



26

COZD//ACIK

420869

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION.

SOLICITANTE: ELI LILLY AND COMPANY

RESIDENCIA: 307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS,
Indiana 46206, USA.

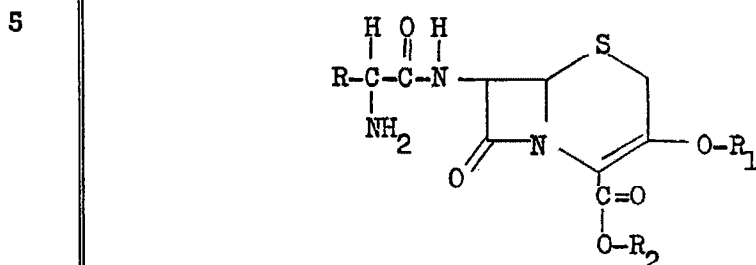
ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE

α -AMINOACILCEFALOSPORINAS.

Prioridad: Patente estadounidense n.º 310.190 del 28-11-72



1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
preparación de α -aminoacilcefalosporinas representadas por
la fórmula:



10 donde R es fenilo, fenilo sustituido, tienilo o furilo; R₁ es
hidrógeno, metilo, etilo o 3-metil-2-butenilo y R₂ es hidró-
geno o un grupo formador de éster. Cuando R₁ es distinto de
hidrógeno y R₂ es hidrógeno, los éteres 3-cefémicos proporcio-
nados por el procedimiento de esta invención son valiosos anti-
15 tibióticos eficaces por vía oral, especialmente el ácido
7-(D- α -fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico. Las
3-hidroxicefalosporinas (R₁ = H, R₂ = éster) son valiosos pro-
ductos intermedios.

20 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
preparación de la clase de antibióticos denominada cefalospo-
rinas. En especial, se refiere a un procedimiento para la pre-
paración de un nuevo grupo de antibióticos cefalosporínicos
eficaces por vía oral.

25 Entre los antibióticos cefalosporínicos actualmente
utilizados, la cefalexina [ácido 7-(D- α -fenilglicilamido)-3-
metil-3-cefem-4-carboxílico] es un antibiótico especialmente
valioso debido a su eficacia por vía oral.

30 En la búsqueda de antibióticos más eficaces y activos
por vía oral, se han sintetizado una amplia variedad de anti-

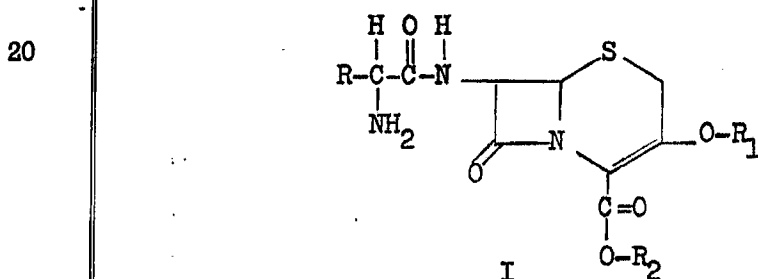


1 bióticos cefalosporínicos de estructuras variables. Principal-
mente, se han investigado ampliamente los ácidos desacetoxi-
cefalosporánicos (3-metil-3-cefemas) de los que es un miembro
la cefalexina.

5 Recientemente, se han descrito los antibióticos ácidos
7-acilamido-3-metoximetil-3-cefem-4-carboxílicos. Los compues-
tos descritos presentan la característica estructural de un
grupo alcoximetilo en la posición 3 del anillo de dihidrotia-
zina de la cefalosporina.

10 Los antibióticos cefalosporínicos preparados por el
procedimiento de esta invención representan una nueva clase
de éteres cefalosporínicos con el átomo de oxígeno de un sus-
tituyente éter unido directamente al carbono C₃ del anillo de
dihidrotiazina.

15 Los compuestos cefalosporínicos preparados por el pro-
cedimiento de esta invención están representados por la si-
guiente Fórmula I:



25 donde

R es fenilo, hidroxifenilo, halofenilo, metilfenilo,
metoxifenilo, 2-tienilo, 3-tienilo o 2-furilo;

R₁ es hidrógeno, metilo, etilo o 3-metil-2-butenilo;

30 R₂ es hidrógeno o un grupo formador de un éster protec-
tor del ácido carboxílico;



1 y cuando R_2 es hidrógeno, sus sales no tóxicas y farmacéutica-
mente aceptables; con la limitación de que cuando R_1 es hi-
drógeno, R_2 es un grupo formador de un éster protector del
ácido carboxílico.

5 En la descripción anterior de los compuestos prepara-
dos por el procedimiento de la invención, el término "hidroxi-
fenilo" se refiere a 4-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo y 2-hi-
droxifenilo. El término "halofenilo" se refiere a los grupos
10 fluorfenilo, clorofenilo y bromofenilo isoméricos tales como
4-fluorfenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 2-clorofenilo,
3-bromofenilo, y 4-bromofenilo. El término "metilfenilo" se
refiere a los grupos 2-, 3- y 4-metilfenilo isoméricos y el
término "metoxifenilo" se refiere a 4-metoxifenilo, 3-metoxi-
fenilo y 2-metoxifenilo.

