

433637-2 ABR. 1975

A1 433637 761116 C07D 49/908

P.- 59.505

AA 2832

Spa/ih

Div.

Int. Cl. <sup>2</sup> : C07D/A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION

a nombre de ASTRA LÄKEMEDEL AKTIEBOLAG

entidad sueca

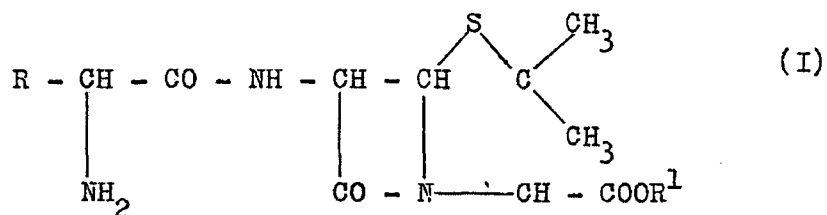
establecida en Södertälje, Suecia

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DEL ESTER  
ETOXICARBONILOXIETILICO DE BENICIL-PENICILINA".

(Clase Internacional C07D, A61K)

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar nuevos ésteres de alfa-aminopenicilinas, que tienen la fórmula:

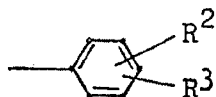
5



10

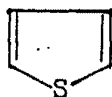
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la cual fórmula R se elige del grupo que consta de grupos alcohilo que contienen de 2 a 7 átomos de carbono; el radical

15



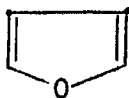
donde R<sup>2</sup> se elige del grupo que consta de hidrógeno e hidroxilo y R<sup>3</sup> se elige del grupo que consta de hidrógeno y halógeno tal como cloro y fluor; y los radicales

20



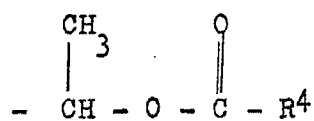
25

y

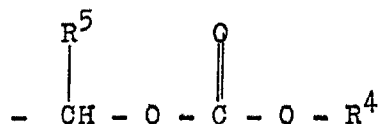


y donde R<sup>1</sup> se elige del grupo que consta de

5



10



y

15

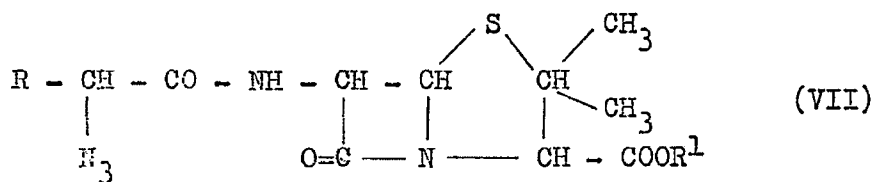


en las cuales fórmulas R<sup>4</sup> se elige del grupo que consta de grupos alcohilo que contienen de 1 a 4 átomos de carbono; y R<sup>5</sup> se elige del grupo que consta de H, -CH<sub>3</sub> y -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

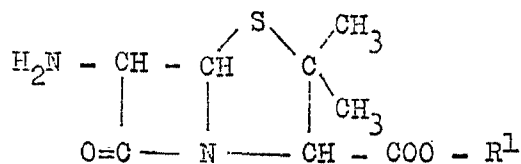
20

Además, la invención se refiere a nuevos compuestos intermedios para la preparación de los compuestos activos como antibióticos según la invención. Estos nuevos compuestos intermedios, también útiles como drogas, tienen la fórmula general:

25



5 donde R y R<sup>1</sup> tienen el significado antes indicado, o



donde R<sup>1</sup> tiene el significado antes indicado.

10 Pueden formarse sales de los nuevos ésteres con ácidos inorgánicos, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico ó ácido sulfúrico, o con ácidos orgánicos, por ejemplo ácido cítrico, ácido tartárico o ácido maleico. En vista del átomo de carbono asimétrico de la cadena secundaria de los compuestos que tienen fórmula I, dichos compuestos existen en dos formas epímeras, y en la invención se incluye la preparación de ambas formas epímeras, así como de mezclas de ellas.

20 Un aspecto adicional de la presente invención está constituido por los epímeros resultantes de la existencia de un centro asimétrico en el grupo éster R<sup>1</sup> de la fórmula I. La invención incluye la preparación de tales epímeros y de las mezclas de los mismos.

25 Es sabido que las alfa-amino,penicilinas son sustancias antibióticas que tienen amplios espectros de actividad. Entre los compuestos, particularmente la alfa-amino-

bencilpenicilina ha alcanzado gran importancia. Sin embargo, para su efecto clínico, no solo tiene importancia la actividad antibacteriana de una penicilina, sino también sus características farmacológicas tales como absorción oral, distribución en los tejidos, metabolismo y velocidad de eliminación. En lo que respecta a la alfa-aminobencilpenicilina, se ha hallado que dicho compuesto es absorbido por vía oral de forma relativamente incompleta.

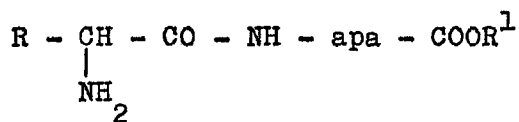
Los compuestos según la invención son absorbidos bien por vía oral, y producen concentraciones de las aminopenicilinas correspondientes, en la sangre, mayores que las producidas por cantidades correspondientes de éstas como tales. Los ésteres son hidrolizados algo en ambientes acuosos, pero considerablemente más cuando son sometidos a la influencia de enzimas hidrolíticas, por ejemplo las presentes en el suero de la sangre y otros fluidos del cuerpo humano. Esta propiedad de los ésteres es muy importante, ya que produce un rápido desprendimiento de las aminopenicilinas con actividad antibacteriana, a partir de los ésteres, cuando estos son absorbidos del conducto intestinal o son introducidos de otra manera en la circulación de la sangre o en los fluidos de los tejidos.

Los compuestos mencionados que tienen la fórmula I son tolerados excelentemente, y de preferencia son tomados por vía oral, ya sea como tales o en forma de sus

sales, y pueden ser entremezclados con vehículos sólidos, o coadyuvantes, o ambos. En tales preparaciones, la proporción entre la sustancia terapéutica y los vehículos y coadyuvantes puede variar entre 1 y 95%. Las preparaciones pueden ser elaboradas en forma de, por ejemplo, tabletas, píldoras, o grageas, o puede ser suministrada a recipientes médicos tales como cápsulas, o bien; en lo que respecta a mezclas, pueden ser introducidas en botellas. En la manufactura de las preparaciones pueden usarse vehículos farmacéuticamente aceptables, orgánicos u inorgánicos, sólidos o líquidos, adecuadamente para administración oral o enteral, o para aplicación tópica. La gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, grasas y aceites vegetales y animales, gomas vegetales y polialcohilénglicol, y otros vehículos conocidos para productos farmacéuticos, son, todos ellos, adecuados para manufacturar preparaciones de dichos compuestos. La sal preferida de los ésteres es el clorhidrato, pero se pueden usar sales con otros ácidos inorgánicos u orgánicos, incluso con ácidos activos como antibióticos, por ejemplo fosfatos, acetatos o sales con fenoximetilpenicilina. Además, la preparación puede contener otros componentes activos farmacéuticos que puedan ser administrados adecuadamente junto con dichos ésteres, cuando se tratan enfermedades infecciosas. Por ejemplo, otras sustancias antibióticas adecuadas.

En el tratamiento de infecciones bacterianas en el hombre, los compuestos de la invención son administrados, por ejemplo, en cantidades correspondientes a de 5 a 200 mg/kg/día, preferiblemente comprendidas entre 10 y 100 mg/kg/día en dosis divididas, por ejemplo dos, tres o cuatro veces por día. Son administrados en unidades de dosificación que contienen, por ejemplo, 175, 350, 500 y 1000 mg de los compuestos.

Son compuestos ilustrativos según la invención:



10

R	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejem- plo	Méto do
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOCH}_2\text{H}_5 \end{array}$	alfa-aminoheptilpenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo		
CH <sub>3</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	alfa-aminoetilpenicilinato de 1'-acetoxietilo		
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	alfa-amino-delta-metilpentilpenicilinato de 1'-acetoxietilo		5

15

20

25

4.4.72

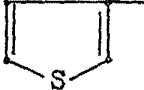
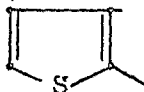

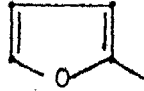
R	<sup>1</sup> R	Nombre	Ejem- plo	Méto- do	
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de l'-acetoxietilo	7a 6	A
"	"	"	"	7c	B
"	"	"	"	7d	B
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de l'-propioniloxie tilo	9	A
15	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de l'-isobutiroxie tilo	10	A
20	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOC}_4\text{H}_9 \end{array}$	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de l'-valeriloxieti lo	10	
20	"	-CH <sub>2</sub> OCOOCH <sub>3</sub>	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de metoxicarboniloxi metilo	11 8	A
25	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(D-alfa-amino fenilacetamido)- penicilanato de l'etoxicarbonile tilo	13 14 15	A

