



ESPAÑA

19 ES	11 NUMERO 432.305	10 A I
	21 FECHA DE PRESENTACION 26-11-74	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 420.418 507.473	32 FECHA 30-11-73 23-9-74	33 PAIS Estados Unidos Estados Unidos
--	---------------------------------	---

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D//A61K	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION
UN PROCEDIMIENTO DE PRODUCCION DE 7-ACILAMIDOCEFALOSPORINAS.

71 SOLICITANTE (ES)
MERCK & CO., INC.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
126 East Lincoln Avenue, RAHWAY, New Jersey, Estados Unidos

72 INVENTOR (ES)
Leonard M. Weinstock el cual ha cedido sus derechos a la compañía solicitante.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

RESUMEN DE LA INVENCION

1 Se obtiene un rendimiento mayor del compuesto ácido
7 β -(2-tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-
4-carboxílico o sus ésteres, a partir del compuesto ácido
5 7 β -(D-5-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-
metil-3-cefem-4-carboxílico, efectuando la acilación de es-
te último compuesto en presencia de zeolitas de aluminosili-
cato comerciales, también conocidas como "tamices molecula-
res". El procedimiento puede ser empleado más extensamente
10 para preparar una 7-acilamidocefalosporina a partir de una
cefalosporina con un grupo 7-acilamido diferente, sin tener
que aislar y purificar el intermediario 7-amino. Los produc-
tos finales tienen utilidad como antibióticos de amplio es-
pectro.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

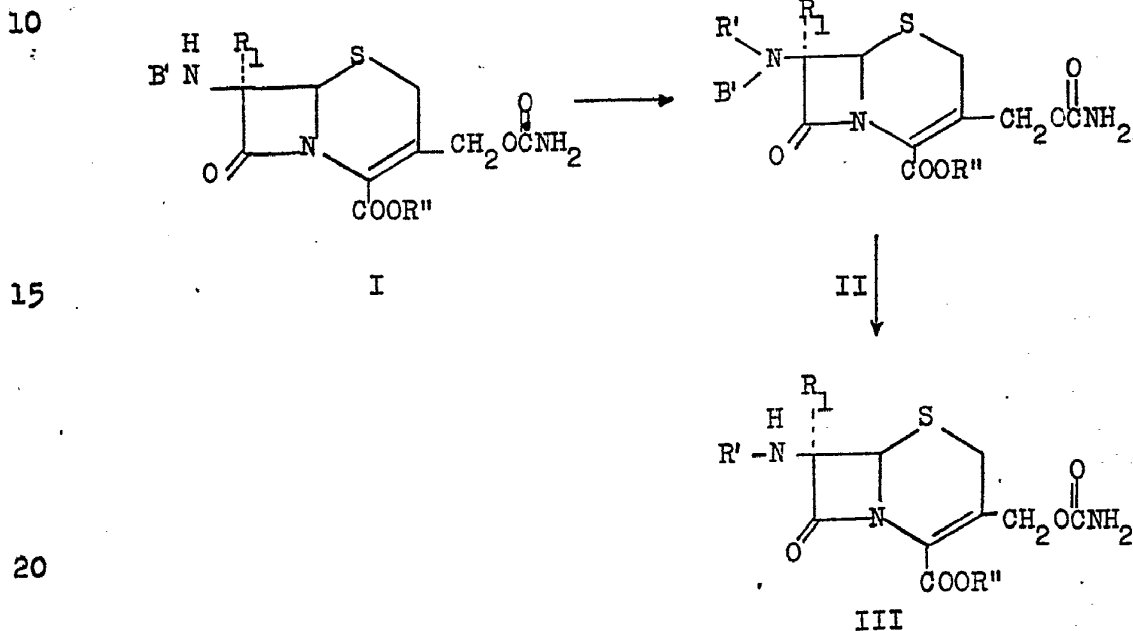
15 Un método de producción de 7-acilamidocefalosporinas
empleadas en medicina como antibióticos consiste en prepa-
rar la 7-aminocefalosporina análoga y después acilarla para
obtener el producto deseado. Este método adolece del incon-
20 veniente de que es necesario aislar y purificar primero la
7-aminocefalosporina intermedia. Por consiguiente, se han
buscado otros métodos que eviten la necesidad de preparar
el ácido 7-aminocefalosporánico.

25 Más recientemente, también se ha encontrado que las
cefalosporinas que llevan un sustituyente metoxi en lugar

1 del sustituyente hidrógeno en C-7 son producidas por diver-
sos microorganismos. Estas cefalosporinas contienen una ca-
dena lateral de aminoácido que es preferiblemente separa-
da para dar nuevas 7 α -metoxicefalosporinas de mayor activi-
5 dad antibiótica.

COMPENDIO DE LA INVENCION

De acuerdo con esta invención, hemos encontrado que
los compuestos de cefalosporina pueden ser intercambiados
como sigue:



donde B' y R' representan grupos acilo diferentes, R₁ re-
presenta hidrógeno o un sustituyente como metoxi y R'' re-
25 presenta hidrógeno o un grupo de bloqueo fácilmente separa-

1 ble.

5 Por lo tanto, en el diagrama de flujo anterior, el compuesto de cefalosporina I es intercambiado con un agente acilante en presencia de un tamiz molecular como catalizador, para producir el compuesto de 7-diacilimidocefalosporina (II) que después es escindido para producir el nuevo compuesto de 7-acilamidocefalosporina (III).

10 La etapa de producción del producto diacilado se efectúa mejor poniendo en contacto íntimo el compuesto de cefalosporina con un agente acilante, en un medio disolvente adecuado y en presencia del tamiz molecular. La temperatura a la cual se lleva a cabo la reacción no es especialmente crítica y en general son satisfactorias unas temperaturas de unos -20°C a unos 100°C , aunque se prefiere efectuar la reacción a temperaturas de unos 50 a unos 90°C . Son medios adecuados para llevar a cabo esta reacción los disolventes que no contienen un hidrógeno activo, como cloroformo, acetonitrilo, cloruro de metileno, dioxano, benceno, halobenceno, tetracloruro de carbono, éter dietílico y similares. El agente acilante puede ser un haluro de acilo, un anhídrido o un anhídrido mixto aunque generalmente se prefiere emplear un haluro de acilo, por ejemplo un cloruro de acilo, como agente acilante.

25 Los tamices moleculares que son útiles en esta invención son las zeolitas de aluminosilicato. En términos gene-

1 rales, las zeolitas naturales pueden definirse como un gru-
po de aluminosilicatos hidratados, sólidos, cristalinos, de
bases monovalentes y divalentes, que son capaces de perder
5 parte o la totalidad de su agua sin cambiar de estructura
cristalina, adsorber otros compuestos en lugar del agua sepa-
rada y capaces de experimentar intercambio básico. Una zeo-
lita sintética, por otra parte, se sintetiza a partir de una
combinación de óxidos básicos (AlO_2 , SiO_2 , Na_2O , K_2O , etc.)
en un sistema acuoso para dar una estructura cristalina hi-
10 dratada o semihidratada. Después del tratamiento térmico, las
zeolitas pueden considerarse prácticamente anhidras. Las zeo-
litas sintéticas se caracterizan y clasifican fundamentalmen-
te por métodos de difracción de los rayos X por el polvo.
Aunque se carece de un método químico sistemático para nom-
15 brar los aluminosilicatos complejos sintéticos, históricamen-
te se asigna a cada nueva zeolita sintética una letra o gru-
po de letras y números arbitrarios. El significado de estos
símbolos arbitrarios es muy conocido por los expertos en la
técnica.

20 Se ha encontrado que las zeolitas sintéticas de las
clases A y X son especialmente ventajosas para emplear en el
procedimiento de acilación antes descrito. El tamaño de po-
ro de las zeolitas puede estar comprendido aproximadamente
entre 3 y 15 Å. Las zeolitas pueden ser prácticamente anhi-
25 dras o contener algo de agua de hidratación. La cantidad de

1 agua en peso contenida en la zeolita puede oscilar entre
0 y 30 %.

5 El sustituyente en la posición 3 de los compuestos I,
II y III anteriores es $-\text{CH}_2\overset{\text{H}}{\text{OCNH}_2}$. La reacción de trans-aci-
lación funciona igualmente bien cuando se emplean compues-
tos en los que la posición 3 puede ser representada por
 $-\text{CH}_2\text{A}$, donde A es hidrógeno u otros sustituyentes conocidos
en la técnica. Así, si A es hidroxilo, incluye la lactona for-
mada con el grupo carboxi en 4 y si A es amino, incluye la
10 lactama formada con el grupo carboxi en 4. El sustituyente A
también puede representar azido, halógeno, ciano, alcoxi,
ariloxi, aralquiloxi, heterociclooxi, mercapto, alquiltio,
ariltio, aralquiltio, heterociclotio, amino, alquilamino,
alcancilamino, hidroxifenilo, aciltio, aciloxi, sulfamoiloxi
15 y similares. Los heterociclos pueden ser heteroanillos de
5 ó 6 miembros conteniendo uno o más átomos de nitrógeno,
oxígeno o azufre, tales como (1-metil-1,2,3,4-tetrazolilo).
El grupo acilo puede ser un grupo alcanilo inferior de 2 a
6 átomos de carbono o tiocarbamoiloxi y los derivados N-al-
20 quílicos o N,N-dialquílicos de carbamoiloxi o de tiocarpa-
moiloxi. El grupo alquilo de los sustituyentes anteriores
contiene de 1 a 6 átomos de carbono y puede estar además sus-
tituido con radicales como alcoxi, halógeno, amino, ciano,
carboxi, sulfo y similares.

