

423.795

Int. Cl.: C07D//A61K

PATENTE DE INVENCION
SPA 1166/I.

20 MAYO 1976

CONCEDIDA

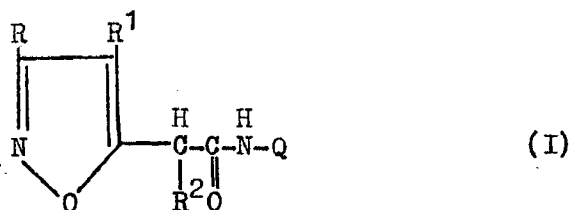
Memoria Descriptiva

sobre:

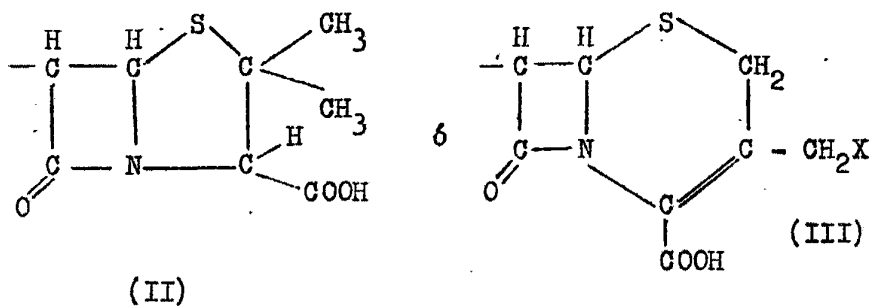
PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE DERIVADOS DE ACIDOS
6-SUSTITUIDO-AMINOPENICILANICO Y 7-SUSTITUIDO-AMINOCE-
FALOSPORANICO

Solicitante: KONINKLIJKE NEDERLANDSCHE GIST- EN SPIRITUSFABRIEK N.V.,
entidad holandesa, residente en Wateringseweg 1,
Delft, Holanda.

Este invento se refiere a un procedimiento para
preparar nuevos derivados de ácido penicilánico y cefalos-
poránico, terapéuticamente útiles, que corresponden a la
fórmula general:



donde Q representa el grupo:



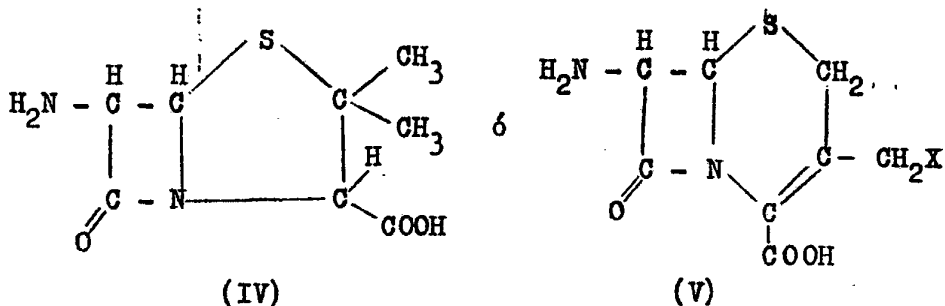
- donde X representa un átomo de hidrógeno, un grupo
5. hidroxilo, un grupo alcanilo inferior, el grupo $-\text{CH}_2\text{X}$ y el grupo carboxilo de la fórmula III se enlazan para formar juntos un grupo de lactona, tal como, $-\text{CO}-\text{CH}_2-$, así como un grupo de lactama, tal como $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$, R representa tanto un grupo alquilo inferior cuanto un arilo tal como fenilo y naftilo, que
- 10.

- lleva a discreción al menos un sustituyente elegido entre átomos de cloro y flúor y grupos nitro, amino; alquilo inferior, preferiblemente el grupo 2,6-diclorofenilo, así como un grupo alquilo terciario, que
5. puede ser un adamantilo, R^1 representa tanto un átomo de hidrógeno cuanto un grupo alquilo inferior, así como R^1 representa un grupo carboxilo esterificado a discreción con un grupo alquilo inferior o transformado en una sal de metal alcalino, metal alcalinotérreo y amina, un grupo carbamilo, ciano, amino y un átomo de cloro, y R^2 representa un átomo de hidrógeno o de halógeno, un grupo ciano, amino y aralcoxycarbonilamino inferior,
10. un grupo alquilo inferior, un grupo carboxilo esterificado con un grupo alquilo inferior, arilo, preferiblemente fenilo y aralquilo, preferiblemente bencilo, así como R^2 representa un grupo carbamilo que lleva a discreción en el átomo de nitrógeno un sustituyente tanto alquilo inferior cuanto fenilo, y sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo y amina, ésteres tal
15. como, ésteres de trialkilsililo inferior, dialquilo inferior-monohalosililo, bencilo, fenacilo, y amidas tal como derivado de sacarilo de los ácidos penicilánicos y cefalosporánicos mencionados. El término "inferior" según se emplea en la presente memoria al alquilo
20. del grupo alcancilo significa que el grupo contiene
- 25.

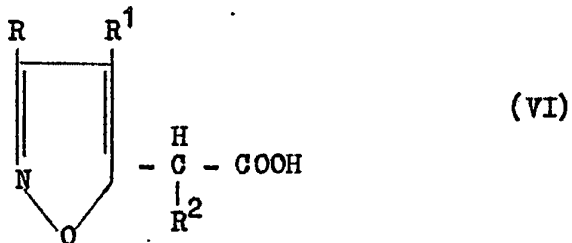
como máximo 4 átomos de carbono.

Los compuestos del presente invento se pueden preparar por diversos métodos diferentes.

5. Según una característica del invento, los compuestos de la fórmula general I se preparan haciendo reaccionar una sal, éster así como amida de un compuesto, tanto de ácido 6-aminopenicilánico cuando de ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula:



10. donde X tiene el significado anteriormente indicado con el sustituyente de X cuando se emplea un grupo hidroxilo preferiblemente protegido, con un éster activo tal como éster de 2,4-dinitrofenilo, éster p-nitrofenílico, o un éster de N-hidroxisuccinimida, de un ácido de fórmula
15. general:



- donde R, R¹ y R² tienen los significados definidos anteriormente, así como de un derivado funcional activo de los mismos apropiado como agente acilante para un grupo amino primario. Dichos derivados comprenden
5. los cloruros carboxílicos correspondientes bromuros, anhídridos de ácido, incluyendo anhídridos mezclados preparados a partir de ácidos más fuertes, tales como monoésteres alifáticos inferiores de ácido carbónico, de ácidos alquil- y aril-sulfónicos y de ácidos más
10. estéricamente impedidos tales como el ácido difenil-acético.

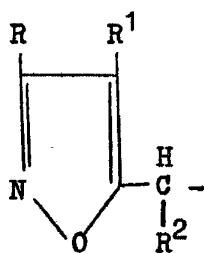
Además, se puede emplear tanto una azida ácida cuanto un tioéster activo tal como con tiofenol y ácido tioacético del ácido.

15. Alternativamente, el propio ácido libre se puede acoplar tanto con el compuesto de 6-aminopenicilánico cuanto con el compuesto de 7-aminocefalosporánico mediante el uso de un reactivo de carbodiimida. En lugar de los ésteres 2,4-dinitrofenílico y p-nitrofenílico,
20. se puede emplear una azolida correspondiente, tal como una amida del ácido correspondiente cuyo nitrógeno de la amida es un miembro de un anillo de 5 miembros quasiaromático que contiene por lo menos 2 átomos de nitrógeno, tal como imidazol, pirazol, los triazolos,
25. benzimidazol, benzotriazol y sus derivados sustituidos.

El éster, sal y amida del producto obtenido por el procedimiento citado se puede convertir, en los ácidos correspondientes penicilánico y cefalosporánico, por ejemplo cuando se emplea un éster de sililo tal

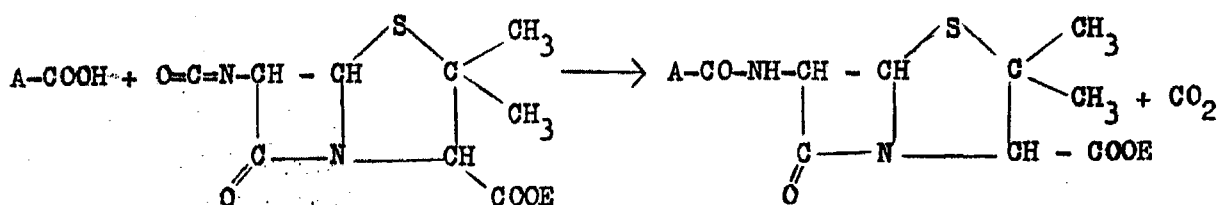
5. como trialkilsililo, de la materia prima de la fórmula IV de V como reactivo el grupo esterificante se puede hidrolizar fácilmente para obtener el compuesto del ácido correspondiente de fórmula general I.

10. Otro método, según el invento, para preparar los compuestos de la fórmula general I comprende hacer reaccionar un ácido de la fórmula general A-COOH, en la que A representa el grupo:



15. donde R, R¹ y R² tienen los significados definidos anteriormente, que tiene grupos reactivos en el radical A apropiadamente protegidos, con un compuesto tanto de ácido 6-isocianatopenicilánico cuando de ácido 7-isocianato(desacetoxi)cefalosporánico de fórmula O = C = N -
20. - Q, donde Q tiene el significado anteriormente definido, que tiene átomos así como grupos protegiendo al grupo

- carboxilo y grupo hidroxilo discrecional, cuando se encuentra presente tal como cuando X en la fórmula III es hidroxilo. De preferencia, el grupo que protege al radical carboxilo, y radical hidroxilo cuando se encuentra presente, tanto en el reactivo 6-isocianatopenicilánico cuanto en el reactivo 7-isocianatocefalosporánico es un grupo di- o tri- alquilsililo, que se puede separar fácilmente del producto resultante por hidrólisis.
- 5.
10. La reacción entre el ácido carboxílico de la fórmula A-COOH e isocianato de la fórmula OCN-Q se lleva a cabo preferiblemente en un medio disolvente orgánico inerte como puede ser tolueno, diclorometano y benzonitrilo. Una pequeña cantidad de una base orgánica, por ejemplo un imidazol sustituido, puede servir como catalizador. La reacción prosigue según el esquema de reacción diseñado a continuación para derivados de ácido penicilánico.
- 15.



donde E representa un grupo que protege al grupo carboxilo durante la reacción y se elimina, por ejemplo, por hidrólisis, después de la reacción.

5. En otro método para preparar los derivados de ácido penicilánico y cefalosporánico de fórmula general I, tanto un compuesto de ácido 6-isocianatopenicilánico cuanto de ácido 7-isocianatocefalosporánico $O = C = N - Q$, donde Q tiene el significado definido anteriormente, que tiene el grupo carboxilo, y un grupo hidroxilo cuando se encuentra presente, debidamente protegidos, se hace reaccionar con un compuesto organometálico de la fórmula elegida entre $A-Me^I$, $A-Me^{II}$ -Hal y $A-Me^{II}-A$, donde A tiene el significado definido anteriormente; Me representa un átomo de metal tal como litio, sodio o magnesio, indicando el número I ó II su valencia, y Hal representa un halogeno, preferiblemente cloro o bromo, seguido de la hidrólisis del producto intermedio obtenido para eliminar el ión metálico y cualquier grupo hidrolizable que proteja al grupo carboxilo. La reacción se lleva a cabo en un medio disolvente orgánico anhidro en condiciones que favorezcan una reacción del tipo de Grignard Reformatsky y similar.
- 10.
- 15.
- 20.

25. Las materias primas de isocianato de la fórmula general $O = C = N - Q$, donde Q tiene el significado definido anteriormente, se pueden preparar haciendo reaccionar fosgeno con un derivado tanto de ácido peni-

- cilánico cuanto de ácido cefalosporánico de la fórmula general $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ \text{W-N-Q} \end{matrix}$, donde W representa tanto un átomo de hidrógeno cuanto un grupo que puede ser el grupo W-NH- es fácilmente convertible en un grupo isocianato por reacción con fosgeno, y el grupo Q tiene el significado definido anteriormente, con el carboxilo, y el grupo hidroxilo cuanto esté presente, debidamente protegidos. El grupo W en la materia prima se puede introducir en el grupo amino del derivado de ácido 6-amino-penicilánico y 7-aminocefalosporánico simultáneamente con la protección del grupo carboxilo, y el grupo hidroxilo, así como después. De preferencia, el grupo W es un grupo trialquilsililo inferior. Cuando W es un grupo fácilmente eliminable, la reacción de dichos compuestos con fosgeno se efectúa con mayor facilidad en las mismas condiciones de reacción que cuando W representa un átomo de hidrógeno. La reacción con fosgeno se debe llevar a cabo en un medio disolvente orgánico inerte anhidro que tenga en consideración la reactividad del grupo isocianato resultante.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

El tolueno y el cloruro de metileno, así como mezclas de los mismos, son particularmente apropiados. Además de facilitar la reacción, una base orgánica se puede añadir para aceptar y retener el cloruro de hidrógeno formado. Es preferible que esta base sea

25.

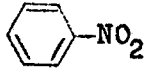
5. en los compuestos deseados. En algunos casos, el grupo R^1 se ha cambiado en otro grupo, tal como $+COOH$ en $+CONH_2$ y, $-CN$ en $-NH_2$, después de la reacción de adición 1,3-dipolar, pero antes de la litiación para evitar la síntesis de los acetilenos iniciales, que en ocasiones son difíciles de preparar.

10. La introducción de un grupo $R^2 \neq H$ en la fórmula VIA se puede llevar a cabo directamente, por el medio o vía 1 comenzando con 1-butina ($R^2 = CH_3$) en lugar de propina.

Los otros medios son:

15. 1) α -halogenación de compuestos de fórmula VI A, seguido a discreción por la reacción con un agente nucleófilo, tal como el ácido α -amino (fórmula VI: $R=2,6$ -diclorofenilo, $R^1=H$, $R^2=NH_2$) se preparó por α -bromación del isoxazol-5-ilacetato metílico correspondiente con 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina, seguido de hidrólisis y reacción del ácido α -bromo con amoníaco concentrado. Esto era una síntesis perfeccionada de ácido ibotémico (análogo de éste).
20. 2) por α -litiación de los ácidos carboxílicos de fórmula VI A y reacción con un agente apropiado.

25. Como ejemplos de nuevos compuestos de la fórmula general VI, que se pueden preparar según el esquema desarrollado, son aquellos, en los que:

R	R ¹	R ²
Adamantilo	H	H
4-nitrofenilo	H	H
4-aminofenilo	H	H
2,6-diclorofenilo	H	- NH - C(=O) - O - CH ₂ - 
2,6-diclorofenilo	H	Br
2,6-diclorofenilo	- C(=O) - NH ₂	H
2,6-diclorofenilo	- C≡N	H
2,6-diclorofenilo	H	NH ₂
2,6-diclorofenilo	CH ₃	H
2,4,6-trimetilfenilo	H	Cl
2,4,6-trimetilfenilo	H	CH ₃
2,4,6-trimetilfenilo	CH ₃	H
2,6-diclorofenilo	Cl	H
2,6-diclorofenilo	NH ₂	H

Los nuevos derivados de ácido penicilánico de fórmula general I tienen propiedades antibióticas que los hacen útiles en potencia para seres humanos y animales, por sí solos y mezclados con otros antibióticos conocidos. Algunos de los nuevos compuestos de la fórmula general I tienen actividades comparables con los de la penicilina G; tienen actividades especia-

- les contra organismos Gram positivos y, tienen además, una buena actividad contra los estafilococos resistentes a la penicilina, especialmente de los compuestos en los que R representa el grupo 2,6-diclorofenilo, R¹ representa un átomo de hidrógeno así como un grupo metilo, R² representa un átomo de hidrógeno y Q es un grupo elegido de entre las fórmulas II y III donde X representa un grupo acetoxi y las sales de dichos compuestos.
- 5.
10. Los compuestos según el invento se emplean preferiblemente para fines terapéuticos en forma de una sal no tóxica que puede ser la sal sódica, potásica y cálcica. Otras sales que se pueden utilizar comprenden las sales no tóxicas apropiadamente cristalizantes con bases orgánicas tales como aminas, por ejemplo trietilamina, procaina y dibenzilamina.
- 15.
20. Para el tratamiento de infecciones bacterianas, los compuestos antibacterianos de este invento se pueden administrar tanto por vía tópica como oral y parenteral, según procedimientos tradicionales para la administración de antibióticos. Se administran en dosis unitarias que contienen una cantidad efectiva del ingrediente activo en combinación con vehículos y excipientes aceptables desde un punto de vista fisiológico.
25. Las dosis unitarias pueden encontrarse en forma

de preparados líquidos, por ejemplo soluciones, suspensiones, dispersiones y emulsiones, así como en forma sólida, por ejemplo polvos, tabletas, cápsulas y otros.

