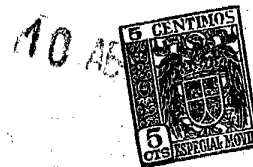


266444
PATENTE DE INVENCION
=====

Your Ref: 7955



Memoria Descriptiva

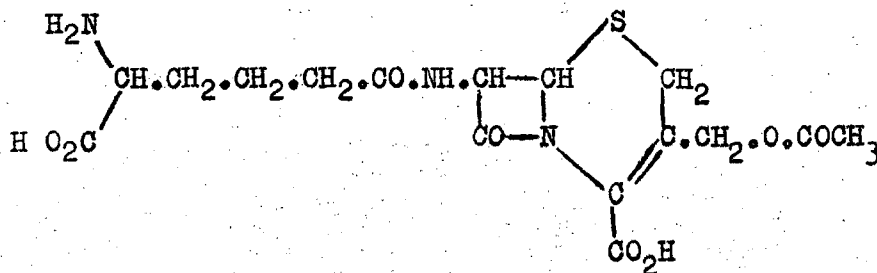
sobre:

"Procedimiento de obtención de derivados de cefalosporina C y
de sus compuestos"

Solicitante: NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORPORATION,
entidad inglesa, residente en
1, Tilney Street, Londres, Inglaterra

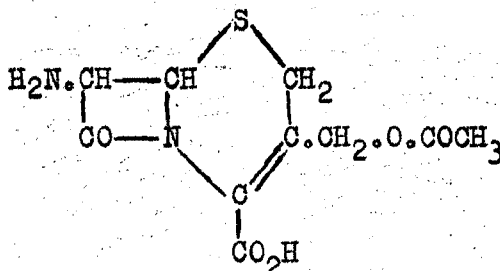
Este invento se refiere a derivados de
cefalosporina C y a compuestos con ellos relacionados,
así como a métodos para la preparación de los mismos.

Para la cefalosporina C, se ha propuesto la
5. estructura o fórmula



y este invento proporciona un método para eliminar el grupo acetilo de la misma, con objeto de obtener el derivado alcohólico correspondiente.

5. En las memorias provisionales de las solicitudes pendientes nº 26.569/59 y 2.135/60 se describe un método para eliminar la cadena lateral amino-adipilo de la cephalosporina C, cuyo producto resultante tiene la fórmula o estructura



10. y se denomina ácido 7-aminocephalosporánico. Además, en la Memoria provisional de la Solicitud pendiente número 2.135/60, y en la Memoria completa presentada en apoyo de la misma, se describen los derivados N-acílicos del ácido 7-aminocephalosporánico. Este invento proporciona además un método para eliminar el grupo acetilo del
15. ácido 7-amino-cephalosporánico y de los derivados N-acílicos del mismo.

De acuerdo con este invento, por tanto, se proporcionan compuestos desacetilados de fórmula



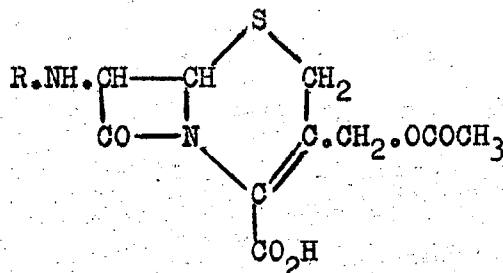
son especialmente adecuados los grupos metoxilo y etoxilo.

Constituyen compuestos de importancia especial comprendidos en la fórmula general, los derivados fenilacetílicos, fenoxiacetílicos, n-propionílicos,

5. α -fenoxipropionílicos, isobutirílicos, hexanoílicos, p-nitro fenilacetílicos, p-nitrofenoxiacetílicos y 2:6-dimetoxi-benzofílicos.

Además, de acuerdo con este invento, se proporciona un procedimiento para la preparación de los compuestos de este invento antes indicados, que comprende el hidrolizar con una enzima apropiada el grupo acetílico de un compuesto de fórmula

10.



-en la que R representa un átomo de hidrógeno, o un grupo N-acílico, o una sal soluble de dicho compuesto.

15.

De las enzimas adecuadas susceptibles de emplearse, se ha comprobado que una muy conveniente es la esterasa citro-acetífica (preparada como describen Jansen, Jang, y MacDonell, Archiv. Biochem. 1947, 15, 415).

