



ESPAÑA

19 ES	11 NUMERO 438.894	10 A1
21	22 FECHA DE PRESENTACION 26 Junio 1.975	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO			12 MAYO 1977 FECHA			33 PAIS		
<b>CONCERNIDA</b>								
47 FECHA DE PUBLICACION			51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D AG1K			62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA		
64 TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE LOS ESTERES DE $\alpha$ -HIDROXIBENCILCEFA LOSPORINAS Y SUS SALES".								
71 SOLICITANTE (ES) LABORATORIO FARMACEUTICO QUIMICO-LAFARQUIM, S.A.								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE Avda. de Aragón, 18 - MADRID.-27								
72 INVENTOR (ES) D. Miguel Izquierdo San José, D <sup>a</sup> M <sup>a</sup> Isabel Fernández Fernández y D <sup>a</sup> Carmen Fuentes Manso.								
73 TITULAR (ES) La misma solicitante.								
74 REPRESENTANTE D. Pablo Agudo Obregón.								



poseen actividad tanto frente a bacterias gram positivas como frente a gram negativas, especialmente a enterobacteriaceas.

20

Se ha hecho la hidrólisis del ácido 7D(-o-trimetil acetil mandelamido) deacetoxi cefalosporánico "in vitro" empleando una solución buffer de fosfatos Sorensen al que se añade de sangre de rata al 1%, e incubando a 37°C a los cinco minutos se hidroliza en 80%.

25

El producto de la hidrólisis es el ácido 7(D-mandelamido)deacetoxicefalosporánico que posee un amplio espectro de actividad. Como muestra la tabla I

TABLA I

Espectro antibacteriano de sal potásica del ácido 7 (D-mandelamido) - deacetoxi cefalosporánico (AL 226) y cefalexina.

30

Germen	CMI: mcg/ml.	
	AL 226	Cefalexina
Bacillus pumilus NCTC B241	0,4	0,4
Bacillus subtilis CSIC	0,4	0,4
35: Staphylococcus aureus CSIC	3,2	3,2
" " 54146	1,6	3,2
" " ATCC 6538 P	1,6	0,8
" " 6454	6,2	6,2
Escherichia Coli O111:B <sub>4</sub> (51-58)	6,25	6,25
40 " " 6370	12,5	12,5
" " 554	12,5	12,5

**TABLA 1 (continuación)**

	<b>Sermon</b>	<b>CMi: AL 225</b>	<b>mg/ml. Cefalexina</b>
45	<i>Escherichia coli</i> 312	25	12,5
	" " 328	12,5	12,5
	<i>Proteus morganii</i> 465	25	25
	" <i>mirabilis</i> 532	12,5	12,5
	" " 576	6,25	6,25
50	" <i>rotgerii</i> 718	200	200
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> A-D	200	200
	" " CSIC	200	200
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 58,5	25	12,5
	<i>Salmonella</i> sp 322	6,25	6,25
55	<i>Enterobacter</i> 355	200	200
	<i>Providencia</i> 758	100	200
	" 896	100	200

**Antibiotic Medium 1 - 16-18 horas incubación**

**Inoculo :  $10^7$  microorganismos / ml.**

60

Administrando el producto por vía oral a una dosis de 100 mg/Kg peso a conejos se recupera en la orina alrededor del 30% de ácido - 7(D-mandolamido)deacetoxicefalosporánico, que se identificó por cromatografía sobre papel Whatman no 1, usando como eluyente Acetona: agua(85:15). Se ha administrado

65 la sal potásica del ácido 70( $\alpha$ -trimetil acetil mandelil) cefalosporanico por via oral e intramuscular alcanzando concentraciones en distintos organos que se resumen en las TABLAS II y III

**TABLA II**

70 Distribución intramuscular en ratas a dosis 244 mg/Kg peso

Horas	1	2	3	Testigo
Plasma (a)	25	31	39	N.D.
Hígado (b)	49,1	34	60,9	N.D.
Riñón (b)	75,7	109,9	155,9	7,2
Intestino (b)	43,2	197,8	113,7	N.D.

75

(a) mcg/ml.

(b) mcg/gramo tejido

N.D. No se ha detectado presencia de antibiótico

**TABLA III**

80 Distribución oral en ratas a dosis 244 mg/Kg peso

Horas	1	2	3	Testigo
Plasma (a)	11,5	9,1	N.D.	N.D.

**TABLA III** (continuación)

Horas	1	2	3	Testigo
85 Hígado (b)	31,65	26,45	4,3	6
Riñón (b)	45,1	50,55	3,8	2,7
Intestino (b)	206,3	218,75	38,9	3,25

(a) mcg/ml.

