

335868

P.- 34.181

Demande brevet au
Japon nº 3794/66



MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

de

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

formulada el 20 de Enero de 1.967, con el nº 335.868

en

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD., entidad
japonesa, establecida en Nº 3, Doshomachi 4-chome
Higashiku, Osaka, Japón, por:

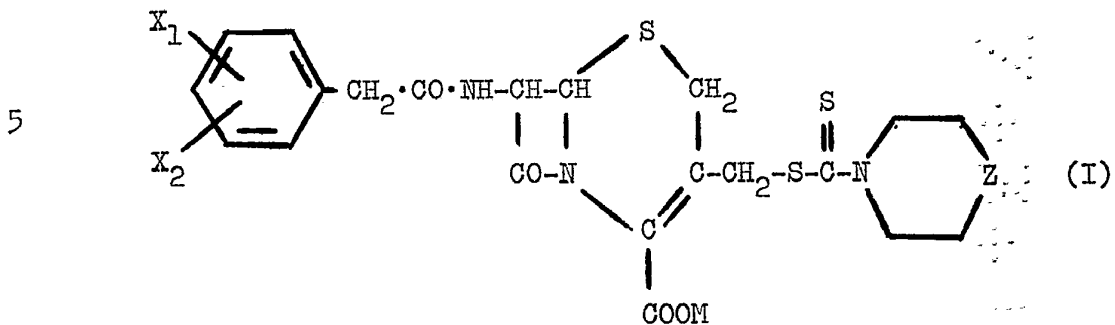
"UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN COMPUESTO DERIVADO DEL
ACIDO 7-FENILACETAMIDOCEFALOSPORANICO"

Esta invención se refiere a nuevos derivados
del ácido 7-fenilacetamidocefalosporánico, y a los méto-
dos para su preparación y empleo.

Los derivados del ácido 7-fenilacetamidocefa-
losporánico de esta invención pueden ser representados por

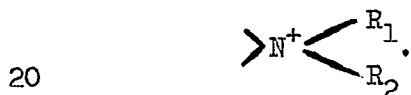
5
27.2.67.

la fórmula siguiente (I):



10 en la que X_1 es un átomo de hidrógeno o de halógeno; X_2 es un átomo de halógeno o un grupo nitro; Z es un átomo de oxígeno o el grupo $>N-R_1$, $>N^+ \begin{matrix} R_1 \\ R_2 \end{matrix}$, ó

15 $>N^+ \begin{matrix} R_1 \\ R_2 \end{matrix} Y^-$, en el que R_1 es un grupo alcoholo inferior, hidroxialcoholo inferior o bencilo, R_2 es un grupo alcoholo inferior, e Y es un radical de un ácido mineral; y M es un átomo de hidrógeno o un metal alcalino, o una carga aniónica cuando Z es



Tal como se emplea ahora y más adelante en la Memoria, el término "inferior" quiere decir el grupo que contiene de uno a seis átomos de carbono, y el término "halógeno" quiere decir cloro, bromo y yodo. Además, la expresión "un radical de un ácido mineral" se refiere a Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , SO_4^- y similares.

25

Aunque hasta hoy día han aparecido muchos de rivados de los compuestos de cefalosporina, los autores o solicitantes de la presente invención han comprobado que los compuestos de la misma representados por la fórmula

30

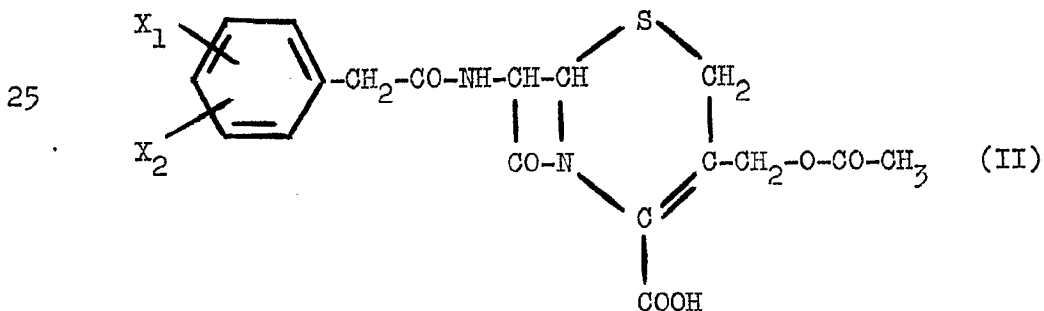
27.2.67.



la (I) anterior son un agente antibacteriano excelente que tienen las siguientes características:

1. Los compuestos muestran una actividad antibacteriana notablemente elevada frente a las bacterias gram positivas, y también una potente actividad antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* resistente y sensible a la penicilina.
2. La actividad antibacteriana está muy poco influenciada en presencia de suero, y se reduce muy poco en presencia de homogeneizados de tejidos de ratas.
3. Los ensayos orales en ratones demostraron que los compuestos tienen un potente efecto de protección contra las bacterias gram positivas, así como contra el *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* ó *Streptococcus hemolyticus* resistentes y sensibles a la penicilina.
4. Por administración parenteral, mantienen elevadas concentraciones en sangre.
5. Son de toxicidad extremadamente baja.
6. Son absorbidos favorablemente por administración oral.

Los compuestos (I) de este invento pueden ser preparados haciendo reaccionar ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos que tienen la fórmula (II)



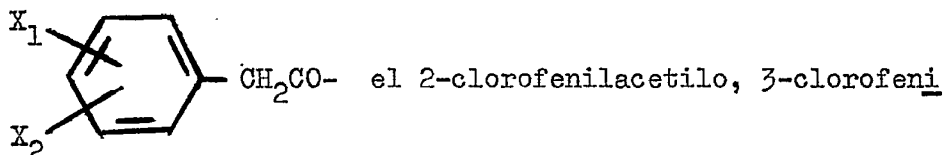
30
27.2.67.

