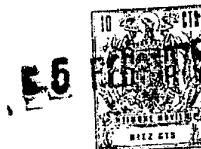


421.707



Nº 421.707

COFD

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BRISTOL-MYERS COMPANY.-

RESIDENCIA: 345 PARK AVENUE.- NEW YORK.- N.Y.

ESTADOS UNIDOS.-

ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE

NUEVOS DERIVADOS DE ACIDO 7-ACILAMIDO-

CEFALOSPORANICO.

Prioridad: Patente estadounidense n.º 318.340 del 26.12.72



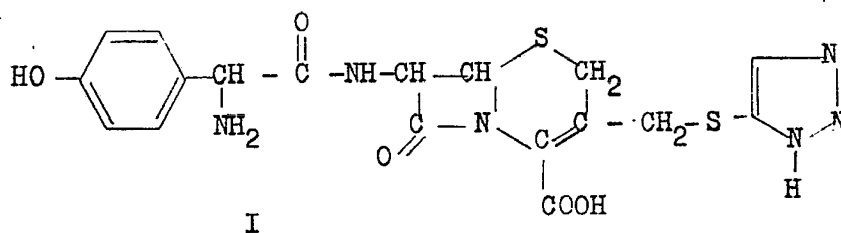
1

Esta invención se refiere a nuevos derivados de ácido 7-acilamido-cefalosporánico 3-tiolado, a nuevas composiciones farmacéuticas que contienen dichos derivados y a nuevos procedimientos para la preparación de los derivados de ácido cefalosporánico.

5

Los nuevos derivados de cefalosporina de esta invención comprenden el compuesto que tiene la configuración D-(-) en la cadena lateral representada por la fórmula:

10



15

y sus ésteres fácilmente escindibles y sus sales farmacéuticamente aceptables.

20

Las sales farmacéuticamente aceptables citadas son las sales no tóxicas del ácido carboxílico, v.g. sales metálicas no tóxicas como las de sodio, potasio, calcio y aluminio, la sal amónica y las sales con aminas no tóxicas, v.g. trialquilaminas, procaína, dibencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenciletildiamina, N-alkilpiperidina y otras aminas que han sido utilizadas para formar sales con las penicilinas. También están incluidas dentro de la definición de sales farmacéuticamente aceptables las sales no tóxicas de adición de ácidos (sales de la amina), v.g. sales con ácidos minerales como clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico y sales con ácidos orgánicas como maleico, acético, cítrico, oxálico succínico, benzoico, tartárico, fumárico, mandélico, ascórbico y málico.

25

30

Los ésteres fácilmente escindibles antes citados son



1 los grupos éster que pueden ser separados por métodos que no
2 produzcan ninguna destrucción apreciable de la porción resi-
3 dual de la molécula de cefalosporina, v.g. hidrólisis química
4 o enzimática. Como ejemplos de ésteres adecuados citaremos
5 los descritos en las patentes estadounidenses 3.284.451 y
6 3.249.622 y en las patentes inglesas 1.229.453 y 1.073.530.
7 Los ésteres especialmente preferidos son los ésteres pivaloil-
8 oximetílico, acetoximetílico, metoximetílico, acetónico y
9 fenacílico.

10 En la bibliografía se encuentran amplias referencias
11 relativas a los antibióticos de la cefalosporina. Más adelan-
12 te citamos lo más interesante publicado en este campo.

13 La preparación de diversos ácidos 7-(α -amino-arilaceta-
14 mido)cefalosporánicos y sus correspondientes compuestos desa-
15 cetoxi, donde el radical arilo representa un grupo fenilo o
16 2- ó 3-tienilo, sustituido o sin sustituir, está descrita, por
17 ejemplo, en las patentes inglesas 985.747, 1.017.624,
18 1.054.806 y 1.123.333, en la patente belga 696.026, en las
19 patentes estadounidenses 3.311.621, 3.352.858, 3.489.750,
20 3.489.751, 3.489.752 y 3.518.260, en la patente japonesa
21 16.871/66 de Spencer y colaboradores, J. Med. Chem. 9(5),
22 746-750 (1966) y por Kurita y colaboradores, J. Antibiotics
23 (Tokio) (A) 19, 243-249 (1966) y en la patente estadouniden-
24 se 3.485.819.

25 En las patentes holandesas 68/11676 y 68/12382 y en
26 las patentes estadounidenses 3.489.750, 3.489.751 y
27 3.489.752 se describen las cefaloglicinas con sustitución en
28 el anillo.

29 Se han citado diversas 7-(α -amino-arilacetamido)cefa-
30 losporinas en las que un hidrógeno del grupo α -amino ha sido



1 Chemotherapy - 1969, American Society for Microbiology,
Bethesda, Maryland, en las páginas 236-243 y en J. Antibio-
tics (Japón) 23(3), 131-148 (1970).

5 La sustitución del grupo 3-acetoxi de una cefalospo-
rina por diversos tioles heterocíclicos ha sido descrita en
la patente estadounidense 3.563.983 y en la patente sudafrica-
na 70/2290, donde las cadenas laterales son, por ejemplo,
7- α -aminofenilacetamido y los tioles heterocíclicos típicos
son el 2-metil-1,3,4-tiadiazol-5-tiol y el 1-metil-1,2,3,4-
10 tetrazol-5-tiol.

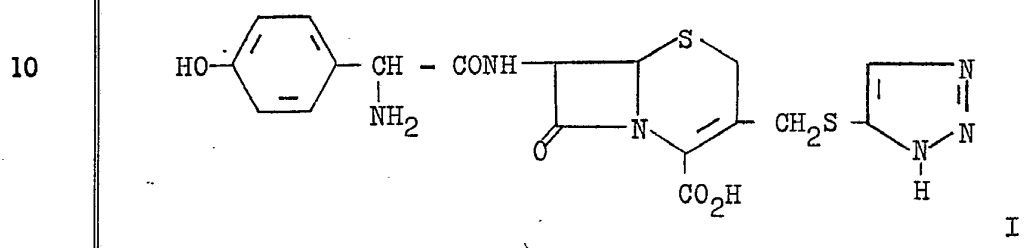
Debido al átomo de carbono asimétrico en la cadena la-
teral de los compuestos de fórmula I, estos compuestos pueden
existir en formas ópticamente activas y éstas, están
incluidas dentro del alcance de esta
15 invención. Los compuestos preferidos y más activos de fór-
mula I son los de configuración D en el átomo de carbono α
de la cadena lateral de la posición 7, es decir, los prepara-
dos a partir del ácido D-(-)- α -amino-p-hidroxifenilacético o
un equivalente funcional del mismo.

20 También están incluidos en esta invención los compues-
tos (utilizados como intermediarios o como precursores meta-
bólicos) en los que el grupo amino está "bloqueado" por susti-
tuyentes como terc-butoxicarbonilo, carbobenciloxi, formilo,
o-nitrofenilsulfenilo, β,β,β -tricloroetoxicarbonilo, 4-oxo-
25 2-pentenilo-2, 1-carbometoxi-1-propenilo-2 y similares. Están
especialmente incluidos en estos grupos de bloqueo las cetonas
(especialmente acetona) y los aldehidos (especialmente for-
maldehido y acetaldehido), descritos, por ejemplo, en las pa-
20 tentes estadounidenses 3.198.804 y 3.347.851 y los β -cetoésteres
y β -dicetonas descritos, por ejemplo en la patente estado-



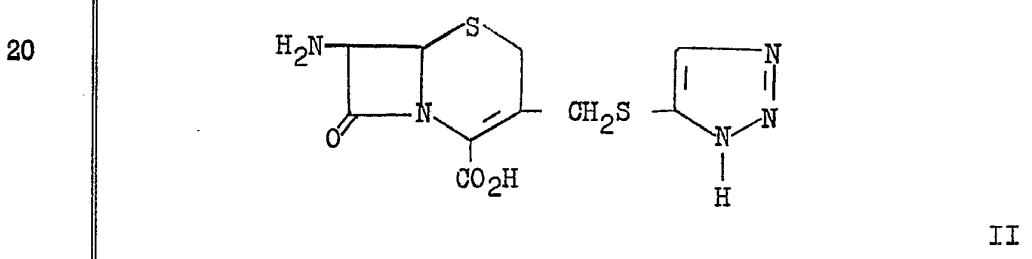
1 unidense 3.325.479 y las β-cetoamidas descritas en la patente
japonesa 71/24.714.

5 Esta invención también incluye un procedimiento para
la preparación de un compuesto con la configuración D-(-) en
la cadena lateral de fórmula:

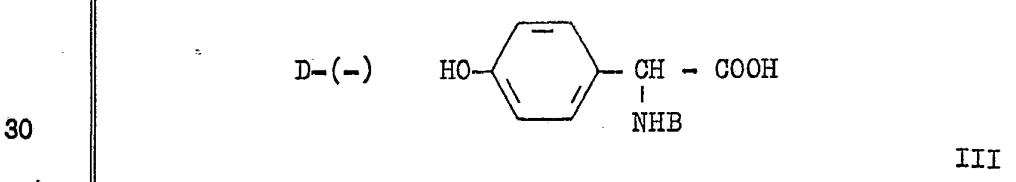


15 y ésteres fácilmente escindibles y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo; cuyo procedimiento consiste en:

hacer reaccionar un compuesto de fórmula:



25 o un éster fácilmente escindible o una sal del mismo, con un
derivado acilante de un ácido de fórmula:





1 donde B representa un grupo protector del amino, para produ-
cir, después de separar el grupo B protector del amino, un
5 compuesto de fórmula I o un éster fácilmente escindible o
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, si se de-
sea, bien antes o después de separar el grupo de bloqueo:
10 (a) convertir por métodos conocidos el producto en forma de
ácido libre o de sal en el correspondiente éster fácilmente
escindible o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o (b)
15 convertir por métodos conocidos el producto en forma de
éster fácilmente escindible o de sal en el correspondiente
ácido libre o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

En el método de preparación de los nuevos compuestos
de cefalosporina de esta invención, un compuesto de ácido
25 7-aminocefalosporánico 3-tiolado de fórmula II o un éster
fácilmente escindible o una sal de dicho ácido o de dicho

30



1 éster es acilado con el derivado apropiado de D-(-) p-hidroxifenil-
glicina de fórmula III.

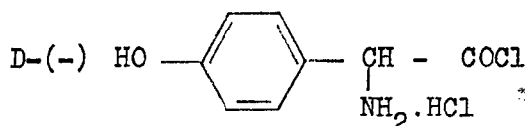
5 El ácido 7-amino-3-cefem-4-carboxílico intermedio pue-
de prepararse por desplazamiento del grupo 3-acetoxi del áci-
do 7-aminocefalosporánico con 5-mercapto-1,2,3-triazol o una
sal del mismo. El desplazamiento de un grupo éster con un gru-
po tiol es una reacción conocida y se efectúa preferiblemente
en solución acuosa y calentando.

10 Entonces pueden obtenerse los compuestos reivindica-
dos por acilación del grupo 7-amino del ácido 7-aminocefalos-
poránico 3-tiolado intermedio con el agente acilante de fór-
mula III. Si se desea, el intermediario antes mencionado pue-
de ser convertido, antes de la reacción de acilación, en un
éster fácilmente escindible o en una sal. Los procedimientos
15 para la preparación de los ésteres están descritos en la bi-
bliografía y son conocidos por los expertos en la química de
las penicilinas y cefalosporinas. Un método preferido espe-
cialmente útil para preparar los ésteres pivaloiloximetílico,
acetoximetílico, metoximetílico, acetónílico y fenacílico es
20 el descrito en la patente estadounidense 3.284.451. En esta
referencia se describe la esterificación de la cefalotina só-
dica con el compuesto clorado o bromado activo apropiado
(v.g. bromuro de fenacilo, cloroacetona, éter clorometílico,
cloruro de pivaloiloximetilo, cloruro de acetoximetilo), se-
25 guido de separación enzimática de la cadena lateral de ácido
tienilacético. En otro método bueno, la sal de trietilamina
del ácido 7-aminocefalosporánico se hace reaccionar directa-
mente con el compuesto halogenado activo como en la patente
estadounidense 1.229.453. El compuesto de fórmula II también
30 puede convertirse en un éster silílico, por ejemplo por los



1 métodos descritos en la bibliografía, v.g. patente estadouni-
dense 3.249.622. El grupo éster silílico puede ser separado
después de la reacción de acilación por hidrólisis o alcoho-
lisis.

