

329353



21

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

Solicitante: BRISTOL-MYERS COMPANY

Residencia: SYRACUSE, NEW YORK 13201  
ESTADOS UNIDOS.

Enunciado: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE  
ESTERES".

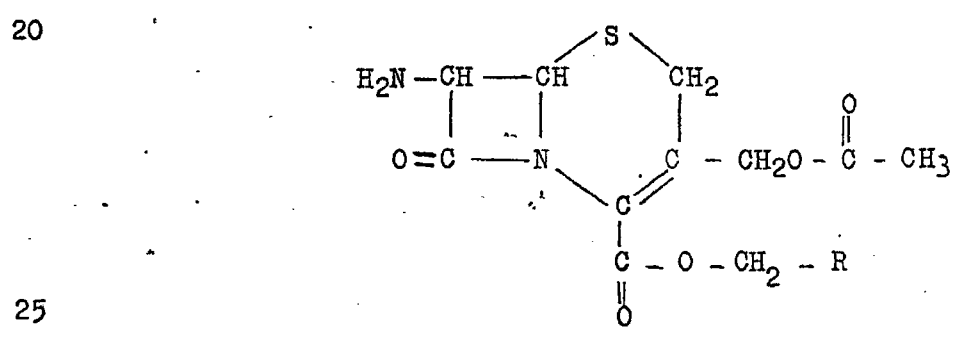
Prioridad: de la solicitud de patente estadounidense  
Nº 474.150 del 22 Julio 1.965.



1 Este invento se refiere a ésteres activados, nuevos,  
de gran utilidad, del ácido 7-aminocefalosporánico (tam-  
bién llamado ácido  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporánico o 7-AAG) y  
sales de los mismos y a métodos para su preparación y pa-  
5 ra su empleo en la obtención de antiguos y nuevos ácidos  
7-acilamino- $\Delta^3$ -cefalosporánicos, es decir, cefalosporinas.

El objeto principal del presente invento era propor-  
cionar nuevos compuestos intermedios para uso en la produc-  
ción de cefalosporinas que ofrecieran otras vías de obten-  
10 ción de cefalosporinas conocidas (y, en particular, propor-  
cionaran métodos prácticos, a escala comercial, para la  
producción de ciertas cefalosporinas que anteriormente só-  
lo existían en cantidades de laboratorio) y que también hi-  
cieran posible la síntesis de nuevas cefalosporinas no ob-  
15 tenibles por los métodos actualmente existentes.

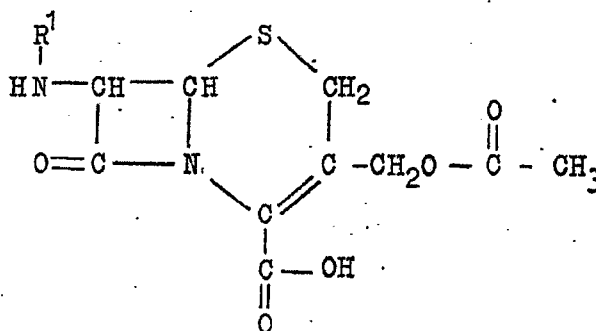
El objeto principal del presente invento se ha al-  
canzado mediante la provisión, de acuerdo con el mismo, de  
un procedimiento para la preparación de ésteres activados  
del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula





1 donde R representa alcanóilo (inferior), N-ftalimido, ben-  
zoílo, naftoílo, furoílo, tenoílo, nitrobenzoílo, haloben-  
zoílo, metilbenzoílo, metanosulfonilbenzoílo o fenilben-  
zoílo, y sales de adición con ácidos de los mismos; cuyo  
5 procedimiento consiste en hacer reaccionar un ácido de  
fórmula

10



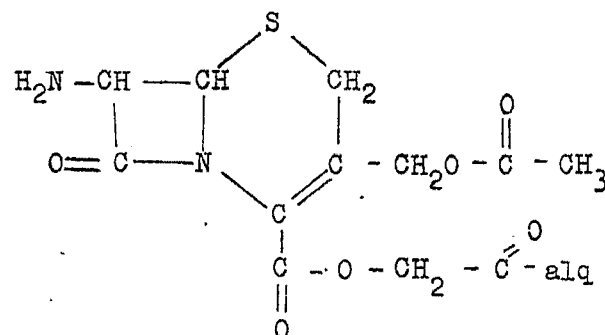
15 donde R<sup>1</sup> representa hidrógeno o el radical 2-tienilaceti-  
lo, preferiblemente en forma de sal neutra de dicho ácido,  
por lo menos con una cantidad aproximadamente equimolecu-  
lar de un compuesto de fórmula R - CH<sub>2</sub> - X, donde R es el  
definido anteriormente y X es un átomo de halógeno, prefe-  
20 riblemente cloro o bromo, en un disolvente inerte, a una  
temperatura comprendida entre unos 0°C y unos 40°C; y,  
cuando R<sup>1</sup> es el radical 2-tienilacetilo, separar dicho ra-  
dical por desacilación con una amidasa.

25 Los compuestos preferidos preparados por el proce-  
dimiento del presente invento son los ésteres activados  
del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula



21

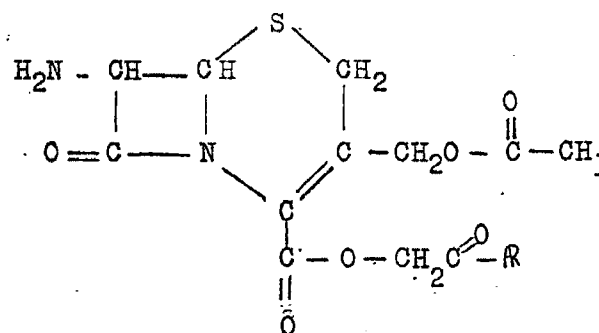
1



5

donde alq representa alquilo (inferior) y sales de adición con ácidos de los mismos, y los ésteres activados del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula

10



15

donde R representa fenilo o fenilo sustituido, y sales de adición con ácidos de los mismos.

20

Los ésteres activados del ácido 7-aminocefalosporánico incluídos dentro de los límites del presente invento son aquéllos que por simple ensayo son suficientemente estables para evitar la auto-condensación pero al mismo tiempo son suficientemente lábiles para poder separar cuando se desee la función protectora del grupo carboxilo (es de-

25



21

1        cir, el grupo éster activado) para regenerar el grupo car  
boxilo sin destruir el sensible anillo de  $\beta$ -lactama como  
se describe más adelante, por ejemplo por tratamiento con  
5        tiofenóxido sódico en un disolvente inerte de acuerdo con  
Sheehan et al., J. Org. Chem. 29, 2006 (1964). Esta sepa-  
ración del grupo éster puede llevarse a efecto sobre es -  
tos ésteres propiamente dichos (para producir ácido 7-ami-  
nocefalosporánico) o después de que han sido acilados (pa-  
ra producir una cefalosporina).

