

405281



P.- 51.657

MFP-435 Takeda

Int. Cl.²: C07D 11A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

entidad japonesa

establecida en 27, Doshomachi 2-chome, Higashi-ku,
Osaka, Japón.

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR NUEVOS COMPUES-
TOS DE CEFALOSPORINA"

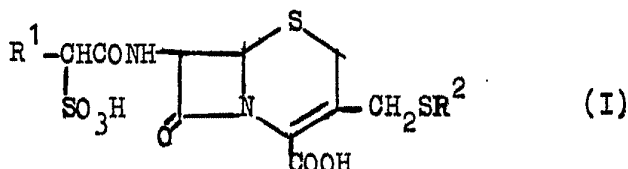
(Clase Internacional C07d)

405281

25 3



Este invento se refiere a nuevos compuestos de cefalosporina y a su preparación. Más particularmente, este invento se refiere a compuestos de cefalosporina de la fórmula:



5 en donde R¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alifático, aromático o heterocíclico y R² representa un grupo heterocíclico o a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y a un procedimiento para producirlos.

10 Los presentes inventores han encontrado que la conversión del grupo acilo en la posición 7 de cefalosporina G, es decir el grupo 5-amino-5-carboxivalerilo, con un grupo α -sulfoacilo proporciona un compuesto eficaz contra Pseudomonas aeruginosa, contra la cual son ineficaces compuestos de cefalosporina bien conocidos tales como cefalotina o cefaloridina. Se ha encontrado también que dicho compuesto tiene un espectro antimicrobiano más amplio. Además de ello, los inventores han encontrado que los efectos que arriba se mencionan son acrecentados aún más por

15

20

16.9.72

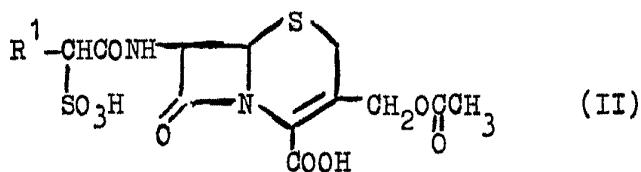


sustitución adicional del grupo acetoximetilo en la posición 3 con un grupo tiometilo heterocíclico.

Los compuestos de cefalosporina (I) del presente invento pueden ser preparados convirtiendo el grupo 5-amino-5-carboxivalerilo en la posición 7 de la cefalosporina C en el deseado grupo α -sulfoacilo y convirtiendo el grupo acetoximetilo en la posición 3 en el grupo tiometilo heterocíclico. Pueden realizarse en primer lugar o bien la conversión en la posición 3 ó bien la conversión en la posición 7, seguido por la conversión en la otra posición.

A.- Métodos para conducir en primer lugar la conversión en la posición 7 y luego en la posición 3:

Un compuesto de sulfocefalosporina de la fórmula



en donde R^1 es lo mismo que se define anteriormente, o un derivado funcional en la posición 3 del mismo es hecho reaccionar con un compuesto heterocíclico



de la fórmula:



en que R^2 es lo mismo que se define anteriormente.

5 El compuesto de sulfocefalosporina (II) utilizado como material de partida puede obtenerse, por ejemplo, condensando ácidos α -sulfocarboxílicos o derivados funcionales en el grupo carboxílico del mismo, con ácidos 7-aminocefalosporánicos o derivados de éster fácilmente eliminables de los mismos y, 10 cuando se utiliza en la etapa precedente el grupo éster fácilmente eliminable, eliminando subsiguientemente el grupo éster (patente belga número 762.725).

15 El compuesto de cefalosporina (I) se prepara, de acuerdo con el presente método, haciendo reaccionar el compuesto de sulfocefalosporina o un derivado funcional en la posición 3 del mismo (II), con el compuesto heterocíclico (III). En el compuesto de sulfocepañosporina (II) que se utiliza como material de partida, R^1 incluye un átomo de hidrógeno, un grupo 20 alifático tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, octilo, decilo o similares; un grupo aromático tal como fenilo, halofenilo por ejemplo clorofenilo, bromofenilo, etc., toliilo, naftilo o si

405281

25



milares; y un grupo heterocíclico tal como tienilo o similares. En cuanto al derivado funcional en la posición 3 del compuesto (II) puede utilizarse cualquier compuesto que contenga un grupo funcional en la posición 3, similar al grupo acetoxi en el grupo acetoximetilo de la posición 3, que sea capaz de reaccionar con tioles para realizar una sustitución. Por ejemplo, dicho grupo funcional es un grupo hidroxilo; un grupo aciloxi que puede contener grupos haloacetoxi, propioniloxi u otros grupos en calidad de sustituyentes; el grupo tiol; halógeno, tal como bromo, yodo, flúor o similares. En estos compuestos de sulfocefalosporina (II), el grupo carboxilo en la posición 4 y/o el grupo sulfo en la cadena lateral del mismo pueden formar una sal, por ejemplo, con sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio, trietilamina, etc., siempre que no se produzca ningún efecto perjudicial en la reacción del presente invento. En algunos casos, el grupo carboxilo en la posición 4 puede ser un grupo fácilmente eliminable, por ejemplo un grupo benciloxicarbonilo, β -metilsulfoniletiloxicarbonilo, benzhidríloxycarbonilo o trimetilsililoxicarbonilo.

