

la N-pirrolilacetamidocefalosporina 6,3 y para la N-pirrolilacetamidodesacetoxicesalosporina 6,2.

Se comparan los resultados obtenidos y se discuten los mecanismos de la cinética de degradación en cada caso.

SUMMARY

We have studied the degradation kinetics of N-pirrolilacetamidopenicillin, N-pirrolilacetamidocephalosporin and N-pirrolilacetamidodesacetoxicesalosporin, respectively in a 37°C aqueous solution at ionic strength 0.5, at pH of 2.3/11.5, and we have noticed that they correspond to a pseudofirst order kinetics with respect to the concentration of the antibiotic.

The hydrolytic reactions of each antibiotic obtained are subjected to a general acid-base catalysis having detected a slight catalytic effect of chemical species present in the phosphate buffer solutions.

The pH's of maximum stability for each of the antibiotics studied have been as follows: for N-pirrolilacetamidopenicillin 6,3 for N-pirrolilacetamidocephalosporin 6,3 and for N-pirrolilacetamidodesacetoxicesalosporin 6,2.

We have compared the results obtained and have discussed the mechanisms of the degradation kinetics in each case.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ALBERT, A., y SERJEANT, F. F. (1971). «The determination of Ionization Constants». Chapman and Hall, Ltd. London. Chap. 2.
- 2) ALEMANY, M. T. (1973). Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.
- 3) ARIN, M. J. (1984). Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona.
- 4) GARCÍA DE LA PEÑA, J. M. (1969). Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.
- 5) JOHNSON, J. R.; WOODWARD, R. B., y ROBINSON, R. (1949). «The Chemistry of Penicillin». Princeton University. Press Princeton: 440.
- 6) SALTO, F. (1969). Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.
- 7) SCHWARTZ, M. A. (1969). Chemical Aspects of Penicillin Allergy. *J. Pharm. Sci.* **58** (6). 643-661.
- 8) YAMANA, T., y TSUJI, A. (1976). Comparative Stability of Cephalosporins in Aqueous Solution: Kinetics and Mechanisms of Degradation. *J. Pharm. Sci.* **65** (11). 1563-1574.

CATEDRA DE QUIMICA

(Prof. Dr. F. SALTO)

SINTESIS DE LA N-PIRROLILACETAMIDOPENICILINA, DE LA N-PIRROLILACETAMIDOCEFALOSPORINA Y DE LA N-PIRROLILACETAMIDODESACETOXICEFALOSPORINA

Por M. J. Arín,
M. T. Díez y
F. Salto

INTRODUCCION

Los antibióticos β -lactámicos son un importante grupo de fármacos de gran valor utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Dentro de ellos están incluidas las penicilinas, cefalosporinas y desacetoxicesalosporinas naturales y sintéticas.

Los antibióticos β -lactámicos semisintéticos resultan de la acilación del grupo amino de los ácidos 6-Aminopenicilánico (6-APA), 7-Aminocefalosporánico (7-ACA) y 7-Aminodesacetoxicesalosporánico (7-ADCA) con diferentes radicales acilo.

La búsqueda de nuevos antibióticos es un desafío constante a la imaginación de los químicos para idear nuevos ácidos que permitan conducir a antibióticos con mejores propiedades farmacológicas.

El objeto del presente trabajo es la síntesis de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicesalosporina, mediante la misma técnica con el fin de que las impurezas son semejantes y poder estudiar posteriormente y de forma comparativa, la estabilidad de estos compuestos, así como sus propiedades farmacológicas.

La N-pirrolilacetamidocefalosporina ha sido citada por A. Nudelman⁵, pero sin especificar ninguna característica de ella ni de su método de obtención.

MATERIAL Y METODOS

Reactivos

En general, en las reacciones de síntesis hemos empleado sustancias químicamente puras mientras que en las reacciones analíticas los productos utilizados han sido reactivos para análisis suministrados por la casa Merck.

⁵ *An. Fac. Vet. León.*, 1983, 29, 113-125.

(6-APA), (7-ACA) y (7-ADCA).—Han sido cedidos por Antibióticos. S. A. con una pureza controlada por el método hidroxámico del 98%, 92% y 98%, respectivamente.