10                Estos ésteres activados tienen, sobre el empleo en  
síntesis anteriores del propio ácido 7-aminocéfalosporáni-  
co o de sus sales, ventajas tales como una solubilidad mu-  
cho mayor en disolventes orgánicos, mayor estabilidad tér-  
mica y mayor estabilidad frente a los reactivos ácidos,  
15        además de que pueden ser empleados, como se ha mencionado  
anteriormente, para obtener nuevas cefalosporinas que no  
podrían obtenerse de otra forma y para obtener cefalospo-  
rinas tales como el ácido 7-( $\alpha$ -aminofenilacetamido)-cefa-  
losporánico que previamente se preparaban sólo con rendi-  
20        mientos muy bajos mediante un procedimiento muy costoso y  
complicado.

              El disolvente utilizado en el proceso de esterifi-  
cación ha de ser preferiblemente anhidro. Los disolventes  
inertes adecuados comprenden el dicloruro de metileno, di-  
25        metilacetamida, dimetilformamida, los ésteres dimetilico



21

1 y dietílico del etilenglicol y del dietilenglicol y disol  
ventes similares bien conocidos por los expertos en la  
técnica. La reacción de esterificación puede llevarse a  
cabo en un intervalo de temperaturas comprendido entre  
5 unos 0°C y unos 50°C. El intervalo de temperaturas prefe-  
rido es de 20° a 40°C.

En el procedimiento preferido de esta invención, el  
ácido 7-aminocefalosporánico, en forma de una sal tal co-  
mo la de trietilamonio, se mezcla a unos 20-40°C en un di-  
10 solvente inerte tal como cloruro de metileno o dimetilfor-  
mida con aproximadamente uno o dos equivalentes de uno  
de los haluros activos descritos anteriormente para for-  
mar el éster activado deseado del ácido 7-aminocefalospo-  
ránico, que se aísla convenientemente en forma de su sal  
15 de adición con el ácido p-toluensulfónico.

En una realización preferida de esta invención, el  
haluro activo que sirve como agente de esterificación es  
cloroacetona o bromoacetona. En otra realización preferi-  
da el agente de esterificación es cloruro de fenacilo, bro-  
20 muro de fenacilo o un cloruro o bromuro de fenacilo susti-  
tuído en el anillo.

La desacilación (separación del radical 2-tienil -  
acetilo) a que nos hemos referido más arriba se realiza  
siguiendo el procedimiento enzimático previamente utiliza-  
do en las penicilinas G y V propiamente dichas (véase Ro-  
25



1 linson et al., patentes estadounidenses núms. 3.014.845 y  
3.014.846, patentes estadounidenses núms. 3.161.573,  
3.150.059, 3.144.395, 3.127.326, 3.121.667, 3.116.218 y  
3.109.779; patentes inglesas núms. 891.173, 897.617,  
5 924.455 y 957.685) o utilizado en la cefalosporina C (pa-  
tente francesa nº 1.357.977). En una realización preferi-  
da la amidasa desacilante deriva del E. coli o del Arthro-  
bacter viscosus.

10 Alternativamente, los ésteres activados de las ce-  
falosporinas pueden prepararse por tratamiento de un anhí-  
drido mixto de la cefalosporina con un alcohol de fórmula  
HO - CH<sub>2</sub>R, donde R tiene el significado indicado más arri-  
ba, siguiendo esencialmente procedimientos bien conocidos  
(véase D.A. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 75; 3636 (1953);  
15 R.L. Barnden et al., J. Chem. Soc. 3733 (1953)).

Otro procedimiento para la preparación de los éste-  
res activados del ácido 7-aminocefalosporánico del presen-  
te invento consiste en tratar con ácido p-toluensulfónico  
un éster activado obtenido a partir de ácido 7-(N-tritil-  
20 amino)-cefalosporánico y un alcohol de fórmula HO - CH<sub>2</sub>R,  
donde R tiene el significado indicado anteriormente. La  
reacción se lleva a cabo en un disolvente inerte, tal co-  
mo acetona seca, a una temperatura comprendida entre 0° y  
40°C, y de preferencia alrededor de la temperatura ambien-  
25 te, utilizando aproximadamente pesos equimoleculares de



1 éster y ácido.

Los ésteres activados del ácido 7-aminocefalosporá  
nico del presente invento son compuestos básicos, es de -  
cir, aminas primarias, y forman sales de adición con áci-  
5 dos por tratamiento con un equivalente de un ácido orgáni-  
co o inorgánico, tal como ácido clorhídrico, sulfúrico,  
sulfámico, bromhídrico, tartárico, yodhídrico, glicólico,  
cítrico, maleico, fosfórico, succínico, acético y simila-  
res. No es necesario que las sales sean no tóxicas o  
10 farmacológicamente aceptables puesto que su utilidad fun-  
damental es la recuperación de estos productos para uso  
en posteriores reacciones, por ejemplo acilación, en las  
cuales el anión ácido no aparece en el producto final.

Cuando se desea, los productos del presente inven-  
15 to se convierten en los correspondientes ésteres activados  
de los ácidos 7-acilaminocefalosporánicos por reacción con  
un agente acilante de aminas primarias, es decir, con un  
cloruro de ácido de fórmula  $R - \overset{O}{\parallel} C - Cl$  o el equivalente  
funcional de dicho cloruro de ácido como agente acilante  
20 para un grupo amino primario. Tales equivalentes compren-  
den los correspondientes bromuros de ácidos carboxílicos,  
anhídridos de ácidos, incluidos los anhídridos mixtos y  
particularmente los anhídridos mixtos preparados a partir  
de ácidos más fuertes tales como los monoésteres alifáti-  
cos inferiores del ácido carbónico, de los ácidos alil-



