. La solución en cloruro de metileno se lava cuatro veces con 200 ml cada vez de agua y después se seca y destila para dar 33,5 g de un aceite amarillento. El rendimiento es alrededor del 84%.

EJEMPLO 2

Ester metoximetílico de ácido 6-aminopenicilánico

20 A una solución de 12 g (0,0304 moles) de éster metoximetílico de penicilina V en 100 ml de cloruro de metileno, enfriada a -55°C, se añaden 4,8 ml (4,6 g, 0,038 moles) de dimetilanilina y a continuación se añaden directamente 7,0 g (0,0337 moles) de pentacloruro de fósforo disueltos en 100 ml de cloruro de metileno.

25 La mezcla se mantiene entre -40° y -50°C durante unas 2 horas. La cromatografía en capa fina indica la cloración completa del éster de penicilina V. Después la mezcla se enfría a -70°C y se añaden rápidamente 47 ml de metanol, previamente enfriados a -50°C. Después la mezcla se mantiene durante 2 horas entre -50° y -40°C. A la solución amarilla resultante se añaden 100 ml de agua con intensa agita-

30

406644

-13-



1 ción. La temperatura de la mezcla de reacción asciende a
unos 0°C y el pH de la mezcla es alrededor de 0,6 a 1,0.
Después de mantener la mezcla durante 10 a 15 minutos a es-
ta temperatura y dentro de este intervalo de pH, el pH se
5 lleva a 6,5-6,8 con hidróxido sódico diluido. Se separan
las capas y la capa de cloruro de metileno se lava con
agua, se trata con carbón y se seca. La cromatografía en
capa fina indica la presencia de dimetilanilina, fenoxiaceta-
to de metilo y éster metoximetílico de 6-APA.

10

EJEMPLO 3

α -Aminobencilpenicilinato de metoximetilo

Se diluye con 100 ml de acetona una solución de cloru-
ro de metileno que contiene éster metoximetílico de ácido
6-aminopenicilánico preparado a partir de 0,04 moles de
15 fenoximetilpenicilinato de metoximetilo, como en el Ejem-
plo 2. Después de enfriar la mezcla resultante a unos
0-5°C, se añaden a la solución 5 ml de agua y 0,04 moles
(4,8 g) de dimetilanilina. Después se añaden a la solución,
con intensa agitación, 8 g (0,039 moles) de hidrocloreuro
de cloruro de fenilglicilo. La mezcla se agita durante
20 1 hora aproximadamente a 0°C, en cuyo momento todo el clo-
ruro de ácido se ha disuelto. El rendimiento de éster meto-
ximetílico de α -aminobencilpenicilina es del 42 %, determi-
nado por bioensayo de la mezcla producida en la reacción.

25

EJEMPLO 4

Ester metoximetílico de hetacilina

Se lleva a cabo una reacción de acilación, como se
describe en el Ejemplo 3, utilizando 13,0 g (0,05 moles)
de éster de ácido 6-aminopenicilánico y 20,6 g (0,10 moles)
de hidrocloreuro de cloruro de fenilglicilo. Después de se-
30

406644



1 parar por filtración el hidrocioruro de cloruro de fenilgli-
cilo que no se haya disuelto, el pH de la solución se ajusta
a 8,5 con hidróxido sódico al 10 % y la mezcla se madura a
8°C durante unas 90 horas. El bioensayo indica un rendimien-
5 to del 60 % aproximadamente. El pH de la mezcla madurada se
ajusta después a 1,8 con ácido clorhídrico 6 N y la mezcla
se extrae con cloruro de metileno. La capa de cloruro de me-
tileno se lava con agua, se seca y se destila para dar alre-
dedor de 14,4 g de producto.

10 EJEMPLO 5

Hetacilina

(a) Se suspenden 5 g de éster metoximetílico de heta-
cilina en 50 ml de ácido clorhídrico 3 N a 25°C durante unos
20 minutos, con intensa agitación. La mezcla se enfría en
15 un baño de agua a unos 0-5°C y el pH se ajusta a 3,1 con hi-
dróxido sódico al 20 %. Después de cristalizar, el sólido
se separa por filtración y se lava con acetona. El rendimien-
to es de 2,05 g de hetacilina, con una potencia de 913 mcg/
mg.