	R	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejem plo	Méto do
	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOO} \end{array}$		16a	B
	"	"		16b	B
5	"	$\begin{array}{c} \text{C}_2\text{H}_5 \\ / \\ -\text{CH}-\text{OCOO} \end{array}$	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-propoxicarboniloxipropilo		
10	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOO} \end{array}$	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-butoxicarboniloxietilo		
	"	-CH <sub>2</sub> OCOO	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarboniloximetilo	17	A
15	"	-CH <sub>2</sub> OCOO	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de propoxicarboniloximetilo	18	A
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}_2\text{OCOOCH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de isopropoxicarboniloximetilo	19	A
	"	-CH <sub>2</sub> -OCOO	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de butoxicarboniloximetilo	20	A
25	"	-CH <sub>2</sub> -NHCOO	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarboniloximetilo		

	R	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejemplo	Método
			nilacetamido)-penicilano de etoxi carbonilaminometilo	21 8	A
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>2</sub> NHCOOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano de butoxi carbonilaminometilo		
10	m-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo	22	B
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo	23	A
15	"	-CH <sub>2</sub> OCOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de etoxicarboniloximetilo		
	"	-CH <sub>2</sub> NHCOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de etoxicarbonilaminometilo		
20	p-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	6-(D-alfa-p-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo	24	A
25	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(D-alfa-amino-p-		

4.4.72

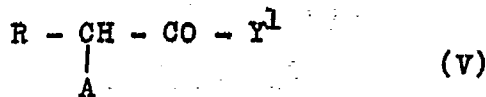
R	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejemplo	Método
		fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo	25	A
5	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{p-ClC}_6\text{H}_4 \\ \text{-CH-OCOCH}_3 \end{array}$	6-(alfa-amino-p-clorofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo	26	A
10	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{m-ClC}_6\text{H}_4 \\ \text{-CH-OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(alfa-amino-m-clorofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo		
15	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{o-ClC}_6\text{H}_4 \\ \text{-CH}_2\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(alfa-amino-o-clorofenilacetamido)-penicilano de metoxicarboniloximetilo		
20	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{p-OHC}_6\text{H}_4 \\ \text{-CH-OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo	28	B
25	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{m-OHC}_6\text{H}_4 \\ \text{-CH-OCOCH}_3 \end{array}$	6-(alfa-amino-m-hidroxifenilacetamido)-penicilano de metoxicarboniloximetilo		

	R	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejemplo	Método
5		$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilánato de 1'-acetoxietilo	31	B
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilánato de 1'-etoxicarboniloxietilo	30	B
10		$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(alfa-amino-2-tienilacetamido)-penicilánato de 1'-etoxicarboniloxietilo		
15		$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	6-(alfa-amino-3-furilacetamido)-penicilánato de 1'-acetoxietilo	29	B
20		$-\text{CH}_2\text{OCOOC}_2\text{H}_5$	6-(alfa-amino-2-furilacetamido)-penicilánato de etoxicarboniloximetilo		
	3-Cl-4-OHC <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	6-(alfa-amino-3-cloro-4-hidroxifenilacetamido)-penicilánato de 1'-etoxicarboniloxietilo		
25	m-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$-\text{CH}_2\text{NHCOOC}_2\text{H}_5$	6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilánato de etoxicarbonilaminometilo		

R	-	R <sup>1</sup>	Nombre	Ejemplo	Método
5	p-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-CH <sub>2</sub> NHCOOCH <sub>3</sub>	6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilinato de metoxicarbonilaminometilo		
	o-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-CH <sub>2</sub> NHCOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	6-(D-alfa-amino-o-clorofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarbonilaminometilo		
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>2</sub> NHCOOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de butoxicarbonilaminometilo		
			Formulaciones de absorción	32	
			Formulaciones de hidrólisis	33	
15			Formulaciones farmacéuticas	34	

La preparación de compuestos de fórmula I según la invención se hace:

Haciendo reaccionar un compuesto que tiene la fórmula:



con un éster de ácido 6-aminopenicilánico o un derivado del mismo, según la secuencia de reacción:



turalaleza tal que son capaces de reaccionar entre sí, con formación de un grupo  $\text{-CONH-}$ . Por ejemplo,  $\text{-CO-Y}^1$  puede ser el radical de un haluro de ácido, por ejemplo cloruro de ácido o bromuro de ácido, un anhídrido, un anhídrido mixto con un ácido alcoholcarbónico, por ejemplo ácido isobutil carbónico, un ácido carbónico, un ácido inorgánico o un ácido sulfónico, o puede ser el radical obtenido haciendo reaccionar el ácido fenilacético alfa-sustituído y una carbodiimida o N,N'-carbonildiimidazol, u otro compuesto que reaccione de manera similar.  $X^1$  puede ser hidrógeno o un grupo trialcohilsililo en el que el grupo alcohol no tenga más de 5 átomos de carbono. La reacción puede efectuarse en un disolvente orgánico o una mezcla de tal disolvente con agua, a baja temperatura o a una temperatura ligeramente elevada. Son disolventes adecuados el cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, acetona, dimetilformamida o dietilacetamida, éter, tetrahidrofurano, dioxano o disolventes inertes similares. Los productos de reacción son aislados de manera usual, por ejemplo por precipitación repetida o por eliminación del disolvente, seguido por recristalización con un disolvente. Los compuestos que tienen la fórmula V son compuestos conocidos que pueden ser producidos por métodos normales, conocidos en la química de los péptidos.

Los compuestos que tienen la fórmula VI son com

puestos nuevos que son productos intermedios en la síntesis de compuestos que tienen la fórmula I. Pueden ser preparados haciendo reaccionar ácido 6-aminopenicilánico, en forma de una sal, por ejemplo de una sal de metal alcalino o sal de trietilamonio, con un éster alcohólico halogenado que tiene la fórmula  $X-R^1$  (III), donde X es un átomo de halógeno, preferiblemente un átomo de cloro o bromo, o un grupo funcionalmente equivalente, tal como un radical sulfonilo. El ácido 6-aminopenicilánico puede ser usado como tal, o el grupo 6-amino puede ser protegido durante el procedimiento de esterificación. En este caso solo son adecuados los grupos protectores que pueden ser eliminados fácilmente, sin causar debilitamiento del anillo de lactama ni del grupo éster, por ejemplo los radicales trifenilmetilo o trimetilsililo. La reacción se efectúa en un disolvente orgánico inerte, por ejemplo acetona, dimetilformamida o cloruro de metileno, y a o por debajo de la temperatura ambiente, o a una temperatura algo elevada. Si el grupo amino está protegido, la eliminación del grupo protector puede efectuarse de diferentes maneras, por ejemplo por hidrogenólisis o hidrólisis, bajo condiciones neutras o ácidas, por las cuales el anillo de lactama y el grupo éster no son atacadas. Los productos de reacción que tienen la fórmula VI ( $X^1 = H$ ) son aislados adecuadamente en forma de sus sales de adición de ácido, con, por ejemplo,

ácido p-toluensulfónico u otros ácidos inorgánicos u orgánicos, tales como ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido maleico, ácido tartárico y otros ácidos similares.

5                    Los compuestos de fórmula VI pueden ser preparados también esterificando las penicilinas de que se dispone industrialmente, o preferiblemente sus sales, con un compuesto que tiene la anterior fórmula III, bajo condiciones similares a las descritas, tras lo cual la cadena  
10                    secundaria del éster de penicilina obtenido es separada, para la formación del éster alfa-aminopenicilánico que tiene la fórmula VI, o de una sal del mismo. Se usa preferiblemente bencilpenicilina o fenoximetilpenicilina. La escisión de la unión amídica puede efectuarse por medio  
15                    de una modificación del procedimiento descrito en la patente belga 698.596, donde se hace reaccionar un éster de ácido 6-acilaminopenicilánico con un haluro de ácido, en presencia de un agente fijador de ácido tal como quinolina o piridina. Sin embargo, el haluro de ácido preferido  
20                    es el pentacloruro de fósforo, debido a lo cual la reacción puede efectuarse en este caso a baja temperatura, lo que aumentará la estabilidad del compuesto intermedio formado, que probablemente es un iminohaluro. La reacción puede efectuarse en diferentes disolventes, pero los disolventes  
25                    preferidos son cloroformo y cloruro de metileno.

El compuesto intermedio no es aislado, sino que es tratado con un alcohol primario, en exceso, para formar un iminoéter. La temperatura de reacción y el tiempo de reacción dependen del alcohol usado. En la mayoría de los casos son adecuadas las temperaturas de -20°C a + 20°C.

Tampoco es aislado el iminoéter, sino que es sometido a una alcoholisis o hidrólisis ácida, causando la escisión de la unión C-N, y se forma el correspondiente éster de ácido 6-aminopenicilánico que tiene la fórmula VI. Alternativamente, la cadena secundaria puede ser escindida enzimáticamente de manera conocida por sí misma, por ejemplo según se expone en la memoria descriptiva de la patente francesa 1.576.027. En los métodos generalmente usados, los ésteres de ácido 6-aminopenicilánico pueden ser aislados de la mezcla de reacción como tales, o en forma de sales con ácidos inorgánicos u orgánicos, por ejemplo en forma del clorhidrato o del tosilato.

Son compuestos preferidos de la invención:

6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-acetoxietilo,

6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo,

6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarboniloximetilo,

- 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo,
- 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo,
- 5 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilano de etoxicarboniloximetilo,
- 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo,
- 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo,
- 10 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilano de etoxicarboniloximetilo,
- 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo,
- 15 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo,
- 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilano de etoxicarboniloximetilo,
- 6-(D-alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo,
- 20 6-(D-alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo,
- 6-(D-alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilano de etoxicarboniloximetilo,
- 25 6-(D-alfa-amino-3-furilacetamido)-penicilano

de 1'-acetoxietilo,

6-(D-alfa-amino-3-furilacetamido)-penicilinato  
de 1'-etoxicarboniloximetilo,

5 6-(D-alfa-amino-3-furilacetamido)-penicilinato  
de etoxicarboniloximetilo.

