



CO7D/A61K

F.C. 28-1-76

420336

420336 420336

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un^a

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: ELI LILLY AND COMPANY

RESIDENCIA: 307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS,

Indiana, Estados Unidos.

ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO MEJORADO PARA SEPARAR
DE LAS IMPUREZAS POLISACARIDAS Y PROTEI-
NICAS UNA CEFALOSPORINA C.

Prioridad: Patente estadounidense n.º 306.130 del 13-11-72
398.725 del 19-9-73

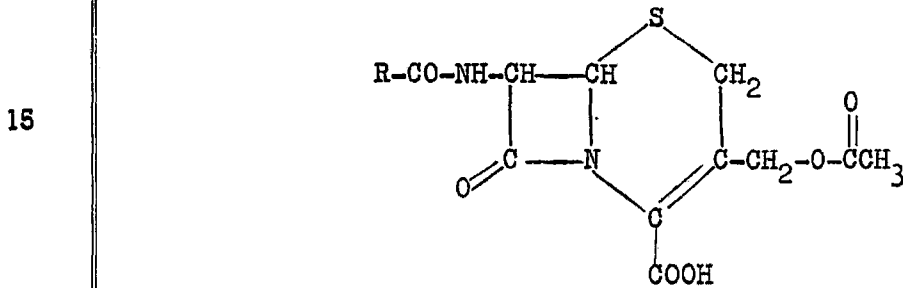
P.P.

420336

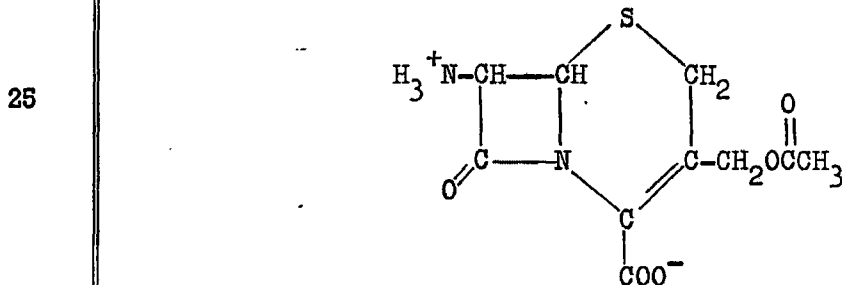


1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
separación de la cefalosporina C de las impurezas polisacá-
ridas y proteínicas procedentes de los líquidos de fermenta-
ción e incluye la formación de nuevos derivados de esta cefa-
5 losporina C. Estos nuevos derivados, la N-(4-clorobenzoil)-
y N-(2,4-diclorobenzoil)-cefalosporina C, pueden ser utiliza-
dos como materiales de partida en procesos de escisión para
formar 7-amino-cefalosporinas y estas últimas pueden utilizar
se para formar antibióticos cefalosporínicos tales como cefa-
10 lotina, cefaloridina y cefalexina.

La cefalosporina C, obtenida por fermentación, presen-
ta la siguiente estructura:



20 donde R es HOOC-CH(NH₂)-(CH₂)₃-. También es conocida como áci-
do 7-(5'-aminoadipamido)cefalosporánico. Su actividad antibió-
tica es débil; sin embargo, es importante como fuente del nú-
cleo de cefalosporina C, a saber, el ácido 7-aminocefalospo-
ránico (7-ACA), que tiene la siguiente estructura:



30 Este último está indicado aquí en forma de su zwitter-
rion, aunque pueden formarse y utilizarse sales aniónicas y

420336



1 catiónicas. Los antibióticos como la cefalotina y la cefalori
dina se preparan a partir del 7-ACA por métodos conocidos.
Pueden prepararse diversos derivados del 7-ACA haciendo reac
cionan el grupo 7-amino de este último con un agente acilan
5 te apropiado, por ejemplo un ácido, un haluro de acilo o cual
quier otra forma activa y/o sustituyendo el grupo acetoxi en
el carbono metílico de la posición 3 por uno cualquiera de
los grupos nucleofílicos apropiados ahora bien documentados
en la bibliografía. Así, puede observarse que la cefalospori
10 na C es un valioso antibiótico obtenido por fermentación y
presenta un interés especial como material de partida en la
producción de otros antibióticos más potentes.

15 Como ya se ha mencionado, esta invención implica en
parte un método de purificación de la cefalosporina C cruda
presente u obtenida de caldos de fermentación acuosos, caldos
de fermentación parcialmente purificados o "eluatos de re
sinas". Esto se consigue en parte por conversión de la cefa
losporina C en su correspondiente derivado N-(4-clorobenzoí
lico) o N-(2,4-diclorobenzoílico) y, por lo tanto, se reali
20 za antes de separar el grupo 7-aminoadipoilo de la cefalos
porina C.

25 El término "cefalosporina C" se utiliza aquí para re
ferirse a la cefalosporina C y a los compuestos similares,
tales como la desacetil-cefalosporina C, desacetoxi-cefalos
porina C y 3-metiltiometil-cefalosporina C, cada uno de los
cuales puede ser producido por procedimientos de fermentación
conocidos.

30 La cefalosporina C cruda que se trata de acuerdo con
esta invención puede encontrarse en varias formas y/o fases
de purificación. Puede encontrarse en forma de sólido crudo

420336



1 recuperado que contiene impurezas polisacáridas y proteíni-
cas. La cefalosporina C también puede encontrarse en su cal-
do de fermentación acuoso. Este caldo puede haber sido o no
5 sometido a ajuste de pH, tratado o no con uno o más auxilia-
res de filtración y filtrado. No obstante, este caldo de fer-
mentación filtrado se considera aquí como un caldo no trata-
do. El medio acuoso que contiene la cefalosporina C puede
ser un caldo de fermentación concentrado y tratado con me-
tanol, que en lo que sigue se denominará caldo parcialmente
10 tratado. La cefalosporina C que se ha tratado también puede
encontrarse en un eluato de resina que resulta del tratamien-
to de un caldo de fermentación utilizando una o más columnas
de resina para purificar parcialmente la cefalosporina C.

15 En la patente estadounidense nº 3.160.631 se describe
la acilación de la sal sódica de cefalosporina C, seguida
de esterificación del producto resultante. La sal se disuel-
ve en agua y se trata con bicarbonato sódico y acetona a 0°C.
La mezcla resultante se trata con cloruro de benzoílo en ace-
20 tona. Después la mezcla de reacción se extrae con cloroformo,
se acidula y la cefalosporina C N-acilada se extrae con me-
til-isobutil-cetona. La N-acilcefalosporina C producida se
recupera por evaporación del disolvente y después se convier-
te en el correspondiente diéster metílico.