21

1 sulfónicos y arilsulfónicos y de ácidos más impedidos ta-  
les como ácido difenilacético. Además puede emplearse una  
azida de ácido o un éster o tioéster activo (por ejemplo,  
con p-nitrofenol, tiofenol, ácido tioacético) o puede combi-  
5 narse el ácido libre propiamente dicho mediante el uso de  
enzimas o de una carbodi-imida reactiva (véase Sheehan y  
Hess, J. Amer. Chem. Soc. 77, 1067(1955)), o de una alqui-  
nilamina reactiva (véase R. Buijle y H.G. Viehe, Angew.  
Chem. International Edition 3, 582 (1964)), o de una ce-  
10 tenimina reactiva (véase C.L. Stevens y M.E. Monk, J. Amer.  
Chem. Soc. 80, 4065 (1958)), o de una sal de isoxazolio  
reactiva (véase R.B. Woodward, R.A. Olofson y H. Mayer, J.  
Amer. Chem. Soc. 83, 1010 (1961)). Otro equivalente del  
cloruro de ácido es la azolida correspondiente, es decir,  
15 una amida del correspondiente ácido cuyo nitrógeno amídico  
es miembro de un anillo de cinco eslabones casi aromático  
que contiene por lo menos dos átomos de nitrógeno, por ejem-  
plo imidazol, pirazol, los triazoles, bencimidazol, benzo-  
triazol y sus derivados sustituidos. Un ejemplo del método  
20 general de preparación de azolidas es el siguiente: se ha-  
ce reaccionar N,N'-carbonildi-imidazol con un ácido carbo-  
xílico en proporciones equimoleculares, a la temperatura  
ambiente, en tetrahidrofurano, cloroformo, dimetilformami-  
da o un disolvente inerte similar, para formar la imidazo-  
25 lida de ácido carboxílico con un rendimiento prácticamente



21

1       cuantitativo y liberación de dióxido de carbono y un mol  
de imidazol. Los ácidos dicarboxílicos dan di-imidazoli-  
das. El sub-producto, imidazol, precipita y puede sepa-  
rarse, aislando la imidazolida, pero ésto no es esencial.  
5       En tales casos, R representa cualquier radical deseado  
que se convertirá en la cadena lateral de la cefalospori-  
na final (en el sentido de que el grupo bencilo es la ca-  
dena lateral de la penicilina G) que se forma al separar  
a continuación el grupo éster activado para liberar el  
10       carboxilo. La acilación con un ácido libre y la carbodi-  
imida reactiva es particularmente útil puesto que es efi-  
caz con ácidos que no pueden convertirse fácilmente o no  
pueden convertirse en absoluto en los haluros o anhídri-  
dos de ácido. Estas reacciones se realizan preferentemen-  
15       ta a unos 0 - 25°C en un disolvente inerte anhidro, tal  
como acetona seca, utilizando la forma de base libre del  
éster activado del ácido 7-aminocefalosporánico, que pue-  
de prepararse in situ a partir de una sal del mismo si  
se desea. Además del agente de acilación se añade un mol  
20       de una base, tal como trietilamina, si se libera un áci-  
do, como sucede cuando se emplea un cloruro o anhídrido  
de ácido. El producto se aísla a continuación siguiendo  
las técnicas habituales, por ejemplo por separación del  
disolvente seguida de recristalización en un disolvente.  
25       Así, en una ilustración típica del procedimiento



21

1 de la carbodi-imida, se disuelven en 3,0 ml de cloruro de  
metileno 0,5 milimoles de 7-aminocefalosporanato de fena-  
cilo (base libre) y 0,5 milimoles de dicitclohexilcarbodi-  
imida y sobre esta solución se añade una solución de 0,5  
5 milimoles de hidrocioruro del ácido  $\alpha$ -aminofenilacético  
en 1,0 ml de dimetilformamida pura. Después de dejar en re-  
poso a 25°C durante 30 minutos, se separa por filtración  
la dicitclohexilurea insoluble. Diluyendo a continuación el  
filtrado con 50-75 ml de éter precipita el producto, hidro-  
10 cloruro de 7-( $\alpha$ -aminobencilacetamido)-cefalosporanato de  
fenacilo.

Los ésteres activados de los ácidos 7-acilaminocefa-  
losporánicos así obtenidos se descomponen después por el  
método del tiofenóxido sódico de Sheehan en las sales sódicas  
15 cas de las correspondientes cefalosporinas. Por cada mol  
de los primeros se añaden aproximadamente de uno a dos mo-  
les de tiofenóxido sódico disueltos en un disolvente inerte  
seco tal como dimetilformamida o sulfóxido de dimetilo. La  
mezcla se agita aproximadamente a la temperatura ambiente.  
20 hasta que la reacción es completa (lo que con frecuencia  
requiere menos de una hora) y la cefalosporina así produci-  
da se recupera en la forma habitual, por ejemplo por ex-  
tracción con disolventes basada en la naturaleza ácida del  
grupo carboxilo o por precipitación directa mediante adi-  
25 ción de acetona, acetato de etilo o similares. Pueden em -

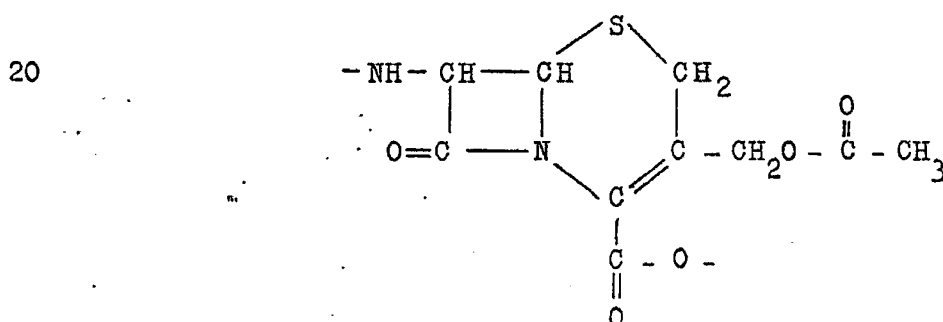


1        plearse temperaturas tan bajas como 5°C pero requieren pe-  
riodos de reacción más largos y con frecuencia dan rendi-  
mientos menores que los obtenidos a 20-35°C o, preferible-  
mente, a unos 25°C.

5        Los ésteres activados de los ácidos 7-acilaminocefa-  
losporánicos también pueden convertirse en las correspon-  
dientes cefalosporinas tratándolos con precaución con otras  
bases tales como hidróxido sódico o acetato sódico o por ex-  
posición a la luz ultravioleta.

10       Los mismos métodos pueden emplearse para convertir  
en el ácido 7-aminocefalosporánico los ésteres activados de  
este ácido obtenidos mediante las etapas consecutivas de  
preparar un éster activado de una cefalosporina y después  
separar enzimáticamente su cadena lateral.

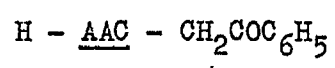
15       Los siguientes Ejemplos servirán para ilustrar el  
presente invento pero no para limitarlo. Todas las tempera-  
turas se dan en grados centígrados. Por comodidad, el nú-  
cleo





1 es representado en los Ejemplos por el símbolo AAC.