5 Antes de la reacción de acilación, el grupo amino del
agente acilante p-hidroxifenilglicina es protegido con un
grupo B convencional de bloqueo del grupo amino, que pueda ser
fácilmente separado una vez terminada la reacción. Como ejem-
plos de grupos de bloqueo adecuados citaremos el terc-butoxi-
10 carbonilo, carbobenciloxi, 2-hidroxi-1-naftocarbonilo, tri-
cloroetoxicarbonilo, 2-etoxicarbonil-1-metilvinilo, 2-metoxi-
carbonil-1-metilvinilo y 1-carbometoxi-1-propenil-2. Otros
grupos de bloqueo valiosos son un protón, como en el compues-
to de formula



o una β-dicetona o β-cetoéster como en la patente inglesa
20 1.123.333 o en las patentes estadounidenses 3.325.479 y
3.316.247, v.g. acetoacetato de metilo o una β-cetoamida como
en la patente japonesa 71/24.714, en cuyo caso el ácido que
contiene el grupo amino bloqueado es preferiblemente conver-
tido en un anhídrido mixto, v.g. por tratamiento con un clo-
25 roformiato de alquilo, antes de la reacción con el compuesto
II o un éster o sal del mismo. Después de la reacción copu-
lante de acilación, el grupo B protector del amino puede ser
separado por métodos conocidos para formar el producto desea-
do de fórmula I. Así, por ejemplo, el grupo terc-butoxicarbo-
30 nilo puede ser separado empleando ácido fórmico; el grupo car-



1 bobenciloxi por hidrogenación catalítica; el grupo 2-hidroxi-
1-naftocarbonilo por hidrólisis ácida; el grupo tricloroeto-
xicarbonilo por tratamiento con cinc en polvo en ácido acéti-
co glacial; el protón por neutralización, etc. Si se desea,
5 el grupo hidroxí fenólico del agente acilante III también pue-
de ser protegido durante las etapas de acilación, v.g. con un
grupo protector fácilmente separable como O-bencilo, O-bencil-
oxicarbonilo o trimetilsililo pero generalmente la protección
de este grupo no es esencial. Evidentemente, pueden utilizar-
10 se otros grupos de bloqueo del amino o del hidroxí funcional-
mente equivalentes y estos grupos se consideran dentro de los
límites de esta invención.

La acilación de un grupo 7-amino de una cefalosporina
es una reacción conocida y puede emplearse cualquiera de los
15 equivalentes funcionales de fórmula III comúnmente empleados
como agentes acilantes de los grupos amino primarios. Son
ejemplos de derivados acilantes adecuados del ácido libre los
correspondientes anhídridos, anhídridos mixtos, v.g. anhídri-
dos alcoxifórmicos, haluros de ácido, azidas, ésteres activos
20 y tioésteres activos. El ácido libre puede copularse con el
compuesto II después de haber hecho reaccionar en primer lu-
gar dicho ácido libre con cloruro de N,N'-dimetilcloroformi-
minio o empleando enzimas, un N,N'-carbonil-di-imidazol, un
N,N'-carbonilditriazol o una carbo-di-imida, v.g. N,N'-di-
25 isopropilcarbo-di-imida, N,N'-díciclohexilcarbo-di-imida o
N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)carbo-di-imida o un reactivo
alquililamínico o una sal de isoxazolio. Otro equivalente del
ácido libre es la azolida correspondiente, es decir, una ami-
da del ácido correspondiente cuyo nitrógeno amídico es un
30 miembro de un anillo casi aromático de cinco miembros conte-



1 niendo por lo menos dos átomos de nitrógeno, a saber: imida-
zol, pirazol, los triazoles, bencimidazol, benzotriazol y
sus derivados sustituidos. Otro derivado reactivo de la p-hi-
droxifenil-glicina es el anhídrido de Leuch. En esta estruc-
5 tura, el grupo que activa al grupo carboxilo también sirve
para proteger al grupo amino. Un agente acilante especialmen-
te preferido es el hidrocloruro de cloruro de p-hidroxifenil-
glicina que también ejerce la doble función de activación del
carboxilo y protección del grupo amino. Puede hacerse men-
10 ción del uso de enzimas para copular el ácido libre con su
grupo amino bloqueado con el compuesto II. Entre estos proce-
dimientos se encuentran el uso de un éster, v.g. el éster me-
tílico, de ese ácido libre, con enzimas proporcionadas por di-
versos microorganismos, v.g. las descritas por T. Takahashi
15 y colaboradores, J. Amer. Chem. Soc., 94(11), 4035-4037
(1972) y por T. Nara y colaboradores, J. Antibiotics (Japón)
24(5), 321-323 (1971).

Las condiciones particulares del proceso, v.g. tempe-
ratura, disolvente, tiempo de reacción, etc., seleccionadas
20 para la reacción de copulación están determinadas por la na-
turalza del método de acilación empleado y son conocidas por
los expertos en este campo. Generalmente, es útil agregar una
amina terciaria orgánica, v.g. trietilamina, N,N-dimetilani-
lina, etilpiperidina, 2,6-lutidina o quinoleína, para que ac-
25 túen como aceptores de protones o agentes formadores de sales.

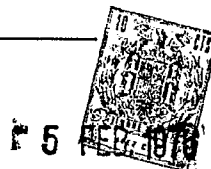
Los compuestos de esta invención pueden ser aislados
por cualquiera de los métodos habitualmente empleados para el
aislamiento de las cefalosporinas similares. Así, el produc-
to puede obtenerse como molécula neutra, aunque probablemente
30 ésta será representada con más seguridad en forma de zwitter-



1 rión, o puede ser aislado como sal. La formación de las sa-
les del ácido carboxílico o de adición de ácidos farmacéutica
mente aceptables se realiza por métodos conocidos, v.g. reac
5 ción del ácido con una base o un ácido apropiado.

Una vez terminada la reacción de acilación, el pro-
ducto obtenido puede ser convertido (antes o después de se-
parar el grupo protector del amino), por métodos conocidos,
10 en otro producto deseado de fórmula I. Así, el compuesto de
fórmula I en forma de ácido libre o de sal puede ser conver-
tido por métodos conocidos en el correspondiente éster fácil-
mente escindible o en una sal farmacéuticamente aceptable.
15 Análogamente, el producto de fórmula I en forma de éster fá-
cilmente escindible o de sal puede ser convertido en el áci-
do libre o en una sal farmacéuticamente aceptable por separa-
ción del grupo esterificante, por ejemplo por hidrólisis
acuosa o enzimática (v.g. con suero humano o animal) o hidró-
20 lisis ácida o alcalina, por hidrogenación catalítica o por
tratamiento con tiofenóxido sódico como describe la patente
estadounidense 3.284.451.

Los ésteres fácilmente escindibles del compuesto de
25 fórmula I son útiles como intermediarios en la producción del
ácido libre. Los ésteres pivaloiloximetílico, acetoximetílico
y metoximetílico también son útiles como agentes antibacte-
rianos activos ya que por administración oral son rápidamente
30 hidrolizados al metabolito activo. Estos ésteres son interesan



1 tes debido a que, por administración oral, proporcionan unas
velocidades y unas cantidades de absorción diferentes y dan
concentraciones distintas del agente antibacteriano activo en
la sangre y en los tejidos.

5 Los compuestos farmacéuticamente activos de esta in-
vención presentan una solubilidad muy interesante en agua,
son eficazmente absorbidos por administración oral para dar
niveles relativamente altos y prolongados, en sangre y son
potentes agentes antibacterianos útiles en el tratamiento de
10 las enfermedades infecciosas en el ganado aviar y animales de
sangre caliente, incluido el hombre, causadas por muchas bac-
terias Gram-positivas y Gram-negativas. Los compuestos acti-
vos también son útiles como suplementos nutritivos en los
piensos para animales y como agentes para el tratamiento de
15 la mastitis en el ganado vacuno.

Los nuevos medicamentos proporcionados por esta in-
vención pueden ser formulados como composiciones farmacéuti-
cas que comprenden, además del ingrediente activo, un vehí-
culo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos
20 pueden ser administrados por vía oral o parenteral. Los prepa-
rados farmacéuticos pueden estar en forma sólida, como cápsu-
las, tabletas o grageas o en forma líquida como soluciones,
suspensiones o emulsiones. En el tratamiento de las infeccio-
nes bacterianas en el hombre, los compuestos de esta inven-
25 ción pueden ser administrados por vía parenteral en una pro-
porción de unos 5 a 200 mg/kg/día y preferiblemente de unos
5 a 20 mg/kg/día en dosis fraccionadas, v.g. 3 a 4 veces al
día. Se administran en dosis unitarias que contienen, por
ejemplo, 125, 250 ó 500 mg de ingrediente activo, con vehícu-
30 los o excipientes adecuados fisiológicamente aceptables.



1

Se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos de esta invención presentan una intensa actividad antibacteriana y al mismo tiempo una excelente absorción por administración oral. La combinación de la cadena lateral particular de D-(-)-p-hidroxifenilglicina sobre el grupo 7-amino y el grupo particular 1,2,3-triazol-5-iltiometilo en la posición 3 de la molécula de la cefalosporina ha dado lugar inesperadamente a unas propiedades muy ventajosas de los compuestos de esta invención.

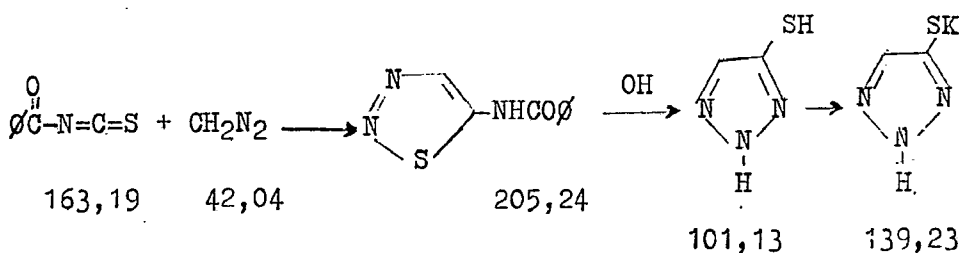
5

10

MATERIALES DE PARTIDA

Síntesis de 1,2,3-triazol-5-tiolato potásico

15



20

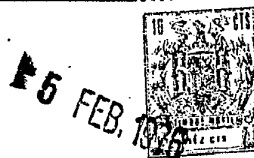
La síntesis del tiol se realiza por un procedimiento esencialmente idéntico al descrito en la bibliografía [J. Goerdler y G. Gnad, Chem. Ber. 99, 1618 (1966)].

5-Benzamido-1,2,3-tiadiazol

25

A una solución agitada de 50,6 g (310 milimoles) de isotiocianato de benzoílo en 400 ml de éter anhidro comercial mantenida a 0° y en atmósfera de nitrógeno, se añaden gota a gota y con intensa agitación 453 ml de diazometano etéreo 0,685 N (310 milimoles). Cuando la adición es completa, la mezcla se agita durante una hora a 0°, se recoge el sólido por filtración y se seca a vacío. El punto de fusión del material crudo (23,3 g) así obtenido se observa dentro de la

30



1 región de 232 a 257°. Goerdler da un punto de fusión de 267°
para el producto crudo. Se obtiene una segunda masa (2,1 g)
por evaporación de las aguas madres a vacío. Por lo tanto,
el rendimiento total es del 40 %.