5. Por consiguiente, el invento comprende compuestos terapéuticos, que comprenden una cantidad efectiva de uno de los compuestos del invento, en combinación con un vehículo o excipiente inertes apropiados. Tales composiciones terapéuticas pueden comprender también al menos un ingrediente terapéutico además de uno de los compuestos.
- 10.

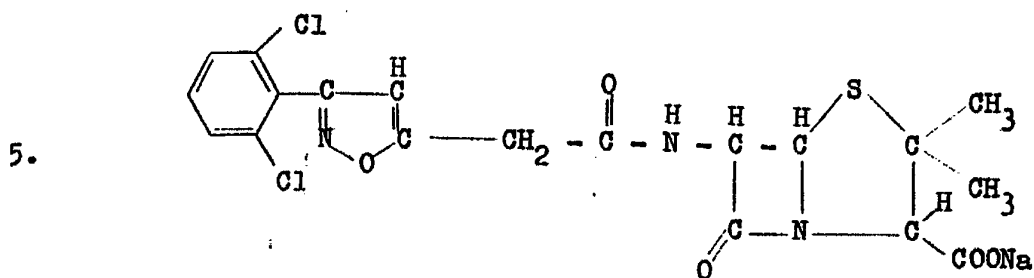
15. El término "cantidad efectiva", según se emplea en la presente memoria con relación a los compuestos descritos, se debe interpretar como una cantidad que sea suficiente para destruir e inhibir el desarrollo del microorganismo susceptible, cuando se administra del modo normal, en otras palabras, una cantidad que sea suficiente para controlar el desarrollo de bacterias. Los expertos en la materia pueden determinar con facilidad la magnitud de una cantidad efectiva mediante procedimientos normales que se emplean para determinar la actividad relativa de agentes antibacterianos, cuando se utilizan contra organismos susceptibles por las diversas vías de administración disponibles.
- 20.

- Los vehículos y excipientes apropiados pueden consistir en cualquier ingrediente que sea conveniente y aceptable desde un punto de vista fisiológico y que pueda servir para facilitar la administración del compuesto terapéuticamente activo. Los vehículos pueden ejercer alguna función auxiliar por ejemplo la de servir de diluyente, agente para enmascarar el sabor, agente aglutinante, agente para una acción retardada, estabilizador, y otras funciones.
- 5.
10. Los vehículos que sirven de ilustración pueden consistir en: agua, que puede contener gelatina, goma arábica, algenato, dextran, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa, o similar, etanol acuoso, jarabe, mezcla salina isotónica, glucosa isotónica, almidón, lactosa y cualquier otra materia utilizada comunmente en la industria farmacéutica y veterinaria. Otros aspectos del invento comprenden un método para inhibir el desarrollo de las bacterias aplicando en el habitat de las bacterias una cantidad efectiva de los compuestos antibacterianos descritos en la presente memoria.
- 15.
20. Por ejemplo, el método se puede aplicar al tratamiento de una infección bacteriana en animales administrando al animal hospedante una cantidad efectiva de un compuesto antibacteriano.
25. A continuación se ilustra el invento mediante

los ejemplos que siguen.

EJEMPLO I

Preparación de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-diclorofenil})\text{isoxazol-} \\ 5\text{-il} \end{array} \right\}$ -acetamido $\left. \vphantom{\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-diclorofenil})\text{isoxazol-} \\ 5\text{-il} \end{array} \right\}} \right\}$ -penicilánico (sal sódica)



10. En un matraz de tres cuellos, equipado con un tubo de admisión de gas, termómetro y embudo de goteo, se preparó una suspensión de 755 mg (3,5 mmols) de ácido 6-aminopenicilánico en 10 cc de acetato de etilo bajo atmósfera de nitrógeno. El matraz se refrigeró en un baño de hielo y se añadieron 0,51 cc (3,8 mmols) de trietilamina, seguido al cabo de 10 minutos de 0,48 cc (3,8 mmols) de trimetilclorosilano. Se continuó agitando la mezcla por espacio de unos 35 minutos.
15. Se añadieron otros 0,51 cc (3,8 mmols) de trietilamina y después se introdujo cloruro de 3-(2,6-diclorofenil)isoxazol-5-ilacetilo, preparado por la reacción de cloruro de tionilo con ácido 3-(2,6-diclorofenil)isoxazol-

-5- ilacético en éter dietílico con unas trazas de dimetilformamida en 5 cc de acetato de etilo, gota a gota, a la mezcla de reacción y en la proporción necesaria para que la temperatura no se elevara por encima de 5°C.

5. Una vez finalizada la adición, se retiró el baño de hielo y se continuó agitando la mezcla durante otros 90 minutos a la temperatura ambiente.

10. La mezcla de la reacción se vertió entonces en una mezcla de 20 cc de agua y 20 cc de éter dietílico refrigerando con hielo y manteniendo el pH a 6,8. La capa acuosa se lavó otra vez con 30 cc de éter dietílico. La capa acuosa se aciduló después de añadir 40 cc de éter dietílico a un pH de 1,5. Después de la separación, la capa acuosa se lavó de nuevo con 30 cc
15. de éter dietílico. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con 20 cc de agua de hielo acidulada a un pH de 1,5 y después con 20 cc de agua de hielo. Después de secar y tratar con Norit, la capa orgánica se concentró hasta aproximadamente la mitad de su volumen y entonces se añadió capronato de α -etilo sódico. La sal sódica precipitada se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó.
- 20.

El rendimiento fué de 550 mg (32 %). Según TLC el compuesto era puro.

EJEMPLO II

Preparación de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-diclorofenil})\text{isoxazol-} \\ 5\text{-il} \end{array} \right\}$ acetamida } -penicilánico (sal sódica)

- Un recipiente de tres cuellos de 250 cc de capacidad se equipó con un termómetro, un buen condensador y embudo de goteo. La reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno. Se introdujeron en el recipiente 220 cc de diclorometano y 2,72 gm (10 mmoles) de ácido 3-(2,6-diclorofenil)isoxazol-5-ilacético. Después de introducir 0,13 cc de N-vinilimidazol (un catalizador), se añadió gota a gota una solución de 3,14 gm (10 mmoles) de 6-isocianatopenicilanatotrimetilsilílico en diclorometano, gota a gota, a la solución agitada a 20°C. Al cabo de 23 horas la reacción llegó a su fin y el isocianato se convirtió en un grado de aproximadamente el 70 % en el producto deseado. La mezcla de reacción se virtió en agua de hielo tamponada a un pH de 7 y se extrajo dos veces con éter dietílico. La capa acuosa se aciduló a un pH de 4,0 y se extrajo tres veces con éter dietílico. El producto deseado se separó completamente de la capa acuosa. Las capas orgánicas recogidas se lavaron con una pequeña cantidad de agua de hielo y después se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron en un cierto grado in vacuo a 0°C.

Una solución de α -etilcapronato sódico en acetato de etilo se añadió gota a gota a la solución concentrada. El precipitado incoloro formado se recogió en un filtro, se lavó con éter dietílico y se secó

5. in vacuo. Rendimiento 2,81 gm (57 %). Análisis del espectro PMR del producto disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores \int en ppm, referencia interna tetrametilsilano):

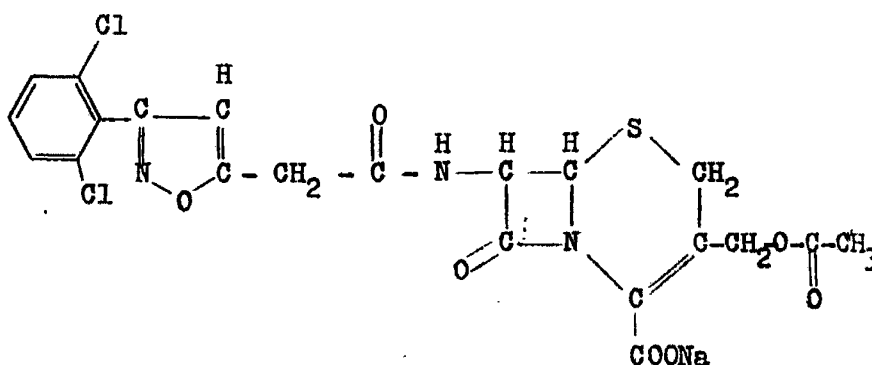
	NH	doblete a 8,95 (0,7 protones)
10.	C_6H_3	aproximadamente 7,5 (3 protones)
	isoxazolil-H	6,50 (protón)
	-CH ₂ - y C ₂ -H	3,99 (3 protones)
	C ₅ -H y C ₆ -H	multiplet entre 5,5 y 5,30 (2 protones)
	C ₃ -(CH ₃) ₂	1,62 y 1,52 (doblete 6 protones)

15. Análisis parcial del espectro IR (en disco KBr, valores en cm⁻¹)

	3355	NH
	1755	C = O -lactama
	1700	C = O amida
20.	1610	C = O ión de carboxilato
	1505	Deformación NH
	1600	C = C aromático
	1430	anillo de isoxazolilo
	788	C - Cl vibración de estiramiento.
25.	755	

EJEMPLO III

Preparación de la sal sódica de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3-(2,6-dicloro-} \\ \text{rofenil)-isoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido}cefalosporánico



5. En un recipiente de tres cuellos, equipado con un tubo de admisión de gas, un termómetro y un embudo de goteo, se preparó una suspensión de 500 mg (1,8 mmls) de ácido 7-aminocefalosporánico en 10 cc de acetato de etilo en atmósfera de nitrógeno. La suspensión se enfrió en un baño de hielo y se introdujeron
10. 0,3 cc (2,2 mmls) de trietilamina. Al cabo de 5 minutos, se añadieron a la mezcla 0,3 cc (2,2 mmls) de trimetilclorosilano. Se continuó agitando la mezcla por espacio de 1 hora a la temperatura ambiente.
15. La mezcla se refrigeró de nuevo y, después de añadir otro equivalente de trietilamina, se añadió gota a gota cloruro de 3-(2,6-diclorofenil)isoxazol-5-ilacetilo (preparado del mismo modo que se ha descrito en el

ejemplo I) en 5 cc de acetato de etilo, a la mezcla de reacción, manteniéndose la temperatura por debajo de 5°C.

- Después de la adición, se quitó al baño de hielo y se agitó la mezcla de reacción durante dos horas más a la temperatura ambiente. Después se vertió en una mezcla de 30 cc de agua y 30 cc de éter dietílico refrigerando con hielo mientras se mantenía el pH a 7,0. La capa acuosa se lavó con otra parte de éter dietílico (30 cc) y acetato de etilo (30 cc). Después de añadir 50 cc de acetato de etilo la capa acuosa se aciduló a un pH de 1,7. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo de nuevo con 50 cc de acetato de etilo.
- 5.
- 10.

- Las capas combinadas de acetato de etilo se lavaron una vez con agua de hielo acidulada a un pH de 1,5 y dos veces con agua de hielo. Después de separada, se cada con sulfato de magnesio y tratada con Norit, la capa de acetato de etilo se concentró a aproximadamente un tercio de su volumen y entonces se añadió γ -etilcapronato sódico. La sal sódica precipitada se lavó una vez con acetato de etilo y dos veces con n-hexano y después de filtrada se secó in vacuo. El rendimiento fué de 438 mg (0,8 mmls = 44 %). Según TIC el compuesto era puro. Análisis parcial del análisis IR del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1}).
- 15.
- 20.

	+ 3430	}	NH
	+ 3280		
	1760		C = O β -lactama y C = O éster
	1690 - 1670		C = O amida
5.	1600		C = O ión de carboxilato
	1558		C = C ó C = N
	1230	}	C - O - C éster
	1025		
	782		C - Cl

10. Análisis del espectro PMR de producto final disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, tetrametilsilano como norma interna).

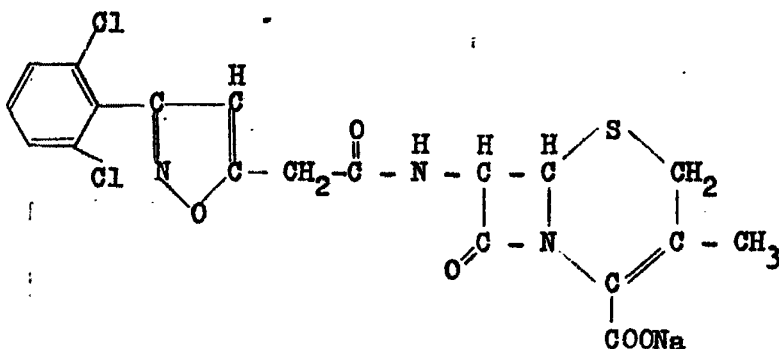
	CO - CH ₃	2,3
	S - CH ₂	3,07 \rightarrow 3,71 AB-cuartete ($J \approx 17,5$ cps, 2 protones)
15.	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_2 - \text{C} \end{array}$	3,98 (2 protones)
	O - CH ₂	4,73 - 5,20 cuartete ($J \approx 12$ cps, 2 protones)
	C ₆ - H	4,98 y 5,05 doblete ($J \approx 4,5$ cps, 1 protón)
20.	C ₇ - H	5,47 \rightarrow 5,66 cuartete ($J \approx 4,5$ cps, $J' \approx 8$ cps, 1 protón)
	isoxazol-C ₄ -H	6,51 (1 protón)
	C ₆ H ₃	7,55 estrecho pronunciado (3 protones) patrón de partición)
25.	NH	9,22 y 9,33 doblete ($J' \approx 8$ cps, 1 protón)

Análisis elemental para $C_{12}H_{16}N_3O_7SCl_2Na \frac{1}{2} H_2O$.

Hallado	Promedio	Calculado (con $\frac{1}{2}$ mol de agua cristalina)
C 44,97 - 45,10 %	45,03 %	45,26 %
5. H 3,31 - 3,38 %	3,34 %	3,08 %
N 7,70 - 7,72 %	7,71 %	7,54 %
S 5,70 - 5,67 %	5,68 %	5,75 %

EJEMPLO IV

10. Preparación de la sal sódica de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} \text{7-(2,6-dicloro-} \\ \text{fenil)isoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido } desacetoxicefalosporánico



15. A una suspensión de 620 mg (2,9 mmls) de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico en 10 cc de acetato de etilo en un recipiente de tres cuellos de 50 cc, equipado con un tubo de admisión de gas, un termómetro

- y embudo de goteo, bajo atmósfera de nitrógeno y agitado mecánicamente, se añadieron 0,46 cm (3,3 mmls) de trietilamina después de enfriar la suspensión con un baño de hielo. Al cabo de 5 minutos, se introdujeron
5. 0,42 cm (3,3 mmls) de trimetilclorosilano y se continuó agitando la mezcla durante una hora sin refrigeración externa. Entonces se enfrió de nuevo la mezcla de reacción con un baño de hielo y se añadieron otros 0,41 cc (2,9 mmls) de trietilamina. Se introdujo cloruro de 3-
10. -(2,6-diclorofenil)isoxazol-5-ilacetilo, preparado del mismo modo que se ha descrito en el ejemplo I, en 5 cc de acetato de etilo, gota a gota, a la mezcla de la reacción en la proporción necesaria para que la temperatura no se elevara por encima de 5°C. Se quitó el baño refrigerante y se continuó agitando durante dos horas más.
15. La mezcla de reacción se vertió entonces en una mezcla de 20 cc de agua y 20 cc de éter dietílico con refrigeración por hielo y agitación mecánica, mientras se mantenía el pH a 7,0. La capa acuosa se lavó
20. una vez con 20 cc de acetato de etilo y una vez con éter dietílico (20 cc). Después de añadir 40 cc de acetato de etilo a la capa acuosa, se puso el pH a 1,7. La capa acuosa se extrajo una vez más con 30 cc de acetato de etilo. Entonces estas capas se combinaron y se lavaron
25. una vez con 20 cc de agua de hielo acidulada (pH 1,7) y

5. una vez con agua normal (20 cc). Después de secar en sulfato de magnesio y tratar con Norit, la capa orgánica se concentró a aproximadamente un tercio de su volumen original. Se añadió α -etilcapronato sódico, se recogió la sal sódica en un filtro, se lavó con acetato de etilo y con éter dietílico y se secó in vacuo. El rendimiento fue de 0,603 mg (1,23 mmls = 43 %). Según TIC el compuesto era puro.