(b) mcg/gramo

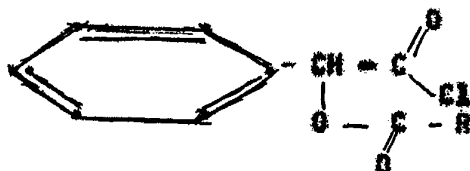
90 N.D. No se ha detectado presencia de antibiótico

El ácido 7(D-mandelámico) deacetoxi cefalosporánico producto de hidrólisis de los ésteres derivados del ácido 7 aminoacetoxicefalosporánico del presente invento, tiene una ligazón a las proteínas del suero como se indica en la tabla IV

95 **TABLA IV**

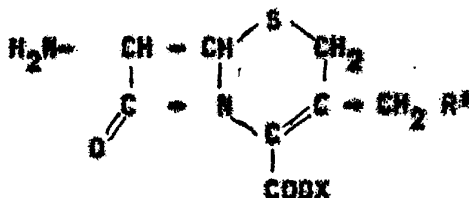
	% de antibiótico libre	% de antibiótico ligado
100 Acido 7(D-mandelámico) deacetoxi cefalosporánico,	64	36
Cefalexina	72	28
Cefaloridina	86	14
Cefazolina	7,2	92,8

105 Los compuestos citados se preparan en general, haciendo reaccionar los cloruros de los ácidos correspondientes de fórmula:



donde R tiene el mismo sentido que anteriormente, con la sal sélica de un derivado del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula:

110



donde R' tiene el mismo sentido que anteriormente, disuelto en agua a temperatura entre -20 y 30°C.

115

La cefalosporina se aísla del medio de reacción en forma ácida, extrayéndola con acetato de etilo u otro disolvente apropiado.

120

Las cefalosporinas sustituidas en 3 por los heterociclos citados pueden obtenerse a partir de las cefalosporinas ácidas obtenidas como se describió anteriormente, haciéndolas reaccionar con el tiol correspondiente en un medio prácticamente neutro de buffer de fosfatos a temperaturas entre 40°C y 60°C. El tiempo de reacción oscila entre 10 y 20 horas pudiéndose se-

guir la marcha de la reacción por cromatografía en capa fina.

125

La cefalosporina se aísla del medio de reacción acidulando con  $\text{ClH}$  diluido y extrayendo con acetato de etilo u otro disolvente apropiado.

Para la vía parenteral es más conveniente la utilización de sales solubles que se obtienen por neutralización de la forma ácida disuelta en un disolvente apropiado, como metanol, con una sal de catión farmacológicamente aceptable tal como 2-etilhexanoato sódico ó potásico, aislandola del medio de reacción por precipitación ó bien liofilizando la solución acuosa.

130

Es de notar que todos los compuestos de la invención poseen átomos de carbono asimétrico por lo que pueden existir en forma de isómeros ópticos. Los dos isómeros D. y L. con respecto a la cadena en 7 así como sus mezclas racémicas, están incluidos dentro del alcance de la invención.

135

Los siguientes ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la invención pero no debe entenderse que limitan su alcance.

140

Ejemplo I.-

En un matraz de 1 litro y tres bocas provisto de agitador mecánico y embudo de adición, provisto de baño para enfriar exteriormente, se colocan (0,05 mols) 10,5 grs. de ácido 7 aminodesacetoxicefalosporánico en 250 ml. de acetona y 250 ml. de  $\text{CO}_2\text{HNa}$  al 5%. Cuando se ha conseguido una solución clara de bilmente amarillenta, se baja la temperatura de la solución has

145

150 ta -20°C y se añaden (0,05 moles) 12,7 gs. del cloruro de I,I,  
I, trimetilacetato de mandelóilo racémico disuelto en 50 ml, de  
acetona, en corriente rápida.

La mezcla de reacción se agita a -20°C durante 30 mi-  
nutos y después se deja subir a temperatura ambiente agitando  
dos horas más. Transcurridas éstas, se extrae dos veces con 100  
155 ml. de éter sulfúrico.

Se enfría la solución acuosa a 0°C se añaden 200 ml.  
de acetato de etileno y se lleva la solución a pH= 2 con HCl 5N.

Se separa el extracto orgánico y se añaden otros 200  
ml. de acetato de etilo frío para terminar la extracción.

160 Se reúnen los extractos orgánicos, secan, filtran y  
se evapora la solución a vacío.

Se obtiene un producto blanco amarillento de ácido  
7(O-trimetilacetilmandelamido)deacetoxicefaloesporánico racémico.

#### Ejemplo II.-

165 Se procede como en el Ejemplo I sustituyendo el cloru-  
ro de I,I,I, trimetilacetato de mandelóilo racémico por el obte-  
nido a partir del ácido D (-) mandélico, obteniéndose la 7 D(O-  
trimetilacetilmandelamido)deacetoxicefaloesporina.

