

18 ES	11 NUMERO 520955	10 AI
	21	
	22 FECHA DE PRESENTACION 24 MAR. 1983	



ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
P 32 41 834 0	25 de marzo de 1.982	República Federal Alemana.
Inventos: COY D 501/59, 501/20, 501/06		

47 FECHA DE PUBLICACION	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
-------------------------	--------------------------------	--------------------------------------

49 TITULO DE LA INVENCION

Procedimiento para la obtención de 7- α -aminoacil-3-clorocefalo-
esporinas.

71 SOLICITANTE (ES)

BAYER AKTIENGESELLSCHAFT.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Leverkusen-Bayerwerk, República Federal Alemana.

72 INVENTOR (ES)

Dr. Gunter Schmidt, Dr. Hans-Joachim Zeiler., Dr.Karl Georg Metzger

73 TITULAR (ES)

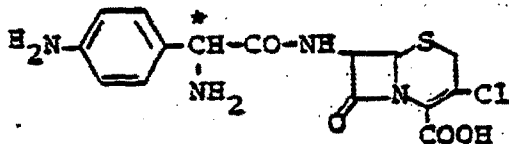
74 REPRESENTANTE

D. José Miguel Gómez-Acebo y Pombo.

La presente invención se refiere a nuevas 7- α -aminoacil-3-clorocefaloesporinas, a un procedimiento para su obtención así como a su empleo como medicamento, especialmente como antibiótico de eficacia oral.

5 Ya se conocen diferentes antibióticos del 7- α -aminoacilcefaloesporina con diferentes sustituyentes en la posición 3 de la molécula. Por ejemplo los antibióticos de β -lactama cefalexina, el ácido 7-(D- α -fenilglicilamido)-3-metil-3-cefem-4-carboxílico (patente británica 1.174.335) y cefaclor, el ácido 7-(D- α -fenilglicilamido)-3-cloro-3-cefem-4-carboxílico (publicaciones alemanas DE-OS 2.408.698 y DE-OS 2.728.578). Además se han descrito una serie de com-
10 puestos de α -aminoacilcefaloesporina cuyas moléculas en la posición 3 llevan ó bien un grupo acetoximetilo ó un grupo tiol heterocíclico, por ejemplo, cefatrizina (publicación alemana DE-OS 2.364.192). En la patente suiza 625.247 se describen los ácidos 7- β -D-2-amino-2-(aminofenil)-acetil-
15 amino-7-cefemcarboxílicos y sus derivados alquilsulfonílicos.

20 La presente invención pone a disposición la cefaloesporina de la siguiente fórmula estructural



como también las sales de adición de ácido de los grupos amino de la cadena lateral, preferentemente del grupo α -amino.

5 Las sales farmacéuticamente compatibles del grupo ácido C_4 -carboxílico comprenden las sales formadas con bases inorgánicas, tales como las sales del sodio, potasio y calcio, que se pueden preparar con bicarbonato sódico, carbonato potásico, hidróxido cálcico o hidróxido sódico.

10 Las sales amínicas farmacéuticamente compatibles se pueden preparar, por ejemplo, con aminas orgánicas, tales como dicitclohexilamina, bencilamina, 2-aminoetanol, dietanolamina ó diisopropilamina. Las sales de adición de ácido de los grupos amino comprenden las sales formadas con ácido mineral, tales como los hidroclozuros, los hidrobromuros, 15 y los sulfatos, así como los formados por ácidos sulfónicos orgánicos, tales como los p-toluenosulfonato.

20 Para la acilación del ácido 7-amino-3-cefem-4-carboxílico se pueden emplear en general cualquiera de los métodos de enlace de péptidos conocidos. Si, por ejemplo, como derivado activado se emplea un haluro de ácido se realiza la acilación en presencia de un aceptor de haluro de hidrógeno, tal como, por ejemplo, bicarbonato sódico, piridina.

