

385906

PATENTE DE INVENCION

Case 6905/1-5/E/a

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION I. P. C.	
CLASE <u>C07</u>	<u>A61</u>
SUBCLASE <u>D</u>	<u>K</u>



Memoria Descriptiva

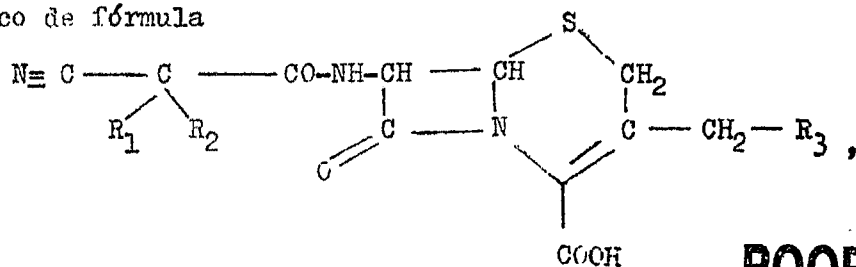
sobre:

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE DERIVADOS DEL ACIDO
7-AMINO-CEFALOSPORANICO.-

Solicitante: GIBA-GEIGY A.G., entidad suiza, residente en Basilea,
Suiza.-

En la patente francesa Nr. 1.463.651 se describen
derivados terapéuticamente activos del ácido 7-amino-cefalo-
esporánico de fórmula

5.



**POOR
QUALITY**



colilo, pirrilo o correspondientes restos heterociclilo-alquilo inferior, tales como tenilo, furfurilo, piridil(2)-metilo.

- Sustituyentes de éstos restos hidrocarburo alifáticos o anillos aromáticos, aralifáticos o heterocíclicos, son, por ejemplo, uno o varios grupos funcionales, iguales o diferentes, tales como grupos hidroxilo, grupos alcoxi inferior- o 5. alquilo inferior-mercapto, grupos carboxilo libres o esterificados, grupos amino, grupos nitro, grupos ciano o carbonilo, y especialmente átomos de halógeno o grupos trifluormetilo, y; en el 10. caso de los anillos, también grupos alquilo inferior.

- Restos hidrocarburo bivalentes, en caso dado sustituidos, son, por ejemplo, los restos alifáticos, cicloalifáticos o aralifáticos, saturados o insaturados, tales como los restos 15. bivalentes enlazados al oxígeno de correspondientes aldehído, cetonas o amidas de ácido, especialmente restos hidrocarburo alifáticos o cicloalifáticos, saturados o insaturados, bivalentes; en caso dado interrumpidos por heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno y/o azufre, y/o sustituidos por grupos 20. funcionales, por ejemplo, por átomos de halógeno, grupos nitro o amino, tales como restos de alquilideno, alquenilideno, cicloalquilideno o cicloalquenilideno, ante todo aquellos con 1 - 8, especialmente 1 - 6 átomos de carbono, tales como metileno y metileno sustituido por 1 ó 2 restos de alquilo inferior o alquenilo inferior, por ejemplo, alilideno, etilideno, isopropilideno, 25. butilideno, ciclopentilideno, ciclohexilideno o restos hidrocarburos alifáticos saturados o insaturados, bivalentes sustituidos por restos arilo, tales como los restos fenilalquilideno o fenilalquenilideno, pudiendo también estar sustituidos los restos arilo, por ejemplo, por uno o varios grupos de alquilo inferior, alcoxi inferior, nitro o amino y/o átomos de haló- 30.



geno especialmente un resto bencilideno o fenilalilideno sustituido, en caso dado, como arriba indicado.

5. Preferentemente significan R_1 y R_2 hidrógeno o un grupo alquilideno con 1 - 6 átomos de carbono tal como arriba mencionado, o bencilideno, en caso dado sustituido, especialmente por átomos de halógeno, grupos alquilo inferior o grupos alcoxi inferior o grupos nitro. Además puede significar R_1 especialmente hidrógeno y R_2 restos de alquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior o restos heterociclíficos de 5 - 6 miembros, que pueden estar sustituidos como arriba indicado.

10. El resto heterocíclico R_3 muestra 5 a 6, preferentemente 5 átomos de anillo, puede estar sin embargo enlazado con el anillo bencénico condensado a él. Ambos anillos pueden estar sustituidos por restos hidrocarburo alifático, o aromático, especialmente restos alquilo inferior, tales como etilo, metilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, restos de alquilo inferior-tio, restos cicloalquilo, tales como ciclopentilo, ciclohexilo, o por restos arilo, tales como ciclopentilo, ciclohexilo, o por restos arilo, tales como fenilo o fenilo, sustituido, por ejemplo, por fenilo sustituido por 1 o varios grupos nitro o átomos de halógeno, o grupos alquilo inferior o alcoxi inferior, o por tienilo, especialmente tienilo(2). Como ejemplos del resto heterociclífico sean mencionados:

25. 1H-1,2,3-triazol-5-ilo, 1,3,4-triazol-2-ilo, 5-metil-1,3,4-triazol-2-ilo, 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 1-fenil-3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-ilo, 4,5-dimetil-4H-1,2,4-triazol-3-ilo, 4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-ilo, 1H-tetrazol-5-ilo, 2-metil-1H-tetrazol-5-ilo,
30. 1-etil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-n-propil-1H-tetrazol-



5. 5-ilo, 1-isopropil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-n-butil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-ciclopentil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-fenil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-p-clorofenil-1H-tetrazol-5-ilo, 1,2,3-tiadiazol-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 3-metil-1,2,4-tiazol-5-ilo, 2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-metiltio-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-etil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-n-propil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-isopropil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-fenil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-metil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-etil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-fenil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-p-nitrofenil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-fenil(2)-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, tiatriazol-5-ilo, así como los correspondientes restos con 6 átomos de anillo.

15. Las sales de los nuevos compuestos son sales metálicas, ante todo aquellas de metales alcalinos o alcalino-térreos de aplicación terapéutica, tal como del sodio, potasio, amonio, calcio o las sales con bases orgánicas, por ejemplo, trietilamina, N-etil-piperidina, dibenciletildiamina, procaina, diisopropilamina, etanolamina. Si el grupo R_3 es básico, entonces se pueden formar sales internas.

20. Los nuevos compuestos muestran un efecto antibacterial extremadamente bueno. Se pueden emplear tanto contra bacterias gram-positivas como también, ante todo, bacterias gram-negativas, por ejemplo, contra *Staphylococcus aureus* resistente a la penicilina, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhosa* y *Bacterium proteus*, tal y como se demuestra también en el ensayo con animales, por ejemplo, en los ratones. Por lo tanto se pueden emplear para combatir las infecciones provocadas por tales microorganismos, además como aditivos a los piensos, para la conservación de los alimentos
- 25.
- 30.



5. ácido carboxílico, tal como un ácido alcano inferior, en caso dado sustituido por halógeno, por ejemplo, el ácido propiónico, el ácido cloroacético, ante todo el ácido acético, o un ácido aril- o aril-alquilo inferior-carboxílico, por ejemplo, el ácido benzóico, o fenilacético, o uno de los ésteres o una sal de éste compuesto, se hace reaccionar con un tiol de fórmula Ib



Ib

10.

en la que R_3 tiene el significado indicado para la fórmula I, o una sal metálica del mismo, y, si se desea, un compuesto de fórmula I obtenido, donde R_1 y R_2 significan ambos hidrógeno, se hace reaccionar convenientemente en presencia de catalizadores con un aldehído, cetona o nitrilo y, si se desea,

15.

un grupo éster, en caso dado existente se disocia y, si se desea, los compuestos obtenidos se transforman en sus sales metálicas, tales como sales de metal alcalino o alcalino-térreo, o sales con amoniaco, o bases orgánicas, o de las sales obtenidas se forman los ácidos carboxílicos libres, o en caso dado las sales internas.

