



410721

410721

Int. Cl.: C 07 D

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...^a

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT COMPANY
LIMITED

RESIDENCIA: The Weizmann Institute of Science,
REHOVOTH, Israel

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA N-ACILACION
DE ACIDOS 7-AMINOCEFEM-4-CARBOXILICOS
3-SUSTITUIDOS"

Prioridad: Patente británica n.º 2320/72 del 18-1-72

RJ.

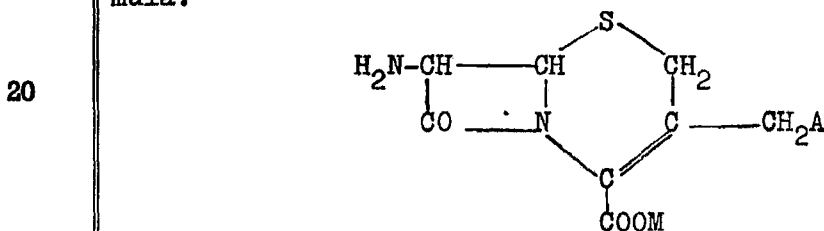
410721



1 Esta invención se refiere a un nuevo procedimiento
para la N-acilación de ácidos 7-aminocefem-4-carboxílicos 3-
sustituídos, siendo los productos valiosos agentes antibacte-
rianos. El procedimiento tiene la ventaja de ser especialmen-
5 te cómodo de efectuar en la práctica y de que se obtienen di-
rectamente productos de buena pureza.

 Por consiguiente, esta invención proporciona un pro-
cedimiento para la N-acilación de ácidos 7-aminocefem-4-carbo-
xílicos 3-sustituídos, cuyo procedimiento consiste en poner
10 en contacto una solución que contiene un ácido 7-aminocefem-
4-carboxílico 3-sustituído con un polímero acilante sólido,
sustancialmente insoluble en dicha solución y conteniendo gru-
pos periódicos -RCOB-, donde el grupo RCO es un radical acilo
orgánico y B es un radical activado en el polímero y después
15 recuperar el producto de acilación de la solución resultante.

 El término ácidos 7-aminocefem-4-carboxílicos 3-
sustituídos aquí utilizado se refiere a un compuesto de fór-
mula:



 donde el 3-sustituyente es CH₂A y A es un átomo de hidrógeno,
un grupo alcanciloxi inferior, benzoiloxi, azido, piridinio o
25 un grupo derivado de un nucleófilo fuerte (especialmente de
un tiol o xantato) o, cuando se toma junto con M, un enlace
carbono-oxígeno monovalente; M es hidrógeno, un catión no tó-
xico y farmacéuticamente aceptable, una carga aniónica cuando
A es piridinio o, junto con A, un enlace carbono-oxígeno mono-
30 valente, o derivados funcionales de estos. El anillo también



1 puede contener otros sustituyentes y debe sobreentenderse que
puede haber un enlace Δ^2 en lugar del enlace Δ^3 . Estos com-
puestos son muy conocidos en la técnica y pueden ser prepara-
dos por métodos conocidos.

5 Los polímeros acilantes sólidos adecuados han si-
do descritos en nuestra patente nº 364.962 y algunos otros
polímeros acilantes están descritos en los siguientes ejem-
plos. Típicamente responden a la fórmula:



15 donde RCO y B son los definidos anteriormente y A es una uni-
dad periódica del esqueleto de un polímero sintético o de un
polímero natural y n es un número entero. El polímero acilan-
te puede ser obtenido por tratamiento del correspondiente polí-
mero no acilado con un agente acilante para introducir el gru-
po RCO.

20 Después de la N-acilación, la cefalosporina resul-
tante puede ser fácilmente recuperada en forma pura por sepa-
ración del polímero insoluble y después sometiendo la solución
a evaporación, extracción o liofilización o algún otro proce-
so adecuado. El procedimiento es adecuado para operación con-
tinua o discontinua y en el primer caso la separación de la
25 solución que contiene la cefalosporina se produce rápidamente
si el polímero acilante se utiliza en forma de columna. Para
la reacción de N-acilación, pueden utilizarse sistemas disol-
ventes acuosos y no acuosos.