Se comprenderá que la enzima puede ser una esterasa acetífica de grupo específico, pero puede también usarse una enzima que elimine cualquier grupo ester (incluso un grupo acetilo). Las condiciones de pH y temperatura a que

20.

ha de realizarse la reacción enzimática, variarán de acuerdo con la enzima empleada, pero el pH ha de estar comprendido corrientemente entre 5,5 y 8 aproximadamente, y la tempe-



ratura ha de ser del orden de 20 á 40°C. aproximadamente. Cuando se ha utilizado la esterasa citro-acetífica, se han obtenido los mejores resultados empleando un pH comprendido entre 6 y 7 y una temperatura del orden de 25 a 37°C, aproximadamente.

5.

El derivado desacetilado necesario, puede separarse del medio de reacción, por métodos de separación conocidos en esencia, por ejemplo la cromatografía y el intercambio iónico.

10.

La cephalosporina C desacetilada, es un compuesto especialmente importante de este invento. Se prepara, con preferencia, utilizando la sal sódica de cephalosporina C como material de partida, y puede separarse de la mezcla de reacción, después de la preparación, aplicando

15.

la mezcla a una columna de resina de intercambio aniónico en forma de su sal con un ácido débil y lavando la cephalosporina C desacetilada, con una solución que contenga el anión de un ácido débil. Para este objeto resultan convenientes las soluciones de amortiguadores volátiles, tales

20.

como acetato amónico o de piridina con un pH de 5 aproximadamente. La cephalosporina C desacetilada, del producto de lavado, puede detectarse por distintos métodos, según el lavador empleado, por ejemplo por el espectro de absorción ultravioleta del producto, su reacción con ninhidrina

25.

y su actividad antibacteriana. Cuando el lavador es una solución de un amortiguador volátil, el producto puede obtenerse en forma sólida, por evaporación de las fracciones adecuadas de aquél. A continuación, y por cristalización, puede obtenerse una sal para adecuada del producto,

30.

tal como la sal sódica.



La cephalosporina C desacetilada, puede caracterizarse por las propiedades siguientes:

(1) No acusa C-metilo en la determinación Kuhn-Roth.

5. (2) El espectro de absorción ultravioleta de su sal sódica, a una concentración de 0,05 mg/ml. en solución acuosa, presenta un λ máximo a 261 $m\mu$ (como se representa en la fig. 1).

10. (3) El espectro infra-rojo de su sal sódica (en nujol) tiene la forma representada en la fig. 2.

(4) La actividad de su sal sódica es de alrededor de 2,3 unidades/mg. contra el Staph. aureus y de 1,8 unidades/mg. contra el Salmonella typhi (compárese con la sal sódica de la cephalosporina C, cuya actividad es de 8-10 unidades/mg. contra ambos organismos).

15. (5) Cuando se cromatografía en papel Whatman nº 1 (aplicada a éste como sal sódica y con disolvente descendente), presenta los valores $R_{glicina}$ siguientes:

<u>Disolvente</u>	<u>$R_{glicina}$</u>
(A) n-butanol/ácido acético/agua (4:1:4) en volumen	0,57
(B) propan-1-ol/agua (7:3 en volumen)	0,60

20. En el disolvente B se resuelve o descompone en cephalosporina C (que acusa un R_{gli} de 0,77) y en cephalosporina C_0 (que muestra un R_{gli} de 0,98).

25. (6) Al someterse a electroforesis en papel (14 v/cm. durante 3,3 horas) en un amortiguador de acetato de piridina con un pH de 4,5, se desplaza 7,9 cm. hacia el ánodo (la cephalosporina C se desplaza 7,5 cm. hacia el ánodo, en estas condiciones, y la cephalosporina C_0 se desplaza 1,9 cm. hacia el cátodo).



200 444

Cuando la electroforesis se realiza en ácido acético al 10% (v/v), se desplaza 1,2 cm. hacia el cátodo (la cephalosporina C se desplaza 0,8 cm. hacia el cátodo en estas condiciones, y la cephalosporina C₀ se desplaza 4,6 cm. hacia el cátodo).