20.

Los compuestos empleados como productos de partida son conocidos o se pueden obtener según métodos conocidos. Los compuestos de fórmula II, donde R'_3 significa un grupo hidroxilo esterificado y R_4 significa el resto acilo de fórmula Ia, y su obtención, están descritos en las patentes francesas Nr. 1.463.651 y 1.588.507. Sales de los mismos son, por ejemplo, las sales con metales alcalinos o alcalino-térreos o con cinc o con bases orgánicas, por ejemplo, trietilamina, diisopropilamina, etanolamina.

25.

30.



Como sales metálicas de los tioles se emplean especialmente las sales de metal alcalino, tales como la sal sódica y potásica. Las sales se pueden obtener, por ejemplo, por reacción del tiol con carbonatos, bicarbonatos o hidróxidos de los metales alcalinos.

5.

Esteres de compuestos de fórmula II son aquellos en los cuales el grupo carboxilo está esterificado en la posición 4 de anillo dihidrotiacínico. Como el grupo éster, cuando es necesario o deseado, se ha de disociar, entran en primer lugar en consideración los ésteres que se pueden disociar fácilmente, por ejemplo, solvolíticamente, hidrogenolíticamente, reductivamente o por intercambio nucleófilo o fotolíticamente al ácido carboxílico libre.

10.

15.

Reductivamente, por ejemplo, por tratamiento con hidrógeno nascente, se pueden transformar en el grupo carboxilo libre, por ejemplo, ciertos grupos carboxi esterificados, especialmente, grupos de carbo-alcoxi inferior en los cuales el alquilo inferior en la posición β contiene átomos de halógeno, especialmente átomos de cloro, y en especial el grupo carbo-2,2,2-tricloroetoxi, así como el grupo carbo-2-yodoetoxi. Se pueden transformar en el grupo carboxilo libre en forma en sí conocida, preferentemente al tratar con hidrógeno nascente, bajo condiciones ácidas o neutras, por ejemplo, con cinc en presencia de un ácido alcano inferior-carboxílico adecuado, tal como ácido acético, especialmente ácido acético ligeramente diluido, por ejemplo, al 90 %, o con una sal metálica fuertemente reductora, tal como acetato de cobalto II en presencia de medios acuosos.

20.

25.

30.

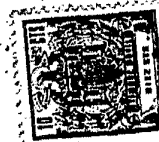
Un grupo carbo-alcoxi inferior, en el cual el alquilo inferior en la posición α está poliramificado y/o en la

- 385906



5. posición λ contiene restos de carácter aromático, tales como grupos hidrocarburo aromáticos, en caso dado sustituidos, por ejemplo, restos fenilo, o grupos heterocíclicos de carácter aromáticos, tales como el grupo 2-furilo, por ejemplo, el grupo carbo-terc.-butiloxi, así como el grupo carbo-terc.-pentiloxi, o el grupo carbo-difenilmetoxi o el grupo carbo-2-furfuriloxi, así como un grupo carbo-cicloalcoxi donde cicloalquilo significa un resto policíclico, tal como el grupo carbo-adamantiloxi, se puede transformar en el grupo carboxilo mediante tratamiento con un agente ácido adecuado, tal como un ácido carboxílico orgánico fuerte, preferentemente un ácido alcano inferior-carboxílico halogenado, en primer lugar el ácido trifluoracético.

10. Grupos carboxilo esterificados, transformables con facilidad bajo condiciones benignas en el grupo carboxilo libre, son los grupos carboxilo sililizados así como estannilizados. Estos son grupos que se pueden formar al tratar compuestos con grupo carboxilo libre, tales como sales, tales como las sales de metal alcalino, por ejemplo, las sales sódicas del mismo, con un agente de sililización adecuado, tal como un haluro trialquilo inferior-silílico, por ejemplo, el cloruro trimetilsilílico, o una N-(tri-alquilo inferior-silil)- $N-R_a-N-R_b$ -amina, donde R significa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo inferior y R_b significa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior o un grupo tri-alquilo inferior-sililo (véase, por ejemplo, patente británica Nr. 1.073.530), o con un agente de estannilización adecuado, tal como un óxido de bis-(tri-alquilo inferior-estaño), por ejemplo óxido de bis-(tri-n-butil-estaño), un hidróxido de trialquilo inferior-estaño, por ejemplo, el hidróxido trietil-estannoso, un

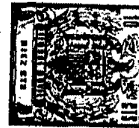


5. compuesto tri-alquilo inferior-alcoxi inferior-estannoso, tetra-alcoxi inferior-estannoso o tetra-alquilo inferior-estannoso, o un haluro tri-alquilo inferior-estannoso, por ejemplo, el cloruro tri-n-butil-estannoso (véase por ejemplo publicación de patente holandesa 67/17107). Los productos de partida arriba mencionado con grupos carboxilo sililizados o estannilizados se pueden transformar en los compuestos deseados con grupo carboxilo libre, por ejemplo, mediante tratamiento con un agente cededor de hidrógeno, preferentemente neutro, especialmente agua, o un alcohol, tal como alcohol inferior, por ejemplo, etanol.

10. La reacción con el tiol se efectúa como en la patente belga 617.687 o en la solicitud holandesa 6.805.179 en un disolvente inerte, tal como un alcohol, éter, cetona, amida N,N-disustituida, por ejemplo, dimetilformamida, dimetilacetamida, al emplear sales preferentemente en agua o en un disolvente inerte miscible con agua o en una mezcla de agua y uno de estos disolventes, por ejemplo, acetona, metanol, etanol, dioxano, tetrahidrofurano o sus soluciones acuosas, preferentemente en acetona acuosa. La temperatura de reacción asciende a +15 - 70°C, preferentemente 40 - 60°C. El pH de la solución se mantiene preferentemente entre 5,0 y 7,5. Si es necesario se adiciona un tampón, por ejemplo, un tampón de fosfato o acetato sódico o, cuando el compuesto se emplea en forma de una sal de metal alcalino, por ejemplo, ácido acético.

15. Como aldehidos, cetonas o nitrilos son de mencionar, por ejemplo, aquellos de carácter alifático, tales como formaldehido, acetaldehido, acetona, metiletilcetona, etilbutilcetona, ciclopentanona, ciclohexanona, cicloheptanona,

30.



5. acetonitrilo, tricloroacetonitrilo o trifluoroacetonitrilo, o aquellos de carácter aralifático o aromático con un máximo de 2 anillos que en caso dado pueden estar sustituidos como arriba indicado, por ejemplo, benzaldehido, p-clorobenzaldehido, p-nitrobenzaldehido, cinamonaldehido, salicilaldehido, anisalaldehido, vanilina, acetofenona, benzofenona, p-oxiacetofenona, fenilacetonitrilo, benzonitrilo o nitrilo cinamónico.

10. Como catalizadores para la reacción con los compuestos carbonilo entran ante todo las sales en consideración, especialmente los acetatos de amoniaco o aminas, por ejemplo, acetato amónico, acetato amilamínico, acetato piperidínico, acetato trietilamónico, Dowex-3 (base libre y sal ácido acético), además los compuestos que simultáneamente muestran grupos ácidos y básicos, por ejemplo, p-aminofenol. Como catalizadores se pueden emplear además las sales de los compuestos de fórmula III, donde COR_4 significa el grupo carbonilo, con las bases mencionadas.

