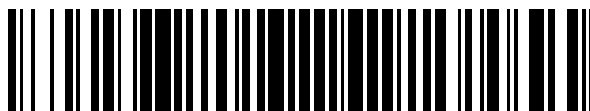


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 590 488**

51 Int. Cl.:

C07D 501/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.03.2012 PCT/EP2012/053483**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2012 WO12117038**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.03.2012 E 12706836 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.06.2016 EP 2681224**

54 Título: **Degradación de compuestos de penicilina**

30 Prioridad:

03.03.2011 EP 11156792

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.11.2016

73 Titular/es:

**DSM SINOCHEM PHARMACEUTICALS
NETHERLANDS B.V. (100.0%)
Alexander Fleminglaan 1
2613 AX Delft, NL**

72 Inventor/es:

DEKKERS, ROCUS, MARINUS

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 590 488 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Degradación de compuestos de penicilina

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a la degradación de compuestos de β -lactama tales como penicilinas en presencia de otros compuestos de β -lactama tales como cefalosporinas. Además, la presente invención se refiere al uso de sulfito en la degradación de penicilinas, por ejemplo, en corrientes residuales industriales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

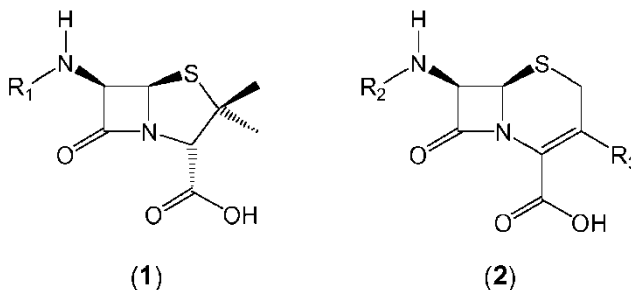
10 Los antibióticos de β -lactama ya se usan ventajosamente desde hace varias décadas para curar al ser humano de todo tipo de enfermedades infecciosas. Sin embargo, en ciertas circunstancias, las β -lactamas pueden ser perjudiciales y hay requisitos estrictos sobre la ausencia de β -lactamas en ciertos productos, tales como productos alimentarios, residuos, pero también en ciertos fármacos e incluso en los propios productos antibióticos. Por ejemplo, los antibióticos de β -lactama del tipo cefalosporina preferentemente no contienen antibióticos de β -lactama del tipo penicilina y viceversa. La Farmacopea contiene requisitos de la pureza de las cefalosporinas con respecto a las penicilinas.

15 El ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico (7-ADCA) es el material de partida para los antibióticos de β -lactama de tipo cefalosporina tales como cefalexina, cefadroxil y cefradina. La vía tradicional para 7-ADCA comienza con la penicilina G y, por lo tanto, tiene un riesgo inherente de que en el 7-ADCA estén presentes compuestos de penicilina residuales tales como penicilina G y ácido 6-aminopenicilánico (6-APA). La novedosa producción de 7-ADCA mediante técnicas de fermentación usando una cepa de *Penicillium* transformada con un gen de expandasa como se desvela en los documentos WO 93/05158, WO 95/04148, WO 95/04149, WO 98/48036, WO 98/48034 y/o WO 20 98/48035 tiene inherentemente, en varias etapas en el proceso, niveles contaminantes de compuestos de penicilina tales como 6-APA. Por lo, tanto, existe la necesidad de métodos para degradar selectivamente compuestos de β -lactama, por ejemplo, para degradar selectivamente 6-APA.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

25 En general, las β -lactamas son compuestos inestables y existen varios métodos para degradar las β -lactamas. Sin embargo, los métodos existentes usan condiciones de reacción rigurosas y/o ausencia de selectividad y/o son caros y/o laboriosos. Por ejemplo, el 6-APA puede degradarse selectivamente por incubación a intervalos seleccionados de temperatura y pH o en presencia de CO_2 y otras fuentes de CO_2 o por la reacción no catalítica con una mercaptoamina como se describe en el documento GB 1259204. Por lo tanto, pueden usarse β -lactamasas para la 30 degradación selectiva. Florey et al. ("Antibiotics", Volumen II (1949) Oxford University Press, London, 802) y Clarke et al. ("The Chemistry of Penicillin" (1949) Princeton University Press, Princeton, 207-242) han informado sobre la inactivación de la Δ^2 -pentenilpenicilina y penicilina G usando bisulfito sódico, aunque estos estudios no sugieren ninguna selectividad relacionada con el bisulfito sódico. Finalmente, se conocen varios métodos de purificación que separan el 6-APA u otras penicilinas de productos de cefalosporina.

