

423.828
~~423.826~~

PATENTE DE INVENCION

SPA 2003/E

Int. Cl.²: C07D

Memoria Descriptiva

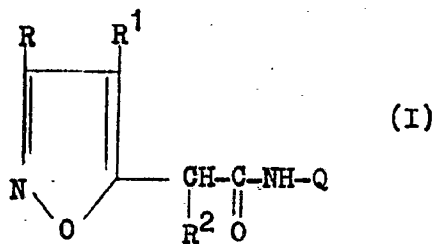
sobre:

PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DE ACIDOS AMINOPENICILANICO 6-SUSTITUIDOS Y AMINOCEFALOSPORANICO 7-SUSTITUIDOS.

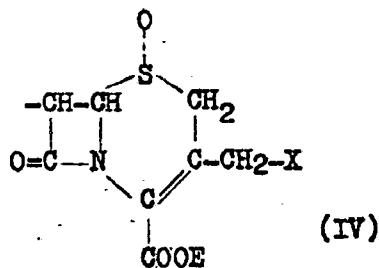
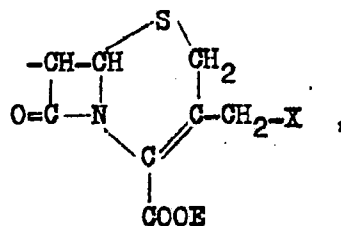
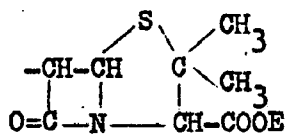
Solicitante: GIST-BROCADES N.V., entidad holandesa, residente en Wateringseweg 1, DELFT, Holanda.

=====

Esta invención se relaciona con un procedimiento para preparar nuevos derivados de ácidos aminopenicilánicos 6-sustituidos y aminocefalosporánicos 7-sustituidos, terapéuticamente útiles, que corresponden a la fórmula general:



en la que el símbolo Q representa el grupo:



5 en donde el símbolo X representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo o alcanciloxi inferior (preferiblemente acetoxi), o el residuo de un agente nucleofílico, tal como un grupo azido, un grupo carbamilo, un grupo S-Z en donde Z representa un grupo tetrazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, isoxazolilo, imidazolilo, llevando opcionalmente dichos grupos

10 heterocíclicos grupos alquilo inferior, R representa un grupo hidroxilo o metoxi, un átomo de cloro o bromo, R¹ representa un átomo de hidrógeno, cloro o bromo, R² representa un átomo de hidrógeno, cloro o bromo, un grupo amino, un grupo alcoxi-carbonilamino inferior (por ejemplo, terc-butoxi-carbonilamino), un grupo fenilalcoxi(inferior)carbonilamino, un grupo

15

5 p-nitrofenilalcoxi(inferior)carbonilamino o un grupo p-metoxi-
fenilalcoxi(inferior)carbonilamino, un grupo ácido sulfónico
transformado opcionalmente en una sal de metal alcalino,
alcalinotérreo o amínica, o R² representa un grupo carbamoilo
y el símbolo E representa un átomo de hidrógeno, un catión
formador de sales o un residuo éster farmacéuticamente acepta-
ble, con preferencia un residuo que proporcione a los compues-
tos de fórmula general (I) unas características de absorción
mejoradas después de la administración oral a personas y ani-
males.

10 Ejemplos de residuos éster que son conocidos por su-
ministrar características de absorción mejoradas después de la
administración oral, son aquellos de fórmula CH₂—O—CO—W,
en donde W representa un radical alquilo de cadena recta o
ramificada de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de cationes
15 formadores de sales son los iones sodio, potasio y calcio y
los derivados de aminas adecuadas formadoras de sales.

El término "inferior" tal como se aplica en esta
invención hacia los grupos alquilo, alcoxi y alcanilo, sig-
nifica que el grupo en cuestión contiene como máximo 6 átomos
20 de carbono y con preferencia de 1 a 4 átomos de carbono.

Ejemplos típicos de radicales isoxazol-5-il-acetamido
sustituídos, dentro de la fórmula I, son, por ejemplo:

(3-hidroxisoxazol-5-il)acetamido,
25 (3-metoxisoxazol-5-il)acetamido,
(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
(3-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-carbamoil(3-metoxisoxazol-5-il)acetamido,
α-carbamoil(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
30 α-carbamoil(3-bromoisoxazol-5-il)acetamido,

5 α-bromo(3-hidroxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-bromo(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-cloro(3-metoxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-bromo(3-metoxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-cloro(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-cloro(3,4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-amino(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-amino(3-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-amino(3-metoxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
10 α-amino(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
(3,4-dicloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-metoxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-hidroxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
15 α-cloro(3-hidroxi-4-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
α-cloro(3-hidroxiisoxazol-5-il)acetamido,
α-bromo(3-hidroxiisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-hidroxiisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido,
20 α-sulfo(3-bromoisoxazol-5-il)acetamido,
α-sulfo(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido,
α-amino(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido,
y sales, ésteres y residuos aminoacilo (por ejemplo, deriva-
dos fenilalcoxi(inferior)carbonilamino, p-nitrofenilalcoxi-
25 (inferior)carbonilamino y p-metoxifenilalcoxi(inferior)carbo-
nilamino de los mismos.

Según la presente invención, el procedimiento para
preparar los compuestos de fórmula general (I) comprende hacer
reaccionar un derivado de ácido 6-aminopenicilánico o 7-amino-
30 cefalosporánico, de fórmula:

Ejemplos de residuos protectores facilmente separables, representados por el símbolo E', son, por ejemplo, grupos sililo de fórmulas $(R^3)_2 \text{Si} <$ y $(R^3)_3 \text{Si} -$ (en donde cada uno de los símbolos R^3 , iguales o diferentes, representan un grupo alquilo inferior o un grupo alquilo inferior halo-sustituído, o un grupo fenilo, alcoxi inferior o bencilo), o un grupo bencilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, p-nitrobencilo, p-metoxibencilo), benzhidrilo o fenacilo (por ejemplo, fenacilo p-halo-sustituído) o un grupo 2,2,2-tricloroetilo, tritilo, t-butilo, isobornilo o adamantilo.

Un ejemplo de un grupo protegido X' es un grupo sililoxi $(R^3)_3 \text{SiO} -$ (en donde R^3 se define como anteriormente) que puede convertirse facilmente a un grupo hidroxil por hidrólisis.

Ejemplos de grupos R^{H} y $R^{2\text{H}}$ de la fórmula (X) que pueden convertirse facilmente en grupos R y R^2 después de la reacción, son los grupos hidroxil y amino sililados y los grupos amino acilados convertibles por métodos conocidos per se a radicales hidroxil y amino libres.

En lugar de los ésteres activos pueden emplearse también otros derivados funcionales de los ácidos de fórmula general (VIII) adecuados como agentes acilantes para un grupo amino primario. Dichos derivados incluyen los correspondientes cloruros y bromuros carboxílicos, anhídridos de ácidos, incluyendo los anhídridos mixtos preparados a partir de ácidos fuertes, tales como monoésteres alifáticos inferiores del ácido carbónico, de ácidos alquil y arilsulfónicos y de ácidos más estericamente impedidos, tal como ácido difenilacético. Además, se puede emplear una azida de ácido o un tioéster activo (por ejemplo, con tiofenol o ácido tioacético)

del ácido. Alternativamente, puede copularse el ácido libre mismo de fórmula (VIII) con el compuesto de ácido 6-aminopenicilánico ó 7-aminocefalosporánico, mediante el empleo del reactivo carbodiimida (por ejemplo, dicitclohexilcarbodiimida).
5 En lugar de los ésteres activos, puede emplearse una azolida correspondiente, es decir, una amida del correspondiente ácido cuyo nitrógeno amídico es un miembro de un amido casi aromático de 5 miembros que contiene por lo menos dos átomos de nitrógeno (por ejemplo, imidazol, pirazol, los triazoles, bencimidazol, benzotriazol y sus derivados sustituidos).
10

Los métodos para llevar a cabo estas reacciones para producir una penicilina o cefalosporina y los métodos empleados para aislar los compuestos así producidos, son ya bien conocidos en la técnica (véase patentes británicas Nos. 932.644, 957.570, 959.054, 952.519, 932.530, 967.108 y 967.890).
15

De acuerdo con un método preferido para la preparación de los compuestos de fórmula general (I), un derivado de ácido 6-aminopenicilánico ó 7-aminocefalosporánico, en un disolvente orgánico inerte, se convierte, bajo una atmósfera de nitrógeno, en los correspondientes derivados sililo (preferiblemente por reacción con un tri(alquil inferior)clorosilano en presencia de una base orgánica, con agitación) y el producto sililado obtenido se hace reaccionar con un cloruro de un ácido de fórmula general (VIII) (preparado a partir de un ácido de fórmula (VIII) por reacción con cloruro de tionilo en tetracloruro de carbono o éter dietílico, en presencia de una traza de dimetilformamida). Ventajosamente, el cloruro de ácido, disuelto en un disolvente orgánico inerte, se añade gota a gota a la mezcla de reacción en presencia de una base orgánica, mientras se mantiene la temperatura por debajo de
20
25
30

30°C (preferiblemente a temperatura ambiente), seguido por la agitación de la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Como disolvente orgánico inerte, para la reacción de acilación, se emplea preferiblemente acetato de etilo y como base orgánica se usa trietilamina o quinolina.

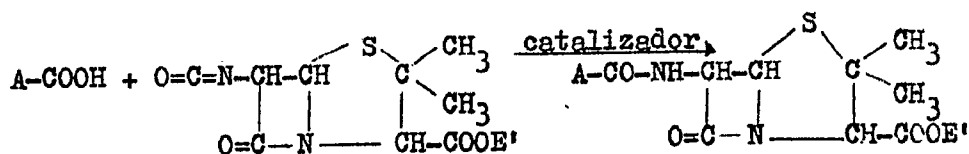
El derivado protegido obtenido por los procesos citados anteriormente, puede convertirse, por métodos conocidos per se, en los correspondientes ácidos penicilánicos o cefalosporánicos, por ejemplo cuando se emplea como reactante un derivado silílico (por ejemplo, trialquilsilílico) del material de partida de fórmula (V), (VI) ó (VII), el grupo protector puede fácilmente hidrolizarse para producir el correspondiente compuesto ácido de fórmula general (I). Se pueden separar otros grupos indicados por hidrólisis, hidrogenación o mediante una reacción de sustitución empleando agentes básicos o nucleofílicos.