15. Preferentemente se emplean aquellos productos de partida que conducen a los productos finales mencionados como especialmente eficaces.

20. La invención se refiere también a aquellas formas de ejecución del procedimiento según las cuales se parte de un compuesto que se obtiene en cualquier etapa del procedimiento como producto intermedio y se realizan las etapas del procedimiento que faltan, o el procedimiento se interrumpe en cualquier etapa, o en las cuales los productos de partida se forman bajo las condiciones de reacción, o en las cuales los componentes de reacción se presentan, en caso dado, en forma de sus sales.

25. Los nuevos compuestos se pueden emplear como medicamentos, por ejemplo, en forma de preparados farmacéuticos.

30.



Estos contienen los compuestos en mezcla con un excipiente orgánico o inorgánico, sólido o líquido, farmacéutico, adecuado para aplicación enteral, topical o parenteral. Para la formación de los mismos entran aquellas sustancias en consideración que no reaccionan con los nuevos compuestos, tales como, por ejemplo, agua, gelatina, lactosa, fécula, alcohol estearílico, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, alcoholes bencílicos, goma, propilenglicol, polialquilenglicoles, vaselina, colesiterina u otros excipientes medicinales conocidos. Los preparados farmacéuticos se pueden presentar, por ejemplo, como tabletas, grageas, ungüentos, cremas, cápsulas o en forma líquida como soluciones, suspensiones o emulsiones. En caso dado estarán esterilizados y/o contendrán adyuvantes, tales como agentes de conservación, estabilización, humectación o emulsión, facilitadores de la solución o sales para variar la presión osmótica o tampones. Asimismo pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Los preparados se obtienen según métodos usuales.

La invención se describe en los ejemplos siguientes.

20. Las temperaturas se indican en grados centígrados.

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice se emplean los siguientes sistemas:

Sistema 52A = n-butanol-ácido acético glacial-agua (67:10:23)

Sistema 101A = n-butanol-piridina-ácido acético glacial-agua (42:24:4:30)

Sistema 102A = éster acético-metil-etil-cetona-ácido fórmico-agua (50:30:10:10).

Las manchas se hacen visibles con spray de yodo.

Ejemplo 1

30. a) En una solución de 3,2 g de sal sódica de ácido 7-cia-



nacetilamino-cefaloesporáico en 72 cc de tampón de fosfato (1/15 molar) del pH 6,4 se suspenden 1,52 g de 2-metil-1,3,4-tiadiazolin-5-tiona (véase Acta Chimica Scand. 20, 69 (1966)). Mediante adición, gota a gota, de solución de carbonato sódico

5. 2-N bajo intensa agitación se ajusta el pH a 6,4 y se calienta bajo nitrógeno durante 6 horas a 60°C. La mezcla de reacción adquiere entonces un pH de 6,9. Se enfría y la mezcla se extrae 2 veces con 800 cc de éster acético. Las fases orgánicas se lavan 2 veces, cada una con 10 cc de tampón del pH 6,5 y se

10. desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 1 litro de éster acético y bajo intensa agitación se ajusta con ácido clorhídrico 4-N (aproximadamente 8,5 cc) a un pH de 2,2. El precipitado marrón, que aquí se presenta, se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con

15. sal común y se extrae con 1 litro y después con 0,6 litros de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas 2 veces, cada una con 40 cc de solución saturada de sal común, se secan con sulfato sódico, se filtran a través de una columna de 90 g de gel de sílice (\varnothing 4,5 cm, h = 12,5 cm) y se evapo-

20. ra en vacío hasta sequedad. El residuo se disuelve en una mezcla de acetona y metanol y mediante α -etil-hexanoato sódico se transforma en la sal sódica. Volviendo a transformar en la forma ácida en la forma descrita para la extracción y ulterior filtración del residuo disuelto en una mezcla de par-

25. tes iguales de cloroformo y acetona a través de una columna de gel de sílice (\varnothing : altura = 1:9) se obtiene el ácido 7-cianacetilamino-3-(2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-iltio)-metilcef-3-em-4-carboxílico. El compuesto muestra en el espectro ultravioleta en agua un máximo en λ 268 m μ .

30. En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice



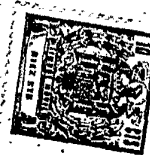
es el $Rf_{52A} = 0,36$, $Rf_{101A} = 0,54$, $Rf_{102A} = 0,68$.

En comparación: para ácido 7-bromoacetil-cefaloesporáico es el $Rf_{52A} = 0,42$, $Rf_{102A} = 0,77$; para "Ceporina" es el $Rf_{101A} = 0,28$, $Rf_{102A} = 0,23$, $Rf_{52A} = 0,13$.

5. b) En una solución de 12,8 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 280 cc de tampón de fosfato del pH 6,4 se suspenden 6,0 g de 2-metil-1,3,4-tiadiazclin-5-tiono. Después se ajusta mediante adición, gota a gota, de solución 2-N de carbonato sódico bajo intensa agitación el pH a
10. 6,6 y se calienta bajo nitrógeno durante 8 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae consecutivamente con 2 litros y 1,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan 2 veces, cada una con 20 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 2,5 litros de éster acético y después se ajusta mediante intensa agitación con ácido
15. clorhídrico 4-N (aproximadamente 35 cc) a un pH de 2,4.
- El precipitado marrón, que se presenta, se separa por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1,5 litros y después con
20. 1 litro de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas 2 veces, cada una con 100 cc de solución saturada de sal común se secan con sulfato sódico, se filtra a través de una columna de 150 g de gel de sílice (\emptyset 4,5 cm, h = 21 cm) y se evapora en vacío hasta sequedad. El residuo (13,9 g) se
25. disuelve en unos 50 cc de acetona, se mezcla con éster acético seco y se concentra en vacío a un pequeño volumen. Después se vuelve a recoger en éster acético, se concentra por evaporación y se agregan algunas gotas de hexano. Se deja reposar durante 1 hora a -15°, el precipitado se filtra en vacío y se
30. lava primeramente con éster acético + hexano (3:1), después



5. ulteriormente con hexano. 3,7 g del precipitado así obtenido se adsorben de una solución acetónica en 35 g de gel de sílice neutro. El adsorbato secado se vierte en una columna de 300 g de gel de sílice (ϕ 4,5 cm h = 45 cm) y se eluye primeramente con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona y más adelante con cloroformo + acetona (1:1). Los primeros 1,2 litros de eluado se desechan, los siguientes 1,2 litros contienen el producto de reacción. Los últimos 1,2 litros se evaporan en vacío hasta sequedad,
10. el residuo se disuelve en 40 partes en volumen de acetona, se agregan 10 partes en volumen de metanol y después se transforma mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etil-hexanoato de sodio en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-iltio)-metilcef-3-em-4-carboxílico. La sal sódica no
15. tiene ningún punto de fusión exacto sino que se descompone a unos 215°C bajo coloreamiento en marrón. El ácido libre funde a 146 - 147°C (en tubitos de vacío, bajo descomposición). En el espectro ultravioleta es $\lambda_{\max} = 272 \text{ nm}$ ($\epsilon = 13.500$); $[\alpha]_D^{20} = -35^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 1,02 en agua).
20. En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,36$; $Rf_{101A} = 0,54$; $Rf_{102A} = 0,68$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,14.
25. El compuesto muestra una elevada actividad contra los microorganismos gram-positivos y gram-negativos, tanto en administración parenteral como también en aplicación peróral. En ensayos in-vitro (ensayo de dilución) con *Staphilococcus aureus* se encuentra la concentración inhibidora mínimo (MIC) a 0,1 a 1 γ ; con gérmenes gram-negativos, tales como *E. Coli*,
30. *Klebsiella pneumoniae* o *Salmonella typhosa* se encuentra el MIC



en el ensayo de dilución en 0,1 a 0,5.