20 (b) Se añade 1 g de éster metoximetílico de hetacilina
a 20 ml de HCl 6 N agitado durante 2 minutos, se siembra con
cristales de hidrocioruro de hetacilina y se enfría a 0-5°C.
Al cabo de unos 10 minutos de cristalización adicional, se
separa por filtración el hidrocioruro de hetacilina. El ren-
dimiento es del 64 % de un material cuyas propiedades espec-
trales (IR y RMN) y de cromatografía en capa fina son compa-
rales a las del hidrocioruro de hetacilina.

25 EJEMPLO 6

Ester metoximetílico de hetacilina

30 A 38,9 g (0,1 moles) de hetacilina en 200 ml de cloru-

406644



1 ro de metileno seco a 25°C se añaden 10,1 g (0,1 moles) de
trietilamina. La solución transparente se enfría a 0°C y se
añade, a lo largo de 10 minutos, 8,05 g (8 ml, 0,1 moles)
de éter clorometilmetílico disueltos en 50 ml de cloruro de
5 metileno. Después de agitar durante 1 hora a 0°C, la mezcla
de reacción se refina por filtración y se concentra bajo pre-
sión reducida hasta dar un aceite que se recoge en acetona,
se refina por filtración y se concentra de nuevo hasta un
aceite. Este aceite se recoge en cloruro de metileno y se
10 lava con agua a pH 2 y después dos veces con agua a pH 7.
Después de secar, el cloruro de metileno se separa a vacío
para dar un sólido amorfo y espumoso, 40 g o 93 % de rendi-
miento. Este material es homogéneo por cromatografía en ca-
pa fina y los espectros IR y RMN concuerdan con la estructu-
ra del producto deseado.

15 Una muestra de 2,0 g (4,6 milimoles) se disuelve en
25 ml de acetona y a la solución se añaden 0,75 g (6,3 mili-
moles) de monohidrato de ácido p-toluensulfónico. Al añadir
25 ml de éter dietílico, se inicia la cristalización. Al ca-
20 bo de 15 minutos a 0°C, se filtran los cristales blancos y
se lavan con éter y secan para dar 1,9 g de la sal toluen-
sulfónica del éster metoximetílico de hetacilina.

$C_{28}H_{35}N_3S_2O_8$: Calculado: C, 55,45; H, 5,82; N, 6,92;
Encontrado: C, 55,75; H, 6,12; N, 6,92.

25 En una preparación similar, se agitan 20 g (0,046 mo-
les) de éster de hetacilina en 70 ml de tetrahidrofurano y
3 ml de ácido clorhídrico concentrado a 25°C durante 20 mi-
nutos y después a 0-5°C durante 30 minutos. El precipitado
blanco resultante se filtra y lava con 100 ml de acetona en
30 porciones. Se obtienen 16 g de hidrocloreuro de éster de he-

406644

- 16 -



1 tacilina, blanco cristalino. Los espectros concuerdan con la estructura deseada. El bioensayo indica una actividad de 764 mcg/mg como hetacilina.

5 $C_{21}H_{28}N_3O_5 \cdot HCl$: Calculado: C, 53,65; H, 6,00; N, 8,94; Cl, 7,54. Encontrado: C, 53,44; H, 5,95; N, 8,74; Cl, 7,72.

EJEMPLO 7

Acilación de la sal p-toluensulfónica del 6-aminopenicilinato de metoximetilo

10 Se mezclan 3 milimoles (1,3 g) de sal p-toluensulfónica de 6-aminopenicilinato de metoximetilo con 40 ml de acetona y 10 ml de agua. La mezcla se enfría entre 0° y 5°C. A la mezcla enfriada se añaden 6 milimoles (1,2 g) de hidrocloreuro de cloruro de fenilglicilo, con intensa agitación. El pH de la mezcla de reacción se mantiene entre 2,0 y 2,8 por adición de hidróxido sódico al 10 %, a medida que sea necesario. Una vez completada la reacción, se ajusta el pH entre 6,5 y 7,0 y la mezcla se filtra y diluye hasta 200 ml con acetona, para dar una solución del éster metoximetílico de ampicilina.