25 En las patentes estadounidense 3.234.222 y 3.234.223
se describe el uso general de un grupo protector de la fun-
ción amino libre de un iminoéter de la cefalosporina C du-
rante la escisión de esta última. Sin embargo, estas paten-
tes, aunque describen como posible grupo protector del amino
30 en el iminoéter de la cefalosporina C, el grupo benzoílo sus-
tituido con un átomo de halógeno, no describen el grupo 4-clo



420336

1 robenzoílo o 2,4-diclorobenzoílo y no descubren ninguna apli-
cación de los derivados N-acilados para la purificación de
la cefalosporina C cruda.

5 En la patente estadounidense 3.467.654 se describe el
uso de acetona en el filtrado del caldo inicial de cefalos-
porina C para precipitar las impurezas que contiene, filtra-
ción de las impurezas, adsorción de la cefalosporina C del
filtrado purificado empleando una resina cambiadora de anión
y elución de la cefalosporina C de la resina empleando una
10 solución reguladora ácida.

En las patentes estadounidenses 3.641.018 y 3.739.002
se describen derivados N-acilados de cefalosporina C en los
que el grupo acilo es un grupo α -haloalcanoílo C_2-C_4 o un
grupo α, α -dihaloalcanoílo C_2-C_4 . Estos derivados, aunque se
15 ha encontrado que son solubles en los disolventes orgánicos
cuando se forman directamente a partir de un caldo de fermen-
tación de cefalosporina C, son difícilmente solubles en disol-
ventes adecuados, o insolubles en absoluto, cuando se inten-
ta redisolverlos en un disolvente orgánico.

20 Uno de los problemas inherentes al uso de la sal sódica
de cefalosporina C como material de partida en la preparación
del ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA) y finalmente de los
antibióticos cefalotina y/o cefaloglicina, es atribuible al
hecho de que, en la recuperación de la sal sódica de la ce-
25 falosporina producida por fermentación, se encuentran presen-
tes como impurezas polisacáridos y proteínas de alto peso mo-
lecular. Estos subproductos polisacáridos y proteínicos son
producidos probablemente durante la fermentación y presen-
tan características de solubilidad similares a las de la sal
30 sódica de la cefalosporina C. Estas características de solu-

420336



1 bilidad hacen muy difícil la separación de las impurezas de
la cefalosporina C. Se ha conseguido separar estas impurezas
mediante un procedimiento de filtración a través de membrana;
5 sin embargo, este procedimiento no es actualmente aplicable
a la filtración de grandes volúmenes de líquidos de fermenta-
ción obtenidos en una operación de manufactura. Además, la
purificación de la sal sódica de cefalosporina C por recrista-
lización da resultados sólo parcialmente satisfactorios debi-
do a que las condiciones empleadas producen también la preci-
10 pitación de las impurezas.

Las impurezas poliméricas de elevado peso molecular,
denominadas aquí en sentido amplio "polisacáridos", plantean
varios problemas en la síntesis de los antibióticos de cefa-
15 losporina, como la cefalotina. La descomposición de la sal
sódica de cefalosporina C en 7-ACA empleando cloroformo como
disolvente implica la separación de una fase acuosa (que con-
tiene el 7-ACA) de la fase orgánica (cloroformo). La presen-
cia de los "polisacáridos" hace difícil esta separación por-
que los "polisacáridos" tienen tendencia a estabilizar una
20 emulsión de cloroformo-agua. Para obviar esta dificultad
planteada por la emulsión, se ha puesto a punto más reciente-
mente un proceso de descomposición con tetrahidrofurano; es-
te nuevo proceso debe su éxito al hecho de que no es necesaria
ninguna separación entre una fase acuosa y una fase orgá-
25 nica. Sin embargo, la experiencia ha demostrado que el proce-
so al tetrahidrofurano simplemente desplaza el problema a la
siguiente etapa, ya que todavía se encuentran ciertas dificul-
tades en la acilación del 7-ACA que se ha obtenido por el pro-
cedimiento al tetrahidrofurano.

30 Por lo tanto, continúa existiendo la necesidad de un

420336



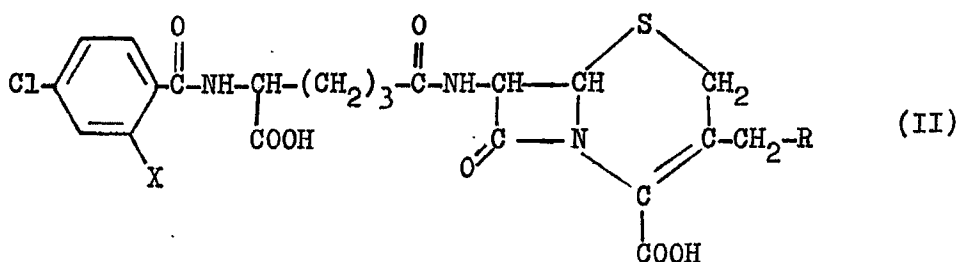
1 método de evitar la presencia de cantidades perjudiciales de
"polisacáridos" en la cefalosporina C. Este método aumentaría
la conversión de la cefalosporina como, por ejemplo, en la
secuencia del proceso de obtención de cefalotina a partir de
5 cefalosporina C. Una posible solución a este problema resi-
de en encontrar derivados de cefalosporina C cuyas caracte-
rísticas de solubilidad difieran marcadamente de las de las
impurezas "polisacáridas", por ejemplo derivados que sean
solubles en disolventes orgánicos adecuados pero insolubles
10 en agua.

La búsqueda de un derivado de cefalosporina C que pre-
sente estas propiedades no ha sido fácil y el hallazgo de es-
te derivado adecuado ha resultado totalmente inesperado. Se
han preparado diversos derivados de cefalosporina C N-pro-
15 tegidos y se ha estudiado su posible uso como intermediarios
en el proceso de obtención de ácido 7-aminocefalosporánico
(7-ACA) a partir de cefalosporina C. Sin embargo, la mayoría
de los productos examinados no formaban fácilmente el deri-
vado cristalino deseado a partir de un sistema disolvente
20 acuoso-orgánico. Por ejemplo, las formas de ácido libre de
la N-(p-nitrobenzoil)cefalosporina C, N-(p-toluensulfonil)ce-
falosporina C, N-(benzosulfonil)cefalosporina C y N-(p-clo-
robenzosulfonil)cefalosporina C no forman productos crista-
linos. Además, las formas de ácido libre de N-propionil-,
25 N-benzoil- y N-cloroacetil-cefalosporina C no cristalizan
fácilmente a partir de un sistema disolvente acuoso-orgáni-
co. Sin embargo, se han descubierto ciertos derivados de ce-
falosporina C que presentan las características de solubili-
dad deseadas, susceptibles de ser empleados con ventaja en
30 procedimientos de preparación de 7-ACA y/o de otros compues-

420336



1 (A) hacer reaccionar la cefalosporina C cruda de
fórmula (I) en un medio líquido acuoso que contiene un disol
vente orgánico inerte miscible y conteniendo las citadas
impurezas, con un haluro de 2,4-diclorobenzoílo o un haluro
5 de 4-clorobenzoílo para formar una N-acilcefalosporina C de
fórmula (II):



15 donde X es hidrógeno o cloro y R es el definido anteriormen
te, cuyo compuesto es soluble en el medio líquido acuoso-or
gánico y

20 (B) separar las impurezas polisacáridas y proteíni
cas de dicha N-acilcefalosporina C.