Por otro lado, en el compuesto de tiol heterocíclico (III) R^2 es un grupo monocíclico de 5 ó

16.9.72



6 miembros o grupo cíclico condensado que contiene de uno a tres heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre, por ejemplo piridilo, pirimidilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, tiazotriazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, o similares. Estos anillos pueden tener como sustituyente un grupo alcoholo tal como un grupo metilo o etilo; un grupo nitro, amino o tio; o un halógeno tal como cloro o bromo. Alternativamente, pueden estar parcialmente reducidos tal como, por ejemplo, en dihidroimidazol. El átomo de nitrógeno en el compuesto de tior heterocíclico (III) puede ser un átomo cuaternario tal como en N-metilpiridinio. Ejemplos de dichos compuestos heterocíclicos (III) incluyen, además de los indicados en los Ejemplos, 2-tiotiazol, 1-metil-2-tioimidazol, 2-tiobenzimidazol, 2-tiobenzotiazol, 2-tiobenzoxazol, 2-tiopiridina, yoduro de 2-tio-1-metilpiridinio, 2-tio-1,3,4-tiadiazol, 5-tio-1,2,3,4-tiazotriazol, 5-tio-3,4-dimetil-4H-1,2,4-triazol, 3-metil-5-tio-isoxazol, 2-tio-5-nitro-benzoxazol, y 6-tio-8-cloro-2-metilpurina.

La reacción del compuesto de sulfocefalosporina (II) con el compuesto de tior heterocíclico (III) se realiza usualmente en un disolvente apropiado. Por ejemplo, pueden utilizarse acetona, dioxano, cloroformo

405281

25 S



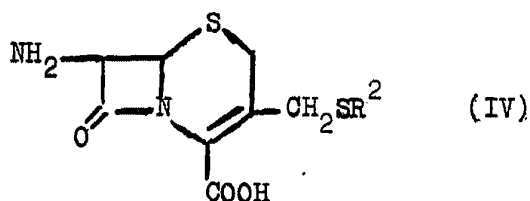
mo, dimetilsulfóxido, cloruro de metileno, tetrahidro
furano, éter, éster de acetato de etilo, nitrobence-
no, dimetilformamida, metanol o etanol. Pueden utili-
zarse también otros disolventes orgánicos en general
5 que no interfieran con la reacción y agua. Entre es-
tos disolventes son particularmente preferidos los de
fuerte polaridad. Los disolventes hidrófilos pueden
ser mezclados con agua para el uso. La reacción se
realiza preferiblemente con un pH neutro o débilmen-
10 te ácido. Por ejemplo, puede realizarse de modo pre-
ferible en presencia de un hidróxido de metal alcali-
no, un carbonato de metal alcalino, un bicarbonato
de metal alcalino, una trialcoholamina o piridina.
La temperatura de reacción varía dependiendo de la
15 clase de compuestos que se utilizan como materiales
de partida. No obstante, ordinariamente, la reacción
se efectúa a una temperatura que oscila entre la tem-
peratura ambiente y 100°C, más preferiblemente de 40
a 60°C. En la mayor parte de los casos, la reacción
20 se continúa durante aproximadamente 1 a 24 horas, o
más.

El compuesto de tiol heterocíclico (III)
se utiliza preferiblemente en una proporción de apro-
ximadamente 1 a 10 moles por mol del compuesto de
25 sulfocefalosporina (II).



B.- Métodos para realizar en primer lugar la conversión en la posición 3 y luego en la posición 7.

5 El compuesto de cefalosporina de acuerdo con el presente invento puede ser producido también acilando un derivado de ácido aminocefalosporánico de la fórmula



10 en donde R² es lo mismo que se define anteriormente, con un derivado de ácido α -sulfecarboxílico de la fórmula



en que los signos son tal como se definen anteriormente.

15 El ácido aminocefalosporánico (IV) se puede obtener sustituyendo el grupo acetoxi en la posición 3 de cefalosporina C con el grupo heterocíclico deseado

405281

25



do y luego eliminando el grupo acilo en la posición 7. Alternativamente, puede ser preparado desacilando cefalosporina C y luego sustituyendo en la posición 3 del ácido 7-aminocefalosporánico resultante.

5 La conversión del grupo acetoxi en la posición 3 de cefalosporina C se puede efectuar de acuerdo con el procedimiento descrito, por ejemplo, en las memorias de patente de los Estados Unidos números 3.225.038 ó 3.217.000 ó en la patente alemana número 10 1.817.121. El derivado de cefalosporina resultante que tiene el grupo heterocíclico en la posición 3 puede ser convertido con facilidad de acuerdo con el procedimiento descrito, por ejemplo, en la patente holandesa número 6401421, en la patente británica número 15 1.041.985 ó en la patente de los Estados Unidos número 3.575.970, para formar un correspondiente derivado de ácido aminocefalosporánico (IV).

 El derivado de ácido aminocefalosporánico puede encontrarse también en una cualquiera de formas 20 tales como sales y ésteres, igual que en el caso del antedicho ácido sulfocefalosporánico (II).

 La reacción del derivado de ácido aminocefalosporánico (IV) con el ácido sulfocarboxílico (V) o un derivado funcional del mismo se puede efectuar también de acuerdo con un método de por sí conocido. En 25

405281

25



el caso en que el ácido α -sulfocarboxílico (V) se
utilice en forma de ácido libre, es preferible llevar
a cabo la reacción en presencia de un agente de con-
densación. El agente de condensación es, por ejemplo,
5 una carbodiimida disustituída en N,N', por ejemplo
N,N'-díciclohexilcarbodiimida; un compuesto de azoli-
da, por ejemplo N,N'-tionilimidazol; N-etoxicarbonil-
2-etoxi-1,2-dihidroquinoleína, oxicloloruro de fósforo
o alcoxiacetileno. En cuanto a los ésteres funciona-
10 les del ácido (V), puede utilizarse uno cualquiera en
tre los halogenuros, anhídridos, azidas y ésteres ac-
tivos de ácido carboxílico. La reacción de acilación
anterior se desarrolla de modo ventajoso y con facili-
dad en un disolvente. En calidad de disolvente, se
15 utiliza convenientemente un disolvente convencional
tal como agua, acetona, tetrahidrofurano, dioxano,
acetonitrilo, cloroformo, diclorometano, dicloroestile
no, piridina, dimetilnilina, dimetilformamida o dime
tilsulfóxido. La temperatura de reacción no está limi
20 tada de modo particular. Ordinariamente, no obstante,
la reacción se efectúa con enfriamiento o a la tempe-
ratura ambiente.