Los procedimientos de la presente invención se  
ilustran por los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1.- Bencilpenicilinato de 1'-acetoxietilo

10 Se añadió gota a gota acetato de alfa-cloroeti-  
lo (312 g, 2,54 moles) a una solución agitada de bencilpe-  
nicilinato potásico (316 g, 0,85 moles) en dioxano al 70%  
(1275 ml), a temperatura ambiente, mientras se mantenía  
la mezcla a pH 8 por adición de bicarbonato sódico. Una  
vez completada la adición del cloroéster, se añadió bicar-  
15 bonato sódico de manera que la cantidad total del mismo  
fué 413 g (5,1 moles). La mezcla de reacción fué agitada  
durante 48 horas, y luego fué sometida repetidamente a ex-  
tracción con acetato de etilo. Los extractos reunidos fue-  
ron lavados con agua y salmuera, secados y evaporados bajo  
20 vacío a 30°C. El residuo aceitoso fué triturado cinco ve-  
ces con tolueno, que fué eliminado por destilación bajo va-  
cío a 70°C, dando el bencilpenicilinato de 1'-acetoxieti-  
lo (144 g) en forma de aceite que solidificó por reposo.  
Una parte del mismo fué cristalizada en una mezcla de me-  
25 tanol-éster-éster de petróleo, dando el compuesto analítica

mente puro, p.f. 128-130°C (Hallado: C, 57,28; N, 6,58; O, 23,05; S, 7,82%. Calculado para  $C_{20}H_{24}N_2O_6S$ : C, 57,13; H, 5,75; N, 6,66; O, 22,83; y S, 7,63%). El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 1785-1750  $cm^{-1}$ , lo que indica la presencia de anillos de beta-lactama y grupos éster.

Ejemplo 2.- Clorhidrato de 6-aminopenicilinato de 1'-acetoxietilo

Se añadió gota a gota quinolina seca (11,6 g, 0,09 moles), a temperatura ambiente, a una mezcla agitada de pentacloruro de fósforo (11,7 g, 0,056 moles) y cloruro de metileno seco (110 ml). Tras agitar durante 15 min, la mezcla de reacción fué enfriada hasta -20°C, y con agitación continuada fué tratada gota a gota con bencilpenicilinato de 1'-acetoxietilo (20,8 g, 0,05 moles) disuelto en cloruro de metileno seco (30 ml). A los 15 minutos de haberse completado la adición, la mezcla fué enfriada hasta -30°C, y se añadió rápidamente 1-propanol (37 ml), de manera que la temperatura no se elevase por encima de -15°C. La mezcla fué agitada durante otros 30 minutos a -30°C, y entonces se añadió salmuera-hielo (20%, 75 ml) con agitación enérgica. Tras agitar durante 10 minutos a -10°C se añadió éter de petróleo (155 ml), seguido por una segunda porción (175 ml) tras otros 10 minutos, lo que produjo un precipitado cristalino que fué recogido por filtración, lavado con sal

muera (70 ml) y secado, dando el clorhidrato de 6-aminopenicilanoato de 1'-acetoxietilo (14,2 g). El producto mostró fuerte absorción infrarroja a  $1780 - 1725 \text{ cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster.

5

Una muestra analítica, p.f.  $160^{\circ}\text{C}$ , fué obtenida por recristalización del producto en etanol-éter. (Hallado: C, 44,1; H, 5,67; N, 7,56%. Calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$ : 42,53; H, 5,37; N, 8,29%).

10 Ejemplo 3.- Bencilpenicilanoato de 1'-etoxicarboniloetilo

Se agitaron durante 66 horas a temperatura ambiente bencilpenicilinato potásico (242 g, 0,65 moles), carbonato de alfa-clorodietilo (297 g, 1,95 moles) y bicarbonato sódico (327,5 g, 3,90 moles) en dioxano al 70% (1600 ml).

15 La fase sólida fué separada por filtración y lavada con dioxano. Los filtrados reunidos fueron concentrados bajo vacío, y recogidos en una mezcla de benceno (2 litros) y solución saturada de bicarbonato sódico (1 litro). La fase orgánica fué lavada con salmuera, secada y evaporada  
20 bajo vacío, dando bencilpenicilinato de 1'-etoxicarboniloetilo (96,1 g) en forma de aceite espeso que solidificó por reposo. Una muestra analítica, p.f.  $108-109^{\circ}\text{C}$ , fué obtenida por recristalización en acetona-éter de petróleo.

25 (Hallado: C, 55,98; H, 5,66; N, 6,29; O, 24,34; S, 7,20%. Calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ : C, 56,10; H, 5,83;

N, 6,23; O, 24,88; S, 7,13%).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 1780 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , debido a la beta-lactama y a los carbonilos de éster.

5 Ejemplo 4.- 6-aminopenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo

El clorhidrato de 6-aminopenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo fué preparado a partir de bencilpenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo (62,8 g, 0,14 moles), según el método descrito en el ejemplo 2. El producto (28,8 g) fué obtenido en forma de residuo vítreo que mostraba fuerte absorción infrarroja a 1765  $\text{cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster.

Ejemplo 5.- alfa-amino-delta-metilpentilpenicilinato de 1'-acetoxietilo

15 Se agitó durante 2 días alfa-azido-delta-metilpentilpenicilinato potásico (2,9 g, 0,0071 moles), en dioxano al 70%, con acetato de alfa-cloroetilo (2,6 g, 0,021 moles), en presencia de bicarbonato sódico (3,6 g, 0,043 moles). La mezcla de reacción fué diluida con agua y sometida a extracción con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con agua, secados y evaporados bajo vacío, dando alfa-azido-delta-metilpentilpenicilinato de 1'-acetoxietilo (1,3 g), en forma de residuo aceitoso.

25 El producto mostró fuerte absorción a 2120  $\text{cm}^{-1}$  y 1750  $\text{cm}^{-1}$ , característica del grupo azido y de los res-

tos de beta-lactama y éster, respectivamente. Fué disuelto en etanol al 70%, e hidrogenado durante 30 minutos con un catalizador de níquel Raney previamente hidrogenado. El catalizador fué retirado por filtración y lavado con etanol.

5 El filtrado fué diluído con agua y sometido a extracción con acetato de etilo. Los extractos orgánicos reunidos fueron lavados con agua, y luego fueron sometidos a extracción con agua, con adición de ácido clorhídrico diluído, hasta que el pH llegó a 2,5. La fase acuosa fué separada

10 y liofilizada, dando el clorhidrato de alfa-amino-delta-metilpentilpenicilinato de 1'-acetoxietilo (0,7 g), en forma de cristales ligeramente amarillos.

El producto mostró fuerte absorción de beta-lactama a  $1770 - 1740 \text{ cm}^{-1}$ , e inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a  $0,63 \mu\text{g/ml}$ .

15

Ejemplo 6.- Ester 1'-acetoxietílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico

La sal sódica de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (96%, 12,4 g, 0,03 moles) fué dispersada en dimetilformamida seca (30 ml), y, bajo agitación y enfriamiento con hielo, disuelta con acetato de alfa-cloroetilo (3,7 g, 0,03 moles) en dimetilformamida seca (15 ml). Tras 30 minutos se continuó la agitación sin enfriamiento, durante la noche. La mezcla de reacción fué vertida en una solución saturada de bicarbonato sódico (500 ml),

20

25

obteniéndose una emulsión blanca. Esta emulsión fué diluída con H<sub>2</sub>O (400 ml) y sometida a extracción con éter tres veces. Las fases etéreas reunidas fueron lavadas con H<sub>2</sub>O y solución saturada de cloruro sódico, y fueron secadas.

5 La evaporación de la solución etérea bajo vacío dió el éster alfa-acetoxietílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (3,1 g), que tiene una pureza del 58% (determinación con hidroxilamina).

10 El producto tenía una fuerte absorción infrarroja a 2100 cm<sup>-1</sup> y 1760 cm<sup>-1</sup>, lo que muestra la presencia de un grupo azido y de un anillo de beta-lactama.

Ejemplo 7.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-acetoxietilo

15 a) El 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato de alfa-acetoxietilo (58%, 2,8 g), disuelto en acetato de etilo (40 ml), fué tratado con NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2M (40 ml), fué acidificado hasta pH 2,2 con ácido clorhídrico 2M, e hidrogenado con un catalizador de paladio sobre carbono, bajo condiciones ambiente, durante 2 horas. El catalizador fué separado por filtración y lavado con acetato de etilo y tampón. La fase orgánica de los filtrados reunidos fué separada y sometida a extracción con agua, a pH 2,1. Las fases acuosas ácidas reunidas fueron lavadas con éter, se formaron capas con acetato de etilo, y se neutralizó por adición de hidróxido sódico 2N con agitación. La

20

25

fase acuosa fué separada y sometida a extracción una vez con acetato de etilo. Los extractos reunidos en acetato de etilo, de la solución acuosa neutralizada, fueron lavados con salmuera y agua, y fueron sometidos dos veces a  
5 extracción con agua, a pH 2,5, por adición de ácido clorhídrico 2M. Los extractos acuosos ácidos reunidos fueron lavados con éter y concentrados bajo vacío a 25°C, dando un residuo aceitoso que fué disuelto en isopropanol y evaporado bajo vacío; repetidamente, dando el clorhidrato de  
10 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (1,1 g), en forma de polvo ligeramente coloreado con pureza del 100% (determinación con hidroxilamina).