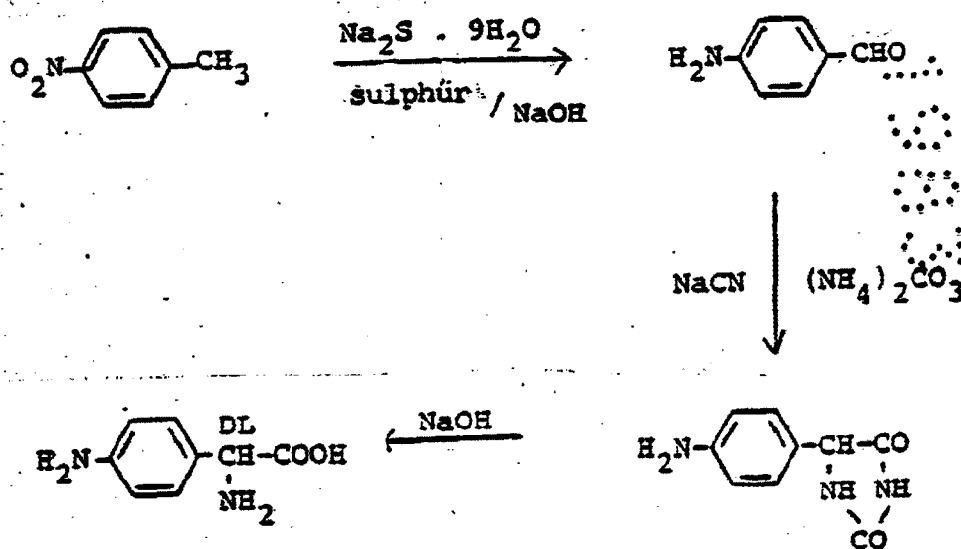
25 Si se emplean las p-aminofenilglicinas N,N'-protegidas se puede efectuar la acilación en presencia de un agente de condensación tal como, por ejemplo, N,N'-dicitclohexil-

ó N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida.

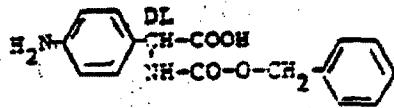
Además del grupo benciloxicarbonilo y terc.-butil-
oxicarbonilo se pueden emplear también otros grupos protec-
tores amino, por ejemplo, el grupo p-nitrobenciloxicarbonilo,
5 tricloeoetoxicarbonilo, tritilo ó 2-(p-bifenil)-isopropiloxi-
carbonilo ó los compuestos β -dicarbonilo (por ejemplo, el
resto 1-metiló2-etoxicarbonil-vinilo ó 1-metil-2-benzoil-
vinilo.

10 La acilación se efectúa en un disolvente inerte,
por ejemplo, en tetrahidrofurano, dimetilformamida, acetona,
acetonitrilo ó cloruro metilénico y, preferentemente, a una
temperatura entre -40 y $+20^{\circ}\text{C}$.

15 El ácido DL- α -amino- α -(p-aminofenil)-acético
se puede obtener, por ejemplo, de p-nitrotolueno según el
siguiente esquema de síntesis:



De la forma DL se pueden obtener las formas D y L puras según el siguiente esquema de fórmulas.



etanol

Dehidroabietilamina (DHA)

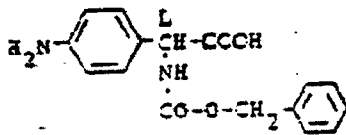
5 Sal DHA

(forma L)

Cristalización en etanol

$$[\alpha]_D^{20} = +34,5^\circ \text{C} (\text{C} = 1, \text{CH}_3\text{OH})$$

10 Liberación



Filtrado evaporado a sequedad

(forma D)

Liberación con NH_3

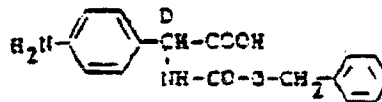
(+)- α -metilbencilamina

Sal de metilbencilamina
(forma D)

Cristalización en isopropanol

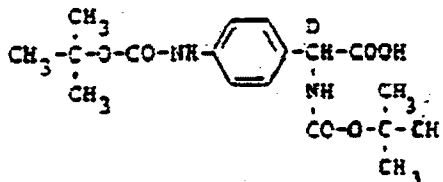
$$[\alpha]_D^{20} = -78,9^\circ \text{C} (\text{C} = 1, \text{CH}_3\text{CH})$$

Liberación



- 1) HCl semiconcentrado/reflujo
- 2) Di-terc.-butil-dicarbonato

15



$[\alpha]_D^{20} = -107.3^\circ$ (c = 1, CH₃OH)
589

El ácido 7-amino-3-cloro-3-cefem-4-carboxílico se puede obtener o bien según J. Elks, Recent Advances in the Chemistry of β -lactam-antibiotics", 28, 243 - 251 (1977) o del producto comercial Cefaclor por disociación enzimática de D-fenilglicina.