Clorhidrato de glicinato de etilo, 2,5-Dimetoxitetrahydrofurano. Clorformiato de etilo, N-metilmorfolina y Trietilamina (TEA).—Han sido suministrados por la casa Merck en la 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

En nuestro trabajo, además de emplear los utensilios normales de laboratorio, hemos utilizado los siguientes aparatos:

- Espectrofotómetro BAUSCH-LOMB. Spectronic 2000.
- Espectrofotómetro IR. BECKMANN. Modelo Acculab 4.
- Equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE) LABORATORY DATA CONTROL.
- Los espectros RMN se han realizado por gentileza de Antibióticos. S. A. Madrid en un BRUKER 80 Mhz.

Métodos analíticos

Para el análisis de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina se ha puesto a punto una técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAE), para la que se ha utilizado una columna de compresión radial (RCSS) con un relleno de ODS y una fase móvil formada por una disolución reguladora de fosfatos 0.05M de pH = 6 con un contenido en metanol del 60 % para la cefalosporina y desacetoxicefalosporina y del 40 % para la penicilina.

Hemos utilizado la espectroscopia UV, IR y RMN para la caracterización de los antibióticos obtenidos por nosotros.

Preparación de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina

N-pirrolilacetato de etilo

La obtención de este producto constituye el primer paso para la preparación del ácido N-pirrolilacético, que posteriormente se unirá al 6-APA para formar N-pirrolilacetamidopenicilina, al 7-ACA para formar la N-pirrolilacetamidocefalosporina y al 7-ADCA para formar la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina.

Se ha seguido la técnica de Clauson-Kaas³ por reacción de 2,5-Dimetoxitetrahydrofurano con el clorhidrato del glicinato de etilo.

En un matraz de 500 ml se disuelven 30 g de acetato sódico en 150 ml de ácido acético glacial y se calienta a ebullición. Se agregan 60 moles de clorhidrato de glicinato de etilo y, cuando la disolución está clara, se añaden 8.1 ml de 2,5-Dimetoxitetrahydrofurano y la mezcla de reacción se vuelca sobre 600 g de agua-hielo y se deja 5 minutos en agitación. Se añade acetato de etilo, se agita y se separan las fases. Como la fase orgánica arrastra una gran cantidad de ácido acético, se añade carbonato sódico al 5 %. Se separan las fases y a la fase orgánica se añade disolución saturada de cloruro potásico. La fase orgánica se concentra en el Rotavapor y se obtiene un residuo aceitoso en el que se encuentra el N-pirrolilacetato de etilo. Se destila y se obtienen 4.63 g del ester (50 %). Se ha caracterizado mediante espectroscopia UV, IR y RMN y los espectros obtenidos nos confirman su estructura.

Acido N-pirrolilacético

Se obtiene por hidrólisis del N-pirrolilacetato de etilo, obtenido previamente. Se trata éste con 150 ml de una mezcla al 50 % dioxano-agua y 72 ml de disolución de NaOH 1N durante dos horas, y posteriormente se trata con una resina intercambiadora de iones en su forma ácida durante 30 minutos⁴. Se comprueba el pH, se filtra y se elimina el dioxano en el Rotovapor. Se lleva dos veces a sequedad con etanol (300 ml) para eliminar el agua, y el residuo obtenido se disuelve en éter-éter de petróleo (40-60°C). Se concentra de nuevo en el Rotovapor y se obtiene un sólido blanco cristalino que ha pesado 2,20 g (58 %), que presenta las siguientes características: P.f. - 87° C. Equivalente de neutralización . - 130.8 . $pK_a = 3,38 \pm 0,03$, determinado por la técnica de Albert y Sergeant¹. Por CLAE sólo se ha detectado un único pico cromatográfico utilizando una fase móvil formada por disoluciones regulares de fosfatos a diferentes pH's (2.5 - 3.5 - 6.0 - 7.0) con contenidos en metanol comprendidos entre el 0 y el 50 % a una longitud de onda de 229 nm y a un flujo de 2 ml/min con una concentración de ácido de 0.05 mg/ml. Se han realizado los espectros UV, IR y RMN, que nos confirman la estructura del compuesto.

N-pirrolilacetamidopenicilina

La obtención de este producto tiene dos partes fundamentales; por un lado, la solubilización del 6-APA, que se va a unir al ácido pirrolilacético, y, por otro lado, la transformación previa de éste en un anhídrido mixto por reacción con cloroformiato de etilo.