Ejemplo 1



A. 7-(2-Tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato de fenacilo.

5 cilo.- Sobre una suspensión de 1,138 g (2,72 milimoles) de  
7-(2-tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato sódico ("KEFLIN SO  
DIUM") en 20 ml de dimetilacetamida (DMAc) se añaden 0,430 g  
(2,78 milimoles) de 2-cloroacetofenona. La mezcla se agita a  
25° durante 2 horas y 40 minutos y después se vierte sobre  
10 200 ml de solución de cloruro sódico al 5 %. Por adición de  
50 ml de éter e intensa agitación, cristaliza el producto,  
7-(2-tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato de fenacilo, que  
se recoge por filtración, se lava con éter seco y se seca a  
vacío sobre pentóxido de fósforo. El rendimiento es de 562  
15 mg(40,2 %), p.f. 165-167°. Se recristaliza para análisis en  
acetato de etilo, p.f. 169,5-171,0°. Su espectro ultravioleta  
en etanol al 95 % presenta una  $\lambda_{m\acute{a}x}$  a 240 milimicras  
( $\epsilon = 25.800$ ) y una inflexión a 280 milimicras ( $\epsilon = 4.990$ ).  
Su espectro infrarrojo (KBr) presenta una banda de amida NH  
20 a  $3300\text{ cm}^{-1}$ ; de  $\beta$ -lactama a  $1790\text{ cm}^{-1}$ , de éster de fenacilo  
y acetato a  $1745\text{ cm}^{-1}$ , de amida a  $1705\text{ cm}^{-1}$  y de amida II a  
 $1540\text{ cm}^{-1}$ . El espectro RMN en  $CDCl_3$  tiene una estructura  
compleja que totaliza nueve protones entre 8,0 y 6,6 $\delta$ , que  
incluyen los protones de la amida, fenilo y anillo de tiofe  
25 no; un protón de  $\beta$ -lactama a 5,8 $\delta$  y el otro a 5,0 $\delta$ ; los dos



1 protones del metileno del éster fenacílico a 5,50δ; el metileno que lleva la función acetoxi a 5,08; el metileno adyacente al átomo de azufre a 3,58 y el grupo metilo del acetoxi a 2,08δ.

5 Análisis: Calculado para  $C_{24}H_{22}N_2O_7S_2$ : C, 56,01; H, 4,31. Encontrado: C, 56,45; H, 4,32.

B.  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporanato de fenacilo, sal de p-toluensulfonato.- Una solución formada por 500 mg de 7-(2-tienilacetamido)-cefalosporanato de fenacilo, 50 ml de acetona, 75 ml de solución reguladora de fosfato 0,2 M, a pH 7,0 y 375 ml de solución de amidasa E. coli para penicilina G se incubaba en un aparato sacudidor en dos matraces Erlenmeyer durante 4,0 horas a 32°. Al cabo de este tiempo se separan por filtración 442 mg del producto de partida cristalino puro y se secan. El filtrado transparente se extrae una vez con 250 ml y dos veces con 125 ml de acetato de etilo, filtrando cuando sea necesario para destruir las emulsiones suaves. Los extractos combinados se secan brevemente sobre sulfato sódico, se filtran y se añaden al filtrado 90 mg de monohidrato del ácido p-toluen sulfónico. El disolvente se separa en un evaporador rotatorio a 35° y el residuo seco se tritura con 50 ml de éter seco. Se recoge por filtración el producto,  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporanato de fenacilo, sal de p-toluensulfonato y se seca, obteniéndose 51,0 mg (80 %) de un sólido cristalino



1 de color castaño muy claro, p.f. 85-90°. Su espectro in-  
frarrojo (KBr) es muy claro y tiene una banda NH a 3430  
cm<sup>-1</sup>, de β-lactama a 1790 cm<sup>-1</sup>, de ambos ésteres carboní-  
licos a 1740 cm<sup>-1</sup>, de fenilcetona a 1695 cm<sup>-1</sup> y no presen-  
5 ta trazas de las bandas de amida y amida II.

Ejemplo 2

7-(2-Tienilacetamido)-Δ<sup>3</sup>-cefalosporanato de fena-  
cilo.- Sobre una suspensión de 2,269 g (5,42 milimoles) de  
"KEFLIN SODIUM" en 40 ml de DMAc se añaden 0,850 g (5,50  
10 milimoles) de 2-cloroacetofenona y la mezcla se agita a  
25° durante 17 horas. Se vierte la mezcla sobre 400 ml de  
solución de cloruro sódico al 5 % y el sólido que se sepa-  
ra se recoge por filtración y se seca. Por trituración con  
unos 200 ml de éter cristalizan 0,66 g de isómero Δ<sup>3</sup> prác-  
15 ticamente puro.

El filtrado etéreo se hierve hasta reducir su volu-  
men a unos 100 ml, se separa por decantación de una goma  
que precipita y se deja en reposo a 25° durante 16 horas.  
El precipitado cristalino que se forma pesa 0,87 g y es  
20 isómero Δ<sup>2</sup> prácticamente puro. Se recristaliza en 15 ml  
de acetato de etilo caliente, 0,46 g (16 %), p.f. 127-129°.  
Su espectro ultravioleta en etanol al 95 % presenta una  
λ<sub>max.</sub> a 240 milimicras (ε = 25.600) y una inflexión a 280  
milimicras (ε = 2.640). Su espectro infrarrojo (KBr) difie-  
25 re ligeramente del del isómero Δ<sup>3</sup> en que tiene la banda

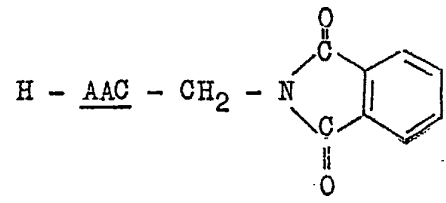


1 de  $\beta$ -lactama a  $1780\text{ cm}^{-1}$ , las bandas de los ésteres fenacilí  
 lico y acético están separadas, a  $1750$  y  $1740\text{ cm}^{-1}$ , la ban  
 da de amida carbonílica a  $1705\text{ cm}^{-1}$  y la banda de amida II  
 a  $1530\text{ cm}^{-1}$ . Su espectro RMN en  $\text{CDCl}_3$  es idéntico al del  
 5 isómero  $\Delta^3$ , con la diferencia de que existen señales para  
 los protones en  $\text{C}_2$  y  $\text{C}_4$ : el protón vinílico en  $\text{C}_2$  aparece  
 a  $6,59\delta$  y el protón en  $\text{C}_4$  aparece a  $5,2\delta$ . Los correspondien  
 tes protones metilénicos adyacentes al azufre ( $\text{C}_2$ ) en el  
 isómero  $\Delta^3$  (a  $3,5\delta$ ) están completamente ausentes.

10 Por tratamiento de este producto con amidasa siguien  
 do el procedimiento del Ejemplo 1, se obtiene  $\Delta^2$ -7-amino-  
 cefalosporanato de fenacilo en forma de sal del ácido p-to  
 luensulfónico.