10. Análisis parcial del espectro IR del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1}).

\pm 3400	NH (absorción amplia)
1750	C = O β -lactama
1670	C = O amida
1590	C = O ión de carboxilato
15. 1555	C = C
\pm 1540	NH def. (punto de inflexión o resalto)
781	C - Cl

20. Análisis del espectro de PMR del producto final disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, tetrametilsilano como norma interna).

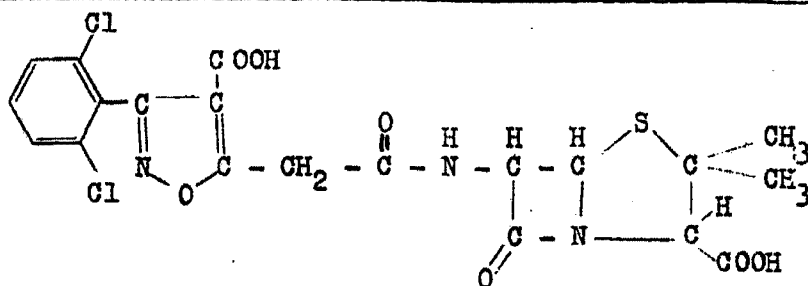
$\text{C}_3\text{-CH}_3$	1,98 (3 protones)
S-CH_2	2,95 \rightarrow 3,65 AB-cuartete ($J \approx 17,5$ cps; 2 protones)
CH_2C	3,98. (2 protones)
$\text{C}_6\text{-H y C}_7\text{-H}$	4,88, 4,97 ($J \approx 4,5$ cps; 2 protones) y 5,43-5,52

25.

isoxazol -C ₄ -H	6,50 (1 protón)
C ₆ H ₃	7,55 estrecho pronunciado (3 protones) patrón de par- tición.

EJEMPLO V

5. Preparación de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-diclorofenil})-4\text{-carbo-} \\ \text{xisoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido $\left. \vphantom{\left\{ \right.} \right\}$ penicilánico



10. En un matraz de tres cuellos, equipado con un tubo de admisión de gas, termómetro y embudo de goteo, se disolvieron en 25 cc de benzonitrilo 314 mg (1,0 mmls) de 6-isocianatopenicilánato trimetilsilílico y 316 mg (1,0 mmls) de ácido 3-(2,6-diclorofenil)-4-carboxisoxazol-5-ilacético, preparado por la reacción

15. de 3-(2,6-diclorofenil)-4-carboxi-5-metilisoxazol, formado por una adición 1,3-dipolar de óxido de 2,6-diclorofenilbenzonitrilo y 2-butoato de trimetilsililo, con dos equivalentes de n-butilitio y un equivalente de tetrametiletildiamina en tolueno seguido de carboxilación con CO₂. A esta mezcla se añadió gota a gota una

20. solución de 145 mg (1,1 mmls) de N-metilbenzimidazol

5. en 5 cc de benzonitrilo. Se produjo una formación directa de dióxido de carbono. Al cabo de dos horas cesó la evolución o desprendimiento de dióxido de carbono y la mezcla de reacción se virtió entonces en una mezcla de 30 cc de agua y 50 cc de éter dietílico, refrigerando con hielo y manteniéndose el pH a 7. La capa acuosa se extrajo dos veces más con 50 cc de éter dietílico.

10. Después de añadir 50 cc de éter dietílico y 10 cc de acetato de etilo, el pH se puso a 4. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo dos veces con 50 cc de éter dietílico.

15. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua de hielo y se secaron en sulfato de magnesio. Después de separar el disolvente, quedaron 136 mg de un sólido ligeramente amarillo, que era puro según TLC.

Análisis parcial del espectro IR del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1})

1775	C = O (β lactama)
1700	C = O carboxilo
20. 1600	C = C aromático
1560	C = N
1430	anillo de isoxazol
780	C - Cl

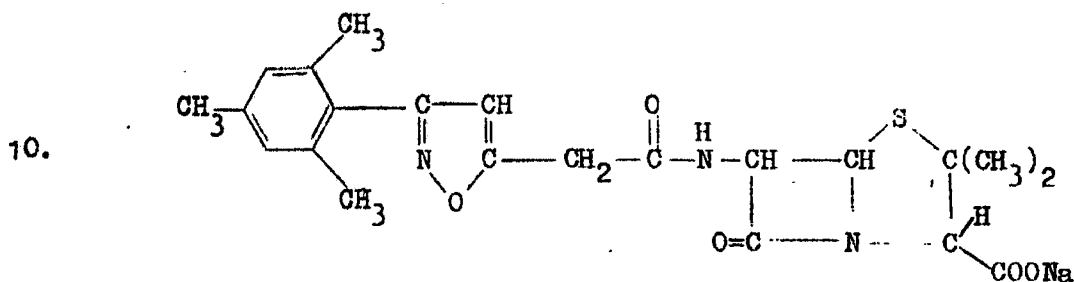
25. Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores

§ en ppm, tetrametilsilano como referencia interna).

C ₃ - CH ₃	1,52 y 1,65 (6 protones)
CH ₂ $\overset{\text{O}}{\parallel}$ C y C ₂ -H	4,32 (3 protones)
C ₅ -H y C ₆ -H	5,33 5,70 multiplete (2 protones)
5. C ₆ H ₃	7,55 patrón de partición o doblamiento estrecho pronun- ciado
NH	9,10 doblete

EJEMPLO VI

Preparación de la sal sódica de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3-(2,4,6-tri-} \\ \text{metil)fenilisoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ -acetamido } penicilánico



15. Practicamente según se ha descrito en el ejemplo II, se hicieron reaccionar 1,23 gm (5 mmls) de ácido 3-(2,4,6-trimetil)fenil-isoxazol-5-il-acético con 1,57 gm (5 mmls de 6-isocianato-penicilanato trimetil-silílico en 25 cc de diclorometano anhidro en presencia de aproximadamente 0,05 cc de N-vinilimidazol (catalizador). La reacción finalizó al cabo de 6,5 horas. Se-

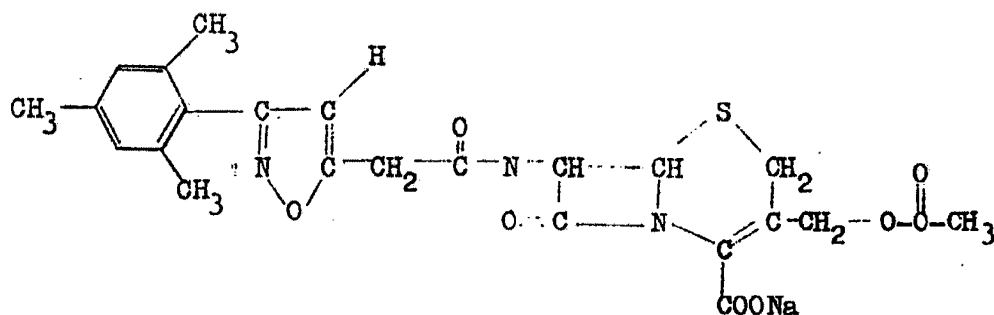
- gún la cromatografía de capa delgada, el isocianato se convirtió en el producto deseado hasta alcanzar un grado de aproximadamente el 60 %. El producto de reacción se trató del modo normal. A un pH de 4,5 se extrajo la penicilina del agua por medio de éter dietílico.
5. La solución en éter se lavó con un pequeño volumen de agua de hielo; se trató con carbón vegetal activado, se secó en sulfato de magnesio anhidro y se concentró en un cierto grado in vacuo a 0°C.
10. Una solución de α -etilcapronato sódico en éter dietílico se añadió gota a gota a la solución concentrada. El precipitado incoloro formado se recogió por filtración y se lavó repetidamente con éter dietílico frío. Después de secar in vacuo el producto pesaba 0,8 gm. La cromatografía de capa delgada indicó una buena pureza del producto, espectro IR y PMR.
15. Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en una mezcla de aproximadamente 2:1 de hexadeuterodimetilsulfóxido y D₂O (60 Mc, valores δ en ppm referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):
- 20.
- | | |
|---------------------------------------|---|
| C ₆ H ₂ | 6,95 (singlete, 2 protones) |
| isoxazolilo C ₄ -H | 6,3 (1 protón) |
| C ₅ -H y C ₆ -H | aproximadamente 5,45 (AB-cuar
tete, $\delta_{AB} < 0,1$ ppm, $J_{AB} \approx 4$ cps
2 protones) |
| C ₂ -H | 4,2 (1 proton) |
- 15.

CH ₂ -CO-	3,95 (2 protones)
p-CH ₃	2,25 (3 protones)
(o-CH ₃) ₂	2,05 (6 protones)
C ₃ -(CH ₃) ₂	1,5 y 1,6 (6 protones)

5.

EJEMPLO VII

Preparación de la sal sódica de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3-(2,4,6-tri-} \\ \text{metil)fenilisoazol-5-il} \end{array} \right\}$ -acetamido} cefalosporánico



10.

Se añadieron 2,8 cc (20 mmls) de trietilamina gota a gota a una suspensión agitada de 2,7 gm (10 mmls) de ácido 7-amino-cefalosporánico en 40 cc de diclorometano seco a 0°C. Después se añadieron gota a gota 2,55 cc (20 mmls) de trimetilclorosilano. Después de terminar la adición, se dejó la mezcla de reacción durante unos cuantos minutos a 0°C, después de lo cual se quitó el baño de hielo. Se continuó agitando la mezcla durante una hora a la temperatura del ambiente. Ulteriormente, se añadieron 1,2 cc (10 mmls) de quinolina, seguido de la introducción gota a gota de una solución de apro-

15.

- ximadamente 10 mmls de cloruro de 3-(2,4,6-trimetil)-fenilisoazol-5-il-acetilo en 20 cc de diclorometano anhidro a 5°C. Después de agitar 5 minutos más la mezcla a la temperatura ambiente, dicha mezcla de reacción
5. se vertió en agua helada, y después se añadió hidróxido de sodio diluido. A un pH de 7 las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo dos veces con éter dietílico. Las capas orgánicas se descartaron y la capa acuosa se extrajo repetidamente entre un pH de 5 y un pH de 1
10. con éter dietílico. Las capas orgánicas se inspeccionaron separadamente por cromatografía de capa delgada. Se combinaron los extractos más limpios, se lavaron con agua de hielo, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron, se concentraron algo in vacuo y
15. finalmente se trataron con una solución de α -etilcapronato sódico en éter. El precipitado sólido se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento 2,5 gm. Para obtener el monohidrato cristalino,
20. el producto crudo, que según la cromatografía de capa delgada no contenía sustancias con contenido de azufre, se cristalizó en acetona. El producto final (1 gramo) era puro a excepción de la presencia de una pequeña cantidad de acetona. Contenía un mol de agua por mol
25. de cefalosporina.

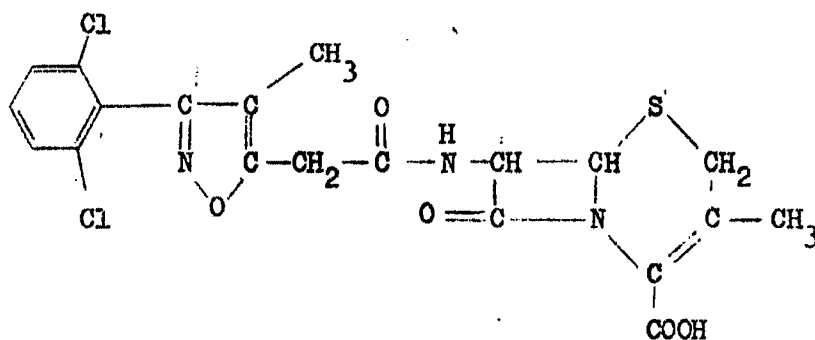
Análisis del espectro PMR del producto final

disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):

5.	NH	9,26 y 9,12 (doblete, $J \approx 8,5$ cps, aproximadamente 0,3 protón)
	C_6H_2	6,93 (singlete ligeramente ensanchado, 2 protones)
	isoxazolil- C_4 -H	6,33 (singlete, 1 protón)
	C_7 -H	5,66, 5,58, 5,52 y 5,44 (señales ligeramente ensanchadas, $J \approx 8,5$ cps, y $J_{AB} \approx 4,7$ cps, 1 protón)
10.	C_6 -H	5,04 y 4,96 ($J_{AB} \approx 4,7$ cps, 3 protones)
	O- CH_2	5,20, 4,99, 4,92 y 4,71 ($J_{AB} 12,5$ cps, 3 protones)
	CH_2 -CO	3,92 (singlete ensanchado, 2 protones)
15.	S- CH_2	$\sim 3,72, \sim 3,43, \sim 3,33$ y $\sim 3,04$ (señales ensanchadas, AB-cuartete, $J_{AB} \approx 17,5$ cps, 2 protones)
	P- CH_3	2,27 (3 protones)
	(o- CH_3) $_2$	2,07 (singlete)
20.	O-CO- CH_3	2,01 (singlete)
		} 9 protones

EJEMPLO VIII

Preparación de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-dicloro})\text{fenil-4-metil-} \\ \text{-isoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ -acetamido -desacetoxicefalosporánico



5. Una solución de aproximadamente 1 mmls de 7-isocianatodesacetoxicefalosporonato trimetilsilílico en 2 cc de tolueno se añadió a 286 mg (1 mmls) de ácido 3-(2,6-dicloro)fenil-4-metil-isoxazol-5-il-acético parcialmente disuelto en 10 cc de tolueno seco. La introducción de aproximadamente 0,1 mml de 1-isopropil-benzimidazol (catalizador) dió lugar a la iniciación de una reacción lenta (aproximadamente una duración de 24 horas a la temperatura ambiente). Cuando dejó de observarse la liberación de dióxido de carbono en la corriente de nitrógeno anhidro que pasaba sobre la superficie de la mezcla de reacción agitada, el contenido del recipiente se virtió en una mezcla bien agitada de agua de hielo y éter dietílico. El pH se ajustó a 6,8; las
- 10.
- 15.

- capas se separaron y la capa acuosa se extrajo dos veces con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua helada. La capa orgánica se descartó y las capas acuosas combinadas (70 cc) a un pH de 2,3 se extrajeron con 80 cc de una mezcla 2:1 de éter dietílico y acetato de etilo. Este extracto se lavó dos veces con 5 cc de agua helada, se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se avaporó completamente in vacuo. El aceite residual ligeramente amarillo se solidificó cuando se agitó con éter dietílico seco. El éter se decantó y el sólido se agitó de nuevo dos veces con éter. El sólido casi incoloro se secó in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento 290 mg. El producto final se examinó por cromatografía de capa delgada, que indicó la presencia solamente de un compuesto que contuviera azufre. La estructura su- puesta se confirmó por el espectro IR y PMR. El espec- tro PMR reveló que el producto final tenía una pureza del 82 %, puesto que consistía en un mol del ácido acé- tico inicial y 2,5 moles del éter dietílico probable- mente enlace cristalino) en 5 moles de producto deseado. Análisis parcial del espectro Ir del producto final (en cloroformo, valores en cm^{-1}):

+
- 3500

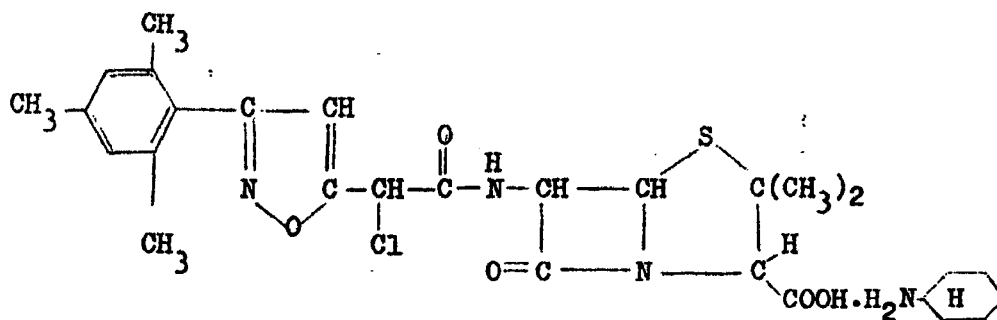
OH carboxilo

	+	
	-	3300
		1772
	±	1730
		1690
5.		1380 - 1430
		NH
		C = O β-lactama
		C = O carboxilo
		C = O amida
		absorciones del anillo de isoxazol.