Otro método según la invención para preparar los compuestos de fórmula general (I), comprende hacer reaccionar un ácido de fórmula general (VIII) con un derivado de ácido 6-isocianatopenicilánico o ácido 7-isocianatocefalosporánico, de fórmula $O=C=N-Q'$, en la que Q' representa un grupo de fórmula (II) ó (III) que contiene los radicales $-COOE'$ y X' , en donde E y X' se definen como anteriormente. Preferiblemente, el grupo protector del radical carboxi, o radical hidroxilo cuando éste está presente, en el reactante 6-isocianatopenicilánico ó 7-isocianatocefalosporánico, es un grupo tri(alquilinferior)sililo, que puede separarse fácilmente mediante hidrólisis del producto resultante.

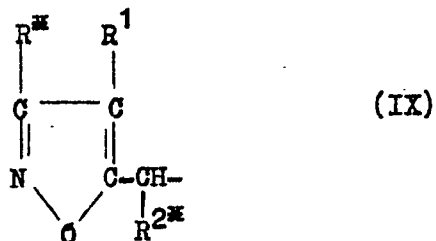
La reacción entre el ácido carboxílico de fórmula (VIII) y el isocianato de fórmula $OCN-Q'$, se efectúa en un

medio disolvente orgánico inerte, preferiblemente tolueno, diclorometano o benzonitrilo. Como catalizador se puede emplear una pequeña cantidad de una base orgánica, por ejemplo un imidazol sustituido. La reacción procede según el siguiente esquema de reacción para los derivados de ácidos penicilánicos.

5



en donde A representa un grupo de fórmula general:



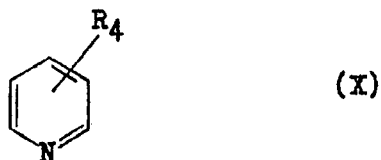
10

en donde E' y los otros símbolos se definen como anteriormente. El grupo COOE' del producto resultante puede reemplazarse por un grupo COOH mediante hidrólisis, hidrogenación o una reacción de sustitución, empleando agentes básicos o nucleofílicos, después de la reacción.

15

Como catalizadores adecuados que pueden ser empleados, se mencionan los compuestos seleccionados del grupo consistente en:

a) compuestos de fórmula general:



20

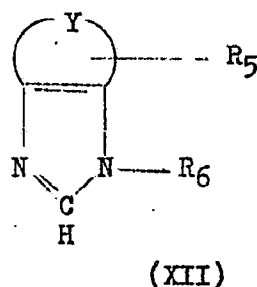
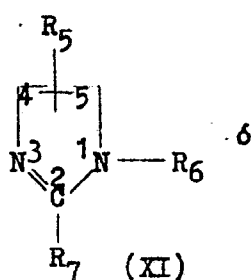
en la que R₄ representa uno o más (con preferencia no más de dos) grupos donadores de electrones, por ejemplo grupos alcoxi

inferior, ariloxi, arilalcoxi inferior, sililoxi, dialquilamino inferior, sililalquilamino inferior o disililamino, distintos a los de los derivados de piridina que llevan grupos donadores de electrones en las posiciones 2 y 6, o N-óxidos, de los mismos. Preferiblemente, en la posición 4 del núcleo piridina se encuentra un grupo donador de electrones, por ejemplo, un grupo metoxi, fenoxi, benciloxi o dimetilamino. Ejemplos de catalizadores adecuados de piridina, son 4-metoxipiridina y 4-dimetilaminopiridina y sus N-óxidos.

5

10

b) compuestos de fórmula general:



en donde R₅, en la fórmula (XI), representa un átomo de hidrógeno o un sustituyente en la posición 4 y/o 5 seleccionado entre los grupos alquilo inferior, alqueno inferior (por ejemplo, vinilo o alilo), alcoxi inferior, arilo (por ejemplo, fenilo), ariloxi, arilalcoxi inferior, sililoxi, dialquilamino inferior, sililalquilamino inferior y disililamino, y átomos de halógeno, y R₆, en las fórmulas (XI) y (XII), representa un grupo hidrocarburo alifático, por ejemplo, un grupo alquilo inferior o alqueno inferior, o un grupo alcoxi inferior, sililo (preferiblemente trimetilsililo), cicloalquilo, arilo o un grupo hidrocarburo arilalifático, por ejemplo, un grupo bencilo o estirilo, y R₇, en la fórmula (XI), representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo inferior; Y, en la fórmula (XII), representa el residuo de un anillo hidrocarbonado, con-

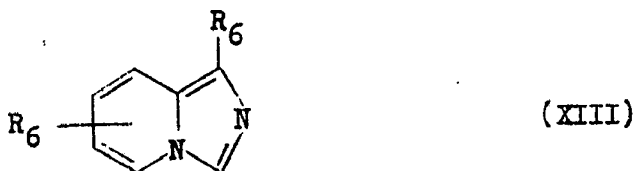
15

20

25

5 teniendo preferiblemente 4 átomos de carbono, que puede tener enlaces insaturados (C=C), R₅ representa uno o más grupos o átomos dentro de la definición de R₅ en la fórmula (XI) y puede representar además un grupo nitro, así como los N-óxidos de los compuestos de fórmulas (XI) y (XII). Cuando el símbolo R₅ ó R₆ representa un grupo arilo o un radical que contiene una mitad arilo, el grupo arilo puede estar sustituido, por ejemplo, por un grupo alcoxi (por ejemplo, metoxi). Podrá apreciarse que los compuestos de fórmula (XII) incluyen benci-
10 midazoles cuando Y representa el residuo de un anillo bencénico. Ejemplos de catalizadores que caen dentro de las fórmulas (XI) y (XII) son: 1-metil-imidazol, 1-bencilimidazol, 1-vinilimidazol, 5-cloro-1-metil-imidazol, 1-metilbencimidazol, 1-isopropilbencimidazol, 1-bencilbencimidazol, 5-metoxi-1-fenilbencimidazol y 5(ó 6)-nitro-1-metilbencimidazol.

15 c) compuestos de fórmula general:



20 en la que R₆ se define como anteriormente, o N-óxidos de los mismos. Un ejemplo de un catalizador de fórmula (XIII) es imidazo[1,2-a]piridina.

Preferiblemente, este método de preparación se emplea cuando no es practicable para preparar derivados activos de los ácidos de fórmula (VIII), por ejemplo, haluros de ácidos, anhídridos, ésteres activos, etc.

25 Otro método para preparar los derivados de ácidos penicilánicos y cefalosporánicos de fórmula general (I), consiste en la reacción de un ácido 6-isocianatopenicilánico o

7-isocianatocefalosporánico de fórmula $O=C=N-Q'$ en la que Q' se define como anteriormente, con un compuesto organometálico de fórmula $A-Me^I$ ó $A-Me^{II}-Hal$ en donde A se define como anteriormente, Me representa un átomo metálico, por ejemplo litio, sodio o magnesio, los números I y II indican su valencia y Hal representa un átomo de halógeno, preferiblemente de cloro o bromo, seguido por hidrólisis del producto intermedio obtenido para separar el ión metálico y cualquier grupo hidrolizable que protege al grupo carboxi o al grupo hidroxil cuando está presente. La reacción se efectúa en un disolvente orgánico anhidro bajo condiciones que favorezcan una reacción del tipo Grignard, Reformatsky o análoga, preferiblemente en un disolvente orgánico inerte, mezclando con una cantidad determinada de un disolvente aprótico altamente polar, tal como hexametilfosfotriamida, N-metilpirrolidona o tetrametilurea. Preferiblemente, estas reacciones se efectúan a temperaturas inferiores a $-40^{\circ}C$, empleando en general un exceso molar del compuesto organometálico. Más preferiblemente, el símbolo Me representa litio y la reacción se efectúa en presencia de N,N,N',N'-tetrametiletildiamina, a temperaturas inferiores a $-50^{\circ}C$.

Los dos últimos métodos de reacción, es decir, la reacción de un compuesto de fórmula $A-COOH$, $A-Me^I$ ó $A-Me^{II}-Hal$ con compuestos de fórmula $O=C=N-Q'$, se realiza preferiblemente haciendo reaccionar aquellos compuestos $O=C=N-Q'$ que contienen los radicales $-COOE'$ y X' , en donde X' representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxil esterificado, tras lo cual el grupo X' puede convertirse en otros grupos que caigan dentro de la definición de X, mediante métodos conocidos per se.

Los materiales de partida de isocianato de fórmula general $O=C=N-Q'$, en la que Q' se define como anteriormente,

neral (XVI) en la que Qⁿ representa un grupo de fórmula (XVII) ó (XVIII) y E representa un átomo de hidrógeno, en un anhídrido o éster del mismo (preferiblemente un derivado silílico), si es necesario calentando el anhídrido o éster de ácido a una temperatura de como máximo 160°C, en un disolvente orgánico inerte seco, con un ácido anhídrido, que sea capaz de causar la expansión del anillo del anillo penam, en presencia de un compuesto que contiene silicio capaz de:

a) separar el agua formada durante el agrandamiento del anillo de la estructura penam lo suficientemente rápido para evitar que el agua hidrolice la mitad anhídrido de ácido éster (por ejemplo, sililo) presente, y

b) formar productos neutros o básicos tras la hidrólisis, siendo el citado ácido lo suficientemente fuerte para que no sea, o por lo menos para que no sea en un grado sustancial, sililado bajo las condiciones de reacción.

Preferiblemente, como compuesto que contiene silicio, se utiliza un miembro del grupo consistente en: N,O-bis(trimetilsilil)acetamida, N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida, N,N-bis(trimetilsilil)carbodiimida, N-(trimetilsilil)acetamida, N-metil-N-(trimetilsilil)acetamida, N-metil-N-(trimetilsilil)formamida, N-(trimetilsilil)-2-pirrolidona, N-(trimetilsilil)urea, N,N'-bis(trimetilsilil)urea, N-(trifenilsilil)etilcarbamato, trimetilsilildimetilsulfoximida, N-trimetilsilil-N-metil-trifluoroacetamida y trimetilsililimidazol. Más preferiblemente, se utiliza N,O-bis(trimetilsilil)acetamida o N,N'-bis(trimetilsilil)urea con bromuro o cloruro de hidrógeno como ácido anhídrido catalítico. El bromuro o cloruro de hidrógeno puede incorporarse como tal en la mezcla de reacción o combinado con una base nitrogenada, por ejemplo pi-

ridina, una piridina sustituida, quinolina, quinolina sustituida, imidazol o un imidazol sustituido. Las temperaturas preferidas están comprendidas entre 60 y 130°C y, más preferiblemente, entre 70 y 110°C.

5

Preferiblemente, por cada mol de sulfóxido de ácido penicilánico, se utilizan de 1 a 4 moles de bromuro o cloruro de hidrógeno, 1,5 a 15 moles de base nitrogenada tal como picolina, siendo superior la cantidad de base a la de ácido, y 2 a 4 moles de N,O-bis(trimetilsilil)acetamida, y la reacción se efectúa a una temperatura de 80°C a 100°C, en un disolvente orgánico inerte, tal como dioxano.