25 Los sustituyentes acilo representados por B' y R' en

1 las fórmulas I, II y III anteriores son preferiblemente radi-
cales de ácidos carboxílicos. B' es aminoacido cuando los
compuestos son producidos a partir de ciertos microorganismos,
tales como S. clavuligerus, S. Lipmanii o S. lactamdurans.
5 Sin embargo, B' también puede ser cualquiera de los grupos acilo
comúnmente empleados en el campo de las cefalosporinas. B'
puede ser sustituido por cualquier grupo R' también empleado
en este campo. B' y R' pueden ser representados por la fórmula
10 general $R_{11}R_{10}CHCO$ donde R_{10} y R_{11} son definidos más adelante
y representan un grupo preferido de sustituyentes debido a su
actividad antibiótica útil en general. R_{10} representa hidrógeno,
halógeno, amino, guanidino, fosfeno, hidroxilo, tetrazolilo,
15 carboxi, sulfo o sulfamino. R_{11} representa fenilo, fenilo
sustituido, un anillo heterocíclico monocíclico de 5 ó 6
miembros conteniendo uno o más átomos de oxígeno, azufre
o nitrógeno en el anillo, heterociclos sustituidos, feniltio,
20 grupos tio heterocíclicos o heterocíclicos sustituidos o ciano.
Los sustituyentes pueden ser halógeno, carboximetilo, guanidino,
guanidinometilo, carboxaminometilo, aminometilo, nitro, metoxi
o metilo. Son ejemplos de los grupos acilo preferidos, bien B'
o R', que pueden ser mencionados el fenacetilo, 3-bromofenilacetilo,
p-aminometilfenilacetilo, 4-carboximetilfenilacetilo, 4-carboxamidometilfenilacetilo,
25 2-furilacetilo, 5-nitrofurilacetilo, 3-furilacetilo, 2-tienilacetilo,
5-clorotienilacetilo, 5-metoxitienilacetilo,

1 α -guanidino-2-tienilacetilo, 3-tienilacetilo, 4-metiltienil-
acetilo, 3-isotiazolilacetilo, 4-metoxi-isotiazolilacetilo,
4-isotiazolilacetilo, 3-metilisotiazolilacetilo, 5-isotia-
zolidilacetilo, 3-cloroisotiazolilacetilo, 3-metil-1,2,5-oxa-
5 diazolilacetilo, 1,2,5-tiadiazolil-4-acetilo, 3-metil-1,2,5-
tiadiazolil-4-acetilo, 3-cloro-1,2,5-tiadiazolil-4-acetilo,
3-metoxi-1,2,5-tiadiazolil-4-acetilo, feniltioacetilo, 4-pi-
ridiltioacetilo, cianoacetilo, tetrazolilacetilo, α -fluor-
fenilacetilo, D-fenilglicilo, 3-hidroxi-D-fenilglicilo,
10 2-tienilglicilo, 3-tienilglicilo, fenilmalonilo, 3-clorofe-
nilmalonilo, 2-tienilmalonilo, 3-tienilmalonilo, α -fosfono-
fenilacetilo, α -sulfaminofenilacetilo, α -hidroxifenilacetilo,
 α -tetrazolilfenilacetilo y α -sulfofenilacetilo.

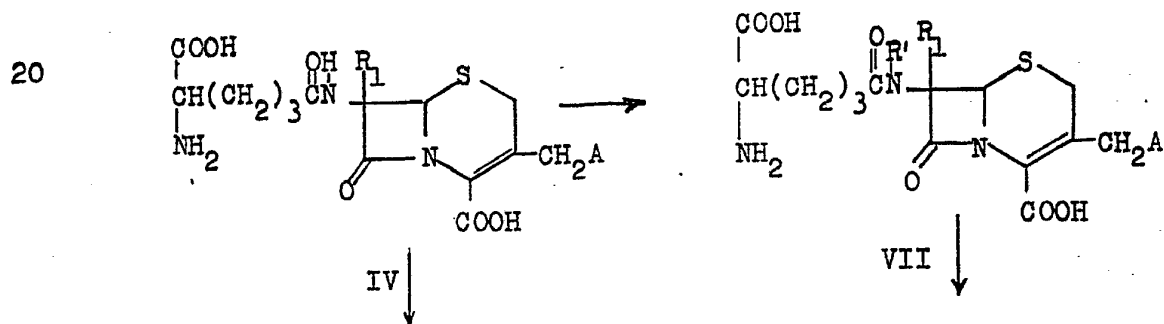
15 La reacción I \rightarrow II esquemáticamente representada más
arriba es una reacción de equilibrio. Se emplea un exceso
del agente acilante (que contiene el grupo R') para aumentar
el rendimiento del producto final deseado III. El producto
diacilado intermedio II debe ser escindido para separar el
grupo B' con objeto de preparar el producto final III. Esta
20 escisión se realiza de varias formas. En primer lugar, tie-
ne lugar la escisión espontánea (en presencia de un exceso
molecular del agente acilante haluro de R') simplemente pro-
longando el tiempo de reacción. En segundo lugar, cuando
hay agua presente en los tamices moleculares, el agua actúa
25 como agente de escisión y el producto acilamido final es

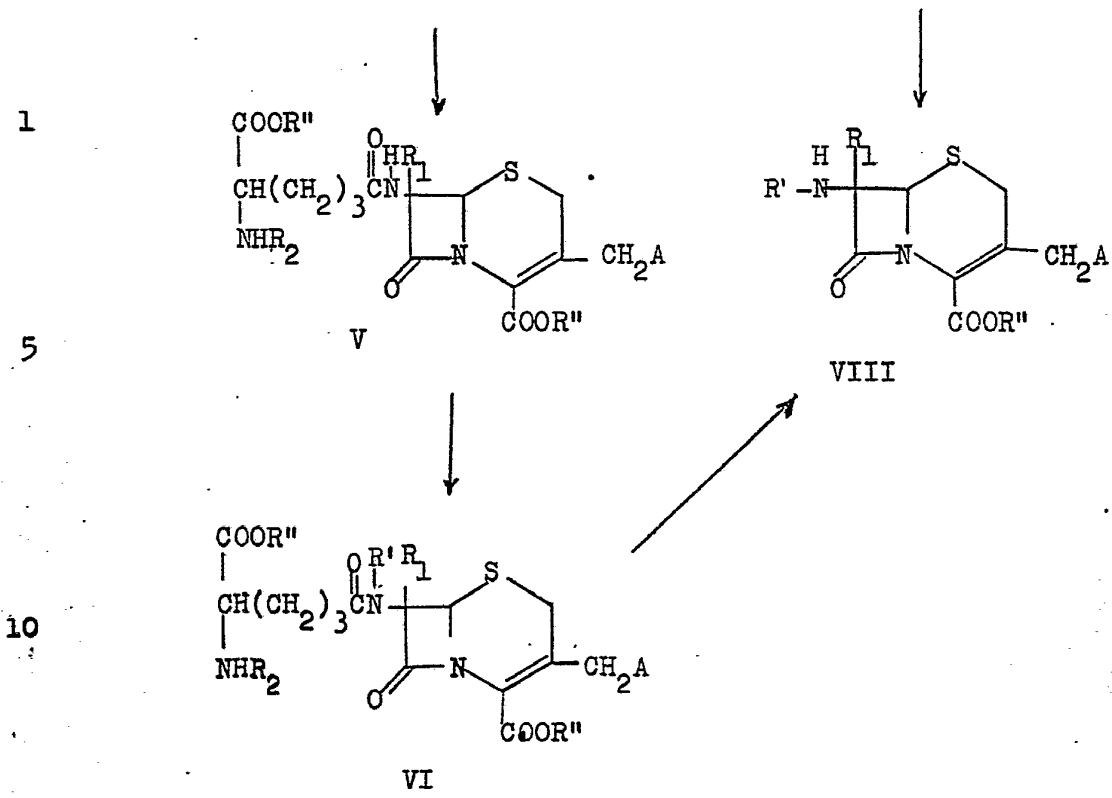
1 recuperado con un alto rendimiento. Estos dos métodos pueden ser caracterizados como "pasivos" en el sentido de que no hay necesidad de agregar un "agente de escisión" distinto a la mezcla de reacción.

5 Un tercer método de escisión es el resultante de la adición de alcohol bencílico, un alcohol o un alquil(inferior)tiol de 1 a 6 átomos de carbono. También puede agregarse ácido clorhídrico como agente de escisión, como un cuarto agente.

10 DESCRIPCION DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

De acuerdo con una realización preferida de esta invención, ahora se ha encontrado que las cefalosporinas, como las obtenidas por fermentación de varias especies de Streptomyces, pueden ser convertidas en derivados con un grupo acilo diferente en lugar del grupo aminoacidoilo sin escindir primero este grupo y después reacilando el compuesto 7-amino intermedio. El procedimiento general es ilustrado en el siguiente esquema de reacción:





15

20

En las fórmulas del esquema de reacción anterior, R_1 representa hidrógeno o metoxi; A representa hidrógeno o un sustituyente no afectado durante las reacciones descritas o reconvertible en el mismo por separación de cualquier grupo protector o de bloqueo, en el caso más preferido acetoxi o carbamoiloxi; R' representa un grupo acilo como se ha definido; R'' representa hidrógeno o un sustituyente de bloqueo o protector; R_2 representa un sustituyente de bloqueo o protector, siendo ambos fácilmente separados cuando se utilizan métodos comunes en la técnica.

25

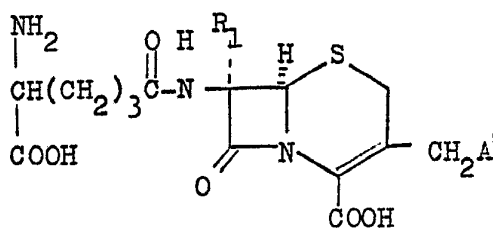
De acuerdo con el esquema de reacción anterior, el compuesto de cefalosporina IV o un derivado del mismo, don-

1 de el sustituyente amino y/o los grupos carboxi están opcio-
 5 nalmente bloqueados o protegidos (V), se hace reaccionar con
 un agente acilante en presencia del tamiz molecular para pro-
 ducir el producto diacilado intermedio (VI o VII). El radical
 10 aminoacilado de este último producto se escinde después se-
 lectivamente para producir el nuevo compuesto acilado de ce-
 falosporina (VIII) o una sal del mismo cuando R" es hidró-
 15 geno.

Aunque esta invención puede ponerse en práctica sin
 10 bloquear o proteger los grupos amino y carboxi de la cefalos-
 porina de partida (VII), generalmente se prefiere efectuar-
 la bloqueando o protegiendo primero los grupos amino y car-
 boxi ya que con estos compuestos protegidos se obtienen ren-
 15 dimientos máximos del nuevo compuesto de cefalosporina de-
 seado.