La separación de las impurezas polisacáridas y pro
teínicas definida en la Etapa (B) anterior puede realizarse
mediante una secuencia cualquiera de operaciones de tratamien
to.

Una de estas secuencias implica el tratamiento del
medio líquido acuoso que contiene las impurezas y la N-acil-
cefalosporina C por:

25 (1) separación de la materia insoluble de dicho me
dio líquido acuoso-orgánico;

(2) tratamiento del medio líquido de la Etapa (1)
para cristalizar la N-acilcefalosporina C;

(3) separación de la N-acilcefalosporina C;

30 (4) disolución de la N-acilcefalosporina C separa
da en un disolvente líquido orgánico miscible con agua conte



420336

1 niendo hasta alrededor del 15 % de agua;

(5) separación de la materia insoluble de la mezcla líquida obtenida en la Etapa (4);

5 (6) tratamiento de la fracción líquida de la Etapa (5) con un medio acuoso para precipitar la N-acilcefalosporina C y

(7) separación de la N-acilcefalosporina C precipitada de la mezcla líquida.

10 Otra de estas secuencias implica el tratamiento del medio líquido acuoso por:

(1) separación de la materia insoluble de dicho medio líquido acuoso-orgánico;

(2) tratamiento del medio líquido de la Etapa (1) para cristalizar la N-acilcefalosporina C;

15 (3) separación de la N-acilcefalosporina C;

(4) disolución de la N-acilcefalosporina C separada en un disolvente adecuado para producir la escisión del grupo 7-acilo y

20 (5) separación de la materia insoluble de la solución obtenida en la Etapa (4).

Otra de estas secuencias consiste en:

(1) separar la materia insoluble de dicho medio líquido acuoso-orgánico;

25 (2) reducir el pH del medio líquido acuoso-orgánico exento de materia insoluble hasta un valor comprendido entre 1,5 y 3,5 aproximadamente y

30 (3) añadir quinoleína al medio líquido acuoso-orgánico exento de materia insoluble, obtenido en la Etapa (2), para precipitar la N-acilcefalosporina purificada en forma de su sal de quinoleína.

420336

-7 NOV



1 Prosiguiendo con el procedimiento de esta inven-
ción, el compuesto de fórmula II o una sal de quinoleína del
mismo se somete a tratamiento para separar la cadena late-
5 ral 7-acídica y formar el compuesto del núcleo de 7-aminoce-
falosporina.

 Creemos que los compuestos de fórmula II o sus
correspondientes sales de quinoleína son nuevos y también
constituyen parte de esta invención.

10 De acuerdo con esta invención, se ha descubierto
que los derivados N-(4-clorobenzoílicos) y N-(2,4-dicloroben-
zoílicos) de la cefalosporina C y compuestos afines (fórmula
II anterior), en forma de sus ácidos libres o de sus sales
de quinoleína, presentan propiedades que difieren marcadamen-
te de las de la cefalosporina C y sus sales correspondientes.
15 Específicamente, se ha descubierto que la cefalosporina C
cruda conteniendo impurezas, procedente de los líquidos de
fermentación, puede ser purificada mediante una secuencia
particular. Esta secuencia implica la conversión de la cefa-
20 losporina C cruda en su correspondiente derivado II y la se-
paración de las impurezas insolubles del derivado así produci-
do. La cefalosporina C cruda se convierte en el derivado II
en presencia de un medio acuoso que contiene un disolvente
orgánico inerte miscible con agua. Por "inerte" se entiende
25 un disolvente orgánico que no reacciona con el haluro de 2,4-
diclorobenzoílo ni con el haluro de 4-clorobenzoílo emplea-
dos en la preparación del derivado de cefalosporina C. Los
disolventes orgánicos inertes miscibles con agua típicos son,
por ejemplo, cetonas como la acetona; éteres como el dioxano,
tetrahidrofurano, dimetoxietano y dietoxietano y nitrilos co-
30 mo el acetonitrilo.



420336

1 Preferiblemente, el haluro de 2,4-diclorobenzoílo
o el haluro de 4-clorobenzoílo es el bromuro o el cloruro y,
todavía mejor, el cloruro. El haluro se hace reaccionar, ge-
5 neralmente empleando un exceso molar alrededor del 3 al 15 %,
con la cefalosporina C en un medio acuoso que contiene un di-
solvente orgánico inerte miscible con agua.

 El disolvente orgánico miscible con agua general-
mente se encuentra en una proporción aproximadamente igual
en volumen a la del medio acuoso. Sin embargo, también pue-
10 de utilizarse una mezcla constituida por un exceso del medio
acuoso o del disolvente orgánico que puede llegar a ser has-
ta de 10:1 aproximadamente, en volumen.

 La acilación se realiza generalmente en un medio
alcalino acuoso suficiente para formar una sal de metal alcal-
15 lino de la cefalosporina C. Esto se consigue por adición de
un hidróxido metálico alcalino, especialmente hidróxido só-
dico, a la mezcla de reacción. La acilación se efectúa prefe-
riblemente a una temperatura comprendida entre unos 0°C y la
temperatura ambiente y el agente acilante se agrega a la mez-
20 cla alcalina previamente preparada, mantenida durante la adi-
ción a la temperatura de reacción deseada y a un pH alcalino
que en general estará comprendido entre 9,0 y 9,5 aproximada-
mente. El pH se mantiene durante la adición del agente acilan-
te mediante las adiciones necesarias de reactivo alcalino. Es-
25 te último puede ser preferiblemente una amina terciaria, como
trietilamina, o un hidróxido metálico alcalino, como hidróxi-
do sódico. Preferiblemente, el reactivo alcalino es hidróxido
sódico.