10

Podrá apreciarse también que los compuestos de fórmula general (I) que contienen un grupo de fórmula (IV) o compuestos de fórmula (XVI) que contienen un grupo de fórmula (XVII) ó (XVIII) pueden prepararse también a partir de los correspondientes derivados de ácidos penicilánicos o cefalosporánicos mediante métodos adecuados de oxidación conocidos per se.

15

20

Podrá apreciarse que el grupo metilo opcionalmente sustituido de la posición 3 del núcleo ácido cefalosporánico, puede transformarse también en un grupo metilo sustituido más preferido, en una etapa de reacción posterior después de las anteriores vías de preparación para la cefalosporina intermedia.

25

Los reactantes empleados en las anteriores reacciones o bien son compuestos conocidos, que están disponibles en el comercio, o bien son nuevos compuestos que pueden prepararse mediante métodos generalmente conocidos per se en la técnica, o son derivados de los mismos que pueden prepararse mediante procesos químicos conocidos a partir de materiales de

30

partida adecuados, siguiendo los métodos descritos en la técnica para compuestos conocidos. Los compuestos, en tanto en cuanto sean nuevos, así como su preparación, forman también una característica de la invención.

5

10

Por ejemplo, son nuevos compuestos el ácido 3-cloroisoxazol-5-il-acético y sus derivados 4- y α -sustituídos, los ácidos 3-bromoisoxazol-5-il-acético 4- y α -sustituídos, excepto cuando R^2 representa bromo, los ácidos 3-metoxisoxazol-5-il-acético 4- y α -sustituídos y los ácidos 3-hidroxisoxazol-5-il-acéticos 4- y α -sustituídos, opcionalmente esterificados, excepto cuando R^2 representa amino o bromo.

15

20

Un intermediario clave en la síntesis de los materiales de partida de ácidos isoxazol-5-il-acéticos sustituidos de fórmula (VIII), tal y como se utiliza en la preparación de las penicilinas y cefalosporinas y derivados de las mismas, es 3-hidroxi-5-metilisoxazol. Este compuesto puede sintetizarse según los procedimientos ya descritos en la literatura, por ejemplo, en las Patentes USA Nos. 3.544.584 y 3.687.968 y en la correspondiente Patente holandesa No. 130.992 y en Helv. Chim. Acta 50, 137 (1967). Por ejemplo, el 3-hidroxi-5-metilisoxazol puede prepararse por reacción de hidroxilamina con tetrolato de etilo en etanol.

25

30

La silylación del 3-hidroxi-5-metilisoxazol así preparado, seguido por la reacción con n-butil-litio a unos -70°C , en un disolvente adecuado, proporciona, después de la reacción con dióxido de carbono (introducido como gas o a través de la solución con el compuesto de litio sobre dióxido de carbono sólido), el ácido 3-hidroxi-isoxazol-5-il-acético, en buen rendimiento.

Una complicación de la reacción de los 3-hidroxi-

isoxazoles con los agentes metilantes (para la preparación del correspondiente 3-metoxi-isoxazol) es el hecho de que pueden reaccionar también los compuestos tautoméricos, proporcionando de este modo no solo el producto O-metilado sino también el producto N-metilado. Sin embargo, los distintos productos pueden separarse fácilmente mediante una simple destilación en vacío. La litiaación de los 5-metilisoxazoles 3-sustituídos y opcionalmente 4-sustituídos, y la carboxilación, pueden efectuarse por métodos conocidos per se [véase K. Bowden, J. Chem. Soc. 1968, p. 172, y R.G. Micetich, Can. Journ. Chem. 48, p. 2009 (1970)].

La síntesis de otros ácidos isoxazol-5-il-acéticos sustituídos (en donde R es hidroxil o metoxil y en donde se han introducido otros sustituyentes R₁ y R₂) puede efectuarse partiendo, por ejemplo, de 3-hidroxil(o metoxil)-5-metilisoxazol.

Por ejemplo, pueden prepararse fácilmente los compuestos 4-bromo mediante una simple bromación del intermediario clave, a unos 60°C, en ácido acético como disolvente. La posterior litiaación y carboxilación proporciona intermediarios adecuados para la preparación de otros ácidos isoxazol-5-il-acéticos 3- y 4-sustituídos. De forma análoga, pueden prepararse los correspondientes compuestos 4-cloro.

La sustitución del grupo metileno de los ácidos isoxazol-5-il-acéticos (R₂), puede efectuarse por medio de una bromación de radicales libres con N-bromosuccinimida ó 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina en un disolvente inerte, tal como un hidrocarburo clorado, iniciándose la reacción por peróxidos o por luz ultravioleta. La sustitución de los ácidos α -bromo-acéticos obtenidos con toda clase de agentes nucleofílicos, resultantes en sustituyentes similares a grupos amino y sulfo,

es posible por medio de los procedimientos químicos clásicos ya conocidos. La sustitución del grupo metileno de los ácidos isoxazol-5-il-acéticos (R_2) puede efectuarse también por medio de una α -litiación de los ácidos isoxazol-5-il-acéticos y ulterior reacción del ácido litiado con un reactivo adecuado (por ejemplo cloro o bromo) para obtener el correspondiente compuesto, que tiene el sustituyente deseado R^2 en la posición alfa con respecto al grupo carboxi.

Los derivados 3-metoxi-5-sustituídos-metil-isoxazol (o los correspondientes compuestos 3-hidroxi), con preferencia aquellos que contienen como sustituyentes, por ejemplo, un grupo carbamoilo protegido o un grupo ácido sulfónico, pueden ser α -litiados, seguido por una reacción recta con compuestos de fórmula $O=C=N-Q'$ (en donde Q' se define como anteriormente) a unos $-60^\circ C$, en un disolvente inerte tal como tetrahidrofurano.

Los intermediarios clave de partida 3-cloro-5-metil-isoxazol y 3-bromo-5-metil-isoxazol, pueden prepararse por métodos conocidos, por ejemplo, como se describe en Gazz. Chim. Ital. 91, 47 (1961), idem 99, 1107 (1969) y en Chemistry (1957), 1650, implicando la última la preparación de las β -nitrocetonas intermedias por reacción de las correspondientes β -haloetilalquilcetonas con nitrito sódico en dimetilformamida, seguido por una reacción de ciclización de las β -nitrocetonas calentándolas con ácido clorhídrico o bromhídrico concentrado, con la formación de un 3-cloro(o bromo)-isoxazol, cuyo átomo de halógeno tiene poca reactividad. La conversión recta del grupo 5-metilo en un grupo ácido acético, por métodos ya descritos anteriormente, proporciona el correspondiente ácido 3-cloro-isoxazol-5-il-acético o 3-bromo-isoxazol-5-il-

acético, el cual puede convertirse opcionalmente en los correspondientes derivados α -sustituídos y 4-sustituídos, mediante los métodos ya indicados anteriormente.

5 Alternativamente, el intermediario clave 3-bromo (o cloro)-5-metilisoxazol puede convertirse en 3-metoxi-5-metilisoxazol, el cual a su vez puede convertirse, por ejemplo, por litiación y carboxilación, en ácido 3-metoxi-isoxazol-5-il-acético y ácido 3-metoxi-5-metil-isoxazol-4-carboxílico, o alternativamente el ácido 3-bromo(o cloro)-isoxazol-5-il-acético puede convertirse directamente, con hidróxido potásico
10 en metanol, al compuesto 3-metoxi.

Podrá apreciarse que todos los compuestos intermedios de fórmulas $A-Me^I$ y $A-Me^{II}-Hal$ (en donde A se define como anteriormente) pueden hacerse reaccionar directamente con derivados de ácidos 6-isocianatopenicilánicos ó 7-isocianatocefalosporánicos, como anteriormente se ha indicado.
15

Compuestos típicos de la invención son:

Acido 7-[(3-hidroxiisoxazol-5-il)acetamido]-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,
20 Acido 6-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]penicilánico,
Acido 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,
Acido 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-3-metil-3-cefem-4-carboxílico,
25 Acido 7-[(α -bromo-(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido)-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,
Acido 6-[(3-cloroisoxazol-5-il-acetamido]penicilánico,
Acido 7-[(3-cloroisoxazol-5-il-acetamido)-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,
30 Acido 7-[(3,4-dicloroisoxazol-5-il-acetamido)-3-acetoximetil-3-

cefem-4-carboxílico,

Acido 7- $\sqrt{3}$ -cloroisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ -azidometil-3-cefem-4-carboxílico,

5

Acido 7- $\sqrt{3}$ -metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ -azidometil-3-cefem-4-carboxílico,

Acido 7- $\sqrt{3}$ -cloroisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(5-metil-1,3,4-} \\ \text{tiadiazol-2-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

Acido 7- $\sqrt{3}$ -metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(5-metil-1,3,4-} \\ \text{tiadiazol-2-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

10

Acido 7- $\sqrt{3}$ -metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ -metil-3-cefem-4-carboxílico (R-sulfóxido),

Acido 7- $\sqrt{\alpha}$ -carbamoil (3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido $\sqrt{3}$ -acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,

Acido 6- $\sqrt{\alpha}$ -amino(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido $\sqrt{3}$ penicilánico,

15

Acido 7- $\sqrt{\alpha}$ -amino(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido $\sqrt{3}$ -acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico,

Acido 7- $\sqrt{3}$ -metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(1-metil-imidazol-} \\ \text{2-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

20

Acido 7- $\sqrt{3}$ -cloroisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(1-metil-imidazol-} \\ \text{2-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

Acido 7- $\sqrt{3}$ -metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(1-metil-tetrazol-} \\ \text{5-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

Acido 6- $\sqrt{\alpha}$ -amino(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido $\sqrt{3}$ penicilánico,

25

Acido 7- $\sqrt{\alpha}$ -amino(3-metoxiisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ -acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico; y

Acido 7- $\sqrt{3}$ -cloroisoxazol-5-il-acetamido $\sqrt{3}$ - $\left\{ \begin{array}{l} \text{(1-metil-tetrazol-} \\ \text{5-il)} \end{array} \right\}$ -tiometil $\sqrt{3}$ -cefem-4-carboxílico,

y sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, las sales sódicas o los ésteres de t-butanoiloximetilo.

30

Los nuevos derivados de ácidos penicilánico y cefa-

losporánico de fórmula general (I) tienen propiedades anti-bióticas que los hacen potencialmente útiles como medicinas para personas y animales, solos o mezclados con otros ingredientes medicamente activos ya conocidos.