#### Ejemplo III.-

170 Se procede como en el ejemplo I y sustituyendo el áci-  
do 7 aminodeacetoxicefaloesporánico por el 7-aminocefaloesporáni-  
co, obteniéndose la 7-(O-trimetilacetilmandelamido)cefaloespori-  
na racémica.

Ejemplo IV.-

175

Se procede como en el ejemplo II sustituyendo el ácido de 7-aminodeacetoxicefalosporánico por el 7-aminocefalosporánico, obteniéndose la 7-D(O-trimetilacetilmandelamida) cefalosporina.

Ejemplo V.-

180

Se procede como en el ejemplo I sustituyendo el cloruro de 1,1,1, trimetilacetato de mandelato por los cloruros siguientes:

cloruro de benzoato de mandelato.

cloruro de ciclohexanoato de mandelato.

185

cloruro de 1,2 dicloroacetato de mandelato.

cloruro de 1 cloro 2 metil propionato de mandelato.

obteniéndose las cefalosporinas siguientes:

7(O-benzoil mandelamido)deacetoxicefalosporina racémica.

7(O-ciclohexil mandelamido)deacetoxicefalosporina racémica.

190

7(O-1,2, dicloroacetilmandelamido)deacetoxicefalosporina racémica.

7(O-1 cloro 2 metilpropilmandelamido)deacetoxicefalosporina racémica.

Ejemplo VI.-

195

Se procede como en el ejemplo V sustituyendo los cloruros racémicos citados por los obtenidos a partir del ácido D (-) mandélico obteniéndose las cefalosporinas siguientes:

7 D (O-benzoilmandelamido)deacetoxicefalosporina.

- 200 7 D (0-ciclohexilmandelamido)deacetoxicefalosporina.  
7 D (0-1,2, dicloroacetilmandelamido)deacetoxicefalosporina.  
7 D (0-1, cloro 2 metilpropilmandelamido)deacetoxicefalosporina.

Ejemplo VII.-

205 Se procede como en el ejemplo V sustituyendo el ácido 7 aminodeacetoxicefalosporánico por el ácido 7 aminocefalosporánico obteniéndose las cefalosporinas:

- 7(0-benzoilmandelamido)cefalosporina racémica  
7(0-ciclohexilmandelamido)cefalosporina racémica  
7(0-1,2 dicloroacetilmandelamido)cefalosporina racémica.  
210 7(0-1 cloro 2 metilpropilmandelamido)cefalosporina racémica.

Ejemplo VIII.-

Se procede como en el ejemplo VI sustituyendo el ácido 7 aminodeacetoxicefalosporánico por el ácido 7 aminocefalosporánico, obteniéndose las cefalosporinas siguientes:

- 215 7 D (0-benzoilmandelamido)cefalosporina  
7 D (0-ciclohexilmandelamido)cefalosporina  
7 D (0-1,2 dicloroacetilmandelamido)cefalosporina.  
7 D (0-1 cloro 2 metilpropilmandelamido)cefalosporina.

Ejemplo IX.-

220 En un matraz de 250 ml. provisto de agitador mecánico y baño exterior para calefacción se coloca una mezcla de 0,01 mol de las cefalosporinas obtenidas según los ejemplos III, IV, VII y VIII y (0,01 mol) de 5 metil 1,3,4 triadiazol-2-tiol en

225 100 ml. de buffer de fosfatos de pH= 6,4. La mezcla se calienta a 60°C con agitación durante 20 horas.

Se deja que la mezcla alcance la temperatura ambiente, se añade 50 ml. de acetato de etilo y se lleva a pH= 2 con ácido ClH diluido. Se extrae nuevamente la solución acuosa con acetato de etilo, se reúnen los extractos, secan filtran y evaporan a sequedad obteniéndose las cefalosporinas siguientes:

7(0-trimetilacetilmandelamido)3(5-metil 1,3,4 tiazoliltiometil)3 cefem-4-carboxílico.

7 D (0-trimetilacetilmandelamido)3(5-metil 1,3,4 tiazoliltiometil) 3 cefem-4- carboxílico.

235 7(0-benzilmandelamido)3(5-etil-1,3,4 tiazoliltiometil)-3-cefem-4-carboxílico.

7(0-ciclohexilmandelamido)3(5-etil 1,3,4 tiazoliltiometil)-3-cefem-4-carboxílico.

240 7(0-1,2 dicloroacetilmandelamido)3(5-etil 1,3,4 tiazoliltiometil-3-cefem-4-carboxílico).

7(0- 1 cloro 2 metilpropilmandelamido)3(5-etil 1,3,4 tiazoliltiometil)-3-cefem-4 carboxílico.

ó las correspondientes formas D cuando se parte de los isómeros correspondientes.