35 En un primer aspecto, se ha descubierto sorprendentemente que puede obtenerse una degradación selectiva de compuestos de penicilina llevando a cabo la degradación en presencia de sulfito. Así, la invención proporciona un proceso para la degradación de un compuesto de penicilina de fórmula general (1) en una mezcla que comprende dicho compuesto de fórmula general (1) y un compuesto de cefalosporina de fórmula general (2).



40 En los compuestos de fórmula general (1) y (2), R_1 y R_2 son hidrógeno o grupos acilo tales como, por ejemplo, adipilo, 2-aminoadipilo, 2-amino-4-tiazolilacetilo, 2-amino-4-tiazolil(metoxiimino)acetilo, 2,5-dihidrofencilglicilo, 2-furanil(metoxiimino)acetilo, glutarilo, hidroxifenilacetilo, 4-hidroxifenilglicilo, fenoxiacetilo, fenilacetilo, fenilglicilo, 4-piridinilacetilo, 1H-tetrazol-1-ilacetilo o 2-tienilacetilo. Los grupos mencionados anteriormente están presentes 45 ampliamente en la mayoría de las β -lactamas con uso terapéutico. Para fines similares, el grupo R_3 en el compuesto de fórmula general (2) puede ser hidrógeno o un resto tal como acetamidometilo, acetoximetilo, cloro, etenilo, hidrógeno, hidroximetilo, metoxi, metoximetilo, metilo, metilpiridinio, (1-metil-1H-tetrazol-5-iltio)metilo, propenilo, 1,2,5,6-tetrahidro-2-metil-5,6-dioxo-1,2,4-triazin-3-iltio)metilo o (1,3,4-tiadiazol-2-iltio)metilo. Son ejemplos de

compuestos de fórmula general (2) de los que pueden eliminarse compuestos de penicilina según la presente invención ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA), 7-ADCA, adipil-7-ADCA, cefaclor, cefadroxil, cefamandol, cefaticrina, cefacedona, cefazolina, cefdinir, cefixima, cefmenoxima, cefodocima, cefonicida, cefoperazona, ceforanida, cefotaxima, cefotiam, cefpimizol, cefpiramida, cefprozil, cefpodoxima, cefroxadina, cefsulodina, ceftazidima, cefteram, ceftazol, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefuroxima, cefuzonam, cefalexina, cefaloglicina, cefaloridina, cefalosporina C, cefalotina, cefapirina y cefradina.

El compuesto de penicilina de fórmula general (1) está seleccionado preferentemente del grupo que consiste en 6-APA y cualquier derivado de 6-N-acilo tal como adipil-6-APA, penicilina G, penicilina V, amoxicilina, ampicilina o los desvelados en el estado de la técnica citados anteriormente.

En una realización preferida, el compuesto de penicilina de fórmula general (1) es 6-APA o adipil-6-APA. En otra realización preferida, el compuesto de cefalosporina de fórmula general (2) es 7-ADCA o cualquier derivado de 7-N-acilo de 7-ADCA tal como adipil-7-ADCA. Lo más preferido es la degradación de 6-APA y/o adipil-6-APA en una mezcla que comprende 7-ADCA y/o adipil-7-ADCA.

El proceso puede llevarse a cabo a cualquier temperatura adecuada, tal como una temperatura entre 0 y 60 °C, preferentemente entre 10 y 40 °C. El experto en la materia será capaz de seleccionar la temperatura apropiada para la degradación del compuesto de penicilina en el proceso de la invención.