Obtención del anhídrido mixto.—En un reactor rodeado de un baño de nitrógeno líquido-acetona se enfrían 104 ml de acetona a -55°C y se le añaden 0.04 moles de ácido N-pirrolilacético, 5,2 ml de TEA, 4 ml de cloroformiato de etilo, una gota de N-metilmorfolina. A continuación se deja subir 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 6-APA.

Disolución del 6-APA.—Se mezclan 50 ml de acetona y 52 ml de agua con 0,04 moles de 6-APA. Se enfría entre $0-5^{\circ}\text{C}$ y se añade lentamente y con agitación TEA, cuidando de que el pH se mantenga entre 8 y 8,5 hasta la total disolución del 6-APA.

Formación de la N-pirrolilacetamidopenicilina.—Una vez disuelto el 6-APA, se añade sobre el anhídrido mixto a -60°C . Se deja que la temperatura suba poco a poco hasta -25°C y se mantiene durante una hora a esta temperatura. Se da por terminada la reacción y se procede a la concentración. La mezcla de reacción se lleva a Rotovapor para eliminar la acetona y se extrae con 100 ml de acetato de etilo, ajustándose el pH a 1,5 con HCl 5N antes de la extracción. Se seca la fase orgánica con sulfato anhidro, se filtra y se lava con acetato de etilo. El extracto obtenido se pone en agitación con 2-Etilhexanoato potásico en acetato de isobutilo, que se va adicionando poco a poco. Se consumen 24 ml de este 1,85N. Se baja la temperatura a $5-10^{\circ}\text{C}$ y se mantiene durante una hora en agitación. Se filtra y se lava con acetato de etilo. Se obtiene así la N-pirrolilacetamidopenicilina en forma de sal potásica, que, una vez seca, pesó 12,44 gramos (89 %), que presenta las siguientes características: P.f. $190-200^{\circ}\text{C}$ con descomposición. Espectro UV.—Se ha realizado un barrido de 200-300 mm. Espectro IR (BrK).—Pirrol ($730, 1090$ y 1280 cm^{-1}), β -lactama (1770 cm^{-1}) - CO amida (1660 cm^{-1}), -NH de amida (3300 cm^{-1}) y -CO carboxílico (1610 cm^{-1}). Espectro RMN (D_2O). Ref. HDO.—Pirrol (6,20 y 6,75 p.p.m.), H6 (5,5 p.p.m.), H5 (5,4 p.p.m.), -CH₂ (4,7 p.p.m.), H3 (4,15 p.p.m.) y -CH₃ (1,4 y 1,5 p.p.m.). CLAE.—Sólo se detecta un pico cromatográfico. El producto ha resultado ser activo frente a numerosos microorganismos, sobre todo frente a Gram positivos. Los espectros UV, IR y RMN están representados en la fig. 1.

N-pirrolilacetamidocefalosporina

Al igual que en el caso de la penicilina, la síntesis de este producto consta de dos partes fundamentales. Por un lado, la formación de anhídrido mixto entre el