El producto de reacción puede ser purifica-
do y recuperado, utilizando las propiedades del produc
25 to final de cefalosporina (I), por ejemplo por medio

405281



de transferencia de fases, concentración, cromatografía, cristalización, recristalización etc.

Así, el compuesto del título de este invento puede obtenerse en forma de ácido libre o en forma de una sal que, si se desea, puede ser convertida en otro tipo de sal por una reacción de intercambio de sal de por sí conocida. La sal puede ser cualquier tipo de sal no tóxica farmacéuticamente aceptable. Entre tipos útiles de sales se encuentran sales de metales no tóxicas tales como las de sodio, potasio, calcio y aluminio; sales de amina no tóxicas, tales como las sales de amonio o de amonio sustituido, por ejemplo de trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil- β -fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-bis-(deshidroabietil)-etiléndiamina, etc.; y las sales de otras aminas que se han utilizado hasta el momento para la producción de sales de bencilpenicilina.

El compuesto del título del presente invento contiene dos grupos ácidos, a saber un grupo sulfo y un grupo carboxilo y, dependiendo de las acideces relativas de estos dos grupos, es posible obtener o bien una sal ácida o bien una sal neutra. En el grupo α -sulfoacilo en posición 7 están contenidos también uno o dos átomos de carbono asimétricos. Utilizando materiales de partida ópticamente activos, es decir

16.9.72

405281



ácidos α -sulfocarboxílicos, o sometiendo al producto de reacción a una técnica convencional tal como re cristalización o cromatografía, pueden obtenerse formas ópticamente activas del compuesto del título.

5 Los compuestos de cefalosporina que pueden obtenerse de la manera precedente tienen potentes actividades antimicrobianas y son eficaces para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas causadas por bacterias gram-positivas y bacterias gram-negativas, incluyendo bacterias del grupo de Pseudomonas.
10 Pueden ser administradas por cualquier vía, incluyendo las vías oral, subcutánea e intravenosa, de una manera similar a los preparados de cefalosporina conocidos.

15 Si bien la dosificación apropiada depende de la clase de enfermedad, la dosis recomendada para infecciones con Pseudomonas, por ejemplo, es de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg/kg/día y, preferiblemente, de aproximadamente 10 a 200 mg/kg/día,
20 en dos a cuatro administraciones por día.

Ha de entenderse que los ejemplos precedentes se dan solamente con fines ilustrativos y no han de ser considerados como limitativos de este invento, y que se puede recurrir a muchas variaciones sin apartarse del espíritu y alcance de este invento. En esta
25

16,9,72

405281

25



memoria descriptiva "g", "mg", "ml", y "mcg." son respectivamente "gramos", "miligramos", "mililitros", y "microgramos".

Ejemplo 1.

5 (1) Una mezcla de 2,5 ml de solución 1 N de NaOH y 5 ml de agua es enfriada con hielo y es bien agitada a 0-5°C. Al tiempo que se agita, se añaden 680 mg de ácido 7-aminocefalosporánico y se disuelve bien. Separadamente, 585 mg de cloruro de ácido α -sulfofenilacético son disueltos en 7 ml de dietiléter y la solución es añadida gota a gota a la solución precedentemente preparada en el espacio de 15 minutos. La capa acuosa es recuperada y ajustada a pH 1,5 con HCl 1 N, seguido por extracción con dos porciones de 15 ml de n-butanol. Los extractos son lavados dos veces con porciones de 5 ml de agua y extraídas con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . El extracto es llevado a pH 6,5 y lavado con éter, seguido por liofilización. Se obtienen 385 mg de sal sódica de ácido 7-(α -sulfofenilacetamido)-cefalosporánico.

20

(2) 293 mg de 7-(α -sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico, 188 mg de 2,5-ditio-1,3,4-tiazol y 13 mg de NaHCO_3 son disueltos en 25 ml de agua. La solución es ajustada a pH 7,0 y calentada a 40°C durante 45 horas. La mezcla de reacción es llevada

25

16.9.72

405281

25 SEP 1972



da a pH 2,5 y lavada con 25 ml de acetato de etilo. Luego la capa acuosa es extraída con n-butanol. Al extracto se añade agua y se ajusta a pH 6,5 con NaHCO_3 , con lo cual el producto pretendido es transferido a la fase acuosa. La fase acuosa es liofilizada, luego el producto así liofilizado es subsiguientemente purificado por cromatografía con utilización de una columna de resina (Amberlite XAD-2, nombre registrado de Rohm & Haas Co. USA, 16 x 1000 mm, eluyente: agua). Las fracciones que contienen la cefalosporina deseada son enfriadas y luego liofilizadas para obtener 120 mg de 7-(α -sulfofenilacetamido)-3-[4'-(2'-tio-1',3',5'-tiazol)-tio]-metil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

Espectro de absorción de IR. \checkmark $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}):
1750 (β -lactama, C=O), 1670 (-CONH-), 1600 (-COO⁻),
1530 (-NC=S), 1285 (CSNH), 1400, 1360, 1215 (SO₂),
1045 (-SO₃H).