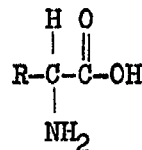
15 En el sentido utilizado aquí, el término "un grupo
formador de un éster protector del ácido carboxílico" hace
referencia a los grupos éster comúnmente empleados para la
protección del grupo carboxilo C_4 de las cefalosporinas y que
se caracterizan por su facilidad de separación en condiciones
20 de hidrólisis ácida o básica o por hidrogenólisis catalítica,
para regenerar la función ácido carboxílico libre. Son ilus-
trativos de estos grupos protectores del ácido carboxílico
el 2,2,2-tricloroetilo, difenilmetilo (benzohidrilo), p-nitro
bencilo, p-metoxibencilo, terc-butilo y trimetilsililo. Los
25 métodos utilizados para la preparación y posterior separa-
ción de los ésteres cefalosporínicos aquí descritos son todos
ellos métodos conocidos que han sido descritos anteriormente.

30 Los compuestos representados por la Fórmula I donde
 R_1 es metilo, etilo o 3-metil-2-butenilo y R_2 es hidrógeno



1 son valiosos antibióticos que son eficaces cuando se adminis-
tran por vía oral.

5 Los compuestos antibióticos se preparan mediante di-
versos métodos de síntesis. De acuerdo con un método de pre-
paración, un éster de ácido 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-car-
boxílico y preferiblemente una sal del mismo como el hidro-
cloruro, se alquila, preferiblemente con un compuesto diazo,
por ejemplo diazometano, para dar el correspondiente derivado
3-éter, por ejemplo el derivado 3-metoxi o 3-etoxi. El éster
10 7-amino-3-éter-cefémico es acilado después por métodos cono-
cidos con un derivado de una glicina sustituida, representada
por la fórmula:



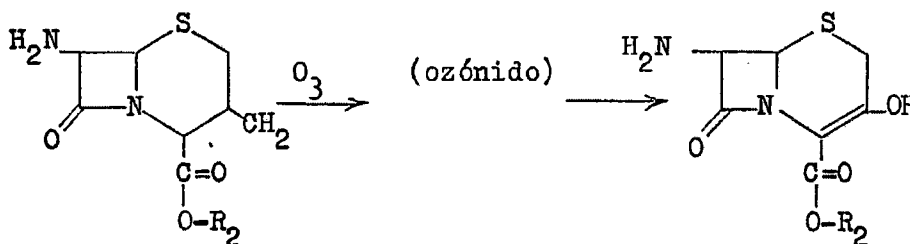
15 donde R es el definido para la Fórmula I. El grupo éster pro-
tector del ácido carboxílico, R₂, es separado para formar el
compuesto antibiótico.

20 Los materiales de partida empleados en la preparación
antes descrita, es decir los ésteres de ácido 7-amino-3-hidro-
xi-3-cefem-4-carboxílico, se preparan, como se describe en
nuestra solicitud de patente inglesa copendiente
(X-3837A), por reacción de un ácido 7-acilamidocefalosporá-
nico, como el ácido 7-fenoxiacetamidocefalosporánico, con un
25 nucleófilo que contenga azufre, siguiendo procedimientos cono-
cidos, para efectuar el desplazamiento nucleofílico del grupo
acetoxi del ácido cefalosporánico y formar el ácido 7-acil-
amido-3-tiometil sustituido-3-cefem-4-carboxílico. El ácido
3-tiocefémico sustituido es reducido después con cinc/ácido
30 fórmico en presencia de dimetilformamida o con níquel Raney



1 en presencia de hidrógeno para dar un ácido 7-acilamido-3-
exometilencefam-4-carboxílico. El ácido es esterificado, por
ejemplo con bromuro de p-nitrobencilo y el éster p-nitroben-
cílico se hace reaccionar con pentacloruro de fósforo en pre-
5 sencia de piridina para efectuar la escisión del grupo fenoxi-
acetilo y formar el éster de ácido 7-amino-3-exometilencefam-
4-carboxílico.

El éster de ácido 7-amino-3-exometilencefam-4-carbo-
xílico se hace reaccionar después con ozono en un disolvente
10 inerte, a una temperatura entre unos -80 y 0°C y preferible-
mente entre -80 y -50°C, para formar un ozónido intermedio.
El ozónido se descompone in situ y en frío para formar el
éster del ácido 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxílico, como
ilustra el siguiente esquema de reacción:



donde R₂ es un grupo éster protector del ácido carboxílico.

Son ilustrativos de los ésteres de ácido 7-amino-3-
hidroxi-3-cefem-4-carboxílico el 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-
4-carboxilato de p-nitrobencilo, 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-
25 carboxilato de p-metoxibencilo y el 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-
4-carboxilato de 2,2,2-tricloroetilo.