5 1,2,3-Triazol-5-tiol

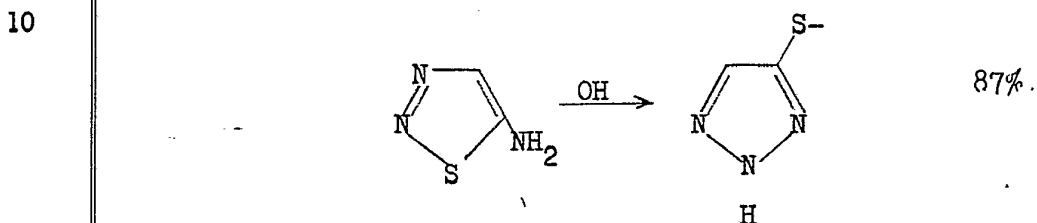
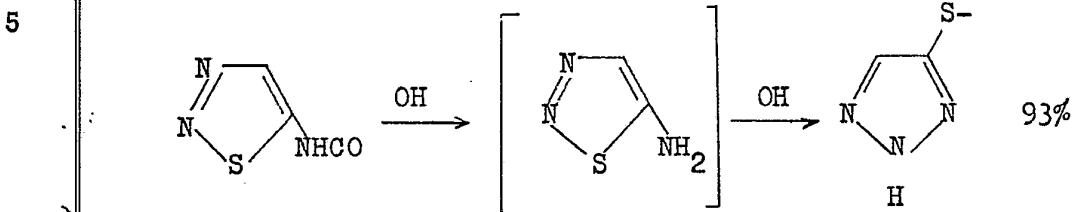
Se calienta a la temperatura de reflujo en atmósfera
de nitrógeno, durante 24 horas, una solución de 8,2 g (40 mi-
limoles) del compuesto benzamido anterior en 80 ml (160 mili-
moles) de hidróxido sódico 2 N. La solución se enfría a 0° en
10 hielo y se añaden 26 ml de ácido clorhídrico concentrado mien-
tras se hace pasar a través de la solución una corriente con-
tinua de nitrógeno. El ácido benzoico que precipita se recoge
por filtración. El filtrado se satura con cloruro sódico y el
ácido benzoico adicional que se separa se retira por filtra-
15 ción. Inmediatamente se extrae el filtrado con acetato de
etilo, se lava el extracto con solución salina saturada, se
seca sobre sulfato magnésico y después se evapora a vacío. El
aceite viscoso que queda es inmediatamente destilado evapora-
tivamente a vacío (70-75°/0,001 mm) para dar 2,84 g (70 %) de
20 un aceite que solidifica espontáneamente (p.f. 52-59°; según
Goerdler, p.f. 60°).

1,2,3-Triazol-5-tiolato potásico

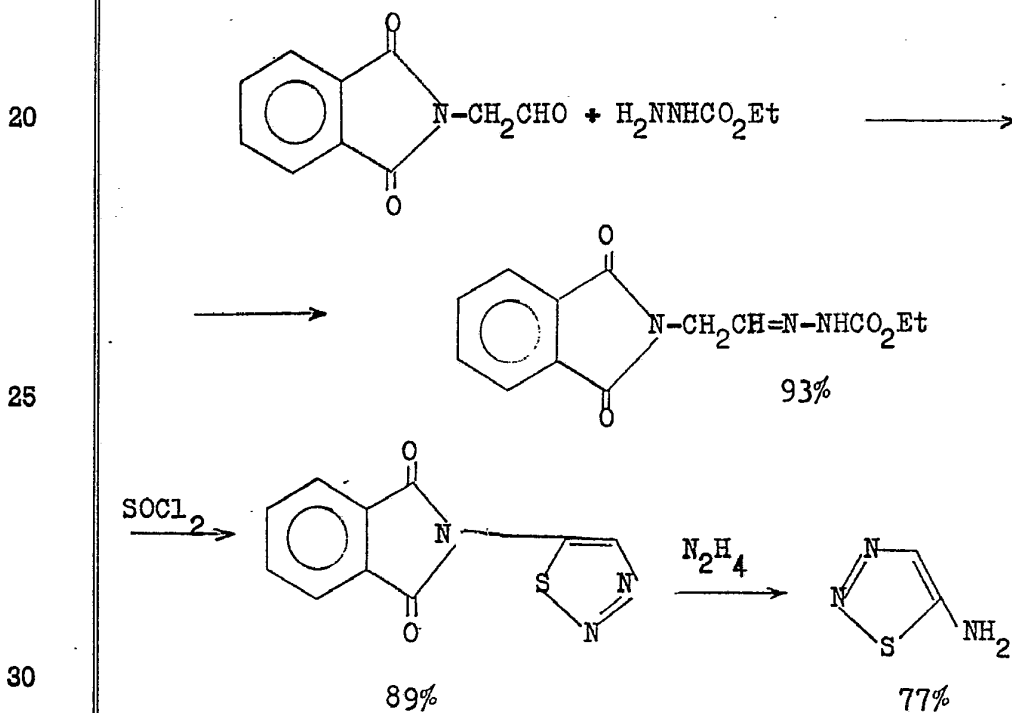
A una solución de 2,84 g (28,1 milimoles) del tiol an-
terior en 28 ml de etanol absoluto se añaden 14,5 ml de una
25 solución alcohólica de hidróxido potásico 1,93 N. Después la
solución se diluye con éter anhidro hasta que la cristaliza-
ción de la sal es completa. El sólido se recoge por filtra-
ción, se lava con éter y se seca a vacío. La sal obtenida de
esta forma (3,65 g, 93 %) tiene un punto de fusión de 225°
30 con descomposición.



1 Es importante advertir que se sabe que la conversión del benzamido-tiadiazol en el triazoltiol transcurre a través del 5-amino-1,2,3-tiadiazol [G. Goerdler y G. Gnad, Chem. Ber. 99, 1618 (1966)].



15 El 5-amino-1,2,3-tiadiazol puede prepararse por otra vía en la que no interviene el diazometano [D.L. Pain y R. Slack, J. Chem. Soc. 5166 (1965)]





1 Acido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-car-
boxílico (II)

5 Las reacciones se efectúan en atmósfera de nitrógeno en una vasija de reacción protegida de la luz. El agua y el regulador de fosfato se gasifican intensamente con nitrógeno antes de su uso para desplazar al oxígeno.

10 Se añaden 10,3 g (0,102 moles) de 5-amino-1,2,3-tiadiazol a una solución de 8,16 g de hidróxido sódico en 100 ml de agua. La mezcla se calienta rápidamente a reflujo y después se refluje durante 10 minutos para transponer el 5-amino-1,2,3-tiadiazol a 5-mercapto-1,2,3-triazol. A la mezcla de reacción conteniendo 5-mercapto-1,2,3-triazol, enfriada en un baño de hielo, se añaden 100 ml de solución reguladora de fosfato 0,1 M a pH 6,4, enfriada con hielo. La solución, que
15 estaba a pH 10,5, se ajusta a pH 8,5 con ácido fosfórico al 42 %. Se añaden 21,8 g (0,08 moles) de ácido 7-aminocefalosporánico y la mezcla se calienta a 50° durante 4 horas. La solución transparente se enfría en un baño de hielo y se ajusta a pH 4,5 con HCl concentrado. El producto precipitado se recoge por filtración, se lava con agua y se seca al aire;
20 16,2 g.

25 Se llevan a solución 15,2 g del producto crudo con 600 ml de metanol y 40 ml de HCl concentrado. Después de tratamiento con carbono, la solución se diluye con 1,5 litros de agua de hielo y se extrae una vez con acetato de etilo. La fase acuosa se concentra a presión reducida para separar el metanol. El concentrado acuoso frío se ajusta lentamente a pH 4,0 con hidróxido sódico al 20 % produciendo la cristalización del producto. Este último se recoge por filtración,
30 se lava con agua y metanol y se seca a vacío sobre pentóxido-



1 do de fósforo; 11,4 g. Los espectros IR y RMN concuerdan totalmente con el producto deseado.

Análisis para $C_{10}H_{11}N_5O_3S_2$:

Calculado: C, 38,42; H, 3,55; N, 22,40

5 Encontrado: C, 38,27, 38,26; H, 3,76, 3,40;

N, 21,02, 21,00; H_2O , 1,70.

Purificación de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico (II)

10 Se llevan a solución 16,1 g de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico crudo, conteniendo aproximadamente 20 moles por ciento de ácido 7-aminocefalosporánico como impureza, con 600 ml de metanol y 40 ml de HCl concentrado. Después de tratarla con carbono, la solución se diluye con 1,5 litros de agua de hielo y se extrae una vez
15 con acetato de etilo. La fase acuosa se concentra a presión reducida para separar el metanol. El concentrado acuoso frío se ajusta después lentamente hasta pH 4,0 con hidróxido sódico al 20 % produciendo la cristalización del producto. Este último se recoge por filtración, se lava con agua y metanol
20 y se seca a vacío sobre pentóxido de fósforo; 11,4 g. El espectro RMN indica que este producto contiene alrededor de 7 moles % de ácido 7-aminocefalosporánico como impureza.

25 El procedimiento de purificación anterior se repite con 11,4 g del producto, empleando 425 ml de metanol, 28 ml de HCl concentrado y 1 litro de agua de hielo, dando 8,0 g de producto. El espectro RMN concuerda totalmente con el producto deseado y no detecta ninguna traza de ácido 7-aminocefalosporánico como impureza.

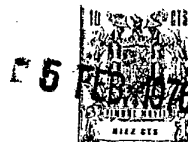
30 Análisis para $C_{10}H_{15}N_5O_3S_2$:



1 mezcla se agita a $55 \pm 1^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de nitrógeno durante
4 horas. Al cabo de 1 hora, se reajusta el pH a 6,4 por adi-
ción de una pequeña cantidad de H_3PO_4 al 40 %. Al final del
5 periodo de calefacción de 4 horas, se agregan 50 g de carbón
activo decolorante, "Darco KB" y, después de agitar durante
15 minutos a 55°C , la suspensión se filtra en caliente a tra-
vés de una capa de tierra de diatomeas ("Celite"). Esta capa
se lava tres veces con 100 ml de agua, se ajusta el pH a
los filtrados combinados en caliente a 4,5 mediante lenta
10 adición de HCl 6 N. Después de enfriar 30 minutos a 0°C , el
producto crudo se recoge por filtración, se lava dos veces
con 200 ml de agua fría y después dos veces con 1000 ml de
metanol y se seca al aire.

15 El producto crudo se suspende en 3000 ml de una mez-
cla al 50 % de metanol y agua y se añaden 300 g (1,5 moles)
de ácido p-toluensulfónico. Se agita durante 15 minutos y des-
pués se añaden 50 g de carbón activo decolorante "Darco KB".
Después de agitar durante 15 minutos a 22°C , la suspensión
se filtra a través de una capa de "Celite" y esta capa se la-
20 va dos veces con 100 ml de una mezcla al 50 % de metanol y
agua. El pH de los filtrados combinados se ajusta a 4,0 por
adición de aproximadamente 210 ml de trietilamina. Después de
enfriar a 0°C durante 1 hora, el producto se recoge por fil-
tración, se lava dos veces con 400 ml cada vez de una mezcla
25 al 50 % de metanol-agua y después dos veces con 1000 ml de
metanol y se seca al aire.

30 Este material se suspende en 2000 ml de agua y se
añaden 84 g (1 mol) de bicarbonato sódico. Después de agitar
durante 10 minutos a 22°C , se añaden 50 g de carbón "Darco
KB" y, después de agitar durante 15 minutos a 22°C , la sus-



1 pensión se filtra a través de una capa de "Celite". Se lava
dos veces con 100 ml de agua y el pH de los filtrados combi-
nados se ajusta a 3,5 mediante la lenta adición de HCl 6 N.
Después de agitar durante 10 minutos a 22°C, se enfría a 0°C
5 durante 1 hora. El producto se recoge por filtración y se la-
va dos veces con 200 ml de agua fría y dos veces con 1000 ml
de acetona. Después de secar sobre P₂O₅ en un desecador de
vacío durante 14 horas a la temperatura ambiente, el rendi-
miento es de 100 g; punto de descomposición: 230°C. Los espec-
10 tros IR y RMN concuerdan con la estructura deseada.