30 Los siguientes ejemplos ilustran la invención:

410721



1

EJEMPLO 1

4-Hidroxibencil-poliestireno

Se calientan a reflujo 100 g de clorometil-poliestireno reticulado con 2 % de divinilbenceno (200-400 mallas) en forma de perlas, con un contenido en cloro de 10,9 %, en 1 litro de una solución al 50 % de fenol en 1,2-dicloroetano. Cuando se ha alcanzado la temperatura de reflujo, se añaden 0,25 g de cloruro de cinc anhidro; la mezcla de reacción se vuelve pardo rojiza con desprendimiento de cloruro de hidrógeno. Se continúa el reflujo hasta que cesa el desprendimiento de cloruro de hidrógeno (24-36 horas) y el polímero se filtra, se lava con 3 litros de HCl 1 N en dioxano acuoso, con 3 litros de dioxano y con un litro de metanol. Después de secar a 100°C a vacío, se obtienen 124,3 g del producto deseado.

15

EJEMPLO 2

4-Hidroxi-3-nitrobencil-poliestireno

Se suspenden 50 g del polímero obtenido en el Ejemplo 1 en 500 ml de ácido nítrico al 64 % a la temperatura ambiente y se mantiene a esta temperatura durante 5 horas. El polímero pardo rojizo se separa por filtración, se lava con agua y después con disolventes orgánicos hasta que no aparecen partículas coloreadas en las aguas de lavado y finalmente el polímero se lava con metanol y se seca como en el Ejemplo 1. Se obtienen 58 g del producto deseado; contenido en N: 2,16 %.

25

EJEMPLO 3

β -[4-Hidroxi-3-nitrofenil]-etilaminometil-poliestireno

30

Se suspenden 5 g de clorometil-poliestireno en 50 ml de una solución de dimetilformamida que contiene 5 g (27 milimoles) de 4-hidroxi-3-nitrofeniletilamina y 2,1 ml (30 milimoles) de trietilamina y se mantiene a 100°C durante 24 horas.

410721



1 El polímero se separa por filtración y se lava sucesivamente
con 500 ml de HCl 1 N en dioxano acuoso al 10 % y con NaOH
1 N en dioxano acuoso al 10 %. Posteriormente se lava con di-
solventes orgánicos, con metanol y se seca como en el Ejem-
5 plo 1. Se obtienen 7,1 g del producto deseado. El contenido
en nitrógeno y en cloro indica que ha tenido lugar una susti-
tución prácticamente cuantitativa del cloro polimérico.

El polímero así obtenido es acilado suspendiéndolo
en anhídrido acético que contiene una pequeña cantidad de pi-
ridina. El polímero se lava a fondo y se seca; su análisis
10 da el contenido esperado en grupos N-acetilo y O-acetilo.

EJEMPLO 4

4-Hidroxi-3-nitrobencil-poliestireno

15 Se suspenden 20 g de poliestireno reticulado con
2 % de divinilbenceno, de 200-400 mallas, en 100 ml de cloro-
benceno conteniendo 10 g (52 milimoles) de 4-clorometil-2-ni-
trofenol a 70°C y se añaden 5 g (30 milimoles) de AlCl₃ anhi-
dro. La mezcla de reacción se vuelve rojo anaranjada y tiene
lugar desprendimiento de cloruro de hidrógeno. Al cabo de
20 24 horas se filtra el polímero, se lava con un litro de cloro-
formo y 2 litros de HCl 1 N en dioxano acuoso al 20 % y con
NaOH 1 N en dioxano acuoso hasta que en las aguas de lavado
no es detectable ningún color de nitrofenolato. El polímero
25 se lava con ácido clorhídrico 1 N en dioxano acuoso y el co-
lor cambia de nuevo a amarillo. Después de lavar con metanol
y secar, se obtienen 25,6 g del producto deseado. Contiene
1,96 % de nitrógeno.

