

# SINTESIS DE CEFALOSPORINAS N-PIRROLILDERIVADAS

Por M. T. Díez  
M. T. Alemany  
M. J. Arín  
F. Salto

## INTRODUCCION

El descubrimiento de la penicilina como el primer antibiótico, abrió una nueva era en la medicina moderna. El descubrimiento y la introducción de otros antibióticos en la medicina clínica ha hecho que estas sustancias antibacterianas ocupen un importante lugar en el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias. Uno de los avances más importantes en este campo fue el descubrimiento de las cefalosporinas<sup>4</sup> y su uso en la medicina clínica.

Las cefalosporinas semisintéticas, son antibióticos  $\beta$ -lactámicos que se obtienen por acilación del grupo amino de los ácidos 7-aminocefalosporánico, (7-ACA) y del 7-aminodesacetoxicefalosporánico, (7-ADCA) con diferentes radicales acilo.

En nuestro Departamento se viene trabajando en la síntesis de penicilinas y cefalosporinas con cadenas laterales derivadas del ácido acético, uno de cuyos sustituyentes sea el grupo N-pirrol<sup>2, 6, 3</sup>.

En el presente trabajo se ha realizado la acilación de los ácidos 7-ACA y 7-ADCA con el ácido N-pirrolilfenilacético (I), obteniéndose la 5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-3 [(acetoxi) metil] -7-amino-8-oxo-N [2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil], (6R, trans), sal potásica (II) y 5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-7-amino-3-metil-8-oxo-N [2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil] (6R, trans), sal potásica (III).

En la Figura 1 se representa un esquema general de la síntesis de los dos antibióticos estudiados.

## MATERIAL Y METODOS

*Reactivos.*- 7-ACA y 7-ADCA han sido cedidos por Antibióticos S.A. con una pureza controlada por el método hidroxámico del 92% y del 98% respectivamente.

Cátedra de Química  
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

An. Fac. Vet. León. 1986, 32, 375-380

Clorhidrato del cloruro de la fenilglicina, 2,5-dimetoxitetrahydrofurano, cloroformiato de etilo, N-metilmorfolina y trietilamina, (TEA) han sido suministrados por la casa Merck en calidad de «reactivos para síntesis».

2-etilhexanoato potásico. Se obtiene por neutralización del ácido 2-etilhexanoico con hidróxido potásico en medio hidroalcohólico. La disolución de la sal obtenida se lleva a sequedad en el rotavapor y el residuo se disuelve en el disolvente orgánico deseado. La riqueza del 2-etilhexanoato potásico de la disolución finalmente obtenida, se determina mediante valoración con HCl, 1N en medio éter-agua, empleándose azul de bromofenol como indicador.

*Aparatos.*— Los puntos de fusión se han determinado en un Buchi-Tottoli y no están corregidos. Los espectros IR se registraron en un Beckman Aculab, usando pastillas de KBr. Los espectros  $^1\text{H-RMN}$  se han realizado en un Varian EM-390 utilizando  $\text{Me}_4\text{Si}$  como estándar interno y  $\text{DMSO-d}_6$  como disolvente. Las notaciones usadas son: s(singulete), d(doblete), t(triplete) y m(multiplete). Los microanálisis se han realizado en el Servicio de Instrumentación Científica de la Facultad de Química, Universidad de Murcia. La cromatografía en capa fina se ha realizado en placas de silicagel 60-F, 254 con  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ , 14N (6:4:0.1) como eluyente. El revelado se ha llevado a cabo utilizando vapor de yodo.

*Clorhidrato del fenilglicinato de metilo.*— 12.5 g. de clorhidrato del cloruro de la fenilglicina se disuelven en 50 ml. de metanol anhidro en baño de agua-hielo hasta su disolución. Se deja en nevera tres horas. Se adiciona lentamente y con agitación éter etílico y se deja cristalizar. Se continúa la adición de éter hasta completar 250 ml. Se deja en nevera 24 horas, se filtra y se lava con éter etílico secándolo a vacío a 40° C. Se obtienen 10.0 g., 82% p. f. 230° C. IR(KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2.930, 1.730, 1.190, 1.140, 1.080, 1.030, 730, 700.