En el contexto de la presente invención, el término "sulfito" se refiere a cualquier compuesto que comprende azufre en estado de oxidación (también denominado número de oxidación o valencia) 4⁺. Son ejemplos preferidos SO₂, (HSO₃)⁻ y (SO₃)²⁻ que existen próximos entre sí en disoluciones acuosas en relaciones que dependen del pH. Por ejemplo, a pH 1, una disolución acuosa contiene aproximadamente 90 % de SO₂ y aproximadamente 10 % de (HSO₃)⁻, a pH 7 una disolución acuosa contiene aproximadamente 50 % de (HSO₃)⁻ y aproximadamente 50 % de (SO₃)²⁻, y a pH 8 una disolución acuosa contiene aproximadamente 10 % de (HSO₃)⁻ y aproximadamente 90 % de (SO₃)²⁻. El sulfito puede añadirse en cualquier forma. Una fuente adecuada es NaHSO₃, pero también pueden usarse otras fuentes tales como sales metálicas de (HSO₃)⁻ o (SO₃)²⁻ o (S₂O₃)²⁻ (metabisulfito). Por tanto, en la mezcla de reacción puede añadirse SO₂ gaseoso. El experto en la materia será capaz de seleccionar la fuente apropiada de sulfito que puede usarse en el proceso de la invención.

Preferentemente, el proceso se lleva a cabo a un valor de pH entre 3 y 9, más preferentemente entre 4 y 8, más preferentemente entre 5 y 7, lo más preferentemente entre 5,5 y 6,5. Preferentemente, el pH es tal que al menos el 10 % del sulfito está presente como (HSO₃)⁻, que normalmente es entre pH 1 y 8; más preferentemente, el pH es tal que al menos el 40 % del sulfito está presente en forma de (HSO₃)⁻, que normalmente es entre pH 1,6 y 7,2, más preferentemente el pH es tal que al menos el 80 % del sulfito está presente en forma de (HSO₃)⁻, que normalmente es entre pH 2,5 y 6,3.

En el contexto de la presente invención, "degradación de un compuesto de penicilina" se define de tal forma que en el compuesto de penicilina preferentemente se escinde el anillo de β-lactama de 4 miembros, produciendo un producto de degradación del compuesto de penicilina. Preferentemente, la constante de velocidad k₍₁₎ (en h⁻¹·(g/l)⁻¹) que representa la degradación del compuesto de fórmula general (1) es 10 veces la constante de velocidad k₍₂₎ (en h⁻¹·(g/l)⁻¹) que representa la degradación del compuesto de fórmula general (2). Más preferentemente, k₍₁₎ es de 10 a 100 veces la constante de velocidad k₍₂₎ y lo más preferentemente k₍₁₎ es de 50 a 1000 veces la constante de velocidad k₍₂₎.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de sulfito para la degradación de un compuesto de penicilina, más preferentemente un compuesto de penicilina seleccionado del grupo que consiste en 6-APA y cualquier derivado de 6-N-acilo tal como adipil-6-APA, penicilina G, penicilina V, amoxicilina, ampicilina o los desvelados en la técnica anterior citada anteriormente. En una realización, la invención proporciona el uso de sulfito para la degradación de un compuesto de penicilina, en el que el compuesto de penicilina se degrada selectivamente en presencia de un compuesto de cefalosporina. Una realización preferida es el uso de sulfito para la degradación de un compuesto de penicilina contaminante en un proceso para la producción de un compuesto de cefalosporina. En otra realización, la invención proporciona el uso de sulfito para la degradación de penicilina en una corriente residual, tal como un micelio de un organismo de producción usado para la producción de compuestos antibióticos de β-lactama, tal como microorganismos productores de penicilina del género *Penicillium*. Dicho uso tiene una importancia práctica significativa ya que pequeñas cantidades de penicilinas en corrientes residuales son perjudiciales para la salud pública en vista del desarrollo no deseado y/o incontrolado de resistencia bacteriana contra las penicilinas.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

La concentración de 6-APA se determinó por HPLC usando un Dionex Ultimate 3000 RS equipado con una columna Lichrospher RP-18 (5 μm, 250*4,6 mm (Merck)) que funcionaba a un flujo de 1,3 ml/min. Otras condiciones:

ES 2 590 488 T3

- Eluyente (isocrático): se disuelven 6,62 g de K_2HPO_4 + 17,76 g de KH_2PO_4 en agua purificada. Se añaden 100 ml de acetonitrilo (calidad de HPLC). El volumen se ajusta a un total de 2 litros por la adición de agua purificada.
 - Tiempo del proceso 12 min
- 5
- Volumen de inyección 10 μ l
 - Longitud de onda para la detección: 214 nm
 - Temperatura: 20-25 $^{\circ}$ C

Bajo esta condiciones, el 6-APA eluyó a 2,9 minutos y pHPG a 1,5 min.