Una descripción ilustrativa y más detallada del pro-
 cedimiento preferido de esta invención está indicada en el
 siguiente esquema de reacción:

20

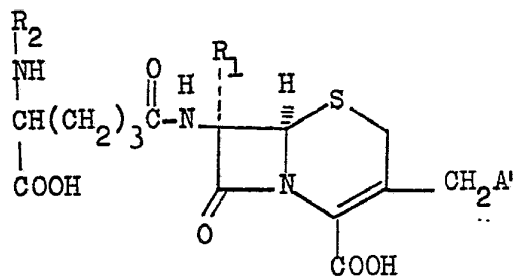


25

IX

1

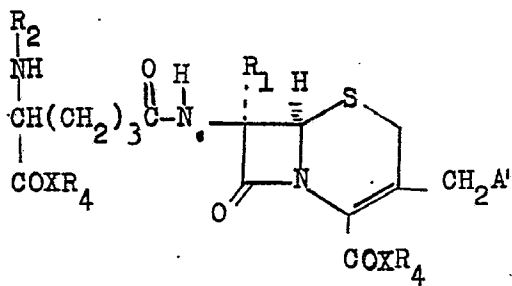
5



X



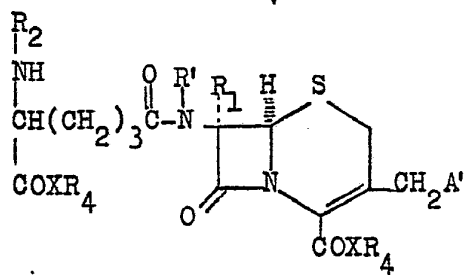
10



XI



15

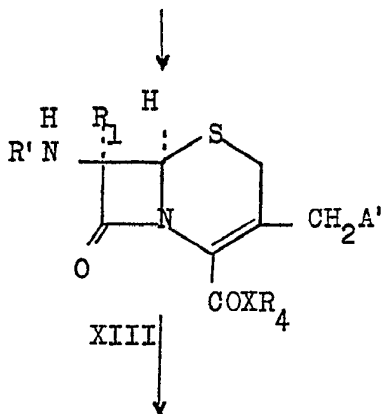


XII



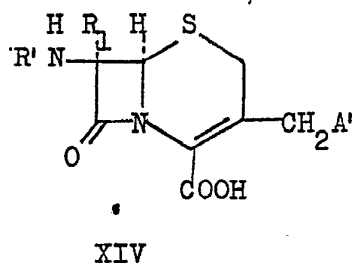
25

1



5

10



15 donde R_1 representa hidrógeno o metoxi, A' carbamoiloxi o acetoxi y R_2 representa un grupo de bloqueo o protector. El radical $COXR_4$ indica un grupo carboxi o un grupo tiocarboxi bloqueados (X es O o S ; R_4 es un grupo de bloqueo) y R' representa un grupo acilo.

20

De acuerdo con este procedimiento, el grupo amino del compuesto de cefalosporina de partida (IX) es el primero bloqueado (R_2) por reacción con un reactivo adecuado para proteger el sustituyente 5'-amino. Así, el grupo amino es bloqueado con grupos protectores del amino tales como acilo, aroilo, alcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo y similares, de acuerdo con métodos conocidos en este campo.

25

1 Los grupos específicos adecuados para bloquear el grupo ami-
no que pueden ser mencionados son el tricloroetoxicarbonilo,
terc-butoxicarbonilo, benzoilmetoxicarbonilo, trimetilsili-
lo, p-metoxibenciloxi, 2-nitrofenilsulfenilo, 2,4-dinitro-
5 fenilsulfenilo, cloroacetilo, p-nitrofeniltio, p-nitroben-
zosulfonilo, p-toluensulfonilo, metanosulfonilo, benzoilo,
p-clorobenzoilo, p-nitrobenzoilo, toluolilo y similares,
aunque generalmente preferimos utilizar el derivado p-to-
luensulfonílico o benzoílico, que es convenientemente prepa-
10 rado haciendo reaccionar el compuesto de cefalosporina con
cloruro de p-toluensulfonilo o con cloruro de benzoilo mien-
tras se mantiene básico el pH de la mezcla, es decir, entre
9 y 10.

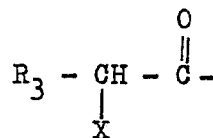
15 Generalmente se prefiere llevar a cabo las reacciones
antes descritas con un compuesto de cefalosporina en el que
los grupos carboxi de la cadena lateral de aminoácido y
de la posición 4 están análogamente bloqueados o protegidos
(XI) ya que se obtienen rendimientos máximos del producto
deseado con estos derivados. Aunque el grupo carboxi en la
20 cadena lateral de aminoácido no tiene que ser necesaria-
mente desbloqueado, ya que se separa en la etapa de esci-
sión, es preferible que el grupo de bloqueo o protector pue-
da ser separado fácilmente de la posición 4 para obtener el
ácido libre sin romper el grupo de β -lactama ya que los com-
25 puestos de cefalosporina son habitualmente empleados en for-

1 ma de sales tales como las sales metálicas alcalinas o las
sales amónicas. Los grupos protectores adecuados para este
fin son conocidos. Son ejemplos de derivados adecuados que
podemos mencionar los ésteres de alcoholes, fenoles, mer-
5 captanos y tiofenoles donde el grupo $-COXR_4$ representa los
ésteres. En esa fórmula general, X es oxígeno o azufre y R_4
representa el radical de un alcohol o de un tiol tal como
metilo, etilo, terc-butilo, un alquilo sustituido como fta-
limidometilo, succinimidometilo, fenacilo, un fenacilo sus-
10 tituido por ejemplo p-bromofenacilo, un grupo etilo β -sus-
tituido como 2,2,2-tricloroetilo, 2-metiltioetilo, 2-(p-me-
tilfenil)etilo, 2-(p-metilfenil)sulfonietilo, 2-metilami-
noetilo o 2-cloro(o bromo)etilo, bencilo, un grupo bencilo
sustituido como p-nitrobencilo, p-metoxibencilo, 3,5-dini-
15 trobencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, 3,5-dicloro-4-hidroxi-
bencilo y similares, un grupo benzohidrilo o benzohidrilo
sustituido como p-metoxibenzohidrilo, un grupo aciloxialqui-
lo como acetoximetilo o pivaloiloximetilo, un grupo alcoxi
como metoximetilo o un grupo arilo monocíclico, por ejemplo
20 fenilo o fenilo sustituido tal como p-nitrofenilo o 3,5-di-
nitrofenilo. Se ha encontrado que el grupo más conveniente
utilizado para bloquear el grupo carboxi es el metoximetilo,
donde X es oxígeno. Estos grupos protectores o de bloqueo
para los sustituyentes carboxi se preparan fácilmente por
25 procedimientos muy conocidos en esta técnica.

1 El compuesto de cefalosporina protegido se hace reac-
cionar después con un agente acilante en presencia del tamiz
molecular, como los descritos antes, para obtener el pro-
ducto imidado o diacilado (XII). El agente acilante puede
5 ser un haluro de ácido (cloruro o bromuro) o un equivalente
funcional del mismo tal como un anhídrido de ácido, un mer-
capturo, un anhídrido mixto de ácido con otros ácidos carbo-
xílicos, un éster activado del ácido carboxílico tal como
el éster p-nitrofenílico y similares.

10 Los agentes acilantes preferidos empleados en el pro-
cedimiento de esta invención son los derivados de ácidos
carboxílicos. Los grupos acilo preferidos que representan
R' en el esquema de reacción anterior son los de fórmula ge-
neral:

15



donde X es hidrógeno, halógeno, amino, azido, guanidino,
fosfeno, hidroxilo, tetrazolilo, carboxilo, sulfo o sulfamino;
20 R₃ es fenilo, fenilo sustituido, un anillo heterocíclico
monocíclico de 5 ó 6 miembros conteniendo uno o más átomos
de oxígeno, azufre o nitrógeno en el anillo, heterociclos
sustituídos, feniltio, feniloxi, grupos tio heterocíclicos
o heterocíclicos sustituidos, alquilo inferior (1 a 6 áto-
25 mos de carbono) o ciano; los sustituyentes en el grupo R₃

1 son halógeno, carboximetilo, guanidino, guanidinometilo,
carboxamidometilo, aminometilo, nitro, metoxi o metilo.

5 Cuando el agente acilante contiene grupos como amino
o carboxi, estos grupos pueden ser bloqueados o protegidos
durante la reacción de acilación y más tarde separados por
métodos conocidos. Alternativamente, el agente acilante
puede contener un sustituyente tal como azido que más tar-
de puede ser reducido a sustituyente amino siguiendo méto-
dos conocidos..

10 Son agentes acilantes especialmente preferidos que
podemos mencionar los que contienen un grupo acetilo o ace-
tilo sustituido tal como fenilacetilo, tienilacetilo, (2-
y 3-tienilacetilo), furilacetilo, (2- y 3-furilacetilo),
15 α -hidroxifenilacetilo, fenoxiacetilo, α -formiloxifenilace-
tilo, 1-tetrazolilacetilo, α -aminofenilacetilo, feniltio-
acetilo, α -azidofenilacetilo y otros, ya que los compuestos
de cefalosporina acilados resultantes poseen mayor activi-
dad antibiótica.

20 El agente acilante se emplea en exceso molar sobre la
cefalosporina de partida, preferiblemente de 2 a 6 veces
más de agente acilante que de cefalosporina.

25 El tamiz molecular empleado es uno cualquiera de los
fácilmente encontrados en el mercado. Preferiblemente, se
utiliza una zeolita sintética de estructura cristalina re-
gular y tamaño de poro uniforme. Los tamices más comúnmen-

1 te asequibles, tipos 3A, 4A, 5A y 13X, funcionan todos en esta invención. Estos tamices tienen las siguientes propiedades:

Tipo	Fórmula	Diámetro de poro
5 3A	$K_1Na_3 [(AlO_2)_{12}(SiO_2)] \cdot 27H_2O$	3Å
4A	$Na_{12} [(AlO_2)_{12}(SiO_2)] \cdot 27H_2O$	4Å
5A	$Ca_{45}Na_3 [(AlO_2)_{12}] \cdot 30H_2O$	5Å
13X	$Na_{86} [(AlO_2)_{86}(SiO_2)_{106}] \cdot xH_2O$	10Å

10 Los tamices se encuentran en forma esencialmente anhidra; pueden ser utilizados en esta forma o deshidratados más hasta $0\% \pm 2\%$ de agua, calentando a temperaturas elevadas (alrededor de $500^\circ C$ ó más) antes de su uso o bien pueden ser utilizados cuando contienen hasta alrededor del 30 % de agua de hidratación (calculado en peso). Los tamices hidratados se preparan dejándolos en reposo en una cámara o ambiente de gran humedad o suspendiéndolos en agua y después ajustando hasta el contenido en humedad deseado por secado a vacío o secado a la temperatura ambiente o a temperaturas elevadas.

15 En general, este secado dura alrededor de 2 a 5 horas, aunque no existe un límite crítico del tiempo. El nivel de humedad puede ser medido utilizando el método de Karl Fischer, técnica generalmente aceptada o por cualquier otra metodología adecuada.

