

375237



27 ENE 1970

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION	
CLASE	C07 A61
SUBCLASE	C R

Solicitante: ELI LILLY AND COMPANY *C07*
Domicilio: 307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS,
Indiana, U.S.A.
Emunciado: "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN AN-
TIBIOTICO DE CEFALOSPORINA".
Prioridad: de la solicitud de patente estadouni-
dense n° 802.643 del 26 Febrero 1.969.

5 Esta invención se refiere a un procedimiento para preparar antibióticos de cefalosporina que contienen azufre, novedosos, oralmente activos. Más particularmente, el procedimiento de esta invención provee ácido 3-metiltiometil-7-(alfa-amino-alfa-fenil)-acetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico y compuestos relacionados.

Los compuestos preparados mediante el procedimiento de esta invención, pueden ser representados por la siguiente fórmula:

POOR QUALITY



375237

- 3 -

nables mediante tratamiento con un ácido tal como ácido p-toluensulfónico o mediante disociación reductora. Para la acilación, la fenilglicina protegida puede activarse con una carbodiimida, o utilizarse como el bromuro o cloruro de ácido, o un anhídrido mixto, especialmente con un ácido alquilcarbónico inferior. Los procedimientos de acilación son bien conocidos a aquellos expertos en el arte.

El ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico queva a acilarse, puede prepararse mediante cualquier método conocido. Por ejemplo, este ácido puede prepararse tratando ácido 7-aminocefalosporánico con metilmercaptano, o tratanto ácido 3-acetoximetil-7-fenilacetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico o el ácido 7-fenoxiacetamido correspondiente con metilmercaptano, protegiendo el grupo carboxilo mediante formación de éster, y disociando después el grupo fenilacetilo o fenoxiacetilo, mediante reacción con pentacloruro de fósforo, en presencia de una amina terciaria, tratándose después con un alcohol inferior, después con agua o ácido acuoso, para formar el éster del ácido 3-motiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico. Después de la acilación con la fenilglicina, el grupo éster puede separarse para regenerar el ácido carboxílico libre.

Los compuestos novedosos pueden también prepararse a partir de un material de partida de penicilina tal

375237



- 4 -

5 como penicilina V mediante un procedimiento de etapas múltiples, empezando con el procedimiento descrito por Morin y Jackson en la Patente de los Estados Unidos 3,275,626, concedida el 27 de septiembre de 1966, para la conversión de un éster de sulfóxido de penicilina a un éster de ácido desacetoxicefalosporánico. Este éster de Delta³-desacetoxicefalosporina se isomeriza después a Delta²-cefalosporina que puede convertirse al derivado 3-bromometílico correspondiente mediante tratamiento con N-bromosuccinimida. El tratamiento de este compuesto 3-bromometílico con metilmercaptano, da como resultado la formación del compuesto 3-metiltiomético correspondiente. La doble ligadura en la posición 2 puede después isomerizarse a la posición 3 mediante isomerización con base. El grupo acilo en la posición 7 puede separarse según se describió antes, para producir el éster o el ácido 3-metiltio-metil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico. La acilación de este compuesto 7-amino con fenilglicina produce el éster o ácido deseado.

20 La preparación de los compuestos de nuestra invención, se ilustrará adicionalmente mediante los siguientes ejemplos:

EJEMPLO 1

Se enfría en un baño helado y se agita, una

25

375237



- 5 -

suspensión de 0.353 g. de ácido 3-metil-7-fenoxiacetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico (preparado según se describe en la patente de los Estados Unidos 3,275,626) en 40 ml. de benceno, mientras se agregan 0.256 g. de cloruro de oxalilo y una gota de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agita a aproximadamente 5°C. durante 45 minutos, y el solvente se separa bajo presión reducida, para producir el cloruro de ácido deseado del ácido Delta³-cefem de partida.

EJEMPLO 2

Se agrega gota a gota una solución de 1.75 g. de cloruro de ácido del ejemplo 1, en 70 ml. de cloruro de metileno, a una solución agitada de 0.75 g. de trietilamina y 4.0 g. de 3-metil-1-buten-3-ol en 50 ml. de cloruro de metileno, mantenida a temperatura de hielo. Al término de la adición (aproximadamente 90 minutos), la solución orgánica se lava sucesivamente con agua y ácido clorhídrico al 3%, y se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en acetato de etilo, se lava con solución al 5% de bicarbonato de sodio, y se trata con carbón activado. La mezcla se filtra, y el solvente se separa del filtrado bajo presión reducida, para dar 0.5 g. de 3-metil-7-fenoxiacetamido-Delta²-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-3-butenilo). La estructura se confirma mediante el espectro de resonancia magnética nuclear. Los lavados neutros



375237

- 6 -

y básicos, producen 0.82 g de una mezcla de ácidos Delta² y Delta³.