10 El sulfito se determinó usando la prueba de sulfito Reflectoquant (Merck, N.º de producto 1.16987.0001) medido en un RQflex 2 (Merck, N.º de producto 1.16970.0001).

Ejemplo 1

Degradación de 6-APA por $NaHSO_3$

15 La degradación de 6-APA ((1), $R_1 = H$) se midió en función del tiempo, la concentración de bisulfito (0-8 g/l) y a varios valores de pH (4, 6 y 9). Se llevaron al pH deseado disoluciones que contenían 1 g/l de 6-APA en agua usando $NaOH$ 1 N y/o H_2SO_4 1 N. Después se añadieron las cantidades indicadas de $NaHSO_3$. Las diversas mezclas se incubaron a 20 $^{\circ}$ C y se tomaron muestras con el tiempo para medir la concentración residual de 6-APA, así como la concentración de sulfito restante. El sulfito puede estar presente en la disolución como H_2SO_3 , HSO_3^- o SO_3^{2-} , dependiendo del pH. El H_2SO_3 tiene dos valores de pKa, uno a $\sim 1,8$ y un segundo a $\sim 7,0$. A valores de pH 4 y 6, prácticamente todo el sulfito está presente como HSO_3^- , mientras que a pH 9 prácticamente todo el sulfito está presente como SO_3^{2-} . Las Tablas 1a-1c muestran la degradación dependiente del tiempo de 6-APA por sulfito a pH 4, 6 y 9 respectivamente.

20

Tabla 1a: Degradación de 6-APA en función de la concentración de sulfito a pH=4

Tiempo (h)	Bisulfito de sodio (g/l)		
	0	2	8
	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]
0,00	0,98	0,98	0,93
1,00		0,89	0,57
1,75			0,48
2,00		0,83	
3,00		0,80	
4,00		0,74	
4,75			0,18
5,50		0,65	
22,00	0,81	0,18	0,00

k'	0,008	0,076	0,396	Promedio
k		0,034	0,049	0,041

ES 2 590 488 T3

Tabla 1b: Degradación de 6-APA en función de la concentración de sulfito a pH=6

Tiempo (h)	Bisulfito de sodio (g/l)		
	0	2	8
	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]
0	1,02	1,01	0,98
2		0,73	0,15
3,5		0,58	0,03
4,5		0,50	0,01
5,5		0,45	0,00
22	1,00	0,07	0,00
23		0,07	
26		0,05	
29		0,04	

k'	0,000	0,151	0,950	Promedio
k		0,076	0,119	0,097

Tabla 1c: Degradación de 6-APA en función de la concentración de sulfito a pH=9

Tiempo (h)	Bisulfito de sodio (g/l)		
	0	2	8
	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]	6-APA [g/l]
0	1,01	1,00	0,96
1		0,99	0,67
2		1,01	0,68
3		1,00	0,68
20	1,02	0,93	0,61

k'	0,000	0,003	0,034	Promedio
k		0,0017	0,0042	0,0029

- 5 Los resultados muestran que la velocidad de degradación depende tanto de la concentración de 6-APA [6-APA] como de la concentración de (bi)sulfito $[SO_3^{2-}]$ y, por lo tanto, es al menos de segundo orden. La reacción podría modelarse usando una ecuación de velocidad de segundo orden:

$$r = k [6-APA] [SO_3^{2-}]$$

en la que k es el coeficiente de velocidad o la constante de velocidad (en $h^{-1} \cdot (g/l)^{-1}$).

- 10 Las concentraciones de SO_3^{2-} medidas durante las reacciones muestran que la concentración sigue siendo bastante constante durante la degradación (no mostrado). El sulfito estaba presente en exceso. Por lo tanto, la ecuación de velocidad podría simplificarse a una ecuación de velocidad de pseudo-primer orden:

$$r = k' [6\text{-APA}]$$

en la que $k' = k [\text{SO}_3^{2-}]$ (en h^{-1}).