EJEMPLO IX

Preparación de la sal de ciclohexilamina de ácido

10. 6-{α(-cloro-β-(2,4,6-trimetil)-fenil-isoxazol-5-il)acetamido} -penicilánico.

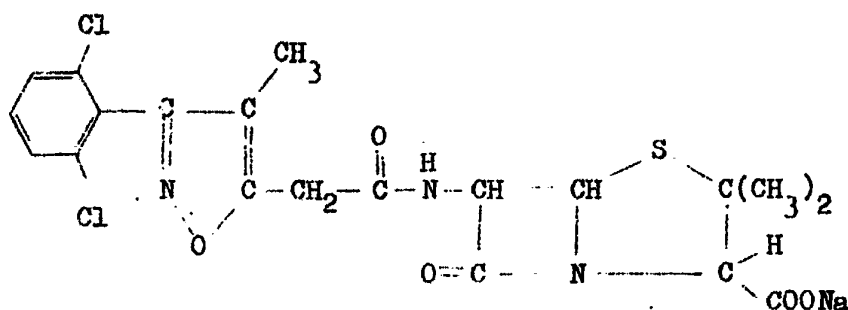


15. Una solución de 700 mg de 6-isocianatopenicilanoatotrimetilsililico en 10 cc de diclorometano seco se añadió gota a gota en 25 minutos a una solución de 700 mg de ácido 1-cloro-1-β-(2,4,6-trimetil)fenil-isoxazol-5-il)acético y aproximadamente 0,03 cc de N-vinilimidazol (catalizador) en 25 cc de diclorometano anhidro.

- La mezcla de la reacción se agitó adicionalmente durante 4 horas. Se consiguió hidrólisis in situ del silil éster añadiendo a aproximadamente 0,2 cc de etanol a 0°C. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla bien agitada de éter dietílico y se amortiguó con agua de hielo a un pH de 7. Una vez separadas las capas, la capa acuosa se extrajo una vez más con éter dietílico y se aciduyó prácticamente a un pH de 3,5. El compuesto deseado se separó de una forma incompleta de la capa acuosa en las dos extracciones con éter dietílico. Estos extractos se combinaron, se lavaron con un pequeño volumen de agua helada, se secaron en sulfato de magnesio anhidro y se evaporaron in vacuo. El aceite residual se disolvió en 5 cc de acetona. Una solución diluida de ciclohexilamina en éter dietílico se añadió lentamente hasta que dejó de observarse aumento adicional de precipitado. El sólido incoloro se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico frío y se secó in vacuo. Rendimiento 250 mg. La identidad pretendida del producto final fue confirmada por el espectro PMR y el espectro IR (disco KBr, 1775 cm^{-1} : C=O β -lactama, 1680 cm^{-1} : C=O amida, 1390 y 1450 cm^{-1} : anillo de isoxazol). La pureza del producto final se calculó que alcanzaba el 85 %.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

EJEMPLO X

Preparación de la sal sódica de ácido 6-{3-(2,6-dicloro)-
fenil-4-metil-isoxazol-5-il}acetamido} penicilánico



5. Practicamente según se ha descrito en el ejemplo II, se hicieron reaccionar 286 mg (1 ml) de ácido 3-(2,6-dicloro)-fenil-4-metil-isoxazol-5-il-acético con 314 mg (1 ml) de 6-isocianatopenicilanatotrimetilsilílico en 10 cc de tolueno anhidro en presencia
10. de aproximadamente 0,01 cc de N-isopropilbenzimidazol (un catalizador). La mezcla de la reacción se mantuvo en agitación hasta el día siguiente a una temperatura de aproximadamente 15°C. Según un cromatograma de capa delgada, el isocianato se podría haber convertido en
15. el producto deseado al menos en un 75 %. El producto de reacción se trató de la manera normal. A un pH de 3,8 se separó la penicilina de la capa acuosa mediante

tres extracciones de 40 cc de éter dietílico. Los extractos combinados se lavaron con agua helada, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron in vacuo a un volumen de aproximadamente 5 cc.

5. Al añadir una solución de α' -etilcapronato sódico en éter dietílico se produjo un precipitado incoloro, que se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico frío y se secó in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Finalmente el producto se trituroó en un pequeño volumen de acetona seca fría. Rendimiento 300 mg. Al examinar el producto final por cromatografía de capa delgada, el espectro IR y el espectro PMR confirmaron la estructura pretendida. El producto se encontraba contaminado solamente con cantidades muy pequeñas de acetona y α' -etilcapronato sódico.
- 10.
- 15.

Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetilsilapentano-5-sulfonato):

- | | | |
|-----|-----------------------|--|
| 20. | $C_3-(CH_3)_2$ | 1,54 y 1,64 (6 protones) |
| | isoxazolil C_4-CH_3 | 1,82 (3 protones) |
| | CH_2-CO- | aproximadamente 3,95 (singlete ensanchado, 2 protones) |
| | C_2-H | 4,03 (1 protón) |
| 25. | C_5-H y C_6-H | aproximadamente 5,5 (multiplete, 2 protones) |

C₆H₃

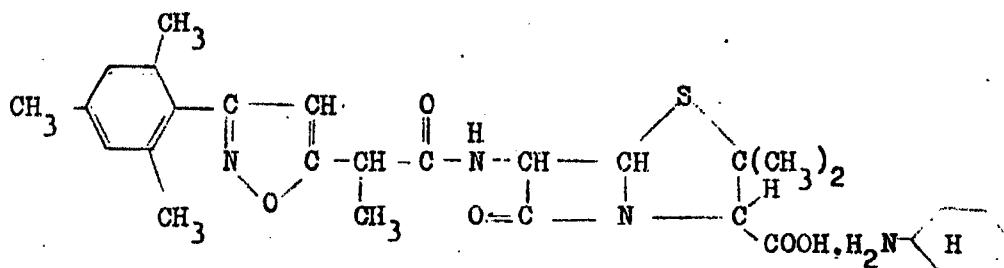
aproximadamente 7,6 (patrón de partición o desdoblamiento estrecho pronunciado, 3 protones)

N-H

aproximadamente 9,3 (doblete 0,9 protones)

EJEMPLO XI

5. Preparación de la sal de ciclohexilamina de ácido 6-
~~1~~-metil-1-[3-(2,4,6-trimetil)-fenil-isoxazol-5-il]aceta-
 mido } penicilánico



10. Prácticamente según se ha descrito en el ejemplo IX, se llevó a cabo una reacción con cantidades equimolares de 6-isocianatopenicilاناتotrimetilsilífico y ácido 1-metil-1-[3-(2,4,6-trimetil)fenil-isoxazol-5-il]acético en presencia de una pequeña cantidad de N-vinilimidazol. El disolvente era diclorometano seco.
15. La conversión se completó al cabo de 6 horas de agitación a la temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se trató del modo normal. En el procedimiento de

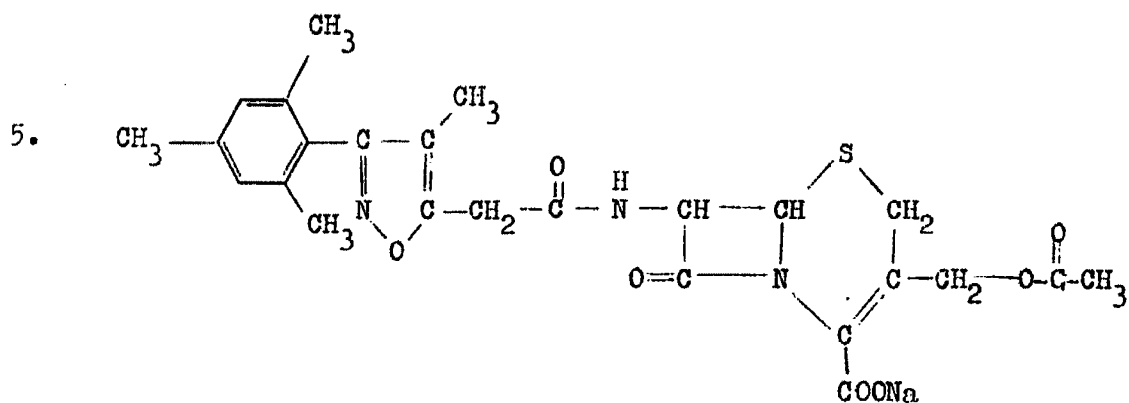
aislamiento la penicilina se extrajo a un pH de 4 con éter dietílico, y finalmente se obtuvo como su sal de ciclohexilamina. Los cromatogramas de capa delgada, el espectro IR (absorción intensa de β -lactamacarbonilo a 1778 cm^{-1} (disco KBr) y el espectro PMR, confirmaron la estructura pretendida del producto final e indicaron su buen estado de pureza.

10. Análisis parcial del espectro PMR complicado del producto final (una mezcla de los isómeros D y L) disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):

	N-H	8,9 (aproximadamente 1 protón)	
	C_6H_2	6,95 (singlete algo ensanchado, 2 protones)	
15.	isoxazolilo $\text{C}_4\text{-H}$	6,35 (2 singletes, próximos, 1 protón)	
	$\text{C}_5\text{-H}$ y $\text{C}_6\text{-H}$	aproximadamente 5,4 (2 protones)	
	$\text{C}_a\text{-H}$	aproximadamente 4,2 (cuartete difuso, 1 protón)	
	$\text{C}_2\text{-H}$	aproximadamente 4,0 (2 singletes próximos, 1 protón)	
20.	ciclohexilo $\text{C}_1\text{-H}$	aproximadamente 2,9 (amplia área de absorción, aproximadamente 1 protón)	
	p- CH_3	2,3 (singlete, aproximadamente 3 protones)] en general aprox. 26 protones
	o-(CH_3) ₂	2,1 (singlete, aproximadamente 6 protones)	
	ciclohexilo C_5H_{10}	aproximadamente 0,9 \rightarrow aprox. 2,3	
25.	$\text{C}_3\text{-(CH}_3)_2$ y $\text{C}_\alpha\text{-CH}_3$	aproximadamente 1,4 \rightarrow aprox. 1,65	

EJEMPLO XII

Preparación de la sal sódica de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,4,6\text{-tri-} \\ \text{metil) fenil-4-metilixosazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido} cefalosporá-
nico



Se añadieron 1,38 cc (10 mmol) de trietilamina gota a gota a una suspensión agitada de 1,3 gm (5 mmol) de ácido 7-aminocefalosporánico en 20 cc de diclorometano seco a 0°C. Después se añadieron 1,26 cc (10 mmol) de trimetilclorosilano, gota a gota, a 0°C. Después de terminar de añadir el trimetilclorosilano, se agitó la mezcla de la reacción durante unos minutos a 0°C, quitando después el baño de hielo. Se continuó agitando durante 1 hora a la temperatura del ambiente. Ulteriormente, se añadieron 0,6 cc (5 mmol) de quinolina seguido de la introducción, gota a gota, de una solución de aproximadamente 4,5 mmol de cloruro de 3-(2,4,6-trimetil)fenil-4-metil-

- isoxazol-5-il-acetilo (con una pureza de aproximadamente el 90 %, preparado a partir de 1,3 gm (5 mmol) del ácido carboxílico correspondiente) en 10 cc de diclorometano anhidro a 5°C. Al cabo de unos minutos de seguir agitando a la temperatura ambiente, se vertió la mezcla de reacción en agua helada. Se elevó el pH a 7 y se separaron las capas. La capa acuosa, que contenía, según cromatograma de capa delgada, un producto de reacción principal una pequeña cantidad de ácido 7-amino-cefalosporánico, y una pequeña cantidad de un subproducto (posiblemente el Δ 2-isómero del producto deseado), se lavó dos veces con éter dietílico. Las capas orgánicas se descartaron. La capa acuosa se extrajo sucesivamente a un pH de 5,0 4,5 y 4,0 con éter dietílico. El extracto de un pH de 4,0 contenía solamente el producto principal deseado. Al añadir una solución de α -etilcapronato sódico a este extracto se obtuvo un precipitado sólido incoloro. Rendimiento 1,2 gm. Según cromatogramas de capa delgada, y según los espectros IR y PMR, el producto final se encontraba contaminado solamente por pequeñas cantidades residuales de éter dietílico (aproximadamente 1 % en peso).

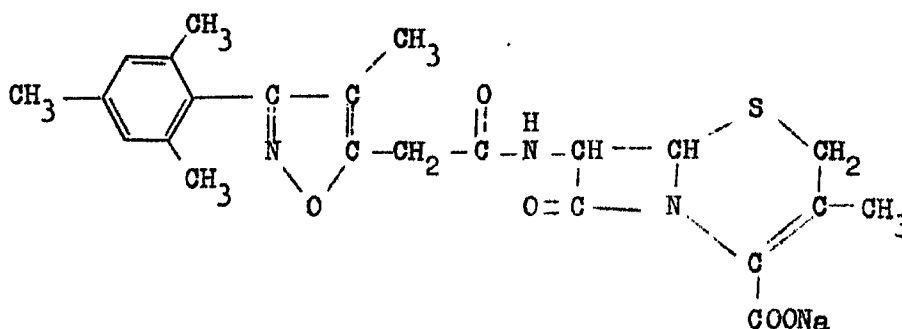
- Análisis del espectro PMR del producto final disuelto aproximadamente en una mezcla 2:1 de hexadeuterometilsulfóxido y D₂O (60 Mc, valores δ en ppm, refe-

rencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):

	C_6H_2	6,95 (singlete, 2 protones)	
	C_7-H	5,72 y 5,64 (doblete, $J \approx 4,6$ cps, 1 protón)	
	C_6-H	5,10 y 5,02 (doblete, $J \approx 4,6$ cps, 1 protón)	
5.	O- CH_2	aproximadamente 5,15, 4,92, 4,81 y 4,59 (AB-cuartete J 13,2 cps, 2 protones)	
	S- CH_2	aproximadamente 3,55 (centro del cuartete AB, 2 protones)	
	CH_2-CO	3,87 (singlete algo ensanchado, 2 protones)	
10.	p CH_3	2,28 (3 protones)	
	O-CO- CH_3	2,05 (singlete)	} 9 protones
	(O- CH_3) ₂	1,98 (singlete)	
	isoxazolilo- C_4-CH_3	1,71 (3 protones)	

EJEMPLO XIII

15. Preparación de la sal sódica de 7- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,4,6\text{-trimetil})\text{fe-} \\ \text{nil-4-metil-isoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido, desacetoxicefalosporánico