Análisis para C₁₀H₁₁N₅O₃S₂·½H₂O:

Calculado: C, 37,51; H, 3,75; N, 21,68;

KF (H₂O), 2,8.

Encontrado: C, 37,78; H, 3,69; N, 20,42;

KF (H₂O), 2,46.

15 7-Amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxilato
de pivaloiloximetilo

Método A.- El compuesto del título se produce sustituyendo el ácido 7-aminocefalosporánico empleado en lo inmediatamente anterior por un peso equimolecular de hidrocloreuro de 7-aminocefalosporanato de pivaloiloximetilo preparado de acuerdo con el Ejemplo 2 de la patente inglesa 1.229.453 a partir de ácido 7-aminocefalosporánico. La patente alemana 1.904.585 (Farmdoc 39.445) es equivalente a la inglesa 1.229.453.

25
30 Método B.- El compuesto del título se produce sustituyendo los 0,025 moles (6,8 g) del ácido 7-aminocefalosporánico empleado en el procedimiento del Ejemplo 2 de la patente inglesa 1.229.453 por un peso equimolecular de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico.



1 Los respectivos ésteres acetoximetílico, metoximetílico, acetónico y fenacílico del ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico se preparan sustituyendo en el Método B anterior el pivalato de clorometilo allí utilizado por un peso equimolecular de acetato de clorometilo, éter clorometilmetílico, cloroacetona y bromuro de fenacilo, respectivamente.

5 D-N-(2-metoxicarbonil-1-metilvinil)- α -amino- α -(4-hidroxifenil)acetato sódico

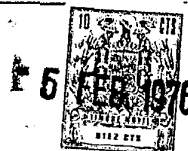
10 A una solución agitada de 3,02 g (0,078 moles) de NaOH en 320 ml de metanol se añaden 13,4 g (0,08 moles) de D-(-)-2-(p-hidroxifenil)glicina y la mezcla resultante se calienta a reflujo mientras se añade una solución de 9,6 ml (0,088 moles) de acetoacetato de metilo en 80 ml de metanol, durante un periodo de 30 minutos. Después de 30 minutos adicionales a reflujo, el metanol se separa por destilación mientras se agrega tolueno a la misma velocidad con objeto de mantener un volumen interno aproximadamente igual. Cuando la temperatura interna alcanza los 100°C, la suspensión se enfría en agua de hielo durante 4 horas, se filtra, se lava bien con tolueno, se seca al aire y se seca a vacío sobre P₂O₅ hasta peso constante. Rendimiento: 19 g de D-N-(2-metoxicarbonil-1-metilvinil)- α -amino- α -(4-hidroxifenil)acetato sódico.

25 Análisis para C₁₃H₁₄NO₅Na:

Cálculado: C, 54,35; H, 4,92; N, 4,88

Encontrado: C, 53,98; H, 5,18; N, 4,90.

30 Los siguientes ejemplos se dan a título ilustrativo pero no limitativo de esta invención. Todas las temperaturas son en grados centígrados. El ácido 7-aminocefalosporánico



1 se abrevia a 7-ACA, la metil-isobutil-cetona se abrevia a
MIBC y el tetrahidrofurano a THF. "Skellysolve B" es una
fracción de éter de petróleo que hierve a 60-68°C, constituí-
da esencialmente por n-hexano.

5 DESCRIPCION DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

EJEMPLO 1

Acido D- α -terc-Butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acético

En un matraz de tres bocas provisto de un condensador
de reflujo, un agitador suspendido y un termómetro, se intro-
duce una mezcla bien combinada de 8,36 g (0,05 moles) de
10 D-(-)-p-hidroxifenilglicina y 3,02 g (0,075 moles) de óxido
magnésico en 120 ml de dioxano acuoso al 50 %. La mezcla se
agita durante 1 hora y después se trata con 10,74 g (0,075 mo-
les) de terc-butoxicarbonilazida. Después la mezcla se agita
15 y calienta a 45-50° durante 17 horas bajo nitrógeno. La solu-
ción se diluye con 400 ml de agua y se extrae dos veces con
300 ml de acetato de etilo. La fase acuosa se acidula con so-
lución de ácido cítrico al 10 % hasta pH 4 y se satura con
NaCl. La mezcla acuosa se extrae tres veces con 400 ml de
20 acetato de etilo. La solución se seca sobre sulfato sódico y
se evapora el disolvente. El residuo se tritura con
"Skellysolve B" para dar ácido D- α -terc-butoxicarbonilamino-
 α -(p-hidroxifenil)acético en forma sólida con un peso de
10,4 g (78,5 %).

25 Acido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)aceta-
mido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico

A una suspensión de 6,0 g (19,0 milimoles) de ácido
7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico
en 100 ml de cloruro de metileno seco se añaden 8,5 ml de
30 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (40,9 milimoles). La mezcla



1 se agita y se calienta a reflujo durante 4 horas, en cuyo mo-
mento se obtiene una solución transparente. Se evapora el di-
solvente y el aceite residual se somete a alto vacío durante
la noche a la temperatura ambiente. El residuo espumoso se
5 disuelve en 85 ml de THF seco y se enfría a unos -15° antes
de introducirle en la mezcla de reacción subsiguiente.

Se disuelven 4,4 g (16,5 milimoles) de ácido 2- α -terc-
butoxicarbonilamino- α -(4-hidroxifenil)acético en 145 ml de
THF seco. La solución se agita y enfría a -20° . Se añaden su-
10 cesivamente 1,6 g (16 milimoles) de N-metilmorfolina y 2,3 g
(16,8 milimoles) de cloroformiato de isobutilo enfriados a
 -20° , a una velocidad tal que la temperatura de la mezcla no
pasa de unos -10° . Después la mezcla resultante se agita du-
rante 20 minutos entre -12 y -15° . A continuación se enfría
15 a -20° y se agrega de una sola vez la solución en THF del áci-
do 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxí-
lico sililado. La temperatura asciende hasta unos -12° . Se
interrumpe el enfriamiento externo hasta que la temperatura
sube a 0° . En este momento se aplica un baño de agua de hielo
20 y la mezcla se agita durante 3 horas a $2-3^{\circ}$. Esta agitación
va seguida de un periodo de 1 hora sin enfriamiento externo,
aumentando la temperatura hasta 20° . Se añaden un total de
30 ml de metanol y se continúa agitando durante 15 minutos a
la temperatura ambiente. Después de evaporar los disolventes
25 a presión reducida, el residuo se suspende en 300 ml de ace-
tato de etilo. Se filtra el sólido suspendido que pesa 11,8 g
(que se conserva como Sólido A para utilizarlo en el Ejem-
plo 6 dado más adelante).

30 La solución en acetato de etilo se extrae tres veces
con solución de bicarbonato sódico al 5 %. Los extractos com-



1 binados en bicarbonato sódico se enfrían en un baño de hielo,
se cubren con acetato de etilo y se acidulan a pH 2,5 con
H₂PO₄ a 42,5 %. Se agitan las fases y después se separan. A
5 continuación se seca la solución en acetato de etilo pasándo-
la a través de sulfato sódico y después se evapora hasta unos
15-20 ml. Después esta solución se agrega gota a gota sobre
unos 400 ml de ciclohexano agitado contenidos en un Erlenme-
yer. Después de agitar durante media hora, el sólido precipi-
tado se recoge por filtración. El sólido recogido, ácido

10 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-
3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico, se
seca al aire. Pesa 1,75 g.

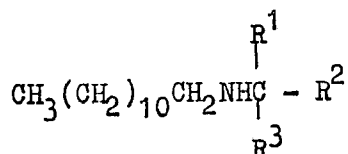
Acido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-tria-
zol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico

15 Se disuelven con agitación un total de 1,55 g (2,75
milimoles) de ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hi-
droxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-
4-carboxílico en 20 ml de CF₃COOH enfriado en hielo. Se con-
tinúa agitando durante 15 minutos con enfriamiento y durante
20 5 minutos más sin enfriar. Después la solución se vierte en
300 ml de una mezcla 2:1 agitada y fría de "Skellysolve B"
y éter. El sólido obtenido se recoge por filtración. Se agre-
ga el sólido a una mezcla fuertemente agitada de 40 ml de re-
sina LA-1 (forma acetato) en tolueno, 40 ml de tolueno y
25 120 ml de agua. La mezcla resultante se agita durante 3 horas
a la temperatura ambiente. Se separa la fase acuosa y la fase
toluénica se lava una vez con 40 ml de agua. Las fases acuo-
sas combinadas se extraen tres veces con tolueno y cinco ve-
ces con éter. Después la solución se liofiliza para dar
30 0,76 g de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-



1 (1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. Los espectros IR y RMN (realizados sobre los 100 MHz) concuerdan con la estructura.

5 La resina LA-1 es una mezcla de aminas secundarias donde cada una de las aminas responde a la fórmula:



10 donde R¹, R² y R³ son radicales hidrocarbonados alifáticos monovalentes y contienen un total de 11 a 14 átomos de carbono. Esta mezcla particular de aminas secundarias, que algunas veces es denominada en estos ejemplos "Mezcla líquida de aminas nº II" es un líquido ambarino transparente con las siguientes características físicas: viscosidad a 25°C: 70 cpd;

15 peso específico 20°C: 0,826; índice de refracción a 25°C: 1,4554; intervalo de destilación a 10 mm, hasta 170°C - 0,5 %, 170-220°C - 3 %, 220-230°C - 90 % y por encima de 230°C - 6,5 %.

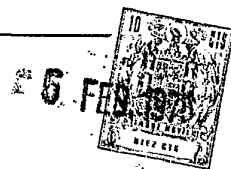
EJEMPLO 2

20 Acido 7-[D-α-amino-α-(p-hidroxifenil)acetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico

A una suspensión agitada de 93,9 g (0,3 moles) de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico en 1400 ml de CH₂Cl₂ seco se añaden 81 ml (0,58 moles) de trietilamina seguido de 50 ml (0,39 moles) de N,N-dimetilani-

25 lina. Después de enfriar a 12°C, se añaden 76,2 ml (0,6 moles) de trimetilclorosilano durante un periodo de 15 minutos. Al cabo de otros 15 minutos, la mezcla se lleva lentamente a reflujo y, después de 45 minutos de reflujo, la solución casi

30 transparente se enfría a 5°C y después se añaden poco a poco,



1 a lo largo de un periodo de 30 minutos, 0,354 moles de hidro-
cloruro de cloruro de D-(-)- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetilo.
La mezcla se agita durante 1 hora a 5°C y 1 hora con el baño
de hielo retirado (temperatura máxima: 18°C). Se añade 1 li-
5 tro de agua y, con buena agitación, el pH se ajusta lentamen-
te a 2,2 con NaOH al 20 %. Se separa la fase acuosa y la capa
de CH₂Cl₂ y la goma precipitada se desprecian. Bajo una capa
de 1 litro de éter, se ajusta el pH de la solución a 2 con
buena agitación. La fase acuosa se agita durante 15 minutos
10 con 20 g de carbón "Darco KB", se filtra y se ajusta el pH a
4 bajo una capa de 1 litro de éter limpio. Después de sembrar
y agitar durante 1 hora a 20°C, se filtran los cristales, se
lavan bien con agua y después con acetona y se secan al aire.
Después de secar a vacío sobre P₂O₅, se obtiene ácido 7-[D- α -
15 amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)-
tiometil]-3-cefem-4-carboxílico sólido.