EJEMPLO 3

5 Se agita y se purga con nitrógeno durante 20 minutos, una solución de 4.16 g del éster del ejemplo 2, en un litro de tetracloruro de carbono. A la solución se agregan después 2.67 g de N-bromosuccinimida y 50mg de *anso*-bis-isobutironitrilo. La solución se agita y se calienta bajo reflujo hasta que se obtiene una prueba negativa en el papel de almidón-yoduro (aproximadamente 4.5 horas). La solución se enfría toda la noche en un refrigerador, se separa el exceso de N-bromosuccinimida mediante filtración a través de un tapón de algodón, y se evapora el tetracloruro de carbono para producir 3-bromometil-7-fenoxiacetamido-Delta²-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-3-butenilo), el cual se utiliza en las reacciones subsiguientes.

10

15

EJEMPLO 4

Se agita en una botella a presión a 25°C durante 1 hora, una solución de aproximadamente 4 milimoles del producto 3-bromometílico del ejemplo 3, en 25 g de metilmercaptano. El metilmercaptano en exceso se deja evaporar y el residuo se disuelve en cloruro de metileno. El cloruro de metileno se lava con solución al 5% de bicarbonato de sodio y agua, se seca sobre sulfato de sodio, y se evapora a sequedad para dar 1.4 g de producto crudo. Es-

20

25

375237



- 7 -

5 te producto crudo se cromatografió sobre 100 g. de gel de sílice que contiene 15% de agua, utilizando 6-8% de acetato de etilo en benceno como solvente. En esta forma se obtienen 100 mg. de 3-metiltiometil-7-fenoxiacetamido-Delta²-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-3-butenilo) puro. La estructura se confirma mediante el espectro de resonancia magnética nuclear.

EJEMPLO 5

10 Se disuelve el Delta² producido a partir del ejemplo 4, en 8 ml. de isopropanol, se agregan 2 ml. de trietilamina, y la mezcla se agita a 25°C. durante 1 hora. Los solventes se separan bajo presión reducida. El espectro de resonancia magnética nuclear confirma que ha ocurrido la isomerización al compuesto Delta³.

EJEMPLO 6

15 Se agitó a 55°C. una mezcla de 750 mg. de 3-metiltiometil-7-fenoxiacetamido-Delta³-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-3-butenilo), del ejemplo 5, 580 mg. de pentacloruro de fósforo y 221 mg. de piridina en 75 ml. de benceno seco. Después de tres horas, la mezcla de reacción se evapora, el residuo se disuelve en 100 ml. de metanol, y la solución se refrigera toda la noche. El metanol se evapora y el residuo se disuelve en una mezcla en-

20

375237



-7 FM

- 8 -

friada de 50 ml. de tetrahidrofurano y 50 ml de un tam-
pon de citrato de pH 4.5. Después de 35 minutos se eva-
pora el tetrahidrofurano. La solución acuosa se cubre
con acetato de etilo, y el pH se ajusta a 7.0 mediante la
5 adición de una solución de ortofosfato de sodio dibásico.
La solución de acetato de etilo se lava con solución satu-
rada de sal, se seca sobre sulfato de magnesio, y el ace-
tato de etilo se evapora. El 3-metil-tiometil-7-amino-
Delta³-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-3-butenilo) cru-
do, se redissuelve en 30 ml de acetato de etilo, y se agre-
10 ga una solución de ácido p-toluensulfónico en acetato de
etilo, hasta que la solución resultante muestra ser ácida
sobre el papel pH. Después de enfriar durante 30 minutos
en un baño de hielo, el precipitado cristalino se recoge,
15 se lava con acetato de etilo y se seca en una estufa de
vacío a temperatura ambiente, produciendo 370 mg de 3-metil-
tiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxilato de 2-(2-metil-
3-butenilo) como la sal del ácido p-toluensulfónico. La es-
tructura se confirma mediante el espectro de resonancia
20 magnética nuclear y el análisis elemental.

