

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



PATENTE DE INVENCION

19 ES	11 NUMERO 461.244	10 A1
	21	
	22 FECHA DE PRESENTACION 1-8-77	

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 25447	32 FECHA 13 de junio de 1975	33 PAIS INGLATERRA
---------------------------------------	---------------------------------	-----------------------

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL CO7D	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION

PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR COMPUESTOS 6-(p-HIDROXIFENILGLICILAMIDO)-PENAM ó 7-(p-HIDROXIFENILGLICILAMIDO)-CEFEM.

71 SOLICITANTE (S)

NOVO INDUSTRI A/S.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Novo Allé, DK-2880 Bagsvaerd, Dinamarca

72 INVENTOR (ES)

ERLING GUDDAL, Ing.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

GOMEZ-ACEBO

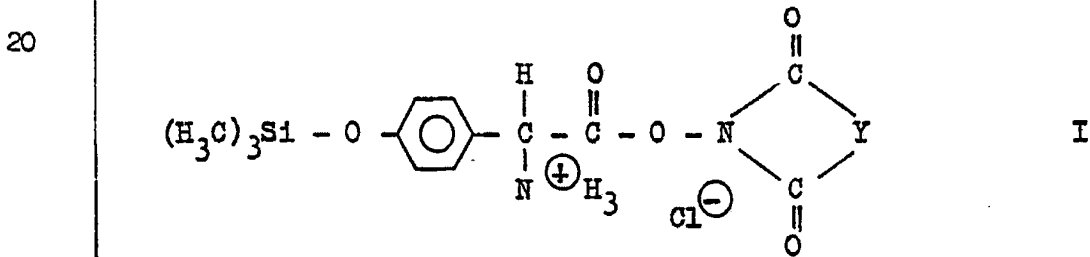
Esta invención se relaciona con un procedimiento para preparar compuestos 6-(p-hidroxifenilglicilamido)-penam ó 7-(p-hidroxifenilglicilamido)-cefem.

5 Ya se han descrito en la literatura varios ésteres activos de aminoácidos protonados (Tetrahedron Letters 1965, 95, J. Chem. Soc. C 1968, 1219), pero tales compuestos solamente han sido utilizados como componentes amino en la síntesis de péptidos.

10 En general, la utilización de protección protónica de grupos amino en síntesis de péptidos, ha encontrado hasta el presente al menos el siguiente obstáculo principal:

La migración de protones no es permitible, perjudicando así la formación del enlace péptido con el componente amino sin protonar.

15 La invención se relaciona con un procedimiento para preparar compuestos 6-(p-hidroxifenilglicilamido)-penam ó 7-(p-hidroxifenilglicilamido)-cefem, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula general:



25 en la que Y es



30 con una fosfitoamida de un éster de ácido 6-aminopenicilánico o de un éster de ácido 7-amino-3-cefem-4-carboxílico, en pre-

sencia del hidrocioruro de una amina debil.

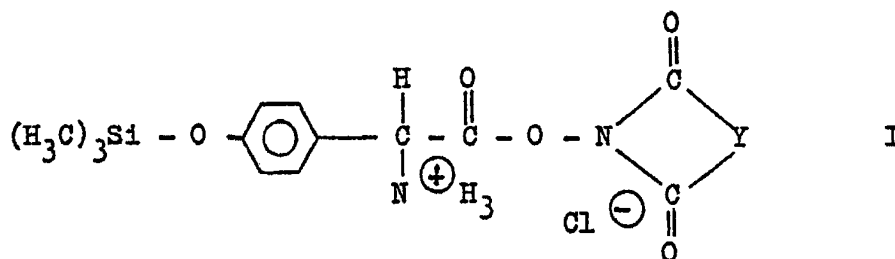
Los fosfitoamidas de ésteres de ácido 6-aminopenicilánico o de ésteres de ácido 7-aminocefalosporánico, se describen en la Patente belga No. 809.110.

5 Puesto que la acilación de dichas fosfitoamidas con los ésteres activados antes definidos es catalizada por protones, ha de mantenerse una elevada actividad protónica en el medio de reacción durante toda la acilación. Dicha elevada actividad protónica se proporciona preferiblemente utilizando como hidrocioruro el hidrocioruro de piridina.

10 Los rendimientos obtenidos mediante el proceso de esta invención son elevados y no se observa racemización del D-(-)-p-hidroxifenilglicilo estéricamente labil.