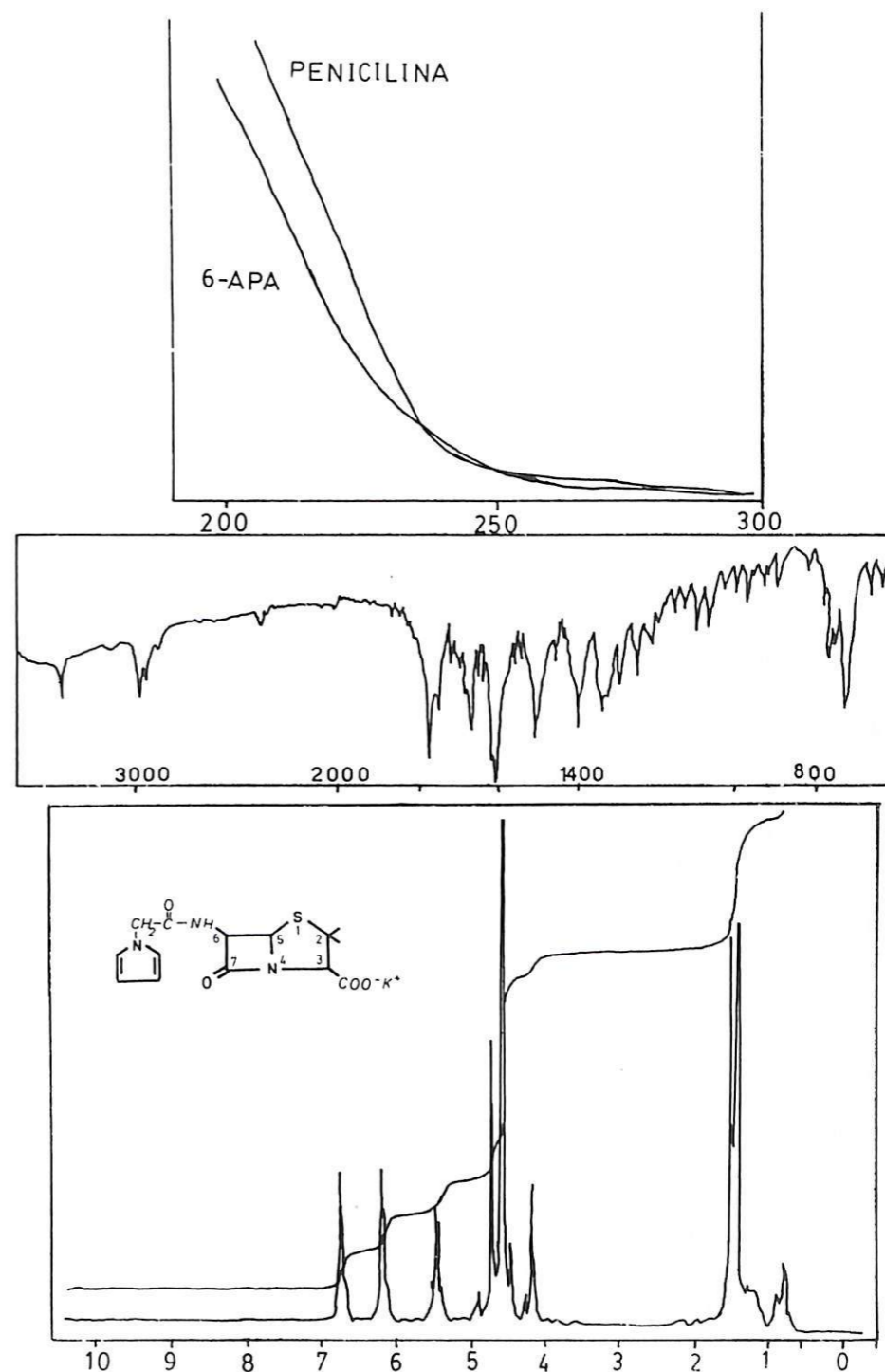


Figura 1.—Caracterización de la N-pirrolilacetamidopenicilina.

ácido N-pirrolilacético y el cloroformiato de etilo, procedimiento ya descrito en el apartado anterior, y, por otro lado, la solubilización del 7-ACA. Para disolver el 7-ACA se mezclan 50 ml de acetona y 52 ml de agua, a los que se añaden 0,04 moles de 7-ACA. Se enfría entre 0 y 5°C y se añade lentamente y con agitación TEA hasta la total disolución.

La obtención de la N-pirrolilacetamidocefalosporina se realiza siguiendo la misma técnica que la descrita para la obtención de la penicilina. Se obtiene así la sustancia en forma de sal potásica, que, una vez seca, ha pesado 13,60 g (85 %), y que presenta las siguientes características: P.f.—160°C con descomposición. Espectro UV.—Presenta un máximo a 258 nm. Espectro IR (BrK).—Pirrol (730, 1090 y 1280 cm^{-1}), β -lactama (1750 cm^{-1}), -CO carboxílico (1600 cm^{-1}), -CO amida (1660 y 1535 cm^{-1}), -NH de amida (3250 cm^{-1}). Espectro RMN (DMSO). Ref. TMS.—Pirrol (6,10 y 6,70 p.p.m.), H6 y H7 (5,0 y 5,5 p.p.m.), -CH₂ enlazado al pirrol (4,7 p.p.m.), H2 (3,4 p.p.m.), -CH₂ del grupo acetoximetil (4,9 p.p.m.) y -CH₃ (2,1 p.p.m.). Los espectros UV, IR y RMN están representados en la fig. 2. La N-pirrolilacetamidocefalosporina ha resultado ser activa frente a numerosos microorganismos, sobre todo a los Gram positivos.