El producto inhibió el crecimiento de *Staph. aureus* Oxford a concentración de 0,32  $\mu\text{g/ml}$ , y de *E. coli* y  
15 *P. mirabilis* a 50  $\mu\text{g/ml}$ .

b) Se preparó 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (fuerte absorción infrarroja a 2100  $\text{cm}^{-1}$  (grupo azido) y 1780 - 1760  $\text{cm}^{-1}$  (beta-lactama, éster)), según el método del ejemplo 1, a partir de  
20 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilanato sódico (397 g, 1 mol), acetato de alfa-cloroetilo (368 g, 3 moles) y bicarbonato sódico (504 g, 6 moles). El éster azido en acetato de etilo (800 ml) fué hidrogenado bajo condiciones ambiente, con catalizador de paladio (5%) sobre carbono (25 g).  
25 El catalizador fué separado por filtración y lavado con

acetato de etilo. Los filtrados combinados fueron sometidos a extracción con agua a pH 2,5, por adición de ácido clorhídrico diluido. La liofilización de la fase acuosa dió el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (110 g), p.f. 160 - 164°C (descomp.),  
5  $[\alpha]_D^{20} + 184^\circ$  (C = 1, CHCl<sub>3</sub>); + 179,9° (C = 1, isopropanol al 50%).

(Hallado: C, 50,78; H, 5,49; N, 8,76; O, 20,22; S, 6,58; Cl, 7,39%. Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>SCl: C, 50,90;  
10 H, 5,55; N, 8,90; O, 20,34; S, 6,79; Cl, 7,51%).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 1780 - 1755 cm<sup>-1</sup>, lo que muestra la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster, y se halló que inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0.25  
15 µg/ml.

c) Se agitó durante la noche una suspensión de alfa-(o-nitrofenilsulfenil)-aminofenilacetato de dicitclohexilamonio (4,9 g, 0,01 moles) y el clorhidrato de 6-amino penicilanato de 1'-acetoxietilo (3,4 g, 0,01 moles) en cloroformo (60 ml). Se añadió dicitclohexilcarbodiimida (2,2  
20 g, 0,01 moles), y se continuó la agitación durante 6 horas. La mezcla de reacción fué filtrada y lavada con agua, ácido sulfúrico diluido, bicarbonato potásico N y agua, y fué secada y evaporada a sequedad bajo vacío. El residuo  
25 amarillo fué tratado con acetato de etilo, fué filtrado y

evaporado de nuevo, dando un residuo que fué cristalizado en acetato de etilo/éter de petróleo, dando 6- $\beta$ -D-alfa-(o-nitrofenilsulfenil)-aminofenilacetamido- $\gamma$ -penicilinato de l'-acetoxietilo (1,5 g), p.f. 122 - 125°C.

5 El producto tenía fuerte absorción infrarroja a 1780 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster.

El éster o-nitrofenilsulfurilamínico (1,2 g, 0,002 moles) fué disuelto en dioxano al 75% (17 ml), y ajustado a pH 3 por adición de ácido clorhídrico 2N. Se añadió yoduro sódico (1,2 g, 0,008 moles), y la mezcla fué agitada y mantenida a pH 3 por adición de ácido. Tras 20 minutos, el yodo formado fué reducido con tiosulfato sódico 2N, y la mezcla fué neutralizada y sometida a extracción con acetato de etilo, tras adición de agua. Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con agua y sometidos a extracción con agua, por adición de ácido clorhídrico 2N a la mezcla agitada hasta que el pH llegó a 2. La fase acuosa fué lavada con acetato de etilo y liofilizada, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de l'-acetoxietilo (0,15 g). El producto fué identificado con el preparado en el ejemplo 7a, con ayuda de su espectro infrarrojo.

20 El compuesto intermedio 6- $\beta$ -D-alfa-(o-nitrofenilsulfuril)-aminofenilacetamido- $\gamma$ -penicilinato de l'-acetoxie

5      tilo fué obtenido también por acilación de 6-aminopenicilato de 1'-acetoxietilo con el anhídrido etoxifórmico mixto de ácido 2-(o-nitrofenilsulfenil)-aminofenilacético, o haciendo reaccionar ácido 6-[D-alfa-(o-nitrofenilsulfenil)-aminofenilacetamido]-penicilánico con acetato de alfa-cloroetilo.

Ejemplo 8

10      Repitiendo el método del ejemplo 7a se obtuvieron los siguientes ésteres de clorhidrato de ácido 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico, a partir de los correspondientes compuestos azido.

<u>Ester</u>	<u>Contenido (%)</u>	<u>Mínima concentración inhibidora, µg/ml</u>		
		<u>Staph. aur. E. Oxford</u>	<u>E. coli</u>	<u>P. mirabilis</u>
Ester metoxicarboniloximetílico	69	0,16	25	6,25
Ester etilcarbamato	48	0,16	12,5	6,25

20      (determinación de concentración según el método del hidroxamato; actividad antibacteriana determinada por el método de dilución de caldo en tubos).

25      Todos los ésteres de los ejemplos 7 y 8 fueron hidrolizados, con formación de ácido 6-(D-alfa-aminofenil

acetamido)-penicilánico, por incubación (37°C) con suero humano.

Ejemplo 9.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-propioniloxietilo

5                   Se agitaron a temperatura ambiente durante 65 horas, en dioxano al 70% (100 ml), 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato sódico (6,0 g, 0,015 moles), propionato de alfa-cloroetilo (5,7 g, 0,042 moles) y bicarbonato sódico (7,1 g, 0,084 moles). La fase sólida de la  
10                   mezcla de reacción fué separada por filtración y lavada con dioxano. Los filtrados reunidos fueron concentrados bajo vacío, y tratados con una mezcla de benceno (50 ml) y solución saturada de bicarbonato sódico (25 ml). La fase orgánica fué separada, lavada con salmuera, secada y  
15                   evaporada bajo vacío, dando 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato de 1'-propioniloxietilo (1,3 g) en forma de aceite amarillo, caracterizado por fuerte absorción infrarroja a 2110 y 1780 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de restos azido, beta-lactama y éster.

20                   El azidoéster, en acetato de etilo (50 ml), fué hidrogenado durante 30 minutos bajo condiciones ambiente, con un catalizador de paladio (5%) sobre carbono (1,3 g), previamente hidrogenado. El catalizador fué separado por filtración y lavado con acetato de etilo y agua. El pH de  
25                   los filtrados reunidos fué ajustado a 2,2 por adición de

ácido clorhídrico diluido. La fase acuosa fué separada, y la fase orgánica fué sometida una vez más a extracción con agua, a pH 2,2. Los extractos acuoso reunidos fueron liofilizados, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-propioniloxietilo (0,6 g), en forma de sólido amorfo.

El producto mostró en su espectro infrarrojo una fuerte absorción de beta-lactama y de carbonilos de éster a  $1760\text{ cm}^{-1}$ . Se halló que inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,63\text{ }\mu\text{g/ml}$ .

Ejemplo 10.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilatos de 1'-isobutiroxietilo y 1'-valeriloxietilo

Repetiendo los experimentos descritos en el ejemplo 17, pero reemplazando el propionato de alfa-cloroetilo por isobutirato de alfa-cloroetilo y valerato de alfa-cloroetilo, se obtuvieron los compuestos intermedios 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilatos de 1'-isobutiroxietilo y 1'-valeriloxietilo, respectivamente.

Los compuestos fueron caracterizados por sus espectros infrarrojos, que contienen fuertes bandas de absorción a  $2100\text{ cm}^{-1}$  y  $1780 - 1730\text{ cm}^{-1}$ , atribuibles a los restos azido, beta-lactama y éster. Por hidrogenación dieron 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilatos de 1'-isobutiroxietilo y 1'-valeriloxietilo, respectivamente, aislados como clorhidratos. Los aminoésteres tenían fuerte ab-

sorción de beta-lactama y éster en sus espectros infrarrojos, a alrededor de  $1760\text{ cm}^{-1}$ .

Ejemplo 11.- Ester metoxicarboniloximetílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico

5 Reemplazando en el ejemplo 6 el acetato de alfa-cloroetilo por carbonato de monoclorodimetilo (3,7 g, 0,03 moles), pero trabajando por lo demás de la misma manera que en dicho ejemplo, se obtuvo el éster metoxicarboniloximetílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (6,6 g), que tenía un contenido de 76,5% (determinación con hidroxilamina).

10 El producto mostró absorción infrarroja a  $2100\text{ cm}^{-1}$  (grupo  $\text{N}_3$ ) y  $1765\text{ cm}^{-1}$  (anillo de beta-lactama).