La cefaloesporina de la presente invención tiene un amplio espectro de eficacia antibacterial in vitro. En las cepas Serratia, Providencia y Proteus se halla una eficacia mejorada en comparación con el Cefaclor.

Así son eficaces los nuevos compuestos in vitro contra

E. coli T 7
A 261
Neum.
183/58
F 41
C 165
4 322

5

15

20

25

y contra

Klebs. 57 US

63

1852

5

6097

en un margen de dosificación de 0,5 - 8 µg/cc.

En administración parenteral ó, especialmente oral tienen muy buena eficacia los nuevos derivados de p-amino-cefacior contra microorganismos tales como Staphylococcus aureus 133, Streptococcus fall. 27 lol, Enterococcus AT CC 9790 y bacterias gram-negativas, por ejemplo, Escherichia coli y Klebsiella.

10

EJEMPLO 1

1.1 5-(4-aminofenil)-2,4-imidazolidin-diona

15

90 g (sustancia seca = 0,495 moles) de p-aminobenzaldehido, humedecido con agua, disuelto en 1000 cc de metanol, se gotean a una solución de 37,0 g (0,75 moles) de cianuro sódico y 192,9 g (2,02 moles) de carbonato amónico en 1000 cc de agua y se agita durante 20 horas a 60°C formando una solución clara. Después de separar el metanol por destilación en vacío se acidifica la solución restante a 0°C con ácido clorhídrico concentrado a un pH de 2, se agita durante 10 minutos y a continuación se ajusta con NaOH 4-n a un pH de 7. El producto precipitado se separa por succión, se lava con agua y se seca a 60°C en vacío.

20

25

Rendimiento: 69,4 g (73%)

$C_9H_9N_3O_2$ (191,2)

Calculado C 65,54 H 4,74 N 21,99

Hallado C 56,8 H 4,7 N 21,8

5 1H -RMN (D_6 DMSO, 60 MHz): δ = 4,95 (s; 5-H, imidazolidina),
6,65 (d; J = 8,3 Hz, 3-H, 5-H), 7,03 ppm (d; J = 8,3 Hz, 2-H,
6-H).

1.2 Ácido DL- α -amino- α -(4-aminofenil)acético

70 g (0,336 moles) de 5-(4-aminofenil)-2,4-

10 imidazolidindiona se calientan en 700 cc de lejía sódica al
10% bajo agitación durante 30 horas a 100°C. Se enfría a
0°C, se acidifica con ácido clorhídrico concentrado a un
pH de 2 y se sigue agitando durante 15 minutos. A continua-
ción se ajusta la solución con NaOH 4-n enfriando con hielo
15 a un valor pH de 5,0. El material precipitado, amarillo pa-
lido, se separa por succión, se lava con agua de hielo y
después con acetona y se seca a 60°C.

Rendimiento: 57,3 g (94%)

$C_8H_{10}N_2O_3$ (166,2)

20 Calculado C 57,82 H 6,06 N 16,86

Hallado C 57,4 H 6,4 N 16,6

1H -RMN (D_6 DMSO/NaOD, 60 MHz): δ = 4,1 (s; -CH),
6,63 (d; J = 8,3 Hz, 3-H, 5-H), 7,15 ppm (d; J = 8,3 Hz, 2-H,
6-H).

25 1.3 Ácido DL- α -terc.-butiloxicarbonilamino- α -(4-terc.-
butiloxicarbonilaminofenil)acético

25 g (0,1 moles) de dihidrato de ácido D- α -amino- α -(4-aminofenil)acético (contenido; 80,7%) se suspenden en 150 cc de agua, se disuelve con 150 cc de NaOH 2-n y se mezcla con 300 cc de dioxano. A continuación se gotean en el transcurso de 30 minutos 64,5 g (0,3 moles) de di-terc.-butildicarbonato y se agita durante la noche. Al día siguiente se separa el dioxano por destilación. La solución restante se diluye con H₂O, se lava con éster acético y se acidifica con HCl 2-n a un pH de 2 bajo enfriamiento con hielo y en presencia de éster acético. Después de lavar con solución de sal común al 10%, secar sobre Na₂SO₄ y concentrar la fase orgánica se cristaliza en residuo del éster acético caliente bajo adición de éter de petróleo.