410721



1

EJEMPLO 5

4-Mercaptobencil-poliestireno

5

Se calientan a reflujo 5 g de poliestireno clorometilado en 50 ml de 1,2-dicloroetano conteniendo 10 g de disulfuro de difenilo. Cuando se ha alcanzado la temperatura de reflujo, se añade 1 g de cloruro de cinc; la mezcla de reacción se vuelve pardo rojiza y tiene lugar desprendimiento de cloruro de hidrógeno. Se continúa refluendo hasta que cesa el desprendimiento de cloruro de hidrógeno, se filtra el polímero, se lava y seca dando 5,8 g del producto deseado; contenido en azufre: 5,8 %.

10

15

Se suspende 1 g del polímero así obtenido en 10 ml de tetrahidrofurano y se añaden 0,36 g de NaBH_4 . La mezcla de reacción se agita durante la noche a la temperatura ambiente, se filtra el polímero, se lava con ácido mineral en dioxano acuoso y con disolventes orgánicos hasta que no se detecta olor a tiofenol en el polímero. El contenido en grupos SH libres sobre la resina se encuentra que es 0,8 milimoles por gramo, determinado por adición de un exceso conocido de yodo y valoración del yodo restante con tiosulfato.

20

EJEMPLO 6

Preparación de polímero de N-hidroxi-succinimida

Parte A: Preparación de 1,1',2-tricarbetoxtetanopoliestireno

25

Se agitan 25 g de trozos de sodio limpio en 2,5 l de tetrahidrofurano seco conteniendo 5 ml de etanol absolutamente seco. Se añaden lentamente 270 ml de 1,1',2-tricarbetoxti-etano. La mezcla de reacción se mantiene en estado seco mediante tubos de cloruro cálcico. Después de la disolución del sodio, se añaden 250 g de clorometil-poliestireno con un contenido en cloro del 10,93 % y la mezcla de reacción se ca-

30

410721



1 lienta a reflujo durante 48 horas. Se filtra el polímero, se
lava con 10 litros de HCl 1 N en dioxano, con 10 litros de
dioxano-agua 1:1 y con 5 litros de dioxano. Una muestra de
1 g se lava con etanol y éter y se seca a vacío a 100°C. El
5 producto tiene un contenido en cloro del 0,6 % y un contenido
en grupos etoxi del 20,8 %.

Parte B: Preparación de polímero de ácido succínico

10 El polímero obtenido en la etapa anterior es saponificado calentándolo a reflujo durante una semana en 4 litros de KOH 10 N en dioxano acuoso. El polímero resultante se filtra, se lava con agua y se calienta a reflujo durante la noche en 4 litros de ácido clorhídrico concentrado, se filtra y se lava con agua, dioxano y metanol. Después de secar a 100°C bajo vacío, se obtiene un polímero con un contenido en EtO del
15 1,7 %.

Parte C: Preparación de polímero de N-hidroxisuccinimida

20 Se calientan a reflujo durante la noche 50 g del polímero obtenido en la fase anterior en 250 ml de anhídrido acético. El producto se lava con 2 litros de dioxano seco y después de esto con 1 litro de éter y se seca a 100°C a vacío.

25 El polímero se hincha en 200 ml de tetrahidrofurano y se añade una solución de hidrocloreuro de hidroxilamina neutro en agua (3 milimoles por gramo de polímero). La neutralización se efectúa disolviendo el hidrocloreuro de hidroxilamina en una cantidad mínima de agua fría y añadiendo la cantidad equivalente de solución concentrada de hidróxido sódico. Después de agitar la mezcla de reacción durante 48 horas a la temperatura ambiente, el producto se lava con HCl 1 N en dioxano,
30 con dioxano/metanol (3:1) y con éter y se seca durante la noche a vacío a 100°C; contenido en N: 2,11 %.

410721 17



1

EJEMPLO 7

Preparación de β -[4-hidroxil-3-nitrofenil]-etil-poliacrilamida

5

Se hacen reaccionar 2 g de azida de poliacrilamida con 4-aminoetil-2-nitrofenol en las mismas condiciones indicadas en el caso del aminoetilnitrofenol. La carga del polímero es casi cuantitativa, determinada por la hidrólisis ácida total de la mezcla seca y por determinación espectroscópica del aminoetilnitrofenol.

