

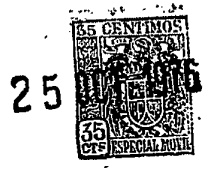


ESPAÑA

19 ES	11	NUMERO	10 A I
	21	438.895	
	22	FECHA DE PRESENTACION	
		26 Junio 1975	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D//A61K	
64 TITULO DE LA INVENCION		
"PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE α -HIDROXIBENCILCEFALOSPORINAS Y SUS SALES NO TOXICAS"		
CONCEDIDA		
71 SOLICITANTE (S)		
LABORATORIO FARMACEUTICO QUIMICO- LAFARQUIM, S.A.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Avda. de Aragón, 18 - MADRID		
72 INVENTOR (ES)		
1) D. Miguel Izquierdo San José 3) D ^a Carmen Fuentes Manero 2) D ^a R ^{ta} Isabel Fernández Fernández		
73 TITULAR (ES)		
La misma solicitante		
74 REPRESENTANTE		
D. PABLO AGUDO OBREGON		

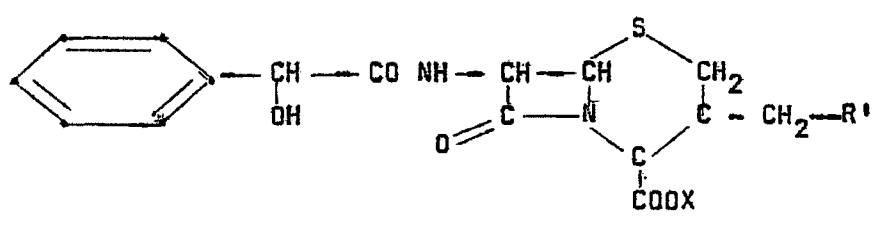


" PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE α -HIDROXIBENCILCEFALOSPORINAS Y SUS SALES NO TOXICAS".

Memoria descriptiva

Esta invención se refiere a compuestos químicos que posean actividad antibacteriana. En particular, la invención se refiere a la obtención de ácidos 7-mandelamide 3-cefen-4 carboxílicos y sus derivados. Los compuestos de la invención pueden representarse por la fórmula estructural siguiente:

5

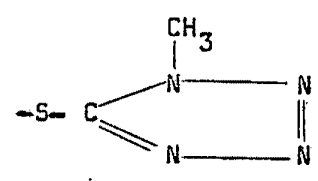
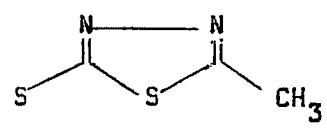


10

en la que:

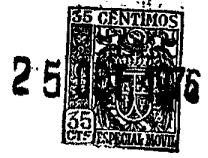
- R¹ puede ser - H
- OCOCH₃

15



20

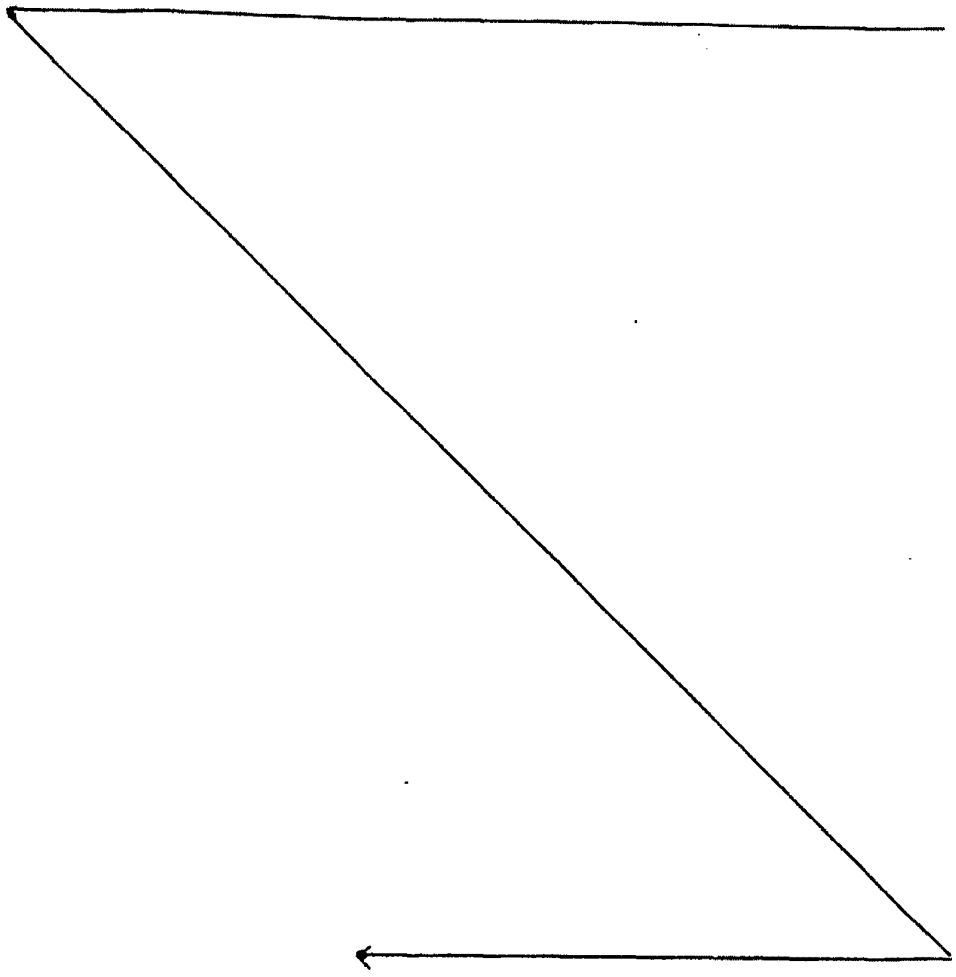
X puede ser -H, ó un catión farmacéuticamente aceptable.