Ejemplo 2

5. En una solución de 12,8 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 280 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 5,27 g de 1-metil-5-mercapto-tetrazol. Mediante adición, gota a gota, de solución 2-N de carbonato sódico, y bajo intensa agitación, se ajusta el pH a 6,6 y se calienta bajo nitrógeno durante 7 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae consecutivamente con 2 litros y con 1,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 20 cc de tampón hasta tener de nuevo un pH de 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 2,5 litros de éster acético bajo intensa agitación se reajusta a un pH de 2,5 mediante ácido clorhídrico 4-N
10. (aproximadamente unos 30 cc). El precipitado marrón que aquí se presenta se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1,5 litros y después dos veces con 1 litro de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas dos veces, cada una con 100 cc de solución de sal común saturada se secan con sulfato sódico y se concentra en vacío a un volumen de unos 150 cc. A esta solución se agregan en pequeñas porciones, bajo buena agitación, 150 cc de hexano y se deja reposar entonces durante varias horas en frío. Se separa por filtración en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (1:1). El filtrado se desecha. El residuo (6,57 g) se absorbe en una solución acetónica en 50 cc de gel de sílice neutro. El adsorbato secado se vierte en una columna de 450 g de gel de sílice neutro (\varnothing 5,75 cm, h = 41 cm) y se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



- volumen de acetona. Los primeros 1,5 litros de eluado se desechan y los siguientes 2 litros contienen el producto de reacción. Estos dos litros se evaporan en vacío hasta sequedad, el residuo se disuelve en 40 partes en volumen de acetona,
5. se agregan 10 partes en volumen de metanol y después se transforma, mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de Δ -etil-hexanoato sódico en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(1-metil-tetrazolil-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.
10. En el espectro ultravioleta es $\lambda_{max} = 268 \text{ nm}$ ($\epsilon = 11.150$);
 $[\alpha]_D^{20} = +22^\circ \pm 1^\circ$ (c = 0,99 en agua).
- En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,28$; $Rf_{101A} = 0,54$; $Rf_{102A} = 0,76$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,19.
15. Ejemplo 3
- En una solución de 12,8 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 280 cc de tampón de fosfato (10 %) del pH 6,7 se suspenden 6,0 g de 3-metil-1,2,4-tiazolín-5-tiona. Mediante adición gota a gota de solución 2-N
20. de carbonato sódico, bajo intensa agitación se ajusta el pH a 6,6 y después se calienta bajo nitrógeno durante 6 horas a 60°C. Se enfría, y la mezcla se extrae consecutivamente con 2 litros y 1,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se vuelven a lavar cada vez con 20 cc de tampón del pH 6,5 y se
25. desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 2,5 litros de éster acético y bajo intensa agitación se ajustan con ácido clorhídrico 4-N a un pH de 2,5. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae
30. con 1,5 litros y después dos veces con 1 litro de éster acéti-



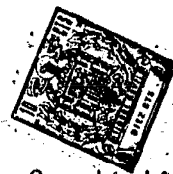
- co. Después de haber agitado las fases orgánicas dos veces, cada una con 100 cc de solución de sal común saturada se secan con sulfato sódico y se concentra en vacío a un volumen de unos 60 cc con lo que se forma un precipitado voluminoso.
5. A esta pasta se agregan en pequeñas porciones, bajo buena agitación, 100 cc de hexano y se deja reposar durante 1 hora en frío. Se separa por filtración en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (2:3). El filtrado se desecha. El residuo se adsorbe en una solución acetónica con
10. 50 g de gel de sílice neutro. El adsorbato seco se introduce en una columna de 450 g de gel de sílice neutro ($\phi = 5,75$ cm, $h = 41$ cm) y se aluye primeramente con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona. Los primeros 1,2 litros de eluado se desechan los siguientes
15. 2,5 litros contienen el producto de reacción. Estos 2,5 litros se evaporan en vacío hasta sequedad, el residuo se disuelven en 40 partes en volumen de acetona, se agregan 10 partes en volumen de metanol y mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etil-hexanoato sódico se transforma en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(3- α -etil-1,2,4-tiadiazol-5-iltio)-metilcef-3-em-4-carboxílico.
- 20.

En el espectro ultravioleta es $\lambda_{max} = 274$ nm ($\epsilon = 14\ 750$); $[\alpha]_D^{20} = -3^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 0,99$ en agua).

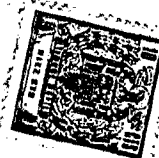
25. En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,47$; $Rf_{101A} = 0,62$; $Rf_{102A} = 0,84$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,37.

Ejemplo 4

30. En una solución de 25,6 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 560 cc de tampón de fos-



- fato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 16,0 g de 2-metilatio-1,3,4-tiadiazolin-5-tiona. Mediante adición gota a gota de solución 2-N de carbonato sódico, bajo intensa agitación, se ajusta el pH a 6,6 y se calienta bajo nitrógeno durante 6 horas
5. Se enfría, y la mezcla se extrae consecutivamente con 2,5 litros y 2 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 50 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 2,5 litros
10. de éster acético y bajo intensa agitación se ajustan con ácido clorhídrico 4-N a un pH de 2,5. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1,5 litros y después tres veces con 1 litro de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas dos veces, cada
15. una con 100 cc de solución de sal común saturada se secan con sulfato sódico y en vacío se concentra a un volumen de unos 400 cc con lo que se forma un precipitado. A esta mezcla se agregan, bajo buena agitación, 350 cc de hexano y se deja reposar durante 1 hora en frío. El precipitado voluminoso se se-
20. para por filtración en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (1:1). El filtrado se desecha. El residuo se adsorbe en una solución acetónica en 50 g de gel de sílice neutro. El adsorbato secado se vierte en una columna de 750 g de gel de sílice neutro ($\phi = 5,75$ cm, $h = 41$ cm) y
25. se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona. El primer litro de eluado se desecha, los siguientes 2 litros contienen el producto de reacción. Estos dos litros se evaporan en vacío hasta sequedad, el residuo se disuelve en 40 partes en volumen de acetona, se
30. agregan 10 partes en volumen de metanol y después, mediante



adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de β -etilhexanoato de sodio se transforma en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(2-metiltio-1,3,4-tiadiazol-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.

5.

En el espectro ultravioleta es $\lambda_{\text{max}} = 274 \text{ nm}$ ($\epsilon = 13'500$); $[\alpha]_D^{20} = 79^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,95$ en agua).

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,40$, $Rf_{101A} = 0,45$; $Rf_{102A} = 0,78$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,30.

10.

Ejemplo 5

En una solución de 12,8 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 280 cc de tampón de fosfato (10 %) del pH 6,7 se suspenden 5,27 g de 2-metil-1,3,4-oxadiazolin-5-tiona. Mediante adición, gota a gota, de solución

15.