15 Rendimiento: 30,4 g (83%)

C₁₈H₂₆N₂O₆ (366,4)

Calculado C 59,01 H 7,15 N 7,64

Hallado C 58,9 H 7,3 N 6,8

¹H-RMN (D_6) DMSO, 200 MHz): τ = 1,43

20 (d; 18H), 4,98 (d; α -CH) 7,27 - 7,4 ppm

(sistema AB; 4 H, fenilo).

1.4 Acido 7-DL- α -terc.-butiloxicarbonilamino- α -(4-terc.-butiloxicarbonilaminofenil)-acetamido-3-cloro-3-cefem-4-carboxílico

4,0 g (10,9 mmoles) de ácido DL- α -terc.-butil-oxicarbonilamino- α -(4-terc.-butiloxicarbonilaminofenil) acético se mezclan con 50 cc de THF con 1,53 cc (10,9 mmoles) de trietilamina, 3 gotas de N-metilmorfolina y a -30°C se agregan 1,43 cc (10,9 mmoles) de cloroformiato de isobutilo. Después de 60 minutos a -30° hasta -10°C se agrega una solución salina de trietilamina previamente enfriada de 2,8 g (12 mmoles) de ácido 7-amino-3-cloro-3-cefem-4-carboxílico disuelto en THF/agua (3:1). Se sigue agitando durante dos horas sin enfriamiento y el valor pH se ajusta a 7,2. Se mezcla con éster acético/agua y se acidifica a 0°C a un pH de 2. La fase éster acética se separa, se lava y se seca, se concentra a 80 cc y se introduce y agita en éter de petróleo. El producto precipitado se separa por succión y se seca.

Rendimiento: 3,3 g (52%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{ClN}_4\text{O}_8\text{S}$ (583,1)

Espectro IR: 1775 (s), 1700 (s), 1500 (s),

1358 (m), 1230 (s), 1150 (s), 1040 cm^{-1} (s) (cloroformio);

$^1\text{H-RMN}$ (D_6) DMSO, 250 MHz): δ = 1,4 - 1,48

(d; 18H), 3,62 - 4,1 (m; 2H, 2-H), 5,12 - 5,26

(m ancha; α -CH, 6-H), 5,56 - 5,82 (m; 7-H), 7,3 - 7,46

(m; 4H, fenilo), 9,18 - 9,28 (q; -NH-);

9,41 ppm (s; -NH-).

1.5 Acido 7- β - [DL-4-aminofenil]-glicinamido-7-3-cloro- Δ^3 -
cefem-4-carboxilico

3,3 g (5,7 mmoles) de derivado de cefaloesporina protegido por di-terc.-butiloxycarbonilo se tratan con 40 cc de ácido trifluoroacético (TFE) y 0,4 cc de anisol durante 15 minutos a 0-10°C. A continuación se separa el TFE por destilación en vacío y el residuo oleaginoso se mezcla con éter.

El compuesto cristalino se separa por succión, se lava con éter y se seca. La sal trifluoroacética se disuelve en 200 cc de agua y 200 cc de éter y se mezcla bajo agitación con Amberlite LA-2 (J.L. Spencer, E.H. Flynn, R. W. Roeske, F.Y. Siu y R.R. Chauvette, J. Med. Chem. 9, 746, (1966)) en éter gota a gota hasta un pH de 5,2.

La fase etérica se separa, la fase acuosa se lava varias veces con éter y se seca por congelación.

Rendimiento: 1,6 g (35%)

$C_{15}H_{15}ClN_4O_4S \cdot 2H_2O$ (418,8)

Calculado C 43,2 H 4,57 N 13,38 S 7,67 Cl 8,46

Hallado C 44,0 H 4,7 N 12,9 S 6,8 Cl 7,5

Espectro IR: 1775 (s), 1680 (w), 1605 (s), 1460 (s),

1360 cm^{-1} (s) Nujol.