Ejemplo 3

15



20 Una suspensión de  $1,132\text{ g}$  ( $2,71$  milimoles) de 7-(2-  
 tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato sódico en  $20\text{ ml}$  de N,  
 N-dimetilacetamida conteniendo  $653\text{ mg}$  ( $2,71$  milimoles) de  
 N-bromometilftalimida se convierte en una solución transpa  
 rente después de agitar durante  $4$  minutos a  $25^\circ$ . A conti  
 nuación se agita durante una hora y se vierte sobre  $200\text{ ml}$   
 25 de solución de cloruro sódico al  $5\%$ . El producto cristali



21

1        za inmediatamente y se recoge por filtración y se seca dan  
do un rendimiento cuantitativo de 7-(2-tienilacetamido)-  
 $\Delta^3$ -cefalosporanato de N-ftalimidometilo, p.f. 172,5-173,5°.  
Se recristaliza dos veces en acetato de etilo/Skellysolve  
5        B, 1,00 g (67 %), p.f. 178,0-179,5°. Su espectro infrarrojo  
(KBr) tiene una banda NH a 3300  $\text{cm}^{-1}$ , la banda de  $\beta$ -lac  
tama y de la primera imida a 1780  $\text{cm}^{-1}$ , ambos ésteres y la  
segunda imida en una banda ancha e intensa centrada a 1735  
 $\text{cm}^{-1}$ , la amida a 1685  $\text{cm}^{-1}$  y la amida II a 1525  $\text{cm}^{-1}$ .

10        Por tratamiento de este producto con amidasa siguien  
do el procedimiento del Ejemplo 1 se obtiene  $\Delta^3$ -7-aminoce  
falosporanato de N-ftalimidometilo en forma de sal del áci  
do p-toluensulfónico.

Ejemplo 4

15        H - AAC - CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>

Sobre una suspensión intensamente agitada de 1,2 g  
(2,8 milimoles) de 7-(2'-tienilacetamido)-cefalosporanato  
sódico en 25 ml de DMAc a 22° se añaden 0,285 g (3,08 mili  
moles) de cloroacetona. Al cabo de dos horas la suspensión  
20        se añade lentamente sobre 200 ml de solución de cloruro só  
dico al 5 % enfriada a 5° y agitada, cubierta con 50 ml de  
éter. El sólido que se separa en la interfase se recoge por  
filtración, se lava con agua y se seca a vacío sobre pentó  
xido de fósforo. Por este procedimiento se obtienen 0,6 g  
25        de producto, p.f. 122-124°. Se recristaliza por disolución

21

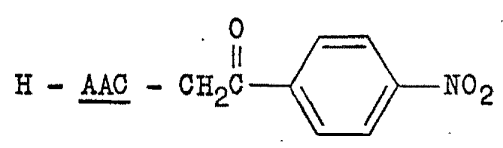


1 en un pequeño volumen de acetona que después se diluye con  
 agua y se enfría a 5°. La muestra cristalina de 7-(2'-tie-  
 nilacetamido)-cefalosporanato de acetonilo así recogida  
 tiene un p.f. 142-143°. Los máximos de absorción en el in -  
 5 frarrojo se producen a 3300 cm<sup>-1</sup> (amida-NH), 1785 (carboni  
 lo de β-lactama), 1750-1730 (carbonilos del acetato, aceto  
 nilo y cetona alifática), 1660 (carbonilo de la amida) y  
 1530 (deformación de la amida). Los máximos de resonancia  
 en el espectro RMN concuerdan con la estructura asignada.

10 El tratamiento de este producto con amidasa siguien  
 do el procedimiento del Ejemplo 1 se obtiene Δ<sup>3</sup>-7-aminoce  
 falosporanato de acetonilo en forma de sal del ácido p-to  
 luensulfónico, p.f. 74°, con un rendimiento del 65 %. La  
 conversión enzimática se supone que es del 100 %; la con -  
 15 versión del correspondiente éster fenacílico es sólo del  
 20 % aproximadamente. La mejora obtenida con el empleo del  
 derivado acetónico se atribuye a su mayor solubilidad en  
 agua.

Ejemplo 5

20



25 Sobre una suspensión de 1,124 g (2,69 milimoles) de  
 "KEFLIN SODIUM" en 20 ml de dimetilacetamida se añaden 656



21

1 mg(2,69 milimoles) de bromuro de p-nitrofenacilo. La mez-  
cla se agita a 25° durante 30 minutos. Se convierte en  
una solución transparente durante los cinco primeros minu-  
tos. Se vierte sobre 200 ml de solución acuosa de cloruro  
5 sódico al 5 % precipitando en forma de sólido cristalino  
el producto, 7-(2-tienilacetamido)-cefalosporanato de p-  
nitrofenacilo, que se recoge por filtración. Se disuelve  
en acetona y acetato de etilo y para eliminar la humedad  
se separan los disolventes por destilación a vacío a 35°.  
10 El residuo se disuelve en 75 ml de acetona seca y unas  
trazas de sal se separan por filtración. Se separa la ace-  
tona por destilación a vacío y el residuo se hierve breve-  
mente con 40 ml de acetato de etilo, enfriando después es-  
ta mezcla en hielo, recogiendo el producto purificado por  
15 filtración y secando; 1,127 g, p.f. 179-181°.

Análisis: Calculado para  $C_{24}H_{22}N_3O_9S_2$ : C, 51,51; H,  
3,78. Encontrado: C, 51,63; H, 3,83.

Concentrando el filtrado por ebullición se recupe-  
ran otros 238 mg, p.f. 176-179°, al añadir Skellysolve B  
20 (fracción del éter de petróleo que hierve a 60-68°) hasta  
el punto de turbidez a la temperatura de ebullición. El  
espectro infrarrojo indica un compuesto muy puro.

Utilizando 5,48 g de "KEFLIN SODIUM" y repitiendo  
el procedimiento se obtienen 6,81 g del mismo producto.

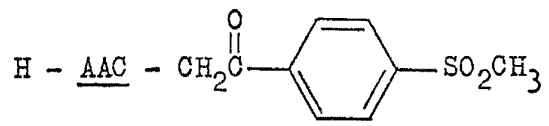
25 Por tratamiento de este producto con amidasa en



1 presencia de un agente solubilizante siguiendo el procedi  
 miento del Ejemplo 1 se obtiene  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporana-  
 to de p-nitrofenacilo en forma de sal del ácido p-toluen-  
 sulfónico.