Practicamente según se ha descrito en el

- ejemplo IX se llevó a cabo una reacción entre 1,3 gm (5 mmol) de ácido 3-(2,4,6-trimetil)fenil-4-metil-isoxazol-5-il-acético disuelto en 25 cc de diclorometano seco y 5,04 mmol de 7-isocianatodesacetoxicefalosporanato trimetilsilílico disuelto en 9 cc de tolueno en presencia de aproximadamente 0,05 cc de N-vinilimidazol (catalizador). La adición de la solución del isocianato en tolueno llegó aproximadamente 20 minutos. El desprendimiento de dióxido de carbono se pudo observar ya al cabo de 5 minutos. Después de transcurrir 7,5 horas de agitación adicional se interrumpió la reacción, puesto un cromatograma de capa delgada de la mezcla de la reacción indicó una conversión de aproximadamente el 80 % del isocianato en la dirección deseada y casi se había detenido el desprendimiento de dióxido de carbono. La mezcla de la reacción se trató del modo normal. La cefalosporina se extrajo a un pH de 4,5 por medio de una mezcla 9:1 de éter dietílico y acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con agua helada, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se evaporaron completamente in vacuo. El aceite residual se disolvió en éter dietílico. La adición de una parte de la cantidad necesaria calculada de α -etilcapronato sódico disuelto en éter dietílico produjo un precipitado, que se recogió por filtración y se lavó con una pequeña cantidad de éter dietílico frío,
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

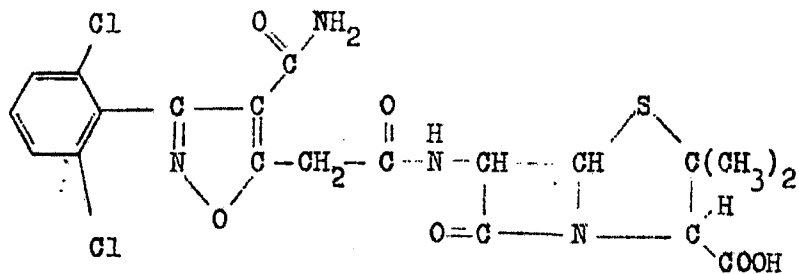
- y se secó in vacuo. A los filtrados combinados se añadió de nuevo α -etilcapronato sódico. La segunda cosecha resultante de material sólido se trató igual que la primera cosecha. La tercera y última cosechas se obtuvieron añadiendo α -etilcapronato sódico disuelto hasta que dejó de producirse precipitado. La tercera cosecha, que era prácticamente pura según cromatografía de capa delgada, se cristalizó en acetona. Finalmente, las tres cosechas se disolvieron juntas en acetona. La solución en acetona se concentró algo in vacuo y ulteriormente se sembró. Una vez finalizada la cristalización, el matraz se colocó en la caja de hielo. Al día siguiente se recogieron los cristales por filtración, se lavaron con acetona fría y éter dietílico y se secaron in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento 1,7 gm. La estructura pretendida se confirmó por los espectros de IR y PMR. Según el espectro PMR y cromatogramas de capa delgada, el producto final se encontraba contaminado solamente por una cantidad muy pequeña de acetona y una pequeña cantidad de ácido N,N'-di-desacetoxicefalosporánico úrea.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

- Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en una mezcla de aproximadamente 2:1 de hexadeuterodimetilsulfóxido y D₂O (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):
- 25.

	C_6H_2	6,97 (singleto ligeramente ensanchado, 2 protones)
	C_7-H y C_6-H	5,63, 5,46, 4,97 y 4,90 (cuartete AB, $J \approx 4,5$ cps, 2 protones)
	CH_2-CO	3,86 (singleto ensanchado, 2 protones)
5.	S- CH_2	aproximadamente 3,7 \rightarrow 2,9 (cuartete AB, $J \approx 17,5 \pm 1$ cps, 2 protones)
	p- CH_3	2,29 (3 protones)
	(o- CH_3) ₂	1,98 (singleto)
	C_3-CH_3	1,94 (singleto)
	isoxazol- C_4-CH_3	1,71 (3 protones)
10.		

EJEMPLO XIV

Preparación de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(2,6\text{-dicloro)fenil-4-carbamil-} \\ \text{-isoxazol-5-il} \end{array} \right\} \text{acetamido} \right\}$ penicilánico



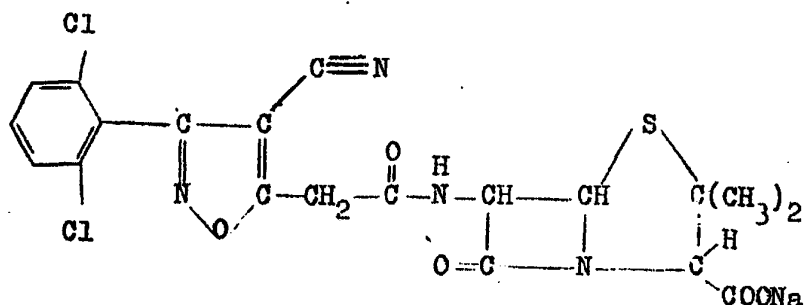
15. Se disolvieron 600 mg (2 mmol) de ácido 3-(2,6-dicloro)fenil-4-carbamil-isoxazol-5-ilacético y 630 mg (2 mmol) de 6-isocianatopenicilánatotrimetilsililico en una mezcla de 15 cc de benzonitrilo anhidro y 15 cc de

- de tetrahidrofuran anhidro, seguido directamente de la adición de aproximadamente 0,02 cc de N-metilimidazol. El desprendimiento de dióxido de carbono disminuyó fuertemente al cabo de tres horas de agitar a la temperatura ambiente. Un cromatograma de capa delgada de la mezcla de reacción indicó una buena conversión del isocianato. La mezcla de la reacción se vertió en una mezcla refrigerada con hielo y bien agitada de 30cc de agua, 20 cc de éter dietílico y 20 cc de acetato de etilo. Se añadió NaOH diluido hasta alcanzar un pH de 8,5. Las capas se separaron y la capa acuosa se purificó por extracción con éter dietílico. Las capas orgánicas se descartaron y la capa acuosa, a un pH de 3,0, se extrajo con una mezcla 1:1 de éter dietílico y acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con agua helada, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se evaporaron in vacuo. El sólido resultante ligeramente amarillento (1,1 gm) se examinó por IR y PMR. El producto contenía la penicilina deseada, pero también cantidades muy pequeñas de ácido N,N'-di-penicilánico urea y del ácido carboxílico inicial. Para obtener una muestra más pura, el producto crudo se extrajo repetidamente con éter dietílico seco frío, en el que la urea es escasamente soluble. El extracto etéreo se mezcló con agua helada tamponada a un pH de 7. La mayor parte del ácido carboxílico inicial
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

- se eliminó de la capa acuosa a un pH de 4,5. Finalmente la capa acuosa se extrajo repetidas veces a un pH comprendido entre 4,5 y 3,5 con mezclas de mucho éter dietílico y pequeñas cantidades gradualmente en aumento de acetato de etilo. Los extractos exentos del ácido carboxílico inicial, la urea y los productos de degradación, se combinaron y después de las manipulaciones normales se evaporaron completamente in vacuo. El sólido incoloro resultante se secó hasta alcanzar un peso constante
5. (350 mg). Según cromatograma de capa delgada, y según los espectros IR y PMR, el producto final era puro a excepción hecha de la presencia de ligeras cantidades residuales de acetato de etilo y éter dietílico. El espectro IR (disco KBr), complicado por la característica de monómero-dímero, mostró una amplia área intensiva entre 3000 y 3600 cm^{-1} con crestas a 3450, 3350 y 3200 cm^{-1} atribuidos a absorciones de NH de ambos grupos amida, una absorción de carboxilo OH aproximadamente 2550 cm^{-1} , un área de absorción de carbonilo muy intensa y amplia
10. con crestas a ± 1790 , ± 1725 , $\pm 1695 \text{ cm}^{-1}$ atribuibles, respectivamente, a los grupos de β -lactama, carboxilo, CO.NH y CO.NH₂.
- 15.
- 20.

EJEMPLO XV

- Preparación de la sal sódica de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3-(2,6-dicloro)-} \\ \text{fenil-4-ciano-isoxazol-5-il/acetamido} \end{array} \right\}$ penicilánico
- 25.
-



5. Se disolvieron 297 mg (1 mmol) de ácido 3-(2,6-dicloro)fenil-4-ciano-isoxazol-5-il-acético, 314 mg (1 mmol) de 6-isocianato-penicilinatotrimetilsililico y una traza de N-isopropilbenzimidazol en 5 cc de diclorometano seco. Según un cromatograma de capa delgada se alcanzó una buena conversión del isocianato al cabo de 3 horas de reacción a la temperatura ambiente. El producto de la reacción se trató del modo normal. En el procedimiento de aislamiento la solución de la penicilina en agua se purificó por extracciones con éter dietílico a un pH de 7,0 y 4,5. La penicilina se separó del agua por extracción con éter dietílico a un pH de 3,3. El extracto etéreo se lavó con agua helada, se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó in vacuo. El aceite residual se disolvió en una cantidad de aproximadamente 3 cc de acetato de etilo seco, después de lo cual se añadieron aproximadamente 0,6 mmol de α -etilcapronato sódico disuelto en un pequeño volumen de acetato de etilo.
- 10.
- 15.

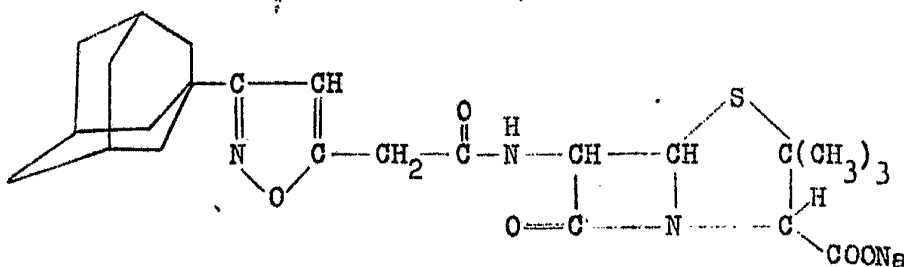
La adición de éter dietílico anhidro dió por resultado un precipitado de color ligero que se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico frío y se secó in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento:

5. 180 mg. El producto final se examinó según es normal. Contenía la sal sódica de la penicilina deseada y ligeras cantidades de un producto de degradación y de α -etilcaproato sódico. El espectro IR del producto final (disco KBr) mostró absorciones a 2280 (C=N), 1778 (carbonil- β -lactama), 1690 (carbonilamida), 1610 (ión de carbonilcarboxilato) y $\pm 1400^{-1}$ (absorciones del anillo de isoxazol).
- 10.

EJEMPLO XVI

Preparación de la sal sódica de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3-(1)adamantil-} \\ \text{-isoxazol-5-il/acetamida} \end{array} \right\}$ penicilánico

15.



Practicamente según se ha descrito en el ejemplo IX, una solución de 780 mg (2,5 mmol) de 6-isociana-

- to-penicilanatotrimetilsilílico en 10 cc de diclorometano seco se añadió gota a gota a una solución de 650 mg (2,5 mmol) de ácido 3-(1)-adamantil-isoxazol-5-il-acético y aproximadamente 0,02 cc de N-vinilimidazol en
5. 20 cc de diclorometano seco. La conversión finalizó al cabo de un total de 2,5 horas de agitación de la mezcla a la temperatura ambiente, según indicó una reducción drástica de desprendimiento de dióxido de carbono. Un cromatograma de capa delgada indicó una buena conversión
10. del isocianato en la penicilina deseada. El producto de reacción se trató del modo normal. En el procedimiento de aislamiento, la penicilina se extrajo del agua efectuando dos extracciones con éter dietílico, una realizada a un pH de 5,5 y la otra a un pH de 4,0. Los extractos
15. se lavaron por separado con agua helada, se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se evaporaron completamente in vacuo. Rendimientos: 700 y 300 mg respectivamente. Ambos productos dieron un espectro IR satisfactorio y contenían según cromatografía de
20. capa delgada, solamente una penicilina. Como la muestra obtenida por extracción a un pH de 5,5 estaba contaminada del derivado de ácido acético inicial, se disolvió en éter, después de lo cual se añadió α -etilcapronato sódico. La sal sódica obtenida (350 mg) era pura a excepción hecha de una ligera cantidad de α -etilcapronato
- 25.

sódico residual. Según un espectro PMR, el segundo producto era puro a excepción hecha de una ligera cantidad de éter dietílico (aproximadamente 4,0 % en peso).

Análisis parcial del espectro IR de la sal

5. sódica del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1}):

	\pm 3400	NH
	2910] grupos CH_2
	2853	
	1775	
10.	\pm 1675	C=O amida
	1605	C=O ión de carboxilato
	\pm 1520	NH def.
	\pm 1405	absorción del anillo de isoxazol

Análisis del espectro PMR del producto final

15. (el ácido) disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):

	NH	aproximadamente 8,9 (aprox. 0,8 protones)
20.	isoxazolil $\text{C}_4\text{-H}$	6,25 (1 protón)
	$\text{C}_5\text{-H}$ y $\text{C}_6\text{-H}$	5,35 \rightarrow 5,60 (multiplete 2 protones)
	$\text{C}_2\text{-H}$	4,26 (1 protón)
	$\alpha\text{-CH}_2$	3,79 (singlete ensanchado, 2 protones)
	grupo adamantilo	1,90 y 1,73 (centros de absorciones algo amplias)
25.	$\text{C}_3\text{-(CH}_3)_2$	1,64 y 1,51

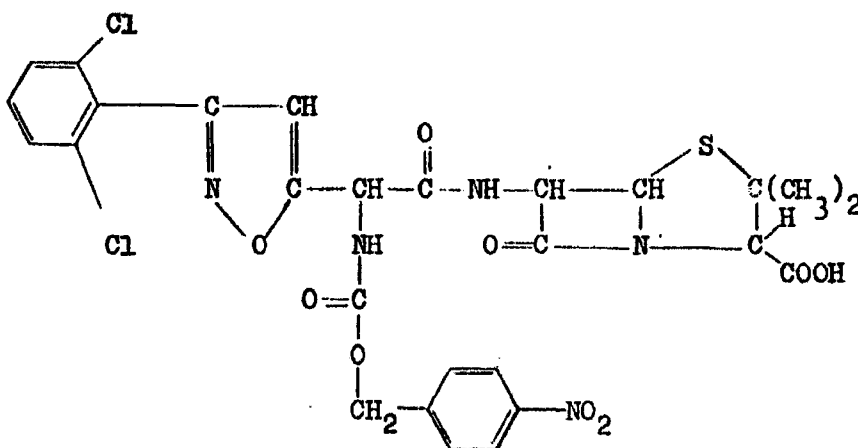
en general

> aproximadamente 22 protones

EJEMPLO XVII

Preparación de ácido 6- α -(p-nitro)benziloxycarbonilo-
- β -(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il/acetamido}penicilá-
nico

5.



10.

15.

Se disolvieron 2,33 gm (5 mmol) de ácido 1-
-(p-nitro)benziloxycarbonilamino-1- β -(2,6-dicloro)feni-
lisoxazol-5-il/acético, 1,57 gm (5 mmol) de 6-isociana-
to-penicilanatotrimetilsilílico y 0,1 cc de N-vinilimi-
dazol (catalizador) en 50 cc de diclorometano seco. Al
cabo de tres horas de agitación la mezcla en atmósfera
de nitrógeno a la temperatura ambiente, la conversión
fué completa. Según la cromatografía de capa delgada,
el isocianato podría haberse convertido aproximadamente
en un 70 % en el producto deseado. El producto de reac-
ción se enfrió a 0°C, y después se añadieron unos cuan-

- tos cc de acetona fría que contenía agua suficiente para hidrolizar el sililéster. Después la mezcla se evaporó completamente in vacuo en frío. El residuo se disolvió en 75 cc de una mezcla fría 1:1 de éter dietílico y acetato de etilo. Como se sabía por adelantado que se iba a utilizar esta penicilina para la preparación de la penicilina del ejemplo XVIII, el procedimiento de aislamiento no se dirigió al aislamiento del producto en un estado virtualmente puro, sino que en lugar de esto, se dirigió al aislamiento de la mayor cantidad posible del producto deseado. Por lo tanto, la solución se mezcló con 70 cc de agua helada tamponada a un pH de 7. La mezcla bien agitada se aciduló a un pH de 5,8 y se transfirió a un embudo separador. La capa acuosa se apartó y se tiró porque contenía el subproducto ácido N,N'-di-penicilánico urea y simplemente trazas del producto deseado. La capa orgánica se lavó ulteriormente dos veces con agua refrigerada con hielo ligeramente ácida y una vez con una pequeña cantidad de agua neutra.
5. 10. 15. 20.
- La capa orgánica, completamente exenta de este modo de la urea y el catalizador, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó completamente en frío.