25

Los productos de la presente invención son agentes antibacterianos que poseen actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Es de destacar su espectro de actividad frente a bacilos gram negativos, especialmente las enterobacteriaceas.

En la Tabla I se resume la actividad antibacteriana de uno de los compuestos de la presente invención: la sal potásica del ácido -7(D mandelamido) de-acetoxi cefalosporánico.





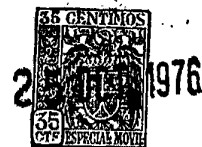
30

TABLA I

Espectro antibacteriano de sal potasica del ácido
7(mandelamido) deacetoxi cefalosporanico (AL 226) y cefalexina.

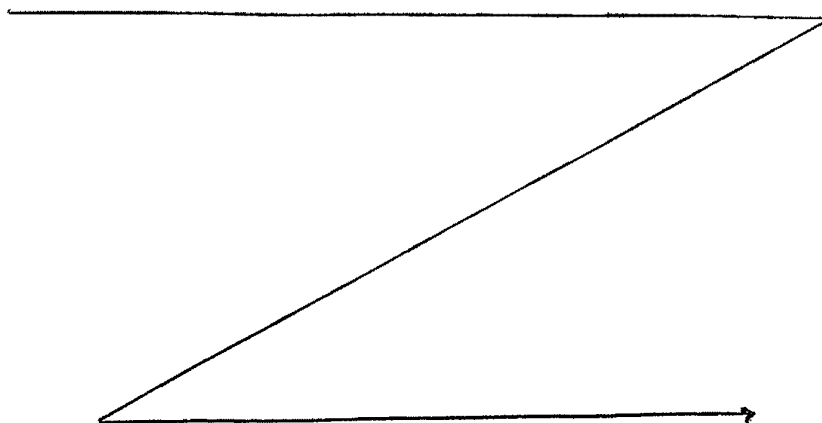
35	Germen	CMi: mcg/ml	
		AL 226	Cefalexina
	Bacillus pumilus NCTC 8241	0,4	0,4
	Bacillus subtilis CSIC	0,4	0,4
	Staphylococcus aureus CSIC	3,2	3,2
	" " 54146	1,6	3,2
40	" " ATCC6538P	1,6	0,8
	" " 6454	6,2	6,2
	Escherichia Coli O 11:B ₄ (51-58)	6,25	6,25
	" " 6370	12,5	12,5
	" " 554	12,5	12,5
45	" " 312	25	12,5
	" " 328	12,5	12,5
	Proteus morganii 466	25	25
	" mirabilis 532	12,5	12,5
	" " 576	6,25	6,25
50	" rettgerii 718	200	200
	Pseudomonas aeruginosa A-9	>200	>200
	" " CSIC	>200	>200
	Klebsiella pneumoniae 58,5	25	12,5
	Salmonella sp 322	6,25	6,25
55	Enterobacter 356	200	200
	Providencia 758	100	200
	" 896	100	200

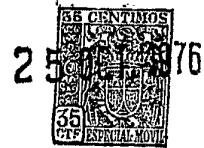
Antibiotic Medium 1 - 16-18. Horas incubación
Inoculo : 10⁷ microorganismos / ml.