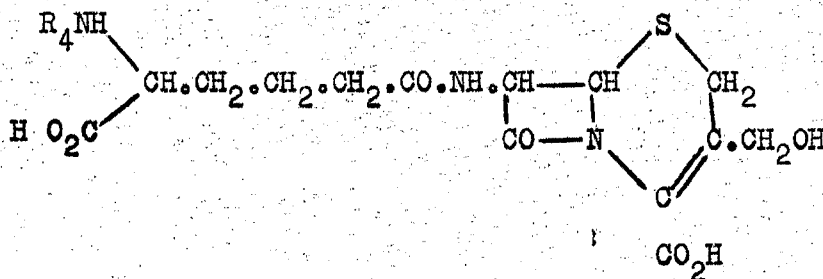
5.

(7) Disuelta en ácido clorhídrico 0,1N o ácido clorhídrico 1,0N, se convierte rápidamente en cephalosporina C₀ (descrita en la Solicitud de Patente pendiente nº 2.554/58). Este cambio puede demostrarse fácilmente sometiendo una muestra de la solución a la electroforesis, sobre papel en ácido acético al 10% (v/v). La cephalosporina C₀ nuevamente formada, se desplaza 4,6 cm. hacia el cátodo, y puede descubrirse por su actividad antibacteriana.

10.

(8) Cuando se deja reaccionar con determinados cloruros ácidos, tales como el cloruro fenilacetílico, forma derivados N-acílicos con una actividad superior contra el Staph. aureus. La acilación puede llevarse a cabo sobre papel, como se describe en la Solicitud de Patente nº 2.135/60. Estos derivados N-acílicos tienen la fórmula

20.



en la que R₄ representa un grupo acílico.

(9) Al titularse electrométricamente en agua a 20°, acusa grupos con valores pKa aproximadamente <2,5, 3,0 y 9,6. La ulterior titulación con álcali de

25.

70 ABR

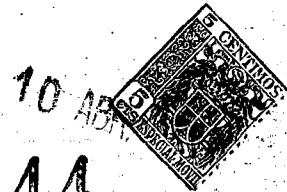


-8- 266444

una solución que se ha conservado a un pH de 1,9 durante 2 horas, indica que ha desaparecido alrededor del 28% de un grupo ácido (a causa de la lactonización con formación de cephalosporina C₆). La nueva titulación con ácido de una solución que se ha conservado a un pH de 11,5 durante 30 minutos, indica que se ha realizado la hidrólisis parcial, con formación de un nuevo grupo ácido. Esto se debe quizá a la apertura del anillo β -lactam.

- Otro compuesto importante de este invento es el derivado desacetilado del ácido 7-aminocephalosporánico, ya que puede usarse como intermedio para la preparación de derivados acilados del mismo. Así, se observará que existen dos procedimientos diferentes para la preparación de dichos derivados acilados. Pueden tratarse los derivados acilados del ácido 7-aminocephalosporánico con una enzima adecuada, o bien el mismo ácido 7-aminocephalosporánico puede tratarse con la esterasa y luego acilarse para producir el derivado n-acílico, por ejemplo por medio de un haluro acílico empleando un método análogo al descrito en la Solicitud británica nº 2.135/60.

- Los compuestos de este invento, son útiles como intermediarios en la síntesis de las cephalosporinas antibióticamente activas. Así, el grupo alcohol libre del compuesto desacetilado puede reaccionar para producir derivados y más útiles, por ejemplo por re-esterificación con otro ácido. Por la variación de estos sustituyentes, pueden prepararse compuestos de actividades variables. Además, la cephalosporina C desacetilada, puede acilarse en el grupo amino terminal, como antes se indica, para producir nuevos compuestos, algunos de los cuales, por ejemplo



el derivado benciloxicarbonilo preparado por la acción del cloruro de carbobenciloxilo, constituyen intermedarios útiles en la síntesis de nuevos derivados O-acílicos de cephalosporina C desacetilada, que pueden poseer actividad antibiótica. Los derivados N-acílicos de cephalosporina C desacetilada, pueden por sí mismos tener cierta actividad antibiótica.

Los ejemplos siguientes aclaran este invento.