10

Los derivados de poliestireno antes descritos retienen su forma de perlas y presentan buenas propiedades de hinchamiento en una amplia variedad de disolventes, como dimetilformamida, tetrahidrofurano, cloroformo, etc. El hinchamiento de los derivados de poliacrilamida en agua es algo menor que el de la poliacrilamida; su hinchamiento en los disolventes orgánicos es mejor.

15

EJEMPLO 8

Unión de los grupos acilo a los polímeros

Parte A: Polímero de nitrobenzoilnitrofenol

20

Se suspenden 2 g del polímero obtenido en el Ejemplo 2 en 15 ml de cloroformo conteniendo 0,92 g de cloruro de p-nitrobenzoílo y 1 ml de piridina y se deja en reposo durante 18 horas. Se filtra el polímero y se lava con 50 ml de cloroformo y 200 ml de dioxano acuoso. Después de lavar con metanol y éter, se seca a vacío a 100°C, dando 2,45 g del producto deseado.

25

30

Una muestra de algunos miligramos del polímero se calienta a reflujo durante la noche en cloroformo conteniendo un exceso de bencilamina. La bencilamina no acilada es valorada con HClO_4 en dioxano. El polímero contiene 1,15 mm/g de grupos p-nitrobenzoílo.

410721



1 Parte B: Polímero de tienilacetilnitrofenol

5 Se suspenden 5 g del polímero obtenido en el Ejem-
plo 4 en 30 ml de dimetilformamida con 1,42 g (10 milimoles)
de ácido 2-tienilacético. La mezcla de reacción se enfría a
0°C y después se añaden 2 g (10 milimoles) de dicitclohexil-
carbo-di-imida en 15 ml de dimetilformamida. La mezcla de reac-
ción se agita durante 1 hora a 0°C y después a la temperatu-
ra ambiente durante 4 horas más. Se filtra el polímero, se la-
va tres veces con 50 ml cada vez de dimetilformamida y des-
pués seis veces con 60 ml cada vez de una mezcla 1:1 (en volu-
men) de cloroformo y metanol y finalmente con 100 ml de éter
seco y después se seca a 60°C bajo vacío. Desaparece el color
amarillo debido al grupo nitrofenilo. Se obtiene una masa de
5,8 g, conteniendo 4,05 % de azufre.

15 Parte C: Unión de la benciloxycarbonil-fenilalanina al polí-
mero del Ejemplo 6

 Se suspenden 5 g del polímero obtenido en el Ejem-
plo 6 en 40 ml de cloruro de metileno conteniendo 3 g (10 mi-
limoles) de benciloxycarbonil-fenilalanina.

20 La mezcla de reacción se enfría a 0°C y después se
añaden 2 g (10 milimoles) de dicitclohexil-carbo-di-imida en
10 ml de cloruro de metileno. La mezcla de reacción se agita
a 0°C durante una hora y a la temperatura ambiente durante
3 horas. Se filtra el polímero y se lava tres veces con 150 ml
25 cada vez de cloruro de metileno, seis veces con 50 ml cada
vez de cloroformo/metanol (1:1 en volumen) y con 150 ml de
éter seco y se seca a vacío a 60°C. Se obtienen 6,6 g de un
producto que contiene 0,95 milimoles de benciloxycarbonil-fe-
nilalanina por gramo de producto.

30 Una muestra de algunos miligramos del éster activo po

410721



1 limérico se hidroliza por tratamiento con ácido clorhídrico
6 N en ácido acético glacial durante 24 horas a 110°C. El
contenido en fenilalanina se determina por análisis de amino-
ácidos; el producto contiene 1,0 milimoles/g.