60 Según los experimentos realizados la sal potasica
del ácido 7(D-mandelamido) deacetoxi cefalosporina es rápi-
damente absorbida, administrando por vía intramuscular a co-
nejos una dosis de 100 mg/kg peso, el pico más alto se alcan-
za entre la media y la una hora y es de 50 mcg/ml. Cuando se
65 administra por vía oral a conejos esta misma dosis, se recu-
pera en orina alrededor del 40% de la dosis administrada. El
producto se recupera en la orina inalterado como se ha compro-
bado por cromatografía en papel Whatman nº 1 usando una mez-
cla acetona:agua (85:15) como eluyente y biorevelando con
70 B.subtilis.

En la tabla II se muestra las concentraciones al-
canzadas en distintos órganos como hígado, riñón, pulmón, in-
testino delgado y en sangre, en ratas a dosis de 100 mg/kg
peso.





75

TABLA II

Distribución tisular de la sal potásica del ácido 7(D-mandelamido) deacetoxi cefalosporánico en ratas por vía intramuscular con una dosis de 100 mg/kg peso

horas	mcg/ml						
	1/2	1	2	3	5	6	testigo
plasma (a)	45,5	13,7	2,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
hígado (b)	77,3	23,1	6,2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
riñón (b)	107,9	40,7	8,3	6,4	N.D.	N.D.	N.D.
pulmón (b)	13,2	7,6	3,1	3,8	3,5	4,2	4,2
intestino (b)	25,5	28,8	22,2	7,4	44,7	27,2	3,9

(a) = mcg/ml.

(b) = mcg/gramo

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

95

La sal potásica del ácido D(7-mandelamido) deacetoxi cefalosporánico es un producto de muy baja toxicidad,

la DL₅₀ por vía oral en ratones es superior a dos gramos por

kilo de peso y por vía intraperitoneal superior a un gramo por



100 kilo de peso:

Se liga un 36% a las proteínas del suero en proporción semejante a la cefalexina empleando el método de ultrafiltración a una concentración de 10 mcg/ml en suero de conejo.

105

TABLA III

	% de antibiotico libre	% de antibiotico ligado
Acido 7 (D-mandelamido) deacetoxi cefalosporanico	64	36
Cefalexina	72	28
Cefaloridina	86	14
Cefazolina	7,2	92,8

110

115

Los compuestos citados se preparan, en general, haciendo reaccionar el ácido 7-aminocefalosporánico ó 7-amino-deacetoxicefalosporánico con el cloruro de dicloroacetyl mandeloilo en un medio básico de pH proximo a 8, generalmente solución acuosa de CO_2NH_4 al 5 %, a temperaturas bajas comprendidas entre -20 y 30°C. La cefalosporina se aísla del medio de reacción en forma ácida, extrayendo con acetato de etilo



120 de otro disolvente apropiado.

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 y 60°C. El tiempo de reacción oscila entre 10 y 20 horas pudiéndose seguir la marcha de la reacción por cromatografía en capa fina. La cefalosporina se aísla del medio de reacción acidulando con ClH diluido y extrayendo con acetato de etilo ú 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 metales alcalinos y alcalinotérreos adecuada, tal como 2-etilhexanoato sódico ó potásico por ejemplo, aislandola por precipitación ó bien liofilizando la solución acuosa.

Es de notar que todos los compuestos de la invención, por tener uno ó más átomos de carbono asimétrico, existen en forma de isómeros ópticos. Los dos isómeros D y L así como sus mezclas racémicas están incluidos dentro del alcance de la invención.

Por lo que se refiere a los dos diastereoisómeros



145 posibles de acilar el ácido 7-aminodeacetoxicefalosporánico con ácido mandélico racémico, se ha conseguido separar ambas formas mediante el lavado de la cefalosporina resultante de la reacción, con alcohol etílico absoluto caliente. La sal potásica del ácido 7-D-mandelacetamidodeacetoxicefalosporánico es mucho menos soluble en este medio por lo que puede aislarse fácilmente por filtración de su diastereoisomero 7-L-mandelacetamidodeacetoxicefalosporánico, cuya actividad biológica es mucho menor.

155 Esta separación de diastereoisomeros es de un interés indudable pues proporciona un medio de obtención de la sal potásica del ácido 7-D-mandelamidedeacetoxicefalosporánico más económico que partiendo del isomero del ácido mandélico, correspondiente ópticamente puro.

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

Ejemplo 1 .-

165 En un matraz de 2 litros de capacidad provisto de agitador mecánico, embudo de adición y baño para enfriar exteriormente, se colocan (0,2 moles) 41,6 gs. de ácido 7-aminocefalosporánico.