2-N de carbonato sódico, bajo intensa agitación, se ajusta el pH a 6,6 y se calienta bajo nitrógeno durante 7 horas a 60°C. Se enfría, la mezcla se extrae consecutivamente con 2 litros y 1,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan

20.

2 veces, cada una con 20 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 2 litros de éster acético y bajo intensa agitación se ajustan a un pH de 2,5 mediante ácido clorhídrico 4-N. Un precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1,5

25.

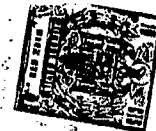
litros y después dos veces con 1 litro de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas dos veces, cada una 100 cc de solución de sal común saturada, se seca con sulfato sódico y se concentra por evaporación en vacío a un volumen de unos 200 cc con lo que se forma un precipitado. A esta pasta se agregan bajo buena agitación 200 cc de hexano y se de-

30.

385906



- ja reposar durante 1 hora en frío. Se separa por filtración en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (1:1). El filtrado se desecha. El residuo se adsorbe desde una solución acetónica en 30 g de gel de sílice neutro.
5. El adsorbato secado se vierte en una columna de 570 g de gel de sílice neutro ($\phi = 5,57$ cm. H = 47 cm) y se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona. Los dos primeros litros de eluado se desechan, los siguientes 2 litros contienen el producto de reacción. Estos
10. dos litros se evaporan en vacío hasta sequedad y después se recogen en poco éster acético. Se obtienen de esta manera cristales caso incoloros, fuertemente solvatizados de la forma ácido. Estos se disuelven en 40 partes en volumen de acetona, se agregan 10 partes en volumen de metanol y después se transforma,
15. mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etilhexanoato sódico, bajo lenta concentración por evaporación de la solución en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(2-metil-1,3,4-oxadiazol-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.
20. En el espectro ultravioleta es $\lambda_{\max} = 268$ nm ($\epsilon = 10^4 500$); $[\alpha]_D^{20} = -57^\circ \pm 1^\circ$ (c = 0,9 en agua).
- En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,27$; $Rf_{101A} = 0,38$; $Rf_{102A} = 0,65$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,18.
25. Ejemplo 6
- En una solución de 6,4 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 140 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 2,7 g de 1,3,4-tiadiazolin-5-tiona. Mediante adición gota a gota de solución 2-N de carbonato sódico, y bajo intensa agitación, se ajusta el pH a
- 30.



- 6,5 y se calienta bajo nitrógeno durante 6 horas a 60°C. La mezcla se extrae consecutivamente con 750 cc y 500 cc de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 30 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 1 litro de éster acético y bajo intensa agitación se ajusta a un pH de 2,5 con ácido clorhídrico 4-N (unos 15 cc). El precipitado marrón que se forma se separa por filtración. Se separan las fases, las soluciones acuosas se saturan con sal común y se extrae con 0,5 litros y después aún dos veces, cada una con 250 cc de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas 2 veces, cada una con 50 cc de solución de sal común saturada, se secan sobre sulfato sódico y se concentra en vacío a aproximadamente un volumen de 100 cc. A esta solución se agrega, bajo intensa agitación, 100 cc de hexano con lo que se forma un precipitado. Se deja reposar durante 1/2 hora a 0°, el precipitado se separa por filtración en vacío y se lava primeramente con éster acético + hexano (1:1), después con hexano. 3,66 g del precipitado así obtenido se adsorben desde una solución acetónica en 30 g de gel de sílice. El adsorbato secado se vierte en una columna de 400 g de gel de sílice (ϕ 5,75 cm, h = 35 cm) y se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona. Los primeros 1,7 litros de eluado se desechan, los siguientes 1,5 litros contienen el producto de reacción. Estos se evaporan en vacío hasta sequedad, el residuo se recoge en poco éster acético y por concentración por evaporación de la solución se transforma en una forma cristalina incolora solvatizada. Esta sustancia, ya casi pura, se suspende en 20 veces su cantidad de metanol, mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



α -etilhexanoato sódico se disuelve, y mediante concentración por evaporación de la solución en vacío se transforma en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(1,3,4-tiadiazol-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.

5. En el espectro ultravioleta es $\lambda_{\max} = 270 \text{ nm}$ ($\epsilon = 13150$); $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ \pm 1$ ($c = 1,04$ en agua).

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice en el $Rf_{52A} = 0,31$; $Rf_{101A} = 0,47$; $Rf_{102A} = 0,68$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,21.

10. Ejemplo 7

En una solución de 12,8 g de sal sódica del ácido 7-cianacetilamino-cefaloesporáico en 280 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 5,8 g de 5-mercaptop-3-metil-1,2,4-triazol. Mediante adición, gota a gota, de solución 2-N de carbonato sódico y bajo intensa agitación se ajusta el pH a 6,8 y se calienta bajo nitrógeno durante 8 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae 3 veces, cada una con 1,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 50 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases

20. acuosas reunidas se recubren con 2 litros de éster acético y bajo intensa agitación se ajusta con ácido clorhídrico 4-N (aproximadamente 45 cc) a un pH de 2,5. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Las fases se separan,

25. la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1,5 litros y después con 1 litro de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas 2 veces, cada una con 100 cc de solución de sal común saturada, se secan con sulfato sódico y se concentra en vacío a unos 300 cc. A esta solución se agregan bajo intensa agitación 300 cc de hexano con lo que se forma un precipitado. Se deja reposar durante 1/2 hora a 0°C, el

30.



- precipitado así obtenido se adsorbe desde una solución acetónica en 30 g de gel de sílice. El adsorbato seco se vierte sobre una columna de 470 g de gel de sílice (ϕ 5,57 cm, h = 42 cm) y se aluye primero con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona (6 litros) y más tarde con una mezcla de 1 parte en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona (3 litros). Los primeros 6 litros de eluado se desechan, los siguientes 3 litros, que contienen el producto de reacción, se evaporan hasta sequedad y el residuo se frota con éster acético. Después de filtración se obtiene el ácido 7-cianacetilamino-3-(3-metil-1,2,4-triazol-5-iltio)-metilcaf-3-em-4-carboxílico como polvo ligeramente teñido. Este se suspende en metanol, se disuelve mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etilhexanoato sódico y después de agregar el mismo volumen de etanol absoluto y concentrar por evaporación a un volumen más pequeño se transforma en la sal sódica sólida. El ligero teñido de la sustancia se puede retirar mediante tratamiento con carbón activo en solución metanólica. Para la limpieza se transforma la sal sódica por acidificación de su solución acuosa a un pH 2,5 y extracción con éster acético de nuevo en el ácido, éste se frota como arriba, con éster acético y de éste se obtiene en la forma arriba descrita la sal sódica.

- En el espectro ultravioleta es $\lambda_{\max} = 267 \text{ nm}$ ($\epsilon = 9900$); $[\alpha]_D^{20} = -11^{\circ} \pm 1$ (c = 1,0 en agua).

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,31$; $Rf_{101A} = 0,45$; $Rf_{102A} = 0,57$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,1.