De acuerdo con el procedimiento de esta invención,
los ésteres de ácido 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxílico
son alquilados en el grupo 3-hidroxi para formar los ésteres
30 3-alcoxi-3-cefémicos. La alcoxilación se realiza por reac-



1 ción del 3-hidroxi-éster con un compuesto diazo, a saber
diazometano, diazoetano o 1-diazo-3-metil-2-butenos. También
los ésteres 3-hidroxi-3-cefémicos pueden ser alquilados con
yoduro de metilo en presencia de una base, con un éster al-
5 quílico de ácido sulfúrico en presencia de una base, por
ejemplo con sulfato de dimetilo o de dietilo o con fluoborato
de trimetiloxonio. Análogamente, pueden utilizarse los com-
puestos halogenados activados en presencia de una base para
alquilar los ésteres 3-hidroxi-3-cefémicos. Por ejemplo, los
10 α -haloéteres, como éter clorometil-metílico y éter bromometil-
etílico, los ésteres de α -haloácidos como bromoacetato de
etilo, cloroacetato de metilo y α -bromopropionato de etilo y
los haluros alílicos como bromuro de alilo, cloruro de alilo,
y 1-bromo-3-metil-2-butenos, pueden reaccionar con los ésteres
15 3-hidroxi-3-cefémicos para dar respectivamente los derivados
etéreos de los mismos 3-alcoximetoxi, 3-carboalcoximetoxi,
y 3-aliloxi. Los reactivos alquilantes preferidos son los
compuestos diazo, diazometano, diazoetano y 1-diazo-3-metil-
2-butenos. Estos compuestos diazo reaccionan con los ésteres
20 3-hidroxi-3-cefémicos para formar los 3-ésteres sin contamina-
ción con productos de reacciones secundarias. Otros agentes
alquilantes, por ejemplo los compuestos halogenados activos
antes descritos, reaccionan para dar mezclas del 3-éster desea-
do con 3-hidroxi-2-cefem-4-carboxilatos 4-alquilados y 3-alco-
25 xi-2-cefem-4-carboxilatos 4-alquilados. Estas mezclas pueden
ser separadas cromatográficamente para obtener el 3-éster-éster
deseado.

30 La reacción de eterificación se lleva a cabo agregan-
do una solución etérea de uno de los compuestos diazo prefe-
ridos a una solución del 3-hidroxi-éster en un disolvente



1 ya que con estos aceptores no se produce la racemización de
la configuración D activa del haluro de D-fenil, D-tienil-
o D-furil-glicilo. Alternativamente, el ácido libre de una
fenilglicina, tienilglicina o furilglicina protegida en el
5 grupo amino puede condensarse con el núcleo de aminoéter en
presencia de un agente condensante tal como una carbo-di-
imida, por ejemplo la dicitclohexil-carbo-di-imida. También
puede utilizarse como reactivo de acilación un anhídrido mix-
to formado con el ácido acilante y otro ácido como el fórmico
10 o el acético, en presencia de un agente de condensación
como la N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinoleína (EEDQ).

En otros métodos de acilación conocidos puede utili-
zarse un derivado activado de la fenilglicina, tienilglicina
o furilglicina como éster activo, por ejemplo un éster penta-
15 clorofenílico o una azida. En general, puede utilizarse cual-
quiera de los métodos de copulación de amidas conocidos en
la preparación de los compuestos de esta invención.

Son ilustrativos de las fenilglicinas y heterociclo-
glicinas que pueden utilizarse para acilar el núcleo de 7-
20 aminoéter las siguientes: hidrocioruro de cloruro de D-fenil-
glicilo, hidrocioruro de cloruro de D-4-hidroxifenilglicilo,
hidrocioruro de cloruro de 2-tienilglicilo, hidrocioruro de
cloruro de 3-tienilglicilo, hidrocioruro de cloruro de 2-fu-
rilglicilo, N-(terc-butiloxicarbonil)-D-fenilglicina, N-(1-
25 carbometoxi-2-propenil)-D-fenilglicina y N-(terc-butiloxicar-
bonil)-2-tienilglicina.

Para proteger el grupo amino del agente acilante, pue-
den utilizarse otros grupos protectores del amino como los
20 grupos p-metoxibenciloxicarbonilo, benciloxicarbonilo y 2,2,2-
30 tricloroetoxicarbonilo. Puede emplearse cualquiera de los



1 grupos protectores del amino generalmente utilizados, ya que
la función de estos grupos es simplemente proteger a la fun-
ción amino reactiva durante la reacción de acilación.

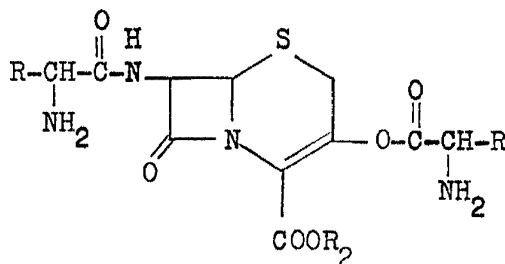
5 En una realización específica de esta invención, el
hidrocloruro de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de
p-nitrobencilo se hace reaccionar en cloruro de metileno con
una solución etérea de diazometano para formar el 7-amino-3-
metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo.

10 El éster 7-amino-3-metoxi-3-cefémico es después aci-
lado con el anhídrido mixto formado con N-(1-carbometoxi-2-
propenil)-D-fenilglicina y cloroformiato de metilo en pre-
sencia de dimetilbencilamina a unos 25°C para formar el 7-
[N-(1-carbometoxi-2-propenil)-D-fenilglicilamido] -3-metoxi-
15 3-cefem-4-carboxilato. El grupo protector del amino se separa
después por hidrólisis ácida y el grupo éster p-nitrobencíli-
co se elimina por hidrogenolisis catalítica con hidrógeno en
presencia de catalizador de paladio al 5 % en carbón a pH 2,5,
para dar el ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-
20 carboxílico (Fórmula I, R = fenilo, R₁ = metilo y R₂ = H).