5 A pH 4, 6 y 9 para cada concentración de sulfito, se calcularon k' y posteriormente k (véanse las Tablas 1a-1c). La velocidad de degradación más rápida de 6-APA se encuentra a pH 6. A partir de los valores de k calculados puede deducirse que la degradación a pH 9 es aproximadamente 30 veces más lenta que a pH 6. A pH 4, la velocidad de degradación es 2,5 veces menor, sin embargo, aún es significativa.

Ejemplo 2

Degradación de adipil-7-ADCA por NaHSO_3 a pH 7

10 La degradación de adipil-7-ADCA ((2), $R_2 = \text{adipilo}$, $R_3 = \text{CH}_3$) se midió en función del tiempo, la concentración de bisulfito (0-12 g/l) y a pH=7. Para los detalles experimentales y el análisis véase el Ejemplo 1.

Tabla 2: Degradación de adipil-7-ADCA en función de la concentración de sulfito a pH=7

Tiempo (h)	Bisulfito de sodio (g/l)		
	0	6	12
	Adipil-7-ADCA [g/l]	Adipil-7-ADCA [g/l]	Adipil-7-ADCA [g/l]
0	27,05	26,52	25,88
15	27,08	26,36	25,49
48	26,72	24,97	23,17

k'		0,0013	0,0023	Promedio
k		0,00022	0,0001	0,00020

15 Los datos en la Tabla 2 muestran que el adipil-7-ADCA es mucho más resistente contra la degradación por el sulfito. Apenas tiene lugar degradación. Esto se ilustra comparando la constante de velocidad de segundo orden para 6-APA a pH=6 (0,097) con la constante de velocidad de segundo orden para adipil-7-ADCA a pH=7 (0,00020) que muestra que 6-APA se degrada 485 veces más rápido que adipil-7-ADCA.

Ejemplo 3

Degradación de 7-ADCA por diferentes concentraciones de NaHSO_3

20 La degradación de 7-ADCA ((2), $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{CH}_3$) se midió en función del tiempo a concentraciones de bisulfito de 0 g/l, 4 g/l, 13 g/l y 16 g/l. Se agitaron cuatro disoluciones de 7-ADCA (50 ml) a 20 °C durante 2 días. Las concentraciones de 7-ADCA se midieron por HPLC, con una exactitud de $\pm 2\%$. El pH se ajustó a 7,6 con NaOH 1 M o a pH 9,4 como se indica en la Tabla a continuación.

Tabla 3: Degradación de 7-ADCA en función de la concentración de sulfito

Tiempo (min)	Bisulfito de sodio (g/l)							
	0		13		16		4	
	pH 7,6		pH 7,6		pH 7,6		pH 9,4	
	7-ADCA		7-ADCA		7-ADCA		7-ADCA	
	mM	%	mM	%	mM	%	mM	%
0	102,06	100,0	96,62	100,0	113,40	100,0	126,17	100,0
30			92,33	95,6				
40					114,84	101,3		

Tiempo (min)	Bisulfito de sodio (g/l)							
	0		13		16		4	
	pH 7,6		pH 7,6		pH 7,6		pH 9,4	
	7-ADCA		7-ADCA		7-ADCA		7-ADCA	
mM	%	mM	%	mM	%	mM	%	
60	99,97	98,0					126,58	100,3
75			94,07	97,4				
90					113,65	100,2		
120							126,50	100,3
125			94,17	97,5				
130	100,55	98,5						
180			93,41	96,7	114,06	100,6		
200							123,11	97,6
225	99,61	97,6						
285					116,14	102,4		
300							124,97	99,1
310			93,43	96,7				
325	99,02	97,0						
1740	100,85	98,8	92,92	96,2	112,54	99,2	123,73	98,1
2880	100,26	98,2	91,25	94,4	110,75	97,7	122,64	97,2
2880 (dupl.)	101,85	99,8	92,14	95,4	114,02	100,5	125,11	99,2

Ejemplo 4

Degradación de 7-ADCA por NaHSO₃ a pH 10

- 5 La degradación de 7-ADCA ((2), R₂ = H, R₃ = CH₃) se midió en función del tiempo a una concentración de bisulfito de 3 g/l y a pH=10. Para los detalles experimentales y el análisis véase el Ejemplo 1.