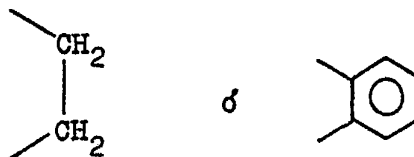
Los compuestos que tienen la fórmula general:

15



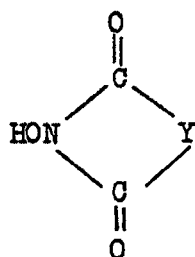
20

en la que Y es



25

pueden ser preparados mediante reacción de D-(-)-p-trimetilsililoxifenilglicil-N-carboxianhídrico con una N-hidroxiimida de fórmula general:



5

en la que Y se define como anteriormente, en presencia de un hidrocioruro de una amina debil y en un disolvente inerte.

La reacci3n se efectúa preferiblemente en presencia de hidrocioruro de piridina y en cloruro de metileno.

10

Los compuestos así preparados pueden ser aislados o pueden utilizarse in situ en el procedimiento para la producci3n de compuestos 6-(p-hidroxifenilglicilamido)-penam 6 7-(p-hidroxifenilglicilamido)-cefem como 6steres activos.

15

La invenci3n se describirá a continuaci3n con mayor detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilgliciloxisuccinimida, hidrocioruro

20

Se ańaden 0,575 g (5 mmoles) de N-hidroxisuccinimida a una soluci3n de 0,58 g (5 mmoles) de hidrocioruro de piridina y 1,33 g (5 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilglicina-N-carboxianhídrido en 17 ml de cloruro de metileno seco a 0°C. Se desprende di3xido de carbono y despu3s de 1 hora solamente pueden detectarse trazas de N-carboxianhídrido mediante cromatografía de capa fina (gel de sílice, benceno/acetona 1:1, pulverizado con ninhidrina). El precipitado blanco, cristalino, formado, se aísla por filtraci3n para dar 1,02 g (55%) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilgliciloxisuccinimida, hidrocioruro.

30

Análisis:

Calculado para $C_{15}H_{21}N_2O_5SiCl$:

C: 48,33%; H: 5,68%; N: 7,51%; Cl: 9,51%

Encontrado: C: 48,25%; H: 5,37%; N: 7,54%; Cl: 9,74%.

5 El espectro IR (KBr) muestra absorciones características en 1815 cm^{-1} , 1780 cm^{-1} (éster), 1730 cm^{-1} , 1710 cm^{-1} (imida cíclica), y 840 cm^{-1} (trimetilsililo).

10 El espectro RMN (D-DMF, Ext.) muestra señales características en:

δ ppm	Correlación	Integral
0,05 (s)	Trimetilsililo	9 H
2,9 (s)	O=C-CH ₂ -CH ₂ -C=O	4 H
5,9 (s)	H bencílico	1 H
15 7,05 (d) J=9	H aromático	2 H
7,6 (d) J=9	H aromático	2 H
8-10 (amplio)	NH	3 H

EJEMPLO 2

20 p-Trimetilsililoxi-D-(-)-fenilgliciloxiftalimida, hidrocioruro.

25 En 200 ml de tolueno seco se suspenden, a temperatura ambiente, 2,65 g (10 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilglicina-N-carboxianhidrido y 1,16 g (10 mmoles) de hidrocioruro de piridina. Se añaden 1,67 g (10 mmoles) de N-hidroxiftalimida en polvo fino y la mezcla se agita durante 24 horas. El precipitado se aísla por filtración y se lava totalmente con cloruro de metileno para dar 3,66 g (85 %) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilgliciloxiftalimida, hidrocioruro.

Análisis:

Calculado para $C_{19}H_{21}N_2O_5SiCl$:

C: 54,33 % H: 5,03 %

Encontrado: C: 54,37 % H: 4,92 %.

5 El espectro IR (KBr) muestra absorciones características en 1820 cm^{-1} y 1790 cm^{-1} (éster), 1750 cm^{-1} (imida cíclica), y 840 cm^{-1} (trimetilsililo).

EJEMPLO 3

p-hidroxiampicilina

10 Método A:

 Se añaden 4,2 ml (30 mmoles) de trietilamina a una suspensión de 3,24 g (15 mmoles) de ácido 6-aminopenicilánico y la mezcla se agita a temperatura ambiente hasta que se forma una solución clara. Se añaden gota a gota 1,89 ml
15 (15 mmoles) de trimetilclorosilano y la mezcla se agita durante 1 hora, se enfría luego a 0°C y a continuación se añaden, durante media hora, 1,35 ml (15 mmoles) de clorofosfito de etileno, para producir 6-etilenfosfitoamidopenicilinato de trimetilsililo. En este momento, se añade de una vez y en el
20 orden mencionado: 2,9 g (25 mmoles) de hidrocloreuro de piridina, 2,66 g (10 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilglicina-N-carboxianhidrido y 1,15 g (10 mmoles) de N-hidroxisuccinimida. La mezcla se agita a 0°C durante la noche, tras lo cual la valoración enzimática indica un rendimiento de 96% de
25 penicilina.