N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina

De forma análoga al caso de la penicilina y la cefalosporina, la obtención de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina consta de dos partes fundamentales: la formación del anhídrido mixto y la disolución del 7-ADCA. Para disolver éste se mezclan 50 ml de acetona con 52 ml de agua y 0,04 moles de 7-ADCA. Se enfría entre 0-5°C y se le añade lentamente y con agitación TEA hasta la total disolución.

Asimismo, la formación de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina se realiza mediante un proceso similar al de la penicilina y cefalosporina. Se obtiene también en forma de sal potásica, que, una vez seca, pesó 11,71 gramos (85 %), y que presenta las siguientes características: P.f.—180-185°C con descomposición. Espectro UV.—Presenta un máximo a 261 nm. Espectro IR (BrK).—Pirrol (730, 1090 y 1280 cm^{-1}), β -lactama (1750 cm^{-1}), -CO del grupo carboxílico (1600 cm^{-1}), -CO de amida (1660 y 1535 cm^{-1}) y -NH de amida (3300 cm^{-1}). Espectro RMN (DMSO). Ref. TMS.—Pirrol (6,1 y 6,75 p.p.m.), H6 y H7 (4,9 y 5,45 p.p.m.), -CH₂ enlazado al pirrol (4,7 p.p.m.), H2 (3,3 p.p.m.) y -CH₃ (1,95 p.p.m.). Los espectros UV, IR y RMN están representados en la figura 3. La N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina ha resultado ser activa frente a numerosos microorganismos, sobre todo frente a los Gram positivos.