Se añaden 1 litro de solución de bicarbonato sódico al 5% y 600 ml. de acetona.

Cuando se ha conseguido una solución clara, debil-



170 mente amarillenta, se comienza a bajar la temperatura hasta alcanzar los -20°C . Se añade entonces en adición rápida (0,2 moles) 56 gs de cloruro de dicloroacetilmandeloilo racémico disueltos en 100 ml. de acetona.

175 Se agita a -20°C , media hora, terminada la cual se comprueba el pH que debe estar comprendido entre 6,5 y 7,5 y se sube la temperatura a 20°C , continuando la agitación dos horas más. Terminado el periodo de agitación se sube el pH de la solución hasta 9,5 con solución de carbonato sódico al 20% y se agita media hora más a temperatura ambiente.

180 Terminado el periodo de agitación se lava la solución dos veces con 500 ml de eter sulfúrico frio.

La solución acuosa se enfría a 0°C , se añaden 500 ml de acetato de etilo frio y se lleva a $\text{pH} = 2$ con solución de CIH 5N.

185 Se separa el extracto orgánico y se añaden otros 500 ml. de acetato de etilo frio. Se satura la solución acuosa con cloruro sódico y se agita fuertemente para conseguir una mayor extracción. Se separa la capa de acetato de etilo que se reúne con la anterior. Se seca con sulfato magnésico, filtra y evapora la solución a vacío, cuidando de no elevar la temperatura por encima de 40°C .

190 Se obtiene así un sólido amarillento de ácido 7 mandelamidocefalosporánico racémico. Se puede purificar disolviéndolo en metanol y precipitándolo con eter sulfúrico.



Ejemplos II.-

195 Se procede como en el ejemplo 1 sustituyendo el cloruro de dicloroacetilmandeloilo racémico por el cloruro de dicloroacetilmandeloilo obtenido a partir del ácido D (-) mandélico. Obteniéndose así el ácido 7 (D) mandelamidocefalosporánico como producto mayoritario.

200 Ejemplo III.-

Se procede como en el ejemplo I sustituyendo el ácido 7 aminocefalosporánico por el ácido 7 aminodeacetoxicefalosporánico obteniéndose así el ácido 7-mandelamidodeacetoxicefalosporánico racémico.

205 Ejemplo IV.-

Se procede como en el ejemplo II sustituyendo el ácido 7-aminocefalosporánico por el ácido 7-aminodeacetoxicefalosporánico obteniéndose así 7 (D) mandelamido deacetoxicefalosporánico como producto mayoritario.

210 Ejemplo V.-

En un matraz de 250 ml. provisto de agitador mecánico y baño exterior para calefacción, se coloca una mezcla de (0,01 mol) de ácido 7 (D) mandelamidocefalosporánico y 10,01 mol de 5 metil 1,3,4, tiadiazol-2-tiol en 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



220 sa con acetato de etilo. Se reunen los extractos, secan, filtran y evaporan a sequedad obteniendose el ácido 7 (D) mandelamido 3-(5-metil 1,3,4, tiadiazol-2-il tiometil) 3-cefem-4 carboxílico.

El producto puede purificarse cromatografiando sobre gel de silice usando CHCl_3 -MeOH como eluyente en gradiente.

225 Ejemplo VI.-

En un matraz de tamaño apropiado se dispone (0,01mol) de las cefalosporinas obtenidas según los ejemplos I, II, III, IV ó V, se disuelven en 10 ml. de metanol frio y se añade gota a gota y con agitación una solución de 2-etilhexanoato sódico ó potásico al 40% en n-butanol hasta pH= 7. Alcanzando el pH la pasta formada se lava con eter sulfúrico, filtra y seca a vacío, obteniendose las sales sódicas ó potásicas de las cefalosporinas correspondientes.

230 Ejemplo VII.-

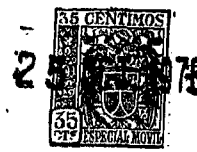
235 Se procede como en el ejemplo VI empleandose como cefalosporina la mezcla racémica obtenida según el ejemplo III y la sal potásica del ácido 2-etilhexanoato potásico.

El producto resultante es una mezcla racémica que se lava con 500 ml. de alcohol etílico absoluto a ebullición. Se filtra el producto insoluble que está formado por la sal potásica del ácido 7 (D-mandelamidocefalosporánico).