*N-pirrolilfenilacetato de metilo.*— Se disuelven 10.0 g. de acetato sódico en 50 ml. de ácido acético glacial y se calienta a ebullición. Se añaden 20 mmol. de clorhidrato de fenilglicinato de metilo y 20 mmol. de 2,5-dimetoxitetrahydrofurano. La mezcla se deja hervir solamente un minuto y se añade a 200 g. de una mezcla de agua-hielo, dejándola cinco minutos en agitación. Se extrae con acetato de etilo y la fase orgánica se lava con carbonato sódico al 5% (100 ml.) y con disolución saturada de cloruro sódico. Se decanta, seca, filtra y concentra a vacío obteniéndose un aceite que se destila a vacío (141° C., 0.2 mm. de Hg). Rendimiento 48%.

*Acido N-pirrolilfenilacético.* Se disuelven 5 g. de N-pirrolilfenilacetato de metilo en 100 ml. de una mezcla etanol-agua (50:50 v/v), se añade un exceso de KOH y se agita durante dos horas a pH=12. Se neutraliza con HCl y se concentra a rotavapor. Se añade agua y se acidifica hasta un pH=1.5 extrayéndose con cloroformo. Se concentra y se cristaliza con ciclohexano o éter de petróleo. Se filtra y se seca a vacío a 30°C. Se obtuvieron 4.05 g. de ácido N-pirrolilfenilacético (87%) p.f.=124°C. Equivalente de neutralización = 210 (96% de pureza)  $\text{pK}_a = 3.20 \pm 0.04$ , determinado por el método potenciométrico  $^1$ .

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2.900, 1.710, 1.430, 1.280, 1.230, 1.170, 1.090, 1.070, 1.030, 750, 730, 690.

$^1\text{H-RMN}(\text{DMSO-d}_6, \text{ ppm})$ : 6.0(2H, m); 6.1(1H, s); 6.8(2H, m); 7.3(5H, s); 10.5(1H, s).

*5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-3 [(acetoxi) metil]-7-amino-8-oxo-N [2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil] (6R, trans), sal potásica.*— Se resuspenden 0.02 moles de 7-ACA en una mezcla de agua-acetona (50:50 v/v). Se enfría en baño de agua-hielo (0-5°C.) y se añade TEA, manteniendo el pH=8 hasta total disolución.

Sobre 52 ml. de acetona a -55°C. se añaden 0.02 moles de ácido N-

pirrolilfenilacético, 2 ml. de cloroformiato de etilo, 2.6 ml. de TEA y 0.05 ml. de N-metilmorfolina. Se eleva la temperatura a -30° C. y se deja 70 minutos en estas condiciones. Se enfría a -60° C. y se le añade la disolución de 7-ACA, manteniéndose la mezcla a -25° C. durante una hora. Se elimina la acetona en rotavapor y se extrae con acetato de etilo (100 ml.) a pH=1.5. Se separan las fases, y la fase orgánica se seca con sulfato sódico anhidro.

La cristalización se realiza por adición de 12 ml. de 2-etilhexanoato potásico, 1.85N en isobutanol a una temperatura entre 5 y 10° C. Se filtra, se lava con acetato de etilo y se seca a vacío a 40° C., obteniéndose 6.5 g. de cefalosporina (70%).

Las características del producto obtenido se recogen en la Tabla I.

*5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-7-amino-3-metil-8-oxo-N 2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil (6R, trans), sal potásica.* La síntesis se realiza siguiendo la misma técnica descrita para la cefalosporina utilizando 0.02 moles de 7-ADCA en lugar del 7-ACA. Se obtienen 6.6 g. de desacetoxicefalosporina (76%).

Las características del producto se describen en la Tabla I.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La obtención de cefalosporinas y desacetoxicefalosporinas semisintéticas se lleva a cabo por acilación de los ácidos 7-ACA y 7-ADCA con un ácido o derivado de ácido. En nuestro caso el ácido utilizado es el N-pirrolilfenilacético.

Un método sencillo para la obtención de derivados N-pirrolil sustituidos es el basado en la síntesis de Clauson-Kaas<sup>5</sup> que consiste en la reacción de aminas primarias con 2,5-dialcoxitetrahydrofurano en medio ácido acético.

Se ha sintetizado el clorhidrato del fenilglicinato de metilo<sup>2</sup> al que se hace reaccionar con 2,5-dimetoxitetrahydrofurano en medio acético glacial/acetato sódico, obteniendo el N-pirrolilfenilacetato de metilo que fue purificado por destilación (0.2 mm. de Hg, 141° C.) con un rendimiento del 48%.