Espectro de RMN (60 MC, D₂O) :
3-4 (2H, C₂-H₂), 5,1 (1H, S, cadena lateral, -CH-),
5,06 (1H, doblete, J = 5 cps, C₆-H), 5,62 (1H, doblete, J = 5 cps, C₇-H), 7,5 (5H, ancho S, fenil-H).

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$).

Staphylococcus aureus 209 P 2

Pseudomonas aeruginosa 10490 20

16.9.72

405281

25 S



Ejemplo 2.

0,880 g de 7-(α -sulfoacetamido)-cefalosporanato disódico (2×10^{-3} moles) son disueltos en 50 ml de agua. Luego se añaden a esta solución 0,75 g (5 x 10^{-3} moles) de 2,5-ditio-1,3,4-tiadiazol, y se mezcla bien. La mezcla es ajustada a pH 6,5 mediante una solución acuosa diluida de NaHCO_3 y después de ello la reacción se realiza a una temperatura mantenida constante en 40°C durante 8 horas. Después de estar terminada la reacción, la mezcla de reacción es concentrada a la temperatura ambiente bajo presión reducida hasta que el volumen del líquido se hace aproximadamente de 30 ml. El concentrado es sometido a liofilización. El producto resultante es luego purificado por cromatografía con utilización de una columna de resina (Amberlite XAD-2, 30 x 1000 mm, eluyente: agua). Las fracciones que contienen la deseada cefalosporina son recogidas y luego liofilizadas para obtener 500 mg de 7-(α -sulfoacetamido)-3-[4'-(2'-tio-1',3',5'-tiadiazol)-tio]-metil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) : 3400 (OH), 3000 (CH),
2850 (NH), 1745 (β -lactama, C=O), 1665 (-CONH-),
1600 (-COO⁻), 1460 (-CSNH-), 1400, 1260, 1220 (-SO₂⁻),
1120, 1100 (-CNH-), 1045, 1025 (-SO₃⁻), 700 (C-S).
" S

405281

25  72

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$):

Pseudomonas aeruginosa 10490 10

Ejemplo 3

0,246 g de 7-(α -sulfofenilacetamido) cefalosporanato disódico, 0,149 g de 2,4-ditio-pirimidina y 0,13 g de NaHCO_3 son disueltos en 21 ml de agua. La mezcla es calentada a 40°C durante 41 horas. Después de estar terminada la reacción, la mezcla de reacción es ajustada a pH 2,0 con HCl. Luego la mezcla es tratada de la misma manera que en el Ejemplo 2 para obtener 0,10 g de ácido 7-(α -sulfofenilacetamido)-3-[4'-(2'-tio-pirimidil)-tio]-metil-3-cefem-4-carboxílico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 3380 (OH), 3000, 2900 (CH), 1750 (β -lactama C=O), 1665 (-CONH-), 1600 ($-\text{COO}^-$), 1535 (C-N, NC=S), 1470 (NCS), 1370 (SO_2), 1290 (NCS), 1230, 1190 (SO_2), 1115, 1040 ($-\text{SO}_3^-$), 700

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$):

Pseudomonas aeruginosa 10490 10

Ejemplo 4

0,5 g de 7-(α -sulfo, α -etilacetamido)-cefalosporanato disódico, 0,188 g de 2,5-ditio-1,3,4-tiadiazol y 0,13 g de NaHCO_3 son disueltos en 20 ml de agua. La mezcla es ajustada a pH 6,5 y calentada a 40°C durante 35 horas. El producto de reacción es tratado de modo similar al Ejemplo 2 para proporcio-

16.9.72



405281

nar 0,13 g de 7-(α -sulfo, α -etilacetamido)-3-[4'-(2'-tio-1',3',5'-tiazolil)-tio]-7-metil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{max}}$ (cm^{-1}): 3450 (OH), 2990 (CH),
 5 1755 (β -lactama), 1673 (-CONH), 1605 (-COO-), 1530
 (-CSNH-), 1400, 1285 (-CSNH-), 1210 (SO₂), 1050 (-SO₃⁻).
 Espectro de RMN 1,02 (3H, triplete, J = 7 cps, CH₃ -),
 2,03 (2H, multiplete, J = 7 cps), 3-4 (3H, $\frac{\text{SO}_3}{\text{CHCO}}$ y
 C₂-H₂), 4,8 (2H, \gg -CH₂-S), 5,20 (1H, doblete, J = 5
 10 cps, C₆-H), 5,75 (1H, doblete, J = 5 cps, C₇-H).

Ejemplo 5.

0,217 g de 7-(α -sulfofenil-acetamido)-cefalosporanato disódico son disueltos con un compuesto de tiol en 15 ml de agua. La mezcla es ajustada a pH 6,4
 15 y calentada a 40°C durante 18 horas. Después de estar terminada la reacción, la mezcla de reacción es sometida a liofilización y luego purificada por cromatografía con utilización de celulosa en forma de polvo (eluyente: n-propanol: agua: ácido tricloroacético =
 20 75 : 25 : 1). Las fracciones que contienen las deseadas cefalosporinas son recogidas y concentradas bajo presión reducida. Luego se añade n-hexano al concentrado con el fin de precipitar cristales. Los cristales son recogidos y disueltos en agua. Después de que
 25 la solución ha sido ajustada a pH 6,4, es sometida de



nuevo a liofilización con el fin de obtener los productos pretendidos.

Se realizan aquí diversos experimentos por utilización de varios compuestos de tior, a saber 4-amino-2-tiopirimidina, 4,5-dihidro-2-tioimidazol y 6-tiopurina.