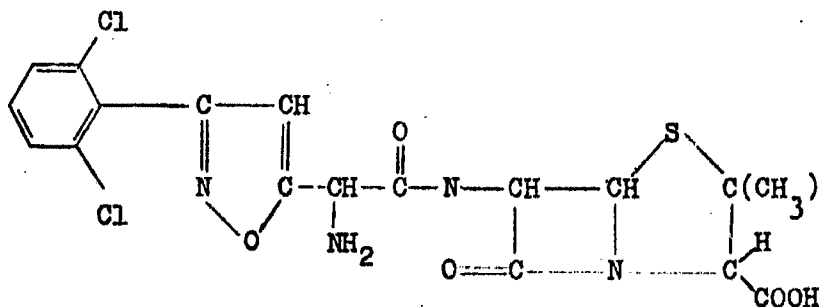
25. El residuo se secó in vacuo hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento: 3,4 gm de un sólido predo-

5. minantemente cristalino y ligeramente amarillo. Los cromatogramas de capa delgada del producto crudo final indicaron la presencia de la penicilina deseada solamente y el ácido amino inicial protegido en una relación de aproximadamente 2:1. Esto fué confirmado por el espectro PMR, que reveló también la presencia de acetato de etilo y una ligera cantidad de agua. La contribución calculada de la penicilina deseada en el producto crudo fué de 2,2 a 2,4 gm.

10.

EJEMPLO XVIII

Preparación de ácido 6- $\left\{ \alpha \text{-amino-} \left[\beta \text{-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il} \right] \text{acetamido} \right\}$ -penicilánico



15. Se mezclaron con 25 cc de agua 3,0 gm del producto crudo del ejemplo XVII que contenía aproximadamente 2 gm de ácido 6- $\left\{ \alpha \text{-(p-nitro)benziloxicarbonilamino-} \left[\beta \text{-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il} \right] \text{acetamido} \right\}$ -penicilánico disuelto en 100 cc de acetato de etilo. Añadiendo

- hidróxido de sodio diluido el pH de la mezcla se ajustó a 7,0. Después de introducir 1,5 gm de Pd/C, se pasó hidrógeno por debajo de la superficie de una forma continua. Se comprobó por cromatografía de capa delgada
5. que la reducción era completa al cabo de 135 minutos de agitar la mezcla a la temperatura ambiente. Durante 10 minutos se hizo pasar nitrógeno a través de la mezcla de reacción, se añadió agua helada y el pH se ajustó a 4,7. El contenido del embudo se transfirió a un
10. embudo separador. La mezcla se sedimentó formando una capa transparente de acetato de etilo y una capa acuosa separada por una capa de emulsión. La capa acuosa se dejó aparte. Después, se centrifugó la capa de emulsión. Las capas resultantes se separaron. La capa
15. de acetato de etilo se combinó con el primer extracto de acetato de etilo. Las capas acuosas se combinaron también y se extrajeron una vez con acetato de etilo. La capa acuosa se tiró. El catalizador remanente se separó de los extractos recogidos de acetato de etilo
20. por filtración. El filtrado de color se concentró a 0°C in vacuo hasta alcanzar un volumen de aproximadamente 25 cc. Se añadieron 100 cc de agua helada y la mezcla se ajustó a un pH de 7,0. Las capas se separaron y se tiró la capa orgánica coloreada. La solución del
25. compuesto deseado en agua se purificó mediante dos ex-

- tracciones con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y éter dietílico. La solución resultante prácticamente incolora en agua se aciduló a un pH de 4,7 y se extrajo dos veces con un volumen en exceso de acetato de etilo. La capa acuosa se tiró y las capas combinadas de acetato de etilo se lavaron dos veces con una pequeña cantidad de agua helada. Los cromatogramas de capas delgadas del extracto final mostraron un lugar positivo alargado (el compuesto es una mezcla de D,L) de azufre y ninhidrina. Después de la evaporación completa del extracto se obtuvo un sólido de color ligero. Rendimiento: 650 mg de material seco. El producto final se examinó por medio de los espectros IR y PMR y se halló que consistía en una mezcla 1:1 molar de la penicilina deseada y acetato de etilo, posiblemente contaminada por pequeñas cantidades de un derivado de 3-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol.
5. 10. 15.

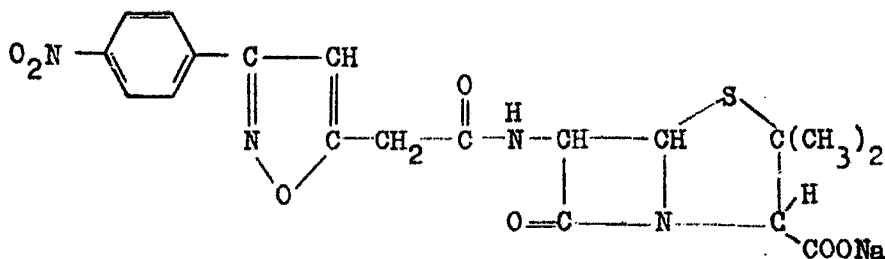
Análisis parcial del espectro IR del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1}):

20.	aproximadamente 3300	NH
	aproximadamente 2600	OH carboxilo
	1780	C=O (β -lactama
	\pm 1730	C=O acetato de etilo
	\pm 1705	C=O carboxilo
25.	1690	C=O amida

1390 y 1440 absorciones del anillo de isoxazol
785 C-Cl

EJEMPLO XIX

5. Preparación de la sal sódica de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} 3-(4\text{-nitro})\text{-} \\ \text{fenil-isoxazol-5-il} \end{array} \right\}$ acetamido}penicilánico



10. Se llevó a cabo una reacción del modo normal con 166 mg (0,67 mmol) de ácido 3-(4-nitro)fenil-isoxazol-5-il-acético, 210 mg (0,67 mmol) de 6-isocianatopenicilanatotrimetilsilílico y una traza de N-isopropilbenzimidazol. El disolvente era benzonitrilo (5 cc). La reacción finalizó al cabo de 5 horas de agitar la mezcla a la temperatura ambiente. El contenido del matraz se vertió en una mezcla bien agitada y refrigerada con hielo de 25 cc de agua, 20 cc de éter dietílico y 25 cc de acetato de etilo. Añadiendo NaOH diluido la mezcla de ácido (pH 3) se neutralizó a un pH de 7, y se separaron las capas. La capa orgánica se tiró y la capa acuosa se extrajo una vez para su purificación con

- 40 cc de una mezcla 1:1 de éter y acetato de etilo. Se mezclaron 30 cc de una mezcla 1:1 de éter y acetato de etilo con la capa acuosa y el pH se redujo a 3,5. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo una vez más con 50 cc de la misma mezcla disolvente. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con un pequeño volumen de agua helada, después se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se evaporaron completamente in vacuo. El aceite amarillento resultante se trituró con éter dietílico seco. El sólido parcialmente cristalizado producido se recogió por filtración y se agitó ulteriormente de forma repetida en éter. Después de secar in vacuo, el producto incoloro final pesaba 73 mg. La inspección del producto por cromatografía de capa delgada y por espectro PMR indicó que el ácido penicilánico deseado contenía de 5 a 6 mmoles de agua por mmol de compuesto y una pequeña cantidad de éter dietílico, pero que era virtualmente puro en otros aspectos. El filtrado etéreo recogido y los lavados se evaporaron completamente. El residuo se disolvió en 3 cc de una mezcla seca 1:1 de éter y acetato de etilo y ulteriormente se trató en frío con una solución diluida de α -etilcapronato sódico en éter. La sal sódica precipitada de la penicilina deseada se recogió por filtración y se lavó repetidas veces con éter seco. Una vez seco este producto pesaba 134 mg. El producto se exami-
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

nó del modo normal. Sin contar el agua adherida (mucho menor que en el caso del ácido penicilánico libre) la pureza de la sal sódica se calculó que era aproximadamente de un 80-85 %, puesto que contenía aproximadamente un 5 % en peso de un producto de degradación y de un 10 a un 15 % en peso de α -etilcapronato sódico.

5.

Análisis de espectro PMR de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3} \\ \text{3} \end{array} \right\}$ -(4-nitro)fenil-isoxazol-5-il]acetamido} penicilánico disuelto en una mezcla de aproximadamente 6 partes de hexadeuterodimetilsulfóxido y una parte de D₂O (60 Mc, valores \int en ppm, referencia interna 2,2-dimetil-silapentano-5-sulfonato):

10.

C₆H₄ 7,95 \rightarrow 8,4 (patrón de partición o desdoblamiento AA'BB', 4 protones)
isoxazolil C₄-H 6,94 (1 protón)

15.

C₅-H y C₆-H 5,5 (singlete ligeramente ensanchado, 2 protones)
C₂-H 4,15 (1 protón)
 α -CH₂ 4,0 (singlete algo ensanchado, 2 protones)
C₃-(CH₃)₂ 1,63 y 1,52 (6 protones)

20.

Análisis parcial del IR de la sal sódica de ácido 6- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3} \\ \text{3} \end{array} \right\}$ -(4-nitro)fenil-isoxazol-5-il]acetamido} penicilánico (disco KBr, valores en cm⁻¹):

Aproximadamente 3380 NH

1770 C=O β -lactama (intensiva)

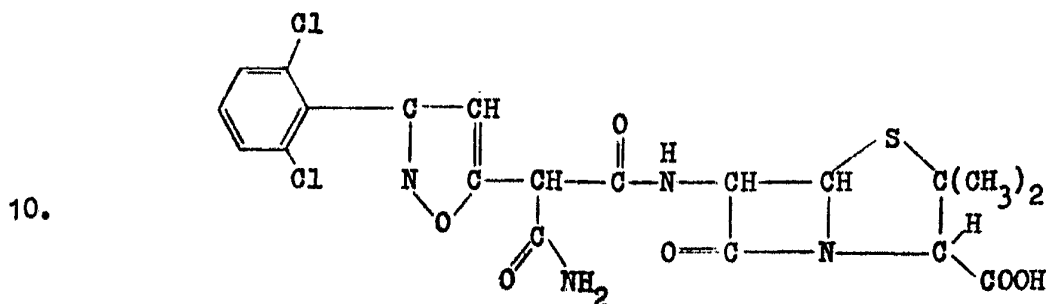
25.

1675 C=O amida (intensiva)

	1600	C=O ión de carboxilato más probablemente C=C aromático (muy intenso)
	1525	NO ₂ + posiblemente NH def. (muy intenso)
	1400 - 1460	absorciones del anillo isoxazol
5.	1355	NO ₂ (intensivo)
	± 838	C-NO ₂ y patrón de sustitución aromática (intensidades medias)

EJEMPLO XI

Preparación de ácido 6- $\left\{ \alpha \text{-carbamil-} \beta \text{-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il} \right\}$ acetamido penicilánico



15. A una solución de 1,0 gm (3,7 mmol) de 3-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il-acetamida en 15 cc de tetra hidrofurano anhidro refrigerado a -70°C se añadió gota a gota una solución de 3,7 mmoles de n-butillitio en hexano. La velocidad de adición se ajustó a temperaturas de reacción por debajo de -60°C. Al cabo de unos minutos de seguir agitando a -70°C, se introdujeron gota a gota

- 0,47 cc (aproximadamente 3,7 mmol) de trimetilclorosilano recién destilado. Después se quitó el baño refrigerante y se permitió que la temperatura se elevara hasta alcanzar -30°C . Este procedimiento, o sea la adición de un equivalente de n-butillitio y un equivalente de trimetilclorosilano sucesivamente, se repitió del mismo modo. A la solución preparada in situ de derivado de N,N-di-trimetilsililo del producto inicial, en una mezcla de 15 cc de tetrahidrofuran y aproximadamente 3,5 cc de hexano, se añadieron 0,56 cc (3,7 mmols) de N,N,N',N'-tetrametiletildiamina. A la mezcla refrigerada de nuevo a -75°C se añadió gota a gota una solución de aproximadamente 3,7 mmoles de n-butillitio en 1,76 cc de hexano. El régimen de adición se ajustó a temperaturas de reacción de -70°C como máximo. La mezcla de reacción se agitó adicionalmente durante 1 hora a una temperatura comprendida entre -70°C y -60°C . La secuencia de reacciones se completó añadiendo gota a gota una solución de 1,16 gm (3,7 mmols) de 6-isocianato-penicilano-trimetilsilílico en 10 cc de tolueno seco, por lo que la temperatura de la reacción no se permitió que se elevara por encima de -55°C . La mezcla de la reacción se agitó adicionalmente a -60°C por espacio de 30 minutos. La mezcla de la reacción y ácido clorhídrico diluido se vertieron lenta y simultáneamente en una mezcla bien
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

- agitada y helada de 50 cc de éter dietílico y 50 cc de agua a un pH de 4. Después el pH de la mezcla se elevó a 7 y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo una vez más con 50 cc de éter a un pH de 7. Las capas orgánicas se tiraron. La capa acuosa se extrajo tres veces con éter sucesivamente a un pH de 5,0, 4,5 y 4,3 y se extrajo una vez más con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y éter dietílico a un pH de 4,3. Se verificó por cromatografía de capa delgada y se halló que la capa acuosa ya no contenía la penicilina deseada acompañada de pequeñas cantidades de impurezas con contenido de azufre y que los tres primeros extractos etéreos contenían la penicilina en un estado virtualmente puro. Se combinaron los extractos etéreos, se lavaron con agua helada, se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se evaporaron completamente in vacuo. El sólido obtenido pesaba 500 mg después de secarlo prolongadamente in vacuo. Los espectros IR y PMR del producto final confirmaron la estructura supuesta de la penicilina. La pureza calculada fué del 80 al 85 %.

Análisis parcial del espectro IR del producto final (disco KBr, valores en cm^{-1}):

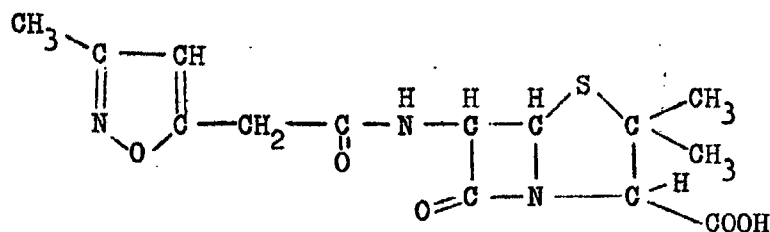
- | | |
|--------|---|
| ± 3440 | NH (probablemente de CO-NH_2) |
| ± 3330 | NH (probablemente de CO-NH) |

	± 3210	NH (probablemente NH enlazado)
	2500 - 2650	OH (carboxilo)
	1780	C=O β -lactama
	± 1720	C=O (carboxilo)
5.	1690 y 1660	C=O de CO-NH y CO-NH ₂
	1598	C=C aromático y deformación de NH ₂
	± 1525	Probablemente deformación de NH
	1395, 1430	Absorciones del anillo de isoxazol
	790	C-Cl y patrón de sustitución aromática

10.

EJEMPLO XXI

Preparación de ácido 6- $\left\{ \left[\text{3-metil-isoxazol-5-il} \right] \text{acetamido} \right\}$ penicilánico



Practicamente según se describe en el ejemplo

15. II, se hicieron reaccionar 282 mg (2 mmoles) de ácido 3-metil-isoxazol-5-il acético con 628 mg (mmoles) de 6-isocianato-penicilánico trimetilsilílico en 10 cc de diclorometano seco en presencia de tres gotas de N-isopropilbenzimidazol (catalizador). Después de trabajada la mezcla
20. de reacción se obtuvo un producto de color ligero y de buena pureza según TLC y los espectros de IR y PMR.