Ejemplo 8

- En una solución de 1,34 g de sal sódica del ácido 3-



- propioniloximetil-7-cianacetilamino-cef-3-em-4-carboxílico. en 30 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 0,53 g de 1-metil-5-mercapto-tetrazol. Mediante adición, gota a gota, de solución 2-N de carbonato sódico, bajo intensa agitación, se ajusta el pH a 6,6 y se calienta bajo nitrógeno durante 7 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae consecutivamente con 200 cc y 150 cc de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 5 cc de tampón del pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 300 cc de éster acético y bajo intensa agitación se ajusta con ácido clorhídrico 2-N (unos 6 cc) a un pH de 2,5. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Las fases se separan, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae aún dos veces, cada una con 150 cc de éster acético. Después de haberse agitado las fases orgánicas dos veces, cada una con 10 cc de solución saturada de sal común, se secan con sulfato sódico y se concentra en vacío a un volumen de unos 20 cc. A esta solución se agregan en pequeñas porciones, y bajo buena agitación, 20 cc de hexano y se deja entonces reposar durante varias horas en frío. Se filtra en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (1:1). El filtrado se desecha, el residuo se adsorbe de una solución acetónica en 5 g de gel de sílice neutro. El adsorbato secado se vierte en una columna de 50 g de gel de sílice neutro y se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y una parte en volumen de acetona. Los primeros 150 cc de eluado se desechan, los siguientes 200 cc contienen el producto de reacción. Se seca en vacío hasta sequedad, el residuo se disuelve en 30 partes en volumen de acetona se agregan 5 partes en volumen de metanol y después se transforma, mediante adición de 1,3
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etilhexanoato sódico en la sal sódica cristalina del ácido 7-cianacetilamino-3-(1-metil-tetrazolil-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.

5. En el espectro ultravioleta es $\lambda_{max} = 268 \text{ nm}$ ($\epsilon = 11150$); $n_D^{20} = +22^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,99$ en agua).

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,28$; $Rf_{101A} = 0,54$; $Rf_{102A} = 0,76$; Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1) = 0,19.

10. El producto de partida se puede obtener de la manera siguiente:

20,0 g (36,7 mmoles) de N,N-ftaloil-cefaloesporina C (al 72 %) se suspenden en 400 cc de agua destilada y se disuelve con 71 cc de lejía sódica 1-N. La solución se agita con 400 mg de la acetilesterasa de Bacillus subtilis ATCC 6632 durante 20 horas a 37° manteniendo constante el pH de 7,3. Se neutraliza el ácido acético que se libera durante la saponificación enzimática con 32 cc de lejía sódica N. Terminada la reacción

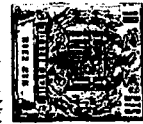
de saponificación se agrega éster acético y enfriando a 0° y agitando se agrega ácido fosfórico al 20 % hasta que se haya alcanzado un pH de 2,3. La fase acuosa se satura con cloruro sódico y se extrae ulteriormente aún tres veces con 300 cc de éster acético. Los extractos se lavan con solución de sal común saturada, se seca con sulfato sódico y se evapora. El producto en

bruto desacetilizado de la N,N-ftaloil-cefaloesporina C se recoge en 320 cc de dioxano y 80 cc de metanol, se mezcla en porciones con 18 g de difediazometano y se agita durante 3 horas a temperatura ambiente. La solución se evapora hasta sequedad, y se digiere dos veces con 400 cc de éter. El residuo se disuelve

30. en benceno y se cromatografía en 200 g de gel de sílice.



- lavado con ácido (diámetro de la columna 4,15 cm); se extraen fracciones de 100 cc. Cada vez tres fracciones de benceno, benceno-éster acético (9:1) y benceno-éster acético (5:5) se desechan. Con las siguientes 4 fracciones de benceno-éster acético
5. (5:5) se eluye el éster benzohidrílico del ácido 7-(5'-ftalimido-5'-carboxibenzhidril-valeroil)-amino-cef-3-em-3-hidroxitil-4-carboxílico y se cristaliza en éster acético-ciclohexano, P.f. = 113 - 115°; $[\alpha]_D^{20} = + 5^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 1,131 en cloroformo); espectro de adsorción ultravioleta (en alcohol fino): $\lambda_{\max} = 259 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 9100$) y $\lambda_{\text{infl.}} = 241 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 14600$).
10. La sustancia tiene en el cromatograma de capa delgada en gel de sílice en el sistema tolueno-acetona (4:1) un valor Rf de 0,11 (revelado con yodo).
- Bajo enfriamiento con hielo seco se gotea a una mezcla de 3,46 cc (40 mmoles) de cloruro propiónico y 2,90 cc (36 mmoles) de piridina en 30 cc de dimetilformamida absoluta una solución de 3,34 g (4 mmoles) de éster benzohidrílico de ácido
15. 7-(5'-ftalimido-5'-carboxibenzhidril-valeroil)-amino-cef-3-em-3-dihidroxitil-4-carboxílico en 7 cc de dimetilformamida. Se deja reaccionar durante 3 horas a temperatura ambiente. El producto de reacción se reparte entre 800 cc de fosfato monopotásico al 10 % y 1000 cc de éster acético y se extrae aún
20. dos veces, cada una con 500 cc de éster acético. El extracto éster acético. El extracto éster acético se lava con solución saturada de sal común, se seca con sulfato sódico y se evapora.
25. El éster benzohidrílico de ácido 7-(5'-ftalimido-5'-carboxibenzhidril-valeroil)-amino-cef-3-em-3-propioniloxi-metil-4-carboxílico cristaliza en drusas incoloras en acetona-éster acético; P.f. 163 - 165°; $[\alpha]_D^{20} = + 16^{\circ}$ (c = 1,119 en cloroformo); espectro de absorción ultravioleta (en alcohol fino): λ_{\max}
- 30.



260 m μ ($\epsilon = 9100$), $\rho_{infl.}$ 241 m μ ($\epsilon = 14300$).

La sustancia muestra en el sistema de capa delgada tolueno-acetona (9:1), cromatografiado en gel de sílice, un valor Rf de 0,19.

5. 2,03 g (2,28 mmoles) de éster benzhidrílico del ácido 7-(5'-ftálimido-5'-carboxi-benzhidril-valeroil)-amino-cef-3-em-3-propioniloximetil-4-carboxílico se disuelven en 20 cc de cloruro metilénico, se enfría a -10°C y se mezcla con 1,75 cc (21,7 mmoles) de piridina absoluta. Bajo agitación se agregan en el plazo de 12 minutos 11,4 cc (188 mmoles) de metanol absoluto, enfriado a -20°C. La mezcla de reacción se sigue agitando durante 30 minutos a -20°C. La mezcla de reacción se sigue agitando durante 30 minutos a -10°C y durante 60 minutos a +20°C. Mezclando bien se agregan 19 cc (19 mmoles) de ácido clorhídrico 1-N y se deja terminar de reaccionar durante 45 minutos a 20°C. Después se ajusta la mezcla con 3,8 cc de solución acuosa al 50 % de fosfato tripotásico y 18,3 cc de lejía sódica 2-N a un pH de 8,0. Las fases se separan, el extracto cloruro metilénico secado sobre sulfato sódico se evapora y se seca durante 2 horas en alto vacío. El residuo se recoge en 50 cc de tolueno-éster acético (3:1) y se extrae 3 veces, cada una con 20 cc de etanol-ácido clorhídrico 2-N (1:1). Las fases inferiores reunidas se ajustan con 30 cc de solución de sosa 2-N a un pH de 7,0, el alcohol se evapora y la solución acuosa se vuelve a extraer en éster acético. El extracto éster acético secado y evaporado se recoge inmediatamente después, en 1,14 cc (10,5 mmoles) de anisol, se enfría a -30°C y se mezcla con 3,32 cc (43,5 mmoles) de ácido trifluoroacético. Se deja reaccionar el ácido durante 30 minutos a +20°C y después se evapora bien bajo adición de tolueno. El residuo se
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