5

Ejemplo 6



10

Se suspenden 1,1373 g (2,72 milimoles) de "KEFLIN  
 SODIUM" en 30 ml de dimetilacetamida y se añaden 0,755 g  
 (2,72 milimoles) de bromuro de p-metilsulfonilfenacilo.

15

La mezcla se agita durante 30 minutos a 24°. Al cabo de  
 unos 15 minutos la solución se vuelve transparente y de  
 un color castaño claro. Se vierte sobre unos 40 ml de sal  
 muera precipitando el producto cristalino, 7-(2-tienilace-  
 tamido)-cefalosporanato de p-metilsulfonilfenacilo, que  
 se recoge por filtración, se lava a fondo con agua, se se-  
 ca sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a alto vacío y pesa 1,54 g. El producto se

20

disuelve en 200 ml de acetona y se separa por filtración  
 algo de material insoluble. El filtrado se diluye con un  
 volumen igual de acetato de etilo, se trata con carbón ac-  
 tivo y se filtra a través de tierra de diatomáceas; a con-  
 tinuación se separan los disolventes por destilación a va-

25

cío a 32° dejando como residuo el producto que se añade

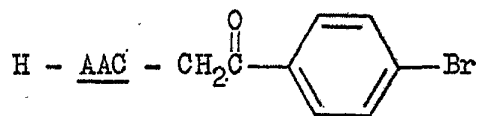


1 sobre 50 ml de acetato de etilo. De nuevo se separa el ace  
tato de etilo por destilación a vacío y el producto resi-  
dual se recoge por filtración con ayuda de éter seco y re-  
sulta pesar 1,21 g, p.f. 176-180°. El producto se obtiene  
5 en forma de agujas cristalinas.

Por tratamiento de este producto con amidasa siguien-  
do el procedimiento del Ejemplo 1 se obtiene  $\Delta^3$ -7-aminocefa-  
losporanato de p-metilsulfonilfenacilo en forma de sal  
del ácido p-toluensulfónico.

10

Ejemplo 7

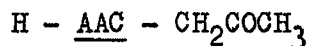


15

Sustituyendo en el procedimiento del Ejemplo 1 la  
2-cloroacetofenona por un peso equimolecular de bromuro de  
p-bromofenacilo se obtiene  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporanato de  
p-bromofenacilo en forma de sal del ácido p-toluensulfónico.

Ejemplo 8

20



Una suspensión de 1,128 g (2,69 milimoles) de 7-(2-  
tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato sódico en 20 ml de  
DMAc (N,N-dimetilacetamida) se trata con 0,368 g (2,69 mili-  
moles) de bromoacetona y se agita a 25° durante 45 minutos.  
25 La mezcla se convierte en una solución transparente al cabo



21

1 de 7 minutos. Se vierte sobre 200 ml de solución de cloru  
ro sódico al 5 % y se cubre con 40 ml de éter. Cristaliza  
el producto, 7-(2-tienilacetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato de  
acetoni  
5 lo, y se separa por filtración, 1,055 g (82,5 %),  
p.f. 137°. Se recristaliza dos veces en solución acuosa de  
acetona, con un rendimiento en producto purificado del 48  
%, p.f. 143,5-145,0°. Los espectros infrarrojo y RMN están  
bien definidos y en completo acuerdo con la estructura es-  
perada. En particular, el espectro RMN demuestra que no se  
10 encuentra presente el isómero  $\Delta^2$ .

Análisis: Calculado para  $C_{19}H_{20}N_2O_7S_2$ : C, 50,43; H,  
4,46. Encontrado: C, 50,98; H, 4,47.

Una solución de 12,0 g de 7-(2-tienilacetamido)- $\Delta^3$ -  
cefalosporanato de acetoni  
15 lo en 600 ml de acetona se diluye  
hasta 12,0 litros con solución de amidasa E. coli y se agi  
ta a 33° durante 2,0 horas. La solución se extrae con dos  
porciones de 6 litros de acetato de etilo, filtrando sobre  
tierra de diatomáceas para destruir las emulsiones. Los ex  
tractos combinados se secan sobre sulfato sódico, se fil -  
20 tran y se añaden sobre ellos 5,05 g (1,00 equivalentes) de  
monohidrato del ácido p-toluensulfónico. La solución resul  
tante se evapora a sequedad en un evaporador rotatorio, se  
disuelve el residuo en unos 200 ml de cloruro de metileno,  
se trata con carbón activo decolorante y se filtra. El fil  
25 trado se evapora hasta pequeño volumen y se diluye con ex

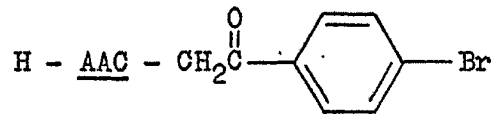


1 caso de éter seco, con lo que precipita el  $\Delta^3$ -7-aminocefa  
losporanato de acetoniilo, sal del ácido p-toluensulfónico,  
6,06 g (45 %), en forma de sólido cristalino de color blan  
co sucio, p.f. 70-74°. Una muestra se vuelve a precipitar  
5 en cloruro de metileno mediante la adición de éter seco sin  
que se produzcan cambios en el punto de fusión.

Análisis: Calculado para  $C_{20}H_{24}N_2O_9S_2$ : C, 47,99; H,  
4,83; N, 5,60. Encontrado: C, 47,73; H, 4,94; N, 5,23.

Ejemplo 9

10



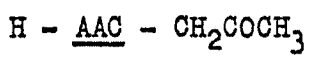
Sobre 25 ml de cloruro de metileno se añaden 1,36 g  
15 (0,005 moles) de ácido 7-aminocefalosporánico seguidos de  
1,4 ml (0,010 moles) de trietilamina y la mezcla se agita  
durante 15 minutos. A continuación se evapora la solución  
resultante a presión reducida hasta dar un aceite viscoso  
que se vuelve a disolver en 25 ml de cloruro de metileno  
20 sobre el que se añade, de una sola vez, con agitación, una  
solución de 1,39 g (0,005 moles) de bromuro de p-bromofena  
cilo en 25 ml de cloruro de metileno. La solución resultan  
te se agita durante 3 horas a 22° y después se extrae con  
secutivamente con tres porciones de 50 ml de agua, tres  
25 porciones de 50 ml de  $NaHCO_3$  al 5 % y tres porciones de 50



1 ml de agua. La solución en cloruro de metileno se filtra  
 después a través de sulfato sódico anhidro y se evapora a  
 presión reducida dando el 7-aminocefalosporanato de p-bro  
 mofenacilo en forma de aceite.