- 3 - 335868



(en la que X_1 y X_2 tienen los mismos significados que anteriormente) o sus sales, con piperazino-ditiocarboxilatos N-monosustituídos o morfolino-ditiocarboxilatos y, si es necesario, haciendo reaccionar el producto resultante con un agente N-alcoholante en el caso de tratarse de derivados de ácido piperazino-ditiocarboxílico N-monosustituído de los ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos, y después tratando sus compuestos N,N-disustituídos correspondientes con un ácido mineral.

10 Tal como se utilizan en las fórmulas anteriores (I) y (II), son ejemplos específicos del grupo



15 lacetilo, 4-clorofenilacetilo, 2-bromofenilacetilo, 3-bromofenilacetilo, 4-bromofenilacetilo, 4-yodofenilacetilo, 2,3-diclorofenilacetilo, 2,4-diclorofenilacetilo, 2,5-diclorofenilacetilo, 2,6-diclorofenilacetilo, 3,4-diclorofenilacetilo, 2-nitrofenilacetilo, 3-nitrofenilacetilo,
20 4-nitrofenilacetilo, 2-cloro-3-nitrofenilacetilo, 2-nitro-3-clorofenilacetilo, 2-cloro-4-nitrofenilacetilo, 2-cloro-6-nitrofenilacetilo, 3-nitro-4-clorofenilacetilo, 2-nitro-5-clorofenilacetilo, y similares.

Ejemplos de las sales de los ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos que han de emplearse en la reacción anterior son las sales inorgánicas tales como las sales de sodio, potasio, amonio o similares, y las sales orgánicas tales como las sales de trietilamonio, dicitclohexilamonio o similares. Asimismo, son ejemplos de piperazino-ditiocarboxilatos N-monosustituídos o morfolino-ditio-

27.2.67.

335868



carboxilatos, las sales de sodio, potasio o amonio del ácido morfolino-ditiocarboxílico o del ácido piperazino-ditiocarboxílico N-monosustituído, en el que son ejemplos de los sustituyentes de la parte de piperazina el metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, hidroximetilc, hidroxietilo, hidroxipropilo, bencilo y similares.

La reacción de los ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos o sus sales con piperazino-ditiocarboxilatos N-monosustituídos o morfolino-ditiocarboxilatos se lleva a cabo usualmente en un disolvente. Entre los disolventes pueden citarse el agua, cloroformo, nitrobenzeno, formamida, dimetilformamida, metanol, etanol, dimetilsulfóxido, acetona y otros disolventes orgánicos inertes en esta reacción. Los disolventes muy polares tales como el agua o la formamida pueden ser empleados preferiblemente en esta invención. Además, pueden usarse con agua los disolventes hidrofílicos. La reacción se lleva a cabo preferiblemente en un medio de débilmente alcalino a ácido. Cuando se emplea la forma de ácidos libres de los ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánico (II) como material de partida, es deseable llevar a cabo la reacción en presencia de una base, como, por ejemplo, un hidróxido de metal alcalino, un carbonato de hidrógeno y metal alcalino o una triálcoholamina. La temperatura de reacción no está particularmente limitada, pero preferiblemente se lleva a cabo con calentamiento suave.

Entre los compuestos obtenidos por medio de la reacción anteriormente mencionada, los derivados de ácido piperazino-ditiocarboxílico N-monosustituído de los

27.2.67.



ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos pueden convertirse en los compuestos N,N-disustituídos correspondientes por tratamiento con un agente N-alcoholante. Los agentes N-alcoholantes adecuados pueden ser bromuro o yoduro de alcohol inferior, como el yoduro de metilo, bromuro de etilo, yoduro de etilo, yoduro de propilo, yoduro de butilo o similares, y también sulfato de dialcohol inferior, como sulfato de dimetilo.

La reacción de N-alcoholación se lleva a cabo usualmente en un disolvente tal como el cloroformo, la formamida o similar, entre los que el más preferible puede ser la formamida. Además, los compuestos N,N-disustituídos pueden convertirse en las sales correspondientes con un ácido mineral. Los ácidos minerales adecuados pueden ser el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y similares.

Como método alternativo, los compuestos (I) de esta invención pueden obtenerse acilando ácidos 7-amino-3-(tiocarboniltiometil sustituido)-3-cefen-4-carboxílicos, o sus sales, con derivados reactivos apropiados de ácidos fenilacéticos sustituidos.

Puede obtenerse, por ejemplo, ácido 7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefen-4-carboxílico tratando ácido 7-amino-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefen-4-carboxílico con cloruro de 3-clorofenilacetilo.

Los productos objeto de esta invención producidos pueden ser separados y recogidos según métodos convencionales conocidos en la técnica.

Todos los procedimientos de esta invención se



llevan a cabo preferiblemente en condiciones suaves, a causa de la inestabilidad relativa de los compuestos de cefalosporina.

5 A continuación se ilustran los resultados de ensayos biológicos y clínicos de los compuestos representativos de esta invención.

(I) Ensayos biológicos y clínicos:

1) Espectro o intervalo de actividad antibacteriana

10 En la Tabla 1 se da la concentración inhibitoria mínima frente a varias clases de bacterias gram positivas y negativas, determinada por el método usual de dilución consecutiva o en serie de agar.

27.2.67.