EJEMPLO 3

Acido 7-[D- α -amino-p-hidroxifenilacetamido]-3-[S-(1,2,3-tria-
zol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico

20 A una suspensión agitada de 0,02 moles de D- α -[1-
carbometoxipropen-2-il)amino-p-hidroxifenil]acetato sódico en
50 ml de acetonitrilo se añaden dos gotas de N,N-dimetilben-
cilamina y la suspensión se enfría y agita a -10°C mientras
se añaden 2,14 g (0,02 moles) de cloroformiato de etilo. Al
25 cabo de 20 minutos a -10°C, se añade de una sola vez, con in-
tensa agitación, una solución de 6,26 g (0,02 moles) de ácido
7-amino-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxí-
lico, 2,8 ml (0,02 moles) de trietilamina, 40 ml de acetoni-
trilo y 40 ml de agua, previamente enfriada a 0°C. Al cabo de
30 45 minutos a 0°C, la solución se satura con sal (exceso de



1 NaCl) durante 15 minutos. Se separa la capa orgánica (superior) y a la misma se añaden 40 ml de agua, y la solución resultante se concentra a vacío a 20°C hasta un volumen de unos

5 50 ml. A esta solución se añade otra de 70 ml de metil-isobutil-cetona (MIBC) y 8 ml de ácido fórmico al 90 %. La mezcla se sacude primero y después se agita a 0°C durante 3 horas. A continuación se separa la fase acuosa y luego se agita durante 30 minutos con 70 ml de MIBC limpia a 0°C y se separa de nuevo. La fase acuosa se concentra entonces hasta casi sequedad a 20°C bajo presión reducida. Después el aceite residual se tritura con acetonitrilo hasta que solidifica. El sólido se recoge por filtración, se seca al aire y después se

10 seca a vacío sobre P₂O₅ durante 14 horas para dar ácido 7-[D-α-amino-α-p-hidroxifenilacetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico sólido. Este material

15 presenta indicios de impurezas. Estas se separan disolviendo el material en 25 ml de agua, filtrando, ajustando el pH a 1,5 con H₃PO₄ al 40 %, agregando 1 g de carbón decolorante "Darco KB", agitando durante 10 minutos, filtrando a través

20 de tierra de diatomeas ("Dicalite") como auxiliar de filtración y ajustando a pH 2,5 con bicarbonato sódico sólido. A continuación, la solución blanca transparente se concentra hasta un volumen de unos 15 ml y el precipitado blanco se recoge por filtración, se seca al aire y después se seca a vacío sobre P₂O₅. El producto amorfo soluble en agua, ácido

25 7-[D-α-amino-α-p-hidroxifenilacetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico, no presenta ningún indicio de contaminación significativa.

30



1

EJEMPLO 4

7-[D-(α -amino- α -p-hidroxifenilacetamido)]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxilato sódico

5

A una suspensión acuosa agitada de la forma zwitteriónica del ácido 7-[D-(α -amino- α -p-hidroxifenilacetamido)]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)metil]-3-cefem-4-carboxílico (0,8 milimoles) se añade hidróxido sódico acuoso 1 N a la temperatura ambiente hasta que se obtiene una solución transparente (pH 10,8). Esta solución se liofiliza inmediatamente para dar

10

7-[D-(α -amino- α -p-hidroxifenilacetamido)]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxilato sódico sólido impuro.

EJEMPLO 5

15

Acido 7-[D-(-) α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico.

20

A una suspensión agitada de 16 g (0,05 moles) de ácido 7-amino-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico en 150 ml de cloruro de metileno se añaden 13,5 ml (0,092 moles) de trietilamina, 15 ml (0,118 moles) de N,N-dimetilanilina y, con enfriamiento (7 a 15°C), 19,1 ml (0,15 moles) de trimetilclorosilano. Al cabo de 15 minutos de enfriamiento, la mezcla se calienta a reflujo durante 25 minutos, se enfría a 5°C y se añaden 0,061 moles de hidrocioruro de cloruro de D-(-) α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetilo. La mezcla se agita a 10-12°C durante 1 hora y después se añaden 150 ml de agua y, al cabo de 15 minutos de agitación, se filtra la mezcla, se separa la fase acuosa, se ajusta el pH a 2 con NaOH al 20 %, se añaden 10 g de carbón "Darco KB", y después de agitar durante 15 minutos se filtra la mezcla. La solución de color amarillo pálido se cubre con 150 ml de éter

25

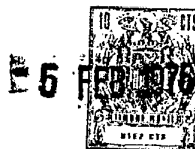
30



1 y, con buena agitación, se ajusta el pH a 4 con NaOH al 20 %.
Se separa la fase acuosa, se filtra y se añaden 50 ml de ace-
tonitrilo. Rascando las paredes o sembrando se induce la cris-
talización obteniéndose el ácido 7-[D-(-)- α -amino- α -(p-hidro-
5 xifenil)acetamido]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-
4-carboxílico sólido.

EJEMPLO 6

Por análisis infrarrojo se encuentra que el material
descrito en el Ejemplo 1 como Sólido A no es ácido 7-amino-3-
10 (1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico puro sino
una mezcla de varios componentes, entre ellos el ácido 7-[D-
 α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-
(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. Este últi-
mo material se aísla en la siguiente forma. Se suspenden
15 9,7 g de la mezcla pura en 100 ml de acetato de etilo y
100 ml de agua. La suspensión se agita y enfría. El pH de la
suspensión se ajusta a 8,5 con una solución 2 N de NaOH. Se
separa la fase acuosa y la solución en acetato de etilo se
extrae una vez más con 25 ml de solución de bicarbonato sódico
20 co al 5 %. Las fases acuosas combinadas se cubren con 200 ml
de acetato de etilo y el pH de la mezcla se ajusta a 2 con
 H_3PO_4 al 42,5 %. La mezcla se libera de un sólido que contiene
la interfase por filtración y se separa la fase de acetato
de etilo. Se repite la extracción y los extractos combinados
25 en acetato de etilo se secan sobre sulfato sódico, evaporan-
do el disolvente para dar 4,27 g de una espuma. El espectro
IR concuerda con la estructura del ácido 7-[2- α -terc-butoxi-
carbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-
5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. Sin embargo, la cromato-
30 grafía en capa fina indica la presencia de ácido D- α -terc-



1 butoxycarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acético. Por lo tanto,
el material se disuelve en 100 ml de solución de bicarbonato
sódico al 5 % y se cubre con 100 ml de acetato de etilo. La
mezcla se acidula a pH 2 con H_3PO_4 a 42,5 %. La solución en
5 acetato de etilo se seca y evapora a sequedad hasta formar un
jarabe espeso. Este se redisuelve en 20 ml de acetato de etilo
y la solución se agrega gota a gota sobre 1000 ml de ciclohexa-
no agitado. El sólido se recoge por filtración, 3,5 g. La cro-
matografía en capa fina indica que está exento del aminoácido
10 de partida.

Se disuelven 3,5 g de ácido 7-[D- α -terc-butoxicar-
bonilamino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-
iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico en 80 ml de HCOOH al 98-
100 % y se agita durante 2 horas a la temperatura ambiente.
15 El HCOOH se evapora a presión reducida (temperatura del baño
aspirador no superior a 40°) y finalmente se destila azeotró-
picamente tres veces con 30 ml de tolueno. El sólido se seca
durante la noche bajo alto vacío sobre P_2O_5 . Se obtiene un
total de 3,5 g de espuma. Se agitan 2 g de esta espuma con
20 300 ml de una mezcla 8:2 de agua y metanol. Se filtra el di-
solvente para separarle de 0,3 g de sólido, se trata con
700 mg de carbón "Darko KB", se filtra a través de tierra de
diatomeas ("Celite") y se liofiliza para dar 0,9 g de ácido
25 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-
iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. Para cristalizar se sigue
el siguiente procedimiento. Una suspensión de 0,2 g del mate-
rial crudo en 6 ml de metanol al 99 % se calienta en un tubo
de ensayo a ebullición. Inmediatamente se interrumpe la ca-
lefacción y la masa fundida se tritura con cristales de siem-
bra. El fundido solidifica dando una masa cristalina. De esta
30



1 manera se obtiene un total de 0,211 g de ácido 7-[D- α -amino-
 α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-
3-cefem-4-carboxílico a partir de 0,400 g de material crudo.
El material se seca a 56°/0,1 mm sobre P₂O₅ durante 20 horas,
5 p.f. > 200° (desc.). Los espectros IR y RMN concuerdan con la
estructura. El RMN indica también la presencia de 1/3 moles
de metanol.

Análisis para C₁₈H₁₈N₆O₅S₂.H₂O.1/3 CH₃OH:

Calculado: C, 44,83; H, 4,38; N, 17,10; S, 13,09.

10 Encontrado: C, 43,97; H, 4,36; N, 15,84; S, 6,18.

EJEMPLO 7

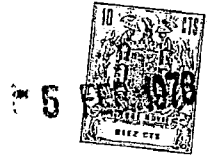
A. Acido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)-
acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-car-
boxílico

15 A una suspensión de 12,0 g (38,0 milimoles) de ácido
7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico
en 200 ml de cloruro de metileno seco, en un aparato de vi-
drio secado en estufa, se añaden 17 ml (81,8 milimoles) de
1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano. La mezcla se agita y calienta
20 a reflujo hasta que se obtiene una solución transparente
(2 horas) y después durante 1 hora más. Se evapora el disol-
vente y el aceite residual se somete a alto vacío durante la
noche, a la temperatura ambiente. La espuma residual se di-
suelve en 170 ml de tetrahidrofurano seco y se enfría a 0°
25 antes de su introducción en la siguiente mezcla de reacción.

Se disuelven 8,8 g (33 milimoles) de ácido D- α -terc-
butoxicarbonilamino- α -(4-hidroxifenil)acético en 290 ml de
THF. La solución se agita y enfría a -20°. Se añaden a la
mezcla sucesivamente 3,2 g de N-metilmorfolina y 4,6 g de
30 cloroformiato de isobutilo, teniendo cuidado de que la tempe-



1 ratura de la mezcla no pase de -10° . La mezcla resultante se
agita durante 20 minutos entre -12 y -15° . Después se enfría
a -20° y la solución en THF anterior del material sililado
se introduce de una sola vez, ascendiendo la temperatura has-
5 ta unos -12° . Se interrumpe el enfriamiento externo hasta que
la temperatura asciende a 0° . En ese momento se aplica un
baño de agua de hielo y la mezcla se agita durante 3 horas
a $2-3^{\circ}$. Después se agita durante 1 hora sin enfriamiento ex-
terno, ascendiendo la temperatura a 20° . Se añade un total de
10 60 ml de metanol y se continúa agitando durante 15 minutos a
la temperatura ambiente. Después la mezcla de reacción se
transfiere a un matraz de fondo redondo y se evapora a pre-
sión reducida. El residuo se suspende en 500 ml de acetato de
15 de bicarbonato sódico al 5 %. Los extractos combinados en bi-
carbonato sódico se lavan de nuevo una vez con acetato de eti-
lo. Se combinan las soluciones en acetato de etilo y se secan
sobre sulfato sódico, después se evaporan a sequedad obtenién-
dose 5,11 g. La solución en bicarbonato sódico se cubre con
20 acetato de etilo y el pH de la mezcla se ajusta a 2 con H_3PO_4
al 42,5 %. Se forma un sólido en la interfase que se recoge
por filtración. Se separa la capa de acetato de etilo y la fa-
se acuosa se extrae una vez más con acetato de etilo. Los ex-
tractos combinados se secan sobre sulfato sódico y la solución
25 se evapora hasta 200 ml. Se añade gota a gota sobre 2000 ml
de ciclohexano agitado, produciéndose un precipitado. El sólido
se recoge por filtración, se lava con ciclohexano y se
seca al aire dando 6,55 g de ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonil-
amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltio-
30 metil)-3-cefem-4-carboxílico.