1H -RMN (D₂O, 200 MHz): δ = 3,48 - 3,98 (m; 2H, 2-H), 5,22-5,32 (dd; 6-H), 5,65 (d; α -CH), 5,8-5,9 (dd; 7-H), 7,72 - 7,87 ppm (m; 4H, fenilo).

1.6 Acido 7-amino-3-cloro-3-cefem-4-carboxilico de Cefaclor
con resina de Penicilinacilasa

35,4 g de Cefaclor se suspenden bajo agitaci3n en
durante 60 minutos en 1000 cc de agua desalada que con trie-
5 tilamina se ha ajustado a un pH de 7,5. La suspensi3n se
succiona a trav3s de un filtro AS (de Seitz). El valor pH
de la soluci3n se ajusta a 6,8 con HCl al 18%. Mediante adi-
ci3n de 120 g de penicilinacilasa IR C -50- resina (12,2
unidades/g) se disocia la D-fenilglicina a 25°C (bajo neu-
10 tralizaci3n con trietilamina bajo un valor pH constante de
6,8 en el transcurso de 5 horas. La resina de penicilinacila-
sa se separa por filtraci3n, se lava con agua y la soluci3n
disociada se concentra en vacio a aproximadamente 100 cc.
La D-fenilglicina precipitada se separa por filtraci3n, se
15 lava con acetona y se seca. La soluci3n se ajusta a un pH
de aproximadamente 3,7 con HCl al 18%, el precipitado se
separa por succi3n, se lava con agua desionizada y acetona,
y se seca.

Rendimiento: 14,9 g (79%)

20 $C_7H_7Cl N_2O_3S$ (234,6)

Calculado C 35,82 H 3,01 N 11,93 S 13,66 Cl 15,11

Hallado C 36,0 H 3,1 N 11,5 S 12,85 Cl 14,3

1H -RMN (NaDCO₃, 250 MHz): δ - 3,54 (d; 2-H), 3,92 (d;
2-H), 5,14 (d; 6-H), 5,46 ppm (d; 7-H).

EJEMPLO 2

2.1 Acido DL- α -benciloxicarbonilamino- α -(4-aminofenil)-
acético

5 30 g (0,142 moles) de ácido DL- α -amino- α -(4-
amino-fenil)acético al 88% se suspenden en 250 cc de agua
y con 11.9 g (0,142 moles) de NaHCO₃ se calienta a 100°C.
A continuación se agrega aún NaOH 2-n hasta un pH de 9
(solución casi clara). Se agregan 40,6 g (0,143 moles) de
10 benell-p-nitrofenil-carbonato (Y. Wolman, D. Ladkany y M.
Frankel. J. Chem. Soc. 1967, 689), disueltos en 150 cc de
dioxano y se agita durante dos horas a 100°C. La solución
se filtra en caliente, el filtrado se libera en vacío,
del dioxano y la solución se lava dos veces con éster acé-
tico.

15 La fase acuosa se libera en vacío del éster
acético y a 10° se acidifica con HCl 2-n a un pH de 4,5. El
producto precipitado se separa por succión, se digiere con
etanol durante 1 hora en caliente, se separa por succión y
se lava con éter.

20 Rendimiento: 27,5 g (63 %)

C₁₆H₁₆N₂O₄ (309,3)

Calculado C 63,99 H 5,37 N 9,33

Hallado C 63,2 H 5,4 N 9,2

25 ¹H-RMN ($\sqrt{D_6}$ DMSO, 250 MHz): δ =5,02 (d; α -CH), 5,09
(s; bencilo-CH₂), 6,6 (d; 3-H, 5-H), 7,13 (d; 2-H, 6-H),
7,33-7,42 (m; 5H, fenilo), 7,92 ppm (d; -NH-).

2.2 Sal dehidroabietilaminica del ácido L- α -benciloxicarbonilamino- α -(4-aminofenil)-acético

20 g (66,8 mmoles) de ácido DL- α -benciloxicarbonilamino- α -(4-aminofenil)acético se suspenden en 300 cc de etanol y se mezcla con 21,1 g (66,2 mmoles) de dehidroabietilamina (al 90%), disuelto en 300 cc de etanol. Después de hervir durante 15 minutos se forma una solución clara que se deja enfriar lentamente a temperatura ambiente. El precipitado formado se separa por succión y se lava con etanol. (Filtrado para la formación de sal (+)- α -metilbencilaminica).