 Se añade una solución de 6,7 g de dioctilsulfosuccinato de sodio (Manoxol OT, BDH) en 50 ml de acetato de etilo y el cloruro de metileno se evapora in vacuo. La mezcla se vierte en hielo-agua, se ajusta el pH a 2 con ácido
30 fosfórico y se separan las fases. La fase acuosa se extracta

dos veces con 1,67 g de dioctilsulfosuccinato de sodio en 10 ml de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se añaden a 10 ml de agua y el pH se ajusta a 4,9 con dicocometilamina (KEMAMINE T-6501) y se agita durante 1 hora a 5 0°C para completar la precipitación del trihidrato de p-hidroxiampicilina cristalina. Se aíslan por filtración 3,4 g del producto (80%). La valoración enzimática indica una pureza del 80 % y una reprecipitación en agua a pH isoeléctrico produce un compuesto puro, que muestra espectros IR y RMN idénticos con aquellos de material auténtico. 10

Método B:

A una suspensión de 3,24 g (15 mmoles) de ácido 6-aminopenicilánico en 23 ml de cloruro de metileno seco, se añaden 2,4 ml (30 mmoles) de piridina seguido por 1,9 15 ml (15 mmoles) de trimetilclorosilano y 1,35 ml (15 mmoles) de clorofosfito de etileno. Se inicia una reacción exotérmica, poniendo la mezcla a un suave reflujo. Después de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, se evapora una pequeña muestra, se disuelve en deuterocloroformo y se registra el espectro RMN: standard externo: TMS. El 6-hidrógeno es representado 20 por un multiplete de cuatro señales, centrado en $\delta = 5$ ppm, a partir del cual y mediante análisis de primer orden pueden deducirse las siguientes constantes de combinación:

$$J_{\text{PNCH}}: 12 \text{ Hz}$$

$$J_{\text{HCCH}}: 4,5 \text{ Hz.}$$

25 La adición de exceso de trietilamina al tubo RMN convierte este espectro al modelo conocido de la base libre.

La mezcla de reacción se enfría a 0°C, se añaden 2,66 g (10 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilglicina- 30 N-carboxianhidrido y 1,15 g (10 mmoles) de N-hidroxisuccinimida

y la mezcla se agita a 0°C durante la noche. La valoración enzimática indica un rendimiento del 98 %. El producto se precipita por adición de 1,6 ml de piridina y 7 g de carbón activo (NORIT SU 18, conteniendo 7,5 % de agua). Después de
5 agitarse durante 1 hora a 0°C y durante 1 hora a temperatura ambiente, el precipitado se aísla por filtración y se resuspende en 50 ml de hielo-agua. El carbón se elimina por filtración (la valoración enzimática en este punto indica un rendimiento de 75 %), se añaden 4 g de perclorato sódico, se ajusta
10 el pH a 1,5 con ácido perclórico y el producto se extracta con n-butanol como la sal perclorato. A los extractos butanólicos combinados se añaden 50 ml de agua, se ajusta el pH a 7 con trietilamina y el producto se extracta de nuevo en agua. Las fases acuosas combinadas se ajustan a pH 4,8 y el butanol disuelto se separa por destilación azeotrópica in vacuo, con lo
15 cual la p-hidroxiampicilina cristaliza como el trihidrato. La primera cosecha de cristales asciende a 1,66 g (39%) mostrando espectros IR y RMN idénticos con los del material auténtico. A partir del filtrado se puede obtener otra cosecha
20 de cristales.

EJEMPLO 4

p-hidroxiampicilina

Una suspensión de 1,08 g (5 mmoles) de ácido
6-aminopenicilánico en 12,5 ml de cloruro de metileno seco y
25 1,4 ml (10 mmoles) de trietilamina se agita a temperatura ambiente hasta que se obtiene una solución clara. La mezcla se enfría luego a -40°C y se añaden 0,45 ml (5 mmoles) de clorofosfito de etileno. La mezcla se lleva a temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. Se añaden 0,3 ml (2,5 mmoles)
30 de dimetildiclorosilano y la mezcla se agita durante la noche

a 0°C. A dicha solución se añaden 0,4 ml de piridina y 1,86 g (5 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilgliciloxisuccinimida, preparada como se ha descrito en el ejemplo 1.

La reacción se sigue por valoración enzimática del rendimiento en penicilina:

5

<u>Tiempo</u>	<u>Rendimiento</u>
1 1/2 h	50%
2 1/2 h	63%
3 1/2 h	70%
10 20 h	70%

La penicilina producida se comporta idénticamente a la p-hidroxiampicilina auténtica en la electroforesis de alta tensión a pH 7. El producto puede ser aislado como se describe en el ejemplo 3.