ELEMENTAL 7

Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2
horas, una solución de 412.7 mg del producto del ejemplo
6, en 5 ml de ácido fórmico. La mezcla de reacción se

25

375237



7 FEB 1970

- 9 -

5 ovapora a sequedad, y el residuo oleoso se recupera en una mezcla de 10 ml. de acetato de etilo y 6 ml. de agua. Mientras se enfría, el pH de esta mezcla se ajusta a 8.5 con solución diluida de amoníaco. La capa acuosa se separa, y el pH se ajusta a 3.8 con ácido clorhídrico 6 normal. Después de enfriar durante 2 horas, el precipitado cristalino blanco que se ha separado, se recoge y se seca en una

10 estructura se confirma mediante el espectro de resonancia magnética nuclear y análisis elemental.

Análisis: Calculado para $C_9H_{12}N_2O_3S_2$: C, 41.54; H, 4.65; N, 10.77

Encontrado: C, 41.70; H, 4.90; N, 10.52

15

EJEMPLO 8

Se enfría a $-5^{\circ}C.$, una solución de 160 mg. de N-(t-butoxicarbonil)fenilglicina en 25 ml. de tetrahidrofurano, y se agregan 65 mg. de trietilamina y 87 mg. de cloroforniato de isobutilo. A esta solución fría se agrega una

20 solución de 150 mg. del producto del ejemplo 7, y 0.08 ml. de trietilamina en 5 ml. de agua y 2ml. de tetrahidrofurano. Esta mezcla se agita durante tres horas, mientras se deja calentar a temperatura ambiente. El tetrahidrofurano se separa después en un evaporador giratorio. La mezcla -

25



375237

- 10 -

restante se disuelve en agua, se cubre con acetato de etilo, se enfría en un baño de hielo, y el pH se ajusta a -- 2.0 mediante la adición de ácido clorhídrico 6 normal. La capa de acetato de etilo se separa, se lava con solución saturada de cloruro de sodio, se seca sobre sulfato de magnesio y se evapora para dejar un residuo gomoso. Este residuo se disuelve en éter dietílico y se agrega una fracción de petróleo que hierve a de 60°C. a 68°C., para precipitar 167.3 mg. de ácido 3-metiltiometil-7-(alfa-t-butoxicarboxamido-alfa-fenil)acetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico. Este material N-bloqueado, se disuelve en 3 ml. de ácido trifluoroacético frío. Después de agitar durante 5 minutos, la solución se evapora y el residuo se recupera en 5 ml. de agua y 5 ml. de metilisobutilcetona. Después de ajustar el pH a 4.5 con tributilamina, se separa la capa acuosa, y se concentra a aproximadamente 0.5 ml. Esta solución se diluye con aproximadamente 15 ml. de acetonitrilo, y se refrigera toda la noche. El sólido se recoge, se lava con acetonitrilo, y se seca al vacío, produciendo 64.6 mg. de ácido 3-metiltiometil-7-(alfa-amino-alfa-fenil)acetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico.

Siguiendo el procedimiento del ejemplo 8, utilizando tienilglicina o la fenilglicina apropiadamente substituida, se preparan los siguientes compuestos:

ácido 3-metiltiometil-7- $\overline{\text{—}}$ alfa-amino-alfa-(m-clorofenil)-acetamido $\overline{\text{—}}$ -Delta³-cefem-4-carboxílico;



375237

- 11 -

ácido 3-metiltiometil-7-[- alfa-amino-alfa(p-
metoxifenil)-acetamido]-Delta³-cefem-4-carboxílico;

ácido 3-metiltiometil-7-[- alfa-amino-alfa(o-
butilfenil)-acetamido]-Delta³-cefem-4-carboxílico;

5 ácido 3-metiltiometil-7-[- alfa-amino-alfa(p-ni-
trofenil)-acetamido]-Delta³-cefem-4-carboxílico;

ácido 3-metiltiometil-7-[- alfa-amino-alfa(m-
hidroxifenil)-acetamido]-Delta³-cefem-4-carboxílico;

10 ácido 3-metiltiometil-7-[- alfa-amino-alfa(p-
cianofenil)-acetamido]-Delta³-cefem-4-carboxílico; y

ácido 3-metiltiometil-7-(alfa-amino-alfa-tienil)-
acetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico.