 Una vez formado el derivado de la cefalosporina C,
30 el pH de la mezcla de reacción se reduce preferiblemente des-

42033-6



1 de alrededor de 9,0-9,5, valor al que se ha mantenido duran-
te la acilación, hasta alrededor de 5,5 a 6,5. En estas con-
diciones, el derivado de cefalosporina C permanece en solu-
5 ción mientras que una gran parte de las impurezas, denomina-
das indistintamente "polisacáridos" o impurezas poliméricas,
permanece insoluble y se separa fácilmente.

Las impurezas se separan del derivado II de la ce-
falosporina C empleando diversas técnicas y secuencias, cada
una de las cuales participa en el procedimiento de purifica-
10 ción global de esta invención. La esencia de esta invención
reside en el descubrimiento de la diferencia de propiedades
de solubilidad de los derivados II de la cefalosporina C con
respecto a las de las impurezas polisacáridas y proteínicas.

Así, un tratamiento inicial del medio acuoso que
15 contiene el disolvente orgánico inerte miscible con agua y
el derivado II puede consistir en separar, por ejemplo por
filtración, decantación, centrifugación o en filtro prensa,
las impurezas del derivado de cefalosporina C.

Entonces se recupera el derivado II de la solución
20 parcialmente purificada, por ejemplo reduciendo el pH de la
mezcla hasta un valor más ácido, v.g. alrededor de 1,5-3,5.
La separación del derivado puede facilitarse agregando agua
a la mezcla de pH reducido para disminuir la solubilidad del
derivado en el medio. El derivado II puede ser aislado como
25 tal, es decir en forma de ácido libre o como una sal de adi-
ción del mismo, por ejemplo la sal de quinoleína del deriva-
do II.

La sal de quinoleína de adición de ácido se prepa-
ra con facilidad simplemente agregando quinoleína a la mezcla
30 que contiene el derivado N-acílico de la cefalosporina C en

420336



1 forma de ácido libre. Es suficiente una cantidad equimolecu-
lar de quinoleína, calculada sobre la cantidad de cefalosporina C. Sin embargo, es preferible emplear un exceso,
habitualmente alrededor de 1,5 a 12 moles de quinoleína por
5 mol de N-acilcefalosporina C.

Con objeto de conseguir separar más impurezas que puedan encontrarse presentes, el derivado así recuperado de la cefalosporina C puede ser tratado por uno cualquiera de dos métodos generales. Uno de ellos consiste en someter el
10 derivado recuperado a una recristalización bajo condiciones controladas, destinadas a eliminar las cantidades residuales de impurezas poliméricas. Esto se consigue disolviendo el derivado en un disolvente orgánico miscible con agua. En el caso de que el derivado de la cefalosporina C se encuentre en
15 forma de su ácido libre, puede ser disuelto como tal en el disolvente orgánico miscible con agua. Si el derivado se encuentra en forma de su sal de quinoleína, puede ser disuelto como tal o puede ser tratado de manera que se encuentre en el disolvente en forma de su correspondiente ácido libre.

20 Los disolventes orgánicos miscibles con agua típicos son, por ejemplo, las cetonas como acetona; los éteres, como dioxano, tetrahydrofurano, dimetoxietano o dietoxietano; los alcoholes como metanol, etanol, n-propanol o alcohol isopropílico; y los nitrilos, como acetonitrilo. El disolvente
25 orgánico miscible con agua puede contener agua y, si es así, preferiblemente contiene una cantidad minoritaria de agua, hasta alrededor del 15 %.

Bajo estas condiciones de recristalización, las
30 cantidades residuales de las impurezas son insolubles y son fácilmente separadas por cualquiera de las técnicas antes men-

420336.1



1 cionadas. El derivado de la cefalosporina C se precipita de
la solución así purificada por adición de agua y se separa
en forma de su ácido libre o de su sal de quinoleína. Cuan-
do se emplea esta secuencia particular, se prefiere que el
5 derivado de cefalosporina C se encuentre en forma de ácido
libre.

Otro método de tratamiento del derivado inicial-
mente recuperado de la cefalosporina C implica sencillamen-
te la disolución del derivado, ya sea en forma de ácido li-
bre o de sal de quinoleína, en un disolvente que sea adecua-
do para efectuar la escisión del sustituyente 5-aminoadipoí-
lo N-acilado del derivado de cefalosporina C. La cantidad de
impureza residual que es insoluble en los disolventes que
son típicamente adecuados para realizar la reacción de es-
cisión es suficiente para permitir el uso, después de haber
15 la separado, de la solución tal como está para la reacción
de escisión. Estas impurezas residuales pueden ser fácilmen-
te separadas por cualquiera de las técnicas antes menciona-
das. La solución del derivado de cefalosporina C que queda
20 después de separar las impurezas insolubles normalmente se-
rá empleada a continuación en el proceso de escisión sin
ninguna necesidad de aislar el derivado del disolvente.

Los disolventes típicos que se emplean en el pro-
ceso de escisión son, por ejemplo, hidrocarburos halogena-
dos como cloroformo o cloruro de metileno y éteres, como
25 tetrahidrofurano o dioxano.

Se ha descubierto que resulta altamente ventajo-
so el empleo de amidas como la N,N-dimetilformamida o la
N,N-dimetilacetamida en mezclas disolventes de escisión. Es-
30 tas mezclas disolventes pueden ser empleadas aquí, siendo es

420336



1 pecialmente preferida una mezcla de cloruro de metileno y N,N-
dimetilacetamida.

5 En el caso de que se emplee este último método y
de que el derivado de la cefalosporina C no se aisle del me-
dio disolvente antes de la escisión, es muy conveniente se-
car el derivado antes de introducirlo en el medio disolvente
de escisión. El tratamiento de secado es importante para la
etapa de escisión, ya que se obtienen mejores resultados cuan-
do se emplean condiciones prácticamente anhidras. Sin embar-
10 go, el tratamiento de secado sugerido no es importante para
el éxito del proceso de esta invención y por lo tanto no es
un requisito imprescindible del mismo.