Ejemplo 12.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de metoxicarboniloximetilo

15 Según el método de los ejemplos 11 y 8, se preparó 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)penicilinato de metoxicarboniloximetilo, partiendo de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato sódico (24,2 g, 0,06 moles) y metilcarbonato de clorometilo (6,2 g, 0,06 moles). El compuesto  
20 fué aislado en forma de su clorhidrato (5,6 g), p.f. 145-150°C (descomp.).  $[\alpha]_D^{20}$ : +182,5 (C = 1,  $\text{CHCl}_3$ ); +191,2 (C = 1, isopropanol al 50%). (Hallado: C, 48,04; H, 5,27; O, 23,67; N, 8,94; S, 6,57 y Cl, 7,36%. Calculado para  
25  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_7\text{SCl}$ : C, 48,15; H, 5,10; N, 8,87; O, 23,63; S,

6,77 y Cl, 7,48%).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 1780 - 1760  $\text{cm}^{-1}$ , lo que mostraba la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster. Se halló que inhibía el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,13  $\mu\text{g/ml}$ .

Ejemplo 13.- 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo

La sal sódica de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (4,0 g, 0,01 moles) fué dispersada en dimetilformamida seca (10 ml) y tratada, con agitación, a 50°C, con carbonato de alfa-clorodietilo (1,5 g, 0,01 moles) disuelto en dimetilformamida seca (6 ml). Tras agitar durante 20 horas a 50°C, la mezcla de reacción fué enfriada y vertida en una solución helada saturada de bicarbonato sódico, y fué sometida a extracción tres veces con éter. Las fases etéreas reunidas fueron lavadas con agua y salmuera, y secadas. La evaporación bajo vacío dió el éster alfa-etoxicarboniloxietílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (2,6 g), en forma de vidrio amarillo-castaño.

El producto tenía fuerte absorción infrarroja a 2100  $\text{cm}^{-1}$  y 1750  $\text{cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de un grupo azido y anillo de beta-lactama y un grupo éster.

Ejemplo 14.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato

de 1'-etoxicarboniloxietilo

El éster alfa-etoxicarboniloxietílico de ácido  
6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (2,5 g) fué  
disuelto en acetato de etilo (40 ml), y se añadieron 0,4  
5 moles de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  acidificado a pH 2,2 con 2 moles de áci-  
do clorhídrico (40 ml) y catalizador de paladio al 10% so-  
bre carbono (4 g), y se efectuó la hidrogenación a presión  
normal durante 0,5 horas. El catalizador fué separado por  
filtración y lavado con acetato de etilo y solución tampón.  
10 El filtrado fué separado y la fase orgánica fué sometida a  
extracción con agua a pH 2,1. Las fases acuosas ácidas reu-  
nidas fueron lavadas con éter, se añadió acetato de etilo,  
y se efectuó la neutralización con agitación, con 2 moles  
de NaOH. Las fases fueron separadas, y la solución acuosa  
15 fué sometida de nuevo a extracción con acetato de etilo.  
Los dos extractos en acetato de etilo fueron reunidos, la-  
vados con salmuera y agua, y sometidos a extracción con  
agua a pH 2,5, por adición de 2 moles de ácido clorhídrico.  
La extracción de la fase de acetato de etilo fué repeti-  
20 da una vez más. Los extractos acuosos ácidos reunidos fue-  
ron lavados con éter y concentrados bajo vacío, a 25°C.  
El residuo semisólido fué disuelto en isopropanol y concen-  
trado de nuevo, repitiéndose el método una vez. El residuo  
fué agitado con éter, filtrado y lavado con éter, dando el  
25 éster alfa-etoxicarboniloxietílico de clorhidrato de áci-

do 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico (0,8 g), en forma de polvo amarillo-blanco que tenía un contenido de 86,4% (determinación con hidroxilamina).

5 El producto inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,13  $\mu\text{g/ml}$ , y de K<sub>g</sub> coli a 125  $\mu\text{g/ml}$  (ensayo de solución en agar), y contenía en su espectro infrarrojo una fuerte banda de absorción a 1750  $\text{cm}^{-1}$ , que muestra la presencia de una función beta-lactama y éster.

10 El ázidoéster (3,2 g) fué obtenido también tratando el clorhidrato de 6-aminopenicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo (3,3 g, 0,01 moles) en dimetilformamida seca (50 ml) con cloruro de alfa-azidofenilacetilo (2 g, 0,01 moles), en presencia de trietilamina (2 g, 0,01 moles).

15 Tras dilución de la mezcla de reacción con agua, el éster fué aislado por extracción con acetato de etilo.

Ejemplo 15.-- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano  
de 1'-etoxicarboniloxietilo

20 Según el método del ejemplo 1, se preparó 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilano de 1'-etoxicarboniloxietilo (98 g) a partir de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilano sódico (397 g, 1 mol), carbonato de alfa-clorodietilo (458 g, 3 moles) y bicarbonato sódico (504 g, 6 moles). El producto mostró fuerte absorción infrarroja  
25 a 2090  $\text{cm}^{-1}$  y 1780 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , lo que muestra la presen-

cia de grupo azido y beta-lactama y carbonilos de éster.

Fué disuelto en acetato de etilo (700 ml) e hidrogenado bajo condiciones ambiente con catalizador de paladio (5%) sobre carbono (18 g). El catalizador fué separado por filtración y lavado con acetato de etilo. Los filtrados reunidos fueron sometidos a extracción con agua a pH 2,5, por adición de ácido clorhídrico diluido. La licofilización de la fase acuosa dió el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo (94 g), p.f. 171 - 176°C (descomp.).  $[\alpha]_D^{20}$  + 161,5 (C = 1, CHCl<sub>3</sub>); + 171,8 (C = 1, isopropanol al 50%). (Hallado: C, 50,06; H, 5,82; O, 22,26; N, 8,35; S, 6,56; Cl, 7,19%. Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>SCl: C, 50,24; H, 5,68; N, 8,37; O, 22,31; S, 6,39; Cl, 7,06%).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 1780 - 1750 cm<sup>-1</sup>, debido a la beta-lactama y carbonilos de éster, y se halló que inhibía el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,13 µg/ml.

Ejemplo 16.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo

a) A una suspensión del clorhidrato de cloruro de alfa-aminofenilacetilo (2,6 g, 0,0125 moles) agitado en cloroformo seco (50 ml), bajo nitrógeno seco, se añadieron bicarbonato sódico (1,1 g, 0,0125 moles) y el clorhidrato de 6-aminopenicilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo (3,3 g,

0,01 moles). Tras agitar durante 90 minutos, la mezcla fué filtrada y se añadió isopropanol (15 ml) al filtrado. La evaporación bajo vacío, a temperatura ambiente, dió un residuo aceitoso que, por dilución con éter de petróleo, precipitó el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo (1,5 g). El producto fué purificado por precipitación en acetona-éter de petróleo.

5

La identidad del producto fué determinada por comparación de su espectro infrarrojo con el del producto del ejemplo 15.

10

b) El N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-aminofenilacetato sódico (2,5 g, 0,0092 moles) y N-metilmorfolina (0,05 ml), en acetato de etilo seco (40 ml), fueron agitados y tratados a -15°C con cloroformiato de isobutilo (1,4 g, 0,01 moles). Tras 6 minutos se añadió gota a gota 6-aminopenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo (0,01 moles) en acetato de etilo (20 ml), mientras se continuaba la agitación y se mantenía la temperatura a -15°C. A los 10 minutos tras haberse completado la adición, el baño de enfriamiento fué retirado y se continuó la agitación durante 45 minutos. La mezcla de reacción fué lavada con agua, con 0,5 moles de bicarbonato sódico y de nuevo con agua, y fué secada y concentrada bajo vacío hasta residuo aceitoso que fué tratado con tetrahidrofurano (20 ml) y

15

20

25

agua (20 ml). La mezcla fué acidificada hasta pH 2,5 por adición de ácido clorhídrico 2N. Tras 30 minutos, la mayor parte del tetrahidrofurano fué eliminada bajo vacío, y la fase acuosa ácida fué lavada con acetato de etilo y fué evaporada, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo (0,35 g), en forma de sólido amorfo, identificado como el producto antes obtenido, mediante su espectro infrarrojo.

La solución de 6-aminopenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo usada fué obtenida por neutralización de una solución acuosa de su clorhidrato, y extracción con acetato de etilo.

Ejemplo 17.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarboniloximetilo

Una suspensión agitada de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato sódico (12,1 g, 0,03 moles) en dimetilformamida seca (30 ml) fué tratada con carbonato de clorometiletilo (4,2 g, 0,03 moles) en dimetilformamida seca (15 ml), en el baño de hielo. Tras 45 minutos, el baño de enfriamiento fué retirado y se continuó la agitación durante la noche. La mezcla de reacción oscura fué vertida en dos veces su volumen de solución saturada de bicarbonato sódico, y la fase sólida hallada fué separada por filtración y lavada con agua y éter. Los filtrados combinados fueron sometidos a extracción con éter. Los extractos eté

reos fueron lavados con agua, secados y evaporados bajo vacío a temperatura ambiente, dando 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de etoxicarboniloximetilo (4,7 g) en forma de aceite parduzco. El producto mostró fuertes bandas de absorción en el infrarrojo a  $2120\text{ cm}^{-1}$  y  $1780-1750\text{ cm}^{-1}$ , atribuibles al grupo azido y a la beta-lactama y carbonilos de éster, respectivamente.

El azidoéster (2,6 g) fué disuelto en etanol al 60% (50 ml) y fué hidrogenado durante 30 minutos a  $4,2\text{ kg/cm}^2$  con un catalizador de níquel Raney previamente hidrogenado. El catalizador fué separado por filtración y lavado con etanol. El filtrado fué diluído con agua y sometido a extracción con acetato de etilo. Los extractos orgánicos reunidos fueron lavados con acetato de etilo, y luego fueron sometidos a extracción con agua por adición de ácido clorhídrico diluído, hasta que el pH alcanzó 2,5. La fase acuosa fué separada y liofilizada, dando el clorhidrato cristalino de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloximetilo (0,7 g). El producto mostró fuerte absorción infrarroja a  $1760\text{ cm}^{-1}$ , e inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a  $0,05\text{ }\mu\text{g/ml}$ .