20

25

1 La etapa de conversión del compuesto de cefalospo-
rina protegida (XI) en la imida y en el producto diacila-
do (XII) se efectúa preferiblemente poniendo en contacto
5 el compuesto de cefalosporina con el agente acilan-
te, en un medio disolvente adecuado, en presencia del ta-
miz molecular deseado. La temperatura a la cual se efec-
túa esta reacción no es crítica y son en general satisfac-
torias unas temperaturas comprendidas entre -20°C y 100°C
10 aproximadamente. Sin embargo, como la reacción al parecer
depende de la temperatura y transcurre más rápidamente a
temperaturas más altas, se prefiere efectuar la reacción
a temperaturas comprendidas entre 50° y 90°C aproximadamen-
te. Los más adecuados como medios para la mezcla de reac-
15 ción son diversos disolventes que no contienen un hidró-
geno activo como cloroformo, acetonitrilo, cloruro de me-
tileno, dioxano, benceno, halobenceno, tetracloruro de car-
bono, 1,2-dicloroetano y éter dietílico. Es importante man-
tener la suspensión en movimiento agitándolo durante la
reacción.

20 La cantidad de tamices necesaria para la reacción de
intercambio puede variarse para adaptarse a las condicio-
nes de operación elegidas. En general, se prefiere utili-
zar cantidades aproximadamente iguales en peso del material
de partida y de los tamices, aunque es posible emplear una
25 relación ponderal de compuesto de partida a tamices de 1 a

1 0,5-2.

5 Como ya se ha mencionado, el grupo acilo original es escindido por diferentes rutas. En algunos casos es suficiente un sencillo "envejecimiento" de la mezcla de reacción, v.g. cuando los tamices contienen entre 10 y 30 % de agua, durante 30 minutos a 30 horas. Puede añadirse un alcohol, un alquil(inferior)tiol o alcohol bencílico después de un periodo de "envejecimiento" más breve. El alcohol o el alquil(inferior)tiol puede tener de 1 a 6 átomos de carbono y preferiblemente es metanol, etanol, isopropanol o terc-butanol. También puede añadirse ácido clorhídrico para efectuar la escisión. Durante la reacción de acilación, se produce cierta escisión "espontánea" del grupo aminoadipoílo, debido al carácter de equilibrio de la reacción, que depende de las condiciones bajo las cuales se efectúa la acilación. Un calentamiento prolongado de la mezcla de reacción da lugar a la escisión del grupo aminoadipoílo y la preparación del compuesto de cefalosporina 7-acilado deseado, especialmente cuando los tamices contienen más del 10 % de agua.

20 La separación del grupo protector o de bloqueo sobre la función carboxi se realiza de acuerdo con procedimientos muy conocidos en este campo. Así, por ejemplo, el grupo metoximetilo se separa empleando ácido clorhídrico a 0-10°C; el grupo tricloroetoxiacarbonilo se separa por

1 reacción con cinc y ácido acético y los grupos terc-buto-
xicarbonilo y benzohidrilo se separan por reacción con áci
do trifluoracético. Otras separaciones se realizan con la
misma facilidad.

5

EJEMPLO 1

Acido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-tienilacetamido-3-
cefem-4-carboxílico

Etapa A: Acido 7β-(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-
carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico

10

Se mezclan 45,0 ml de una solución acuosa que con-
tiene 49,5 mg/ml de sal monosódica del ácido 7β-(D-5-ami-
no-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-
cefem-4-carboxílico con 450 ml de acetona y 450 ml de agua.
El pH de la mezcla se ajusta a 9,5-9,6 con una solución
de sosa al 50 % y se añaden poco a poco 19 g de cloruro de
tosilo en 100 ml de acetona. El pH se mantiene a 9,5-9,6
mediante la frecuente adición de solución cáustica. Al ca-
bo de 15-20 minutos el pH se hace estable; la sulfonilación
se prosigue durante un tiempo total de 1 hora. Las tempera-
turas de la solución son de 20-23°C durante todo el perio-
do de reacción.

15

20

25

Después de esto, la solución se enfría en un baño
de hielo y el pH se reduce a 7 por adición de HCl 1:1 (en-
friado con hielo). La solución se extrae empleando acetato
de etilo. La capa de acetato de etilo se lava a su vez con

1 100 ml de una solución de cloruro sódico al 5 %. Se des-
precia la capa orgánica y las capas acuosas junto con
500 ml de acetato de etilo se reajustan a 2,5 y se separan
las capas. La capa acuosa se extrae de nuevo tres veces
5 con 500 ml de acetato de etilo. La capa de acetato de eti-
lo se vuelve a lavar con 100 ml de una solución saturada
de cloruro sódico. Los extractos se secan con sulfato só-
dico y el disolvente se concentra a pequeño volumen (tem-
peratura: 30°C).

10 Después la solución concentrada se disuelve en 200 ml
de isopropanol, se calienta a 40-45°C y se añaden 5,8 ml
de ácido acético y 21,6 ml de dicitclohexilamina.

15 Esta suspensión se deja enfriar lentamente y se enve-
jece durante la noche a la temperatura ambiente. Se filtra
el producto, se lava con 100 ml de isopropanol y se seca
durante la noche a la temperatura ambiente bajo alto va-
cío.

20 El producto, sal de dicitclohexilamina de ácido 7 β -
(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-
7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, se obtiene con un rendi-
miento de 44,5 g;

25 UV: (pH regulador a pH 7,0) λ_{\max} 2620, ϵ % 94,7.
Peso equivalente (valoración con HClO₄) 481,5 (teó-
rico: 481,5).

1

Análisis para $C_{47}H_{74}N_6O_{11}S_2$:

Calculado : C, 58,60; H, 7,74; N, 8,72

Encontrado: C, 58,29; H, 7,29; N, 8,73

5

Etapa B: Ester dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-tosil-
amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-
7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico

10

En un matraz de tres bocas se introducen 20 g de la sal tosíllica de la Etapa A. Se añaden 200 ml de cloruro de metileno y la suspensión se enfría a 0°C en un baño de hielo, bajo nitrógeno. A la mezcla de reacción se añaden, durante un periodo de 90 minutos, con buena agitación y enfriando con hielo, 4,1 ml de éter clorometil-metílico en 30 ml de cloruro de metileno. Transcurrida 1 hora después de la adición, se introduce una solución de 1,58 ml de collida en 5 ml de cloruro de metileno.

15

20

Después de las adiciones, la mezcla se agita durante 2 horas más, se filtra y la torta del filtro se lava con cloruro de metileno seco. Después de extraer con soluciones acuosas de ácido fosfórico, cloruro sódico, bicarbonato sódico y cloruro sódico, la torta del filtro se lava con cloruro de metileno. La capa orgánica se seca, se filtra, se concentra hasta pequeño volumen y se cristaliza. El producto, el éster dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-tosilamino-5-carboxi-valeramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, se obtiene con un ren-

25

1 dimiento de 9,6 g (83,5 %). El espectro ultravioleta y la cromatografía en capa fina indican solamente el componente sencillo en el producto.

5 Etapa C: Acido 3-Carbamoiloximetil-7-metoxi-7 β -tienilacetamido-3-cefem-4-carboxílico

5 A una suspensión agitada de 6,9 g del éster tosilmetoximetílico de la Etapa B y 7,5 g de tamices moleculares pulverizados del tipo 4A (600 mallas , hidratado hasta el 17 % \pm 2 % de agua) en 85 ml de 1,2-dicloroetano se añaden 5 ml de
10 cloruro de 2-tienilacetilo destilado. La suspensión agitada se calienta a 65°C durante 16 horas bajo atmósfera de nitrógeno.

15 La reacción se vigila utilizando una cromatografía en capa fina. Después del tiempo indicado, el componente principal de la mezcla de reacción es el compuesto intermedio deseado. Entonces se añaden 0,8 ml de metanol y la suspensión se envejece durante 2 horas más. En este punto, el éster 4-metoximetílico del producto deseado es el compuesto predominante en la suspensión.

20 El éster se hidroliza enfriando la solución anterior a 25°C, filtrando y lavando con metanol frío. El filtrado y las aguas de lavado se combinan y enfrían a 0°C. Se añade una solución a 0°C de 20,8 ml de HCl concentrado y 23,6 ml de metanol y la solución se calienta a 15°C y se agita a esta misma
25 temperatura durante 2 horas y 40 minutos. En este momen-

1 to se realiza un análisis por cromatografía en capa fina. El
pH de esta mezcla se ajusta haciendo burbujear primero óxido
de etileno en la cantidad necesaria para ajustar el pH en un
valor comprendido entre 2 y 2,5 y después llevando el pH a
5 un valor comprendido entre 5 y 6 por adición de hidróxido só-
dico sólido. Se filtra la mezcla y se separa la capa de di-
cloroetano. La capa acuosa fría contiene la sal sódica del
producto. Esta capa se purifica empleando cromatografía en co-
lumna, utilizando resina IRA-68 en el ciclo de nitrato, sien-
do el eluyente una solución reguladora de fosfato 0,02 M a
10 pH 7,0. El rendimiento final de producto es 1,74 g, mostran-
do una mancha única por cromatografía en capa fina. El ángu-
lo de rotación es 192°C. La identidad del producto es confir-
mada empleando RMN como herramienta analítica; el producto es
15 el ácido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-tienilacetamido-3-
cefem-4-carboxílico deseado, p.f. 165-167°C.

El material de partida, la sal monosódica del ácido
7β-(D-5-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-me-
toxi-3-cefem-4-carboxílico, utilizado en el ejemplo anterior,
20 se prepara como sigue:

Preparación de sal monosódica de ácido 7β-(D-5-amino-5-carbo-
xivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxí-
lico

Procedimiento de fermentación modificado

25 Etapa 1: Cultivos inclinados

Un tubo liofilizado de Streptomyces lactamdurans

1 (NRRL 3802) se abre asépticamente y el organismo se trans-
fiere a un medio de la siguiente composición:

Medio XI:

	Melazas de azúcar morena	1 %
5	Levadura National Brewer	1 %
	Agar Difco a pH 7,0	2,5 %
	Agua hasta el volumen necesario.	

Los cultivos inclinados se inoculan durante 7 días a
28°C. Cuando se almacenan en frío, los cultivos son esta-
bles durante más de 13 semanas.

Etapas 2: Fases de siembra: Sistema en dos fases

Primera siembra: La primera siembra se inocula direc-
tamente desde el cultivo inclinado de la Etapa 1 en 40 ml
de levadura desecada primaria al 1 % N.F., pH 7,0 (obteni-
da de la Yeast Product Corporation) en un Erlenmeyer de
15 250 ml provisto de tabiques. Los matraces se sacuden des-
pués en un sacudidor rotatorio a 220 rpm con un recorrido
de 2 pulgadas (5 cm) a 28°C, durante un periodo de 2 a 3
días.

Segunda siembra: Un inoculum al 2,5 % procedente de
la primera fase de siembra se agrega a un matraz que con-
tiene un autolizado de levadura Fleischmann S-150 al 2 %,
pH 7,0. El crecimiento en esta fase es característicamente
ligero y la incubación, realizada como en la primera fase,
25 no se prolonga más de 48 horas.