En resumen, la Patente de Invención que se soli-
cita, recaerá sobre las siguientes:

15

20

25



375237

- 13 -

2.- El procedimiento de la cláusula 1, caracterizado porque el grupo de N-bloqueo es un grupo ter-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo.

5 3.- El procedimiento de la cláusula 1 o 2, caracterizado porque el grupo de N-bloqueo se separa mediante hidrólisis ácida o disociación reductora.

4.- El procedimiento de la cláusula 1, 2 o 3, caracterizado porque el grupo éster se separa mediante hidrólisis ácida.

10 5.- El procedimiento de cualquiera de las cláusulas 1 a 4, caracterizado porque la acilación se conduce en un solvente inerte.

6.- El procedimiento de la cláusula 5, caracterizado porque el solvente es tetrahidrofurano.

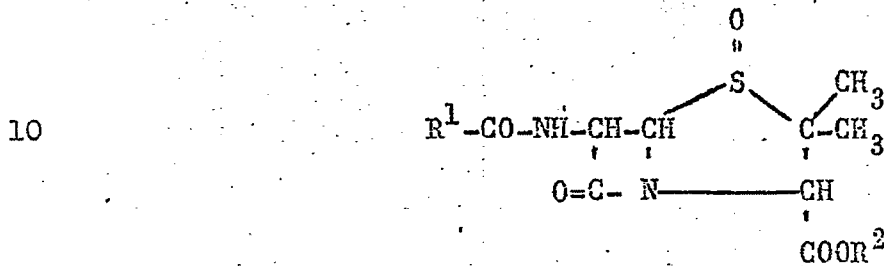
15 7.- El procedimiento de cualquiera de las cláusulas 1 a 6, caracterizado por mezclar N-(t-butoxicarbonil)-fenilglicina, cloroformiato de isobutilo y ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico en tetrahidrofurano, con una proporción menor de trietilamina, evaporando el tetrahidrofurano, disolviendo la mezcla restante en agua -
20 extrayendo la solución acuosa con acetato de etilo, separando, lavando y secando la capa de acetato de etilo, evaporando el acetato de etilo, disolviendo el residuo gomoso -
25 la solución para precipitar ácido 3-metiltiometil-7-(alfa-

375237



t-butoxicarboxamido-alfa-fenil)acetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico, y separando el grupo de N-bloqueo.

8.- El procedimiento de la cláusula 1, caracterizado porque el éster o el ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico que se va a acilar, se prepara calentando bajo condiciones ácidas, un sulfóxido de penicilina, representado por la fórmula



en donde R¹ es cualquier radical orgánico, y R² es la porción alcohólica de un grupo éster, para producir el éster del ácido desacetoxicefalosporánico, correspondiente, isomerizando el éster del ácido desacetoxicefalosporánico al compuesto Delta² correspondiente, tratando el compuesto -- Delta² con N-bromosuccinimida para obtener los derivados 3-bromometílicos correspondientes, tratando el derivado 3-bromometílico con metilmercaptano para proveer el compuesto 3-metiltiomético correspondiente, isomerizando la doble ligadura en la posición 2, del compuesto 3-metiltiomético, bajo condiciones alcalinas a la posición 3, hidrolizando el grupo acilo en la posición 7 para producir el éster del ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico, y separar el grupo éster mediante hidrólisis, si se

15

20

25

375237



- 15 -

desea.

5 9.- El procedimiento de la cláusula 1, caracterizado porque el ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico que va a acilarse, se prepara tratando ácido 7-aminocefalosporánico con metilmercaptano.

10 10.- El procedimiento de la cláusula 1, caracterizado porque el éster o el ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico que va a acilarse se prepara - tratando ácido 3-acetoximetil-7-fenilacetamido o fenoxiacetamido-Delta³-cefem-4-carboxílico con metilmercaptano, protegiendo el grupo carboxilo mediante la formación de un - éster, disociando el grupo fenilacetilo o fenoxiacetilo - mediante reacción con pentacloruro de fósforo en presencia de una amina terciaria, y tratando el producto así obtenido con un alcohol inferior y agua o ácido acuoso para formar el éster del ácido 3-metiltiometil-7-amino-Delta³-cefem-4-carboxílico correspondiente; y, si se desea, separando el grupo éster mediante hidrólisis.

20 11.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN ANTIBIOTICO DE CEFALOSPORINA".

- 16 - 375237



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

Madrid, 7 de Enero de 1.970

BERNARDO UNGRIA

P.P.

5

10

15

20

25