Ejemplo 18.-- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilinato de propoxicarboniloximetilo

Según el método del ejemplo 17 se obtuvo 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilinato de propoxicarboni

loximetilo (5,2 g) a partir de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilano sódico (12,1 g, 0,03 moles) y n-propilcarbonato de clorometilo (4,6 g, 0,03 moles). Presentó fuerte absorción infrarroja a  $2120\text{ cm}^{-1}$  y  $1780 - 1740\text{ cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de grupo azido y de beta-lactama y carbonilos de éster, respectivamente.

Por hidrogenación sobre níquel Raney, el azidocéster (2,9 g) dió 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano de propoxicarboniloximetilo, aislado como su clorhidrato (1,0 g). Mostró fuertes bandas de absorción de beta-lactama y éster, en el infrarrojo, a  $1775\text{ cm}^{-1}$ , e inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,05\text{ ug/ml}$ .

Ejemplo 19.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano de isopropoxicarboniloximetilo

De la manera descrita en el ejemplo 17 se obtuvo 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilano de isopropoxicarboniloximetilo (7,2 g) a partir de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilano sódico (9,9 g, 0,025 moles) e isopropilcarbonato de clorometilo (3,8 g, 0,025 moles). Su espectro infrarrojo contenía fuertes bandas de absorción a  $2110\text{ cm}^{-1}$  (grupo azido) y  $1780 - 1740\text{ cm}^{-1}$  (beta-lactama y carbonilos de éster).

La hidrogenación sobre níquel Raney convirtió al azidocéster (4,4 g) en 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-peni

cilanato de isopropoxicarboniloximetilo, aislado como su clorhidrato (1,3 g). Mostró fuerte absorción en el infrarrojo a  $1760\text{ cm}^{-1}$ , característica de la beta-lactama y los carbonilos de éster, e inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,05\text{ }\mu\text{g/ml}$ .

5 Ejemplo 20.- 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de butoxicarboniloximetilo

Según el método del ejemplo 17, se preparó 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilanato de butoxicarboniloximetilo (6,0 g) a partir de 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilanato sódico (9,9 g, 0,025 moles) y carbonato de clorometil-n-butilo (4,2 g, 0,025 moles). El compuesto mostró fuerte absorción infrarroja a  $2120\text{ cm}^{-1}$  (grupo azido) y  $1780 - 1750\text{ cm}^{-1}$  (beta-lactama y carbonilos de éster).

10 El azidoéster (2,9 g) fué hidrogenado con níquel Raney, dando 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de butoxicarboniloximetilo, aislado en forma de su clorhidrato (1,0 g). Mostró fuerte absorción infrarroja a  $1780 - 1770\text{ cm}^{-1}$  (beta-lactama y carbonilos de éster), e inhibió el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,05\text{ }\mu\text{g/ml}$ .

15 Ejemplo 21.- Ester etilcarbamatometílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico

25 A una dispersión agitada y helada de la sal sódica

ca de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-penicilánico (98%, 7,2 g, 0,018 moles) en dimetilformamida seca (18 ml) se añadió N-clorometiletiluretano (2,1 g, 0,018 moles) di suelto en dimetilformamida (10 ml). Tras 40 minutos, la   
 5 agitación fué continuada durante la noche, sin enfriamien to.

La mezcla de reacción fué vertida en solución fría de bicarbonato sódico (400 ml) y fué sometida a extrac ción dos veces con éter. Las fases etéreas reunidas fueron   
 10 lavadas con agua y solución de cloruro sódico, y secadas. La evaporización del extracto etéreo dió el éster etilcar ba matometílico de ácido 6-(D-alfa-azidofenilacetamido)-pe nicilánico (2,6 g).

Tras reprecipitación del producto con cloruro de metileno/éter de petróleo, se obtuvieron 2,3 g que tenían una pureza del 57,7%.

Ejemplo 22.- 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-peni-  
cilánico de 1'-acetoxietilo

El clorhidrato de 6-aminopenicilánico de 1'-ace toxi etilo (3,4 g, 0,01 moles) en dimetilformamida seca (50 ml) fué agitado en el baño de hielo y tratado con N,N-dimetilanilina (2,4g, 0,02 moles), seguida por una solución de cloruro de alfa-azido-m-fluorofenilacetilo (2,1 g, 0,01 moles) en éter seco (5 ml). Tras agitar durante 1 hora se   
 20 añadió agua (100 ml), y la mezcla fué ajustada a pH 6,5 y   
 25

sometida tres veces a extracción con acetato de etilo. Los extractos orgánicos reunidos fueron lavados con agua y salmuera, secados y evaporados bajo vacío, dando 6-(D-alfa-azido-m-fluorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (1,5 g) en forma de residuo aceitoso. Este producto mostró fuerte absorción infrarroja a 2110 y 1780 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , lo que indica la presencia del grupo azido y de beta-lactama y carbonilos de éster.

El azidoéster (0,7 g) fué disuelto en etanol al 60% (7 ml) y añadido a catalizador de níquel Raney previamente hidrogenado (0,7 g) en etanol al 80% (5 ml), e hidrogenado durante 30 minutos bajo condiciones ambiente. El catalizador fué separado por filtración y lavado con etanol. Los filtrados reunidos fueron concentrados bajo vacío a 35°C, hasta residuo aceitoso que fué disuelto en acetato de etilo. Se añadió agua (20 ml) y el pH fué ajustado a 1,6 por adición de ácido clorhídrico 2N a la mezcla agitada. La fase acuosa fué separada y evaporada bajo vacío, a 35°C, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (0,4 g) como residuo cristalino.

Se halló que el producto inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , y que contiene en su espectro infrarrojo una fuerte absorción de beta-lactama a 1760  $\text{cm}^{-1}$ .

Ejemplo 23.- 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-peni-  
cilanato de 1'-etiloxicarboniloxietilo

Se añadió carbonato de alfa-clorodietilo (4,6 g, 0,03 moles) a 6-(D-alfa-azido-m-fluorofenilacetamido)-peni  
5 cilanato sódico (4,2 g, 0,01 moles) y bicarbonato sódico (5,1 g, 0,06 moles) en dioxano al 70% (15 ml), y la mezcla  
fue agitada durante 2 días a temperatura ambiente. La mez  
cla de reacción fue filtrada. El residuo fue lavado con dio  
xano, y los filtrados reunidos fueron evaporados a seque  
10 dad bajo vacío. El residuo fue disuelto en una mezcla de  
benceno (40 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (20  
ml). La fase orgánica fue separada, lavada con salmuera,  
secada y evaporada, dando 6-(D-alfa-azido-m-fluorofenil-  
acetamido)-penicilanato de 1'-etiloxicarboniloxietilo (1,0  
15 g).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja  
a 2100 y 1750  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes al grupo azido y a  
los restos de beta-lactama y éster, respectivamente.

Fue disuelto en acetato de etilo (10 ml) y aña  
20 dido a catalizador de hidrogenación, de paladio sobre car  
bono (5%) (0,5 g), previamente hidrogenado, en acetato de  
etilo (5 ml), y se hidrogenó durante 2 horas bajo condicio  
nes ambiente. El catalizador fue separado por filtración  
y lavado con acetato de etilo. Se añadió agua (10 ml) a los  
25 filtrados reunidos, y se ajustó el pH a 2,2 por adición de

ácido clorhídrico 2N a la mezcla agitada. La fase acuosa  
fue separada, lavada con éter y liofilizada, dando el clor  
hidrato de 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenilacetamido)-penici  
lanato de 1'-etiloxicarboniloxietilo (0,2 g), en forma de  
residuo cristalino blanco.

Se halló que el producto contiene en su espectro  
infrarrojo una fuerte absorción a  $1780\text{ cm}^{-1}$ , correspondien  
te a un anillo de beta-lactama. Inhibió el crecimiento de  
Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,13\text{ }\mu\text{g/mol}$ .

Ejemplo 24.- 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-peni-  
cilanato de 1'-acetoxietilo

Usando el método descrito en el ejemplo 23, se  
preparó 6-(D-alfa-azido-p-fluorofenilacetamido)-penicila  
nato de 1'-acetoxietilo (2,2 g) a partir de 6-(D-alfa-azi  
do-p-fluorofenilacetamido)-penicilanato sódico (4,2 g,  
0,01 moles), acetato de alfa-cloroetilo (3,7 g, 0,03 moles)  
y bicarbonato sódico (5 g, 0,06 moles). El espectro infrar  
rojo del producto mostró fuertes absorciones a  $2110\text{ cm}^{-1}$   
(grupo azido) y  $1775 - 1750\text{ cm}^{-1}$  (beta-lactama y carbonilos  
de éster).

El azidoéster fue hidrogenado según el método des  
crito en el ejemplo 22, sobre catalizador de níquel Raney,  
dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilaceta  
mido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (1,5 g) en forma de  
cristales ligeramente amarillos. El producto mostró en su

espectro infrarrojo una fuerte absorción de beta-lactama y éster a  $1765\text{ cm}^{-1}$ , y se halló que inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de  $0,25\text{ }\mu\text{g/ml}$ .