25 Los antibióticos pueden prepararse por un procedi-
miento alternativo de la invención, acilando primero un éster
7-amino-3-hidroxi-3-cefémico y después haciendo reaccionar
el producto ácido 7-(fenil, tienil o furil-glicilamido)-3-
hidroxi-3-cefem-4-carboxílico con uno de los compuestos dia-
zo antes mencionados. La acilación de un éster del núcleo
3-hidroxi puede realizarse por los métodos anteriormente des-
critos como útiles para la acilación del núcleo de 7-amino-
éster. Sin embargo, se prefiere acilar el éster del núcleo
3-hidroxi mediante métodos de acilación no anhidros. Cuando
30 se emplea un método de acilación en condiciones anhidras, se



1 produce hasta cierto punto una N,O-diacilación para formar
una mezcla del producto N-acilado deseado y el producto N,O-
diacilado, por ejemplo el producto diacilado representado por
la siguiente fórmula generalizada:



15 donde R es el definido anteriormente y R₂ es un grupo éster.
Bajo condiciones no anhidras, por ejemplo cuando la acilación
se realiza en acetona húmeda, acetonitrilo húmedo o con mez-
clas de agua y disolventes orgánicos no miscibles con agua,
se produce exclusivamente la N-acilación.

20 En otra realización específica de este invento, el
7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-metoxibencilo
es acilado con N-(terc-butiloxicarbonil)-D-fenilglicina en
presencia de EEDQ, para dar 7-[N-(terc-butiloxicarbonil)-D-
fenilglicilamido]-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-meto-
xibencilo. El producto acilado se hace reaccionar con diazo-
metano en cloruro de metileno para formar el éter, 7-[N-(terc-
25 butiloxicarbonil)-D-fenilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxilato de p-metoxibencilo. El grupo p-metoxibencilo y el
grupo protector del terc-butiloxicarbonilamino, se separan
con ácido trifluoracético en anisol o con ácido p-toluensul-
fónico en acetonitrilo para formar el ácido 7-(D-fenilglicil-
amido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico (Fórmula I, R = fenilo,
30 R₁ = metilo y R₂ = H).



1 Alternativamente, los antibióticos pueden prepararse
empleando un éster de ácido 7-(fenil, tienil o furil-glicil-
amido)-3-exometilencefam-4-carboxílico como material de par-
tida. Según este método, el grupo α -amino de la cadena late-
5 ral es protegido con un grupo de bloqueo del amino fácilmente
separable, por ejemplo el grupo terc-butiloxicarbonilo,
el grupo 1-carbometoxi-2-propenilo y el grupo 2,2,2-tricloro-
etoxicarbonilo y el compuesto protegido se hace reaccionar
con ozono. El ozónido intermedio se descompone para formar
10 el éster 3-hidroxi-3-cefémico correspondientemente sustituido.
Por alquilación del éster 3-hidroxi-3-cefémico y preferible-
mente alquilación con un compuesto diazo, por ejemplo diazo-
metano, se obtiene el éster de ácido 3-metoxi (etoxi o 3-
metil-2-butenil-1-oxi)-3-cefem-4-carboxílico. El grupo éster
15 protector del ácido carboxílico y el grupo protector del ami-
no se separan por procedimientos conocidos para formar el
compuesto antibiótico de esta invención. Por ejemplo, el 7-
[N-(terc-butiloxicarbonil)-D-fenilglicilamido]-3-exometilen-
cefam-4-carboxilato de p-nitrobencilo se hace reaccionar con
20 ozono y el ozónido intermedio se descompone con dióxido y
azufre para formar el [7- N-(terc-butiloxicarbonil)-D-fenil-
glicilamido]-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitroben-
cilo. El 3-hidroxiéster se hace reaccionar con diazometano
para formar el derivado 3-metoxi. El grupo éster p-nitroben-
25 cílico se separa del derivado 3-metoxi por reacción del és-
ter con hidrógeno en presencia de paladio al 5 % en carbón en
un medio ácido y después el grupo terc-butiloxicarbonilo se
separa por hidrólisis ácida para formar el antibiótico ácido
30 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico.

Siguiendo los mismos procedimientos, se preparan las



1 correspondientes glicilamidas sustituidas con un grupo tieni-
lo o furilo.

Los siguientes compuestos son ilustrativos de los an-
tibióticos de esta invención.

5 ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico,
ácido 7-(D-3-hidroxifenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

ácido 7-(D-4-hidroxifenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

10 ácido 7-(D-2-hidroxifenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

ácido 7-(D-4-metilfenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

15 ácido 7-(D-4-clorofenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

ácido 7-(D-3-metoxifenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-car-
boxílico,

ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-etoxi-3-cefem-4-carboxílico,

20 ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-(3-metil-2-butenil-1-oxi)-3-
cefem-4-carboxílico,

ácido 7-(D-2-tienilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxíli-
co,

ácido 7-(D-2-furilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico,

25 ácido 7-(D-3-tienilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxí-
lico y

ácido 7-(D-2-tienilglicilamido)-3-etoxi-3-cefem-4-carboxílico.