20

EJEMPLO 8

Hidrocloreuro de éster metoximetílico de ampicilina

25 A 25°C, se disuelven 37,1 g (0,1 moles) de ampicilina sódica en 150 ml de dimetilacetamida. La solución se enfría a 0-5°C y se añaden 8,0 ml (0,1 moles) de éter clorometilmetílico. Al cabo de 1 hora de agitación, la cromatografía en capa fina indica la ausencia de ampicilina sódica. La mezcla se vierte sobre 200 ml de solución reguladora fría a pH 7 y se extrae tres veces con 100 ml cada vez de cloruro de metileno. Los extractos en cloruro de metileno se añaden

30

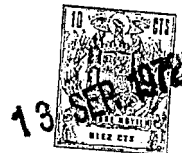


1 den a unos 150 ml de agua fría y el pH se ajusta a 1,6 con
ácido clorhídrico. La capa acuosa se separa y ajusta a
pH 6,8 con hidróxido sódico diluido y se extrae tres veces
5 con 100 ml cada vez de cloruro de metileno. Las capas de
cloruro de metileno se secan sobre sulfato sódico y se con-
centran a presión reducida para dar un aceite incoloro que
presenta una zona en el cromatograma en capa fina. El acei-
te se disuelve en 2-propanol, se enfría y se añade HCl en
2-propanol. Esta solución se agrega después a 700 ml de
10 éter frío y bien agitado. Se forma un precipitado blanco
que, después de 15 minutos de agitación, se filtra y lava
con éter frío. Se obtienen 12 g de un sólido blanco solu-
ble en agua. Los espectros IR y RMN concuerdan con la es-
tructura del hidrocloreuro del éster metoximetílico de ampi-
15 cilina. La biopotencia como ampicilina indica una actividad
de 682 mcg/mg.

Una realización útil del procedimiento de esta inven-
ción es una serie continua de reacciones efectuadas sin ais-
lar o recuperar los intermediarios. Por ejemplo, la sal po-
20 tástica de fenoximetilpenicilina es esterificada con éter
clorometilmetílico en cloruro de metileno a una temperatura
comprendida entre 0° y 30°C. La solución en cloruro de me-
tileno del éster es después tratada sucesivamente con penta-
cloruro de fósforo, alcohol metílico y agua para completar
25 la separación de la cadena lateral fenoximetílica y dar una
solución en cloruro de metileno que contiene el éster meto-
ximetílico de 6-APA. Esta solución se utiliza después en la
reacción de acilación en la que se añade hidrocloreuro de
cloruro de fenilglicilo a la solución para dar una solución
30 en cloruro de metileno del éster de ampicilina. En la etapa

406644

- 18 -



1 final, la solución del éster de ampicilina se trata con ace-
 5 tona a pH 7,5 a 8,5 y se mantiene hasta que se ha producido
 la formación del éster de hetacilina. La propia hetacilina
 se recupera de la fase orgánica por tratamiento de la misma
 10 con un ácido fuerte y agua, por ejemplo ácido clorhídrico
 3 N. La hetacilina es insoluble en la fase líquida y cris-
 taliza.

La absorción oral del éster de hetacilina fue evalua-
 da y comparada con la ampicilina y hetacilina, como indica
 15 la Tabla I. En cada caso, el antibiótico fue administrado
 por vía oral en cantidades equivalentes a un grupo de 8 ra-
 tones machos. Los niveles en sangre fueron determinados por
 ensayo en placa sobre Bacillus subtilis y están dados como
 microgramos por mililitro de ampicilina.

Los datos indican que el éster de hetacilina en rato-
 20 nes es más rápidamente absorbido en la sangre del ratón que
 la hetacilina o la ampicilina, consiguiendo así muy pronto
 los niveles máximos del antibiótico en la sangre.

TABLA I

Niveles en sangre después de administración oral a
ratones

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Niveles en sangre (µg/ml)			
		0,5 horas después de la administración	1	2	3,5
Ester ¹	126	8,49	3,49	1,43	0,42
Hetacilina ¹	115	4,30	5,00	2,10	0,38
Ampicilina ¹	100	5,79	5,34	1,91	0,44
Ester ²	126	10,20	4,48	1,53	0,42
Ampicilina ²	100	5,35	3,67	1,45	0,51
Hetacilina ²	115	2,52	2,81	1,46	0,52

1 Administrado en bicarbonato sódico al 5 %
 2 Administrado en agua destilada.

406644



1 Los datos sobre la excreción y la absorción adicional fueron obtenidos mediante estudios de la orina de la
 5 rata mostrados en la Tabla II. Los compuestos fueron administrados en solución reguladora de fosfato 0,0001 M y la
 10 cantidad de antibiótico recuperada fue registrada como ampicilina.