240

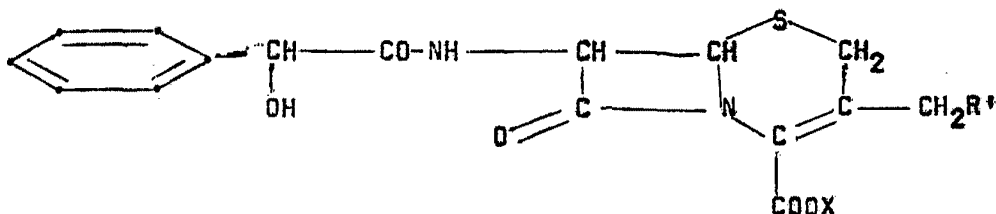
REIVINDICACIONES

1.) Procedimiento de obtencion de α -hidroxibencil-



cefalosporinas y sus sales no tóxicas, de fórmula:

245



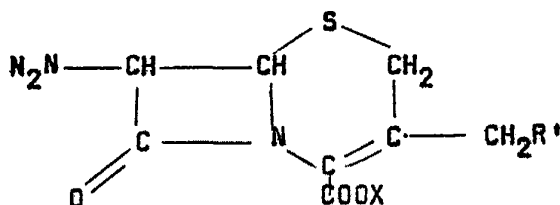
donde R' puede ser:

250

- H
- COOH₃

caracterizado por hacer reaccionar el cloruro del ácido mandé-
lico, protegido el grupo OH por un radical apropiado como di-
cloroacetilo, disuelto en acetona u otro disolvente inerte y
la sal sódica de un derivado del ácido 7-aminocefalosporánico
de fórmula:

255



260

donde R' puede ser:

- H
- OCHOCH₃

a temperaturas comprendidas entre -20 y 30°C y posterior des-
bloqueo del grupo OH en medio básico de pH entre 8 y 11.

265



270 2). Procedimiento de obtención de α -hidroxibencil-
cefalosporinas y sus sales no tóxicas, caracterizado por par-
tir del cloruro del ácido mandélico racémico protegido del
grupo OH por un radical apropiado, dicloroacetilo por ejemplo,
en acetona u otro disolvente inerte y la sal sódica del áci-
do 7-aminocefalosporánico a temperaturas comprendidas entre
275 -20 y 30°C y posterior desbloqueo del grupo OH en medio bási-
co de pH entre 8 y 11.

280 3). Procedimiento de obtención de α -hidroxiben-
cilcefalosporinas y sus sales no tóxicas, según la reivindi-
cación 1, caracterizado por partir del (-) cloruro del ácido
mandélico protegido el grupo OH por un radical apropiado tal
como dicloroacetilo, en acetona u otro, disolvente inerte y la
sal sódica del ácido 7-aminocefalosporánico a temperaturas
comprendidas entre -20 y 30°C y posterior desbloqueo del gru-
po OH en medio básico de pH entre 8 y 11.

285 4). Procedimiento de obtención de las α -hidroxi-
bencilcefalosporinas y sus sales no tóxicas, según la reivin-
dicación 1, caracterizado por partir del cloruro del ácido
mandélico protegido el grupo OH por un radical apropiado, tal
como dicloroacetilo, en acetona u otro disolvente inerte y la
290 sal sódica del ácido 7-amino deacetocefalosporánico a tempe-
raturas comprendidas entre -20 y 30°C y posterior desbloqueo
del grupo OH en medio básico entre 8 y 11.

5). Procedimiento de obtención de α -hidroxibencil-

295 cefalosporinas y sus sales no tóxicas, según la reivindicación
1, caracterizado por partir del (-) cloruro del ácido mandeli
co con el grupo OH protegido por un radical tal como dicloroa
cetilo, en acetona u otro disolvente inerte y la sal sódica
del ácido 7-amino deacetoxicefalosporánico a temperaturas com
prendidas entre -20 y 30°C y posterior desbloqueo en medio ba
300 sico entre 8 y 11.

6). Procedimiento de obtención de α -hidroxibencil
cefalosporinas y sus sales no tóxicas tales como sódica ó
potásica, caracterizado por partir de las cefalosporinas se
gún las reivindicaciones 1,2,3,4 y 5 las cuales se neutralizan
305 en medio acuoso ó alcohólico con la base correspondiente en
solución acuosa ó alcohólica a -5°C, aislando los productos
de reacción por precipitación con un disolvente adecuado o
eliminando a presión reducida ó normal del disolvente.

7). " PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE α -HIDROXICEFALOS
310 PORINAS Y SUS SALES NO TOXICAS".

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

Madrid, 26 de Junio de 1.975