La concentración inhibitoria mínima de los productos obtenidos son las enumeradas en la siguiente tabla:

Sustituyente en la posición 3	Bacteria	MIC ($\mu\text{g/ml.}$)
<chem>Nc1ccn(CS)cn1</chem>	<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	5,07
	<u>Bacillus subtilis</u>	2,9
<chem>Nc1cnc(CS)n1</chem>	<u>Bacillus subtilis</u>	3,9
<chem>Nc1ncnc(CS)n1</chem>	<u>Bacillus subtilis</u>	3,9

405281



Ejemplo 6.

517 mg de 7-(α -sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico, 525 mg de 2-acetamino-5-mercaptopo-1,3,4-tiadiazol y 1,75 g de KSCN son mezclados en 2 ml de agua. Después de que la mezcla es ajustada a pH 6,5, se calienta a 60°C durante 6 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con utilización de resina Amberlite XAD-2 con el fin de obtener 240 mg de 7-(α -sulfofenilacetamido)-3-(2'-acetamino-1', 3', 4'-tiadiazoliltio)-metilcef-3-em-4-carboxilato sódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}) : 1760 (β -lactama), 1670 (-CONH-), 1610 ($-\text{CO}_2^-$), 1040 ($-\text{SO}_3^-$).

RMN δ (D_2O) : 2(3H, S, $-\text{CH}_3$), 5,10(1H, S, β -CH<), 5,16(1H, d, J = 5 cps, C_6 -H), 5,64 (1H, d, J = 5 cps, C_7 -H), 7,52(ancho S, fenilo).

Ejemplo 7.

514 mg de α -(sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico, y 291 mg de KSCN son disueltos en 2,0 ml de agua. A esta mezcla se añaden además 792 mg de 2,5-dimercapto-3-fenil-1,3,4-tiadiazol. La mezcla es agitada a 60°C durante 8 horas. Se añaden a la mezcla de reacción 10 ml de agua. El precipitado resultante es filtrado para obtener 300 mg de cristales brutos. El soluto en el filtrado es en su mayor parte

405281

25 S



2,5-dimercapta-1,3,4-tiadiazol que ha sido utilizado como material de partida. Los cristales brutos son purificados por cromatografía en columna con utilización de resina tipo Amberlite XAD-2 para obtener 200 mg de N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cef-3-em-(2'-tio-3'-fenil-1',3',4'-tiadiazolin-5'-tio)-metil-4-carboxilato sódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{max}}$ (cm^{-1}): 1758(β -lactama), 1676(-CONH-), 1600(-COONa), 1493, 1042(-SO₃Na).

10 RMN δ (D₂O): 3,15(2H, $\overset{\text{S}}{\text{X}}\text{H}$), 4,0(2H, $\text{CH}_2\text{-S-}$), 5,15(2H, $\text{CH} < + \frac{\text{H}}{\text{N}}$ S), 5,7(1H, $\text{O}=\text{C}-\text{N}$), 7,27(5H, N-S), 7,5(5H, $\text{CH} <$).

Concentración inhibidora mínima (mcg/ml):

15	<u>Staphylococcus aureus</u>	0,5
	<u>Bacillus subtilis</u>	5
	<u>Sarcina lutea</u>	2

Ejemplo 8

514 mg de α -sulfofenilacetamido-cefalosporanato disódico, 300 mg de KSCN y 500 mg de 2-mercapto-3-metil-5-tio-1,3,4-tiadiazolina son disueltos en 2 ml de agua. La mezcla es ajustada a pH 5-6 y la reacción se lleva a cabo a 60°C durante 6 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con utilización de resina Amberlite XAD-2 para obtener 300 mg (50%) de N-(7- α -sulfofenilacetamido)

16.9.72

405281

25 S



cef-3-em-3-(2'-tio-3'-metil-1',3',4'-tiadiazolin-5'-tio)-metil-4-carboxilato disódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1760 (β -lactama),
1677 (-CONH-), 1604 (CO_2^-), 1350, 1116, 1037 ($-\text{SO}_3\text{Na}$)

5 RMN δ (D_2O): 3,4 (2H, $\text{S} \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \diagdown \\ \text{H} \end{array}$), 3,70 (3H, S,
>N-CH₃), 4,13 (2H, >CH₂-S), 5,00 (1H, d, J = 4,6
cps, $\frac{\text{H}}{\text{N}}$ S), 5,20 (1H, S \mathcal{G} -CH<), 5,75 (1H, d, J = 4,6
cps, $\frac{\text{H}}{\text{N}}$), 7,4 - 7,6 (5H, fenilo)

Ejemplo 9.

10 514 mg de α -(sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico y 300 mg de KSCN son disueltos en 1 ml de agua. Otra solución preparada disolviendo 500 mg de tetrazol en 1 ml de dimetilformamida es mezclada con esta solución. La mezcla es ajustada a alrededor de pH 7. Luego la reacción se lleva a cabo a 60°C
15 durante 6 horas con agitación. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con utilización de resina tipo Amberlite XAD-2 para obtener
20 150 mg (23 %) de N-(7- α -sulfofenilacetamido)cef-3-em-3-(1'-feniltetrazolil-5'-tio)-metil-4-carboxilato sódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1756 (β -lactama),
1680 (-CONH-), 1604 (COONa), 1496, 1357, 1040 ($-\text{SO}_3\text{Na}$).

RMN δ (D_2O): 3,2 (2H, $\text{S} \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \diagdown \\ \text{H} \end{array}$), 4,15 (2H,
>CH₂-), 5,1 (2H, \mathcal{G} -CH<, $\frac{\text{H}}{\text{N}}$ S), 5,65 (1H, $\frac{\text{H}}{\text{N}}$),



7,35 (5H, β -CH \angle), 7,52 (5H, γ -N- ϕ).