335868



TABLA 1

microgramos/ml

Organismos	Compuesto A	Compuesto B	Compuesto C	Compuesto D	Compuesto E	Compuesto F
Staphylococcus aureus Newman	0,05	0,05	0,05	0,1	0,1	0,1
Staphylococcus aureus Ferashima	0,1	0,05	0,05	0,1	0,1	0,1
Staphylococcus aureus Smith	0,025	0,0125	0,0125	0,025	0,025	0,05
Staphylococcus aureus 209-P	0,025	0,025	0,05	0,05	0,05	0,05
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,025	0,025	0,025	0,025	0,1	0,025
Bacillus subtilis PCI-219	0,025	0,025	0,025	-	-	-
Diplococcus pneumoniae III	0,05	0,025	0,0125	0,1	0,1	0,1
Streptococcus hemolyticus S-23	0,0125	0,025	0,00625	0,025	0,05	0,05
Sarcina lutea PCI-1001	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125
Escherichia coli NIHJ	2,5	2,5	2,5	1,25-2,5	1,25	5,0

27.2.67.

1 00 1

335868



compuesto (A) inhibió el desarrollo de todas las cepas a concentraciones a 12,5 microgramos/ml., el de la mayor parte de las cepas (70%) a concentraciones inferiores a 3,13 microgramos/ml., y el del 46% de las cepas a una concentración de 0,19 microgramos/ml., respectivamente.

3) Influencia del suero en la actividad antibacteriana

Se añadió suero normal de conejo, al 10%, 25% y 50% respectivamente, a los medios de ensayo, que fueron inoculados con *Staphylococcus aureus* 209-P a 37°C durante 20 horas, y se examinó después el desarrollo bacteriano. Las concentraciones inhibitorias mínimas se dan en la tabla siguiente. En lo que respecta a los medios de ensayo, se empleó agar para los medios a los que se añadió suero del 10%, y para los medios a los que se añadió suero de 25% y 50% se empleó caldo de extracto de carne.

Tabla II

Compuesto	Control	microgramos/ml		
		Adición de suero	10%	25%
A	0,05	0,1	0,1	0,1
B	0,025	0,05	0,2	0,2

4) Efecto protector frente a las infecciones

i) El valor ED₅₀ del compuesto (A) administrado oralmente a ratones infectados con *Diplococcus pneumoniae* era de 1/5 aproximadamente del de la 5-metil-3-(2-clorofenil)isoxazolilpenicilina, y aproximadamente la mitad

30
27.2.67.

335868



del de la alfa-aminobencilpenicilina.

5 El valor ED₅₀ del compuesto (A) administrado oralmente a ratones infectados con *Streptococcus hemolyticus* era de aproximadamente 1/4 del de la 5-metil-3-(2-clorofenil)isoxazolilpenicilina, y aproximadamente el mismo que el de la alfa-aminobencilpenicilina.

10 ii) En ratones infectados con *Staphylococcus aureus* (Smith y Newman), el efecto curativo del compuesto (A) por administración oral era aproximadamente el mismo que el de la cefaloridina administrada por vía subcutánea. También se observó una elevada actividad del compuesto (A) contra las infecciones causadas por cepas resistentes a la alfa-aminobencilpenicilina.

15 Como resultado de un ensayo en que se utilizó *Staphylococcus aureus* aislado clínicamente (Nº 43) como organismo de ensayo, el índice de curación fue del 100% con una dosis del compuesto (A), administrada oralmente a ratones, de 3 mg, y de aproximadamente el 70% con una dosis de 0,75 mg. administrada oralmente a ratones, respectivamente. En este experimento, el organismo de ensayo se cultivó sobre infusión de cerebro y corazón en tubo inclinado, habiendo sido añadido suero de conejo al 10%, y después se incubó a 37°C durante 20 horas (el recuento de células viables era de 2-3 x 10⁸ células/ml.). A esta suspensión de bacterias se añadió mucina gástrica al 5% en
20 igual volumen, y la cavidad intestinal de ratones de cepa dd se inoculó con 0,5 ml. de la disolución mixta. Los ratones experimentales eran 7 animales por cada grupo.

25
30 iii) En ratones infectados con *Staphylococcus aureus* (Newman y Smith) y *Diplococcus pneumoniae*, el efecto

27.2.67.



curativo del compuesto (A) administrado por vía subcutánea era superior o sustancialmente igual al de la cefaloridina.

5) Absorción y secreción

5 1) La suspensión del compuesto (A) se administró oralmente a conejos en dosis de 100 mg/kg, y a perros en dosis de 20 mg/kg, y se determinaron las concentraciones de la sustancia antibiótica en el suero y en la orina.

10 En el experimento con conejos, la concentración máxima en la sangre se alcanzó 3 horas después de su administración, siendo el valor medio de la concentración de 1,7 microgramos/ml. La proporción de la sustancia excretada por completo en 24 horas correspondía al 7-8% del volumen administrado, tanto en los conejos como en los 15 perros.

ii) La suspensión de compuestos (A) y una disolución de cefaloridina se administraron por vía intramuscular a ratas, en dosis de 20 mg/kg respectivamente. 20 Las concentraciones en el suero del compuestos (A) eran superiores a las de la cefaloridina, como se muestra en la Tabla III.

Tabla III

	Concentración en suero (microgramos/ml.)		
	30 min.	1 hora	2 horas
Compuesto A	29,0	24,0	7,7
Cefaloridina	13,2	4,0	0,28

30 6) Toxicidad aguda en ratones
27.2.67.

335868



En los animales que recibieron el compuesto (A) por vía oral, no tuvo lugar ninguna muerte incluso administrando 8.000 mg/kg. El valor LD_{50} después de la administración subcutánea era de más de 8.000 mg/kg, y el de después de una inyección intraperitoneal era de 1.326 mg/kg.