EJEMPLO 1

10. En una solución de esterasa citro-acetífica (Jansen, Jang y MacDonell, 1947), se disolvieron 52 mg. de sal sódica de cephalosporina C. La solución se calentó a 30°, y el pH se ajustó rápidamente a 6,5 por adición de hidróxido sódico 0,1N. La temperatura se conservó a 30° y
15. el pH se mantuvo en el orden de 6,2-6,8 por adición de hidróxido sódico 0,1N. El grado de adición de álcali necesario para mantener el pH, disminuyó rápidamente durante los primeros 15 minutos y, después de 40 minutos, el pH permaneció constante sin ulterior adición de álcali, indicando la terminación de la reacción. La solución se
20. enfrió a la temperatura ambiente, y se aplicó a una columna de 20 x 0,9 cm. de Amberlite Xe-58 (malla 100-200) en forma de acetato, que previamente se había llevado al equilibrio con una solución de acetato amónico, 0,2M para
25. el amoniaco, a un pH de 5. El lavado se realizó con la misma concentración de un regulador de acetato amónico, recogándose una fracción de 3 ml. cada 35 minutos. Las fracciones se examinaron midiendo su absorción a 260 m μ , y el punto máximo se observó que se encontraba entre las
30. fracciones 16 y 26. Las fracciones 17-24 se combinaron



10 ABR

-10-

con algunos c.c. de agua y se secaron dos veces por congelación, para eliminar el máximo posible de acetato amónico. El residuo contenía la sal amónica de cephalosporina C desacetilada.

5. EJEMPLO 2

- Se disolvieron 601 mg. de sal sódica de cephalosporina C en 3 ml. de agua y se añadieron a una solución de esterasa citro-acétilica (5 ml.) (Jansen y otros, 1.947) previamente ajustados a un pH de 6,5. Se agregó periódicamente una solución de hidróxido sódico 0,25 N, para mantener el pH entre 6,2 y 6,9 y la solución se conservó a 30° por un revestimiento de agua. Al cabo de 95 minutos la adición necesaria de álcali se había transformado en bastante reducida, y se añadieron otros 5 ml. de solución de enzima. Después de 200 minutos el pH fué prácticamente constante sin adición de álcali. La solución se acidificó para un pH de 5, con ácido acético, se enfrió a la temperatura ambiente y se aplicó a una columna de 21 x 2 cm. de Amberlite Xe-58 (malla 100-200) en forma de acetato.
10. Se realizó el lavado con una solución de acetato de piridina 0,3 M en ácido acético con un pH de 5. Se recogieron fracciones de 4,5 ml., cada 14 minutos, y se examinaron salpicando sobre papel y colorando con ninhidrina. Cuando este procedimiento reveló un máximo, se separaron muestras que se dejaron reaccionar con solución de ninhidrina (Moore and Stein 1.948, J. Biol Chem. 176, 367) y se calculó la densidad de color. El máximo principal se encontró entre las fracciones 45 y 77. Las fracciones 50-62 se combinaron y secaron por congelación. El polvo secado por congelación se disolvió en una cantidad mínima de agua,
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



10 ABR

44

-11-

- se precipitó con acetona (alrededor de 50 ml.) se molió en polvo fino en acetona, y se lavó con una nueva cantidad (alrededor de 50 ml.) de acetona seca. Este polvo se disolvió en 3 ml. de agua y el pH se ajustó a 7,9 por adición de hidróxido sódico 0,1 N. Se añadió más agua (10 ml.) y la solución se secó por congelación. El producto secado por congelación, sal sódica de cephalosporina C desacetilada, se cristalizó en etanol acuoso.

EJEMPLO 3

10. Se separó la corteza exterior de 80 naranjas y su peso ascendió a 1.334 g. Esta corteza rallada se mezcló con arena lavada con ácido (B.D.H. 100 g.) y cloruro sódico (20 g.) y se prensó a través estopilla. El jugo resultante se saturó con oxalato sódico y se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 42, por la acción de la gravedad. Los 310 ml. de extracto, se mezclaron con un volumen igual de sulfato amónico saturado, y el precipitado formado se recuperó por centrifugación (a 2.000 revoluciones por minuto, durante 5 minutos). Este precipitado se volvió a suspender en 60 ml. de oxalato sódico 0,1 M y se dializó a 5° durante la noche, contra oxalato sódico 0,1 M.

25. La sal sódica de cephalosporina C (1,8 g.) se disolvió en 9 ml. de agua y se trató con esterasa citro-etílica (15 ml.) previamente ajustado a un pH de 6,5. La mezcla se agitó del pH se conservó entre 6,2 y 6,9 por la adición de hidróxido sódico 0,1 N. Cuando el ritmo de adición se había reducido, se agregaron otros 15 ml. de enzima cítrica a un pH de 6,5, y todo ello se calentó a 30°. La reacción cesó casi por completo después



10 AB

144

de añadir 33,7 ml. de hidróxido sódico 0,1 N, (teórica-
mente = 34 ml.). La biautografía acusó solamente un punto
activo correspondiente a la cephalosporina C desacetilada.