Concentración inhibitoria mínima (mcg/ml)

Staphylococcus aureus 2

Sarcina lutea 2

5 Ejemplo 10.

514 mg de α -(sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico y 291 mg de KSCN son disueltos en 1,0 ml de agua. Por otro lado, 606 mg de 2-metilmercapto-5-mercapto-1,3,4-tiadiazol son disueltos en 0,8 ml de dimetilformamida. Ambas soluciones son mezcladas, y la mezcla así preparada es dejada reposar a 60°C durante 6 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna utilizando resina Amberlite XAD-2, para obtener 260 mg (42%) de N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cef-3-em-3-(2'-metil-mercapto-1',3',4'-tiadiazol-5'-tio)-metil-4-carboxilato sódico.

15

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{max}}$ (cm $^{-1}$): 1755 (β -lactama),

1675 (-CONH-), 1600 (-COO $^{-}$), 1035 (-SO $_3$ Na)

20

RMN δ (D $_2$ O): 2,74 (3H, S, $\text{N} \begin{array}{l} \diagup \\ \text{SCH}_3 \end{array}$), 3,37 - 3,54 (2H, $\begin{array}{c} \text{S} \\ \times \\ \text{H} \end{array}$), 3,8 - 4,4 (2H, γ -CH $_2$ -S-), 5,1 (2H, β -CH \angle , $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{H} \\ | \\ \text{S} \end{array}$), 5-7 (1H, $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{N} \end{array}$), 7,5 (5H, β -)

Concentración inhibitoria mínima (mcg/ml):

Staphylococcus aureus 2

Bacillus subtilis 5

25 Proteus vulgaris Eb51 5

405281

25

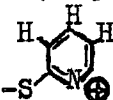
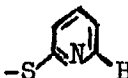


72

Ejemplo 11.

514 mg de N-(7- α -sulfofenilacetamido)cefalosporanato disódico son disueltos en 2,5 ml de dimetilformamida. A esta solución se añaden 630 mg de N-amino-2-mercapto-piridina y 291 mg de KSCN. Además se añaden a esto 2 ml de agua con el fin de homogeneizar la solución. La solución es dejada reposar a 60°C durante 8 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con utilización de resina Amberlite XAD-2. Las fracciones que contienen N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cef-3-em-3-(N-aminopiridinio-2'-tio)-metil-4-carboxilato sódico son liofilizadas.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1760 (β -lactama), 1673 (-CONH-), 1610 ($-\text{CO}_2^-$), 1575, 1038 ($-\text{SO}_3^-$).

15 RMN δ (D_2O): 3,37 (2H, $\text{C}_2\text{-H}$), 3,75 - 4,3 (2H, $\text{>CH}_2\text{-}$), 5,00 (1H, $\text{C}_6\text{-H}$), 5,15 (1H, s, <CH<), 5,63 (1H, $\text{C}_7\text{-H}$), 7,5 (8H, fenilo y , 8,4 (1H, ).

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$):

20 Staphylococcus aureus 5

Ejemplo 12.

514 mg de N-(7- α -sulfofenilacetamido)cefalosporanato disódico, 350 mg de 1-fenil-N-amino-5-mercaptotetrazol y 200 mg de KSCN son disueltos en 1 ml de agua. La solución es dejada reposar a 50°C durante

405281

25 SET 1972



10 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con utilización de resina tipo Amberlite XAD-2, seguido por liofilización, para obtener 320 mg de N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cef-3-em-3-
5 Δ 5'-(1'-fenil-N-aminotetrazolo)-tio7-metil-4-carboxilato sódico:

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1762(β -lactama),
1677(-CONH-), 1600(-CO₂⁻), 1498, 1395, 1222, 1039(-SO₃⁻).

10 RMN δ (D₂O): 3,3(2H, C₂-H), 4,2(2H, Δ -CH₂-),
4,9(1H, C₆-H), 5,09(1H, -CH<), 5,6(1H, C₇-H), 7,63(10H,
2 x fenilo)

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$):

Escherichia coli 2

Ejemplo 13.

15 514 mg de N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico, 609 mg de 4-amino-2-mercapto-1,3,4-tiazolin-5-tiona y 291 mg de KSCN son disueltos en 1 ml de agua. La mezcla es dejada reposar a 50°C durante 23 horas. La mezcla de reacción es purificada
20 por cromatografía en columna con utilización de resina Amberlite XAD-2. Las fracciones resultantes son liofilizadas para obtener N-(7- α -sulfofenil-acetamido)-cef-3-em-3- Δ 5'-(2'-tio-3'-amino-1',3',4'-tiadiazolin)-tio7-metil-4-carboxilato sódico.

25 IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1758(β -lactama),

16.9.72

405281

25 S



1675(-CONH-), 1600(-CO₂⁻), 1353, 1218, 1039(-SO₃⁻).

RMN δ (D₂O): 3,5(2H, C₂-H), 4,0 y 4,35(2H, >CH₂-), 5,15(2H, -CH< y C₆-H), 5,70(1H, C₇-H), 7,5(5H fenilo).

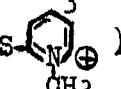
5 Concentración inhibitoria mínima (µg/ml):

Escherichia coli 5

Ejemplo 14.

514 mg de α-(sulfofenilacetamido)-cefalosporanato disódico, 759 mg de metoyoduro de 2-mercaptopiridina y 485 mg de KSCN son disueltos en 1,5 ml de agua. Esta solución es ajustada a pH 6-7 por adición de NaHCO₃ sólido. La mezcla es dejada reposar en un termostato mantenido a 60°C durante 12 horas. La mezcla de reacción es purificada directamente por cromatografía en columna con utilización de resina Amberlite XAD-2 (eluyente: agua) para obtener N-(7-α-sulfofenilacetamido)-cef-3-en-3-(N-metil-piridinio-2'-tio)-metil-4-carboxilato sódico.