Por hidrólisis del éster en medio hidroalcohólico, utilizando un exceso de KOH, se obtiene el ácido N-pirrolilfenilacético con un rendimiento del 87%.

La reacción de acilación del grupo amino del 7-ACA o del 7-ADCA con ácidos N-pirrolilderivados debe de realizarse con un minucioso control de la temperatura y de los disolventes empleados, debido a la facilidad de producir reacciones secundarias de los compuestos N-pirrolilsustituidos, así como a la labilidad del anillo  $\beta$ -lactámico.

El método elegido para la reacción de acilación ha sido la formación de anhídridos mixtos con el cloroformiato de etilo. Su utilización presenta la ventaja de que su acilación con el 7-ACA o 7-ADCA da lugar a productos inestables y fáciles de eliminar, favoreciéndose así la unión de los núcleos con la parte del anhídrido mixto correspondiente al ácido N-pirrolilfenilacético.

La insolubilidad del 7-ACA y del 7-ADCA en disolventes orgánicos es otro de los problemas que presenta la reacción de acilación. Para disolverlos se emplean mezclas de agua-acetona y las correspondientes sales de TEA de dichos núcleos a una temperatura entre 0 y 5°C. y a un pH no superior a 8.

De esta forma se han sintetizado los compuestos (II) y (III), cuyas características se recogen en la Tabla I.

La actividad microbiológica ha dado como resultado que los antibióticos (II) y (III) son sensibles frente a gérmenes Gram +, siendo las CMI de 0.06 g/ml. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC.6.538; 0.12 g/ml. frente a *Staphylococcus aureus*

TABLE I  
Datos analíticos y espectroscópicos de los antibióticos sintetizados

Compuesto N <sup>o</sup>	pK <sub>a</sub>	Rend. (%)	P. f. (°C, dec)	<sup>1</sup> H-RMN, δ, (J=Hz) (DMSO-d <sub>6</sub> )	IR(KBr, cm <sup>-1</sup> ) ν(C=O, ν CONH)	Rf	Anal <sup>a</sup>
(II)	2.96 ± 0.01	70	190-191	7.4(5H, s); 6.8(2H, m); 6.2(1H, s) 6.1(2H, m); 5.5(1H, m); 5.0(1H, d, 6) 4.9(2H, s); 3.4(2H, d, 9); 2.0(3H, s)	1760 1660	0.46	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> KN <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S
(III)	3.06 ± 0.03	76	200-201	7.4(5H, s); 6.8(2H, m); 6.2(1H, s) 6.1(2H, m); 5.4(1H, m); 5.0(1H, d, 6) 3.4(2H, d, 12); 1.9(3H, s)	1760 1660	0.38	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> KN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S

<sup>a</sup> El análisis de C, H y N presenta desviaciones de ± 0.4% con respecto a los valores calculados.

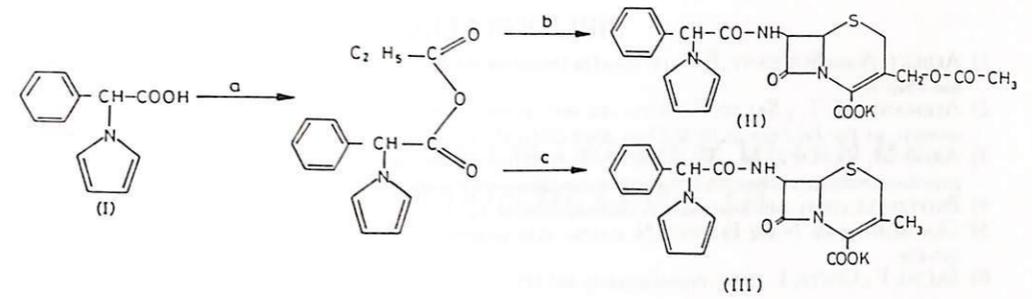


Figura 1. Esquema general de la síntesis. Reactivos: (a) Trietilamina, cloroformiato de etilo. (b) 7-ACA, trietilamina. (c) 7-ADCA, trietilamina.