- recoge en 50 cc de tolueno-éster acético (3:1) y se extrae 3 veces, cada una con 20 cc de etanol-ácido clorhídrico 2-N (1:1). Las fases inferiores reunidas se ajustan con 30 cc de solución de sosa 2-N a un pH de 7,0, el alcohol se evapora y la solución acuosa se vuelve a extraer en éster acético. El extracto éster acético secado y evaporado se recoge inmediatamente después, en 1,14 cc (10,5 mmoles) de anisol, se enfría a -30°C y se mezcla con 3,32 cc (43,5 mmoles) de ácido trifluoroacético. Se deja reaccionar el ácido durante 30 minutos a +20°C y después se evapora bien bajo adición de tolueno. El residuo se mezcla con 40 cc de metanol enfriado a -30°C y se ajusta con 0,4 cc de trietilamina a un pH de 3,5. El precipitado que se forma espontáneamente se separa por centrifugación y se lava 2 veces, cada una con 5 cc de metanol, cloruro metilénico y éter y se seca en alto vacío. El ácido 3-propionil-oximetil-7-amino-cef-3-em-4-carboxílico es un polvo amorfo.

15.

$[\alpha]_D^{20} = + 110^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 1,000 en 0,5-N bicarbonato sódico). Espectro de absorción ultravioleta (en bicarbonato sódico 0,5-N): λ_{max} 262 m μ ($\epsilon = 8200$).

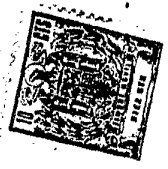
- En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice en el sistema n-butanol-piridina-ácido acético glacial-agua (30:20:6:24) muestra la sustancia un valor R_f de 0,58 (ácido 7-amino-cefaloesporáico R_f 0,55).

20.

- En un matríz de sulfatación de 25 cc con agitador magnético se mezcla una solución de 375 mg de ácido cianacético en 2,5 cc de tetrahidrofurano y bajo nitrógeno a -50°C hasta -70°C con 0,596 cc de trietilamina y 0,476 cc de cloruro tricloroacético. Bajo agitación se deja reaccionar durante 15 minutos a -50°C a -70°C. Después se agrega una solución enfriada a -70°C de 573 mg (2 mmoles) de ácido 7-amino-cef-3-em-3-

25.

30.



- propioniloximetil-4-carboxílico y 1 cc de trietilamina en 6,5 cc de cloruro metilénico y a continuación se agita durante 45 minutos a -50° a -70°C bajo nitrógeno. El preparado se agita entonces con 10 cc de solución acuosa al 10 % de dihidrogeno-
5. fosfato potásico con lo que se ajusta un pH de 5,0. La fase orgánica inferior se separa y la fase acuosa se extrae con 5 cc de cloruro metilénico y con 10 cc de éster acético. La fase acuosa se recubre con 20 cc de éster acético, se acidifica con ácido clorhídrico 2-N a un pH de 2,0 y - después de saturar
10. con sal común y separación de fases - se vuelve a extraer aún dos veces, cada una con 10 cc de éster acético. Los tres extractos éster acéticos se lavan con 10 cc de solución saturada de sal común, se seca con sulfato sódico y se filtra a través de una columna ($\phi = 16$ mm, $d = 10$ cm) de 5 g de gel de sílice.
15. La columna se lava con 200 cc de éster acético y los filtrados reunidos se concentran por evaporación a 2,3 - 3,0 g. De la solución concentrada se precipita con 50 cc de éter - éter de petróleo (1:1) el ácido 3-propioniloximetil-7-cianacetilaminocef-3-em-4-carboxílico y se recristaliza en tetrahidrofurano-éster acético, P.f. 146 - 150°.
- 20.

En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice en el sistema n-butanol-ácido acético glacial-agua (67:10:23) es el Rf 0,35 (ácido-7-cianacetil-aminocefaloesporáico, Rf = 0,26).

25. Ejemplo 9

En una solución de 8,84 g de ácido 7-(α -fenil- α -cianacetilamino)-cefaloesporáico en 190 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 3,23 g de 1-metil-5-mercaptopetrazol. Mediante adición de 80 cc de una solución al 10 % de K_2HPO_4 se ajusta, bajo intensa agitación, el pH a 6,5 y se ca-

30.



- lenta bajo nitrógeno durante 7 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae consecutivamente con 1 litro y 0,5 litros de éster acético. Las fases orgánicas se lavan dos veces, cada una con 20 cc de tampón a un pH de 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 1,5 litros de éster acético y bajo intensa agitación se ajusta con ácido clorhídrico 4-N (unos 37 cc) a un pH de 2,6. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Se separan las fases, la solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 1 litro y después con 0,5 litros de éster acético. Después de haberse sacudido las fases orgánicas dos veces, cada una con 70 cc de solución de sal común saturada, se secan con sulfato sódico y en vacío se concentran a un volumen de unos 100 cc. A esta solución se agregan en pequeñas porciones bajo buena agitación, 100 cc de hexano y se deja reposar en frío durante varias horas. Se separa por filtración en vacío y el residuo se lava con una mezcla de éster acético y hexano (1:1). El filtrado se desecha. El residuo (8,5 g) se absorbe de una solución acetónica en 50 g de gel de sílice neutro. El adsorbato secado se introduce en una columna de 450 g de gel de sílice neutro (ϕ 5,75 cm, h = 41 cm) y se eluye con una mezcla de 2 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de acetona. El primer litro de eluado es desechado, las fracciones siguientes contienen el producto de reacción. Estas se evaporan en vacío hasta sequedad, el residuo se disuelve en 40 partes en volumen de acetona, se agregan 10 partes en volumen de metanol y después se transforma, mediante adición de 1,3 partes en volumen de una solución metanólica 3-m de α -etil-hexanoato sódico en la sal sódica cristalina del ácido 7-(α -fenil- α -cianacetilamino)-3-(1-metiltetrazolil-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es el $Rf_{52A} = 0,44$, Rf en éster acético-ácido acético glacial (9:1), trayecto de recorrido 16 cm = 0,53.

Ejemplo 10

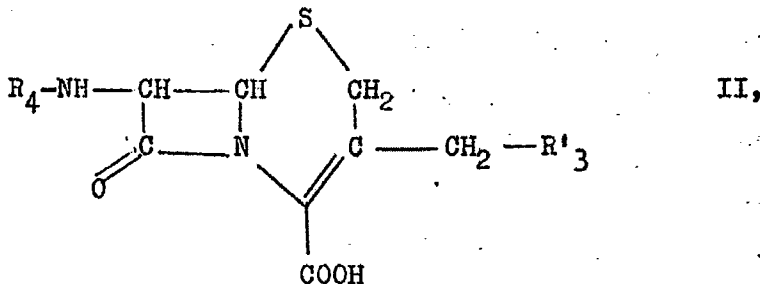
5. En una solución de 207 mg de ácido 7-(α -fenil- α -cianacetilamino)-cefaloesporáico en 4,5 cc de tampón de fosfato (al 10 %) del pH 6,7 se suspenden 86 mg de 2-metil-1,3,4-tiadiazolin-5-tiona (véase Acta Chimica Scand. 20,69 (1966)). Mediante adición de 2,7 cc de una solución al 10 % de K_2HPO_4 se ajusta entonces, bajo intensa agitación, el pH a 6,5 y se calienta
10. bajo nitrógeno durante 7 horas a 60°C. Se enfría y la mezcla se extrae 2 veces con 40 cc de éster acético. Las fases orgánicas se lavan cada vez con 3 cc de tampón de pH 6,5 y se desechan. Las fases acuosas reunidas se recubren con 50 cc de éster acético y bajo intensa agitación se ajustan con ácido clorhídrico
15. 4-N a un pH de 2,6. El precipitado marrón que se presenta se retira por filtración. Las fases se separan. La solución acuosa se satura con sal común y se extrae con 30 cc y después con 20 cc de éster acético. Después de haberse sacudido las fases orgánicas 2 veces, cada una con 5 cc de solución
20. de sal común saturada se secan con sulfato sódico y se evaporan en vacío hasta sequedad. El residuo se disuelve en una mezcla de cloroformo-acetona (1:1), se filtra a través de una columna de 20 g de gel de sílice (\emptyset : altura = 1:9) y se evapora en vacío hasta sequedad. El residuo se disuelve en poca acetona y mediante una solución metanólica 3-m de α -etil-hexanoato sódico se transforma en la sal sódica del ácido 7-(α -fenil- α -cianacetilamino)-3-(2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-iltio)metilcef-3-em-4-carboxílico.
- 25.