245 Ejemplo I<sub>1</sub>

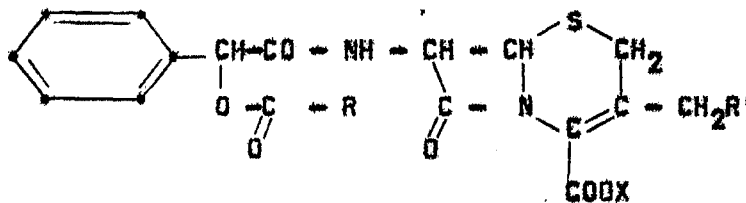
En un matraz de tamaño apropiado se dispone (0,01 mol) de las cefalosporinas obtenidas según los ejemplos I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII ó IX, se disuelven en 10 ml. de metanol frío y

250 se añade gota a gota y con agitación una solución de 2-etilhexa  
 noato sódico ó potásico al 40% en n-butanol hasta pH-7, alcanza  
 do el pH, el producto se filtra y lava con éter sulfúrico, se  
 seca a vacío, obteniéndose las sales sódicas ó potásicas de las  
 cefalosporinas correspondientes,

REIVINDICACIONES

\*\*\*\*\*

255 1).- Procedimiento de obtención de los ésteres de *d*-hidroxiben-  
 cilcefalosporinas y sus sales, de fórmula:

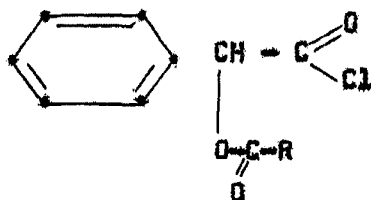


260 donde R puede ser un resto alquilo desde uno hasta ocho átomos  
 de carbono, arilo ó arilo sustituido, heterociclo desde cinco has-  
 ta ocho átomos de carbono mono ó polisustituido, cicloalquilo ó  
 alquileno de seis a ocho átomos de carbono.

R' puede ser: - H



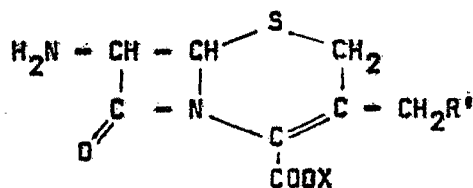
265 caracterizado por hacer reaccionar los cloruros de los ésteres  
 ácidos correspondientes de fórmula:



270

donde R tiene el mismo sentido que anteriormente, disueltos en acetona u otro disolvente inerte miscible con agua con la sal sódica del derivado del ácido 7-aminocefalosporánico de fórmula:

275



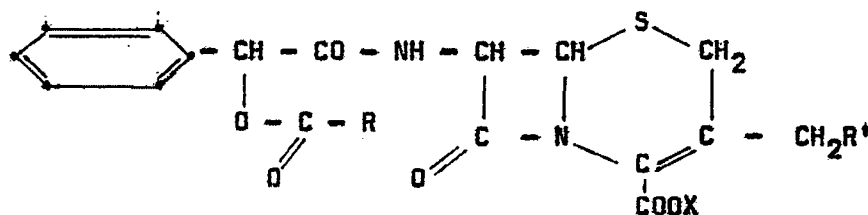
donde R' tiene el mismo sentido que anteriormente, disuelto en agua a temperaturas entre -20 y +30°C.

280

2). Procedimiento de obtención de los ésteres de  $\alpha$ -hidroxibenilcefalosporinas y sus sales, según la reivindicación anterior caracterizado por utilizarse los cloruros de ésteres ácidos racémicos y obtener mezclas racémicas de las cefalosporinas correspondientes.

285

3). Procedimiento de obtención de los ésteres de  $\alpha$ -hidroxibenilcefalosporinas y sus sales, de fórmula:



290

donde R pueden ser los sustituyentes indicados en la reivindicación 1 y R'



295 caracterizado por hacer reaccionar las cefalosporinas obtenidas según las reivindicaciones 1,2 con un tiol heterocíclico como:



300 a pH aproximado a neutro y a temperaturas comprendidas entre 20 y 70°C.

4). Procedimiento de obtención de los esteres de  $\alpha$ -hidroxiben-  
cilcefalosporinas y sus sales sódicas ó potásicas caracterizadas  
por neutralización de una solución a -5°C de las cefalosporinas  
reivindicadas en 1,2 y 3 con una solución alcohólica ó acuosa  
305 de las bases y aislando las sales por precipitación con un disol-  
vente adecuado ó eliminación del disolvente a presión reducida  
ó normal.

5). \* PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE LOS ESTERES DE  $\alpha$ -HIDROXIBEN-  
CILCEFALOSPORINAS Y SUS SALES\*

310 Esta memoria consta de 14 hojas foliadas y mecanogra-  
fiadas por un solo lado de sus caras.

Madrid, 26 de Junio de 1975