20 IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 1760(β-lactama), 1674(-CONH, C=N⁺), 1610(-CO₂⁻, C=C), 1037(-SO₃Na).

RMN δ (D₂O): 2,83(3H, S, N⁺-CH₃), 5,05(1H, S, S-CH<), 7,5(fenilo), 7,5 - 8,5(-S-)

Concentración inhibitoria mínima (mcg/ml)

25 Staphylococcus aureus 2



Bacillus subtilis 5

Pseudomonas aeruginosa 2

Ejemplo 15.

5 514 mg de α -sulfofenil-acetamido-cefalos-
 poranato disódico, 757 mg de metoyoduro de 4-mercapto
 piridina y 485 mg de KSCN son disueltos en 1,5 ml de
 agua. La solución es ajustada a pH 6-7 por adición de
 NaHCO₃ sólido. Luego la mezcla es dejada reposar en
 un termostato mantenido a 60°C durante 12 horas. Des-
 10 pués de que la reacción está terminada, la mezcla de
 reacción es purificada por cromatografía en columna
 con utilización de resina Amberlite XAD-2 (eluyente:
 solución etanólica acuosa al 10%) para obtener 200 mg
 de cristales de N-(7- α -sulfofenilacetamido)-cef-3-em-
 15 3-(N-metil-4'-piridinio-2'-tio)-metil-4-carboxilato
 sódico.

IR ν KBr (cm⁻¹): 1765(β -lactama),
 máx
 1673(-CONH-, C=N⁺), 1629(-COO⁻, C=), 1500(C=C), 1102,
 1034(-SO₃Na).

20 RMN δ (D₂O): 2,65(3H, s, N⁺-CH₃), 3,25(2H,
 S $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{matrix}$), 5,08(1H, s, γ -CH<), 5,2(3H, $\frac{\text{H}}{\text{N}} + \text{CH}_2\text{-S-}$),
 5,68(1H, $\begin{matrix} \text{H} \\ \text{C} \\ \text{O} \end{matrix}$), 7,45(5H, fenilo), 7,7(2H, ancho,

-S $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{matrix}$ N⁺-CH₃), 8,4(2H, ancho, $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{matrix}$ N⁺-CH₃).



<u>Staphylococcus aureus</u>	2
<u>Bacillus subtilis</u>	5
<u>Sarcina lutea</u>	5
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	5

5 Ejemplo 17.

595 mg de 7- α -(sulfofenil-acetamido)-cefalosporanato disódico, 1,75 g de KSCN y 759 mg de metoyoduro de 2-mercaptopiridina son mezclados conjuntamente en 3 ml de agua. La mezcla es ajustada a pH 6-7. Al tiempo que se agita, la mezcla es calentada a 50°C durante 9 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna utilizando resina Amberlite XAD-2 para obtener 7-(α -sulfoacetamido)-3-(1'-metilpiridinio-2'-tio)-metil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

15

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1780 (β -lactama), 1670 (-CONH-), 1610 (-CO₂⁻), 1560, 1390, 1330, 1190, 1040 (-SO₃⁻).

20 RMN δ (D₂O): 2,85(3H, s, CH₃-N⁺), 3,47(2H, ancho s, $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{S} \\ \diagup \\ \text{H} \end{matrix}$), 3,84(2H, s, $\begin{matrix} \text{CH}_2 \\ | \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{matrix}$), 5,20(1H, d, J = 6 cps, C₆-H), 5,3 - 5,6(2H, $\begin{matrix} \diagdown \\ \text{CH}_2 \\ \diagup \end{matrix}$ -S), 5,85(1H, d, J = 6 cps, C₇-H), 7,5 - 8,9(4H, m, piridina).

Concentración inhibitoria mínima (mcg/ml):

25

Staphylococcus aureus 2

405281

25 S



Ejemplo 18.

659 mg de 7-(α -sulfoacetamido)-cefalosporinato disódico, 760 mg de metoyoduro de 4-mercaptopiridina y 1,75 g de KSCN son disueltos en 2 ml de agua.

5 La solución es ajustada a pH 6-7 y calentada a 60°C durante 7 horas. La mezcla de reacción es purificada por cromatografía en columna con resina Amberlite XAD-2 para obtener 7-(α -sulfoacetamido)-3-(1'-metilpiridinio-4'-tio)-metilcef-3-em-4-carboxilato sódico:

10 IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 1775 (β -lactama),
1680 (-CONH-), 1640 (-CO₂⁻), 1510, 1330, 1225, 1190,
1110, 1040 (-SO₃⁻), 810

RMN $\delta^{\text{D}_2\text{O}}$: 2,70(3H, s, >N⁺-CH₃),

15 3,4 - 3,8(2H, $\begin{matrix} \text{S} & \text{H} \\ \diagdown & / \\ \text{X} \\ / & \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$), 3,94(2H, s, $\begin{matrix} -\text{CH}_2 \\ | \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{matrix}$), 4,9(2H,

$\begin{matrix} \diagdown \\ \text{CH}_2-\text{S}- \\ \diagup \end{matrix}$), 5,2(1H, C₆-H), 5,7(1H, C₇-H), 7,2 - 7,4(2H,

20 $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ -\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^+ \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$), 8,4 - 8,5(2H, $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ -\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^+ \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$).