1 Etapa 3: Medio de producción

 El medio de producción contiene, por litro de agua des-
tilada, 30 g de solubles de destilería, 7,5 g de levadura
seca primaria N.F. y 0,25 % en volumen/volumen de un pro-
5 ducto de petróleo emulsionado (Mobilpar-S) como antiespu-
 mante. El medio se ajusta a pH 7,0 con una pequeña canti-
 dad de una solución concentrada de hidróxido sódico dispen-
 sada en los matraces Erlenmeyer y se trata en autoclave du-
 rante 15 a 20 minutos a 121°C. Después de enfriar el medio,
10 recibe un inoculum al 2,5 % de la siembra obtenida en la
 Etapa 2. El tiempo de incubación puede variar entre unas
 50 y unas 100 horas pero se prefiere un periodo de incuba-
 ción de unas 72 horas. El volumen de medio en cada matraz
 puede variar entre 30 y 50 ml pero rutinariamente se utili-
15 zan 40 ml. El nivel de inoculum puede variar entre 1 y 5 %
 pero, en la práctica, generalmente se emplea un nivel del
 2,5 %.

Etapa 4: Análisis

 Cuando la fermentación es completa, se separan las cé-
20 lulas por centrifugación y el caldo se diluye con regula-
 dor de fosfato a pH 7,0. La concentración de ácido 7β-(D-
 5-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-
 3-cefem-4-carboxílico en el caldo de fermentación se deter-
 mina por un método habitual de ensayo en disco biológico.
25 El organismo de ensayo empleado es el Vibrio percolans

1 (ATCC 8461). Unos discos de papel de filtro se sumergen en
los caldos diluidos y se colocan sobre la superficie de
unas placas Petri conteniendo agar que se inoculan con el
organismo ensayado Vibrio percolans (ATCC 8461). También se
5 colocan sobre estas placas Petri unos discos que han sido
sumergidos previamente en soluciones patrones que contienen
concentraciones conocidas de ácido 7 β -(D-5-amino-5-carboxi-
valeramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxí-
lico. Los discos se incuban durante la noche a 28°C y se
10 registran los diámetros de las zonas de inhibición. La con-
centración de producto y el caldo fermentado se calculan
por interpolación a partir de la curva patrón que relaciona
el diámetro de la zona con las concentraciones conocidas de
soluciones patrones del producto. Por este procedimiento,
15 se calcula que el Streptomyces lactamdurans NRRL-3802 pro-
dujo 78,6 $\mu\text{g/ml}$ de ácido 7 β -(D-5-amino-5-carboxivaleramido)-
3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico en el pro-
ceso de fermentación modificado.

20 Etapa 5: Aislamiento

El caldo filtrado se ajusta a pH 7,0 con ácido clorhí-
drico diluido y se pasan 2900 ml a través de una columna que
contiene una resina cambiadora de anión fuertemente básica
(100 g) con una matriz de estireno-divinilbenceno (resina
25 Dowex 1 x 2 en el ciclo de cloruro) a 10 ml/minuto. El di-
solvente agotado se recoge en fracciones de 500 ml. La co-

1 columna de resina se lava con agua y se eluye con cloruro amó
nico al 3 % en metanol al 90 %. El eluato se recoge en frac
ciones de 100 ml. Se vigila la actividad de las fracciones;
5 las fracciones más activas se combinan, se ajusta su pH a
7,2-8,0 con hidróxido sódico diluido y se adsorben sobre
100 g de una resina cambiadora de anión fuertemente básica
con una matriz de estireno-divinilbenceno, (resina Dowex
1 x 2 en el ciclo de cloruro) a 14 ml/minuto. La columna se
lava con agua y se eluye con solución acuosa de cloruro só-
10 dico al 5 %. El concentrado se diluye hasta 500 ml, se ajus-
ta desde pH 8,8 a pH 2,0 con ácido clorhídrico diluido y se
adsorbe sobre 25 ml de una resina cambiadora de catión fuer-
temente ácida, del tipo de sulfonato, con una matriz de es-
tireno-divinilbenceno (resina Dowex 50 x 2 en el ciclo de
15 hidrógeno) a 2,5 ml/minuto. La columna se lava con 25 ml
de agua y después se eluye con piridina al 2 % hasta que el
pH del efluente de la columna asciende a 7,0 (54 ml). El
eluato así obtenido se ajusta a pH 8,0 con hidróxido sódico
diluido y se concentra a vacío para separar la piridina y
20 dar la sal monosódica del ácido 7 β -(D-5-amino-5-carboxiva-
leramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxíli-
co.

Análisis elemental para $C_{16}H_{21}N_4SO_9Na$:

Calculado : C, 41,0 %; H, 4,5 %; N, 12,0 %; S, 6,8 %;

25 Encontrado: C, 39,31%; H, 4,76%; N, 11,16%; S, 6,46%.

1

EJEMPLO 2

Acido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-fenilacetamido-3-cefem-4-carboxílico

5

Etapa A: Ester dimetoximetílico del ácido 7β-[(D-5-tosil-amino-5-carboxivaleril)fenilacetilamido]-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico

10

Se calienta a 40°C, durante 20 horas, una solución de 9,3 g (10 milimoles) del éster dimetoximetílico del ácido 7β-(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, 10,8 g de tamices moleculares pulverizados del tipo 12A (hidratados hasta el 20 % + 2% de agua) y 5,3 ml (40 milimoles) de cloruro de fenilacetilo en 50 ml de acetonitrilo. Transcurrido este periodo, la mezcla se enfría a la temperatura ambiente y se filtra. El filtrado se evapora a sequedad y se tritura con hexano. El residuo insoluble conteniendo el éster dimetoximetílico del ácido 7β-[(D-5-tosilamino-5-carboxivaleril)fenilacetilamino]-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, se emplea sin purificación en la próxima etapa.

15

20

Etapa B: Acido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-fenilacetamido-3-cefem-4-carboxílico

25

El producto crudo de la Etapa A se disuelve en 50 ml de 1,2-dicloroetano. Entonces se añaden 1,0 ml de metanol y la solución se agita durante 1 hora. El éster metoximetílico se hidroliza añadiendo a 0°C una solución de 20 ml de

1 HCl concentrado en 25 ml de metanol y agitando a 15°C duran-
te 3 horas. El producto se aísla y purifica utilizando el
mismo procedimiento general que en el Ejemplo 1. Se obtie-
ne el producto, ácido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-fenil-
5 acetamido-3-cefem-4-carboxílico, con un punto de fusión de
159-161°C y unos espectros ultravioleta y de resonancia mag-
nética nuclear que concuerdan con la estructura atribuida.

EJEMPLO 3

10 Acido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-(2-furilacetamido)-3-
cefem-4-carboxílico

15 Se hace reaccionar el éster dimetoximetílico del ácido
7β-(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloxime-
til-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico con cloruro de 2-furil-
acetilo en presencia de 12 g de tamices moleculares hidrata-
dos del tipo 4A (hidratados hasta el 15 % ± 2 % de agua),
siguiendo los procedimientos que acabamos de describir. La
cadena lateral y el grupo bloqueador del éster se separan
también siguiendo los procedimientos descritos. El producto
20 obtenido es el ácido 3-carbamoiloximetil-7-metoxi-7β-(2-fu-
rilacetamido)-3-cefem-4-carboxílico, p.f. 156-161°C; UV(re-
gulador a pH 7,0) λ_{max} 265 μm. ε 7200 y los espectros IR
y RMN concuerdan con la estructura.

25 De la misma manera, se prepara el producto ácido 3-car-
bamoiloximetil-7-metoxi-7β-tiofenoxiacetamido-3-cefem-4-car-
boxílico, utilizando cloruro de feniltioacetilo en lugar de

1 cloruro de 2-furilacetilo. El producto tiene un punto de
fusión de 119-123°C, UV (regulador a pH 7,0) λ_{\max} 247 μm ,
 ϵ 10400 y un espectro RMN concordante.

EJEMPLO 4

5 Acido 3-acetoximetil-7 β -(2-tienilacetamido)-3-cefem-4-car-
boxílico

Etapa A: Acido 7 β -(D-5-tricloroetoxicarbonilamino-5-carbo-
xivaleramido)-3-acetilmetil-3-cefem-4-carboxílico

10 A una solución de 2,5 g (0,53 moles) de ácido 7 β -(D-5-
amino-5-carboxivaleramido)-3-acetoximetil-3-cefem-4-carbo-
xílico en 13 ml de acetona y 40 ml de fosfato hidrógeno di-
potásico acuoso al 10 % se añaden gota a gota 3,35 g
(0,159 moles) de cloruro de tricloroetoxicarbonilo. Duran-
te la adición, el pH de la solución se mantiene en el in-
15 tervalo de 8,5 a 9,0 mediante la adición gradual de una so-
lución acuosa al 17 % de hidróxido sódico. Al cabo de 30 mi-
nutos, la mezcla se lava con acetato de etilo y la capa
acuosa se acidula hasta pH 2,5 con ácido clorhídrico concen-
trado. El producto precipitado se extrae en acetato de eti-
20 lo, la solución se seca sobre sulfato sódico, se filtra y
el disolvente se separa para dar 2,7 g de ácido 7 β -(D-5-
tricloroetoxicarbonilamino-5-carboxivaleramido)-3-acetil-
metil-3-cefem-4-carboxílico.

25

1 Etapa B: Ester dibenzohidráulico del ácido 7-(D-5-tricloro-
 etoxicarbonilamino-5-carboxivaleramido)-3-acetoxi-
 metil-3-cefem-4-carboxílico

5 A una solución de ácido 7β-(D-5-tricloroetoxicarbonil-
 amino-5-carboxivaleramido)-3-acetilmetil-3-cefem-4-carboxí-
 lico en 30 ml de acetato de etilo se añaden 2,0 g de dife-
 nildiazometano en 25 ml de éter. La mezcla se agita duran-
 te la noche y se separa el disolvente para dar 4,0 g de pro-
10 ducto crudo. Este último se purifica por cromatografía so-
 bre gel de sílice empleando cloroformo como eluyente para dar
 2,3 g de éster dibenzohidráulico de ácido 7-(D-5-tricloro-
 etoxicarbonilamino-5-carboxivaleramido)-3-acetoximetil-3-
 cefem-4-carboxílico esencialmente puro.

15 RMN (Disolvente - CDCl₃) δ = 2,0 (metilo, s), 4,9 (10-H₂,
 cuartete), 3,2 (2-H₂, cuartete), 4,95 (6-H, d),
 5,92 (7-H), 7,0 (protones benzohidráulicos, 2 s).