Un grupo preferido de antibióticos preparado por el
procedimiento de esta invención son los ácidos 3-metoxi-3-
cefémicos, Fórmula I, $R_1 = \text{metilo}$ y $R_2 = \text{H}$.

30



1 En la Tabla II dada a continuación, se presentan los
valores CMI para el ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-
cefem-4-carboxílico frente a organismos Gram-negativos repre-
sentativos. Los datos se obtuvieron por la técnica de la pla-
5 ca gradiente.

TABLA II

Actividad antibiótica frente a organismos Gram-negativos

<u>Organismo</u>	<u>CMI (mcg/ml)</u>
<u>Shigella sp.</u>	7,2
10 <u>Escherichia coli</u>	6,6
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	5,1
<u>Aerobacter aerogenes</u>	3,6
<u>Salmonella heidelberg</u>	3,8
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	> 200
15 <u>Serratia marcescens</u>	124

La actividad antimicrobiana presentada por el ácido
7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico es ilus-
trativa de la actividad de los compuestos preparados por el
procedimiento de la invención.

20 Como ya se ha mencionado, el compuesto más preferido
preparado por el procedimiento de esta invención, el ácido
7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, es un
antibiótico muy efectivo cuando se administra por vía oral.
25 Por ejemplo, se obtuvieron los valores de la DE₅₀ dados a
continuación cuando el compuesto antes citado se utilizó en
ratones infectados con los microorganismos de la tabla.



	<u>Microorganismo</u>	<u>DE₅₀ (ng/kg oral)</u>
1	<u>Staphylococcus pyogenes</u>	1,0
	<u>Diplococcus pneumoniae</u>	24,1
	<u>Staphylococcus aureus</u>	5,2
5	<u>Escherichia coli</u>	12,2

Los valores DE₅₀ se determinaron en la forma descrita por W.E. Wick et al., Journal of Bacteriology, 81 [Nº 2] 233-235 (1961).

10 Los compuestos antibióticos preparados por el procedimiento de esta invención pueden ser administrados en forma de ácido libre o en forma de una sal no tóxica y farmacéuticamente aceptable, como la sal sódica o potásica. Estas sales se preparan por reacción del ácido antibiótico con una base adecuada como carbonato sódico, bicarbonato sódico, hidróxido
15 sódico o carbonato potásico.

Por ejemplo, el antibiótico más preferido es eficaz para combatir las infecciones cuando se administra por vía oral a una dosis comprendida entre unos 100 y 500 mg q.i.d. El antibiótico puede ser administrado en una forma farmacéutica oral adecuada, por ejemplo en cápsulas de gelatina.

Los siguientes ejemplos se dan para ilustrar mejor esta invención.

EJEMPLO 1

25 Hidrocioruro de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

En un baño de acetona y hielo seco se enfría una solución de 3,85 g de hidrocioruro de 7-amino-3-metilencefam-4-carboxilato de p-nitrobencilo en 600 ml de metanol. Se hace burbujear ozono a través de la mezcla de reacción durante 20
30 minutos aproximadamente, durante los cuales la mezcla de reac-



1 ción desarrolla un color azul pálido. Después se pasa nitró-
geno a través de la mezcla de reacción para expulsar el exce-
so de ozono. A continuación el ozónido intermedio se descompo-
ne haciendo pasar dióxido de azufre gaseoso a través de la
5 mezcla de reacción hasta que esta última da un ensayo negati-
vo frente a yoduro potásico-almidón.

La mezcla de reacción se evapora a vacío y el resi-
duo se disuelve en 200 ml de cloruro de hidrógeno 0,1 N en
cloruro de metileno. Se evapora la solución a sequedad y el
10 producto de reacción residual se disuelve en acetona. Al en-
friar precipitan como sólido cristalino 3,15 g de hidrocloru-
ro de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitroben-
cilo.

I.R. (Mull de Nujol):

15

Absorción de carbonilo a

5,55 (carbonilo de β -lactama) y

5,02 (carbonilo de éster, hidrógeno ligado a
3-hidroxi) micras.

Valoración electrométrica (DMF 66 %): pKa 4,0 y 6,3.

20

EJEMPLO 2

7-Amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

25

Se disuelven en agua 4 milimoles de hidrocloruro de
7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo
(preparado como se ha descrito en el Ejemplo 1) y se añade a
la solución acetato de etilo. El pH de la suspensión se ajus-
ta desde 2,2 hasta pH 5 con hidróxido sódico 1 N. Se separa
la capa de acetato de etilo, se lava con agua y se seca so-
bre sulfato magnésico. La capa de acetato de etilo seca se
evapora a sequedad para dar 1,2 g de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-
30 4-carboxilato de p-nitrobencilo en forma de residuo cristali-



1 no.

Análisis elemental para $C_{14}H_{13}N_3O_6S$:

Teórico: C, 47,86; H, 3,73; N, 11,96

Encontrado: C, 47,87; H, 4,00; N, 12,11.