7) Ensayo clínico

Se llevó a cabo un estudio del compuesto (A) en seres humanos, con 12 pacientes que padecían varias enfermedades de neumonía bronquial, asma bronquial, bronquitis, neumonía, tonsilitis aguda, endocarditis bacteriana o abscesos de cadera, administrando por vía oral 2 g. diarios durante 4 a 18 días. Se comprobó el efecto curativo en 11 pacientes.

(II) Dosificación

La dosis diaria óptima para adultos de los compuestos de cefalosporina de esta invención es de aproximadamente 250-3000 mg. y la dosis unitaria óptima, de aproximadamente 125-750 mg. No obstante, estas dosis dependen del estado, peso corporal, etc. del paciente, y también de la vía oral o parenteral de administración.

Por vía oral, a los pacientes adultos se administra de una sola vez dos o tres tabletas o cápsulas, conteniendo cada una de ellas 250 mg. del compuesto de cefalosporina, y dos o tres veces por día. Y por vía parenteral, se administra de una sola vez una o dos inyecciones que contienen 125 mg del compuesto de cefalosporina, y esto de dos a cuatro veces por día.

(III) Composición.

Los compuestos de cefalosporina de esta inven

7 MAR



ción pueden ser administrados a seres humanos por cualquier vía adecuada, por ej. por vía oral o parenteral. Las composiciones administradas por vía oral pueden ser polvos, gránulos, tabletas o cápsulas dispensables, pero lo más conveniente pueden ser las cápsulas. Las formas adecuadas de las composiciones para uso parenteral pueden ser una disolución o suspensión inyectable. Para algunos de los compuestos de cefalosporina que son menos solubles en agua se prepara, de modo deseable, una suspensión inyectable. En este caso, el compuesto de cefalosporina se pulveriza finamente y después se pone en suspensión en una disolución acuosa que contiene uno o más agentes dispersantes (como carboximetilcelulosa, metilcelulosa o polivinil pirrolidona), un agente tensioactivo (como Tween 20 ó Tween 80), un antiséptico (como metilparabeno o propilparabeno), o un estabilizante (como por ej. citrato de sodio o cloruro de sodio). Una suspensión adecuada puede contener 1 a 2% del agente dispersante, 0,1 a 0,5% del agente tensioactivo, 0,2 a 0,5% del antiséptico, y 1 a 2% del estabilidante.

Las indicaciones principales o aplicaciones de los compuestos de cefalosporina de esta invención son las infecciones causadas por bacterias gram positivas, incluyendo Staphylococos resistentes a la penicilina y sensibles, por ej. la neumonía, neumonía bronquial, bronquitis, bronquitis aguda, tonsilitis, laringitis, endocarditis bacteriana, infecciones de heridas y de la piel, otitis medias, absesos, miocarditis y similares.

En los ejemplos siguientes se describen varias realizaciones preferidas que ilustran la invención. Ha de

30
27.2.67.

335800



λ H_2O 272 milimicras $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 334
 máx.

Una disolución de 400 mg. del material prepara-
 do antes, en 8 ml. de formamida, a la que se añadieron
 5 152 mg. de yoduro de metilo, se dejó reposar durante una
 hora y media. Después se hizo formar el precipitado aña-
 diendo 2,4 ml. de acetona y calentando en un baño de agua
 a 45°C durante una hora con agitación, y se filtró por
 succión una vez frío, y se lavó con 5 ml. de una mezcla
 10 de tetrahidrofurano y metanol en la relación de 2:1, y
 después con 1 ml. de acetona y 0,5 ml. de éter, para dar
 236 mg. de sal interna de hidróxido de 4-((7-(3-clorofe-
 nil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)metiltiotiocarbonil)
 -1,1-dimetilpiperazinio, que tenía un punto de fusión de
 15 176°C (con descomposición)

Espectro de absorción ultravioleta

λ 80% tetrahidrofurano 275 milimicras. $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 384
 máx.

20 Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_3\text{Cl}_1 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$:
 C, 48,90; H, 4,96; N, 9,93; S, 17,0; Cl 6,29
 Encontrado:
 C, 48,91; H, 5,28; N, 9,86; S, 16,89; Cl, 6,60

b) Una disolución de 7-(3-clorofenil)acetamidocefalospo-
 ranato de sodio, producido a partir de 4.250 mg. de ácido
 25 7-(3-clorofenil)acetamidocefalosporánico, en 70 ml. de
 agua, a la que después se añadieron 2.200 mg. de 4-metil-
 piperazino-1-ditiocarboxilato de sodio ($2\text{H}_2\text{O}$), se calentó
 a 40°C durante 24 horas, con agitación de vez en cuando,
 30 y se enfrió después de la adición de 110 ml. de una diso-
 27.2.67.



lución acuosa saturada de cloruro de sodio. El precipitado aceitoso resultante se disolvió en 150 ml. de cloroformo, y se lavó seis veces con 30 ml. de una mezcla de la disolución acuosa saturada de cloruro de sodio y agua en la relación de 1:1. La capa de cloroformo se secó sobre sulfato de sodio y se concentró bajo presión reducida. Después se añadió éter a la disolución residual, y el precipitado se recogió por filtración, para dar 2.690 mg. de 7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarbonyl)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, con un punto de fusión de 161-162°C (con descomposición).