5 Los nuevos compuestos de fórmula general (I) tienen actividades in vitro que pueden compararse favorablemente con las actividades de los antibióticos β -lactama ya conocidos, siendo especialmente activos contra organismos gram-positivos (Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus haemolyticus) y, además, tienen buena actividad contra estafilococos resistentes a la penicilina y contra organismos gram-negativos (Pasteurella multocida, Klebsiella pneumoniae y Salmonella Dublin), en especial los compuestos en los cuales R representa un grupo metoxi, un átomo de cloro o bromo, R¹ representa un átomo de hidrógeno, cloro o bromo, R² representa un átomo de hidrógeno, cloro o bromo, un grupo amino o un grupo ácido sulfónico, opcionalmente transformados en una sal de sodio, potasio, calcio o amonio, y más particularmente los compuestos en los cuales R representa un átomo de cloro o un grupo metoxi, R¹ representa un átomo de hidrógeno, cloro o bromo y R² representa un átomo de hidrógeno, y en especial los compuestos en los cuales Q representa un grupo de fórmulas (II) ó (III), en donde X representa un radical acetoxi, azido, 5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il-tio, 1-metil-imidazol-2-il-tio ó 1-metil-tetrazol-5-il-tio, y E representa un átomo de hidrógeno o un catión formador de sales.

15 Los compuestos ácidos de fórmula general (I) se emplean preferiblemente, para fines terapéuticos, en forma de una sal no tóxica, tal como la sal de sodio, potasio o calcio.

Otras sales que pueden ser empleadas incluyen las sales no tóxicas adecuadamente cristalizante con bases orgánicas tales como aminas, por ejemplo, triálquilaminas, procaína y dibencilamina.

5 En el tratamiento de infecciones bacteriales, los compuestos antibacteriales de esta invención pueden administrarse localmente, oralmente y parenteralmente, según procedimientos convencionales para la administración de antibióticos. Los compuestos se administran en dosis unitarias que contienen
10 una cantidad eficaz del ingrediente activo en combinación con vehículos o excipientes adecuados fisiológicamente aceptables. Las dosis unitarias pueden tener la forma de preparados líquidos, tales como soluciones, suspensiones, dispersiones o emulsiones, o una forma sólida, tales como polvos, tabletas, cápsulas y similares.
15

 Por consiguiente, la invención incluye composiciones terapéuticas que comprenden una cantidad eficaz de uno de los compuestos de la invención, en combinación con un vehículo o excipiente inerte adecuado. Dichas composiciones terapéuticas
20 pueden incluir también uno o más ingredientes terapéuticos, además de uno de los compuestos de la invención. El término "cantidad eficaz" tal como aquí se emplea en relación a los compuestos descritos, quiere dar a entender una cantidad que es suficiente para destruir o inhibir el crecimiento de micro-
25 organismos susceptibles, cuando se administra del modo usual, en otras palabras una cantidad que es suficiente para controlar el crecimiento de bacterias.

 La magnitud de una cantidad eficaz puede determinarse fácilmente por aquellas personas expertas en la técnica, a
30 través de procedimientos normalizados para la determinación de

la actividad relativa de agentes antibacteriales, cuando se utilizan contra organismos susceptibles por las diversas vías de administración disponibles.

5 Como vehículos y excipientes adecuados se puede utilizar cualquier ingrediente fisiológicamente aceptable, conveniente, que pueda servir para facilitar la administración del compuesto terapéuticamente activo. Los vehículos pueden proporcionar cierta función auxiliar, tal como la de un diluyente, agente enmascarante del sabor, agente aglutinante,
10 agente de acción retardada o estabilizador. Ejemplos de vehículos incluyen agua, que puede contener gelatina, acacia, alginato, dextrán, polivinilpirrolidona o carboximetilcelulosa sódica, etanol acuoso, jarabe, salina isotónica, glucosa isotónica, almidón, lactosa o cualquier otro material generalmente
15 empleado en la industria farmacéutica y veterinaria.

Otros aspectos de la invención incluyen un método para inhibir el crecimiento de bacterias, mediante aplicación al habitat de las bacterias de una cantidad eficaz del compuesto antibacterial aquí descrito. Por ejemplo, el método
20 puede aplicarse para el tratamiento de infecciones bacteriales en animales, mediante la administración al anfitrión de una cantidad eficaz de un compuesto antibacterial.

Los nuevos derivados de los ácidos penicilánico y cefalosporánico según la fórmula I, pueden emplearse también como promotores del crecimiento para animales rumiantes. También son útiles en aplicaciones in vitro, tales como en líquidos para fines de desinfección, a una concentración de 0,1 a 1 % en peso, disueltos o suspendidos en un vehículo inerte adecuado, para su aplicación mediante lavado o pulverización.
25

30 La invención se ilustra por los siguientes ejemplos:

EJEMPLO 1

Preparación de ácido 7-[(3-hidroxiisoxazol-5-il)acetamido]-
cefalosporánico

5 A 715 mg (5 mmoles) de ácido 3-hidroxiisoxazol-5-il-
acético en 20 ml de cloruro de metileno seco y 5 ml de tetra-
hidrofurano seco, se añaden 19 ml de una solución en tolueno
de 7-isocianatocefalosporanato de trimetilsililo (10 mmoles) y
unas cuantas gotas de N-vinilimidazol, bajo una atmósfera de
nitrógeno. La mezcla se agita a temperatura ambiente y se mide
10 de cuando en cuando el desprendimiento de dióxido de carbono.
Después de 6 horas, ha cesado la evolución de dióxido de carbono
y la mezcla de reacción se vierte en una mezcla de 50 ml de
hielo-agua y 50 ml de éter dietílico y, después de hidrolizar
a pH 4, se extrae la capa acuosa con acetato de etilo a pH 7.
15 Las extracciones del producto se realizan a pH 4 - 2,5. Des-
pués de secar sobre sulfato de magnesio y concentrar, se obtie-
ne un sólido que parece ser una mezcla del producto del título
deseado y de N,N'-bis(7-cefalosporanil)urea (aproximadamente
40 moles %).

20 Empleando cromatografía en columna (gel de sílice,
elución con mezclas de éter dietílico-acetato de etilo), se
pueden aislar 530 mg del compuesto del título deseado (26 %)
en un estado relativamente puro.

25 IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3320, 1780, 1735, 1700, 1680,
1630, 1385, 1235.

PMR (d_6 -DMSO + algo de DCOOD, 60 Mc, valores δ en ppm): 1,97
(s, 3H), 3,52 (m, \approx 2H), 3,66 (s, 2H), 4,84 (q, J=13 cps)
y 5,03 (d, J=4,7 cps) junto 3H, 5,67 (d, J=4,7 cps, 1H), 5,84
(s, 1H).

EJEMPLO 2

Preparación de 6-[(3-metoxiisoxazol-5-il)-acetamido]penicilinato sódico

Se añaden 3 gotas de N-vinilimidazol a una mezcla
5 de 785 mg de ácido 3-metoxiisoxazol-5-il-acético, y 1,62 g
(5 mmoles) de 6-isocianato-penicilinato de trimetilsililo, en
20 ml de cloruro de metileno seco, bajo una atmósfera de ni-
trógeno. Inmediatamente comienza el desprendimiento de dióxido
de carbono. Después de agitar durante 10 horas a temperatura
10 ambiente, la mezcla de reacción se vierte en 25 ml de hielo-
agua, se hidroliza a pH 3 y se separan entonces las capas a
pH 6. La capa acuosa restante se extrae con mezclas de éter
dietílico y acetato de etilo a un pH de 4,5 - 4 aproximadamen-
te. Después de secar sobre sulfato de magnesio y tratar con
15 carbón vegetal, las capas orgánicas combinadas se concentran
a un pequeño volumen, al cual se añade una solución de hexano-
ato de sodio en acetona (1 mmol/ml). El producto obtenido se
recoge en un filtro, se lava con acetato de etilo con éter di-
etilico y se seca. El rendimiento del producto del título es
20 del 34 %.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3400, 1765, 1670, 1620,
1510, 1460, 1410, 1035.

PMR (d_6 -DMSO + algo de D₂O, 60 Mc, valores δ en ppm): 1,52
y 1,63 (ambos s, junto 6H), 3,77 (2H), 3,88 (s, 3H), 4,26
25 (s, 1H), aprox. 5,5 (multiplete, 2H), 6,01 (s, 1H).

EJEMPLO 3

Preparación de ácido 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-
cefalosporánico

Se sililan 1,36 g (5 mmoles) de ácido 7-aminocefa-
30 losporánico en acetato de etilo, con 1,3 ml de trimetilcloro-

silano en presencia de 1,4 ml de trietilamina. A la solución resultante, se añade, después de la adición de 0,59 ml de quinolina, una solución de cloruro de 3-metoxiisoxazol-5-il-acetilo (preparado a partir de 785 mg (5 mmoles) de ácido 3-metoxiisoxazol-5-il-acético y cloruro de tionilo) en 5 ml de acetato de etilo. La temperatura sube unos 5°C.

La mezcla de reacción se agita durante otra media hora, se vierte en agua y el producto se extrae de la capa acuosa con acetato de etilo a un pH de 5 - 3 aproximadamente. Después de secar sobre sulfato de magnesio y tratar con carbón vegetal, se concentran las capas orgánicas combinadas. El producto del título ahora cristalizado, se recoge, se lava y se seca in vacuo. Rendimiento, 1,17 g (56 %). Según la cromatografía de capa delgada, el compuesto es muy puro.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3260, 1775, 1750, 1705, 1675, 1630, 1545, 1415, 1240, 1040.

PMR (d_6 -DMSO, 60 Mc, valores δ en ppm): 2,04 (s, 3H), 3,59 (m, \approx 2H), 3,76 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,87 (q, $J' \approx$ 13 cps) y 5,12 (d, $J = 4,7$ cps) junto 3H, 5,70 (q, $J=4,7$ cps, $J'' = 7,7$ cps, 1H), 6,04 (s, 1H), 9,17 (d, $J''=8,0$ cps).

EJEMPLO 4

Del mismo modo que en los ejemplos 2 y 3, se preparan los siguientes compuestos:

A. Acido 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]desacetoxicefalosporánico

A partir de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico (5 mmoles, 1,07 g) y cloruro de 3-metoxiisoxazol-5-il-acético. Rendimiento, 1,3 g (83 %) del compuesto puro, según cromatografía de capa delgada.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3280, 1775, 1725, 1660, 1630,

1550, 1530, 1415, 1220, 1040.

PMR (d_6 -DMSO, 60 Mc, valores δ en ppm): 2,04 (s, 3H), 3,47 (m, \approx 2H), 3,75 (s, 2H), 3,87 (s, 3H), 5,05 (d, J=4,7, 1H), 5,67 (q, J=4,5, J'=7,7, 1H), 6,04 (s, 1H), 9,09 (d, J'=7,5).