5 Este producto oleoso se disuelve a continuación en  
 50 ml de acetato de etilo, añadiendo sobre el mismo una so  
 lución saturada de hidrato de ácido p-toluensulfónico en  
 acetato de etilo hasta llegar a pH 2. El acetato de etilo  
 se separa entonces a presión reducida y el aceite resul -  
 10 tante se tritura con éter seco, se recoge por filtración  
 y se lava con éter seco, obteniéndose 1,9 g de 7-aminocefa  
 losporanato de p-bromofenacilo en forma de sal del áci  
 do p-toluensulfónico, cuyos espectros infrarrojo y RMN  
 concuerdan con la estructura esperada. El producto contie  
 15 ne aproximadamente el 75 % de isómero  $\Delta^3$  y el 25 % de  
 isómero  $\Delta^2$ .

Ejemplo 10



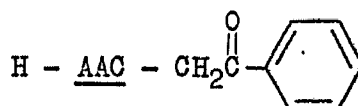
20 Se repite el procedimiento general del Ejemplo 9  
 con la diferencia de que el bromuro de p-bromofenacilo  
 se sustituye por un peso equimolecular de cloroacetona.  
 El producto, sal del ácido p-toluensulfónico del  $\Delta^3$ -7-  
 aminocefalosporanato de acetoniolo, tiene un punto de fu  
 sión de 74°.

25



1

Ejemplo 11



5

10

Se repite el procedimiento general del Ejemplo 9 con la diferencia de que el bromuro de p-bromofenacilo se sustituye por un peso equimolecular de bromuro de fenacilo. El producto, sal del ácido p-toluensulfónico del  $\Delta^3$ -7-aminocefalosporanato de fenacilo, funde a 85-90°. Su espectro infrarrojo (en KBr) presenta las bandas de los grupos carbonilo de los ésteres a 1740  $\text{cm}^{-1}$ , la de fenilcetona a 1695  $\text{cm}^{-1}$ , la de NH a 3430  $\text{cm}^{-1}$  y la de  $\beta$ -lactama a 1790  $\text{cm}^{-1}$ .

Preparación de cefalosporinas

15

20

Los ésteres activados del ácido 7-aminocefalosporánico del presente invento son N-acilados en la forma descrita anteriormente para dar ésteres activados de las cefalosporinas que a continuación se descomponen para producir cefalosporinas ya sea fotolíticamente o por la acción de un anión nucleófilo y preferentemente débilmente básico como se ilustra en las preparaciones que se dan a continuación, en las que se utilizan ésteres activados del ácido 7-(2'-tienilacetamido)-cefalosporánico con fines ilustrativos.

25

21



1

Preparación nº 1

5-7-(2'-Tienilacetamido)-cefalosporanato sódico.- Sobre una solución de 239 mg (0,43 milimoles) de 7-(2'-tienilacetamido)-cefalosporanato de p-nitrofenacilo en 1 ml de sulfóxido de dimetilo seco (SODM) se añade con intensa agitación, a lo largo de un periodo de 8 minutos, una solución de 56,8 mg (0,43 milimoles) de tiofenóxido sódico en 1 ml de SODM. La solución de color púrpura resultante se añade sobre 50 ml de agua enfríaada con hielo a pH 6,5. Esta solución se lava con tres porciones de 30 ml de cloroformo. El pH de la fase acuosa se baja a 2 después, mediante la adición de ácido fosfórico al 40 % y se extrae con dos porciones de 30 ml de acetato de etilo. Después de haber lavado con agua fría los extractos combinados y haberlos secado sobre sulfato magnésico, se tratan con 142 mg (0,43 milimoles) de una solución de 2-etilhexanoato sódico al 50 % en éter. El 7-(2'-tienilacetamido)-cefalósporanato sódico sólido, cristalino, que se separa, se recoge por filtración, se lava con éter y se seca a vacío. El rendimiento es de 84 mg, 42 %. El espectro RMN demuestra que el producto es una mezcla de isómeros  $\Delta^3$  y  $\Delta^2$  en la proporción 39 : 61.

15

20

Preparación nº 2

25-7-(2'-tienilacetamido)-cefalosporanato sódico.- Una solución que contiene 489 mg (0,95 milimoles) de 7-(2'-tie



1 nilacetamido)-cefalosporanato de fenacilo y 125 mg (0,95  
milimoles) de tiofenóxido sódico en 2 ml de dimetilforma  
mida (DMF) seca se deja en reposo a la temperatura am -  
biente (22°) durante 15 minutos. Se añaden 40 ml de clo-  
5 roformo y la solución se extrae con tres porciones de 15  
ml de una solución de bicarbonato sódico al 3 %. Los ex-  
tractos acuosos combinados se enfrían a 5°, se cubren  
con 25 ml de acetato de etilo y se acidulan hasta pH 2  
con ácido fosfórico al 40 % agitando intensamente. Se se-  
10 paran las dos capas y la fase acuosa se extrae con 25 ml  
de acetato de etilo limpio. Los extractos orgánicos com-  
binados se lavan con dos porciones de 20 ml de agua y se  
secan brevemente sobre sulfato magnésico. Se añaden con  
agitación 315 mg (0,95 milimoles) de una solución al 50%  
15 de 2-etilhexanoato sódico en éter y la solución se enfría  
a 5°. El 7-(2'-tienilacetamido)-cefalosporanato sódico só-  
lido, cristalino, que precipita se recoge por filtración,  
se lava con éter y se seca a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Mediante  
este procedimiento se obtienen 220 mg (55 %) de un produc-  
20 to de p.f. 173-175° (desc.). El espectro RMN indica que  
el producto es una mezcla de 7-(2'-tienilacetamido)-3-ace-  
toximetil- $\Delta^2$ -cefem-4-carboxilato sódico y 7-(2'-tienil -  
acetamido)-3-acetoximetil- $\Delta^3$ -cefem-4-carboxilato sódico  
en la proporción de 9 : 1 aproximadamente.

25 7-(2'-Tienilacetamido)-3-acetoximetil- $\Delta^2$ -cefem-4-



1 carboxilato sódico.- Se reproduce el experimento acabado  
de describir utilizando 200 mg (0,39 milimoles) de 7-(2-  
tienilacetamido)-3-acetoximetil- $\Delta^2$ -cefem-4-carboxilato  
de fenacilo y 103 mg (0,78 milimoles) de tiofenóxido só-  
5 dico en 1 ml de DMF seca. El rendimiento de sal sódica  
es de 70 mg (43 %), p.f. 175-177° (desc.). El espectro  
RMN demuestra que el producto está constituido exclusiva-  
mente por isómero  $\Delta^2$ .