Después, una disolución de 1.000 mg. del material antes producido en 20 ml. de cloroformo, a la que se habían añadido 2 ml. de la disolución en cloroformo que contenía 300 mg. de yoduro de metilo, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 3 días, agitando de vez en cuando. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó cuatro veces con 5 ml. de agua, después se disolvió en 10 ml. de una disolución mixta de dimetilformamida y agua, y, después de añadidos 200 ml. de tetrahydrofurano, se dejó reposar en un lugar frío para dar el precipitado. El precipitado se recogió por centrifugación (10.000 r.p.m.) y se lavó con éter para dar sal interna de hidróxido de 4-((7-(3-clorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazino.

Ejemplo 2.

Cloruro de 4-((7-(3-clorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpi-

30
27.2.67.

335868



perazinio.

Una suspensión de 1.665 mg. de material anteriormente preparado, en 30 ml. de agua, se agitó y se le añadieron 0,3 ml. de ácido clorhídrico 10N hasta dar una disolución transparente. La disolución resultante se concentró en vacío, y, después de añadido etanol del 99%, se concentró de nuevo en vacío para dar 1,5 g. de cloruro de 4-((7-(3-clorofenil)acetamido-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio.

Ejemplo 3.

7-(3,4-diclorofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, y sal interna de hidróxido de 4-((7-(3,4-diclorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio.

Una disolución de 2,0 g. de ácido 7-(3,4-diclorofenil)acetamidocefalosporánico y 550 mg. de carbonato de hidrógeno y sodio en 50 ml. de agua, a la que se había añadido 5 ml. de una disolución acuosa que contenía 1,5 g. de 4-metilpiperazino-1-ditiocarboxilato de sodio, se calentó a 65°C durante dos horas, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se sometió a extracción tres veces con 100 ml. de cloroformo, después de la adición de 50 ml. de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio. Se separó la capa de cloroformo resultante, después se lavó dos veces con 40 ml. de la disolución saturada de cloruro de sodio, y se secó sobre sulfato de sodio. El cloroformo se separó en vacío, el residuo resultante se lavó con éter y se recrystalizó a partir de te-

27.2.67.



trahidrofurano, para dar 1.300 mg de 7-(3,4-diclorofenil) acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, que tenía un punto de fusión de 210-212°C (se descompone).

5 Espectro de absorción ultravioleta:

λ Tampón de fosfato (pH 6,4)
 máx. 273 milimicras. E^{1%}_{1cm} 309

10 Una disolución de 600 mg. del material antes producido, en 10 ml. de formamida, a la que se añadieron 350 mg. de yoduro de metilo, se dejó reposar durante 1 hora y media, y se añadieron 20 ml. de acetona para formar el precipitado. El precipitado se recogió por filtración, y se lavó con acetona, después con agua y de nuevo
 15 con acetona, para dar 350 mg. de sal interna de hidróxido de 4-((7-(3,4-diclorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio, con un punto de fusión de 182-183°C (con descomposición).

Espectro de absorción ultravioleta:

20 λ Tampón de fosfato (pH 6,4)
 máx. 273 milimicras. E^{1%}_{1cm} 394

Ejemplo 4.

25 7-(3-bromofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, y sal interna de hidróxido de 4-((7-(3-bromofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio.

30 Una disolución de 7-(3-bromofenil)acetamidocefalosporanato de sodio, preparada a partir de 3.000 mg. de
 27.2.67.



ácido 7-(3-bromofenil)acetamidocefalosporánico, en 95 ml. de agua, a la que después se añadieron 1.500 mg. de 4-metilpiperazino-1-ditiocarboxilato de sodio (2H₂O), se calentó a 40°C durante 24 horas, con agitación, y se enfrió después de la adición de 100 ml. de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, para dar el precipitado aceitoso. Después, éste se filtró, se disolvió en aproximadamente 100 ml. de cloroformo, y se lavó cuatro veces con 40 ml. de una mezcla de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio y agua en la relación 1:1. Se fraccionó la capa de cloroformo resultante, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró bajo presión reducida. El residuo se filtró, para dar 7-(3-bromofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cem-4-carboxilato de sodio, con un punto de fusión de 155-158°C (con descomposición).

Espectro de absorción ultravioleta:

$\lambda_{\text{max.}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 270 milimicras, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 269

Una disolución mixta de 1.000 mg. del material preparado anteriormente en 15 ml. de cloroformo, a la que se añadieron 3 ml. de disolución en cloroformo que contenía 270 mg. de yoduro de metilo, se dejó reposar durante 48 horas, con agitación de vez en cuando, para dar el precipitado. Después se filtró éste, se secó y se lavó con 10 ml. de agua, y dos veces más con 3 ml. de agua. El lavado puede emplearse también para dar el compuesto que se pretende obtener. El precipitado resultante se disolvió en una disolución mixta de 3 ml. de dimetilformamida y agua, se diluyó con tetrahidrofurano hasta completar

30
27.2.67.

335868



100 ml., y después se recogió por centrifugación, para dar 270 mg. sal interna de hidróxido de 4-((7-(3-bromofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio, con un punto de fusión de 157-176°C (con descomposición).

Después, al líquido de lavado anterior se añadió agua hasta completar aproximadamente 100 ml. para dar un precipitado viscoso, y se filtró y disolvió en la disolución mixta anterior de dimetilformamida y agua, y después se añadieron 40 ml. de tetrahidrofurano para dar el precipitado. El precipitado resultante se recogió por filtración, para dar 124 mg. del mismo compuesto objeto de la invención. (Producción: 394 mg.).

Espectro de absorción ultravioleta:

15 λ $C_2H_5OH:H_2O = 4:1$
máx. 273 milimicras. $E_{1\%}^{1cm}$ 288

Ejemplo 5.