5 Parte D: Unión de 2,4-dinitrofenilalanina al polímero del
Ejemplo 6

Se suspenden 10 g del polímero obtenido en el Ejem-
plo 6 en 40 ml de dimetilformamida conteniendo 5,1 g (20 mi-
limoles) de 2,4-dinitrofenilalanina. La mezcla de reacción
10 se enfría a 0°C y después se añaden 4 g de dicitclohexil-car-
bo-di-imida en 10 ml de dimetilformamida. La mezcla de reac-
ción se agita a 0°C durante 2 horas. La desaparición de la
2,4-dinitrofenilalanina se determina espectroscópicamente en
partes alícuotas. Al cabo de 45 minutos la reacción es com-
15 pleta y todos los grupos funcionales están cargados. Se fil-
tra el polímero, se lava y seca como en el Ejemplo anterior.
Se obtienen 12,5 g.

Parte E: Unión de 2,4-dinitrofenilalanina al polímero del
Ejemplo 7

20 Se hinchan 2 g del polímero obtenido en el Ejemplo 7
en 50 ml de formamida y 2 g de dicitclohexil-carbo-di-imida y
se añade 2,4-dinitrofenilalanina como se ha descrito en la
Parte D. anterior. La mezcla de reacción se agita durante la
noche, se filtra el polímero, se lava con 300 ml de formamida
25 en pequeñas porciones y con 300 ml de cloroformo/metanol (1:1)
y se seca a vacío. La cantidad de grupos acilo (dinitrofenil-
alanina) se determina espectroscópicamente después de hidróli-
sis alcalina total y se encuentra que es el 95 % del producto
esperado.

30

Los experimentos anteriores se repiten con varios po-

410721



1 límeros usando el método de la dicitclohexil-carbo-di-imida,
 el método del haluro de acilo o el método del anhídrido mix-
 to. No se observa ninguna dependencia significativa de los
 disolventes, siempre que los polímeros se hinchen en los
 5 mismos. Los resultados se encuentran en la Tabla I.

TABLA I

Polímero usado según el Ej. n°	Grupo acilo	Disolvente	Grado de carga
2	CH ₃ CO	anhídrido acético	2,2
10 2	Z-gli	DMF	0,7
2	Z-Fe	CH ₃ CN	0,6
4,6	Z-Fe	THF-DMF-CH ₂ Cl ₂	cuantitativo
4,6	Acido tienil- acético	THF-DMF-CH ₂ Cl ₂	1-1,2
15 4	Acido fenil- acético	DMF	cuantitativo
4	Fenoxi	DMF	cuantitativo
4, 6	Acido D-α-ami- nofenilacé- tico	DMF-CHCl ₃ -THF-CH ₂ Cl ₂	idem
20 4, 6	Acido BOC-D- α-aminofenil- acético	THF-CH ₂ Cl ₂	cuantitativo
4	BOC L Ala	CHCl ₃	cuantitativo
4	Di Z Lis	CHCl ₃	0,5-0,8
6	Z gli ₃ OH	DMF	0,95
25 6	Z Ala ₃ OH	DMF	0,66

EJEMPLO 9

Preparación de cefalotina

30 Durante algunas horas se suspenden 4 g del polímero
 preparado según el Ejemplo 8, Parte B, cargado con 1 milimol/
 g de ácido tienilacético, en 20 ml de solución de cloruro
 de metileno seco conteniendo 2 milimoles de sal de trietil-



410721

1 amonio de 7-ACA, que se prepara a partir de 544 mg de 7-ACA
(2 milimoles) y 0,56 ml de trietilamina (4 milimoles) a la
temperatura ambiente. Después de que solamente quedan en so-
lución trazas de 7-ACA (demostrado por cromatografía en ca-
5 pa fina sobre celulosa en propanol acuoso al 70 %), el polí-
mero se filtra y se lava tres veces con 50 ml de cloruro de
metileno cada vez. Se evaporan los filtrados combinados y el
residuo se disuelve en 20 ml de agua destilada.

La solución se acidula a pH 2 por adición de ácido
10 clorhídrico 0,2 N y se extrae dos veces con acetato de etilo.
La solución se seca sobre sulfato sódico y se evapora a la
temperatura ambiente. El sólido residual se seca durante la
noche sobre pentóxido de fósforo a vacío. Se obtienen 720 g
de un producto (87 % de rendimiento), que da una mancha por
15 cromatografía en capa fina (celulosa-propanol acuoso al 70 %),
que cromatográficamente, espectroscópicamente y biológicamen-
te es idéntico a un producto obtenido por métodos convencio-
nales.