Análisis del espectro PMR del producto disuelto en hexadeuterio DMSO añadiendo algo de D₂O (60 mc, valores δ en ppm, tetrametilsilano como referencia interna):

5.	isoxazolilo C ₄ -H	6,22
	C ₅ -H y C ₆ -H	5,50 (2 protones)
	C ₂ -H	4,32
	CH ₂ -CO-	3,82 (2 protones)
	isoxazolilo-CH ₃	2,23
10.	C ₃ -(CH ₃) ₂	1,65 y 1,52

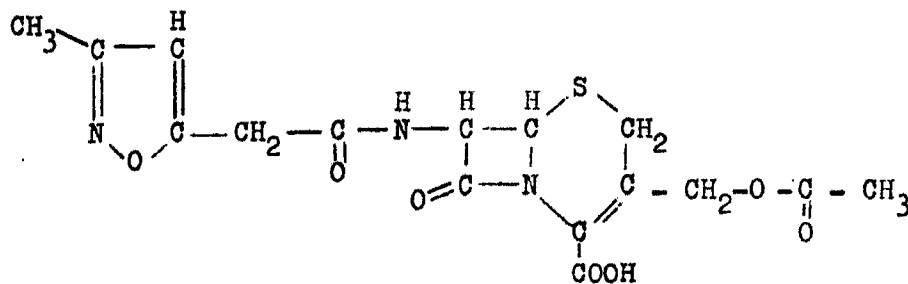
Análisis parcial del espectro IR del producto final (en KBr, valores en cm⁻¹):

	± 3500	OH carboxilo
	3350	NH
15.	1780	C=O β-lactama
	1740	C=O carboxilo
	1670	C=O amida
	1380-1430	absorciones isoxazolizantes.

20.

EJEMPLO XXII

Preparación de ácido 7-{[3-metil-isoxazol-5-il]acetamido}cefalosporánico



Del mismo modo que se ha descrito en el ejemplo III, se puso en reacción cloruro de 3-metil-isoxazol-5-il-acetilo (preparado a partir de 4,5 mmoles de ácido 3-metil-isoxazol-5-il acético y cloruro de tionilo) con N,0-di-trimetilsilil-7-aminocefalosporonato (preparado a partir de 1,224 mg (4,5 mmoles) de 7-ACA).

5.

Después de la reacción y de trabajada la mezcla de la reacción se aislaron 790 mg (44 %) de un producto de color ligeramente amarillo, con una pureza del 70 % según los espectros IR y NMR.

10.

Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en una mezcla de deuterocloroformo y hexadeutero DMSO con algo de D₂O añadido (60 Mc, valores δ en ppm, tetrametilsilano como referencia interna):

15.

isoxazolilo C ₄ -H	6,12
C ₇ -H	5,75 y 5,66 (J ≈ 4,5 cps, 1 protón)
C ₅ -H	5,05 y 4,97 (J ≈ 4,5 cps, 1 protón)
CH ₂ -CO-	3,78 (2 protones)
O-CH ₂ -	5,22 → 4,68 (J ≈ 13 cps, 2 protones)

20.

S-CH ₂	3,80 → 3,15 (J ≈ 18 cps, 2 protones)
CO-CH ₃	2,07
isoxazolil-CH ₃	2,25

Análisis parcial del espectro IR del producto final (KBr, valores en cm⁻¹):

25.

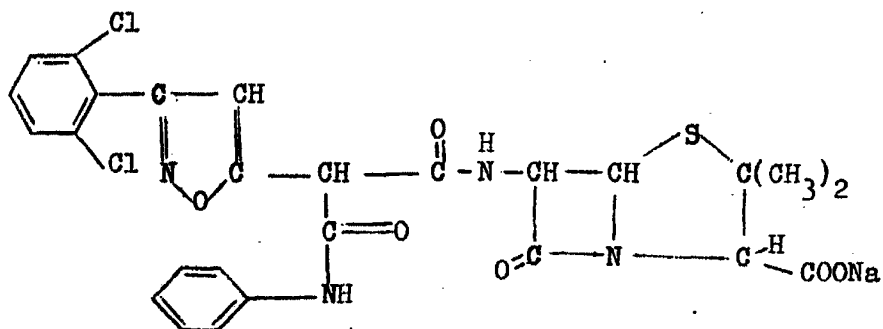
± 3280	OH
--------	----

	1780	C=O β-lactam
	1750	C=O éster
	1670	C=O amida
	1230	C-O-C- éster
5.	1380 y 1420	absorciones isoxazolizantes

EJEMPLO XXIII

Preparación de la sal sódica de ácido 6- $\{\alpha$ -(N-fenil)carbamil- γ -3-(2,6-dicloro)-fenil-isoxazol-5-il γ acetamido $\}$ penicilánico

10.



15.

Una solución de 1,0 g (2,9 mmoles) de N-fenil- γ -3-(2,6-dicloro)fenil-isoxazol-5-il-acetamido en 15 cc de tetrahidrofuran seco se refrigeró a -70°C . A la temperatura de -70°C se introdujeron en secesión, gota a gota, una solución previamente refrigerada de aproximadamente 2,9 mmoles de n-butilitio en 5 cc de una mezcla de n-hexano y tetrahidrofuran seco, después 0,44 cc (aproximadamente 2,9 mmoles) de N,N,N',N'-tetrametilendiamina y finalmente de nuevo una solución previamente refrigerada de 2,9 mmoles de n-butilitio en 5 cc de una mezcla de n-hexano y

20.

- tetrahidrofuran seco. La mezcla de la reacción se agitó adicionalmente durante 1 hora a -70°C . Al reactivo preparado de este modo se añadió después gota a gota (a -70°C una solución de 0,91 g (2,9 mmoles) de 6-isocianatopenicilinato trimetilsilílico en 5 cc de tolueno anhidro. Después de terminada la adición, se dejó que la temperatura de la mezcla de reacción se elevara hasta -50°C , a cuya temperatura se continuó agitando por espacio de aproximadamente 30 minutos. Después la mezcla de la reacción y
5. ácido clorhídrico diluido se añadieron simultáneamente a
10. una mezcla bien agitada de 30 cc de agua y 30 cc de éter dietílico refrigerado a 0°C . Se equilibraron mutuamente las velocidades o proporciones de adición para obtener un pH de aproximadamente 7,5 por toda la neutralización.
15. Las capas resultantes se separaron y la capa acuosa, para purificación, se extrajo una vez con 30 cc de éter dietílico y una vez con 30 cc de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas y la capa acuosa se inspeccionaron por cromatografía de capa delgada (detección de compuestos con contenido de azufre) con una mezcla 98:2 de éter dietílico y ácido fórmico como eluyente. La capa orgánica combinada no contenía dichos compuestos y se descartó. El cromatograma de la capa acuosa mostró 4 lugares bien separados, tres menores y uno mayor.
- 20.
25. Los lugares menores se atribuyeron respectivamen-

- te a producto o productos de degradación, a N,N'-dipenicilanil-urea y a ácido n-butil-carbonamido-penicilánico. Los valores Rf de los últimos dos lugares eran iguales a los valores Rf de las penicilinas reales. Con el fin de
5. separar el compuesto responsable del cuarto y mayor lugar en el cromatograma, se extrajo la capa acuosa a un pH de 4,9 y un pH de 3,6 con 30 cc de éter dietílico, que dió por resultado la total separación del compuesto deseado de la capa acuosa. El resto y parte del tercer compues-
 10. to (probablemente n-butil-penicilina) se separaron por extracción a un pH de 3,3 con una mezcla 2:1 de éter dietílico y acetato de etilo. Para separar el subproducto esta cala se lavó repetidas veces con agua helada a un pH de 4,6 que dió por resultado otro extracto (el tercero)
 15. casi limpio y una pluralidad de lavados que contenían todavía cantidades considerables del producto deseado. El cuarto extracto se obtuvo por extracción de los lavados combinados a un pH de 6,0 con acetato de etilo. Los cuartos extractos se combinaron, se lavaron con agua de
 20. hielo, se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron in vacuo. La solución concentrada del compuesto deseado en acetato de etilo se trató con una solución concentrada de α -etilcapronato sódico en acetato de etilo. La sal sódica de la penicilina se precipitó de esta solución añadiendo éter dietí-
 - 25.

lico seco. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó hasta alcanzar un peso constante. Rendimiento 580 mg. El producto final se inspeccionó por cromatografía de capa delgada, y por los espectros IR y PMR, que confirmaron la supuesta estructura e indicaron las impurezas del producto final: algo de α -etil-capronato y una ligera cantidad de producto o productos de degradación.

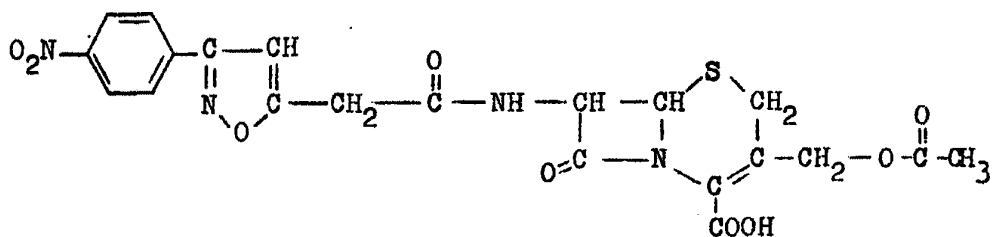
10. Análisis parcial del espectro IR del producto final y del producto inicial (soluciones en cloroformo, conc. aproximadamente 10 mg/cc, valores en cm^{-1}):

	Producto final	N-fenil-3-(2,6-dicloro)- fenil-isoxazol-5-il-ace- tamido
15.	± 3420 NH (probablemente de $\text{C}_6\text{H}_5\text{-NH-CO-}$)	3430 NH
	± 3300 NH (amplio)	
	1775 C=O β -lactama (intenso)	
	± 1705 C=O amida (muy intenso)	1695 C=O amida (intenso)
	1600 C=O ión de carboxilato y C=O arom. (muy intenso)	1598 C=C arom. (intenso)
20.	1558 C=C y/o C=N (intensidad media pronunciada)	1557 C=C y/o C=N (intensidad media, pronunciada)
25.	1500-1550 Probablemente deforma- ción de NH (intensidad media)	± 1520 probablemente de- formación (intensidad media)

1495	C=C arom. (intensidad media)	1496 C-C arom. (intens. media)
± 1440	intens. media	} absorciones } isoxazolizantes
1380	intens. media	
783 (en disco KBr)	C-Cl (intenso)	785 (en disco KBr) intensidades medias C-C
752 (en disco KBr)	posible subst. pat. aromático (intensidad media)	772 (en disco KBr) intensidades medias C-C
		755 (en disco KBr) posiblemente subst. pat. arom. (intensidad media.)

EJEMPLO XXIV

Preparación de ácido 7- $\left\{ \left[3-(4\text{-nitro})\text{fenil-isoxazol-5-il} \right] 7\text{-acetamido} \right\}$ cefalosporánico.



5. Del mismo modo que se ha descrito en el ejemplo III se hizo entrar en reacción cloruro de 3-(4-nitro)fenil-isoxazol-5-il-acetilo (preparado a partir de 1,64 g (6,6 mmoles) del ácido acético correspondiente y cloruro de tionilo) con N,O-ditrimetilsilil-7-amino-cefalospornato (preparado in situ a partir de 1,8 g (6,6 mmoles)
- 10.

de 7-ACA. El producto de la reacción se elaboró del modo normal. Se aislaron 1350 mg (40 %) de un sólido de color ligeramente amarillo. Según la cromatografía de capa delgada y los espectros IR y PMR, la pureza del producto

5. final fue de aproximadamente el 85 %.

Análisis del espectro PMR del producto final disuelto en hexadeuterodimetilsulfóxido (60 Mc, valores δ en ppm, referencia interna 2,2-dimetilsilapentano-5-sulfonato):

10.	N-H	9,36 y 9,22 ($J=8,0 \pm 0,5$ cps, aproximadamente 0,8 protón)
	C_6H_4	7,9 \rightarrow 8,5 (AA'BB' patrón de desdoblamiento, 4 protones)
	isoxazolil C_4-H	7,05 (1 protón)
	C_7-H	5,87, 5,79, 5,73 y 5,65 (señales ligeramente ensanchadas, $J \approx 8,0$ cps y $J_{AB} \approx 4,6$ cps, 1 protón).
15.	C_6-H	5,19 y 5,11 ($J_{AB}=4,6 \pm 0,2$ cps)
	O- CH_2	(5,19), 4,97, 4,82 y 4,60 ($J_{AB}=13,0$) } (3 protones)
	CH_2-CO	aproximadamente 4,0 (siglete ligeramente ensanchado, 2 protones)
20.	S- CH_2	aproximadamente 3,6 (centro de quartet AC con líneas exteriores muy débiles, 2 protones)
	CO- CH_3	2,06 (3 protones)

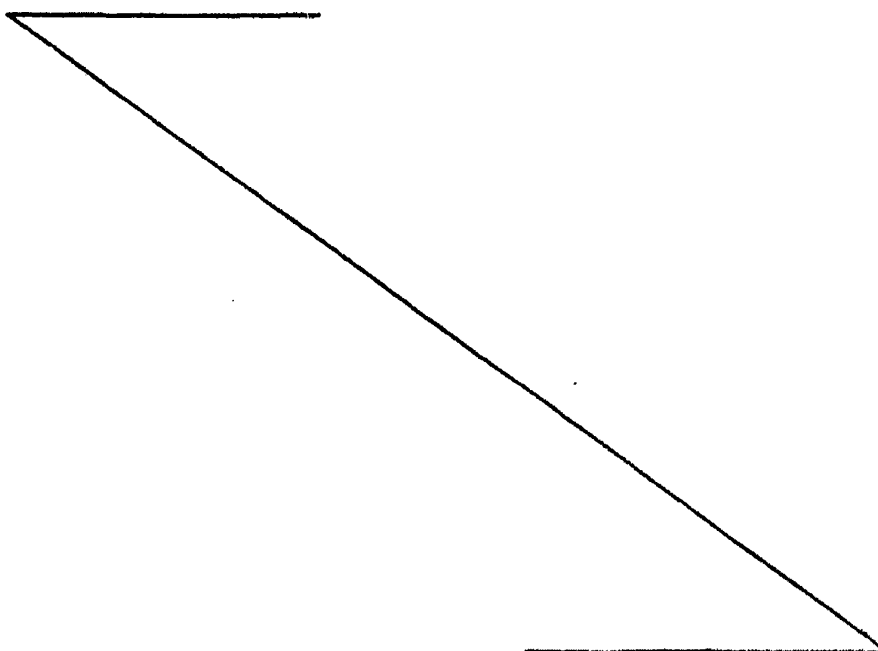
25.