15 La cefalosporina C empleada como material de par-
tida en el procedimiento de esta invención puede encontrarse
en forma de ácido libre, en cuyo caso M en la fórmula I es
hidrógeno. Alternativa y preferiblemente, la cefalosporina C
se encuentra en forma de sal de metal alcalino, tal como sal
de litio, de sodio o de potasio. Todavía mejor, las condicio-
nes del procedimiento de esta invención son tales que la ce-
falosporina C de partida se encuentra en forma de sal sódica.
20

25 Los derivados de cefalosporina C de fórmula II,
es decir, los compuestos donde R es acetoxi, pueden preparar-
se con rendimientos excelentes a partir de una sal metálica
alcalina, preferiblemente la sal sódica, de cefalosporina C.
Cuando la sal sódica de cefalosporina C contiene relativamen-
te pocas impurezas de "polisacáridos", ésta o sus derivados
con la estructura de fórmula II pueden ser escindidos a 7-ACA
en cloroformo sin que se produzcan emulsiones molestas. Sin
embargo, si la cantidad de "polisacáridos" que contiene la
30 sal sódica de cefalosporina C o su derivado impurificado de

420336



1 fórmula II es relativamente grande, pueden producirse impor-
tantes problemas de emulsión al tratar de escindir la cade-
na lateral en un medio clorofórmico. Sin embargo, la recrista-
lización del derivado de cefalosporina C II empleando condi-
5 ciones que aprovechan las diferencias de solubilidad entre
el derivado y las impurezas "polisacáridas" produce un mate-
rial que puede ser escindido a 7-ACA en cloroformo sin que
se presenten dificultades importantes de emulsión. Este ma-
terial se produce independientemente de la cantidad de "poli-
10 sacáridos" presentes en la cefalosporina C de partida de la
cual se obtiene el derivado de cefalosporina C.

Otros beneficios adicionales obtenidos mediante
el uso de los derivados de cefalosporina C de esta inven-
ción son:

- 15 1. Mayores rendimientos en la escisión a 7-aminocefalospori-
nas de las cefalosporinas C.
2. Excelente calidad de las 7-aminocefalosporinas producidas
de manera que en la subsiguiente reacción de acilación
20 los problemas son reducidos al mínimo o completamente evi-
tados.
3. Cantidades reducidas de impurezas en los productos inter-
medios preparados en la secuencia de producción del anti-
biótico final.
- 25 4. Mayores rendimientos de acilación de las 7-aminocefalospo-
rinas para formar el antibiótico final. Específicamente,
se ha descubierto que el rendimiento de acilación de 7-ACA
a cefalotina aumenta desde aproximadamente un 79 % cuan-
do se realiza en presencia de impurezas "polisacáridas"
30 hasta alrededor del 92 % cuando estas impurezas han sido
prácticamente eliminadas del 7-ACA de partida.

420336



1 La invención es ilustrada además mediante los siguientes ejemplos detallados que no deben considerarse como limitativos de su alcance.

5 EJEMPLO 1

5 Se agitan 60 g de la sal sódica de cefalosporina C (128 milimoles) con 300 ml de agua desionizada, hasta que la disolución es completa. Se añaden unos 300 ml de acetona. Se agita la mezcla y se enfría a 5°C, separándose así un precipitado de la sal sódica de cefalosporina C. El pH de la
10 mezcla se ajusta entre 9,0 y 9,5 mediante adición de solución acuosa de hidróxido sódico al 20 %. A la solución resultante, mantenida a unos 5°C, se añaden 19,7 ml de cloruro de 2,4-diclorobenzóilo (141 milimoles, un exceso del 10 %) agitando durante un periodo de 30 a 35 minutos. El pH de la mezcla se
15 mantiene a 9,0-9,5 durante la adición del cloruro de 2,4-diclorobenzóilo mediante adición cuando sea necesario de solución acuosa de hidróxido sódico al 20 %. Una vez completada la adición del cloruro de 2,4-diclorobenzóilo, la mezcla se
20 agita a 5°C durante 10 minutos o hasta que el pH permanece constante en un valor de 9,0-9,5 durante 2 minutos. Después la mezcla se acidula con ácido clorhídrico concentrado hasta pH 6,5. La mezcla resultante se trata con 300 ml de agua seguido de 5 a 10 g de un auxiliar de filtración (Hyflo). La
25 mezcla se filtra a través del auxiliar de filtración (una capa de un espesor aproximado de 1/4 a 1/2 pulgadas, 6,3 a 12,7 mm, sobre un embudo Buchner del nº 3). El precipitado se lava con unos 50 ml de agua. Se combinan el filtrado y las aguas de lavado, se agita y se calienta a 20°C. Se añade ácido clorhídrico concentrado para ajustar el pH de la mezcla a
30 un valor de 3,0 aproximadamente. La solución se siembra con

¹⁹
420336



-1

1 cristales del producto, obtenidos de una pequeña muestra de
laboratorio y el pH se ajusta a 2,7 con ácido clorhídrico con-
centrado. La mezcla se agita durante 30 minutos entre 20 y
23°C, durante cuyo tiempo cristaliza la N-(2,4-dicloroben-
5 zoil)cefalosporina C (al principio forma un aceite y después
las gotitas de aceite solidifican). La mezcla se acidula con
ácido clorhídrico concentrado hasta pH 1,8, se agita durante
unos 2 o 3 minutos y se añaden 300 ml de agua. La mezcla orga-
nica acuosa se agita durante 2 o 3 minutos, se enfría a 5°C
10 y se agita a 0-5°C durante una hora. Se filtra el producto,
se lava con unos 500 ml de agua y se seca a vacío a 45°C pa-
ra obtener 68,0 g (89,1 %) de producto.

Una mezcla de 20,0 g de la N-(2,4-diclorobenzoil)
15 cefalosporina C producida en 180 ml de acetona, calidad reac-
tivo, se agita hasta que se obtiene una mezcla uniforme y
después se añaden 9,0 ml de agua desionizada. La mezcla se
agita hasta que se disuelve el producto (alrededor de 10 a
15 minutos). A la solución resultante se añaden 2 g de un
20 auxiliar de filtración (Hyflo) y 2 g de un carbón decoloran-
te (Darco). La mezcla se agita durante 5 minutos y después
se filtra a través de una capa de auxiliar de filtración (al-
rededor de 1 g en un embudo Buchner del nº 0). La filtración
puede repetirse, omitiendo el carbón decolorante, hasta que
25 el filtrado es transparente. La pequeña cantidad de precipi-
tado se lava con hasta 20 ml de acetona. El filtrado y las
aguas de lavado se combinan y agitan con 250 ml de agua des-
ionizada. La mezcla se enfría a 25°C y se agrega agua desio-
nizada hasta que persisten las primeras trazas de turbidez
30 (después de haber añadido alrededor de 75 a 110 ml de agua).
Después la mezcla se siembra con 0,50 g de producto recrís-

420336⁷



1 talizado. La mezcla se agita durante 30 minutos a la tempe-
ratura ambiente (23-25°C). Se añaden alrededor de 350 ml de
agua mientras se agita durante un periodo de 40 minutos. Una
5 vez completada la adición de agua, se enfría la mezcla y se
mantiene a 5°C durante una hora. Se filtra la mezcla resul-
tante, se lava con agua y se seca a vacío a 45°C. El rendi-
miento de N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C es de 16-
16,5 g.