Rendimiento: 20 g

Después de recrystalizar tres veces en etanol se obtienen 7,5 g (38,5%).

$$[\alpha]_D^{20} = + 34,5^\circ \quad (c = 1, \text{CH}_3\text{OH})$$

$\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_4$ (585,8)

Calculado C 73,81 H 8,08 N 7,17

Hallado C 73,7 H 8,2 N 7,2

2.3 Sal (+)- α -metilbencilaminica del ácido D- α -benciloxicarbonilamino- α -(4-aminofenil)acético

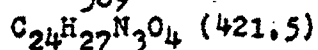
El filtrado etanol de la sal dehidroabietilaminica se concentra hasta secar, el residuo se recoge en agua (150 cc) y se mezcla con 50 cc de amoniac concentrado.

La suspensión lechosa se extrae dos veces con éter y la fase acuosa clara se concentra hasta sequedad y

se seca a 40°C. 10,5 g (33,2 mmoles) de la sal amónica en bruto del compuesto p-aminofenilglicina protegido por benciloxicarbonilo se disuelven en 50 cc de agua y 100 cc de etanol, se mezcla con 4,0 g (33,2 mmoles) de D-(+)- α -metil-bencilamina y se agita durante 15 minutos bajo calor hasta formar una solución clara. La solución se filtra, se concentra en vacío hasta sequedad y se seca durante 3 horas a 40°C. El residuo se recrystaliza 3 veces en isopropanol.

Rendimiento: 5,1 g (37%)

$$[\alpha]_D^{20} = -78,9^\circ (c = 1, \text{CH}_3\text{OH}).$$



Calculado C 68,2 H 6,4 N 9,8

Hallado C 69,39 H 6,45 N 9,97

2.4 Acido 7- β -D-(4-aminofenil)-glicinamido-3-cloro- Δ^3 -cefem-4-carboxílico

La sal de D-(+)- α -metilbencilaminica se suspende en agua, se ajusta con solución de NH_3 concentrada a un pH de 10,5, se extrae con éter y la fase acuosa se concentra hasta sequedad. El residuo del secado se calienta con ácido clorhídrico semiconcentrado durante 30 minutos bajo refrijo, la solución acuosa se extrae una vez con éter y se concentra hasta sequedad. Se obtiene el hidrocloreuro del ácido D- α -amino- α -(4-aminofenil)acético. Como descrito en el ejemplo 1.3 se prepara con ayuda de di-terc.-butildicarbonato la p-aminofenilglicina protegida por di-terc.-butiloxicarbonilo.

7,0 g (19,1 mmoles) de ácido D- α -terc.-butiloxicarbonil-amino- α -(4-terc.-butiloxicarbonilaminofenil)-acético se mezclan en 75 cc de THF con 2,67 cc (19,1 mmoles) de trietilamina y 3 gotas de N-metilmorfolina y a -30°C se agregan
5 1,84 cc (19,1 mmoles) de cloroformiato de etilo.

Después de agitar durante 60 minutos a -30° hasta -10°C se agrega una solución de sal trietilaminica previamente enfriada de 4,93 g (21 mmoles) de ácido 7-amino-3-cloro-3-cefem-4-carboxílico que se ha preparado por agi-
10 tación en 70 cc de THF y 15 cc de agua bajo adición de una solución al 10% de trietilamina en THF.

Se sigue agitando durante 2 horas sin enfriar y el valor pH se ajusta a 7,2. Se mezcla con éster acético/agua y se acidifica a 0°C a un pH de 2. La fase esteracética se separa, se lava, se seca, se concentra a 100 cc y se in-
15 troduce y agita en éter de petróleo. El producto precipitado (5,5 g) se separa por succión, se trata con 60 cc de ácido trifluoracético y 0,8 cc de anisol durante 15 minutos a 0°C hasta 10°C .