5 Ejemplo 25.- 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-etiloxicarbonilo

Se añadió carbonato de alfa-clorodietilo (4,6 g, 0,03 moles) a 6-(D-alfa-azido-p-fluorofenilacetamido)-penicilanato sódico (4,2 g, 0,01 moles) y bicarbonato sódico (5,1 g, 0,06 moles) en dioxano al 70% (15 ml), y la mezcla  
10 fué agitada durante 2 días a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla de reacción; el residuo fué lavado con dioxano, y los filtrados reunidos fueron evaporados a sequedad bajo vacío. El residuo fué disuelto en una mezcla de benceno (40 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (20  
15 ml). La fase orgánica fué separada, lavada con salmuera, secada y evaporada bajo vacío, dando 6-(D-alfa-azido-p-fluorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-etiloxicarbonilo (1,9 g).

El producto mostró fuerte absorción infrarroja  
20 a  $2110$  y  $1750\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo azido y a los restos de beta-lactama y éster, respectivamente. Fué disuelto en acetato de etilo (10 ml) y añadido a catalizador de paladio previamente hidrogenado al (5%) sobre carbón (0,5 g), en acetato de etilo (5 ml), e hidrogenado  
25 durante 2 horas bajo condiciones ambiente. El catalizador

fué separado por filtración y lavado con acetato de etilo. Se añadió agua (10 ml) a los filtrados reunidos, y el pH fué ajustado a 2,2 por adición de ácido clorhídrico 2N a la mezcla agitada. La fase acuosa fué separada, lavada con éter y evaporada a sequedad bajo vacío, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-amino-p-fluorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-etiloxicarboniloxietilo (0,2 g) en forma de cristales blancos.

Se halló que el producto contiene una fuerte absorción de beta-lactama en su espectro infrarrojo, a 1760  $\text{cm}^{-1}$ , y que inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,25  $\mu\text{g/ml}$ .

Ejemplo 26.- 6-(alfa-amino-p-clorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo

Se disolvió alfa-azido-p-clorobencilpenicilinato potásico (0,55 g, 0,00138 moles) en dioxano al 70% (3 ml), se trató con bicarbonato sódico (0,63 g, 0,0075 moles), seguido por acetato de alfa-cloroetilo (0,45 g, 0,0037 moles), mientras se agitaba a temperatura ambiente. Tras 2 días, la mezcla de reacción fué diluida con agua y sometida a extracción repetidamente con acetato de etilo. Los extractos reunidos fueron lavados con salmuera, secados y evaporados, dando 6-(alfa-azido-p-clorofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (0,42 g), en forma de aceite amarillo.

El producto mostró fuerte absorción infrarroja a 2110 y 1770 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes al grupo azido y a los restos de beta-lactama y éster, respectivamente. Fue disuelto en etanol al 70% (7 ml) e hidrogenado durante 30 minutos a 4,2  $\text{kg}/\text{cm}^2$ , con un catalizador de níquel Raney previamente hidrogenado. El catalizador fue separado por filtración y lavado con etanol. Los filtrados reunidos fueron diluidos con agua y sometidos a extracción con acetato de etilo. Se añadió agua a la fase orgánica, y el pH de la mezcla fue ajustado a pH 2,2 por adición de ácido clorhídrico diluido. La liofilización de la fase acuosa dió clorhidrato de 6-(alfa-amino-p-clorofenilacetamido)-penicilinato de 1'-acetoxietilo (0,23 g), en forma de residuo cristalino.

Se halló que el producto contenía una fuerte absorción de beta-lactama en su espectro infrarrojo, a 1760 - 1740  $\text{cm}^{-1}$ , y que inhibía el crecimiento de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,63  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Ejemplo 27.- 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilinato de 1'-acetoxietilo

(-)-N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-p-hidroxifenilacetato sódico (2,9 g, 0,01 moles) en acetato de etilo seco (40 ml) fue agitado y tratado a de -15 a -20°C con N-metilmorfolina (unas pocas gotas), seguida por cloroformato de isobutilo (1,4 g, 0,01 moles). Tras 5 mi-

5           nutos se añadió rápidamente una solución de 6-aminopenicil  
lanato de 1'-acetoxietilo (3 g, 0,01 moles) en acetato de  
etilo (20 ml) enfriado a -15°C. Tras agitar durante 60 mi  
nutos sin enfriamiento exterior, la mezcla de reacción fué  
lavada con agua, bicarbonato potásico 0,5M, y agua, y fué  
secada y evaporada bajo vacío a temperatura ambiente, has  
ta sequedad. El residuo fué disuelto en una mezcla 1:1 de  
10           tetrahidrofurano y agua (50 ml), y fué agitado y mantenido  
durante 30 minutos a pH 2,5, por adición de ácido clorhi  
drico 2M. El tetrahidrofurano fué evaporado bajo vacío, y  
la fase acuosa restante fué lavada con acetato de etilo,  
diluída con isopropanol y evaporada bajo vacío a temperatu  
ra ambiente, dando el clorhidrato de 6-(D-alfa-amino-p-  
hidroxifenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (2,3  
15           g), en forma de cristales blancos. El producto mostró en  
el infrarrojo fuertes bandas de absorción a 1760 cm<sup>-1</sup>,  
atribuibles a la beta-lactama y los carbonilos de éster.  
Se halló que inhibía el crecimiento de Staph. aureus Ox-  
ford a una concentración de 0,25 µg/ml.

20           La solución de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-  
penicilanato de 1'-acetoxietilo usada fué preparada por neu  
tralización de una solución acuosa de su clorhidrato y ex  
tracción con acetato de etilo.

25           Ejemplo 28.- 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-peni-  
cilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo

Según el método del ejemplo 27, el 6-(D-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido)-penicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo, aislado como su clorhidrato (1,4 g), fué preparado a partir de (-)N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-p-hidroxifenilacetato sódico (2,9 g, 0,01 moles) y 6-aminopenicilinato de 1'-etoxicarboniloxietilo (0,01 moles).

El producto contenía en su espectro infrarrojo una fuerte absorción a  $1760\text{ cm}^{-1}$ , lo que muestra la presencia de beta-lactama y carbonilos de éster. Se halló que inhibe el crecimiento de Staph. aureus Oxford a  $0,25\ \mu\text{g/ml}$ .

Ejemplo 29.- 6-(alfa-amino-3-furilacetamido)-penicilinato de 1'-acetoxietilo

El N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-3-furilacetato sódico (2,5 g, 0,0095 moles) y N-metilmorfolina (0,05 ml en acetato de etilo seco (40 ml) fueron agitados y tratados a  $-15^{\circ}\text{C}$  con cloroformiato de isobutilo (1,4 g, 0,01 moles). Tras 5 minutos, se añadió gota a gota 6-aminopenicilinato de 1'-acetoxietilo en acetato de etilo (20 ml), mientras se continuaba la agitación y se mantenía la temperatura a  $-15^{\circ}\text{C}$ . A los 10 minutos tras completarse la adición, el baño de enfriamiento fué retirado y se continuó agitando durante 45 minutos. La mezcla de reacción fué lavada con agua, 0,5 moles de bicarbonato sódico,

y agua de nuevo, y se secó y concentró bajo vacío hasta re-  
siduo aceitoso que fué tratado con tetrahidrofurano (20 ml)  
y agua (20 ml), y fué mantenido a pH 2,5 durante 30 minu-  
tos por adición de ácido clorhídrico diluído. La mayor par-  
te del tetrahidrofurano fué evaporada bajo vacío, y la fa-  
se acuosa fué lavada con acetato de etilo y liofilizada,  
dando el clorhidrato de 6-(alfa-amino-3-furilacetamido)-  
penicilinato de 1'-acetoxietilo (1,9 g), en forma de masa  
vítrea blanca.

Se halló que el producto inhibía el crecimiento  
de Staph. aureus Oxford a una concentración de 0,63  $\mu\text{g/ml}$ ,  
y que contenía en su espectro infrarrojo una fuerte absor-  
ción a  $1760\text{ cm}^{-1}$ , atribuible al anillo de beta-lactama y  
a los grupos éster.

La solución de 6-aminopenicilinato de 1'-acetoxie-  
tilo fué obtenida por neutralización y extracción con ace-  
tato de etilo, de una solución acuosa de su clorhidrato.  
El N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-3-furilaceta-  
to sódico fué preparado por reacción de alfa-amino-3-furil  
acetato sódico y acetoacetato de metilo, en tolueno a re-  
flujo.

Ejemplo 30.- 6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilana-  
to de 1'-etoxicarboniloxietilo

De la manera descrita en el ejemplo 29, el clor-  
hidrato de 6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilinato

de 1'-etoxicarboniloxietilo fué preparado a partir de 6-aminopenicilanoato de 1'-etoxicarboniloxietilo y N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-3-tienilacetato sódico. Se halló que el producto contiene una fuerte absorción a  $1760\text{ cm}^{-1}$  en su espectro infrarrojo, lo que muestra la presencia de restos de beta-lactama y éster.

Ejemplo 31.- 6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilanoato de 1'-acetoxietilo

El clorhidrato de 6-(alfa-amino-3-tienilacetamido)-penicilanoato de 1'-acetoxietilo (1,2 g) fué obtenido según el método del ejemplo 29, a partir de N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-3-tienilacetato sódico (2,8 g, 0,01 moles) y 6-aminopenicilanoato de 1'-acetoxietilo (0,01 moles).