EJEMPLO 2

10 Se agitan 60 g (134 milimoles) de la sal sódica de
cefalosporina C en 300 ml de agua hasta que se disuelve. Se
añaden alrededor de 150 ml de acetona y la solución se agi-
ta y enfría a 10°C. El pH de la solución se ajusta a 9,0 con
solución acuosa de hidróxido sódico al 20 % y se añaden 17 ml
15 (134 milimoles) de cloruro de 4-clorobenzoil. La mezcla se
agita a 10-15°C durante 30 minutos, durante los cuales se
añade una solución acuosa de hidróxido sódico al 20 % en can-
tidad suficiente para mantener el pH de la mezcla a 9,0 apro-
ximadamente. Después se añaden alrededor de 1050 ml de agua,
20 en dos porciones de 800 ml y 250 ml y el pH se ajusta a 1,9
con ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se siembra con
cristales de N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C y se enfría
en un baño de hielo. La mezcla se refrigera a unos 5°C duran-
te la noche. El sólido cristalino de la mezcla se filtra, se
25 lava con agua y se seca a vacío a 40°C. El producto N-(4-clo-
robenzoil)cefalosporina C cristalino pesa 55,7 g.

La N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C parcialmente pu-
rificada se purifica de nuevo por recristalización por el pro-
cedimiento ilustrado en el Ejemplo 1.

30

420336



1

EJEMPLO 3

5

10

15

20

25

30

Se agitan 11,8 g (20 milimoles) de N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C en 150 ml de cloroformo inhibido con amileno. A la mezcla anterior se añaden 5,70 ml (48 milimoles) de quinoleína y 8,80 ml (95 milimoles) de N,N-dimetilacetamida. La temperatura de la mezcla asciende hasta unos 28°C. Se enfría la mezcla a 15°C y se añaden rápidamente 9,60 ml (135 milimoles) de cloruro de acetilo. La temperatura de la mezcla asciende a 23°C. La mezcla se agita a unos 24-25°C durante 40 minutos, durante los cuales se disuelve la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C. Después la mezcla se enfría a -35°C y se añaden 26 ml (162 milimoles) de N,N-dietilaniлина. De nuevo se enfría la mezcla a -25°C y se añaden 9,8 g (47 milimoles) de pentacloruro de fósforo. La mezcla se agita durante 30 minutos a -15°C, se enfría a -40°C y se añaden 34 ml de propilenglicol. La mezcla resultante se agita durante 1,5-2 horas a 0°C, se enfría a -15°C y se añaden 100 ml de hielo y agua. La fase acuosa se separa de la fase orgánica y esta última se extrae con 20 ml de agua. Se combinan las fases acuosas y se ajustan a pH 3,5 con hidróxido amónico concentrado. Precipita un sólido que se filtra, se lava sucesivamente con agua, metanol y acetona y se seca para obtener 4,8-5,0 g de ácido 7-aminocefalosporánico.

EJEMPLO 4

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, la sal sódica de desacetoxicefalosporina C (un compuesto de fórmula I donde R es hidrógeno) se disuelve en una mezcla de agua/acetona y se trata con cloruro de 2,4-diclorobenzoílo para formar N-(2,4-diclorobenzoil)desacetoxicefalosporina C en su forma ácida. Este derivado se purifica por el procedimiento descrito en

420336



1 el Ejemplo 1. El producto ácido purificado, al tratarlo con
pentacloruro de fósforo en presencia de piridina, forma el
iminocloruro; este último, al tratarlo con un alcohol o un
alcanodiol, forma el iminoéter; por tratamiento del iminoéter
5 con agua se separa la cadena lateral para formar ácido 7-ami-
nodesacetoxicefalosporánico (7-ADCA). Este último compuesto
con núcleo de cefalosporina está citado en la patente estado-
unidense nº 3.124.576 y puede utilizarse para preparar, por
procesos de acilación conocidos, antibióticos cefalosporíni-
10 cos como la cefalexina y la cefradina.

EJEMPLO 5

Se enfría a una temperatura de +6°C, 1 litro de elua-
to de resina de cefalosporina C (que contiene, por el método
UV, 48,2 mg/ml y por el método de la nicotinamida 38,46 mg/ml)
15 a un pH de 5,5. A la mezcla se añaden 200 ml de acetona y la
temperatura y el pH ascienden a +10°C y 5,9, respectivamente.
El pH de la mezcla se ajusta a 9,5 por adición de 22 ml de so-
lución acuosa de hidróxido sódico al 25 %. La sal sódica de
cefalosporina C resultante se acila durante un periodo de 20
20 minutos por adición de 31,4 ml (224 milimoles) de cloruro de
2,4-diclorobencóilo. El pH de la mezcla se mantiene a 9,5 apro-
ximadamente mediante la adición de 53 ml de solución acuosa
de hidróxido sódico al 25 %. Al final de la adición, la tem-
peratura de la mezcla de reacción ha subido a 22°C. El pH de
25 la mezcla se ajusta a 5,0 por adición de 20 ml de solución
acuosa de ácido sulfúrico al 25 %. A la mezcla se añaden 20 g
de auxiliar de filtración y se filtra la mezcla resultante. El
pH del filtrado se reduce a 3,4 por adición de 45 ml de solu-
ción acuosa de ácido sulfúrico al 25 %. A la mezcla acidulada
30 resultante se añaden lentamente, a lo largo de un periodo de

420336 -1



1 10 minutos, 28,4 ml (336 milimoles) de quinoleína y el pH de
la mezcla se mantiene a 3,3-3,5 durante la adición mediante
la adición simultánea de 27 ml de solución acuosa de ácido
5 sulfúrico al 25 %. La mezcla resultante se siembra con cris-
tales de sal de quinoleína de N-(2,4-diclorobenzoil)cefalos-
porina C, preparados previamente a pequeña escala. Después
la mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 30 minu-
tos y a 5°C durante 165 minutos. Luego se filtra la mezcla y
la torta del filtro se lava con 1 litro de agua fría. La tor-
10 ta se seca a 40°C en estufa de vacío para obtener 73 g (ren-
dimiento: 95,6 %) de la sal de quinoleína de N-(2,4-dicloro-
benzoil)cefalosporina C (pureza: 87,1 %).