Ejemplo 19

(1) 1,84 g (0,0069 moles) de ácido 7-aminocefalosporánico son suspendidos en 25 ml de agua, con agitación y enfriando sobre hielo. A esta suspensión
25 se añaden gota a gota 6,8 ml de solución acuosa 1 N

405281

25



de NaOH hasta quedar completamente disueltos en ella. Luego, se añaden gota a gota a la mezcla 10 ml de solución en acetato de etilo de cloruro de α -sulfo-3-tiofenacetilo, siendo preparada dicha solución por el siguiente método: 1,5 g (0,0068 moles) de ácido α -sulfo-3-tiofenacético son suspendidos en 10 ml de éter, se añaden a esto gota a gota 5,5 ml de cloruro de tionilo a la temperatura ambiente, con tres gotas de dimetilformamida, y la solución resultante es agitada durante 5 horas. Después de que la mezcla es agitada durante 30 minutos, la capa acuosa es recuperada, ajustada a pH 6,5 con solución acuosa saturada de NaHCO_3 , y liofilizada para obtener 3,6 g de cristales brutos. Estos cristales brutos son purificados por cromatografía en columna con Amberlite XAD-2 para obtener 1,6 g (42%) de cristales de 7-(α -sulfo-3'-tiofenacetamido)-cefalosporanato disódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}) : 1750 (β -lactama, $-\text{OCOCH}_3$), 1677 ($-\text{CONH}-$), 1605 ($-\text{COONa}$), 1225 ($-\text{SO}_3\text{Na}$, $-\text{OAc}$), 1043 ($-\text{SO}_3\text{Na}$).

RMN δ (D_2O) : 2,13 (3H, s, $-\text{OCOCH}_3$),

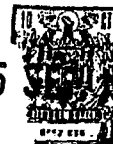
3,54 (2H, b, $\begin{array}{c} \text{S} \\ \diagup \text{H} \\ \diagdown \text{H} \end{array}$), 5,10 (1H, d, $J = 4,7$ cps, $\frac{\text{H}}{\text{N}}$),


5,24 (1H, s, $-\text{CH}<$), 5,70 (1H, d, $J = 4,7$ cps, $\frac{\text{H}}{\text{O}}$),

16.9.72

405281



25 SEP 1972

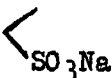
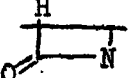


7,38 - 7,67 (3H, m, )

(2) 600 mg (4×10^{-3} moles) de 2,5-dimercap
 to-1,3,4-tiadiazol, 260 mg ($0,5 \times 10^{-3}$ moles) de 7-
 (α -sulfo-3-tienil-acetamido)-cefalosporanato disódi-
 5 ce y 194 mg (2×10^{-3} moles) de KSCN son disueltos en
 1,5 ml de agua. La solución es dejada reposar a 60°C
 durante 8 horas. La mezcla de reacción es purificada
 por cromatografía en columna con resina Amberlite
 XAD-2 para obtener N-(7- α -sulfo-3-tienilacetamido)
 10 cef-3-em-3-(5"-mercapto-1',3',4'-tiadiazolil-2"-tio)-
 metil-4-carboxilato sódico.

IR ν $\frac{\text{KBr}}{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1755 (β -lactama),
 1660 (-CONH-), 1605 (-COONa), 1040 (-SO₃Na).

RMN δ (D₂O): 3,5 (2H, ) , 5,2 (1H, ) ,

15 5,2 (1H, s, -CH ) , 5,65 (1H, ) , 7,4 -

7,6 (3H, tiofeno).

En los análisis anteriores de los Ejemplos
 20 existen los siguientes significados:

S = singulete

d = doblete

m = multiplete

b = ancho.

16.9.72

405281

25 S



La presente solicitud, que corresponde a la presentada en Japón, el 29 de Julio de 1971, bajo el número 56895/71, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

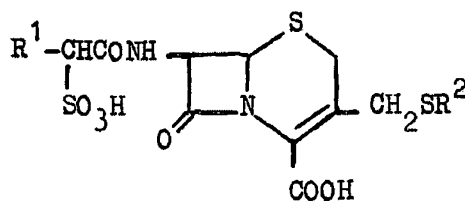
5

REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de la presente solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

10

1.- Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula



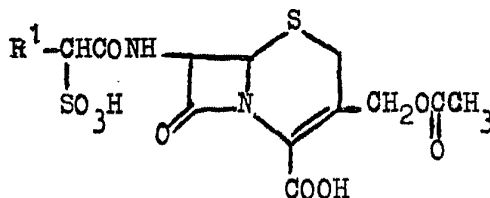
16.9.72

405281

25  25 SEP 1972

5 en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alifático, aromático o heterocíclico y R^2 representa un grupo heterocíclico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con un método de por sí conocido.

2.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende (1) hacer reaccionar un compuesto de cefalosporina de la fórmula



10 en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alifático, aromático o heterocíclico o un derivado funcional en la posición 3 del mismo o una sal del mismo, con un compuesto heterocíclico de la fórmula



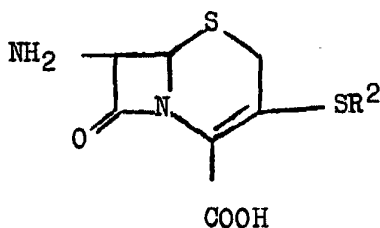
15 en donde R^2 representa un grupo heterocíclico o una sal del mismo, o (2) hacer reaccionar un derivado de ácido aminocefalosporánico de la fórmula

Bg

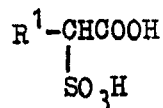
16.9.72

405281

25



en donde R^2 representa un grupo heterocíclico, una sal del mismo o un éster fácilmente eliminable del mismo, con un compuesto de la fórmula



5 en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alifático, aromático o heterocíclico, o un derivado funcional en el grupo carboxílico.

3.- Un procedimiento para preparar nuevos compuestos de cefalosporina.

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

Esta Memoria consta de treinta y cuatro hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 25 SET. 1972

P.A.

16.9.72
ASM