Preparación nº 3

10 Ácido 7-(2-tienilacetamido)-cefalosporánico.- Una  
solución conteniendo 55 mg de 7-(2-tienilacetamido)-cefa-  
losporanato de fenacilo y 0,028 ml de anilina en 125 ml  
de tetrahidrofurano se fotoliza en un aparato de cuarzo  
fundido con una lámpara de arco de mercurio Hanovia de  
15 100 watos, a 7° de temperatura exterior, durante 10 mi-  
nutos. El disolvente se separa a vacío a 35° y el produc-  
to, ácido 7-(2-tienilacetamido)-cefalosporánico, se seca  
hasta dar una goma esponjosa mediante aplicación de alto  
vacío. El producto se somete a cromatografía en capa del-  
20 gada sobre gel de sílice, utilizando la fase superior de  
una mezcla disolvente constituida por 80 partes de n-bu-  
tanol, 20 partes de etanol y 100 partes de agua, y a con-  
tinuación el cromatograma desarrollado se pone en contac-  
to con una placa cubierta uniformemente con agar B. sub-  
25 tilis. Después de un periodo de incubación adecuado, la



1 aparición de zonas de inhibición del crecimiento del orga  
nismo demuestra la presencia de antibiótico activo. Por  
este método se halla que el producto de la fotólisis con-  
tiene una sola sustancia activa cuyo  $R_f$  (0,55) es idénti-  
5 co al del ácido 7-(2-tienilacetamido)-cefalosporánico au-  
téntico que se cromatografía a su lado para comparar di-  
rectamente. A partir del diámetro de la zona de inhibición  
se calcula que el producto bruto de la fotólisis contiene  
aproximadamente el 10 % en peso de ácido 7-(2-tienilaceta-  
10 mido)-cefalosporánico.

#### Preparación nº 4

7-(2-Tienilacetamido)-cefalosporanato sódico por hi-  
drólisis del éster.- Una solución de 400 mg de 7-(2-tienil  
15 acetamido)- $\Delta^3$ -cefalosporanato de acetoniilo en 200 ml de  
acetona se diluye con 200 ml de solución amortiguadora de  
fosfato 0,20 M a pH 8,0 y se deja en reposo a 25° durante  
24 horas. Se separa la acetona por destilación a 35° y des-  
pués se elimina por filtración una ligera turbidez que apa-  
rece. El filtrado se acidula hasta pH 2,0 con ácido clorhí-  
20 drico 6 N y se extrae con dos porciones de 150 ml y tres  
porciones de 80 ml de acetato de etilo. Los extractos com-  
binados se lavan tres veces con porciones de 50 ml de solu-  
ción saturada de cloruro sódico, se secan sobre sulfato só-  
dico, se filtran, se evaporan a vacío hasta unos 100 ml y  
25 se tratan con 0,22 ml de solución al 50 % de 2-etilhexanoa

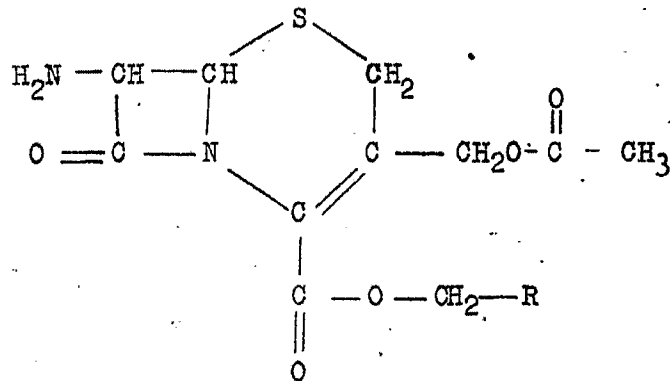


1 to sódico en n-butanol. A continuación se evapora la solu-  
ción a sequedad en un evaporador rotatorio a 35° y des -  
pués se evapora dos veces más con porciones de 50 ml de  
acetato de etilo. Cuando el volumen de la última evapora-  
5 ción es de unos 5 ml, la solución se diluye con 120 ml de  
éter seco, precipitando el producto, 7-(2-tienilacetami -  
do)-cefalosporanato sódico, en forma de sólido blanco. Se  
recoge por filtración y se seca, 297 mg (81 %). Su espec-  
tro RMN en D<sub>2</sub>O demuestra que se trata de una mezcla muy  
10 limpia que contiene el 40 % del isómero  $\Delta^3$  y el 60 % del  
isómero  $\Delta^2$ .

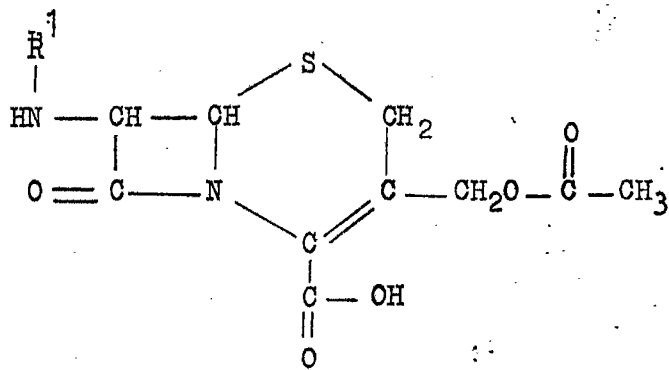


REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de ésteres activados del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula



donde R representa alcanóilo (inferior), N-ftalimido, benzóilo, naftóilo, furoílo, tenoílo, nitrobenzóilo, halobenzóilo, metilbenzóilo, metanosulfonilbenzóilo o fenilbenzóilo, y sales de adición con ácidos de los mismos; cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un ácido de fórmula



donde R<sup>1</sup> representa hidrógeno o el radical 2-tienilacetilo, preferiblemente en forma de una sal neutra de dicho



1 ácido, con una cantidad por lo menos equimolecular aproximada-  
mente de un compuesto de fórmula  $R - CH_2 - X$ , donde R es el de  
finido anteriormente y X es un átomo de halógeno, preferiblemen  
te cloro o bromo, en un disolvente inerte, a una temperatura -  
5 comprendida entre unos 0°C y unos 40°C; y, cuando R<sup>1</sup> es el ra-  
dical 2-tienilacetilo, separar dicho radical por desacilación  
con una amidasa.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1 en el  
cual la amidasa deriva del E. coli o del Arthrobacter vis cosus.

10 3. Un procedimiento según la Reivindicación 1 en el  
cual se esterifica una sal neutra del ácido 7-aminocefalosporá-  
nico con un agente de esterificación de fórmula  $R - CH_2 - X$ , -  
donde R es el definido en la Reivindicación 1 y X representa clo  
ro o bromo.

15 4. Se reivindica por último como objeto sobre el que  
ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: " UN PROCE  
DIMIENTO PARA LA PREPARACION DE ESTERES".

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre-  
sente Memoria descriptiva que consta de treinta y dos páginas me  
canografiadas.

Madrid, 21 de julio 1.966

BERNARDO UNGRIA

P.P.

25