El producto mostró en su espectro infrarrojo fuerte absorción de beta-lactama y éster, a  $1760\text{ cm}^{-1}$ .

El N-(1-metoxicarbonilpropen-2-il)-alfa-amino-3-tienilacetato sódico fué obtenido por reacción de acetato de metilo y alfa-amino-3-tienilacetato sódico, en tolueno a reflujo.

Ejemplo 32.- Absorción oral de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanoato de 1'-acetoxietilo y de 1'-etoxicarboniloxietilo, en seres humanos

La absorción oral de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanoato de 1'-etoxicarboniloxietilo (I), y de 6-

(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilanato de 1'-acetoxietilo (II), fué estudiada en un experimento cruzado con 9 voluntarios varones sanos, usando ácido 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilánico (ampicilina) como referencia. Los compuestos fueron administrados en tabletas con la siguiente composición:

	I	II
Ester de penicilina	359 mg	338 mg
Almidón de maíz	101 mg	102 mg
10 Estearato de magnesio	10 mg	10 mg

Las cantidades de los ésteres corresponden a 250 mg de ampicilina libre. El compuesto de referencia fué administrado en una tableta disponible en el comercio (Dokta cillin 0,25 g) que contenía 250 mg de ampicilina libre.

15 Las tabletas fueron tomadas con el estómago vacío. Se tomaron muestras de sangre a intervalos predeterminados, y se analizaron para determinar su contenido de ampicilina, usando una determinación microbiológica. Se hallaron los siguientes niveles medios en suero (en  $\mu\text{g/ml}$ ), con el error  
20 típico sobre la media:

Tiempo (horas)

<u>Compues</u> <u>to</u>		<u>0,5</u>	<u>1</u>	<u>1,5</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	<u>8</u>
5	I	5,99 ±0,90	4,79 ±0,35	3,47 ±0,32	2,51 ±0,16	1,14 ±0,13	0,71 ±0,10	0,20 ±0,026	0,069 ±0,011
	II	7,48 ±0,86	5,38 ±0,38	3,88 ±0,33	2,80 ±0,38	1,17 ±0,18	0,68 ±0,11	0,19 ±0,035	0,065 ±0,016
10	<u>Ampici</u> <u>lina</u>	0,48 ±0,17	1,49 ±0,29	2,30 ±0,32	2,28 ±0,31	1,66 ±0,25	1,52 ±0,25	0,35 ±0,062	0,12 ±0,026

15 Las excreciones medias acumulativas en orina tras 8 horas, en tanto por ciento respecto a la dosis dada, fueron:

I	53,4 ± 2,5%
II	53,7 ± 4,9%
Ampicilina	34,5 ± 2,8%

20 Ejemplo 33.- Hidrólisis de ésteres de aminopenicilina a las correspondientes aminopenicilinas, en tampón y en presencia de suero humano

25 La hidrólisis de los ésteres de las aminopenicilinas preparadas según la invención fué determinada en solución tampón, con y sin suero humano presente. Los ésteres



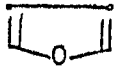
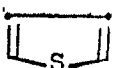
% hidrolizado tras 30  
min a 37°C

	R	R <sup>1</sup>	Ejem- plo	Tampón de fos- fato	Tampón de fos fato + 10% de suero humano
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH} \\   \\ \text{-CH-OCOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	9	6,8	17,6
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CH-OCOCH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	10	5,2	12,1
10	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CH-OCOC}_4\text{H}_9 \end{array}$	10	4,9	14,3
	"	-CH <sub>2</sub> OCOOCH <sub>3</sub>	8	24,8	77,9
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CHOCOOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	13	3,8	57,1
	"	-CH <sub>2</sub> OCOOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	17	13,3	64,7
	"	-CH <sub>2</sub> OCOOOC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	18	14,5	53,7
15	"	-CH <sub>2</sub> OCOOCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	19	15,2	68,4
	"	-CH <sub>2</sub> OCOOOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	20	13,0	41,1
	"	-CH <sub>2</sub> NHCOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	8	7,1	15,2
20	m-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CH-OCOCH}_3 \end{array}$	22	3,1	16,4
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CH-OCOOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	23	2,6	37,7
	p-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{-CH-OCOCH}_3 \end{array}$	24	9	14,3

25

7.4.72

% hidrolizado tras 30 min a 37°C

R	R <sup>1</sup>	Ejem- plo	Tampón de fosfato	Tampón de fos- fato + 10% de suero humano	
5	p-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	25	1,4	20,2
	p-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	26	10,8	15,6
	p-HO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	27	2,5	6,3
10	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	28	5,0	33,1
		$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	29	3,5	12,4
15		$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOCH}_3 \end{array}$	30	6,7	8,0
	"	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}-\text{OCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	31	7,0	35,2

20 Ejemplo 34.- Formulaciones farmacéuticas

Para la preparación de tabletas se hicieron las siguientes composiciones:

- a) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)-penicilano de 1'-acetoxietilo 338 mg  
Almidón 100 mg

25

7.4.72

	Estearato de magnesio	10 mg
	b) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilانات de 1'-etoxicarboniloxietilo	359 mg
	Almidón	100 mg
5	Estearato de magnesio	10 mg
	c) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilانات de etoxicarboniloximetilo	350 mg
	Carbonato cálcico	100 mg
	Estearato de magnesio	10 mg
10	d) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilانات de 1'-etoxicarboniloximetilo	359 mg
	Lactosa	100 mg
	Estearato de magnesio	10 mg
15	e) Clorhidrato de 6-(D-alfa-amino-m-fluorofenil acetamido)-penicilانات de 1'-etoxicarboniloxi metilo	370 mg
	Celulosa microcristalina (Avicel, marca regis- trada)	100 mg
	Estearato de magnesio	10 mg
20	f) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilانات de 1'-acetoxietilo	338 mg
	Carbonato cálcico	100 mg
	Lactosa	100 mg
	Estearato de magnesio	10 mg

25                    Para llenar cápsulas se hicieron las siguientes

formulaciones:

	g) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilanato de 1'-acetoxietilo	350 mg
	Estearato de magnesio	5 mg
5	h) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo	350 mg
	Lactosa	40 mg
	Estearato de magnesio	5 mg

Para suspensiones orales se prepararon las siguientes formulaciones:

10	i) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilanato de 1'-acetoxietilo	34 mg
	Monoestearato de aluminio	50 mg
	Tween - 80 (marca registrada)	1,2 mg
15	Aceite de cacahuete	hasta 1000 mg
	j) Clorhidrato de 6-(D-alfa-aminofenilacetamido)- penicilanato de 1'-etoxicarboniloxietilo	36 g
	Benzoato sódico	0,48 g
	Cloruro sódico	0,75 g
20	Agentes para dar sabor	4,7 g
	Aerosil (marca registrada)	0,3 g
	Antifoam (marca registrada)	0,0375 g
	Sales alcalinas de sulfatos de polisacáridos	4,0 g
	Sacarinato sódico	0,4 g
25	Sorbita	hasta 100 g

La presente solicitud, que corresponde a las presentadas en Suecia, el 17 de Septiembre de 1.970, bajo el número 12688/70 y 20 de Noviembre de 1.970 bajo el número 15720/70, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

10

- REIVINDICACIONES -

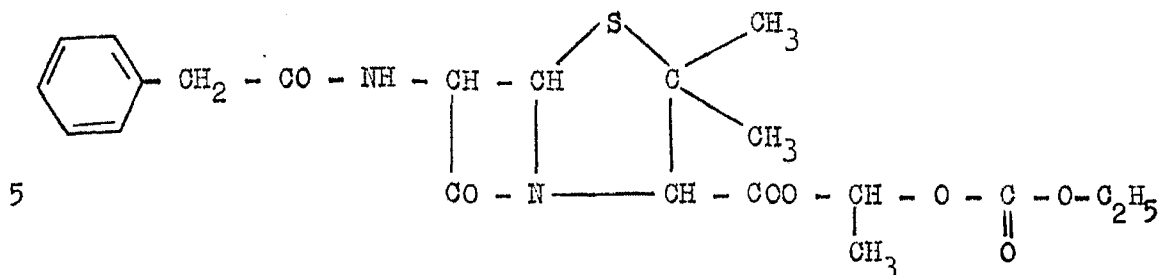
15

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

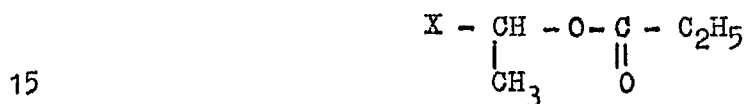
20

1ª.- Un procedimiento para la preparación del éster etoxicarboniloxietílico de bencil-penicilina que tiene la fórmula:

25



10 o una sal de sus sales de adición de ácido o uno de sus isómeros ópticos, caracterizado por esterificar bencilpenicilina o una sal de la misma, con un compuesto de la fórmula:



20 en la que X es un átomo de halógeno o un grupo funcionalmente equivalente del mismo, siendo convertido, si se desea, el compuesto así obtenido en una sal de adición de ácido y/o un isómero óptico de dicho compuesto.

2a.- UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DEL ESTER ETOXICARBONILOXETILICO DE BENCILPENICILINA.

25 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de sesenta y dos hojas  
escritas a máquina por una sola cara.

5

Madrid,

P.º. - 2 ABR. 1975

Alberto de Euzkadi  
For Foras  