Etapa C: Ester dibenzohidráulico del ácido 7-[(D-5-tricloro-
 etoxicarbonilamino-5-carboxivaleril)-2-tienilace-
20 tilamino]-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico

 Se calienta a 40-45°C en un baño de aceite, bajo atmós-
 fera de nitrógeno, durante 20 horas, una mezcla de 2,0 g
 (0,02 moles) del éster dibenzohidráulico del ácido 7β-(D-5-
 tricloroetoxicarbonilamino-5-carboxivaleramido)-3-acetoxi-
 metil-3-cefem-4-carboxílico, 11,0 g de tamices moleculares
25 del tipo 5A (hidratados hasta el 23 % ± 2 %), 1,31 g

1 (0,0815 moles) de cloruro de 2-tienilacetilo y 6 ml de clo-
ruro de metileno. La mezcla de reacción se vierte en 100 ml
de hexano y se filtra. Separando el disolvente se obtiene
5 el éster dibenzohidrílico del ácido 7-[(D-5-tricloroetoxi-
carbonilamino-5-carboxivaleril)-2-tienilacetilamino]-3-ace-
toximetil-3-cefem-4-carboxílico.

Etapa D: Ester benzohidrílico del ácido 3-acetoximetil-7-
(2-tienilacetamido)-3-cefem-4-carboxílico

10 El éster dibenzohidrílico del ácido 7-[(D-5-tricloro-
etoxicarbonilamino-5-carboxivaleril)-3-tienilacetilamino]-
3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico se disuelve en 10 ml
de acetato de etilo y se agrega a una mezcla de 10 ml de
ácido acético acuoso al 90 % y 1,0 g de cinc en polvo. La
mezcla se agita durante 2 horas a la temperatura ambiente.
15 Se filtra la mezcla de reacción para separar el cinc. La
mezcla de reacción se lava sucesivamente con dos porciones
de agua, una solución fría de bicarbonato sódico y después
con 15,0 ml de una solución saturada de cloruro sódico. La
20 solución en acetato de etilo se seca sobre sulfato sódico,
se filtra y se separa el disolvente para dar 1,9 g de pro-
ducto crudo que se cromatografía sobre gel de sílice em-
pleando una mezcla 50:1 de cloroformo y acetato de etilo co-
mo eluyente para dar 0,380 g de producto que, después de
25 recristalizado en acetato de etilo, tiene un punto de fu-
sión de 141,5-143°C.

1

UV: (CH₃OH) λ_{\max} 263, ϵ 7580.

Análisis elemental para C₂₉H₂₆N₂O₆S₂:

Calculado : C, 61,91; H, 4,66; N, 4,98

Encontrado : C, 62,14; H, 4,84; N, 4,91.

5

Etapa E: Acido 3-(acetoximetil)-7-(2-tienilacetamido)-3-
cefem-4-carboxílico

10

Se agita a 0°C, durante 35 minutos, una solución fría de 100 mg del éster benzohidrílico del ácido 3-acetoximetil-7-(2-tienilacetamido)-3-cefem-4-carboxílico en 1,0 ml de anisol y 0,5 ml de ácido trifluoracético. Se añaden 50 ml de tetracloruro de carbono y la mezcla de reacción se concentra a sequedad. El residuo se tritura con hexano. Se separa el hexano por decantación y este residuo se disuelve en 10 ml de acetato de etilo, se concentra hasta

15

1 ml y se añade éter dietílico para dar un precipitado. Este precipitado se recristaliza en una mezcla de éter dietílico y acetato de etilo para dar 0,025 g de ácido 3-(acetoximetil)-7-(2-tienilacetamido)-3-cefem-4-carboxílico, p.f. 164°C. El punto de fusión combinado con una muestra auténtica es 163°C.

20

EJEMPLO 5

7-(2-Tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-
4-carboxilato sódico

25

Etapa A: Acido 7 β -(D-5-benzoilamino-5-carboxivaleramido)-3-
carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico,
sal disódica

1 A 500 ml de una solución acuosa conteniendo 48,5 milimoles de 7 β -(D-5-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxilato monosódico se añade hi
dróxido sódico al 50 % en cantidad suficiente para llevar el
5 pH a 9,5. A esta solución se añaden 15 ml (128 milimoles) de cloruro de benzoilo con intensa agitación. El pH se mantiene a 9,5 durante 30 minutos mediante la adición de sosa cáustica a medida que sea necesario.

10 El pH de la solución se ajusta después a 4,0 con ácido clorhídrico concentrado y se lava dos veces con acetato de etilo.

15 La fracción acuosa se enfría a 0°C y se añaden con agitación 200 ml de isopropanol y 300 ml de acetato de etilo. El pH se ajusta a 2,0 con ácido clorhídrico. Se despre-
cia la fracción orgánica y la fase acuosa se vuelve a extraer tres veces con acetato de etilo. Se lavan los extractos combinados con una solución de cloruro sódico, se secan con sulfato sódico y se concentran a vacío para dar 43,0 g de un aceite oscuro.

20 El aceite se disuelve en 200 ml de etanol y se añade una solución de 30 g de sal sódica de ácido 2-etilhexanoico. La suspensión se enfría a 0°C, se filtra, se lava con etanol y se seca a vacío para dar 28,8 g (102 %) de
25 7 β -(D-5-benzoilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxilato disódico que tiene

1 una pureza del 67 % por comparación cromatográfica con un patrón puro.

Etapa B: Ester dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-benzoil-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-
5 metoxi-3-cefem-4-carboxílico.

A una suspensión de 20 g de 7 β -(D-5-benzoilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxilato disódico en 200 ml de acetonitrilo a 0°C se añaden gota a gota 16 ml de éter clorometil-metílico 6 M, durante 90 minutos. Al cabo de 1 hora después de la adición, se añaden 6 ml de S-colidina. La suspensión se agita durante 2 horas más a 0°C. Después la mezcla se diluye con 500 ml de cloruro de metileno y se lava dos veces con ácido fosfórico diluído, una vez con bicarbonato sódico diluído y una vez con cloruro sódico al 5 %. Las fracciones acuosas se vuelven a lavar con 50 ml de cloruro de metileno. La fase orgánica se seca con sulfato sódico y se concentra a vacío hasta unos 100 ml.

La solución se hace pasar a través de 200 ml de gel de sílice G, se lava con 200 ml de cloruro de metileno y después se eluye con 800 ml de acetato de etilo. Los eluatos de acetato de etilo se concentran a vacío para dar 18,5 g de un aceite amarillo.

El producto crudo se recristaliza en 50 ml de acetato de etilo para dar 10,0 g (67 %) del éster dimetoximetí-

1 lico del ácido 7 β -(D-5-benzoilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico.

Etapa C: 7-(2-Tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloxime-
til-3-cefem-4-carboxilato sódico

5 Se calienta a reflujo con intensa agitación, durante 4 horas, una suspensión conteniendo 192 mg (0,3 milimoles) de éster dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-benzoilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, 225 mg de tamices moleculares tipo 4A Linde
10 pulverizados conteniendo 10 % \pm 2 % de agua, 0,3 ml de cloruro de 2-tienilacetilo y 4 ml de dicloroetano. La mezcla se enfría a 65°C y se añaden durante 2 horas 10 ml de terc-butanol 0,05 M en dicloroetano, después se calienta durante 1 hora más a 65°C. La mezcla de reacción se enfría a 0°C,
15 se filtra y se lava con 5 ml de metanol. El filtrado se enfría a 0°C con agitación, después se añaden 1,4 ml de una mezcla 1:1 de ácido clorhídrico y metanol y la mezcla resultante se agita a unos 15°C durante 3 horas. La mezcla se vierte en 10 ml de agua conteniendo 1,6 g de bicarbo-
20 nato sódico. Las fracciones orgánicas se desprecian. Las fracciones acuosas se analizan dando un rendimiento del 65 % del producto, 7-(2-tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

Etapa D:

25 De forma análoga, se emplean cloruro de p-cloroben-

1 zoilo, cloruro de p-nitrobenzoilo o cloruro de toluolilo
 en la Etapa A. El rendimiento final del producto deseado,
 7-(2-tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-
 carboxilato sódico es en cada caso, respectivamente, 70 %,
5 68 % y 72 %.

EJEMPLO 6

7-(2-Tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-
4-carboxilato sódico

 Se agita a reflujo durante 5 horas una mezcla de
10 2,76 g (4 milimoles) del éster dimetoximetílico del ácido
 7β-(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-
 7α-metoxi-3-cefem-4-carboxílico, 3 g de tamices moleculares
 tipo Linde 4A secos, con menos del 2 % de agua, 2 ml de clo-
 ruro de tienilacetilo (16 milimoles) en 34 ml de dicloroeta-
15 no. Después se añaden 0,38 ml (4 milimoles) de terc-buta-
 nol y se continúa agitando durante 2 horas. Transcurrido es-
 te periodo, se introducen otros 0,095 ml (1 milimol) de
 terc-butanol y la mezcla de reacción se agita a reflujo du-
 rante otra media hora. Se enfría la mezcla de reacción a
20 0-5°C en un baño de hielo y agua. Los tamices moleculares
 se separan filtrando con succión y después se lavan con
 40 ml de metanol enfriado con hielo. El filtrado y las
 aguas de lavado se combinan y enfrían a 0°C. Se añade una
 solución enfriada con hielo de 8,3 ml de HCl concentrado
25 en 9,5 ml de metanol y la solución se calienta a 15°C y se