ATCC.9144 y 0.06 g/ml. frente a *Micrococcus flavus* ATCC 10.240 para (II) y de 1.90 g/ml. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC.6.538; 15.6 g/ml. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC.10.240; 1.90 g/ml. frente a *Micrococo* y 15.6 g/ml. frente a *Staphylococcus epidermidis*. 1.228 para (III).

## RESUMEN

Se describe la síntesis de 5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-3- [(acetoxi) metil] -7-amino-8-oxo-N [2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil], (6R, trans) sal potásica y de la 5-tia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-7-amino-8-oxo-N [2-fenil-2(1H-pirrolil) acetil], (6R, trans), sal potásica, obtenidas por acilación de los ácidos 7-aminocefalosporánico, (7-ACA) y 7-aminodesacetoxicefalosporánico, (7-ADCA) con el ácido N-pirrolilfenilacético, vía anhídrido mixto.

Los dos antibióticos se han obtenido en forma de sales potásicas con rendimientos del 70% y del 76% respectivamente. Se han caracterizado por UV, IR, <sup>1</sup>H-RMN y análisis elemental. Asimismo se ha estudiado su actividad microbiológica resultando ser especialmente sensible frente a gérmenes Gram +.

## SYNTHESIS OF N-PYRROLYL-DERIVATIVES CEPHALOSPORINS

### SUMMARY

The synthesis of 5-thia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-3[(acetyloxy) methyl] -7-amino-8-oxo-N [2-phenyl-2(1H-pyrrolyl) acetyl] potassium salt, (6R, trans) and 5-thia-1-azabicyclo (4, 2, 0) oct-2-en-7-amino-8-oxo-N [2-phenyl-2(1H-pyrrolyl) acetyl], potassium salt, (6R, trans) by acylation of 7-aminocephalosporanic, (7-ACA) or the 7-aminodeacetoxycephalosporanic, (7-ADCA) acids with the N-pyrrolylphenylacetic acid using the general mixed anhydride method, has been described.

Both antibiotics have been obtained in the potassium salt form, yields 70% and 76% respectively, and characterized by UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR and elemental composition. The microbiological activity of the two synthesised antibiotics has also been studied resulting in a special sensibility against gram positive organisms.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ALBERT, A. and SERJEANT, F.F. (1971).- «The Determination of Ionization Constants». *Chapman and Hall Ltd.* London. Chap. 2.
- 2) ALEMANY, M. T. y SALTO, F. (1979).- «DL- $\alpha$ (N-pirrol) fenilacetamidopenicilina. I.- Síntesis y propiedades cinéticas químicas. *An. Fac. Vet. León*, 25, 19-30. Chem. Abstr. (1981) 95, 42.977r.
- 3) ARIN, M. J.; DIEZ, M. T. y SALTO, F. (1983).- «Síntesis de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina». *An. Fac. Vet. León*, 29, 113-125.
- 4) BROTZU, G. (1948).- «Ricerca su di un nuovo antibiotico». *Lav. Ist. Igiene*. Cagliari.
- 5) CLAUSON-KAAS, N. and ELMING, N. (1952).- «The preparation of Pyrroles from Furans». *Acta Chem Scand* 6, 867-874.
- 6) SALTO, F. y COSTA, L. (1980). Patente española, 492.587.

## PERSONAJES DE LA ESCUELA/FACULTAD DE VETERINARIA DE LEÓN. VII

Por Miguel Cordero del Campillo

### DEOGRACIAS VICENTE MANGAS (1903-1983)

Tiene León fama de frío, particularmente a partir de otoño. Pero no son pocos los días serenos, delicadamente frescos y soleados, en el que nuestros paisanos llaman *el veranillo de San Martín*. Al amor de la abrigada, todavía cabe la charla reposada, aunque una sutil brisa nor-teña arranque las últimas hojas multicolores de chope-ras, robledales y hayedos, en valles, solanas y avesedos, respectivamente, para formar el sonoro tapiz que ha de esperar sobre el suelo la caída de las primeras nieves. A veces alternan los días se-renos con los de lluvia, o quizá el anticiclón deposite sobre los valles la pesada y fría niebla, que acentúa el carácter melancólico, cuando no triste, de esta estación. Con todo, me parece el otoño una buena estación para decir adiós.



Deogracias Vicente Mangas

*An. Fac. Vet. León*, 1986, 32, 381-387