5 I.R. (Mull de Nujol):

Absorción de carbonilo a 5,65 (ancho, β -lactama y éster) y 6,0 (amida) micras.

RMN (DMSO- d_6):

10 señales a 6,63 (2d, 2H, C_2 -H),
5,31 (d, 1H, C_6 -H),
4,89 (d, 1H, C_7 -H),
4,62 (s, 2H, CH_2 del éster),
4,30 (s, ancho, 2H, 7 N-H),
2,5-1,8 (m, 4H, H aromático), y
15 1,2 (d, 1H, C_3 -OH) tau.

EJEMPLO 3

7-Amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

20 A una suspensión agitada de 445 mg de hidrocloreuro de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo (preparado como se ha descrito en el Ejemplo 1) en 35 ml de tetrahidrofurano seco se añade un equivalente de trietilamina seguido de 10 ml de una solución etérea de diazometano en exceso. Al cabo de 30 minutos se evaporan el disolvente y el exceso de diazometano y el residuo se disuelve en una mezcla
25 de agua y acetato de etilo. Se separa la capa orgánica, se lava con agua y se seca. La solución seca en acetato de etilo se evapora a sequedad para dar 310 mg de 7-amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo. El producto se obtiene cristalino por trituración con éter dietílico.
30



1 Análisis elemental para $C_{15}H_{15}N_3O_6S$:

Teórico: C, 49,31; H, 4,14; N, 11,50

Encontrado: C, 49,51; H, 4,40; N, 11,25

I.R. (Mull de Nujol):

5 Picos de absorción a 2,99 (amida), 5,65 (ancho, carbonilo de β -lactama y éster) y 5,98 (carbonilo de amida) micras.

U.V. (etanol). Máximos de absorción a 268 $m\mu$, $\epsilon = 14.600$.

RMN (DMSO- d_6):

10 señales a 7,10 (s ancho, 2H, C_7-NH_2),
6,22 (s, 2H, C_2-H_2),
6,20 (s, 3H, metoxilo de C_3),
5,27 (d, 1H, C_6-H),
4,93 (d, 1H, C_7-H),
15 4,60 (s, 2H, CH_2 de éster) y
2,35-1,6 (q, 4H, H aromático), tau.

EJEMPLO 4

Hidrocloruro de 7-amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

20 A una suspensión agitada de 445 mg de hidrocloruro de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo en 30 ml de cloruro de metileno se añaden 131 mg de mono-trimetilsililacetamida y la mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añade una solución etérea de diazometano en exceso y al cabo de 20 minutos se evapora la mezcla para separar el disolvente y el exceso de diazometano. El residuo se trata con 1 ml de metanol y después se disuelve en una mezcla de acetato de etilo y agua. Se separa la capa de acetato de etilo, se lava con agua y se seca. Se hace pasar
25
30 cloruro de hidrógeno a través de la capa de acetato de etilo



1 seca para precipitar el producto de reacción, hidrocloreto
de 7-amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo.

RMN (DMSO-d₆):

5 Señales a 6,97 (s ancho, 3H, NH₃⁺),
6,31 (s, 2H, C₂-H₂),
6,23 (s, 3H, metoxilo de C₃),
5,39 (d, 1H, C₆-H),
5,05 (d, 1H, C₇-H) y
2,5-1,92 (q, 4H, H aromático) tau.

10

EJEMPLO 5

7-[N-(terc-Butiloxicarbonil)-D-fenilglicilamido]-3-metoxi-3-
cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

15

Se agita a la temperatura ambiente durante 16 horas una mezcla de 365 mg de 7-amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo, 256 mg de N-(terc-butiloxicarbonil)-D-α-fenilglicina y 273 mg de N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinoleína en 20 ml de tetrahidrofurano y 10 ml de acetona. La mezcla de reacción se evapora para separar las sustancias volátiles y el residuo se disuelve en una mezcla de agua y acetato de etilo. Se separa la capa de acetato de etilo y se lava con ácido clorhídrico al 5 % y agua y después se seca. La capa seca se evapora a sequedad a continuación y el producto se obtiene en forma cristalina por trituración del residuo con éter dietílico.

20

25

Análisis elemental para C₂₈H₃₀N₄O₉S:

Teórico: C, 56,18; H, 5,05; N, 9,36

Encontrado: C, 55,95; H, 5,16; N, 9,30.

I.R. (Mull de Nujol):

30

Picos de absorción a 3,01 (NH de amida), 5,67, 5,84, 5,90 y 6,06 (carbonilo) micras.



1 RMN (CDCl₃):

Señales a 8,60 (s, 9H, terc-butilo),

6,75 (s, 2H, C₂-H₂),

6,23 (s, 3H, metoxilo de C₃),

5 5,20-3,90 (m, 5H, C₆-H, CH₂ de la cadena lateral, CH₃ del éster y C₇-H),

2,80-1,70 (m, 9H, H aromático) tau.

EJEMPLO 6

Acido 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico

10 Una solución de 600 mg de 7-[N-(terc-butiloxicarbonil)-D- α -fenilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo (preparado como se describe en el Ejemplo 5) en 25 ml de tetrahidrofurano y 60 ml de metanol conteniendo tres gotas de ácido clorhídrico 1 N, se hidrogena a la tempe-
15 ratura ambiente bajo una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) durante 3 horas, en presencia de 600 mg de paladio al 5 % en carbón, previamente reducido.