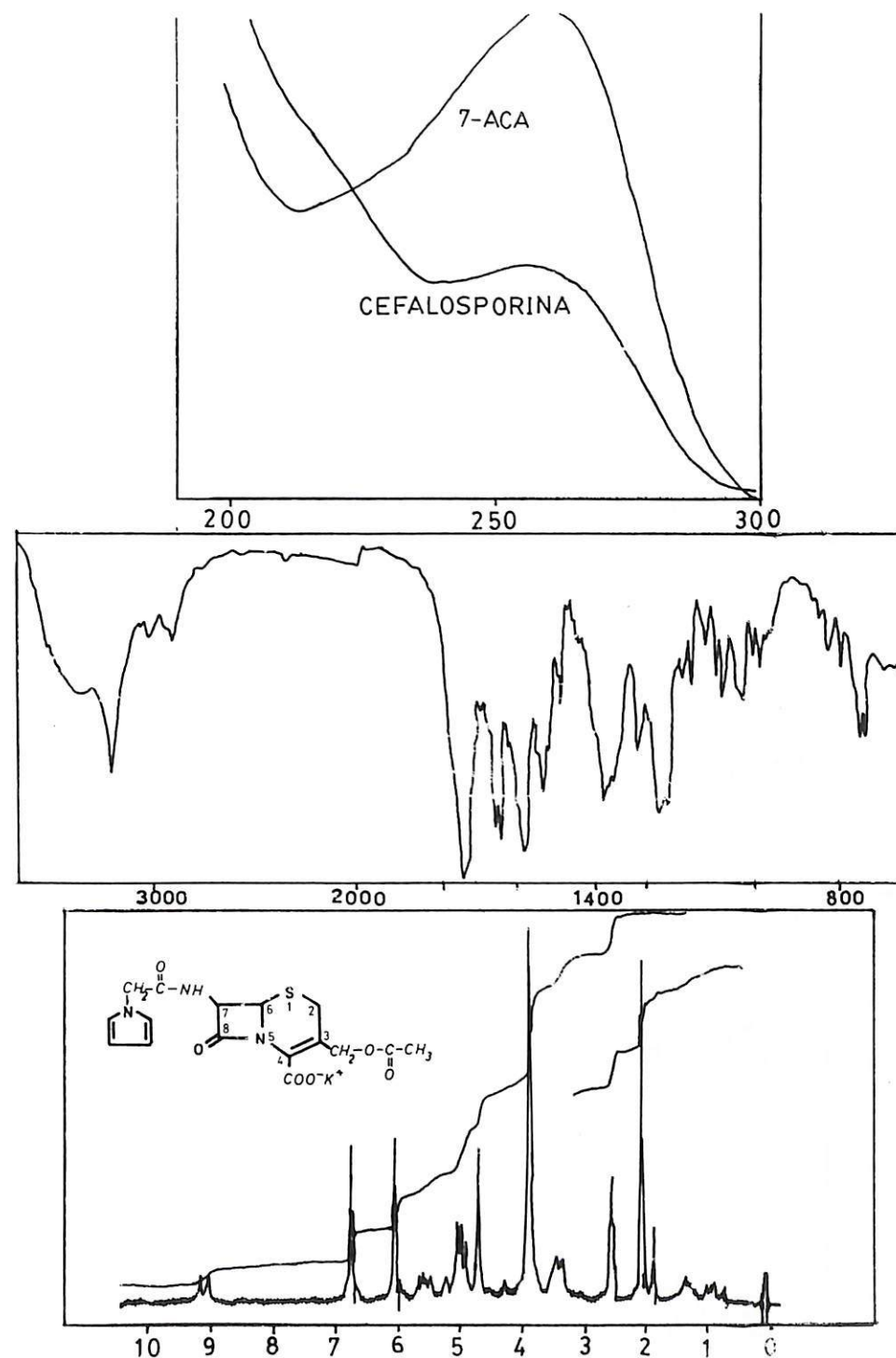


Figura 2.—Caracterización de la N-pirrolilacetamidocefalosporina.

RESULTADOS Y DISCUSION

Síntesis de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina

La obtención de penicilinas y cefalosporinas semisintéticas consiste en la acilación del grupo amino de los ácidos 6-APA, 7-ACA y 7-ADCA con un ácido o un derivado de ácido.

En nuestro departamento venimos trabajando desde hace algún tiempo en la obtención de nuevas penicilinas y cefalosporinas que contengan en la cadena lateral derivados sustituidos del ácido acético, uno de cuyos sustituyentes sea el grupo pirrol. En nuestro caso hemos preparado el ácido N-pirrolilacético, cuyo producto de acilación constituye la cadena lateral de la penicilina, cefalosporina y desacetoxicefalosporina sintetizada por nosotros.

Para la síntesis del ácido N-pirrolilacético hemos partido del clorhidrato del glicinato de etilo, que es un producto comercial, el cual se ha transformado mediante la reacción de Clauson-Kaas³. Nosotros hemos hecho reaccionar el clorhidrato del glicinato de etilo con 2,5-Dimetoxitetrahydrofurano en presencia de ácido acético y acetato sódico en las condiciones específicas en la parte experimental, obteniéndose el ester con un rendimiento del 50 %.

Por hidrólisis del N-pirrolilacetato de etilo con NaOH en dioxano-agua, obtuvimos el ácido N-pirrolilacético en forma de un producto blanco cristalino con un rendimiento del 58 %.

Como ya hemos indicado anteriormente, la síntesis de la penicilina, de la cefalosporina y de la desacetoxicefalosporina obtenidas por nosotros se realiza mediante la acilación de los ácidos 6-APA, 7-ACA y 7-ADCA, respectivamente, con el ácido N-pirrolilacético, previa su transformación en anhídrido mixto.

La reacción entre el grupo carboxílico del ácido N-pirrolilacético y el grupo amino del 6-APA, 7-ACA y 7-ADCA debe realizarse con un minucioso control de la temperatura y de los disolventes empleados, debido a la facilidad de producción de reacciones secundarias que presentan los compuestos N-pirrolilderivados y el 6-APA, así como a la labilidad del anillo β -lactámico.

El primer paso para que se realice la acilación de los núcleos consiste en la activación del grupo carboxílico del ácido N-pirrolilacético. Para ello no hemos podido emplear los métodos clásicos de transformación de los correspondientes cloruros de ácido por reacción con Cl_5P o cloruro de tionilo (SO_2Cl), ya que estas sustancias se descomponen a los derivados N-pirrolilsustituidos, originando numerosos productos secundarios. Por este motivo se ha elegido para dicha activación la transformación del ácido N-pirrolilacético en su correspondiente anhídrido mixto.