1 B. Acido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-
triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico

5 Se disuelve un total de 6,5 g (11,55 milimoles) de
ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)aceta-
mido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico en
175 ml de ácido fórmico al 98-100 %, en condiciones anhidras.
La mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 2,5 ho-
ras. Se evaporan 125 ml de la solución a presión reducida has-
ta dar un aceite amarillo. Después el aceite se destila azeo-
trópicamente tres veces con 70 ml de tolueno, bajo presión
10 reducida. El residuo se suspende en 700 ml de una solución
80:20 de agua y metanol y se agita durante media hora hasta
que se ha disuelto la mayor parte del sólido y después se fil-
tra. El filtrado se trata con 1,5 g de carbón "Darco" durante
unos 20 minutos. Se filtra el carbón a través de una capa de
15 "Celite". Después la solución se liofiliza en 8 matraces dis-
tintos de fondo redondo de 100 ml. El material liofilizado
pesa 2,415 g. Se recristaliza por lotes de 0,200 g como se
ha descrito en el Ejemplo 6 para dar un total de 0,923 g de
20 ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-
triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. El espectro RMN
concuerda, indicando la presencia de 1/3 moles de CH₃OH.

25 Análisis: para C₁₈H₁₈N₆O₅S₂.H₂O.1/3 CH₃OH:
Calculado: C, 44,83; H, 4,38; N, 17,10; S, 13,09
Encontrado: C, 45,77, 44,36; H, 4,44, 4,34; N, 16,61,
16,52; S, 13,01, 13,01.

EJEMPLO 8

30 A. Acido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)-
acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carbo-
xílico

Este ácido se prepara como se ha descrito en el Ejem-



1 plo 7 a partir de 31,10 g de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-
5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico, 44,7 ml de 1,1,1,3,3,3-
hexametildisilazano para el éster silílico y 23,2 g de ácido
D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)acético,
5 8,42 g de N-metilmorfolina, 12,1 g de cloroformiato de isobu-
tilo como anhídrido mixto. Así, se obtiene un total de 13,8 g
de ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxifenil)-
acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxí-
lico.

10 B. Acido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-
triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico

Se disuelven 13,8 g del ácido 7-[D- α -terc-butocicar-
bonilamino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-
iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico anterior en 370 ml de
15 OCOOH, al 98-100 %. Después de evaporar y destilar azeotró-
picamente como se ha descrito en el Ejemplo 7, el sólido se
agita con 2000 ml de agua. Se filtra la solución y se liofi-
liza para dar 7,0 g de sólido. Se realiza la cristalización
en lotes de 0,2 g en metanol al 99 %, en la forma antes des-
20 crita, partiendo de 6,4 g de material crudo. De esta forma,
se obtiene un total de 2,075 g de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-
hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-
cefem-4-carboxílico cristalino. Los espectros IR y RMN con-
cuerdan con la estructura.

25 Análisis para $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2 \cdot H_2O \cdot 1/3 CH_3OH$:

Calculado: C, 44,83; H, 4,38; N, 17,10; S, 13,09.

Encontrado: C, 44,68; H, 4,08; N, 16,55; S, 12,69.

Se encuentra que las muestras preparadas en los Ejem-
30 plos 6, 7 y 8 de ácido 7-[D- α -aminofenilacetamido]-3-(1,2,3-
triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico (denominado



1 BL-S640), después de disolver en agua y diluir con caldo nu-
 5 tritivo, presentan los siguientes valores de las concentra-
 ciones mínimas de inhibición (C.M.I.) en mcg/ml frente a
 los microorganismos indicados, determinadas por incubación
 durante la noche a 37°C mediante el método de dilución en
 tubos. Se incluye una cefalosporina antigua, absorbida por
 vía oral (cefalexina). Se realizan dos pruebas.

TABLA I

		<u>C.M.I. en mcg/ml</u>			
<u>Organismo</u>		<u>BL-S640</u> <u>Ej. 6</u>	<u>BL-S640</u> <u>Ej. 7</u>	<u>BL-S640</u> <u>Ej. 8</u>	<u>Cefale</u> <u>xina</u>
D. pneumoniae + 5% suero*	A9585	0,04 0,02	0,16 0,04	- 0,02	1,3 0,3
Str. Pyogenes + 5% suero*	A9604	0,02 0,02	0,08 0,04	- 0,02	0,6 0,3
S. aureus Smith†	A9537	0,3 0,3	0,3 0,3	- 0,3	1,3 1,3
S. aureus Smith† + 50 % suero	A9537	2 2	2 2	- 2	2,5 2,5
S. aureus BX1633-2 a dilución de 10 ⁻³	A9606	1,3 0,6	1,6 0,6	- 0,6	4 2
S. aureus BX1633-2 a dilución de 10 ⁻²	A9606	4 4	8 4	- 4	8 4
S. aureus resisten te a la metioni- na a dilución de 10 ⁻³	A15097	8 4	8 4	- 4	32 32
S. aureus a dilu- ción de 10 ⁻³	A9748	8 4	8 4	- 4	32 32
S. aureus a dilu- ción de 10 ⁻²	A9748	32 63	63 32	- 63	125 125
Sal. enteritidis†	A9531	0,6 0,3	0,6 0,3	- 0,3	4 2
E. coli Juhl†	A15119	0,5 1	1 1	- 1	8 4



1

TABLA I (continuación)

<u>Organismo</u>		<u>BL-S640</u> <u>Ej. 6</u>	<u>BL-S640</u> <u>Ej. 7</u>	<u>BL-S640</u> <u>Ej. 8</u>	<u>Cefalexina</u>
E. coli†	A9675	4 4	4 4	- 4	16 16
5 K. pneumoniae†	A9977	0,5 0,5	0,5 0,5	- 0,5	8 4
K. pneumoniae†	A15130	1 2	2 2	- 2	16 16
Pr. mirabilis†	A9900	0,5 0,5	0,5 0,5	- 0,5	8 4
10 Pr. morgani†	A15153	16 16	32 32	- 32	>125 >125
Ps. aeruginosa†	A9843A	>125 >125	>125 >125	- >125	>125 >125
Ser. marcescens†	A20019	125 >125	125 >125	- >125	>125 >125

15

* caldo nutritivo al 50 % - caldo de ensayos de antibióticos al 45 %.

† a dilución de 10⁻⁴.

TABLA II

20

Niveles en sangre en ratones, por vía oral y porcentaje de combinación en suero de BL-S640, BL-S447 y cefalexina

<u>Compuestos</u>	<u>Niveles en sangre en ratones (µg/ml). Horas después de la administración*</u>				<u>Combinación con la proteína sérica humana, %</u>
	<u>0,5</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3,5</u>	
Cefalexina	43,2	26,5	9,2	2,2	30
25 BL-S447	19,3	19,3	13,4	4,8	68
BL-S640	34,0	29,7	12,8	5,5	48, 54, 57

* Dosis oral única de 100 mg/kg.

30 El BL-S447 es el ácido 7-[D-(α-amino-3-tienilacetamido)]-3-[S-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil]-3-cefem-4-carboxílico; está descrito en la patente belga 778.207.



TABLA III

Evaluación oral de BL-S640, BL-S447 y cefalexina en infecciones experimentales de ratones con organismos Gram-positivos

Organismo	Ataque (Nº de organismos)	Nº de tratamientos	DP ₅₀ (mg/kg/tratamiento)*		
			BL-S640	BL-S447	Cefalexina
D. pneumoniae A9585	2 x 10 ³	2	0,7	6	30
	4 x 10 ³	2	0,7	9,4	52
S. aureus A9606 (P ⁺)	1 x 10 ⁹	4	18	>200	18
	2 x 10 ⁹	2	90	>200	13
	2 x 10 ⁹	2	130	>200	30
	2 x 10 ⁹	4	52	94	18
S. aureus A20405 (P ⁺)	3 x 10 ⁶	2	14	23	7,4
		4	3	15	3
	4 x 10 ⁶	2	32	23	7,5
		4	3	3	3
S. pyogenes A9604	9 x 10 ³	2	0,2	3	4,5
	2 x 10 ⁴	2	0,1	2,3	3,6

* En las infecciones por D. pneumoniae y Streptococcus, los animales fueron tratados al cabo de 1 y 3,5 horas después del ataque.

El régimen de tratamiento para las infecciones de Staphylococcus consistía en lo siguiente:

2x - 0 y 2 horas después del ataque,

4x - 0, 0,5, 1 y 2 horas después del ataque.





1

TABLA IV

Evaluación oral de BL-S640, BL-S447 y cefalexina en infecciones experimentales de ratones con organismos Gram-negativos

Organismo	Ataque (Nº de organismos)	DP ₅₀ (mg/kg/tratamiento)*		
		BL-S640	BL-S447	Cefalexina
E. coli A9675	7 x 10 ⁴	1,8	5,3	18
K. pneumoniae A9977	2 x 10 ⁴	1,4	7,0	60
P. mirabilis A9900	8 x 10 ⁵	0,72	2,1	32
P. mirabilis A20454	2 x 10 ⁶	1,2	3,7	90

* En las infecciones anteriores, los animales fueron tratados dos veces: 1 y 3,5 horas después del ataque.

15

TABLA V

Niveles medios en sangre en el ratón, por vía oral, de BL-S640 y cefalexina a diversas dosis

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Nº de ratones en el ensayo	Niveles en sangre (mcg/ml)			
			0,5	1	2	3,5
BL-S640	100	3	36,0	29,1	15,3	7,0
Cefalexina	100	2	42,1	30,0	9,5	2,7
BL-S640	50	2	25,3	19,4	9,6	4,6
Cefalexina	50	2	26,2	16,2	4,9	1,4
BL-S640	25	5	16,7	14,4	8,5	3,9
Cefalexina	25	4	15,0	8,6	3,9	0,9
BL-S640	12,5	4	8,8	8,0	4,9	2,4
Cefalexina	12,5	4	7,4	4,0	1,2	<0,6

30



1

TABLA V (continuación)

<u>Compuesto</u>	<u>Dosis (mg/kg)</u>	<u>Nº de ratones en el ensayo</u>	<u>Niveles en sangre (mcg/ml)</u>			
			<u>0,5</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3,5</u>
BL-S640	6,25	2	5,2	5,5	3,9	2,4
Cefalexina	6,25	2	3,6	1,7	<0,6	<0,6
BL-S640	3,1	2	3,3	3,5	2,5	1,5
Cefalexina	3,1	2	1,6	0,8	<0,6	<0,6

5

10

Por lo tanto, en este experimento, el BL-S640 es superior a la cefalexina tanto en magnitud como en duración de los niveles en sangre.

15

20

25

30

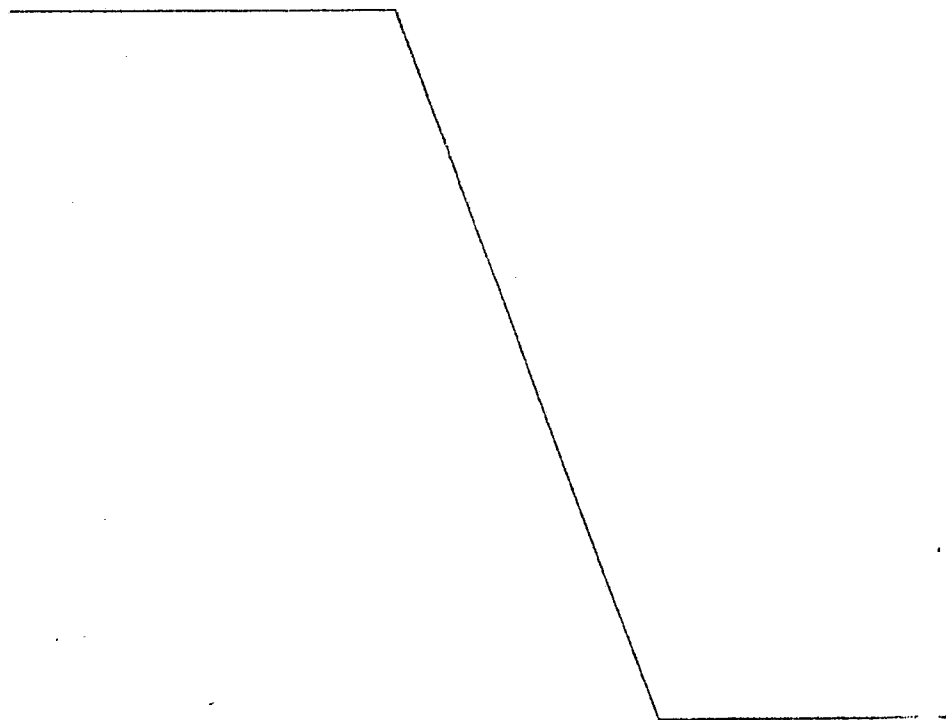


TABLA VI

Eficacia comparativa del BL-S640 y otras diversas cefalosporinas, administradas subcutáneamente, en ratones infectados por organismos Gram-negativos

Organismo	Número de ratones de organismos	Número de tratamientos	DP ₅₀ (mg/kg/tratamiento) *		Cefaloridina	Cefazolina
			BL-S640 ^{xx}	Cefalexina		
Proteus morganii	8 x 10 ⁵	2	33	-	>500	170
Proteus rettgeri	5 x 10 ⁵	2	9	-	88	45
	4 x 10 ⁶	2	29	-	150	110
	1 x 10 ⁷	2	18	58	88	28
Escherichia coli	6 x 10 ⁴	2	3,0	8	220	9
	1 x 10 ⁵	2	1,0	-	78	9
Enterobacter cloacae	5 x 10 ⁴	2	0,8	-	>500	220
	6 x 10 ⁵	2	4,0	-	>500	320
Enterobacter cloacae	1 x 10 ⁴	2	20	-	>500	>500
	7 x 10 ⁴	2	7	66	>500	>500
Enterobacter cloacae	4 x 10 ⁶	2	35	-	>50	>50
	4 x 10 ⁶	2	23	-	>250	170

* En las infecciones anteriores, los animales fueron tratados dos veces: 1 y 3,5 horas después del ataque.