30. En el cromatograma de capa delgada en gel de sílice es $Rf_{52A} = 0,57$, Rf en éster acético-ácido acético glacial



nitrógeno y además otro heteroátomo del grupo nitrógeno, oxígeno y azufre, o los ésteres o las sales de estos compuestos, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de fórmula II

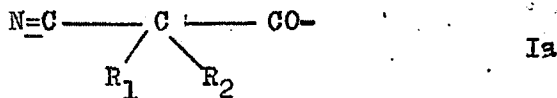
5.



10.

en la que R₄ significa el resto acilo de fórmula Ia

15.



en la que R₁ y R₂ tienen los significados indicados para la fórmula I y donde R'₃ significa un grupo hidroxí funcionalmente modificado, o un éster o una sal de estos compuestos, con un tiol de fórmula Ib

20.



25.

en la que R₃ tiene el significado indicado para la fórmula I, o una sal metálica del mismo.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se disocia un grupo éster en caso dado existente.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque un compuesto obtenido de fórmula I, donde R₁

30.

ME



y R_2 significan ambos hidrógeno, se reacciona, convenientemente en presencia de catalizadores, con un aldehído, cetona o nitrilo.

5. 4.- Procedimiento según la reivindicación 1 - 3, caracterizado porque los compuestos obtenidos se transforman en sus sales metálicas, tales como sales de metal alcalino o de metal alcalino-térreo, o sales con amoníaco o bases orgánicas o de las sales obtenidas se forman los ácidos carboxílicos libres o en caso dado las sales internas.

10. 5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se parte de compuestos de fórmula II, donde R'_3 significa un grupo alcanoiloxi inferior sin sustituir o sustituido por halógeno.

15. 6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se parte de compuestos de fórmula II donde R'_3 significa un grupo acetoxi.

20. 7.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 6, caracterizado porque la reacción con el tiol se efectúa en un disolvente inerte, miscible con agua, o en una mezcla de agua y uno de estos disolventes.

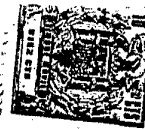
8.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque la reacción con el tiol se efectúa a temperaturas de +15 a 70°.

25. 9.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan los compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_1 y R_2 significan hidrógeno.

30. 10.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I, o sus sales, donde R_1 significa hidrógeno y R_2 un resto hidrocarburo o un resto heterocíclico.

mE

- 385906



11.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan compuesto de fórmula I o sus sales donde R_1 significa hidrógeno y R_2 un resto alquilo inferior.

5.

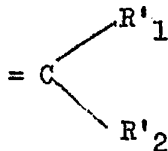
12.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales donde R_1 significa hidrógeno y R_2 un resto fenilo, en caso dado sustituido.

10.

13.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_1 significa hidrógeno y R_2 un resto tienilo.

15.

14.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 8, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_1 y R_2 significan juntos un resto de fórmula



20.

y en la que R_1 y R_2 significan alquilo inferior o juntos cicloalquilo.

25.

15.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_3 significa un resto heterociclilo, en caso dado sustituido, con 5 átomos de anillo.

16.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_3 significa un resto triazol, en caso dado sustituido.

30.

17.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I

mE



o sus sales, donde R_3 significa un resto tetrazol, en caso dado sustituido.

5. 18.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_3 significa tiadiazol, en caso dado sustituido.

10. 19.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_3 significa un resto oxadiazol, en caso dado sustituido.

20.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, en la que R_3 significa un resto 1,3,4-tiadiazol ó 1,2,4-tiadiazol.

15. 21.- Procedimiento según las reivindicaciones 15 - 20, caracterizado porque el resto heterociclilo está sustituido por algún inferior.

20. 22.- Procedimiento según las reivindicaciones 15 - 20, caracterizado porque el resto heterociclilo está sustituido por algún inferior.

23.- Procedimiento según las reivindicaciones 15 - 20, caracterizado porque el resto heterociclilo está sustituido por fénilo o fenilo sustituido.

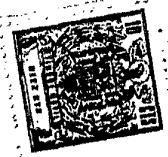
25. 24.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque el resto heterociclilo está sustituido por ciclopentilo o ciclohexilo.

25.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R_3 significa 1-metil-tetrazol-5-ilo.

30. 26.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 -

ME

385906



14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula I o sus sales, donde R₃ significa 2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-ilo.

5.

27.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan compuestos de fórmula II o sus sales, donde R₃ representa 2-metil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo.

10.

28.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan miembros del grupo formado por compuestos de la fórmula I o sus sales, donde R₃ representa 1,3,4-tiadiazol-5-ilo.

15.

29.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan miembros del grupo formado por compuestos de la fórmula I o sus sales, donde R₃ representa 3-metil-1,2,4-triazol-5-ilo.

20.

30.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se preparan un miembro del grupo formado por el ácido 7-cianacetil-amino-3-desacetoxi-3-(2-metil-1,3,4-triadiazol-5-iltio)cefaloespóranico o sus sales.

25.

31.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara un miembro del grupo formado por el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(3-metil-1,2,4-tiadiazol-5-iltio)-cefaloespóranico o sus sales.

30.

32.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara un miembro del grupo formado por el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(1-metil-tetrazol-5-iltio)-cefaloespóranico o sus sales.

33.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara un miembro del grupo for-

mE



mado por el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(2-metil-1,3,4-oxadiazol-5-iltio)-cefaloespóranico o sus sales.

5. 34.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(1-metil-tetrazol-5-iltio)-cefanoespóranico o sus sales.

10. 35.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(2-metil-1,2,4-oxadiazol-5-iltio)-cefanoespóranico o sus sales.

36.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(2-metiltio-1,3,4-tiadiazol-5-iltio)-cefaloespóranico o sus sales.

15. 37.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(1,3,4-tiadiazol-5-iltio)-cefaloespóranico y sus sales.

20. 38.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 - 14, caracterizado porque se prepara el ácido 7-cianacetilamino-3-desacetoxi-3-(3-metil-1,2,3-triazol-5-iltio)-cefanoespóranico o sus sales.

25. 39.- Procedimiento para la obtención de derivados del ácido 7-amino-cefaloespóranico, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 39 hojas escritas a máquina por una sola cara.

1 JUN. 1973

Madrid,

CIBA GEIGY A.G.-

ME

A. GOMEZ ACEBO Y ENJERY
El Encargado de la Gestión Administrativa
[Handwritten Signature]