TABLA II

Recuperación urinaria del éster metoximetílico de hetacilina después de administración oral a ratas

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Porcentaje recuperado horas después de la administración		
			0-6	6-24	0-24
Ester	63	5	17,09	0,56	17,65
Hetacilina	57,5	5	4,42	0,52	4,94
Ampicilina	50	5	6,13	0,36	6,49

15 Una rápida aparición del antibiótico en la orina indica su adecuación para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

20 Además de ser un intermediario útil en un procedimiento de preparación de hetacilina, el éster metoximetílico de hetacilina presenta notables propiedades antibióticas. Este compuesto también tiene valor como antibiótico debido a su capacidad para dar más rápidamente unos niveles máximos en el suero sanguíneo en comparación con la ampicilina sódica. Cuando se ensaya en perros beagle, se ha encontrado que el
 25 éster metoximetílico de hetacilina da unos niveles máximos en sangre alrededor de 15 a 20 minutos después de la administración. Los niveles máximos para la ampicilina sódica se producen alrededor de 1 hora después de la administración, en condiciones comparables.

30 Uno de los factores en la evaluación de antibióticos

406644



1

es el semi-periodo biológico del antibiótico. En los perros beagle, se ha encontrado que el éster metoximetílico de hetacilina tiene un semi-periodo de alrededor de 1,2 horas.

5

En condiciones comparables, se ha encontrado que la amplicilina sódica tiene un semi-periodo de solamente 30 a 40 minutos. En estas pruebas, la concentración de antibiótico fue medida por bioensayo.

10

Otros estudios han indicado que el éster metoximetílico de hetacilina es distribuido más favorablemente a través de los tejidos corporales. Las pruebas realizadas en perros beagle indican que el éster tiene un volumen de distribución aparente significativamente menor que la ampilicina sódica, es decir, la droga parece disolverse en un volumen de fluido mayor. Las estimaciones preliminares son que el éster tiene una amplitud de distribución aproximadamente doble de la de la ampilicina sódica.

15

20

La Tabla III dada a continuación presenta los datos sobre la actividad terapéutica de los ésteres metoximetílicos de hetacilina y ampilicina en función de la dosis necesaria para proteger el 50 % de una población de ratones atacada por exposición a un organismo de ensayo. Puede observarse que el éster es generalmente equivalente a los antibióticos establecidos conocidos contra un organismo sensible.

25

30

406644



1

TABLA III

Actividad quimioterapéutica de ampicilina, hetacilina y los ésteres metoximetílicos de hetacilina y ampicilina después de su administración oral a ratones infectados con Escheri-

5

chia coli

<u>Compuesto</u>	<u>Vehículo</u>	<u>DP₅₀</u>	<u>mg/kg *</u>
		<u>E. coli</u> <u>Ensayo 1</u>	<u>A15119</u> <u>Ensayo 2</u>
(1) Ampicilina	H ₂ O	70	80
(2) Hetacilina	H ₂ O	70	76
(3) Ester de hetacilina	H ₂ O	70	50
(4) Ester de ampicilina	regulador de H ₃ PO ₄	50	54

10

* Todos los compuestos fueron administrados por vía oral a concentraciones equimoleculares, a ratones al cabo de 1 hora de su ataque.