Tabla 4: Degradación de 7-ADCA en función del tiempo a pH=10 y una concentración de bisulfito de 3 g/l.

Tiempo	7-ADCA
0	45,91
1	45,88
19	44,9

Ejemplo 5

Degradación de 6-APA por NaHSO₃ en presencia de 7-ADCA y adipil-7-ADCA

- 10 Se ajustaron los pH de mezclas (500 ml) que comprendían 6-APA ((1), R₁ = H), 7-ADCA ((2), R₂ = H, R₃ = CH₃) y adipil-7-ADCA ((2), R₂ = adipilo, R₃ = CH₃) usando NaOH 4 N y H₂SO₄ 6 N a 2,7 (Tabla 5a), 4,2 (Tabla 5b) y 6,0 (Tabla 5c). A t=0 se tomó una muestra de las disoluciones obtenidas (antes de añadir el bisulfito). A 19 ± 3 °C, a

cada disolución se le añadió una disolución de bisulfito sódico al 25 % con un flujo de 30 ml/h ($60 \text{ ml.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Se tomaron muestras (2 ml) a $t=5, 20, 40$ y 60 minutos. Las muestras para el análisis de 6-APA se diluyeron dos veces en tampón fosfato pH 7,5 y se analizaron por CL-EM. Las muestras para 7-ADCA y adipil-7-ADCA se diluyeron directamente 151x y se midieron por HPLC.

5

Tabla 5a: Degradación en función de tiempo a pH=2,7.

Tiempo (min)	6-APA		Adipil-7-ADCA		7-ADCA	
	mg	%	g	%	g	%
0	11,5	100	6,28	100	0,09	100
5	9,0	79	6,32	101	0,10	106
20	0,4	3	6,44	102	0,10	107
40	0,2	1	6,30	100	0,09	103
60	0,1	1	6,28	100	0,09	105

Tabla 5b: Degradación en función de tiempo a pH=4,2.

Tiempo (min)	6-APA		Adipil-7-ADCA		7-ADCA	
	mg	%	g	%	g	%
0	6,5	100	6,08	100	0,08	100
5	2,0	30	6,10	100	0,08	101
20	0,3	4	6,09	100	0,08	102
40	0,0	0	6,11	100	0,09	111

Tabla 5c: Degradación en función de tiempo a pH=6,0.

Tiempo (min)	6-APA		Adipil-7-ADCA		7-ADCA	
	mg	%	g	%	g	%
0	4,0	100	5,87	100	0,08	100
5	1,7	43	5,89	100	0,08	101
20	0,1	3	6,17	105	0,09	116
40	0,0	0	5,88	100	0,07	97
60	0,0	0	5,88	100	0,07	92

10

Ejemplo 6

Degradación de adipil-6-APA frente a adipil-7-ADCA por NaHSO_3 a $46 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$

Se disolvieron adipil-7-ADCA ((2), $R_2 = \text{adipilo}$, $R_3 = \text{CH}_3$; pureza del 95 %, 7,06 mg, ~1 equiv.) y adipil-6-APA ((1), $R_1 = \text{adipilo}$; pureza del 44 %, 14,65 mg, ~1 equiv.) en 4 ml de tampón fosfato, pH 6-7. Con el fin de obtener una disolución transparente, la muestra se puso durante 2-3 minutos en un baño ultrasónico. Se transfirieron 550 μl a un tubo de RMN y se pusieron en un espectrómetro (700 MHz, precalentado a $46 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). La muestra se mantuvo en el espectrómetro y se registró un espectro a los tiempos indicados en la Tabla 6.

15

En un experimento posterior, se disolvieron adipil-7-ADCA ((2), $R_2 = \text{adipilo}$, $R_3 = \text{CH}_3$; pureza del 95 %, 6,66 mg, ~1 equiv.), adipil-6-APA ((1), $R_1 = \text{adipilo}$; pureza del 44 %, 14,57 mg, ~1 equiv.) y NaHSO_3 (9,43 mg, 4,7 equiv.) en 4 ml de tampón fosfato, pH=6-7. Con el fin de obtener una disolución transparente, la muestra se puso durante 2-3

20

minutos en un baño ultrasónico. Se transfirieron 550 μ l a un tubo de RMN y se pusieron en un espectrómetro (700 MHz, precalentado a 46 ± 2 °C). La muestra se mantuvo en el espectrómetro y se registró un espectro a los tiempos indicados en la Tabla 6.