EJEMPLO XXV

Los compuestos preparados de los ejemplos I a XXII se experimentaron para hallar su actividad antibió-

tica in vitro por medio de una prueba de dilución en serie en agar-agar que se llevó a cabo, como sigue:

5. Una cepa del antibiótico a 2.000 μ /cc se preparó en un vehículo estéril apropiado. Se realizaron diluciones dobles con tampón de fosfato 1/20 M⁰ estéril a un pH de 6,5 (KH_2PO_4 -NaOH). Se incorporaron cantidades de 1 cc de cada dilución en 19 cc de agar-agar en infusión para cerebro-corazón en platos Petri estériles. La superficie endurecida se inoculó con organismos de prueba y se incubó por espacio de 24 horas a 37°C.
10. La concentración inhibitoria mínima (MIC) se expresó en μ g/cc: la cantidad mínima de antibiótico que inhibe completamente el organismo del experimento. Los valores MIC del producto, y de Cloxacilina, Nafcilina, dicloxacilina, Cefalexina, Cefalotina y Cefalopiridina,
15. como referencia, se indican en las tablas siguientes:



Organismo del experimento	MIC en $\mu\text{g}/\text{cc}$				
	Ejemplo I	Ejemplo II	Ejemplo III	Ejemplo IV	Ejemplo V
<u>Gram positivo</u>					
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,007	0,007	$\pm 0,007$	1	0,5
Staphilococcus aureus A55	0,01	0,01	0,015	0,75	1
A321	0,015	0,015	$\pm 0,007$	0,5	1
A355 ¹⁾	3	3	0,12	3	12,5
L160a ¹⁾	1	1	0,06	1,5	3
Streptococcus haemoliticus A266	0,007	0,007	$\pm 0,007$	0,5	0,5
Streptococcus faecalis L 80	50	50	0,5	12,5	25
Diplococcus pneumoniae L 54	0,25	0,25	$\pm 0,007$	0,75	6
<u>Gram negativo</u>					
Brucella melitensis A488	0,5	0,5	1	12,5	25
Pasteurella multocida A723	2	2	1	6	1,5
Klebsiella pneumoniae A809	100	100	12,5	>100	>100

¹⁾ Que produce penicilanasas

Organismo del experimento	MIC en $\mu\text{g}/\text{cc}$				
	Ejemplo VI	Ejemplo VII	Ejemplo VIII	Ejemplo IX	Ejemplo X
<u>Gram positivo</u>					
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,03	0,015	0,25	0,12	0,005
Staphilococcus aureus A55	0,06	0,06	1,5	0,25	0,03
A321	0,06	0,06	0,5	0,25	0,03
A355')	3	0,25	3	25	3
L160a')	0,5	0,12	3	25	0,5
Streptococcus haemoliticus A266	0,012	0,03	0,25	0,06	0,006
Streptococcus faecalis L 80	0,25	1	100	1,5	0,25
Diplococcus pneumoniae L 54	0,03	0,03	1	0,12	0,02
<u>Gram negativo</u>					
Brucella melitensis A488	3	12,5	12,5	25	3
Pasteurella multocida A723	12,5	50	100	25	3
Klebsiella pneumoniae A809	100	50	>100	>100	>100

Organismo del experimento	MIC en $\mu\text{g}/\text{cc}$				
	Ejemplo XI	Ejemplo XII	Ejemplo XIII	Ejemplo XIV	Ejemplo XV
<u>Gram positivo</u>					
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,06	0,06	1	3	0,25
Staphilococcus aureus A55	0,12	0,25	3	12,5	0,5
A321	0,06	0,12	1,5	12,5	1
A355')	12,5	0,25	6	>100	12,5
L160a')	12,5	0,25	6	>100	12,5
Streptococcus haemoliticus A266	0,007	0,06	0,5	1,5	0,06
Streptococcus faecalis L 80	1,5	6	100	50	0,5
Diplococcus pneumoniae L 54	0,12	0,06	1,5	6	0,03
<u>Gram negativo</u>					
Brucella melitensis A488	3	50	>100	50	6
Pasteurella multocida A723	50	100	>100	50	12,5
Klebsiella pneumoniae A809	100	>100	>100	>100	>100

Organismo del experimento	MIC en $\mu\text{g}/\text{cc}$				
	Ejemplo XVI	Ejemplo XVII	Ejemplo XVIII	Ejemplo XIX	Ejemplo XX
<u>Gram positivo</u>					
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,03	0,5	0,06	<0,015	0,25
Staphilococcus aureus A55	0,5	1	0,25	0,03	0,25
A321	0,03	1	0,12	0,03	0,25
A355')	12,5	12,5	12,5	1	3
L160a')	12,5	6	12,5	3	3
Streptococcus haemoliticus A266	<0,015	0,06	<0,015	1,5	0,03
Streptococcus faecalis L 80	0,25	3	1	1	0,5
Diplococcus pneumoniae L 54	0,06	0,5	0,12	0,03	0,06
<u>Gram negativo</u>					
Brucella melitensis A488	3	25	0,5	0,12	3
Pasteurella multocida A723	6	50	6	1	6
Klebsiella pneumoniae A809	>100	>100	>100	100	>100

Organismo del experimento	MIC en $\mu\text{g}/\text{cc}$					
	Cloxa-cilina	Nafci-lina	Dicloxa-cilina	Cefale-xina	Cefa-lotina	Cefalo-ridina
<u>Gram positivo</u>						
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,25	0,5	0,12	0,5	0,03	0,06
Staphilococcus aureaus A55	0,12	0,12	0,06	3	0,25	0,06
A321	0,06	0,25	0,12	1,5	0,25	0,06
A355')	0,5	1	0,5	12,5	1	0,12
L160a')	1	0,5	0,25	12,5	1	0,06
Streptococcus haemoliticus A266	0,25	0,015	0,06	0,25	0,06	0,015
Streptococcus faecalis L 80	25	10	12,5	100	25	12,5
Diplococcus pneumoniae L 54	1,5	0,06	0,5	3	0,25	0,015
<u>Gram negativo</u>						
Brucella melitensis A488	100	6	>100	6	6	3
Pasteurella multocida A723	6	12,5	6	3	0,25	1
Klebsiella pneumoniae A809	6	12,5	25	3	0,5	3

Organismo del experimento	MICs en $\mu\text{g}/\text{cc}$	
	Ejemplo XXI	Ejemplo XXII
<u>Gram positivo</u>		
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,06	0,06
Staphylococcus aureus A55	0,5	0,5
A321	0,5	0,25
A355')	1	6
L160a')	1	3
Streptococcus haemolyticus A266	0,12	0,03
Streptococcus faecalis L80	25	3
Diplococcus pneumoniae L54	0,5	1,5
<u>Gram Negativo</u>		
Brucella melitensis A488	12,5	3
Pasteurella multocida A723	3	1,5
Klebsiella pneumoniae A809	3	>100

Por estos resultados se llega a la conclusión de que los productos obtenidos en los ejemplos anteriores son compuestos activos interesantes contra las bacterias Gram positivas incluyendo algunos géneros formadores de penicilanasas.

5.

EJEMPLO XXVI

A. Los compuestos, según se prepararon en los ejemplos I, II, III, IV, V, VII, IX y XI, se experimentaron in vivo junto con algunos compuestos de referencia.

10.

Animales de la prueba: ratones hembras (suizos) peso 20 gm

Vía de infección: intraperitoneal

Compuestos terapéuticos: el compuesto experimental disuelto en una solución de NaCl fisiológico, dosis de 3 x 1/3 cada dos horas. La primera dosis se administró inmediatamente después de la infección.

15.

Cálculo de ED₅₀: según Horn (1956)

Los resultados se resumen en la tabla de la página 82 y 83.

B. Actividad del compuesto del ejemplo III en un experimento profiláctico contra una infección con *Staphilococcus aureus* A 321.

20.

Animales de la prueba: ratones hembras (suizos), peso 20 gm
Dosis administrada: compuesto experimental disuelto en solución NaCl fisiológica

25.

Grupo A: Una dosis administrada 4 horas antes de la infección intraperitoneal

Grupo B: Una dosis administrada dos horas antes de la infección intraperitoneal:

Grupo de ratones	Via de infección	Administración	ED ₅₀ en mg/kg	
			Compuesto experimental	Dicloxacilina
A	i.p.	i.p.	21,5-46,5	21,5
	i.p.	per os	± 465	46,5-100
B	i.p.	i.p.	< 21,5	46,5-100
	i.p.	per os	< 21,5	215-465

C. Niveles de suero del compuesto experimental y dicloxacilina.

5. Los niveles de suero de dicloxacilina y el compuesto del ejemplo III se determinaron después de una administración intramuscular de 50 mg/kg de estos compuestos en una solución acuosa en conejos. Los niveles de suero se trazaron en el gráfico del dibujo adjunto, en el que la línea de trazo continuo representa el comportamiento del compuesto experimental y la línea de trazo discontinuo representa el comportamiento de la dicloxacilina que se está ensayando. En este dibujo se representa; el abscisas tiempo en horas y en ordenadas μ /ml.

ED₅₀ mg/kg en experimentos con ratones

	<u>Ejemplo I/II</u>			<u>Ejemplo V</u>			<u>Ejemplo III</u>		
Inf.	i.p.			i.p.			i.p.		
Ther.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.
A	10,8	36,9	125,0	<100		>215	<0,465	5,11	61,9
B	>215	>215	>215				2,87	>215	± 200
C	133,0	>215	>215				1,78	75,0	>215
D	>215						±200		
E	>215						>215		
F				>300		>300	±200		
	<u>Propicilina</u>			<u>Dicloxacilina</u>			<u>Keflina (Cefalotina)</u>		
Inf.	i.p.			i.p.			i.p.		
Ther.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.
A	0,926	2,33	10,8	0,909	126	92,6	1,90	16,2	14,7
B	133	>215	>215	1,71	133	110	27,1	>215	68,1
C	88	>215	>215	5,84	92,6	92,6	20	110	147
D							79,4	±200	
E							>215	>215	
F							79,4	68,1	

ED₅₀ mg/kg en experimentos con ratones

	<u>Ejemplo IV</u>			<u>Ejemplo VII</u>			<u>Ejemplo IX</u>			<u>Ejemplo XI</u>		
Inf.	i.p.			i.p.			i.p.			i.p.		
Ther.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.
A	23,3	31,6	50,1	3,8	18,5	70,0	>21,5		>100	>21,5		>100
B	23,3	>215	±200	17,1	140,0	>215						
C	19,6	>215	>215									
D	>215			>215		>215						
E	>215			>215		>215						>300
F	>215			>215		±215				>300		>300

- A = *Stafilococcus aureus* A 321
- B = *Stafilococcus aureus* A 2001
- C = *Stafilococcus aureus* A 2000
- D = *Salmonella typhi* murium R 172
- E = *Pseudomonas aeruginosa* A 1058
- F = *Proteus mirabilis* O.T

- Los niveles sanguíneos máximos de las dos drogas se alcanzaron al cabo de una hora dando el compuesto experimental niveles de 5,4 $\mu\text{g}/\text{cc}$ y dicloxacilina 27 $\mu\text{g}/\text{cc}$. Al cabo de 4 horas estos niveles fueron de 2,2 $\mu\text{g}/\text{cc}$ y 7,1 $\mu\text{g}/\text{cc}$ respectivamente. La dicloxacilina se encontraba casi completamente ligada a la proteína del suero, mientras que el compuesto experimental aparecía ligado en un grado de aproximadamente el 50 %, por lo que la cantidad de droga libre en el suero era del mismo orden. No obstante, los valores M.I.C. del compuesto experimental eran aproximadamente de 5 a 10 veces menores, por lo que el resultado general es mejor y se refleja en los resultados in vivo
- 5.
- 10.

EJEMPLO XXVII

15. Una cantidad de 100 a 2.000 miligramos de la sal sódica de ácido 7- $\left\{ \begin{array}{l} \text{3} \\ \text{-(2,6-diclorofenil)isoxazol-5-} \\ \text{-il} \end{array} \right\}$ acetamido}cefalosporánico se introdujo asepticamente en un frasco pequeño para compuestos inyectables. Antes de utilizarlo se disolvió el polvo en una cantidad apropiada de agua esteril y exenta de pirógenos.
- 20.

EJEMPLO XXVIII

- De los compuestos obtenidos según los ejemplos I-XXIV se prepararon jarabes mezclando los componentes que siguen:
25. Sal sódica del compuesto en cuestión 1,5 - 6 gm.

	Almidón soluble	1 - 3 gm.
	Sacarina sódica	0,1 - 1 gm.
	nipa M	0,06 gm.
	Aromatizante de fresa	0,1 - 5 gm.
5.	Amaranto	0,010 gm.
	Sacarosa	30 gm.
	Agua añadida hasta un volumen de	60 cc.

Estos jarabes preparados son apropiados para administración por vía oral.

10.

EJEMPLO XXIX

Se prepararon cápsulas del modo normal que contenía como componente activo el compuesto obtenido según los ejemplos I-XXIV. Los componentes de las cápsulas se indican a continuación:

15.	Sal sódica del compuesto en cuestión	150-500 mg.
	Bicarbonato potásico	100-300 mg.
	Estearato de magnesio	2-10 mg.
	Lactosa	para componer una cápsula

Estas cápsulas se utilizaron para administración por vía oral.

20.

EJEMPLO XXX

Se prepararon tabletas del modo normal que tenían como componente activo el compuesto obtenido según los ejemplos I-XXIV.

25.

Los componentes de las tabletas se indican a

continuación:

	Sal sódica del compuesto en cuestión	125-500 mg
	Polivinilpirrolidona	5-30 mg
	Amylum maidis	100-300 mg
5.	Estearato de magnesio	1-20 mg
	Lactosa	hasta componer una tableta

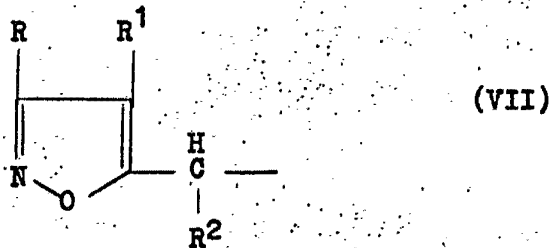
Estas tabletas se pueden utilizar para administración por vía oral.

N O T A
=====

10. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente presentada en Inglaterra con el nº 53040/70 de 6 de noviembre de 1.970; acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España,
15. sobre: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE DERIVADOS DE ACIDOS 6-SUSTITUIDO-AMINOPENICILANICO Y 7-SUSTITUIDO-AMINOCEFALOSPORANICO; caracterizándose por lo siguiente:
20. 1.- Procedimiento para la obtención de derivados de ácidos 6-sustituido-aminopenicilánico y 7-sustituido-aminocefalosporánico, de la fórmula general:
- 25.



- rificado opcionalmente con un grupo alquilo inferior, o transformado en una sal de metal alcalino, metal alcalino-térreo o amina, un grupo carbamilo, ciano o amino, o un átomo de cloro, y R^2 representa un átomo de hidrógeno, o un átomo de halógeno, un grupo ciano, amino o aralcooxicarbonilamino inferior, un grupo alquilo inferior, un grupo carboxilo esterificado con un alquilo inferior, arilo o aralquilo, o R^2 representa un grupo carbamilo, que lleva opcionalmente en el átomo de nitrógeno un sustituyente alquilo inferior o fenilo; caracterizado porque comprende reaccionar un éster o amida de un ácido 6-isocianatopenicilánico ó 7-isocianatocefalosporánico, que tiene un grupo hidroxil protegido opcionalmente presente, con un compuesto organometálico de fórmula $A-Me^I$, $A-Me^{II}-Hal$ ó $A-Me^{II}-A$, en donde A representa el grupo:



- Me representa un átomo metálico, indicando los números I o II su valencia y Hal representa un átomo de halógeno, en un medio disolvente orgánico anhidro, bajo condiciones que favorecen una reacción de Grignard, Reformatzky o similar; separar el residuo metálico y/o los grupos protectores de los productos así obtenidos por hidrólisis, hidrogenación o reacción de

sustitución con agentes básicos o nucleofílicos, para formar los correspondientes ácidos penicilánicos o cefalosporánicos; y transformar opcionalmente los ácidos obtenidos en sus sales o ésteres.

5. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende preparar un compuesto organometálico en un disolvente orgánico inerte bajo condiciones anhidras, por adición de una solución pre-enfriada de n-butil-litio en un disolvente orgánico inerte y N,N,N',N'-tetrametiletildiamina a un derivado pre-enfriado de isoxazol-5-il-metilo sustituido con sustituyentes que pueden reaccionar o pueden ser influenciados bajo las condiciones de reacción, protegidos, bajo agitación y a temperaturas de -30°C e inferiores; seguido por la reacción del compuesto así preparado con una solución de un éster de ácido 6-isocianatopenicilánico o 7-isocianatocefalosporánico, en donde cualquier grupo hidroxil opcional está protegido, en un disolvente orgánico inerte a temperaturas de -50°C e inferiores; seguido por la separación del ión metálico y de los grupos protectores opcionales simultáneamente separables; separación y aislamiento del producto obtenido y separación opcional de los restantes residuos protectores y/o conversión de los ácidos obtenidos en sus sales o ésteres.
- 10.
- 15.
- 20.
25. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque como éster del ácido 6-isocianatopenicilánico ó 7-isocianatocefalosporánico, se emplea un éster

de tri (alquil inferior) sililo.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque como disolvente orgánico inerte, se emplea tetrahidrofurano, tolueno, n-hexano o mezclas de los anteriores.

5.

5.- Procedimiento para la obtención de derivados de ácidos 6-sustituido-aminopenicilánico y 7-sustituido-aminocefalosporánico, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

10.

Esta Memoria consta de 90 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 1 MAR. 1974

KONINKLIJKE NEDERLANDSCHE GIST- EN

SPIRITUSFABRIEK N.V.

1 GOMEZ ACEBO Y MODET

p. p. Firmador: L. Gaeta Fernández