5 B. 7- α -bromo-(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)acetamido/cefalosporanato sódico

10 A partir de 815 mg de ácido 7-aminocefalosporánico y 1 g de ácido α -bromo-(3-metoxi-4-bromoisoxazol-5-il)-acético, se obtiene el compuesto anterior en un rendimiento de 900 mg (51 %) después del tratamiento del producto de ácido cefalosporánico con hexanoato de sodio, como en el ejemplo 2.
IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3400, 1760, 1735, 1680, 1605, 1530, 1410, 1235.

EJEMPLO 5

15 Del mismo modo que en los ejemplos 2 y 3, se preparan los siguientes compuestos:

A. 6-(3-cloro-isoxazol-5-il-acetamido)penicilanato sódico

20 A partir de 1 g de ácido 3-cloroisoxazol-5-il-acético y 1,3 g de ácido 6-aminopenicilánico. Rendimiento 1,47 g (60%).
IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): \pm 3400, 3340, 1775, 1710, 1620 y 1505.

PMR (d_6 -DMSO, valores δ en ppm): 1,51 (s) y 1,61 (s) junto 6H; 3,93 (s) y 3,96 (s) junto 3H; 5,28-5,44 (m, 2H); 6,64 (s, 1H) y 8,98 (d, J \approx 8 cps, 1H).

25 B. 7-(3-cloro-isoxazol-5-il-acetamido)cefalosporanato sódico

A partir de 1,6 g de ácido 3-cloroisoxazol-5-il-acético y 2,7 g de ácido 7-aminocefalosporánico. Rendimiento, 2,19 g (50 %).

30 IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): \pm 3450, 3300, 1770, 1740 (sh), 1675, 1615, 1560, 1390, 1250.

PMR (δ -DMSO, valores δ en ppm): 2,02 (s, 3H); 3,05-3,72 (q, $J \approx 17$ cps, 2H); 3,92 (s, 2H); 4,70-5,19 (q, $J \approx 12$ cps) y 4,98 (d, $J \approx 4,7$ cps) junto 3H; 5,5 (q, $J \approx 4,7$ cps, y $J' \approx 8$ cps, 1H); 6,64 (s, 1H); 9,25 (d, $J' \approx 8$ cps, 1H).

5 C. 7-[3,4-dicloroisoxazol-5-il-acetamido]cefalosporanato sódico

A partir de 920 mg de ácido 3,4-dicloroisoxazol-5-il-acético y 1,17 g de ácido 7-aminocefalosporánico. Rendimiento, 724 mg (32 %).

10 IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3400, 1760, 1740 (sh), 1670, 1605, 1380, 1240

PMR (δ -DMSO, valores δ en ppm): 2,02 (s, 3H); 3,42 (m); 4,02 (s, 2H), 4,69-5,18 (q, $J \approx 12$ cps) y 4,99 (d, $J \approx 4,7$ cps) junto 3H; 5,45-5,63 (q, $J \approx 4,7$ cps y $J' \approx 8,2$ cps, 1H); 9,33 (d, $J' \approx 8,2$ cps, 1H).

15

EJEMPLO 6

Preparación de ácido 7-(3-cloroisoxazol-5-il-acetamido)-3-azidometil-3-cefem-4-carboxílico

20 Bajo una corriente continua de gas nitrógeno seco, se sililan 2,04 g (7,5 mmoles) de ácido 7-amino-3-azidometil-3-cefem-4-carboxílico en 20 ml de acetato de etilo, por la adición de 2,28 ml de trietilamina y 2,08 ml de trimetilclorosilano a 0°C, tras lo cual la mezcla de reacción se agita adicionalmente durante media hora a temperatura ambiente.

25 Al derivado cefem sililado se añade, después de la adición de 1,08 ml de quinolina, una solución de cloruro de 3-cloroisoxazol-5-il-acetilo en 15 ml de acetato de etilo, preparada en tetracloruro de carbono a partir de 1,29 g (8 mmoles) de ácido tri-cloroisoxazol-5-il-acético y 0,88 ml de cloruro de tionilo y una cantidad catalítica de dimetilformamida.

30

Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vierte en una mezcla de 75 ml de hielo-agua y 25 ml de acetato de etilo a pH 4, tras lo cual se separan las capas a pH 8. A continuación, la capa acuosa se extracta con 50 ml de acetato de etilo, cada vez, a valores pH en disminución. Las capas orgánicas de pH 6 a pH 4, que contienen el compuesto deseado, se combinan, se lavan con agua, se secan sobre sulfato de magnesio y, después del tratamiento con carbón vegetal, se concentran in vacuo. De este modo, se obtienen 1,28 g (40 %) de un producto ligeramente coloreado (el compuesto del título).

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3260, 2110, 1770, 1715, 1660, 1540, 1375, 1235.

PMR (d_6 -DMSO + algo de DCOOD, valores \int en ppm): 3,58 (m, 2H), 3,92 (s, \approx 2H); 3,75-4,63 (q, $J \approx$ 13 cps, 2H); 5,01 (d, $J \approx$ 5 cps, 1H); 5,75 (d, $J \approx$ 5 cps, 1H); 6,52 (s, 1H).

EJEMPLO 7

Del mismo modo casi que en el ejemplo 6, se prepara el siguiente compuesto:

7-(3-metoxisoxazol-5-il-acetamido)-3-azidometil-3-cefem-4-carboxilato de sodio

Como materiales de partida se utilizan 2,29 g (9 mmoles) de ácido 7-amino-3-azidometil-3-cefem-4-carboxílico y 1,41 g (9 mmoles) de ácido 3-metoxisoxazol-5-il-acético. Rendimiento, 2 g de producto (53 %).

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3400, 3270, 2120, 1750, 1660, 1610, 1520, 1410, 1365, 1030.

PMR (d_6 -DMSO + algo de DCOOD, valores \int en ppm): 3,58 (m, \approx 2H); 3,75 (s, 2H); 3,87 (s, 3H); 3,74-4,61 (q, $J=13,5$ cps, 2H); 5,10 (d, 1H); 5,74 (d, 1H); 6,02 (s, 1H).

EJEMPLO 8

Preparación de 7-(3-cloroisoxazol-5-il-acetamido)-3-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-tiometil}-3-cefem-4-carboxilato de sodio

5 Una solución de cloruro de 3-cloroisoxazol-5-il-acetilo [preparada en tetracloruro de carbono a partir de 404 mg (2,5 mmoles) de ácido 3-cloroisoxazol-5-il-acético y 0,25 ml de cloruro de tionilo y una gota de dimetilformamida] en acetato de etilo, se añade de una vez alguna solución en acetato de etilo de ácido 7-amino-3-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-tiometil}-3-cefem-4-carboxílico sililado (sililación con trietilamina y trimetilclorosilano a temperatura ambiente) 10 después de la adición de 0,30 ml de quinolina. Después de agitar durante media hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se hidroliza con hielo-agua a pH 4. Las capas se separan a pH 7 y la capa acuosa se extracta a valores pH en 15 disminución.

Las capas de pH 5,5 - pH 3,5 se combinan, se lavan con algo de hielo-agua y se secan sobre sulfato de magnesio. La concentración de la solución, después del tratamiento con 20 carbón vegetal, se traduce en un sólido el cual se recibe en acetona seca. A esta solución, se añade una cantidad equivalente de una solución de octanoato de sodio (aproximadamente 1 mmol/ml). Después de la dilución con éter dietílico, la sal sódica precipitada se recoge en un filtro de cristal, se 25 lava con éter dietílico y se seca. De este modo, se obtienen 750 mg (60 %) de un sólido ligeramente coloreado (el producto del título).

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): ± 3400 , 3270, 1760, 1660, 1605, 1545, 1375.

30 PMR (d_6 -DMSO + algo de DCOOD, valores δ en ppm): 2,70 (s, 3H);

3,70 (m, 2H); 3,92 (s, 2H); 4,12-4,65 (q, $J \approx 13,5$ cps, 2H); 5,09 (d, $J \approx 5$ cps, 1H); 5,73 (d, $J \approx 5$ cps, 1H); y 6,52 (s, 1H).

EJEMPLO 9

5. Del mismo modo aproximadamente que en el ejemplo 8, se prepara el siguiente compuesto:

7-(3-metoxiisoxazol-5-il-acetamido)-3-{(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-tiometil}-3-cefem-4-carboxilato de sodio

10 Como materiales de partida se utilizan 785 mg de ácido 3-metoxiisoxazol-5-il-acético y 1,72 g (5 mmoles) de ácido 7-amino-3-{(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-tiometil}-3-cefem-4-carboxílico. Rendimiento, 1300 mg de producto (51 %). IR (disco KBr, valores en ppm): ± 3400 , 3300, 1765, 1675, 1620, 1525, 1465, 1420.

15 PMR (d_6 -DMSO, valores δ en ppm): 2,69 (s, 3H); 3,58 (m) y 3,77 (s) y 3,88 (s) junto 7H; 4,47 (m, 2H); 5,03 (d, $J \approx 5$ cps, 1H); 5,58 (q, $J \approx 5$ cps, y $J' \approx 8$ cps, 1H); 6,05 (s, 1H); 9,19 (d, $J' \approx 8$ cps, 1H).

EJEMPLO 10

20 Preparación de R-sulfóxido de ácido 7-(3-metoxiisoxazol-5-il-acetamido)-3-metil-3-cefem-4-carboxílico

25 Se sililan 1,06 g (4,6 mmoles) de R-sulfóxido de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico, en 30 ml de acetato de etilo puro, con 2 ml de N,O-bis(trimetilsilil)acetamida a temperaturas entre 30 y 50°C durante 2 horas y media. A la solución resultante, se añaden 0,55 ml de quinolina y una solución de cloruro de 3-metoxiisoxazol-5-il-acetilo (preparado a partir de 725 mg (4,6 mmoles) de ácido 3-metoxiisoxazol-5-il-acético y 0,48 ml de cloruro de tionilo y dos gotas de dimetilformamida y reflujo de la mezcla durante media hora) en 5 ml

30

de acetato de etilo seco. La temperatura sube algunos grados. La mezcla de reacción se agita durante otra hora, se vierte en 15 ml de hielo-agua, mientras se mantiene el pH en aproximadamente 3. El pH se ajusta a 6,9, se separan las capas y se
5 extracta de nuevo la capa acuosa con 25 ml de acetato de etilo al mismo pH. A continuación, la capa acuosa se extracta una vez a pH 5,9, 4,9, 4,1 y 3,5, empleando cada vez 25 ml de acetato de etilo, se extracta dos veces a pH 2,4 con 25 ml de acetato de etilo, seguido por cuatro extracciones con 25 ml
10 de butanol y dos extracciones con 25 ml de metiletilcetona. Las capas orgánicas se evaporan in vacuo y el residuo se recibe en 70 ml de acetato de etilo. Esta solución se concentra fuertemente y se diluye con éter dietílico, obteniéndose un precipitado que es succionado y secado. Rendimiento del compuesto del título: 625 mg (37 %).