15

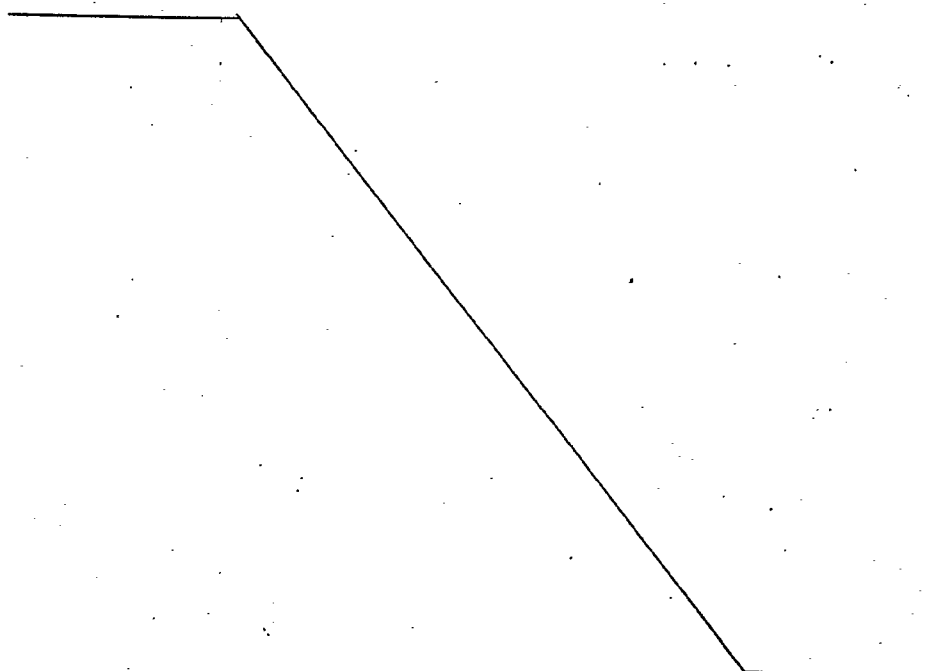
DP₅₀ = Dosis protectora, 50 %.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

20

25

30

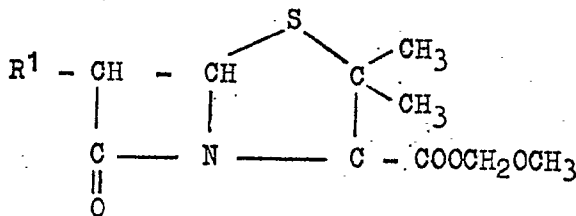




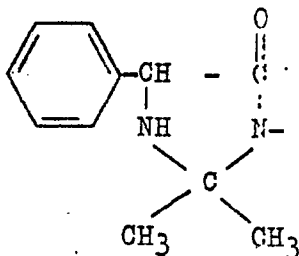
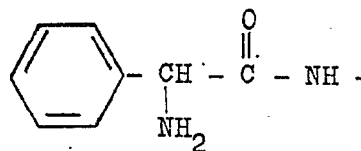
13

REIVINDICACIONES

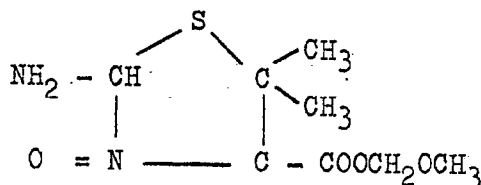
1. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula:

Fórmula I

donde R¹ es el grupo

Fórmula IIFórmula III

caracterizado por acilar 6-aminopenicilinato de metoximetilo de fórmula

Fórmula IV

para formar el éster metoximetílico de ampicilina y, si se desea, hacer reaccionar dicho éster de ampicilina con acetona para formar el éster metoximetílico de hetacilina.

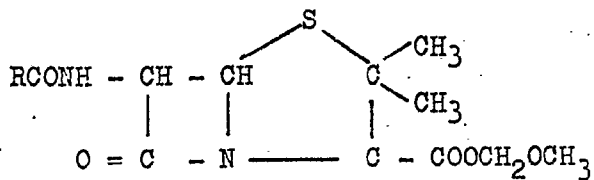
2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, caracterizado además por que dicho 6-aminopenicilinato de metoximetilo es preparado por desacilación de un éster de penicilina de fórmula:

30

406644



1
5
10
15
20
25
30



Fórmula V

3. Un procedimiento según la Reivindicación 1, caracterizado además porque el éster metoximetílico de hetacilina resultante es tratado para separar el grupo éster metoximetílico y el producto resultante es recuperado.

4. Un procedimiento según la Reivindicación 3, caracterizado además porque dicho producto es recuperado como sal no tóxica y farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un procedimiento según la Reivindicación 2, caracterizado además porque R es un grupo fenoximetilo.

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

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

Madrid, 13 setiembre de 1972

BERNARDO UNGRIA

P.P.