20 7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-(2-hidroxietil)piperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Una disolución de 2.230 mg. de 7-(3-clorofenil)acetamidocefalosporanato de sodio en 100 ml. de agua, a la que después se añadieron 1.280 mg. de 4-(2-hidroxietil)piperazino-1-ditio-carboxilato de sodio (1 1/2 H₂O), se dejó reposar a 40°C durante 24 horas, después de la adición de 100 ml. de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, para dar un precipitado similar a un gel. Después se recogió éste por centrifugación, se secó

27.2.67.

335868



bajo presión reducida y se disolvió en metanol. El precipitado resultante se filtró, después de la adición de éter, para dar 1.330 mg. de 7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-(2-hidroxietyl)-piperazino-1-tiocarboniltiometyl)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Espectro de absorción ultravioleta:

λ H_2O
máx. 271 milimicras. $E^{1\%}$ 292
1cm

10 Ejemplo 6.

7-(4-clorofenil)acetamido-3-(4-(2-hidroxietyl)piperazino-1-tiocarboniltiometyl)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Una disolución de 1.300 mg. de ácido 7-(4-clorofenil)-acetamidocefalosporánico y 250 mg. de carbonato de hidrógeno y sodio en 25 ml. de agua, a la que se añadieron 850 mg. de 4-(2-hidroxietyl)-piperazino-1-ditiocarboxilato de sodio, se agitó a temperatura ambiente para dar una disolución transparente. El pH de la disolución transparente resultante se ajustó a 8,4, y se calentó ésta a 55°C durante 7 horas, con agitación. Se añadió una disolución mixta de 20 ml. de cloroformo y 25 ml. de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, para precipitar un aceite viscoso en una capa acuosa. Este precipitado se recogió después por filtración a partir de la capa acuosa resultante, y se disolvió en 30 ml. de dimetilformamida. La disolución se dividió en dos partes: la misma cantidad de acetona se añadió a una parte de la disolución, para precipitar un cristal blanco amarillento débil. Se recogió por filtración para dar 256 mg. de 7-(4-cloro-

30
27.2.67.



fenil)-acetamido-3-(4-(2-hidroxietil)piperazino-1-tiocar-
 boniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, con un
 punto de fusión de 215-217°C (con descomposición). Y a la
 otra parte de la disolución se añadieron 100 ml. de tetra
 5 hidrofurano, y después 150 ml. de acetato de etilo, para
 dar 500 mg. del compuesto objeto de la invención. Después,
 el filtrado de acetato de etilo anterior se diluyó con
 100 ml. de acetato de etilo para dar el precipitado.
 (Producción: 1.074 mg.)

10 Espectro de absorción ultravioleta:

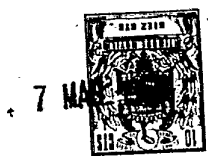
λ tetrahidrofurano de 80% 276 milimicras. E^{1%} 336
 máx. lcm

Ejemplo 7.

15 7-(4-clorofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazi-
 no-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Una disolución de 2,0 g. de ácido 7-(4-cloro-
 fenil)acetamidocefalosporánico, 300 mg. de carbonato de
 sodio e hidrógeno, y 1,2 g. de 4-metilpiperazino-1-ditio-
 20 carboxilato de sodio (1 1/2H₂O) en 50 ml. de una disolu-
 ción tamponadora de pH 6,5, se agitó a 70°C durante una
 hora y media, y se sometió a extracción dos veces con 50
 ml. de cloroformo, después de la adición de 50 ml. de una
 disolución acuosa saturada de cloruro de sodio. Se frac-
 25 cionó la capa de cloroformo, se lavó con 20 ml. de diso-
 lución acuosa saturada de 50% de cloruro de sodio y se se-
 có sobre sulfato de sodio. Después se separó el cloroformo,
 y el residuo resultante se disolvió en éter para pre-
 cipitar el cristal. El cristal se recogió por filtración
 para dar 1,0 g. de 7-(4-clorofenil)acetamido-3-(4-metilpi

30
 27.2.67.



perazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Espectro de absorción ultravioleta:

5 λ H_2O 275 milimicras. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 315
máx. lcm

Ejemplo 8.

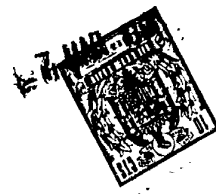
7-(2-nitrofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazi
no-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

10 Una mezcla de 1,0 g. de ácido 7-(2-nitrofenil)
acetamidocefalosporánico y 200 mg. de carbonato de sodio
e hidrógeno, se disolvió en una disolución mixta de ace-
tona y agua en la relación 1:1, se le añadieron 520 mg. de
15 4-metilpiperazino-1-ditiocarboxilato de sodio, y se calen-
tó a 60°C durante cinco horas. La acetona se separó en va-
cío, y se añadió al residuo una disolución acuosa satura-
da de cloruro de sodio, para dar el precipitado. El preci-
20 pitado resultante se extrajo con cloroformo, y la capa de
cloroformo fraccionada se lavó cuatro veces con disolución
acuosa saturada de 50% de cloruro de sodio, y se secó so-
bre sulfato de sodio. Del extracto en cloroformo se sepa-
ró el cloroformo, y se añadió éter al residuo para dar el
precipitado. El precipitado resultante se recogió por fil-
25 tración, se disolvió en tetrahidrofurano, después se con-
centró y el cristal se recogió por filtración para dar 440
mg. de 7-(2-nitrofenil)acetamido-3-(4-metilpiperazino-1-
tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Espectro de absorción ultravioleta:

30 λ tetrahidrofurano al 20% 270 milimicras. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 410
máx. lcm
27.2.67.

335868



Ejemplo 9.