^{xx} Administrada como solución de 10-20 mg/ml del zwitterion en agua conteniendo citrato sódico, Tween 40 y CMC (carboximetilcelulosa). Este diluyente tiene la siguiente fórmula:

- Tween 40 0,0093 g
- Citrato sódico anhidro 0,0057 g
- CMC 0,004 g
- Agua c.s. para 1 ml.



TABLA VI

Eficacia comparativa del BL-S640 y otras diversas cefalosporinas, administrados por organismos Gram-negativ

Organismo	Ataque, número de organismos	Número de tratamientos	BL-S640**
Proteus morganii A15153	8 x 10 ⁵	2	33
Proteus rettgeri A151672	5 x 10 ⁵	2	9
	4 x 10 ⁶	2	29
	1 x 10 ⁷	2	18
Escherichia coli A9675	6 x 10 ⁴	2	3,0
	1 x 10 ⁵	2	1,0
Enterobacter cloacae A9659	5 x 10 ⁴	2	0,8
	6 x 10 ⁵	2	4,0
Enterobacter cloacae A20464	1 x 10 ⁴	2	20
	7 x 10 ⁴	2	7
Enterobacter cloacae A9667	4 x 10 ⁶	2	35
	4 x 10 ⁶	2	23

* En las infecciones anteriores, los animales fueron tratados dos veces

** Administrada como solución de 10-20 mg/ml del zwitterion en agua cont (cáboximetilcelulosa). Este diluyente tiene la siguiente fórmula:

- Tween 40 0,0093 g
- Citrato sódico anhidro 0,0057 g
- CMC 0,004 g
- Agua c.s. para 1 ml.



TABLA VI

versas cefalosporinas, administradas subcutáneamente, en ratones infec-
por organismos Gram-negativos

me- mos	Número de tra- tamientos	DP ₅₀ (mg/kg/tratamiento) *				
		BL-S640 ^{**}	Cefalexina	Cefalo- tina	Cefalori- dina	Cefazolina
	2	33	-	>500	170	47
	2	9	-	88	45	9
	2	29	-	150	110	45
	2	18	58	88	28	9
	2	3,0	8	220	9	10
	2	1,0	-	78	9	16
	2	0,8	-	>500	220	78
	2	4,0	-	>500	320	320
	2	20	-	>500	>500	-
	2	7	66	>500	>500	340
	2	35	-	>50	>50	>50
	2	23	-	>250	170	>200

Les fueron tratados dos veces: 1 y 3,5 horas después del ataque.

El del zwitterion en agua conteniendo citrato sódico, Tween 40 y CMC tiene la siguiente fórmula:

093 g

057 g

04 g



TABLA VII

Niveles en sangre en ratones de BL-S640, cefaloridina, cefalotina y cefazolina, por vía intramuscular, a una dosis de 10 mg/kg de peso corporal

Compuesto	<u>Niveles en sangre (mcg/ml)</u>			
	<u>Horas después de la administración</u>			
	<u>0,25</u>	<u>0,5</u>	<u>1</u>	<u>1,5</u>
BL-S640	19,7	14,9	9,9	6,8
	<u>19,6</u>	<u>16,2</u>	<u>8,6</u>	<u>5,3</u>
Promedio	19,7	15,6	9,3	6,1
Cefaloridina	13,7	9,2	3,0	1,3
	<u>13,5</u>	<u>7,2</u>	<u>2,4</u>	<u>1,0</u>
Promedio	13,6	8,2	2,7	1,2
Cefalotina	6,6	3,0	<2,0	<2,0
	<u>5,4</u>	<u>2,8</u>	<u>1,2</u>	<u><1,2</u>
Promedio	6,0	2,9	<1,6	<1,6
Cefazolina	16,9	13,1	5,1	3,1
	<u>15,1</u>	<u>12,9</u>	<u>4,1</u>	<u>2,2</u>
Promedio	16,0	13,0	4,6	2,7

EJEMPLO 9

Purificación de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico (crystalización en metanol)

Se disuelven 400 mg de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico amorfo en una mezcla caliente de 95 % de metanol y agua (20 ml), se filtra y se rascan las paredes. Al cabo de 4 horas, la sustancia cristalina blanca se recoge por filtra-



1 ción, se lava con metanol y se seca al aire. Después de secar
sobre P_2O_5 se obtienen 100 mg; punto de descomposición: 190-
220°C, indefinido. El espectro RMN concuerda con la estructu-
5 ra deseada e indica la presencia de alrededor de 1 mol de me-
tanol.

Análisis para $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$:

Calculado: C, 46,65; H, 3,91; N, 18,14

Encontrado: C, 44,23; H, 4,64; N, 15,35

(En este análisis no se ha corregido el 5,99 % de
10 agua encontrada por el método de Karl Fisher ni tampoco se ha
realizado la corrección correspondiente al metanol).

EJEMPLO 10

Preparación de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-
3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico a través
15 del hidrocloreuro de cloruro de ácido

A una suspensión agitada de 6,26 g (0,02 moles) de
ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil-3-cefem-4-carbo-
xílico en 150 ml de CH_2Cl_2 se añaden gota a gota 5,6 ml
(0,04 moles) de trietilamina, 5 ml de N,N-dimetilanilina y
20 7,62 ml (0,06 moles) de clorotrimetilsilano y después la mez-
cla se lleva lentamente a reflujo y se refluje durante hora y
media aproximadamente. Se obtiene una solución casi transpa-
rente. A continuación se añaden poco a poco 4,44 g (0,02 mo-
les) de hidrocloreuro de cloruro de D-(-)-2-(4-hidroxifenil)-
25 glicina a 22°C, durante un periodo de 30 minutos. Al cabo de
2 horas de agitación a 22°C, se añaden 20 ml de metanol y al
cabo de 30 minutos se agregan 50 ml de agua con buena agita-
ción. Después se ajusta el pH a 2,1 con NaOH al 20 % y se
filtra el sólido. A continuación se separa la capa acuosa y
30 se agita durante 10 minutos con 2 g de carbón decolorante



1 ("Darco KB"), se filtra y se ajusta el pH a 4 con NaOH al 20 %
bajo una capa de éter de 50 ml. Se separa la fase acuosa, se
agrega un volumen igual de metanol y se siembra la solución.
Después de permanecer en reposo durante la noche a unos 10°C,
5 se obtienen 400 mg de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)-
acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxí-
lico.

EJEMPLO 11

10 Aquí se describe un procedimiento para la prepara-
ción de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-
(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico a partir
de ácido D-(-)- α -(terc-butoxicarbonilamino)- α -(4-hidroxifenil)-
acético a través de un anhídrido mixto utilizando un sistema
disolvente semiacuoso.

15 Acido 7-[D- α -amino- α -(4-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-tria-
zol-5-il)tiometil-3-cefem-4-carboxílico

A una solución de 1,34 g (5 milimoles) de ácido
D- α -(terc-butoxicarbonilamino)- α -(4-hidroxifenil)acético y
0,55 g (5 milimoles) de N-metilmorfolina en 25 ml de tetrahi-
drofurano seco a -12° se añaden 0,68 g (5 milimoles) de cloro-
20 formiato de isobutilo. El anhídrido mixto resultante se agita
durante 3 minutos entre -12 y -15°. A e s t e se añade con
agitación una solución enfriada (+5°) de 1,57 g (5 milimoles)
de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil-3-cefem-4-
25 carboxílico en 25 ml de agua conteniendo 1,1,3,3-tetrametil-
guanidina suficiente para dar un pH de 7,3. La mezcla de reac-
ción se agita durante 5 minutos a 0-5° y durante 1 hora sin
enfriamiento externo. El tetrahidrofurano se separa a presión
reducida y el residuo acuoso se agita con 50 ml de acetato de
30 etilo mientras se añade ácido clorhídrico 6 N hasta pH 2,5.



1 Se separa por filtración la materia insoluble y la fase acuosa del filtrado se separa y extrae dos veces con 50 ml cada vez de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavan con agua fría, se secan sobre sulfato magnésico y se
5 evaporan a sequedad. El residuo se disuelve en 10 ml de acetato de etilo y se agrega gota a gota con intensa agitación sobre 150 ml de ciclohexano. El producto se separa como una goma que se solidifica por trituración con "Skellysolve B" conteniendo un poco de éter. Este sólido se disuelve en 25 ml
10 de ácido fórmico al 97 % y la solución se agita durante 2 horas y después se evapora a sequedad bajo presión reducida. El residuo se suspende en tolueno y de nuevo se evapora a sequedad. Se disuelve el residuo en 20 ml de agua y se filtra; después se liofiliza el filtrado. El sólido se suspende en 20 ml
15 de metanol caliente conteniendo dos gotas de agua y la materia insoluble se separa por filtración. Al enfriar el filtrado se obtiene el compuesto del título como sólido cristalino. El espectro infrarrojo (disco de KBr) presenta máximos de absorción (cm^{-1}) a 1775 (carbonilo de β -lactama), 1700 (carbonilo de amida), 1600, 1390 (carboxilato). El espectro RMN de
20 una solución del producto en óxido de deuterio conteniendo cloruro de deuterio presenta absorciones [ppm (δ) de tetrametilsilano] que son atribuidas como sigue: singlete (1H) a 7,94 debido al protón triazólico; cuartete AB (4H) centrado a 7,20 para los protones aromáticos; dobletes centrados en 5,65 (1H) y 5,10 (1H) para los protones de β -lactama; singlete (1H) a 5,22 debido al protón bencílico; superposición de cuartetes AB (4H) centrados en 3,92 y 3,56 para los dos grupos metileno; singlete a 3,36, debido al solvato metanólico.
25
30

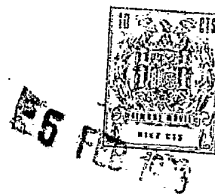


1976

EJEMPLO 12

Preparación de ácido 7-[D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)acetamido]
3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico por el
proceso de enamino-anhídrido mixto