Se filtra el catalizador y se lava con tetrahidrofurano. El filtrado y las aguas de lavado se combinan y evaporan
20 a sequedad a vacío. El residuo se disuelve en una mezcla de agua y acetato de etilo y la solución se enfría en un baño de agua de hielo. El pH de la solución fría se ajusta a 2,5 y se separa la capa de acetato de etilo. Esta última se lava, se seca y evapora a sequedad para dar ácido 7-[N-(terc-butil-
25 oxicarbonil)-D- α -fenilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico en forma de sólido amorfo amarillo pálido.

El producto ácido carboxílico se disuelve en 5 ml de acetonitrilo y a la solución se añaden 380 mg de monohidrato de ácido p-toluensulfónico. La mezcla se deja en reposo a la
30 temperatura ambiente durante 3 horas. Después se añade a la



1 mezcla 1 ml de agua y el pH se ajusta a 4,5 con trietilamina.
Al enfriar precipita el ácido 7-(D- α -fenilglicilami-
do)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico en forma de sólido crista-
lino cuyas propiedades espectrales concuerdan con las del
5 producto obtenido en el Ejemplo 8.

EJEMPLO 7

7-[N-(1-Carbometoxi-2-propenil)-D-fenilglicilamido]-3-metoxi-
3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo

A 45 ml de acetonitrilo conteniendo seis gotas de di-
10 metilbencilamina se añaden 815 mg de sal sódica de 3- α -car-
boxibencilaminocrotonato de metilo y la mezcla se enfría en
un baño de hielo seco y tetracloruro de carbono.

A la solución fría se añaden con agitación 303 mg de
15 cloroformiato de metilo y al cabo de 20 minutos se añade una
solución de 1,1 g de 7-amino-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato
de p-nitrobencilo en 45 ml de acetona. La mezcla de reacción
se agita en frío durante 30 minutos y después a la temperatu-
ra ambiente durante 2 horas.

Se filtra la mezcla de reacción y se evapora a vacío.
20 El residuo se disuelve en acetato de etilo y la solución se
lava con agua y se seca sobre sulfato magnésico. La solución
seca se evapora a sequedad y el residuo se recrystaliza de
etanol para dar 1,1 g del producto de reacción cristalino,
25 7-[N-(1-carbometoxi-2-propenil)-D-fenilglicilamido]-3-metoxi-
3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo, que funde a unos
135-145°C con descomposición.

Análisis elemental para $C_{28}H_{28}N_4O_9S$:

Teórico: C, 56,37; H, 4,73; N, 9,39

Encontrado: C, 56,09; H, 4,57; N, 9,27.

30



EJEMPLO 8

Acido 7-(D- α -fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico

Una solución de 500 mg de 7-[N-(1-carbometoxi-2-propenil)-D-fenilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo (preparado como se ha descrito en el Ejemplo 7) en 30 ml de acetonitrilo y 15 ml de agua se acidula a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado e inmediatamente se valora de nuevo hasta pH 2,5 con hidróxido sódico 1 N. La mezcla se evapora a sequedad y el residuo se disuelve en una mezcla disolvente de 40 ml de tetrahidrofurano y 80 ml de metanol.

La solución se carga en un aparato de hidrogenación Parr a baja presión y se hidrogena bajo una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) y a la temperatura ambiente durante 2,5 horas, en presencia de 500 mg de paladio al 5 % en carbón. El catalizador ha sido prerreducido en etanol durante 30 minutos bajo una presión de hidrógeno de 50 psi (3,5 kg/cm²) a la temperatura ambiente.

Se filtra el catalizador y se lava con tetrahidrofurano y con agua. El filtrado y las aguas de lavado del catalizador se combinan y evaporan a vacío para separar los disolventes volátiles. El residuo acuoso se suspende en acetato de etilo y el pH de la suspensión se ajusta a 4,5 con hidróxido sódico 1 N. Se separa la capa acuosa, se lava con acetato de etilo y después se concentra a vacío hasta un volumen de 2 ml.

El concentrado acuoso se diluye con 1 ml de acetonitrilo y la solución se enfría para precipitar 122 mg de ácido 7-(D-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico en forma de dihidrato cristalino.

Análisis elemental para C₁₆H₁₇N₃O₅S.2H₂O:



1 Teórico: C, 48,10; H, 5,30; N, 10,52
Encontrado: C, 47,80; H, 4,74; N, 10,21.

I.R. (Mull de Nujol):

5 Picos de absorción a 2,95 (NH de amida), 5,75, 5,96
(carbonilo de β -lactama y amida) y 6,25 (carboxilato) micras.

RMN (D_2O/DCI):

10 Señales a 6,58 (2d, 2H, C_2-H_2),
6,10 (s, 3H, metoxilo de C_3),
4,87 (d, 1H, C_6-H),
4,70 (s, 1H, $\alpha-CH$),
4,54 (d, 1H, C_7-H) y
2,41 (s, 5H, H aromático) tau.