7-(4-clorofenil)acetamido-3-(morfolino-4-tio-carboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

5 Una disolución de 2,0 g. de ácido 7-(4-cloro-
fenil)acetamidocefalosporánico y 400 mg. de carbonato de
sodio e hidrógeno en 60 ml. de una disolución tamponadora
de pH 6,5, y a la que se añadieron 1,0 g. de morfolino-4-
ditiocarboxilato de sodio (2H₂O), se calentó a 70°C duran-
te una hora con agitación para dar el precipitado similar
10 a un gel. Este se recogió después por filtración, se lavó
con agua y se recogió para dar 900 mg. de 7-(4-clorofe-
nil)acetamido-3-(morfolino-4-tiocarboniltiometil)-3-cefem-
-4-carboxilato de sodio, con un punto de fusión de 201 -
203°C.

15

Ejemplo 10.

7-(3-clorofenil)acetamido-3-(morfolino-4-tio-carboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

20 Una disolución de 7-(3-clorofenil)acetamidoce-
falosporanato de sodio, producida a partir de 1.500 mg.
de ácido 7-(3-clorofenil)acetamidocefalosporánico, en 30
ml. de agua, a la que se añadieron 5 ml. de una disolu-
ción acuosa que contenía 820 mg. de morfolino-4-ditiocar-
boxilato de sodio, se calentó a 40°C durante 24 horas,
25 con agitación, y se enfrió para dar el precipitado. Des-
pués se recogió por centrifugación (15.000 r.p.m.), se
lavó con agua y se secó, para dar 1.100 mg. de 7-(3-clo-
rofenil)acetamido-3-(morfolino-4-tiocarboniltiometil)-3-
cefem-4-carboxilato de sodio, que tenía un punto de fu-
sión de 219-221°C (con descomposición).

30
27.2.67.

335868



Después, al líquido que sobrenadaba de la disolución centrifugada se añadieron 35 ml. de una disolución saturada de cloruro de sodio, para dar el precipitado, y éste se recogió por centrifugación, para dar 124 mg. del compuesto deseado. (Producción: 1.224 mg.).

Espectro de absorción ultravioleta:

λ tetrahidrofurano:H₂O= 12:13
máx. 275 milimicras. E^{1%} 317
lcm

Ejemplo 11.

7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-bencilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

Una disolución de 7-(3-clorofenil)acetamidocefalosporanato de sodio, producido a partir de 1.170 mg. de ácido 7-(3-clorofenil)acetamidocefalosporánico, en 25 ml. de agua, a la que se añadieron 980 mg de 4-bencilpiperazino-1-ditiocarboxilato de sodio, se calentó a 40°C durante 24 horas con agitación, y se enfrió después de añadir 25 ml. de una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, para dar una sustancia viscosa. Esta se recogió después por filtración, se disolvió en 40 ml. de cloroformo y se lavó cuatro veces con 30 ml. de una disolución mixta de la disolución acuosa saturada de cloruro de sodio, y agua, en la relación de 1:1. Se fraccionó la capa de cloroformo, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró bajo presión reducida. Al residuo se añadió éter, para dar 660 mg. de 7-(3-clorofenil)acetamido-3-(4-bencilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, con un punto de fusión de 137-140°C (se des-

30
27.2.67.

335868



compone).

Espectro de absorción ultravioleta:

5 λ tetrahidrofurano:H₂O=12:13
máx. 276 milimicras. E^{1%} 288
lcm

Ejemplo 12.

10 7-(3,4-diclorofenil)acetamido-3-(4-bencilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

15 Una disolución de 7-(3,4-diclorofenil)acetamidocefalosporanato de sodio, producida a partir de 1.270 mg. de ácido 7-(3,4-diclorofenil)acetamidocefalosporánico, en 25 ml. de agua, a la que se añadieron 3 ml. de una disolución acuosa que contenía 980 mg. de 4-bencilpiperazino-1-ditiocarboxilato de sodio, se trató en las mismas
20 condiciones que en el Ejemplo 10 para dar 1.037 mg. de 7-(3,4-diclorofenil)acetamido-3-(4-bencilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio, que tenía un punto de fusión de 144-147°C (con descomposición).

Espectro de absorción ultravioleta:

25 λ tetrahidrofurano:H₂O=12:13
máx. 273 milimicras. E^{1%} 186
lcm

25 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Japón el 22 de Enero de 1.966, bajo el número 3.794/66, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

27.2.67.

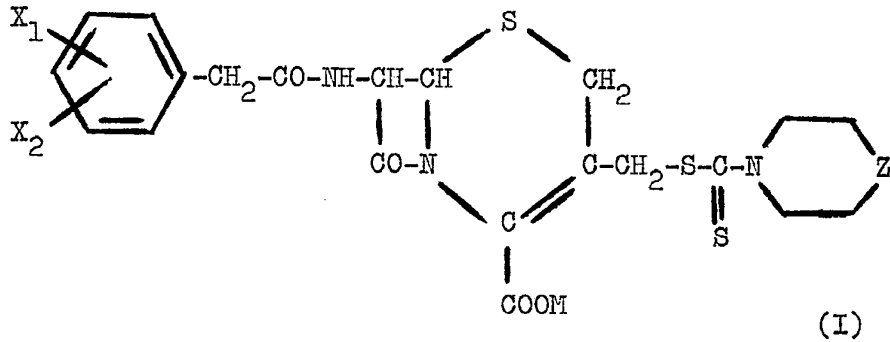
335268



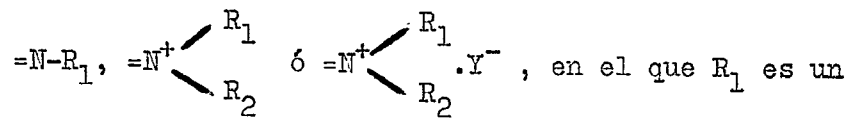
N O T A

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 siguientes:

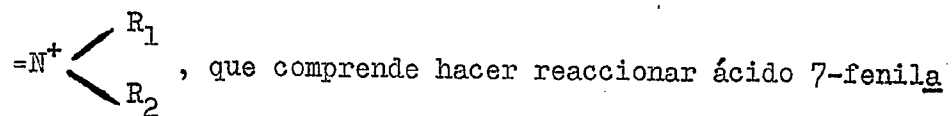
- 5 1.- Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I):



en la que X₁ es un átomo de hidrógeno o de halógeno; X₂ es un átomo de halógeno o un grupo nitro; Z es un átomo de oxígeno o el grupo



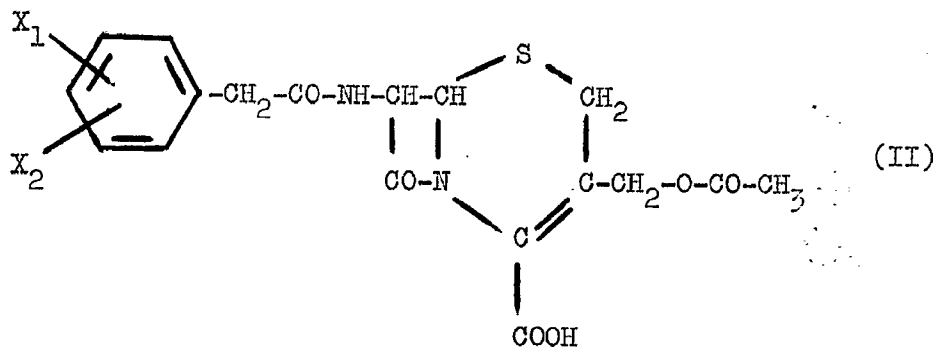
- 10 grupo alcoholo inferior, hidroxialcoholo inferior o bencilo, R₂ es un grupo alcoholo inferior e Y es un radical de un ácido mineral; y M es un átomo de hidrógeno, un metal alcalino, o una carga aniónica cuando Z es el grupo



27.2.67.

335300

acetamidocefalosporánico de la fórmula (II):



o sus sales, con morfolino-ditiocarboxilato o piperazino-
 -ditiocarboxilato N-monosustituído, y, si es necesario,
 hacer reaccionar el producto resultante con un agente
 5 N-alcoholante en el caso de tratarse de los derivados de
 ácido piperazinoditiocarboxílico N-monosustituído de los
 ácidos 7-fenilacetamidocefalosporánicos, y después tratar
 sus compuestos N,N-disustituídos correspondientes con un
 ácido mineral.

10 2.- Un procedimiento según la reivindicación
 1, en el que se hace reaccionar 7-(3-cloro-(3-bromo- ó
 3,4-dicloro-)fenilacetamidocefalosporanato de sodio con
 4-metilpiperazino-ditiocarboxilato de sodio, y después
 el 7-(3-cloro-(3-bromo- ó 3,4-dicloro-)fenilacetamido)-
 15 3-(4-metilpiperazino-1-tiocarboniltiometil)-3-cefem-4-car
 boxilato de sodio resultante se hace reaccionar con yodu
 ro de metilo, para dar sal interna de hidróxido de 4-((7-
 (3-cloro-(3-bromo- ó 3,4-dicloro-)fenil)acetamido-4-carbo
 xi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazi
 nio.

21
 27.2.67.

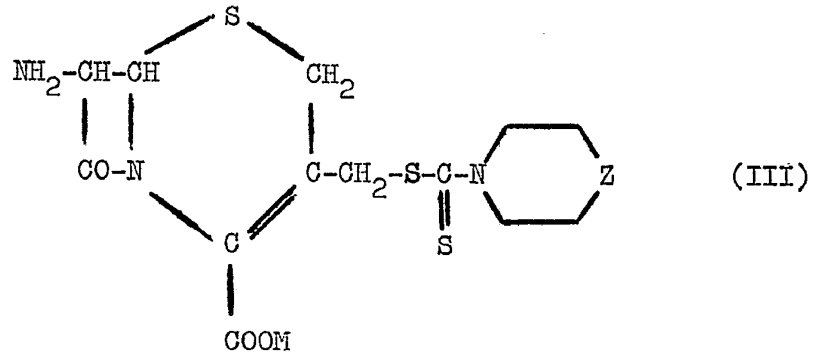
3.- Un procedimiento según las reivindicacio-



nes 1 ó 2, en el que la reacción se lleva a cabo en forma de mamida como disolvente.

4.- Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que la sal interna de hidróxido de 4-((7-(3-clorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio resultante se hace reaccionar con ácido clorhídrico, para dar cloruro de 4-((7-(3-clorofenil)acetamido-4-carboxi-3-cefem-3-il)-metiltiotiocarbonil)-1,1-dimetilpiperazinio.

5.- Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I), tal como se ha explicado en la reivindicación 1, que comprende hacer reaccionar ácidos 7-amino-3-(tiocarboniltiometil sustituido)-3-cefem-4-carboxílicos de la fórmula (III):



o sus sales, con derivados reactivos apropiados de ácidos fenilacéticos sustituidos.

6.- Un procedimiento para preparar un compuesto derivado del ácido 7-fenilacetamidocefalosporánico.

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

20
27.2.67.



Esta Memoria consta de treinta y una hojas es
critas a máquina por una sola cara.

Madrid,

7 MAR 1967

P. A.

Alberto de Lizaburu
for [illegible]

G.D.S.
27.2.67.

- 31 -

335860