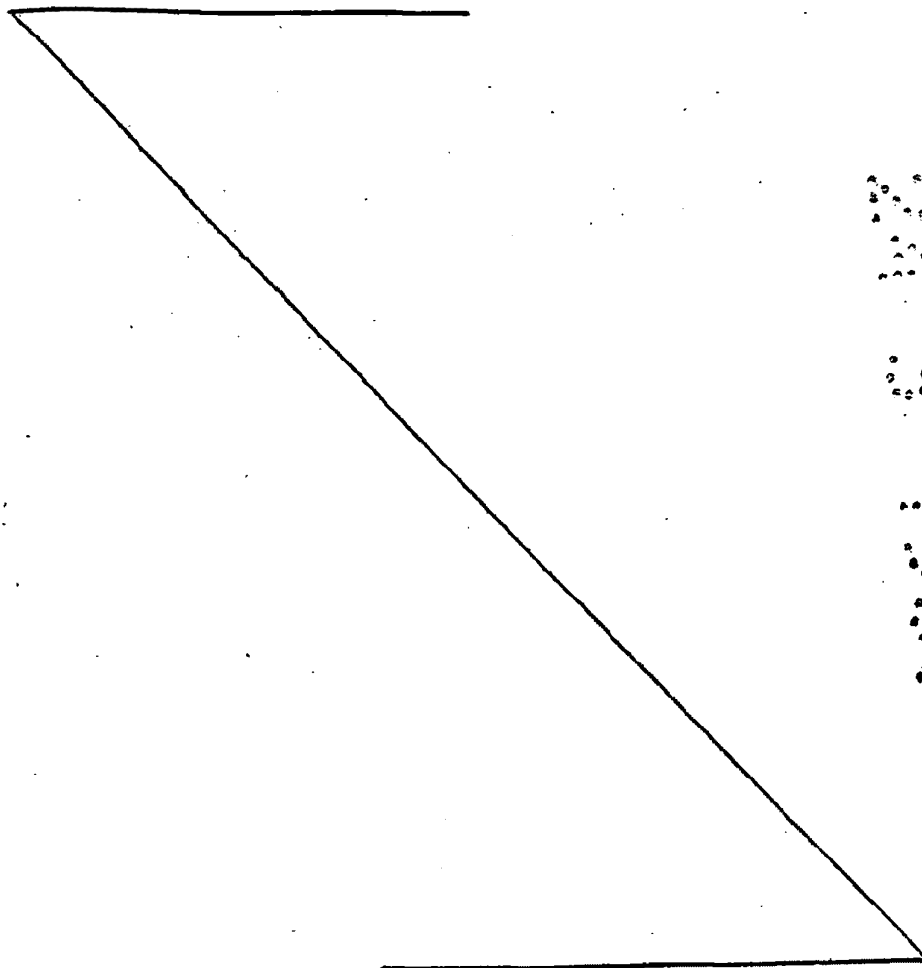
20 La sal trifluoracetato, obtenida por precipitación de éter, se agita en 300 cc de agua/300 de de éter con Amberlite LA-2 hasta un pH de 5,2. La solución acuosa se lava varias veces con éter y se seca por congelación. Rendimiento: 4,9 g (61%)

25 Espectro IR: 1780 (s), 1695 (m), 1620 (m), 1470 (s),
1385 (s), 1190 (w) Nujol.

^1H -RMN (DCOOD, 250 MHz): $\delta = 3,57 - 3,98$, (d d; 2H - 2-H),
5,33 (d; 6-H), 5,73 (s; α -CH), 5,96 (d; 7-H), 7,84-7,94
ppm (q; 4H, fenilo).

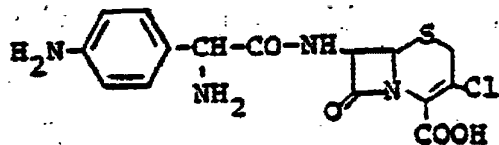
5

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.

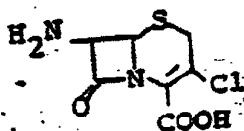


REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento para la obtención de 7- α -aminoacil-3-clorocefaloesporinas, de fórmula:



5 caracterizado porque ácido α -amino- α -(4-amino-fenil)-acético se hace reaccionar con



10

2.- Procedimiento para la obtención de 7- α -aminoacil-3-clorocefaloesporinas, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 18 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 24 MAR 1983
BAYER AKTIENGESELLSCHAFT.

J. M. GOMEZ AGUIRRE Y PONS
c. e. Firmados J. Suarez Diaz