El volumen principal de mezcla de reacción se ajustó para
un pH de 5 con ácido acético 2N y se aplicó a una columna
de 21 x 2,5 cm. de resina XE-58 ajustada para un pH de 4.
La columna se desarrolló con ácido acético 0,3 M mediante
piridina, para un pH de 5. Se recogieron fracciones de
5 ml. de la columna, y se ensayaron muestras de 0,1 ml.

5. para el color de ninhidrina, mediante el método de Moore
and Stein (J. Biol Chem., 176, 367, 1.948). La actividad
máxima se presentó entre las fracciones 66 y 101. Estas
fracciones se unieron y se liofilizaron. El sólido se
recogió en 10 ml. de agua y se precipitó con 200 ml. de
acetona. El aceite se solidificó finalmente mediante eva-
poración suave en vacío. Este sólido se recuperó por cen-
trifugación (1.500 revoluciones por minuto, durante 15
minutos) y se melió con 50 ml. de acetona seca. Este só-
lido se filtró, se disolvió en 10 ml. de agua y se elevó
a un pH de 7,9 con hidróxido sódico 0,1 N. La solución
resultante de la sal sódica de cephalosporina C desaceti-
lada se liofilizó, rendimiento 526 mg. La cristalización
en etanol acuoso proporcionó 342 mg. de un producto que so-
lamente acusó una mancha en la biautografía, correspon-
diente a la cephalosporina C. desacetilada.

Potencia del derivado de cephalosporina C desacetilada

<u>Organismo</u>	<u>% de Cephalosporina C</u>
B. subtilis C289	58,0
Staph. aureus C884	23,0
30. V. cholerae C833	22,9

10 ABR 6 CENTIMOS
6 CTS. ESPECIAL NOTA

-13-

260444

EJEMPLO 4

- Se disolvieron 52 μ g. de sal sódica del ácido 7-fenilacetamidocephalosporánico en 0,2 ml. de agua. De esta solución se extrajo 0,1 ml., se añadió 0,1 ml. de solución, de esterasa citro-etílica regulada con fosfato M
5. a un pH de 7,4, y la solución se incubó durante una hora a 30°. Se aplicaron a continuación a una hoja de electroforesis, 10 μ l. de muestras de esta solución y 5 μ l. de muestras de la solución original. Como testigo o indicador se aplicó una muestra de cephalosporina C y la hoja se dejó secar a la temperatura ambiente. A continuación la hoja se roció con solución M de acetato de piridina de un pH de 7, y se dejó secar casi a la temperatura ambiente, colgándose en una atmósfera de piridina (vapor en equilibrio con solución de acetato de piridina M de
10. pH 7.0) a 37° durante 18 horas. La hoja se colgó en una corriente durante una hora; los testigos de la solución original, la solución incubada con enzima y la cephalosporina C aplicada, y la hoja se sometió a electroforesis
15. en acetato de piridina 0,05 M de pH 4,5 durante 3 horas a 14 voltios por cm. El electroforesograma se colgó en una corriente durante una hora y luego se examinó por
20. biautografía sobre placas de agar sembradas Staph. aureus. Los resultados se resumen en la tabla siguiente. Las distancias desplazadas hacia el cátodo, se indican con un
25. signo negativo; las desplazadas hacia el ánodo, con un signo positivo.

260444

10



	<u>Muestra</u>	<u>Distancia desplazada, (cm.)</u>
	&Cephalosporina G	+ 6,6
	Cephalosporina G tratada con piridina	- 1,4
	Cephalosporina G tratada con enzima	+ 7,4
5.	Cephalosporina G tratada con enzima y luego con piridina	+ 7,1
	Cephalosporina C	+ 6,6
	Cephalosporina C tratada con piridina	-1,3

&Cephalosporina G indica ácido 7-fenilacetamido cephalosporánico.

10. Así, este ácido se convierte por la acción de la esterasa citro-acetífica en una substancia que no proporciona un derivado del tipo cephalosporina C_A por tratamiento con piridina en las condiciones empleadas, confirmando la formación del compuesto desacetilado. La

15. nueva substancia se desplaza análogamente al ácido 7-fenilacetamido cephalosporánico, y tiene una elevada actividad antiestafilocócica, aunque no tan elevada como el mismo ácido 7-fenilacetamido cephalosporánico.