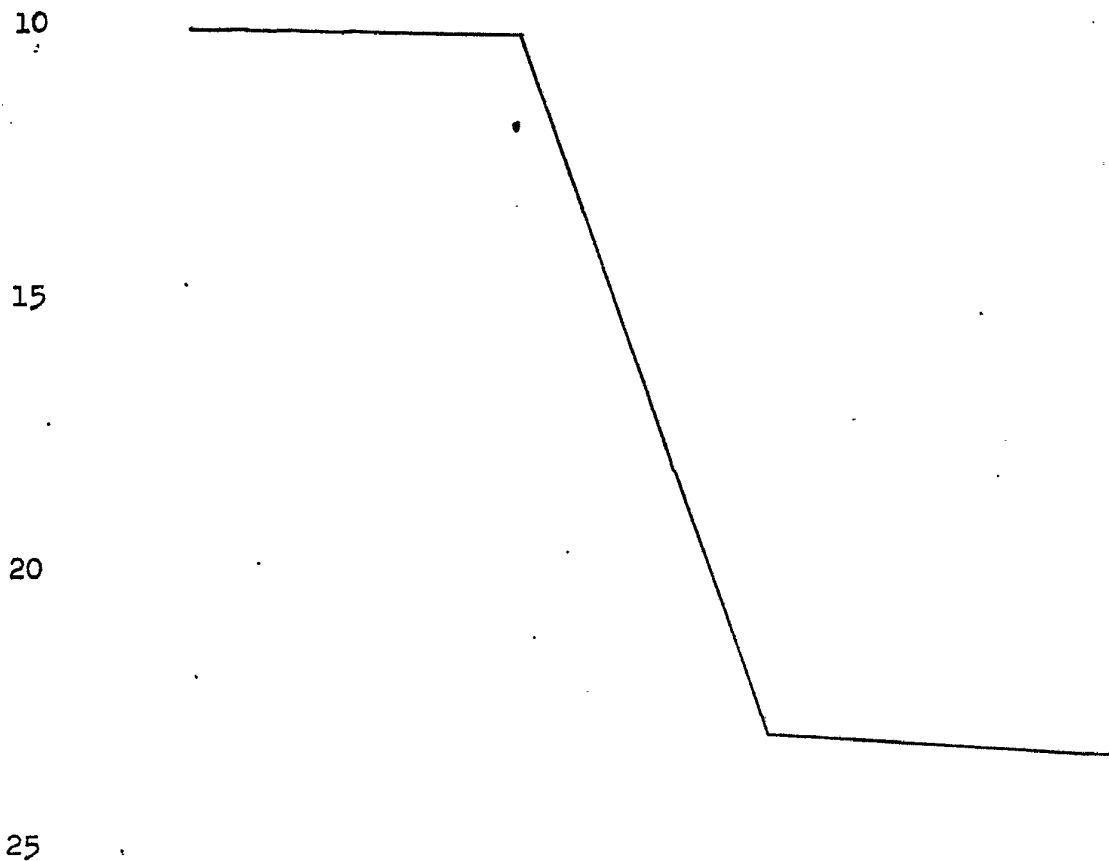
1 agita a esta temperatura durante 2 horas y 40 minutos.
 Cuando la hidrólisis es completa, la reacción se apaga
 agregándola a una suspensión de 22 g de bicarbonato sódico
 en 120 ml de agua a 0-5°C. La solución bifásica se agi-
5 ta durante 10 minutos. El depósito salino denso que se forma
 se separa por filtración y se lava con una pequeña cantidad
 de solución de NaCl al 5 % conteniendo 0,5 % de bicarbonato
 sódico. La capa de dicloroetano se separa y se extrae dos veces
 con 20 ml cada vez de una solución al
10 0,5 % de NaHCO₃ + 5 % de NaCl. Se combinan las fracciones
 acuosas y se lavan con 20 ml de dicloroetano. La solución
 en bicarbonato se analiza por cromatografía de líquidos y
 se determina que contiene 73 % de 7-(2-tienilacetamido)-7-
 metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-4-carboxilato sódico y
15 2,1 % del material de partida inalterado.

EJEMPLOS 7-20

7-(2-Tienilacetamido)-7 α -metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-4-carboxilato sódico

 Siguiendo el procedimiento general indicado en el
20 Ejemplo 6, se hacen reaccionar 4 milimoles (2,8 g) del éster
 dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7 α -metoxi-3-cefem-4-carboxílico, empleando las cantidades de reactivos y las condiciones de reacción dados en la tabla siguiente. El tiempo
25 total de reacción es en cada caso alrededor de 16 horas.

1 Los tamices moleculares empleados son en todos los casos
del tipo Linde 4A que se calientan a 700°C antes de la
reacción, presentando una pérdida de peso del 3 % aproxi-
madamente al ser secados. Se calcula que los tamices son
5 prácticamente anhidros, con un contenido de agua inferior
al 2 % en peso. La temperatura de la reacción es en cada
caso 67°C .



1

Ej.	Cantidad de tamices 4A, g	Cloruro de tlenilace- tilo, mili- moles	Indice de escisión			Rendimiento de material de per- tida, %
			Agentes	Cantidad, mi- limoles	tiempo ^a horas	
7	3	16	HCl	0,4	3	4,5
				0,8	1	
				0,8		
8	"	"	Isopropanol	3	3	6,2
				1	1	
				1	1	
9	"	16	"	2,4	3	3,1
		4 ^b	"	2	1	
				2	1	
10	"	16	"	5	3	10,7
				1	2	
11	"	"	"	5	2	6,2
				5	2	
12	"	"	terc-butanol	5	3	5,8
				5	2	
13	1,5 ^e	"	"	5	2	3,6
				5	1	
14	0 ^d	"	-	-	-	0,4
15	3	"	terc-butanol	10	1,5	4,1

20

25

1

5

10

15

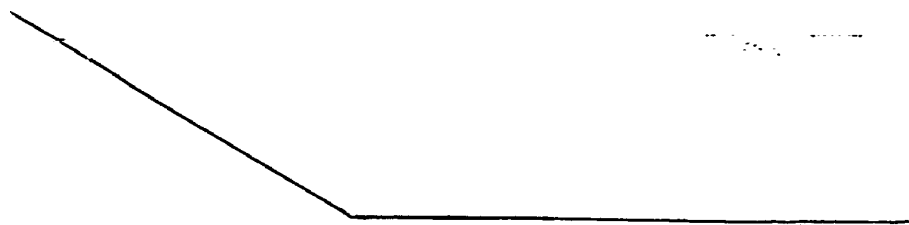
20

25

Ej.	Cantidad de tamices 4A, g	Cloruro de tienilace- tilo, mili- moles	Indice de escisión		
			Agentes	Cantidad, mi- limoles	Tiempo hora
7	3	16	HCl	0,4 0,8 0,8	3 1
8	"	"	Isopropanol	3 1 1	3 1 1
9	"	16 4 ^b	" "	2,4 2 2	3 1 1
10	"	16	"	5 1	3 2
11	"	"	"	5 5	2 2
12	"	"	terc-butanol	5 5	3 2
13	1,5 ^e	"	"	5 5	2 1
14	0 ^d	"	-	-	-
15	3	"	terc-butanol	10	1,

scisión

<u>mi</u> <u>s</u>	<u>Tiempo</u> ^a <u>horas</u>	<u>Rendimiento de</u> <u>producto final,%</u>	<u>Rendimiento de</u> <u>material de par</u> <u>tida,%</u>
3	1	69	4,5
3	1	68	6,2
3	1	67	3,1
3	2	62	10,7
2	2	48	6,2
3	2	70	5,8
2	2	69,5	3,6
1	-	5,2	0,4
1,5		64	4,1



1

Ej.	Cantidad de tamices 4A, g	Cloruro de tienilacetilo, milimoles	Indice de escisión		Rendimiento de producto final, %	Rendimiento de material de partida, %
			Agentes	Cantidad, milimoles		
16	3	16	terc-butanol	10	1,5	0,5
17	"	"	"	"	"	1,1
18	"	"	"	5	"	5,2
19	2 ^e	12	"	5	2	8,2
20	2 ^e	24	"	5	2	3,1
				5	1	

10

- a) Tiempo entre la adición poco a poco de los agentes de escisión de la imida.
 b) Adición al cabo de 3 horas de escisión con isopropanol y la reacción se prosigue durante otras 16 horas antes de la escisión final de la imida.
 c) Se añade otra porción de 1,5 g de tamices al final del periodo de trans-acilación y antes de la adición de alcohol.
 d) El periodo de trans-acilación es de 1,5 horas.
 e) Se añade otra porción de 1 g de tamices al final de la trans-acilación.

15

20

25

1

Ej.	Cantidad de tamices 4A, g	Cloruro de tienilacetilo, milimoles	Indice de escisión		
			Agentes	Cantidad, milimoles	Tiempo, horas
16	3	16	terc-butanol	10	1
17	"	"	"	"	"
18	"	"	"	5	"
19	2 ^e	12	"	5	2
				5	5
20	2 ^e	24	"	5	2
				5	1

5

10

- a) Tiempo entre la adición poco a poco de los agentes de escisión
- b) Adición al cabo de 3 horas de escisión con isopropanol y 16 horas antes de la escisión final de la imida.
- c) Se añade otra porción de 1,5 g de tamices al final del período de adición de alcohol.
- d) El período de trans-acilación es de 1,5 horas.
- e) Se añade otra porción de 1 g de tamices al final de la trans-acilación.

15

20

25

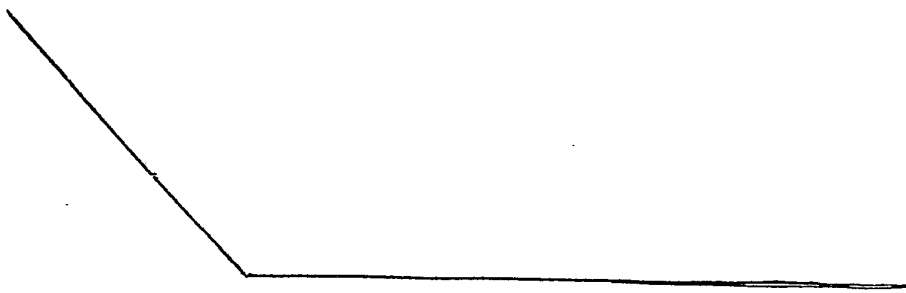
escisión		Rendimiento de producto final, %	Rendimiento de material de par tida, %
l, mi les	Tiempo ^a horas		
	1,5	58	0,5
	"	28	1,1
	"	64,5	5,2
	2	67	8,2
	5		
	2	68,5	3,1
	1		

es de escisión de la imida.

opanol y la reacción se prosigue durante otras

al del periodo de trans-acilación y antes de la

de la trans-acilación.



1

EJEMPLOS 21-25

5

Se emplea el mismo procedimiento general utilizado en los Ejemplos 6 a 20, a excepción de que la temperatura de reacción se modifica en la forma indicada en los datos tabulados. La mezcla de reacción está constituida por 4 milimoles (2,8 g) del éster dimetoximetílico del ácido 7 β -(D-5-tosilamino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7 α -metoxi-3-cefem-4-carboxílico, 3 g de tamices del tipo Linde 4A secos (menos del 2 % de agua en peso) y 16 milimoles de cloruro de tienilacetilo en 34 ml de dicloroetano.