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3400, 3280, 1775, 1720, 1670, 1620, 1520, 1415, 1380, 1240, 1040 (sh) y 1030.
PMR (d_6 -DMSO, valores δ en ppm): 2,06 (s, 3H); 3,47-4,27 (q, $J \approx 17$ cps) y 3,76 (s) y 3,87 (s) junto 7H; 4,76 (d, $J = 4,5$ cps, 1H); 5,63 (q, $J = 4,5$ cps y $J' = 8$ cps, 1H); 6,09 (s, 1H); 9,37 (d, $J' = 8$ cps, 1H).

EJEMPLO 11

Preparación de ácido DL-7- α -carbamoil-(3-metoxisoxazol-5-il)-acetamido-7-3-acetoxi-metil-3-cefem-4-carboxílico

25 Bajo condiciones anhidras y bajo una atmósfera de nitrógeno, se tratan 844 mg (5,4 mmoles) de 3-metoxisoxazol-5-il-acetamida en 15 ml de tetrahidrofurano seco, con 5,4 ml de una solución de n-butil-litio en hexano (20 %, $\approx 2N$) a -50°C , y a continuación con 1,36 ml de trimetilclorosilano, haciendo que la temperatura se eleve a -30°C aproximadamente.
30

La acetamida bis-sililada que contiene la solución se enfría a -70°C y se añaden 1,66 ml de N,N,N',N'-tetrametiletildiamina, seguido por 5,4 ml de la misma solución de n-butil-litio. A continuación se añade una solución de 7-isocianatocefalosporanato de trimetilsililo que contiene una cantidad equimolar del isocianato y se continúa la agitación durante 1 hora a -50°C . La mezcla de reacción se vierte en una mezcla de 75 ml de hielo-agua y 50 ml de acetato de etilo. Las capas se separan a pH 7, se lava la capa acuosa 3 veces con 50 ml de volúmenes de acetato de etilo a pH 4, se acidifica a pH 2,5 y se centrifuga el precipitado formado. La capa acuosa residual se extrae 4 veces, empleando 40 ml de acetato de etilo cada vez. Este tratamiento parece separar todo el compuesto deseado de esta capa acuosa. Después de secar y concentrar las capas orgánicas combinadas, el compuesto del título obtenido, en forma sólida, unos 900 mg, se lava con éter dietílico y se cromatografía, empleando una columna de gel de sílice (altura 30 cm, diámetro 2 cm) y acetato de etilo, mezclas de acetato de etilo y acetona y acetona, como eluente.

IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3550 (sh = hombro), 3400, 3290, 1780, 1740 (sh), 1710, 1690 (sh), 1650 (sh), 1620, 1520, 1415, 1235 y 1040.

FMR (d_6 -DMSO, valores δ en ppm): (de la mezcla DL): 2,04 (s, 3H); 3,59 (m, \approx 2H); 3,90 (s, 3H); 4,60-5,18 (q, $J \approx$ 13 cps) y 4,76 (s) y 5,12 (dos dobletes muy cercanos, $J \approx$ 4,5 cps) junto 4H; 5,60-5,94 (dos cuartetos muy cercanos, ambos $J = 4,5$ cps y $J' = 8$ cps, 1H); 6,17 (dos singletes muy cercanos, 1H); 7,5 (m); 9,10-9,32 (dos dobletes muy cercanos, $J' = 8$ cps).

EJEMPLO 12

Preparación de ácido 3-cloro-isoxazol-5-il-acético

Se añade una cantidad equivalente de N,N,N',N'-tetra-
metiletilendiamina a una solución de 7,4 g de 3-cloro-5-metil-
isoxazol en 75 ml de tetrahidrofurano seco y la solución se en-
fría a -85°C. A continuación, se añade gota a gota, a una tem-
5 peratura entre -75° y -85°C, en un periodo de unos 60 minutos,
una solución de aproximadamente una cantidad equivalente de
n-butil-litio en n-pentano. La mezcla de reacción se agita
adicionalmente durante 30 minutos a -70°C y se retira el baño
de enfriamiento. Una vez que la temperatura de la mezcla de
10 reacción ha subido a -50°C, la mezcla de reacción se vierte
sobre dióxido de carbono sólido bajo una capa de éter dietíli-
co seco. Después de unas horas, se añaden 40 g de hielo tri-
turado y el pH se ajusta a 7 por la adición de ácido clorhí-
drico 4N. Las capas se separan y la capa acuosa se lava con
15 50 ml de éter dietílico. La capa acuosa se acidifica a pH 4,8
y se extracta tres veces con 80 ml de éter dietílico. Las ca-
pas etéreas combinadas se lavan dos veces con 50 ml de agua,
se secan sobre sulfato de magnesio y se evaporan completamente
hasta sequedad. El residuo sólido amarillo claro pesa 5,7 g.
20 Este residuo se disuelve en un exceso de benceno, tras lo cual
se evapora in vacuo la solución a unos 40°C hasta aparecer
los cristales. La mezcla se calienta entonces de nuevo hasta
la disolución completa, seguido por un enfriamiento e injerto
gradual. Una vez acabada la cristalización, el sólido obtenido
25 se succiona y se seca. Rendimiento del compuesto del título:
4,55 g (46 %).
IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3100, 1700, 1595, 1420,
1365, 1260, 1230, 965, 910, 780.
FMR (CDCl_3 , valores δ en ppm): 3,88 (d, $J \approx 0,7$ cps, 2H);
30 6,34 (t, $J \approx 0,7$ cps, 1H); y 9,30 (s, 1H).

EJEMPLO 13

Preparación de 6- β -cloroisoxazol-5-il-acetamido/penicilinato de t-butilcarboniloximetilo

5 Se suspenden 207 mg de ácido 6- β -cloroisoxazol-5-il-acetamido/penicilánico en 2 ml de HMPT y se añaden 230 mg de oximetilcloruro de t-butilcarbonilo.

10 La mezcla de reacción se agita durante 8 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vierte en una mezcla de 25 ml de agua y 10 ml de acetato de etilo. Después de la separación de la capa de acetato de etilo, la capa de agua se extrae con tres volúmenes sucesivos de 10 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavan tres veces con porciones de 10 ml de agua a pH 7,5 y a continuación se seca sobre sulfato de magnesio anhidro y se decolora mediante carbón vegetal activo. Después de la concentración, el aceite residual se trata con éter de petróleo (p.e. 40 - 60°C), resultando finalmente en 200 mg del compuesto sólido del título. IR (disco KBr, valores en cm^{-1}): 3300, 1780, 1760, 1680, 1370, 1110 y 985.

20 EJEMPLO 14

Se preparan del modo usual cápsulas conteniendo como ingrediente activo, una penicilina o cefalosporina preparada según los ejemplos anteriores.

25 A continuación se indican los componentes de estas cápsulas:

Compuesto activo	150 - 500 mg
Bicarbonato de potasio	100 - 300 mg
Estearato de magnesio	2 - 10 mg
Lactosa	q.s. para 1 cápsula

30 Estas cápsulas pueden utilizarse para administración

oral.

EJEMPLO 15

Se preparan del modo usual tabletas que contienen, como ingrediente activo, una penicilina o cefalosporina preparada según los ejemplos 1 a 13 anteriores.

A continuación se indican los componentes de las tabletas:

Compuesto activo	125 - 500 mg
Polivinilpirrolidona	5 - 30 mg
amylum maidis	100 - 300 mg
Estearato de magnesio	1 - 20 mg
Lactosa	q.s. para 1 tableta

Estas tabletas pueden emplearse para administración oral.

EJEMPLO 16

A partir de las penicilinas y cefalosporinas preparadas según los ejemplos anteriores, 1 a 12, se prepara del modo usual un polvo seco para inyección.

En un vial, adecuado para composiciones inyectables, se introduce asepticamente bajo una atmósfera de nitrógeno, una cantidad de 100 a 2000 mg de la sal sódica estéril del compuesto relacionado. Los viales son cerrados por medio de placas de caucho, las cuales se fijan en su sitio mediante arandelas de junta de aluminio con el fin de eliminar el intercambio de gases o la penetración de micro-organismos. Antes de su empleo, el polvo se disuelve en una cantidad adecuada de agua estéril y libre de pirógenos.

EJEMPLO 17

A partir de las penicilinas y cefalosporinas, preparadas según los ejemplos 1 a 13 anteriores, se preparan jara-

bes mediante mezcla de los siguientes ingredientes:

	Compuesto activo	1,5	- 6 g
	Carboximetilcelulosa sódica	0,06	- 0,600 g
	Sacarinato sódico	0,1	- 1 g
5	p-hidroxibenzoato de metilo	0,06	- g
	Fresón	0,1	- 5 g
	Amaranto	0,010	- g
	Sacarosa	30	- g
	agua añadida hasta un volúmen de	60	ml

10 Estos jarabes se pueden utilizar para administración oral.

Algunos miembros típicos, pertenecientes a la clase de compuestos según la invención, fueron ensayados con respecto a la actividad antibiótica in vitro por medio de un ensayo de dilución en serie con agar, realizado del siguiente modo:

15

Se prepara un stock de antibiótico a 2.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en un vehículo estéril adecuado. Se efectúan diluciones al doble con un tampón estéril de fosfato 1/20 molar de pH 6,5

20

($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$). Se incorporan cantidades de 1 ml de cada dilución en 19 ml de agar de infusión de cerebro-corazón en platos Petri estériles. La superficie endurecida se inocula con los organismos del ensayo y se incuba durante 24 horas a 37°C.

25

La concentración mínima inhibitoria (MIO), es decir la concentración mínima de antibiótico que inhibe completamente el desarrollo del organismo del ensayo, se expresa en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

En ciertos casos, se determinaron los valores MIC de acuerdo con un ensayo de microdilución en serie, realizado del siguiente modo:

30

Dos gotas de una solución stock del compuesto a ensayar (antibiótico) en una concentración conocida, se ponen en

5 el primer agujero de una placa de ensayo dotada de 9 agujeros numerados, por medio de una pipeta estéril de Pasteur. Después de aclarar esta pipeta tres veces con una solución fisiológica de cloruro sódico, se ponen en todos los agujeros, excepto en el número 8, dos gotas de una solución stock del organismo del ensayo en un medio de cultivo. En el primer agujero, la solución del compuesto ensayado ha sido diluida a la mitad; a continuación, y después de agitar el líquido del primer agujero y añadir dos gotas de esta mezcla al segundo agujero y así sucesivamente hasta el agujero número 8, se obtienen, en progresión geométrica, diluciones de la solución del compuesto del ensayo. El agujero número 9 no contiene antibiótico y sirve para controlar el crecimiento del organismo del ensayo en un medio modelo. La placa del ensayo se incubaba a 30 ó 37°C durante unas 18 horas. En la siguiente Tabla, los valores MIC, determinados según este último método de ensayo, han sido colocados entre paréntesis.