15

EJEMPLO 5

Acido 7-(D- α -amino- α -(p-hidroxifenil)-acetamido)-3-(1,2,3-triazol-5-iltiometil)-3-cefem-4-carboxílico

20

Se suspenden 1,56 g (5 mmoles) de ácido 7-amino-3-(1,2,3-triazol-5-il-tiometil)-3-cefem-4-carboxílico en 20 ml de acetonitrilo seco, se añaden 2,1 ml (15 mmoles) de trietilamina y la mezcla se agita durante 2-3 horas aproximadamente a temperatura ambiente, hasta obtener una solución clara. La solución se enfría a 0°C y se añaden 0,45 ml (5 mmoles) de clorofosfito de etileno (disuelto en 2,5 ml de acetonitrilo). La mezcla se agita durante 30 minutos, se lleva a temperatura ambiente y se añaden 1,26 ml de trimetilclorosilano (10 mmoles). Después de agitar durante 2 horas, el hidrocloreto de trietilamina precipitado se separa por filtración (1,43 g). Se añaden 2,32 g (20 mmoles) de hidrocloreto de piridina, 2 g (7,5 mmoles) de p-trimetilsililoxi-D-(-)-fenilglicina-N-

30

carboxianhidrido y 0,86 g (7,5 mmoles) de N-hidroxisuccinimida, a la solución de bis-trimetilsilil-7-etilenfosfitoamido-3-(1,2,3-triazol-5-il-tiometil)-3-cefem-4-carboxilato y la mezcla se agita a 0°C durante la noche. La electrofóresis de papel de alta tensión indica una acilación casi cuantitativa.

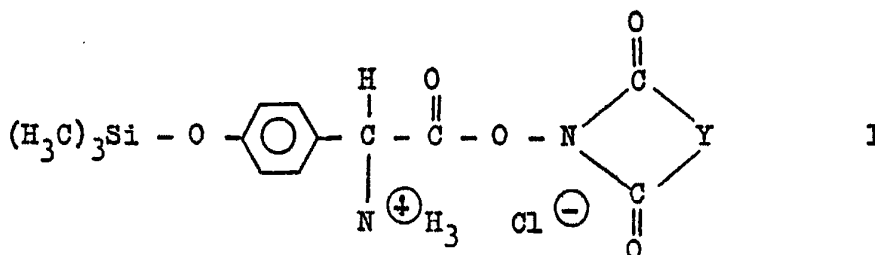
Para la recuperación del producto de reacción, se añaden 10 mmoles de dioctilsulfosuccinato de sodio, se evapora el disolvente in vacuo y se sustituye por 30 ml de acetato de etilo seguido por 15 ml de hielo-agua. El pH se ajusta a 1 y la mezcla se agita durante 15 minutos y se filtra, seguido por separación de las fases. La fase acuosa se extrae dos veces con 5 ml de acetato de etilo conteniendo 2,5 mmoles de dioctilsulfosuccinato de sodio.

La transferencia del producto a la fase orgánica se confirma por electrofóresis de papel. Los extractos orgánicos combinados se tratan con 1 g de carbón activo (Norit SU 18) y se filtra a través de un auxiliar de filtración. Se añaden 9,5 ml de metanol y 0,5 ml de agua y se ajusta el pH a 4,5 con tricaprilamina. Se forma un precipitado blanco y después de agitar durante 1,5 horas a 0°C, el producto se aísla por filtración, se lava con acetato de etilo y metanol y se seca in vacuo, para dar 1,4 g de un polvo blanco, que muestra una sola mancha en la electrofóresis con papel a elevada tensión, que se mueve como un anión a pH 8 y como un catión a pH 5. El espectro RMN muestra señales correspondientes a la estructura propuesta.

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

REIVINDICACIONES

1ª.- Procedimiento para preparar compuestos 6-(p-hidroxifenilglicilamido)-penam ó 7-(p-hidroxifenilglicilamido)-cefem, caracterizado porque comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula general:



en la que Y es



con una fosfitoamida de un éster de ácido 6-aminopenicilánico o de un éster de un ácido 7-amino-3-cefem-4-carboxílico, en presencia del hidrocioruro de una amina debil.

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho hidrocioruro es hidrocioruro de piridina.

3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se hace reaccionar el compuesto de fórmula I, con una fosfitoamida de un sililéster de ácido 6-aminopenicilánico o ácido 7-amino-3-cefem-4-carboxílico.

25

4^a.- Procedimiento para preparar compuestos 6-(p-hidroxi-
fenilglicilamido)-penam ó 7-(p-hidroxi-
fenilglicilamido)-
cefem, tal y como queda sustancialmente descrito en la pre-
sente Memoria.

5

Esta Memoria consta de 12 hojas, escritas a máquina
por una sola cara.

29 SET. 1977

Madrid

NOVO INDUSTRI A/S.