EJEMPLO 5

20. Se disolvió 1 mg. de ácido 7-aminocephalosporánico en 0,1 ml. de regulador fosfato 0,1 M de pH 7. Una muestra de 10 µl. de esta solución se mezcló con 10 µl. de agua y la solución resultante se utilizó como control.

25. Los 90 µl. restantes de solución ácido 7-aminocephalosporánico se mezclaron con 90 µl. de solución de esterasa citro-acetífica (ajustados para un pH de 7.0). Esta mezcla y la solución de control se conser-



- varon a 30°C. durante 1,5 horas. Muestras de 5 μ l. de la mezcla y del control se vertieron sobre papel Whatman nº 1 y el papel se roció ligeramente con acetato de piridina M de un pH de 7, y se colgaron durante la noche en una atmósfera de acetato de piridina, secándose finalmente en aire. Otras muestras de 5 μ l. de la mezcla y del control se vertieron sobre papel y se conservaron durante la noche en el aire del laboratorio. A continuación se sometieron las manchas tratadas y sin tratar con piridina, a la electroporesis sobre los papeles (14 v/cm.) en regulador a un pH de 4,5 durante 2,5 horas. Los compuestos de los núcleos, a continuación se fenilacetilaron en el papel, con cloruro de fenilacetilo, como antes se describió. Las manchas de material fenilacetilado activo, se revelaron finalmente realizando la bioautografía con Staph. aureus (variedad Oxford) como organismo de ensayo.
5. 10. 15.

Los resultados fueron los siguientes:

- (1) El ácido 7-aminocephalosporánico proporcionó una gran mancha activa que se había desplazado 3,4 cm. hacia el ánodo.
- (2) El producto de la reacción del ácido 7-aminocephalosporánico con esterasa acetilica, proporcionó una mancha algo menor que se había desplazado 3,6 cm. hacia el ánodo.
- (3) El producto de la reacción del ácido 7-aminocephalosporánico con piridina dió una gran mancha activa, debida al núcleo cephalosporina C_A (piridina) que se había desplazado 3 cm. hacia el cátodo.
- (4) El producto de las reacciones de ácido 7-aminocephalosporánico con (A) esterasa acetilica y (B)
20. 25. 30.



piridina, mostró solamente trazas de un producto que se había desplazado hacia el cátodo.

5. Así, el ácido 7-aminocephalosporánico se convierte, por la acción de la esterasa acetilica, en un compuesto activo que se desplaza análogamente al mismo ácido 7-aminocephalosporánico, por electroforesis a un pH de 4,5, pero no reacciona con la piridina para proporcionar un derivado activo del tipo C_A. Esto indica la producción de un ácido 7-aminocephalosporánico desacetilado.

10.

Este ácido puede convertirse en derivados N-acílicos del mismo, por métodos análogos a los descritos para la acilación del ácido 7-aminocephalosporánico en la Solicitud pendiente n^o 2.135/60.

15. Se comprenderá que al aplicar este invento, deben conservarse la estructura nuclear esencial de la cephalosporina y la estereo-configuración con ella asociada, precisas para la actividad antibiótica.

N O T A

20. Descrita suficientemente la naturaleza del invento así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También

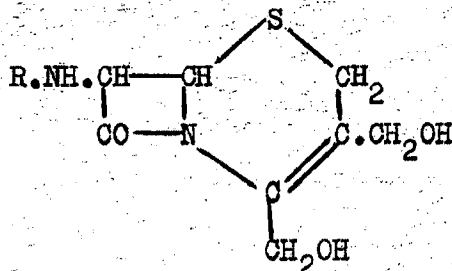
25. se hace constar que este invento se refiere a una Solicitud de Patente presentada en Inglaterra con fecha 11 de abril de 1.960, n^o 12.866 acogiéndose, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención

30.