Se determinaron los valores MIC de los siguientes compuestos:

- 20 B. Acido 7-[(3-hidroxisoxazol-5-il)acetamido]/cefalosporánico.
C. 6-[(3-metoxisoxazol-5-il)acetamido]/penicilinato de sodio.
D. Acido 7-[(3-metoxisoxazol-5-il)acetamido]/cefalosporánico.
E. Acido 7-[(3-metoxisoxazol-5-il)acetamido]/desacetoxicefalosporánico.
- 25 F. 7-[(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido]/cefalosporinato de sodio.
G. 6-[(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido]/penicilinato de sodio.
H. 7-[(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido]/3-{5-metil-1,3,4-tiazol-2-il)-tiometil}-3-cefem-4-carboxilato de sodio.
- 30 I. Acido 7-[(3-cloroisoxazol-5-il)acetamido]/-3-azidometil-3-

cefem-carboxílico.

K. 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-3-azidometil-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

5

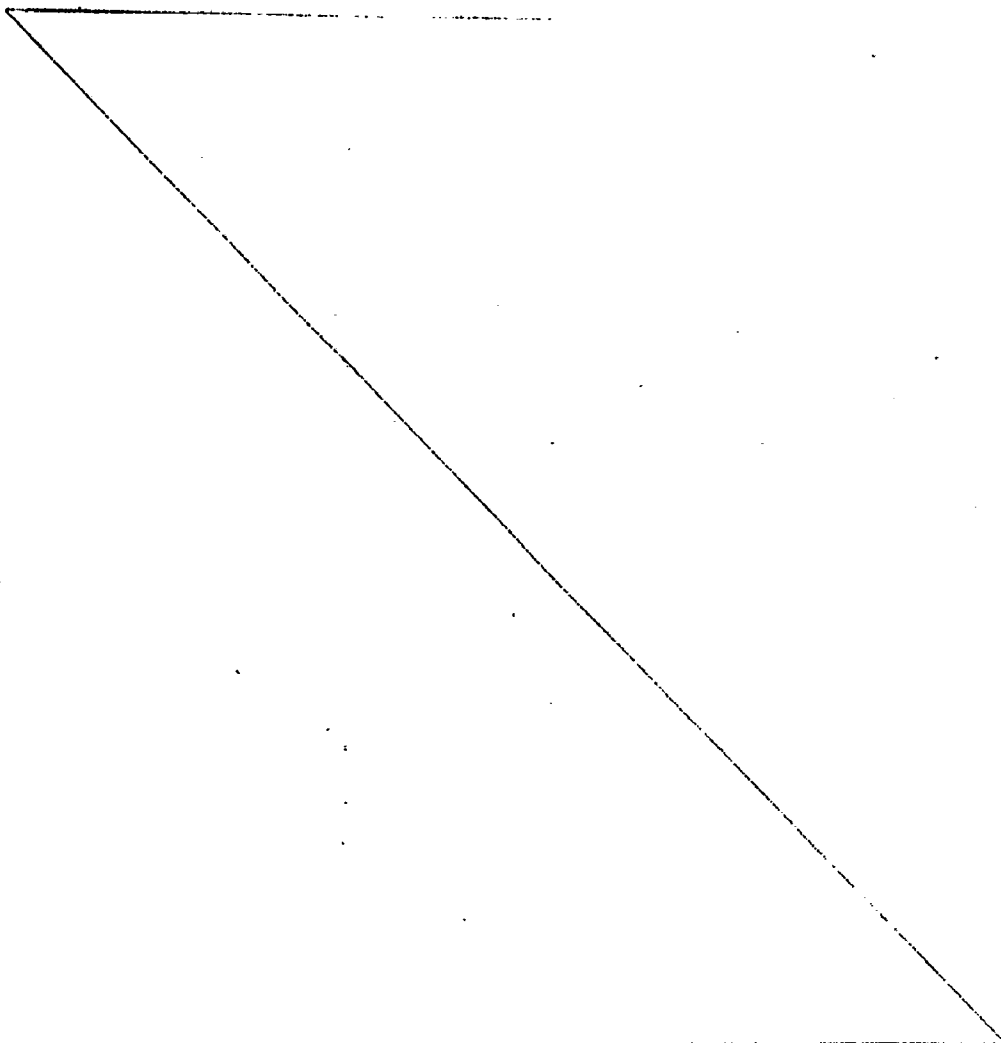
L. R-sulfóxido de ácido 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-desacetoxicefalosporánico.

M. Acido 7-[α -carbamoil(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]cefalosporánico.

N. 7-[(3-metoxiisoxazol-5-il)acetamido]-3-[(5-metil-1,3,4-tiazol-2-il)-tiometil]-3-cefem-4-carboxilato de sodio.

10

O. 7-[3,4-dicloroisoxazol-5-il-acetamido]cefalosporanato de sodio.



Organismo del ensayo	MIC's en µg/ml :												
	Compuesto B	Compuesto C	Compuesto D	Compuesto E	Compuesto F	Compuesto G	Compuesto H	Compuesto I	Compuesto K	Compuesto L	Compuesto M	Compuesto N	Compuesto O
<u>Gram pos.</u>													
Bacillus subtilis ATCC 6633	3	0,06	0,06	1,5	0,03	0,06	0,12	0,12	0,12	0,03	0,12	0,06	0,06
Staphylococcus aureus A 321	3	0,12	0,5	3	0,25	0,06	0,12	0,12	0,12	1,5	1,5	0,12	0,12
A 355'	12,5	6	0,75	12,5	1,5	0,25	0,5	0,5	0,5	12,5	3	0,25	0,25
A 2000	6	3	0,75	6	0,5	0,75	0,5	0,5	0,5	6	3	0,25	0,25
A 2001				6	0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	3	1,5	0,25	0,25
Streptococcus haemolyticus				6									
A 266	1,5	0,012	0,06	0,75	(0,0015)	(0,0015)	(0,6)	0,12	(0,023)	(0,06)	0,25	(0,009)	---
Streptococcus faecalis L 80	>100	1,5	12,5	>100	12,5	0,75	3	25	100	30	50	12,5	12,5
Diplococcus pneumoniae L 54	25	0,25	0,25	12,5	0,25	(0,06)	0,25	0,25	0,5	0,75	1	0,12	0,25
<u>Gram neg.</u>													
Brucella melitensis A488	100	0,5	6	100	(6)	0,5	12,5	6	(75)	>100	3	0,25	---
Pasteurella multocida A 723	3	1,5	1,5	50	0,75	0,25	0,5	3,0	0,75	6	1,5	0,25	1,5
Klebsiella pneumoniae A 809	12,5	>100	1,5	100	0,5	50	0,5	1,5	6	25	6	0,5	1,5
Salmonella Dublin P 43	12,5	3	1,5	100	0,75	3	0,5	1,5	3	100	6	0,75	12,5
Salmonella typhimurium R 172	6	25	1,5	100	1,5	3	3	6	3	100	12,5	3	50
Shigella equirilis T 3	6	3	1,5	50	1,5	6	3	3	3	6	6	1,5	---
Proteus rettgeri A 821	6	3	1,5	50	(5)	1,5	(1,8)	1,5	6	12,5	3	(0)	3
Proteus mirabilis H ₃	6	100	6	100	12,5	25	25	12,5	12,5	100	25	25	100
Proteus mirabilis L 93	6	6	3	50	3	3	6	3	1,5	50	6	3	3
Proteus mirabilis A 1200	12,5	50	6	100	12,5	100	12,5	25	12,5	100	12,5	25	100
Escherichia coli U20	6	50	3	100	25	12,5	3	3	12,5	>100	12,5	1,5	12,5
Streptococcus haemolyticus A 1088													0,12
Actinobacillus equuli T3													6

1) Cepa productora de penicilanas

Organismo del ensayo	MIC's en $\mu\text{g/ml}$				
	Compuesto B	Compuesto C	Compuesto D	Compuesto E	Compuesto F
<u>Gram pos.</u>					
Bacillus subtilis ATCC 6633	3	0,06	0,06	1,5	0,03
Staphylococcus aureus A 321	3	0,12	0,5	3	0,25
A 355 ¹	12,5	6	0,75	12,5	0,5
A 2000	6	3	0,75	6	0,5
A 2001				6	0,25
Streptococcus haemolyticus					
A 266	1,5	0,012	0,06	0,75	0,0015
Streptococcus faecalis L 80	>100	1,5	12,5	>100	12,5
Diplococcus pneumoniae L 54	25	0,25	0,25	12,5	0,25
<u>Gram neg.</u>					
Brucella melitensis A488	100	0,5	6	100	(6)
Pasteurella multocida A 723	3	1,5	1,5	50	0,75
Klebsiella pneumoniae A 809	12,5	>100	1,5	100	0,5
Salmonella Dublin P 43	12,5	3	1,5	100	0,75
Salmonella typhimurium R 172	6	25	1,5	100	1,5
Shigella equirilis T 3	6	3	1,5	50	1,5
Proteus rettgeri A 821	6	3	1,5	50	(5)
Proteus mirabilis H ₃	6	100	6	100	12,5
Proteus mirabilis L 93	6	6	3	50	3
Proteus mirabilis A 1200	12,5	50	6	100	12,5
Escherichia coli U20	6	50	3	100	25
Streptococcus haemolyticus A 1088					
Actinobacillus equuli T3					

¹) Cepa productora de penicilanasas

Los experimentos in vivo iniciales, con respecto a ciertos derivados de ácidos cefalosporánicos preparados, dieron los siguientes resultados:

- 5 a) A partir del compuesto indicado con H y la sal sódica derivada del compuesto indicado con D, respectivamente (es decir, 7- β -cloroxisoxazol-5-il-acetamido- β -3-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il-tiometil)-3-cefem-4-carboxilato de sodio y 7- β -metoxixisoxazol-5-il-acetamido- β -cefalosporanato de sodio), se determinó la toxicidad aguda en ratones (Swiss) por medio de una administración intraperitoneal. El valor LD₅₀ apareció en >2500 y >6000, respectivamente, mientras que los valores para cefalotin y cefazolin se encontraron en >6000 en ambos casos.
- 10
- 15 b) En un ensayo de protección, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ de 7- β -metoxixisoxazol-5-il-acetamido- β -cefalosporanato de sodio (indicado a continuación por el símbolo D) y de cefalotin como referencia:

Animal del ensayo: Ratones hembras, Swiss SPF, 10 ratones por grupo de la misma dosis.