15 U.V. (regulador a pH 7): λ_{max} 265 m μ , $\epsilon = 7500$.

Valoración electrométrica (DMF acuosa al 80 %):

pKa 6,2 y 7,3.

EJEMPLO 9

20 Siguiendo los procedimientos descritos en los Ejemplos 7 y 8, se prepara 7-[N-(1-carbometoxi-2-propenil)-D-2-tienilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitro-bencilo y el grupo protector del 1-carbometoxi-2-propenilamino se separa por hidrólisis ácida seguida de hidrogenolisis catalítica del grupo éster p-nitrobencílico para formar el
25 ácido 7-(D-2-tienilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-carboxílico.

EJEMPLO 10

30 Siguiendo los procedimientos descritos en los Ejemplos 7 y 8, se prepara 7-[N-(1-carbometoxi-2-propenil)-D-4-hidroxifenilglicilamido]-3-metoxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo. El grupo protector del 1-carbometoxi-2-prope-



1 nilamino y el grupo éster p-nitrobencílico se separan para
formar el ácido 7-(D-4-fenilglicilamido)-3-metoxi-3-cefem-4-
carboxílico.

EJEMPLO 11

5 7-(D-Fenilglicilamido)-3-hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-
nitrobencilo

A una solución de 446 mg de 7-amino-3-hidroxi-3-cefem-
4-carboxilato de p-nitrobencilo en 20 ml de acetonitrilo con-
teniendo 10 ml de óxido de propileno se añaden 206 mg de hi-
drocloruro de cloruro de D-fenilglicilo. La mezcla de reac-
10 ción se agita durante 16 horas a la temperatura ambiente y
después se evapora a vacío. El residuo se tritura con acetoni-
trilo para separar las impurezas solubles. Después el residuo
se seca a vacío para dar 315 mg de 7-(D-fenilglicilamido)-3-
15 hidroxi-3-cefem-4-carboxilato de p-nitrobencilo.

Análisis elemental para $C_{22}H_{20}N_4O_7S$:

Teórico: C, 54,54; H, 4,16; N, 11,57

Encontrado: C, 54,99; H, 4,29; N, 11,02

I.R. (Mull de Nujol):

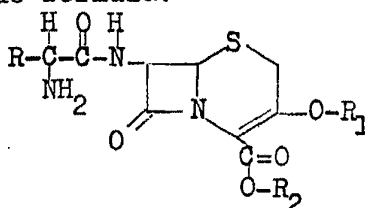
20 Picos de absorción a 3,01 (amida), 5,75 (carbonilo de
 β -lactama) y 6,10 (ancho, amida y carbonilo del éster
ligado a hidrógeno) micras.

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

25

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de α -aminoa-
cilcefalosporinas de fórmula:



30



1 donde

R es fenilo, hidroxifenilo, halofenilo, metilfenilo, metoxifenilo, 2-tienilo, 3-tienilo o 2-furilo;

R₁ es hidrógeno, metilo, etilo o 3-metil-2-butenilo;

5

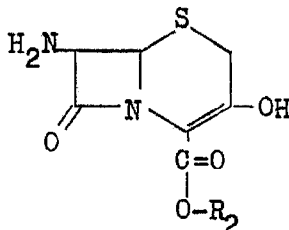
R₂ es hidrógeno o un grupo formador de un éster protector del ácido carboxílico;

y cuando R₂ es hidrógeno, las sales no tóxicas y farmacéuticamente aceptables de los mismos; con la limitación de que, cuando R₁ es hidrógeno, R₂ es un grupo formador de un éster protector del ácido carboxílico; cuyo procedimiento se caracteriza por:

10

a) hacer reaccionar en cualquier orden un éster 3-hidroxi-3-cefémico de fórmula:

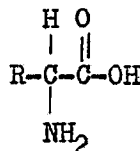
15



20

donde R₂ es un grupo formador de un éster protector del ácido carboxílico, con diazometano, diazoetano o 1-diazo-3-metil-2-butenilo en un disolvente inerte y con un reactivo acilante de fórmula:

25



o un derivado activo del mismo, para formar el correspondiente éster de ácido 7-(α -amino)acilamido-3-alcoxi-3-cefem-4-carboxílico y

b) opcionalmente separar el grupo formador del éster protec-

30



1 tor del ácido carboxílico para formar el correspondiente
ácido 7-(α -amino)acilamido-3-alcoxi-3-cefem-4-carboxílico.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, ca-
racterizado porque R_1 es metilo.

5 3. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 2,
caracterizado porque R es fenilo y R_2 es hidrógeno.

4. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 2,
caracterizado porque R es fenilo y R_2 es p-nitrobencilo.

10 5. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 2,
caracterizado porque R es hidroxifenilo.

6. Un procedimiento según la Reivindicación 1, carac-
terizado porque R_1 es hidrógeno.

7. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1 ó 6,
caracterizado porque R es fenilo y R_2 es p-nitrobencilo.

15 8. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita
por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE α -AMINOACILCE-
FALOSPORINAS".

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva que consta de veintisiete pági-
nas mecanografiadas.

Madrid, 26 Noviembre 1.973
BERNARDO UNGRIA.

P.P.
11
/

25

30