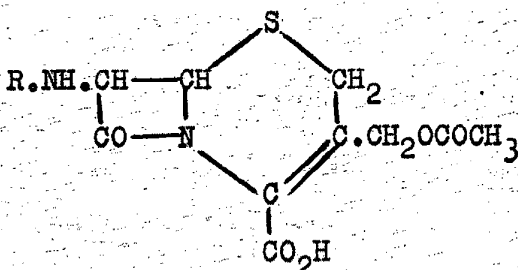
por 20 años en España: "Procedimiento de obtención de derivados de cephalosporina C y de sus compuestos; caracterizándose por lo siguiente.

- 1ª - Procedimiento de obtención de derivados de cephalosporina C y de sus compuestos, caracterizado por ser estos de la fórmula



-en la que R representa un átomo de hidrógeno o un grupo N-acilo- y sales de los mismos, y por comprender el hidrolizar con una enzima adecuada, el grupo acetilo de un compuesto de la fórmula

10.



-en la que R representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo- o una sal soluble de dicho compuesto.

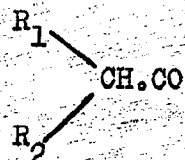
- 2ª - Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado por obtenerse el derivado salino, sódico, potásico o amónico, por ulterior reacción con una sal sódica, potásica o amónica.

15.

3ª - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª o 2ª, caracterizado porque la enzima es una esterasa citro-acetífica.



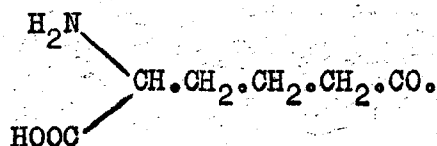
4ª - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª á 3ª, caracterizado porque R representa un grupo de la fórmula



5. en la que R₁, R₂ representan un átomo de hidrógeno, un grupo alkilo, fenilo o de fórmula R₃-O-, en el que R₃ representa un grupo alkilo, fenilo, o fenilo sustituido, y son iguales o distintas.

10. 5ª - Procedimiento, según reivindicación 4ª, caracterizado porque R₁ representa un grupo fenilo, y R₂ representa un átomo de hidrógeno.

6ª - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª á 3ª, caracterizado porque R representa un grupo



15. 7ª - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª á 6ª, caracterizado porque el tratamiento con enzima se lleva a cabo a una temperatura del orden de 20°C. a 40°C. y a un pH del orden de 5,5 á 8 aproximadamente.

20. 8ª - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1ª á 7ª, caracterizado porque el tratamiento con enzima se lleva a cabo a un pH del orden de 6 á 7 aproximadamente.

9ª - Procedimiento, caracterizado por aplicarse prácticamente tal como se describe en cualquiera de

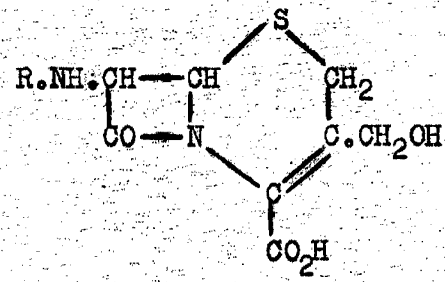


los ejemplos para la obtención de cephalosporina C en su derivado desacetilado.

5. 10^a - Procedimiento, caracterizado por aplicarse prácticamente tal como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1^a, 2^a y 4^a, para la obtención del derivado desacetilado de cephalosporina C.

10. 11^a - Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1^a á 10^a, caracterizado por comprender además la etapa ulterior de convertir el grupo alcohol libre del compuesto desacetilado en otro derivado estérico o etéreo.

12^a - Procedimiento, caracterizado por permitir la obtención de un compuesto de fórmula



15. en la que R representa un átomo de hidrógeno o un grupo N-acilo y sus sales de sodio, potasio y amonio, de acuerdo con los procedimientos indicados en las reivindicaciones 1^a á 10^a.

20. 13^a - Procedimiento de obtención de derivados de cephalosporina C y de sus compuestos, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de diecinueve hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid

NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORPORATION,

J. GÓMEZ ACEBO Y MOJER

10 ABR 1964

10 ABR 1964

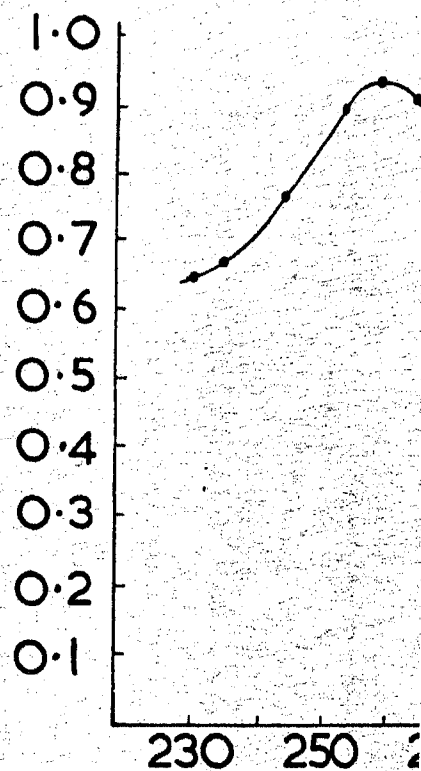
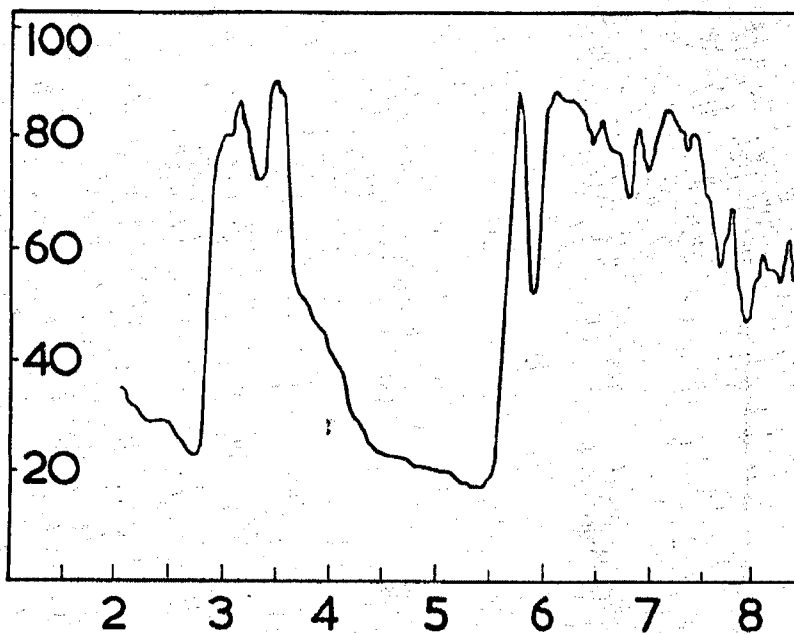


FIG. 2





10 APR

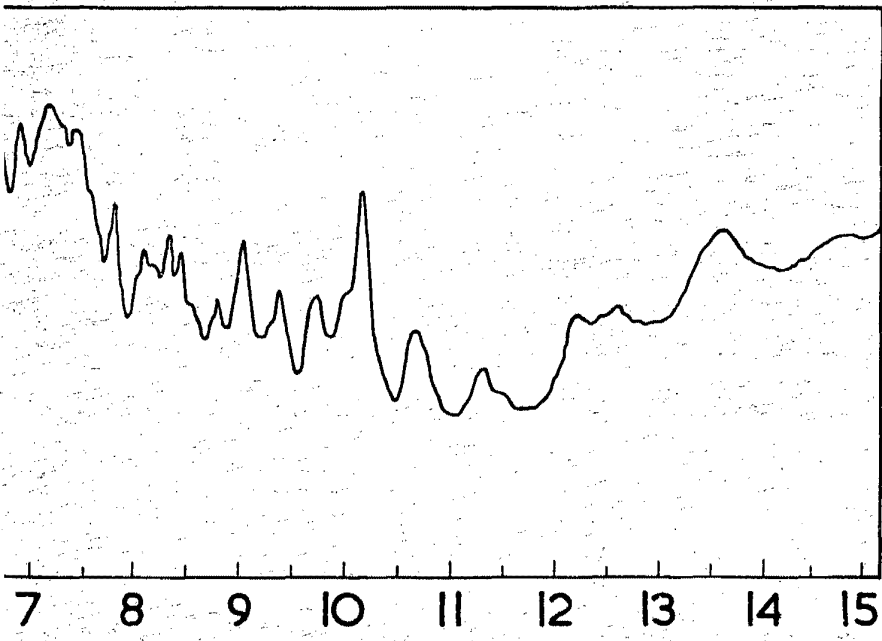
ESCALA VARIABLE

FIG.1.



266444

FIG.2.



Madrid.
J. GONZALEZ RODRIGUEZ