20 Via de infección: Infección intraperitoneal
Staph. aur. A 2001

dosis: 5 veces por día

Duración del tratamiento: un día

Duración de la observación: 7 días

25 Parámetro: ED₅₀ (probit-análisis)

Resultados Relación de potencia (probit-análisis)

Compuesto del ensayo	Via de administración	ED ₅₀ mg/kg.	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
D	s.c.	30(11-81)		
cefalotin	s.c.	43(12-155)	1,45(0,56-3,70) (D/cefalotin)	-

30

c) En un mismo ensayo de protección, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ del compuesto D y de cefalotin, después de la infección intraperitoneal de *Proteus rettgeri* A 821:

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg.	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
D	s.c.	4,5(2,3-8,9)	0,96(0,37 - 2,52)	-
cefalotin	s.c.	4,3(2,2-8,6)		

d) En un mismo ensayo de protección, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ del compuesto D y de cefalotin como referencia, después de la administración intraperitoneal de *Klebsiella pneumoniae* A 265 y empleando 5 ratones en lugar de 10 ratones por grupo, a la misma dosis:

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
D	i.p.	3,2(1,2-8,7)	0,29(0,07-1,21)	-
cefalotin	i.p.	0,9(0,3-3,2)		

e) En un mismo ensayo de protección como el indicado en d), excepto que se utilizaron 3 dosis por día en lugar de 5 dosis, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ del com-

puesto H y de cefalotin y cefazolin como referencia, después de la administración subcutánea de Staphylococcus aureus A 2001:

5

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
H	s.c.	24,6(15,9-38,2)	1,54(0,83-2,87)	-
10 cefalotin	s.c.	38,0(24,4-59,1)	(H/cefalotin)	
cefazolin	s.c.	8,8(5,4-14,3)	0,36(0,19-0,68) (H/cefazolin)	+

15

f) En un mismo ensayo de protección que el descrito en b), excepto que se utilizaron tres dosis por día en lugar de 5, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ del compuesto F, es decir 7- β -cloroisoxazol-5-il-acetamido/cefalosporanato de sodio, y de cefalotin como referencia, después de la infección intraperitoneal de Staphylococcus aureus A 2001:

20

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
25 F	s.c.	17,4(7,0-43,4)	0,86(0,31-2,35)	-
cefalotin	s.c.	14,9(5,6-39,5)		

25

30

g) En un ensayo de protección como el descrito en b), se determinaron los siguientes valores ED₅₀ del compuesto F y de

cefalotin como referencia, después de la infección intraperitoneal de *Staphylococcus aureus* A 2001:

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
F	oral	75,7(40,2-142,7)	1,34(0,54-3,29)	-
cefalotin	oral	101(49,6-206)		

h) En un ensayo de protección como el descrito en b), excepto que se utilizaron 3 dosis por día en lugar de 5, se determinaron los siguientes valores ED₅₀ de los compuestos F y H y de cefalexin y cefalotin como referencia, después de la infección intraperitoneal de *Staphylococcus aureus* A 321:

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
F	oral	9,4(4,6-19,6)	H/cefalexin	+
H	oral	8,5(4,1-17,4)	0,10(0,03-0,32)	
cefalexin	oral	0,8(0,2-3,2)	H/cefalotin	
cefalotin	oral	8,6(4,2-17,7)	1,02(0,38-2,77)	-
			F/cefalexin	
			0,09(0,02-0,29)	+
			F/cefalotin	
			0,92(0,34-2,50)	-

j) En un ensayo de protección como el descrito en b), se determinaron los siguientes valores ED₅₀ de los compuestos F y H y de cefalotin como referencia, después de la infección

intraperitoneal de *Proteus mirab.* A 1200:

Compuesto del ensayo	Vía de administración	ED ₅₀ mg/kg	Relación de potencia	Estadísticamente significativo
F	s.c.	51,9(32,8-82,0)	F/cefalotin 0,81(0,43-1,52)	-
H	s.c.	97,0(61,4-153,1)	H/cefalotin	+
cefalotin	s.c.	42,0(27,0-65,2)		

k) Se determinaron los contenidos en sangre y orina del compuesto H después de la administración intramuscular y oral del compuesto en una solución acuosa, en conejos, como a continuación se indica:

Animales del ensayo: conejos "Nieuw Zeelander" ♂ ♂

peso: 2,1 - 2,4 kg.

Los conejos no recibieron alimento alguno durante las 20 horas anteriores y tomaron agua ad libitum.

Cada grupo de ensayo consistía en 3 conejos.

Vía de administración: intramuscular y oral.

Dosis: 50 mg/kg Vehículo: Solución fisiológica.

Muestras de sangre se tomaron después de 1/4 - 1/2 - 1 - 2 - 4 horas

Muestras de orina se tomaron después de 1 - 3 - 6 - 24 - 27 horas.

(En la práctica solamente se utilizaron las cantidades totales secretadas después de 6 y 27 horas).

Organismos de ensayo: Bac. subt. AA, Bac. subt. 6633 y Bac. callidolactis E 16.

El contenido del compuesto en las muestras se determinó microbiológicamente. (Solamente se han indicado las concen

traciones que solo se detectaron microbiológicamente, es decir las concentraciones antibacterialmente activas):

Resultados:

		H i.m.	H oral	Distinción de estadísticamente significativo + no significativo	Valor t
Nivel en suero en mcg/ml después de	1/4 hr	120 mcg/ml	0,57 mcg/ml	+	15,64
	1/2 hr	99 mcg/ml	0,85 mcg/ml	-	8,63
	1 hr	46,9 mcg/ml	0,94 mcg/ml	+	2,69
	2 hr	11,4 mcg/ml	1,15 mcg/ml	-	1,53
	4 hr	0,85 mcg/ml	0,32 mcg/ml	-	1,10
Secreción de compuesto en orina en % de la dosis administrada después de	6 hr	63,6 %	2,62 %	+	5,80
	27 hr	no empleado	4,04 %	+	7,22

- N O T A -

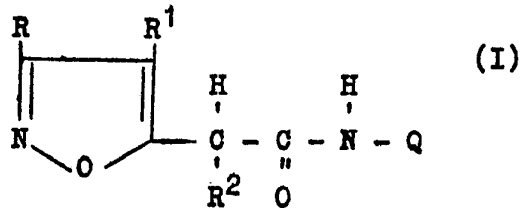
5 Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a dos solicitudes de patente, presentadas en Inglaterra con los números y fechas siguientes: 10.189/73 de 2 de marzo de 1.973 y 01836/74 de 15 de enero de 1.974, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DE ACIDOS AMINOPENICILANICO 6 SUSTITUIDOS

10

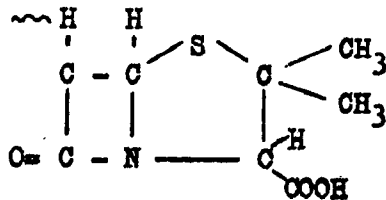
15

Y AMINOCEFALOSPORANICO 7-SUSTITUIDOS; caracterizándose por lo siguiente:

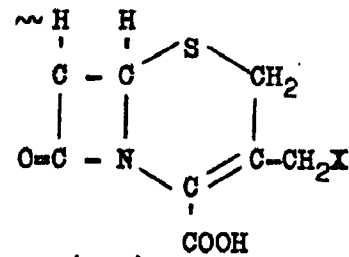
1º.- Procedimiento para preparar derivados de ácidos aminopenicilánico 6-sustituídos y aminocefalosporánico 7-sustituídos, de fórmula general:



en la que el símbolo Q representa el grupo:



(II)



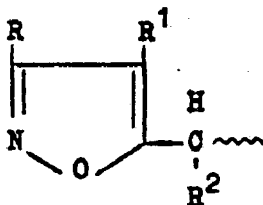
(III)

o sales, amidas o ésteres de estos, en donde el símbolo X representa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo o alcoilo inferior, o la agrupación $-\text{CH}_2\text{X}$ y el grupo carboxilo en la fórmula III están enlazadas conjuntamente para formar un grupo lactona, es decir, $\sim \text{C}(\text{O}) - \text{O} - \text{CH}_2 \sim$, o un grupo lacta

ma, es decir, $-\text{C}(\text{O}) - \text{NH} - \text{CH}_2-$, R representa un alquilo inferior o

un grupo arilo opcionalmente portando uno o mas sustituyentes seleccionados de átomos de cloro y bromo y de grupos nitro, amino, alquilo inferior, ó R representa un grupo alquilo terciario, R¹ representa un átomo de hidrógeno, o un grupo alqui

lo inferior, o R^1 representa un grupo carboxilo opcionalmen-
te esterificado con un grupo alquilo inferior, o transforma-
do en un metal alcalino, metal alcalino térreo o sal de ami-
na, un grupo carbamilo-, ciano- ó amino o un átomo de cloro,
5 y R^2 representa un átomo de hidrógeno o un átomo de halóge-
no, un grupo ciano, amino ó aralcooxicarbonilamino inferior,
un grupo alquilo inferior, un grupo carboxilo esterificado
con un grupo alquilo inferior, arilo ó aralquilo, ó R^2 repre-
senta un grupo carbamilo opcionalmente portando un sustituye-
10 yente alquilo inferior o fenilo sobre el átomo de nitrógeno,
caracterizado porque comprende reaccionar un éster o amida
de un ácido 6-isocianatopenicilánico ó 7-isocianatocefalospo-
ránico, que tiene un grupo hidroxil protegido opcionalmente
presente, con un compuesto organometálico de fórmula $A-Me^I$,
15 $A-Me^{II}-Hal$ ó $A-Me^{II}-A$, en donde A representa el grupo:



20 en donde R, R^1 y R^2 son según se definen anteriormente y Me
representa un átomo metálico, indicando los números I ó II
su valencia y Hal representa un átomo de halógeno, en un me-
dio disolvente orgánico anhidro, bajo condiciones anhidras,
25 y a temperaturas bajas; a continuación separar el residuo me-
tálico y/o los grupos protectores de los productos así obte-
nidos, por hidrólisis, hidrogenación o una reacción de susti-
tución con agentes básicos o nucleofílicos, para formar los
correspondientes ácidos penicilánicos o cefalosporánicos; y
30 transformar opcionalmente los ácidos obtenidos en sus sales o

ésteres.

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 ó 7-isocianatocefalosporánico, en donde un 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; separar y aislar el producto obtenido y a continuación separar opcionalmente los restantes residuos protectores y/o convertir los ácidos obtenidos en sus sales ó ésteres.

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^a.- Procedimiento para preparar derivados de ácidos aminopenicilánico 6-sustituídos y aminocefalosporánico 7-sustituídos, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

5

Esta Memoria consta de 51 hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid

21 JUN 1975

GIST-BROCADES N.V.

L. GONZÁLEZ AGUIRRE Y PÉREZ
S. de Responsabilidad Limitada