EJEMPLO 6

15 A una mezcla de 100 ml de acetona, 15 ml de N,N-di-
metilacetamida y 2 ml de quinoleína se añaden 14,7 g de sal
de quinoleína de N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C, ob-
tenida en el Ejemplo 5. La mezcla se agita durante unos 30 mi-
nutos y se añaden 2 g de un auxiliar de filtración. Se filtra
la mezcla resultante y el peso de la torta del filtro seca es
20 de 2,72 g. El filtrado se concentra a pequeño volumen y se
transfiere a un equipo de escisión normal con adición de 150
ml de cloruro de metileno. Se añaden 10 ml de cloruro de ace-
tilo y la temperatura de la mezcla aumenta desde 22°C a 26°C.
Se agita la mezcla durante 20 minutos, se enfría a -15°C y
25 se añaden 26 ml de N,N-dietilanilina. A la mezcla mantenida
a unos -15°C se añaden 9,8 g de pentacloruro de fósforo y se
agita durante 75 minutos. Se añaden 25 ml de propilenglicol
y la temperatura de la mezcla aumenta desde -15°C a +2°C. Se
30 agita la mezcla a unos +5°C durante 2,5 horas. Después se añ-
den 100 ml de agua de hielo. Se agita la mezcla durante 10 mi-

4203361



1 nutos, se separan las fases acuosa y orgánica y el pH de la
fase acuosa se eleva desde 0,7 a 3,5 por adición de 15,5 ml
de hidróxido amónico concentrado. La mezcla acuosa se agita
5 durante unos 30 minutos y después se filtra. La torta del
filtro se lava con 25 ml de solución acuosa fría de metanol
al 50 % seguido de 50 ml de metanol frío. La torta del filtro
se seca a vacío a 40°C durante la noche para obtener 2,73 g
de ácido 7-aminocefalosporánico.

EJEMPLO 7

10 Se prepara una mezcla de 50 g de cefalosporina C cru-
da (que, por el método UV contiene 85,5 milimoles, 35,4 g,
de materia activa) en 500 ml de agua. La mezcla se agita a la
temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añaden 100 ml de
acetona y el pH de la mezcla resultante es 7,8. Se ajusta el
15 pH de la mezcla a 9,5 por adición de 6 ml de una solución
acuosa de hidróxido sódico al 25 %. La sal sódica de cefalos-
porina C resultante es acilada por adición de 24 ml (171 mi-
lilimoles) de cloruro de 2,4-diclorobenzoílo. La adición se rea-
liza durante un periodo de 20 minutos y la temperatura de la
20 mezcla asciende a 29°C. Durante la adición, el pH de la mez-
cla se mantiene alrededor de 9,5 por adición de 25 ml de so-
lución acuosa de hidróxido sódico al 25 %. La mezcla resultan-
te se agita durante unos 10 minutos permaneciendo el pH en
9,5 aproximadamente. Se ajusta el pH de la mezcla a 5,0 por
25 adición de 3 ml de solución acuosa de ácido sulfúrico al 25 %.
A la mezcla resultante se añaden 10 g de un auxiliar de fil-
tración y se filtra. El filtrado es turbio y el pH de la mez-
cla se reduce a 3,5 por adición de solución acuosa al 25 %
de ácido sulfúrico. A la mezcla resultante se añaden lenta-
30 mente 25 ml (212 milimoles) de quinoleína y el pH de la mis-

420336 - 1



1 ma se mantiene durante la adición a 3,3-3,5 mediante la adición
simultánea de solución acuosa de ácido sulfúrico al
25 %. El pH de la mezcla final es 3,3. La mezcla se siembra
por adición de cristales de sal de quinoleína de N-(2,4-diclorobenzoyl)cefalosporina C. La mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 20 minutos y en un baño de hielo durante 30 minutos. Se filtra la mezcla y la torta del filtro se lava con 1,5 litros de agua de hielo. La torta resultante se seca a vacío a 40°C durante 40 horas para obtener 58 g
5 (rendimiento: 81,0 %) de sal de quinoleína de N-(2,4-diclorobenzoyl)cefalosporina C (pureza: 94,1 %).
10

EJEMPLO 8

A una mezcla de 150 ml de cloruro de metileno, 15 ml de N,N-dimetilacetamida y 2 ml de quinoleína se añaden 14,7 g
15 de sal de quinoleína de N-(2,4-diclorobenzoyl)cefalosporina C, obtenida en el Ejemplo 7. La mezcla se agita durante unos 30 minutos. Después se añaden a esta mezcla 2 g de un auxiliar de filtración y se filtra. La torta del filtro seca que resulta pesa 3,51 g. Después el filtrado se transfiere a un equipo de escisión normal y se añaden 10 ml de cloruro de acetilo, aumentando la temperatura durante la adición desde 18° a 24°C.
20 Se agita la mezcla durante 20 minutos, se enfría a -10°C y se añaden 26 ml de N,N-dietilanilina. La temperatura de la mezcla durante la adición se mantiene a unos -6°C. Se añaden 9,8 g
25 de pentacloruro de fósforo y la mezcla se agita durante 50 minutos a unos -15°C. Se añaden a la mezcla 25 ml de propilenglicol y la temperatura de la misma aumenta desde -15°C a +11°C. Se enfría la mezcla a unos 5°C y se agita durante 2 horas. Después se añaden a la mezcla 100 ml de agua de hielo y
30 se agita durante 10 minutos, se separa en una fase acuosa y

420336



1 donde X es hidrógeno o cloro y R es el definido anteriormen-
te, compuesto que es soluble en el medio líquido acuoso-orgá-
nico y

5 (B) separar las impurezas polisacáridas y proteínicas
de dicha N-acilcefalosporina C.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, cuya
etapa (B) se caracteriza por:

(1) separar las materias insolubles de dicho medio
líquido acuoso-orgánico;

10 (2) tratar el medio líquido de la etapa (1) para cris-
talizar la N-acilcefalosporina C;

(3) separar la N-acilcefalosporina C;

15 (4) disolver la N-acilcefalosporina C separada en un
disolvente líquido orgánico miscible con agua, que contiene
hasta alrededor del 15 % de agua;

(5) separar la materia insoluble de la mezcla líqui-
da obtenida en la etapa (4);

20 (6) tratar la fracción líquida de la etapa (5) con un
medio acuoso para precipitar la N-acilcefalosporina C que con-
tiene y

(7) separar la N-acilcefalosporina C precipitada de
la mezcla líquida.

3. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 2,
caracterizado por:

25 (a) hacer reaccionar una cefalosporina C cruda o una
sal metálica alcalina de la misma con cloruro de 2,4-dicloro-
benzoílo en una mezcla de agua y acetona que contiene impure-
zas polisacáridas y proteínicas para formar N-(2,4-dicloro-
benzoil)cefalosporina C;

(b) filtrar las impurezas insolubles de la mezcla de

30

420336.1



1 agua y acetona;

(c) reducir el pH de la mezcla filtrada de agua y acetona a un valor de 1,5-3,5 aproximadamente para cristalizar la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C;

5 (d) separar la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C cristalina del medio acuoso-acetónico de la etapa (c);

(e) disolver la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C separada en acetona que contiene hasta alrededor del 15 % de agua;

10 (f) filtrar la materia insoluble de la mezcla líquida obtenida en la etapa (e);

(g) tratar el filtrado de la etapa (f) con agua para efectuar la recristalización de la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C y

15 (h) separar la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C cristalina de la mezcla líquida de la etapa (g).

4. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado por:

20 (a) hacer reaccionar la cefalosporina C cruda o una sal metálica alcalina de la misma con cloruro de 4-clorobenzóilo en una mezcla de agua y acetona que contiene impurezas polisacáridas y proteínicas para formar N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C;

25 (b) filtrar las impurezas insolubles para separarlas de la mezcla de agua y acetona;

(c) reducir el pH de la mezcla filtrada de agua y acetona hasta un valor de 1,5-3,5 aproximadamente para cristalizar la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C;

30 (d) separar la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C cristalina del medio acuoso-acetónico de la etapa (c);

420336



1 (e) disolver la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C se-
parada en acetona que contiene hasta alrededor del 15 % de
agua;

5 (f) filtrar la materia insoluble para separarla de
la mezcla líquida obtenida en la etapa (e);

(g) tratar el filtrado de la etapa (f) con agua para
efectuar la recristalización de la N-(4-clorobenzoil)cefalos-
porina C y

10 (h) separar la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C cris-
talina de la mezcla líquida de la etapa (g).

5. Un procedimiento según la Reivindicación 1, cuya
etapa (B) se caracteriza por:

15 (1) separar la materia insoluble de dicho medio líqui-
do acuoso-orgánico;

(2) tratar el medio líquido de la etapa (1) para cris-
talizar la N-acilcefalosporina C que contiene;

(3) separar la N-acilcefalosporina C;

20 (4) disolver la N-acilcefalosporina C separada en un
disolvente adecuado para efectuar la escisión del grupo 7-aci-
lo y

(5) separar la materia insoluble de la solución obte-
nida en la etapa (4).

6. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 5,
caracterizado por:

25 (a) hacer reaccionar cefalosporina C cruda o una sal
metálica alcalina de la misma con cloruro de 2,4-dicloroben-
zoílo en una mezcla de agua y acetona que contiene impurezas
polisacáridas y proteínicas para formar N-(2,4-diclorobenzoil)
cefalosporina C;

(B) filtrar las impurezas insolubles para separarlas

[Handwritten signature]
30

420336



1

de la mezcla de agua y acetona;

(c) reducir el pH de la mezcla filtrada de agua y acetona a un valor comprendido aproximadamente entre 1,5 y 3,5;

5

(d) separar la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C cristalina del medio acuoso-acetónico de la etapa (c);

(e) disolver la N-(2,4-diclorobenzoil)cefalosporina C separada en una mezcla de cloruro de metileno y N,N-dimetilacetamida adecuada para llevar a cabo la escisión del grupo 7-acilo y

10

(f) filtrar la materia insoluble para separarla de la mezcla líquida obtenida en la etapa (e).

7. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 5, caracterizado por:

15

(a) hacer reaccionar cefalosporina C cruda o una sal metálica alcalina de la misma con cloruro de 4-clorobenzóilo en una mezcla acuoso-acetónica que contiene impurezas polisacáridas y proteínicas para formar N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C;

20

(b) filtrar las impurezas insolubles para separarlas de la mezcla de agua y acetona;

(c) reducir el pH de la mezcla filtrada de agua y acetona a un valor comprendido aproximadamente entre 1,5 y 3,5;

25

(d) separar la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C cristalina del medio acuoso-acetónico de la etapa (c);

(e) disolver la N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C separada en una mezcla de cloruro de metileno y N,N-dimetilacetamida adecuada para efectuar la escisión del grupo 7-acilo y

(f) filtrar la materia insoluble para separarla de la mezcla líquida obtenida en la etapa (e).

8. Un procedimiento según la Reivindicación 1, cuya

420336.1



1 etapa (B) se caracteriza por:

(1) separar la materia insoluble de dicho medio líquido acuoso-orgánico;

5 (2) reducir el pH del medio líquido acuoso-orgánico exento de materia insoluble a un valor comprendido aproximadamente entre 1,5 y 3,5 y

(3) añadir quinoleína al medio líquido acuoso-orgánico exento de materia insoluble, procedente de la etapa (2), para precipitar la N-acilcefalosporina C purificada en forma de su sal de quinoleína.

9. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 u 8, caracterizado por:

15 (a) hacer reaccionar cefalosporina C cruda o una sal metálica alcalina de la misma con cloruro de 2,4-diclorobenzofilo en una mezcla de agua y acetona que contiene impurezas polisacáridas y proteínicas para formar N-(2,4-diclorobenzofil)cefalosporina C;

(b) filtrar las impurezas insolubles para separarlas de la mezcla de agua y acetona;

20 (c) reducir el pH del medio acuoso-acetónico filtrado a un valor comprendido aproximadamente entre 1,5 y 3,5 y

(d) añadir alrededor de 1,5 a 12 moles de quinoleína por mol de N-(2,4-diclorobenzofil)cefalosporina C al medio acuoso-acetónico filtrado procedente de la etapa (c) para precipitar N-(2,4-diclorobenzofil)cefalosporina C purificada en forma de su sal de quinoleína.

25 10. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 u 8, caracterizado por:

(a) hacer reaccionar cefalosporina C cruda o una sal metálica alcalina de la misma con cloruro de 4-clorobenzofilo

30

420336.1



1 en una mezcla de agua y acetona que contiene impurezas poli-
sacáridas y proteínicas para formar N-(4-clorobenzoil)cefalos-
porina C;

5 (b) filtrar las impurezas insolubles para separarlas
de la mezcla de agua y acetona;

(c) reducir el pH del medio acuoso-acetónico filtra-
do a un valor comprendido aproximadamente entre 1,5 y 3,5 y

10 (d) agregar alrededor de 1,5 a 12 moles de quinoleína
por mol de N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C al medio acuoso-
acetónico filtrado procedente de la etapa (c) para precipitar
N-(4-clorobenzoil)cefalosporina C purificada en forma de su
sal de quinoleína.

15 11.- Se reivindica por último como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita
por: "UN PROCEDIMIENTO MEJORADO PARA SEPARAR DE LAS IMPURE-
ZAS POLISACARIDAS Y PROTEINICAS UNA CEFALOSPORINA C".

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

Madrid, 7 de Noviembre de 1.973
BERNARDO UNGRIA.

P.P.

25

30