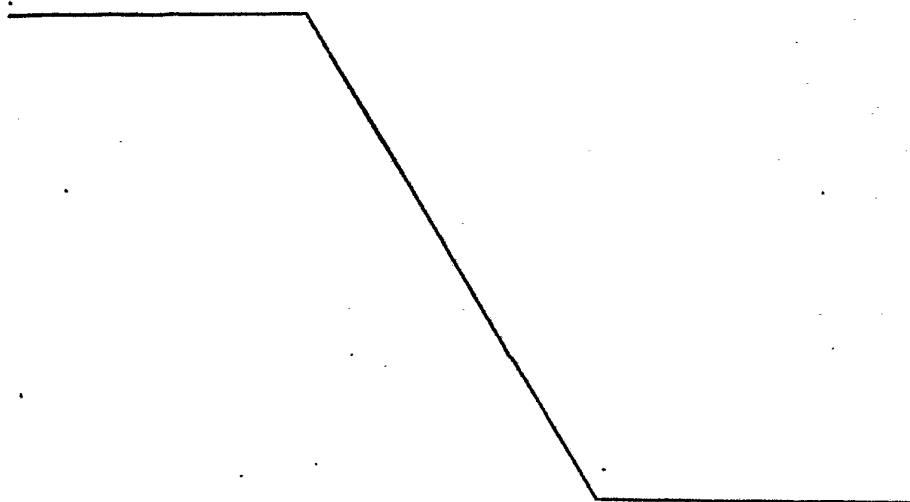
10

El producto final es en todos los casos 7-(2-tienilacetamido)-7 α -metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-4-carboxilato sódico.

15

20

25



1

Ej.	Periodo de trans acilación, horas	Temperatura °C	Escisión de la imida		Rendimiento del material de per tida, %		
			Agentes	Cantidad, ml limoles			
21	25	55	Isopropanol	5	8,5	25	7,2
				5	3,0		
22	16	67	"	5	3	70	5,8
				5	2		
23	7	78	"	4	2	71,5	5,2
24	5	86	"	4	1,5	67	4,1
25	5	86	"	4	2	73	2,1
	.			1	0,5		

5

10

15

20

25

1

5

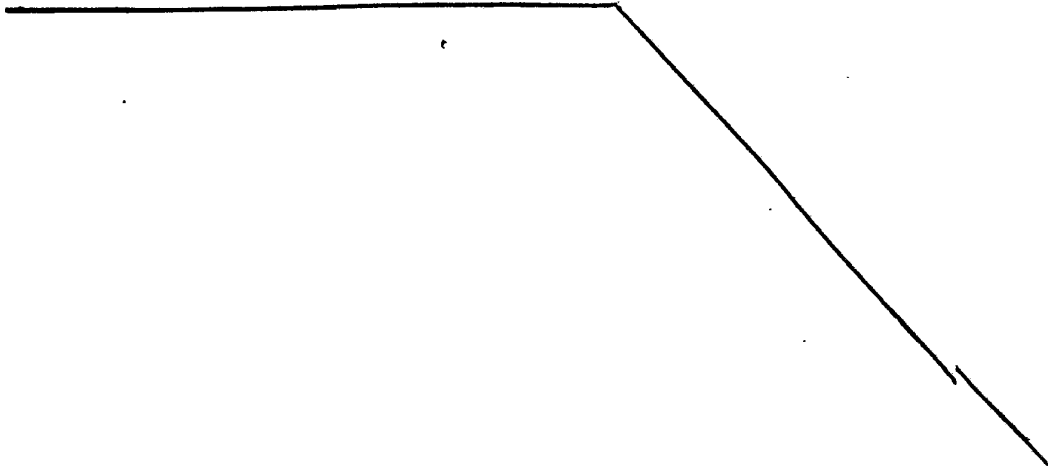
10

15

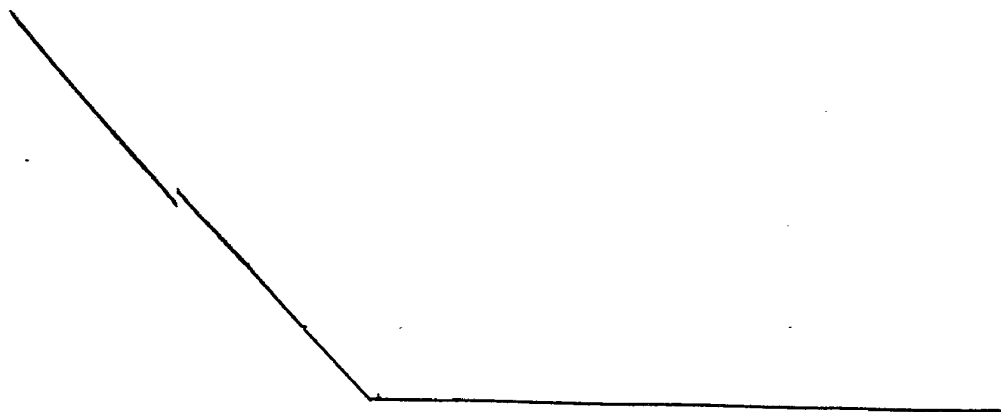
20

25

Ej.	Periodo de trans acilación, horas	Temperatura °C	Escisión de la i	
			Agentes	Cantidad, ml limoles
21	25	55	Isopropanol	5
				5
22	16	67	"	5
				5
23	7	78	"	4
24	5	86	"	4
25	5	86	"	4
				1



As	Escisión de la imida		Rendimiento del producto final, %	Rendimiento del material de partida, %
	Cantidad, milimoles	Tiempo, horas		
amol	5	8,5	25	7,2
	5	3,0		
	5	3	70	5,8
	5	2		
	4	2	71,5	5,2
	4	1,5	67	4,1
	4	2	73	2,1
	1	0,5		



1

EJEMPLO 26

Acido 7-(2-Tienilacetamido)-7-metoxi-3-carbamoiloximetil-
3-cefem-4-carboxílico

5

10

15

20

25

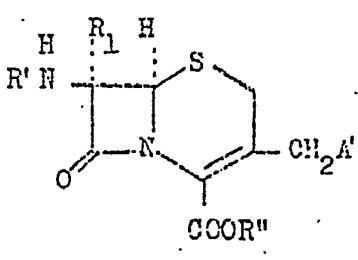
Se añade 1 g de 7 β -(D-5-amino-5-carboxivaleramido)-3-carbamoiloximetil-7-metoxi-3-cefem-4-carboxilato sódico a una vasija de reacción que contiene 20 ml de dicloroetano. A esta mezcla se añade 1 g de tamices moleculares Linde tipo 4A en polvo, conteniendo 15 % de agua y 8 milimoles (1 ml) de cloruro de tienilacetilo. La suspensión se calienta a reflujo durante 8 horas. Se analizan las aguas de lavado metanólicas de los tamices y se determina que contienen un 25 % de rendimiento del producto deseado, ácido 7-tienilacetamido-7 α -metoxi-3-carbamoiloximetil-3-cefem-4-carboxílico, por cromatografía en capa fina y cromatografía de líquidos. La capa de dicloroetano de la mezcla de reacción se extrae con NaHCO₃ al 5 % y por cromatografía en capa fina y cromatografía de líquidos se demuestra que contiene otro 5 % del producto deseado. La cromatografía en capa fina de la capa orgánica en este punto indica la presencia del anhídrido mixto; después de separar el disolvente por evaporación, el anhídrido mixto se hidroliza en 50 ml de acetona al 50 % en agua, en presencia de 10 % en moles de piridina. La cromatografía en capa fina y la cromatografía de líquidos indican la producción de otro 13 % del ácido libre final. El rendimiento total es de 156 mg

1 del ácido, rendimiento: 23%.

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

REIVINDICACIONES

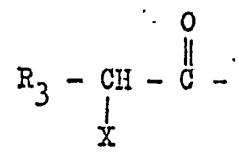
5 1.- Un procedimiento de producción de 7-ácil-amidocefalosporinas de fórmula:



donde R₁ es hidrógeno o metoxi;

A' es carbamoiloxi o alcanoil(inferior)oxi y

15 R' es un grupo acilo de fórmula



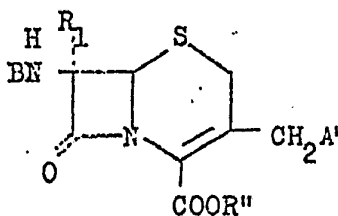
20 donde X es hidrógeno, hidroxilo, amino, amino protegido, hidroxilo protegido o carboxi; R₃ es fenilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-furilo, 3-furilo,

1-tetrazilo, alquil(inferior C₁-C₄)fenilo, halofenilo, hidroxifenilo o alquil(inferior C₁-C₄)oxifenilo y

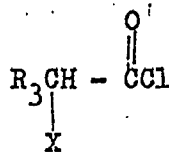
25 R'' es un grupo de bloqueo éster fácilmente separa-

ble;

cuyo procedimiento consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula



donde B es aminoadipóilo bloqueado o un grupo acilo R' que es diferente del sustituyente final deseado, con un agente acilante de fórmula



donde R₃ y X son los definidos anteriormente, en presencia de un catalizador formado por un tamiz molecular, llevándose a cabo dicha reacción a una temperatura que oscila entre los -20°C y los 100°C y en disolventes inertes y después escindir el sustituyente B para dar el producto final.

2.- Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde el catalizador tamiz molecular es una zeolita sinté-

1 tica del tipo 3A, 4A, 5A ó 13X.

3.- Un procedimiento según la Reivindicación 2, donde el catalizador tamiz molecular contiene entre 0 % y 30 % en peso aproximadamente de agua de hidratación.

5 4. Un procedimiento según la Reivindicación 3, donde el catalizador tamiz molecular se emplea en una proporción aproximadamente 0,5 a 2 veces la cantidad en peso del material de partida.

10 5. Un procedimiento según la Reivindicación 4, donde el catalizador tamiz molecular se emplea en una proporción aproximadamente igual o ligeramente superior (en peso) a la del material de partida.

15 6. Un procedimiento según la Reivindicación 5, donde la reacción de intercambio tiene lugar en un disolvente inerte frente a las sustancias reaccionantes.

7. Un procedimiento según la Reivindicación 6, donde la mezcla de reacción es continuamente agitada durante la reacción de intercambio.

20 8. Un procedimiento según la Reivindicación 7, donde la escisión del sustituyente B es efectuada prolongando el tiempo de reacción hasta entre unos 30 minutos y unas 30 horas.

25 9. Un procedimiento según la Reivindicación 8, donde la escisión es efectuada por adición de un alcohol inferior o de un alquil(inferior)tiol después del tiempo de

reacción prolongado.

10.-Un procedimiento según la Reivindicación 1,
donde R₁ es metoxi.

11.- Un procedimiento según la Reivindicación 10,
donde B es aminoácido conteniendo grupos de bloqueo
sobre las funciones amino y carboxi.

12.- Un procedimiento según la Reivindicación 11,
donde R' es 2-tienilacetilo.

13.- Se reivindica por último como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita
por: UN PROCEDIMIENTO DE PRODUCCION DE 7-ACILAMIDOCEPHALOSPO-
RINAS.

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

Madrid, 26 de Noviembre de 1974
BERNARDO UNGRIA

P.P.