Análisis:

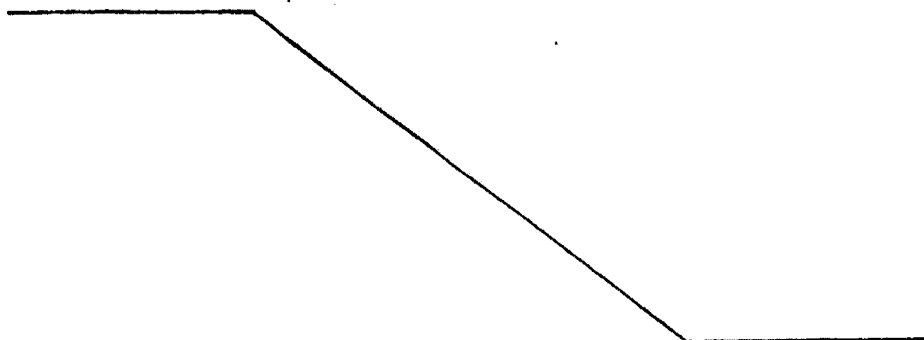
20 Calculado : N, 6,9 %; S, 15,7 %

Encontrado: N, 6,7 %; S, 15,7 %

En la siguiente Tabla II se compendia la preparación
de cefalosporinas y penicilinas por el método anterior.

25

30



410721



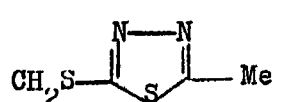
TABLA II

Acilación de ácido 7-aminocefalosporánico (7-APA) y de ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) con reactivos poliméricos

Polímero usado según el Ej.nº	Grupo acilo	Amina	Rendimiento de producto
4	Acido tienilacético	7-ACA	87 %
6	Acido tienilacético	7-ACA	71 %
6	Acido D-α-aminofenil-acético	6-APA	606
4	Acido D-α-aminofenil-acético	6-APA	65 %
4	Acido D-α-aminofenil-acético	7-ACA	50 %
4	Acido fenilacético	7-ACA	84 %
4	Acido fenoxiacético	7-ACA	75 %
4	Acido fenilacético	6-APA	99 %

EJEMPLO 10

El polímero descrito en el Ejemplo 4 se carga con ácido tienilacético como se ha descrito en el Ejemplo 8, Parte B, y se utiliza para acilar varios ácidos 7-aminocef-3-em-4-carboxílicos 3-sustituídos, como sigue:

3-sustituyente	Rendimiento de derivado N-acilado (%)
CH ₃	77
CH ₂ NC ₅ H ₅	61
CH ₂ N ₃	79
CH ₂ SMe	71
CH ₂ OMe	58
	63

Los productos fueron aislados de forma análoga al método descrito en el Ejemplo 9.



410721

1 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

5 1. Un procedimiento para la N-acilación de ácidos 7-
aminocefem-4-carboxílicos 3-sustituídos que consiste en poner
en contacto una solución que contiene un ácido 7-aminocefem-4-
carboxílico 3-sustituído con un polímero acilante sólido sus-
tancialmente insoluble en dicha solución y con grupos periódicos
-RCOB-, donde el grupo RCO es un radical acilo orgánico
10 y B es un radical activado en el polímero y después recuperar
el producto de acilación de la solución resultante.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, en el
que el ácido 7-aminocefem-4-carboxílico 3-sustituído que se
prepara es la cefalotina.

15 3. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
"UN PROCEDIMIENTO PARA LA N-ACILACION DE ACIDOS 7-AMINOCE
FEM-4-CARBOXILICOS 3-SUSTITUIDOS".

20 Todo conforme queda descrito en la presente Memoria
descriptiva que consta de catorce páginas mecanografiadas.

Madrid, 17 de Enero de 1.973

BERNARDO UNGRIA

25

30