Se agitan a -19°C 150 ml de acetonitrilo seco mientras se añaden 5 ml (0,05 moles) de cloroformiato de etilo seguido de 7,5 ml de N-metilmorfolina al 1 % en acetonitrilo y seguido también de 14,35 g (0,05 moles) de D-(-)-N-(2-metoxycarbonil-1-metilvinil)- α -amino- α -(4-hidroxifenil)acetato sódico. La mezcla se agita durante 1 hora entre -18 y -20°C . Simultáneamente, mientras se realiza esta operación, se suspenden 6,26 g (0,012 moles) de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-il)tiometil-3-cefem-4-carboxílico en 150 ml de CH_2Cl_2 seco y se añaden 5,6 ml (0,04 moles) de trimetilamina y 2,5 ml ($>0,02$ moles) de N,N-dimetilanilina. Al cabo de 10 minutos de agitación, se añaden gota a gota 7,62 ml (0,06 moles) del trimetilolorosilano a lo largo de un periodo de 20 minutos. A continuación la mezcla se calienta a reflujo durante 35 minutos, se enfría, se evapora hasta dar un aceite bajo presión reducida, se suspende de nuevo en 80 ml de acetonitrilo seco, se enfría a -20°C y se añade de una sola vez al anhídrido mixto intensamente agitado. La temperatura se mantiene entre -20 y -15°C durante 30 minutos y entre -15 y 0°C durante 30 minutos, después se deja alcanzar la temperatura ambiente (22°C) durante un periodo de 1 hora y se agita durante 1 hora más. Después las sales se separan por filtración, se lavan dos veces con 25 ml cada vez de acetonitrilo y los filtrados combinados se agitan durante 30 minutos con 20 ml de metanol. Finalmente se añaden 20 ml de agua y se continúa agitando durante 3 horas a 22°C , dejando en reposo a unos 10°C (habita-



1 ción fría) durante la noche (15 horas). La cristalización co-
mienza al cabo de unos 10 a 15 minutos. El pH inicial es de
2,8 y el pH final es de 4,5. El producto se recoge por filtra-
ción, se lava bien con acetonitrilo, se seca al aire, se seca
5 a vacío sobre P₂O₅ y después se muele finalmente en un mortero
y se suspende y agita en 200 ml de cloruro de metileno du-
rante 30 minutos, se recoge por filtración y se seca al aire.
El rendimiento final es de 9,3 g de ácido 7-[D-α-amino-α-(p-
hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-ce-
10 fem-4-carboxílico (rendimiento crudo 100 %). El espectro IR
concuerda con la estructura deseada pero se advierte la pre-
sencia de pequeñas impurezas en los cromatogramas en capa fi-
na. Se agitan 4,5 g y se trituran en 200 ml de metanol duran-
te 30 minutos, se filtra para separar la materia insoluble y
15 se concentra a presión reducida hasta el punto de turbidez,
(alrededor de medio volumen). Después se añaden 10 ml de agua
y se siembra la solución con agitación (y se rascan las pare-
des), empleando cristales del solvato metanólico del ácido
7-[D-α-amino-α-(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-
20 iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico. Después de agitar durante
4 horas a 22°C, se mantiene a 10°C durante 15 horas, se recoge
por filtración, se lava con metanol, se seca al aire y des-
pués se seca a vacío sobre P₂O₅ para dar 1,7 g de ácido 7-[D-
α-amino-α-(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-il-
25 tiometil)-3-cefem-4-carboxílico recristalizado que tiene un
espectro infrarrojo idéntico al de un patrón. El espectro RMN
concuerda totalmente con la estructura deseada.



EJEMPLO 13

1 El siguiente procedimiento es una acilación mejorada
para la preparación de ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino-
5 α -(p-hidroxifenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-
3-cefem-4-carboxílico.

Se agita una suspensión de 3,13 g (0,01 moles) de
ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carbo-
xílico en 100 ml de CH_2Cl_2 seco y, sucesivamente, se añaden
2,8 ml de TEA y 1,6 ml de N,N-dimetilanilina. Después de esto
10 se añade gota a gota una solución de 4,6 ml de $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ en
50 ml de CH_2Cl_2 seco. La mezcla se calienta a reflujo durante
media hora. Se añade 1 ml adicional de $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ y la mezcla
se calienta a reflujo durante 2,5 horas. Transcurrido este
15 periodo, se obtiene una solución casi transparente. Se evapora
el disolvente a presión reducida y el residuo se mezcla
con 100 ml de THF seco. Después de sacudir la mezcla para di-
solver el éster silílico, la suspensión se enfría en un baño
de hielo y sal. El anhídrido mixto se prepara como sigue. Una
20 solución de 5,34 g (0,02 moles) de D-(-)-terc-BOC-p-hidroxifenilglicina en 200 ml de THF seco se agita y se enfría en un
baño de hielo y sal a -15° . Sucesivamente se añaden 2,02 g
(0,02 moles) de N-metilmorfolina y 2,74 g (0,02 moles) de
cloroformiato de isobutilo. Después de agitar durante 20 minu-
tos a -15° , se añade de una sola vez la solución de éster si-
25 lílico. Se deja que la temperatura de la mezcla de reacción
ascienda a 0° y se agita a 3° durante 1 hora y durante 1 hora
más sin enfriar. La mezcla se vierte sobre 300 ml de agua y el
THF se evapora bajo presión reducida. La mezcla acuosa se
ajusta a pH 2 con H_3PO_4 al 42 % y se extrae con acetato de
30 etilo. El extracto en acetato de etilo se lava tres veces



1 con 30 ml de HCl al 10 % enfriado con hielo y agua. Después de
secar sobre sulfato sódico, se evapora el disolvente para dar
7,9 g de ácido 7-[D- α -terc-butoxicarbonilamino- α -(p-hidroxi-
fenil)acetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-
5 carboxílico crudo. Este se disuelve en 40 ml de acetona que se
agrega gota a gota sobre 1000 ml de una mezcla agitada de ci-
clohexano y éter dietílico 1:1. El sólido formado se recoge
por filtración y, después de seco, pesa 3,8 g (68 %). La cro-
matografía en capa fina y el espectro IR indican que está
10 exento del aminoácido de partida.

EJEMPLO 14

7-[D- α -amino-p-hidroxifenilacetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-il-
tiometil)-3-cefem-4-carboxilato de acetoximetilo

15 A una solución de 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiome-
til)-3-cefem-4-carboxilato de acetoximetilo (regenerado a par-
tir de 0,009 moles de su hidrocioruro) en 30 ml de acetato de
etilo se añaden 0,020 moles de piridina. La mezcla se enfría
en hielo y se agita mientras se añaden, a lo largo de 10 mi-
nutos, 0,010 moles de hidrocioruro de cloruro de D-(-)-2-p-
20 hidroxifenilglicina en 30 ml de acetato de etilo. Al cabo de
20 minutos más en frío, se continúa agitando a la temperatura
ambiente durante 1 hora. Después la mezcla se lava sucesiva-
mente con solución acuosa de bicarbonato sódico, ácido clor-
hídrico 0,1 N y agua, se seca y evapora a vacío para dar el
25 7-[D- α -amino-p-hidroxifenilacetamido]-3-(1,2,3-triazol-5-il-
tiometil)-3-cefem-4-carboxilato de acetoximetilo en forma de
aceite que cristaliza por trituración en ciclohexano.

30 Los respectivos ésteres pivaloiloximetílico, metoxi-
metílico, acetónico y fenacílico correspondientes al éster
acetoximetílico anterior se producen sustituyendo el hidroclo-

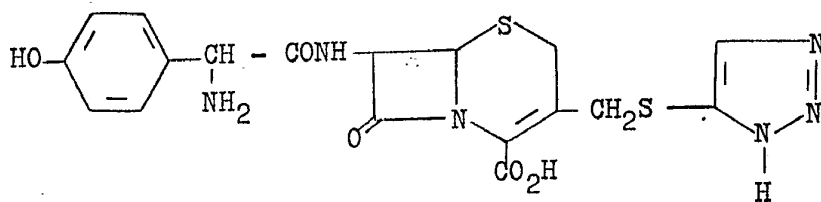


1 ruro de 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-
carboxilato de acetoximetilo utilizado en el procedimiento
anterior por 0,009 moles de hidrocioruro de los ésteres piva
loiloximetílico, metoximetílico, acetofílico y fenacílico
5 del ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-
carboxílico, respectivamente.

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

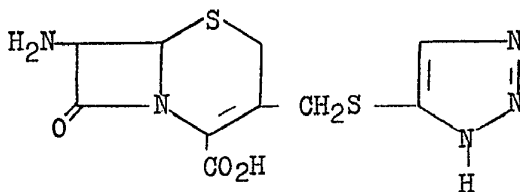
REIVINDICACIONES

10 1. Un procedimiento para la preparación de nuevos de-
rivados de ácido 7-acilamido-cefalosporánico con una confi-
guración D-(-) en la cadena lateral, de fórmula:



I

y ésteres fácilmente escindibles y sales farmacéuticamente
20 aceptables de los mismos, cuyo procedimiento consiste en ha-
cer reaccionar un compuesto de fórmula:



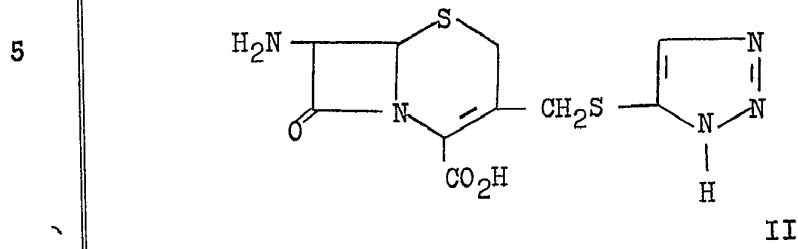
II

o un éster fácilmente escindible o una sal del mismo con un
derivado acilante de fórmula:

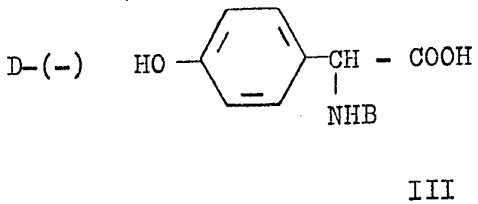
MKE



1 y ésteres fácilmente escindibles y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo, cuyo procedimiento consiste en hacer
reaccionar un compuesto de fórmula:



10 protegido por un éster silílico fácilmente escindible, con
un derivado acilante de un ácido de fórmula:



20 donde B representa un grupo protector del amino, para pro-
ducir, después de separar el grupo B protector del amino y
el éster silílico, un compuesto de fórmula I y, si se desea,
antes o después de separar los grupos de bloqueo, convertir
el producto en forma de ácido libre en el correspondiente
éster fácilmente escindible o sal farmacéuticamente acepta-
ble del mismo.

25 5. Un procedimiento según la Reivindicación 4, donde
el agente acilante de fórmula III se encuentra en forma de
anhídrido mixto.

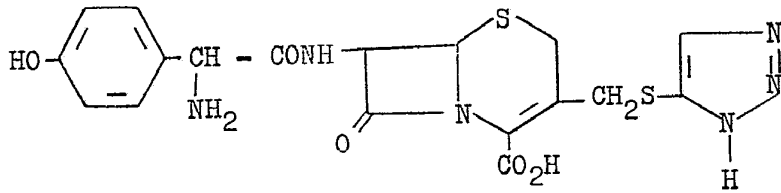
6. Un procedimiento según cualquiera de las Reivin-
dicaciones 4 y 5, donde el grupo protector del amino es terc-
butoxicarbonilo o 1-carbometoxi-1-propenil-2.

30 *MCE* 7. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindi-
caciones 4 a 6, donde el agente acilante de fórmula III se ha-
ce reaccionar con un éster pivaloiloximetílico, acetoximetí-



1 lico, metoximetílico, acetónico o fenacílico de un compues
to de fórmula II.

5 8. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, donde el producto con la configuración D-(-) en la cadena lateral, de fórmula



10 o una sal del mismo se convierte en el correspondiente éster pivaloiloximetílico, acetoximetílico, metoximetílico, acetónico o fenacílico o en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 9. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE ACIDO 7-ACILAMIDO-CEFALOSPORANICO.

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de cincuenta y tres páginas mecanografiadas.

Madrid, 21. diciembre 1.973
BERNARDO UNGRIA

25

30