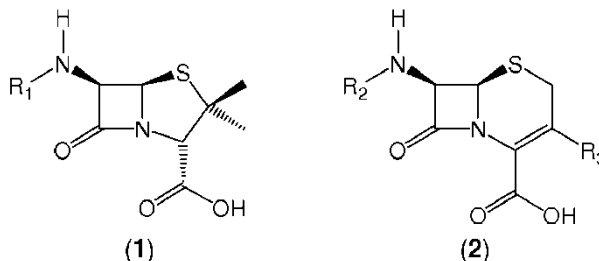
5 La descomposición de los compuestos del título se determinó midiendo la integral del doblete a 5,4 ppm (anillo de β -lactama de adipil-6-APA) y el doblete a 5,05 ppm (anillo de β -lactama de adipil-7-ADCA). El aumento inicial de las señales, tanto de adipil-6-APA como de adipil-7-ADCA, es probablemente una consecuencia de la medición que se tomó antes de que la muestra hubiera alcanzado la temperatura deseada de 46 ± 2 °C. Los resultados se representan en la Tabla 6 que indica que, en presencia de sulfito, el adipil-6-APA se degrada preferentemente con respecto al adipil-7-ADCA.

10 Tabla 6: Degradación de adipil-6-APA frente a adipil-7-ADCA por NaHSO₃ a 46 ± 2 °C y pH=6.

Tiempo (min)	Adipil-6-APA (integral de doblete a 5,4 ppm)		Adipil-7-ADCA (integral de doblete a 5,05 ppm)	
	Sin NaHSO ₃	NaHSO ₃	Sin NaHSO ₃	NaHSO ₃
2	5,89	5,40	5,27	4,64
30	6,22	5,80	5,65	5,24
45	6,23	5,78	5,67	5,26
60	6,19	5,87	5,67	5,35
75	6,13	5,70	5,61	5,33
150	5,98	5,34	5,55	5,20
265	5,70	5,03	5,46	5,25
390	5,68	4,51	5,64	5,12
540	5,49	4,09	5,63	5,08
790	5,44	3,38	5,79	5,14

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la degradación de un compuesto de fórmula general (1) en una mezcla que comprende dicho compuesto de fórmula general (1) y un compuesto de fórmula general (2)



5 en la que R_1 y R_2 se eligen independientemente de la lista que consiste en adipilo e hidrógeno y en la que R_3 es metilo, caracterizado porque dicha degradación se lleva a cabo en presencia de sulfito.

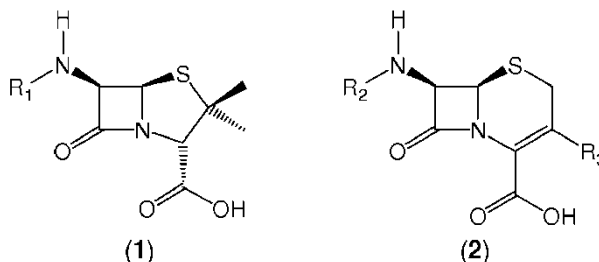
2. Proceso según la reivindicación 1, en el que R_1 es el mismo que R_2 .

3. Proceso según la reivindicación 1, en el que R_1 es hidrógeno y R_2 es adipilo.

4. Proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho sulfito es un bisulfito.

10 5. Proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha degradación se lleva a cabo a un pH entre 3 y 9.

6. Uso de sulfito para la degradación de un compuesto de fórmula (1) en una mezcla acuosa que comprende dicho compuesto de fórmula general (1) y un compuesto de fórmula general (2)



15 en la que R_1 y R_2 se eligen independientemente de la lista que consiste en adipilo e hidrógeno y en la que R_3 es metilo.

7. Uso según la reivindicación 6, en el que dicha mezcla acuosa es una corriente residual.