La obtención de este anhídrido mixto se realiza por reacción de una sal de

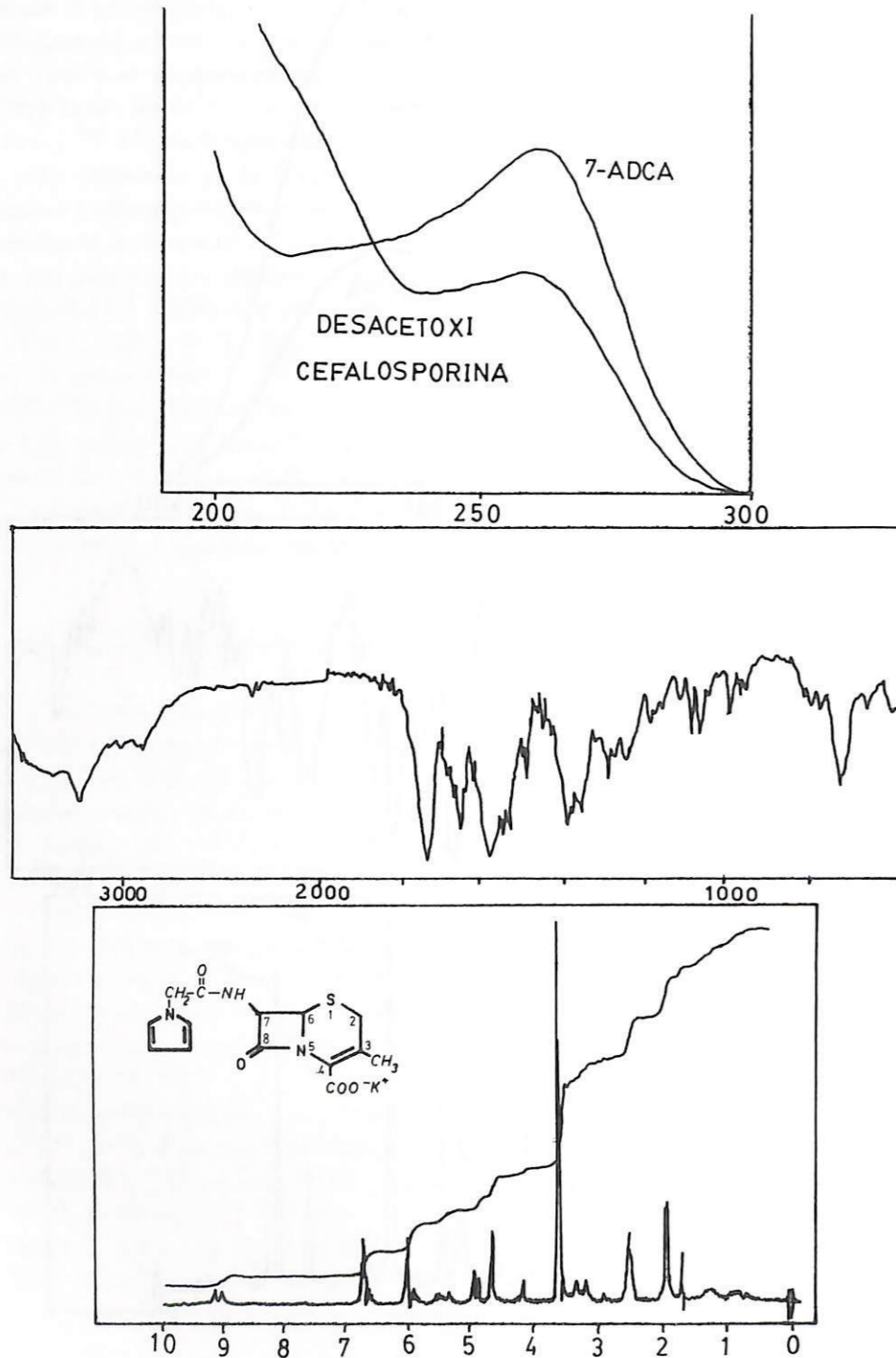


Figura 3.—Caracterización de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina.

TEA de dicho ácido con un cloruro de ácido adecuado. Los cloruros de ácido más utilizados son el cloruro de pivaloilo² y el cloroformiato de etilo.

El cloruro de pivaloilo ($\text{Cl-CO-C}(\text{CH}_3)_3$), al presentar impedimento estérico y efecto inductivo positivo que impide que ataque nucleofílico de los ácidos 6-APA, 7-ACA y 7-ADCA, en principio, orientaría la acilación del ácido N-pirrolilacético, conduciendo a buenos resultados.

El cloroformiato de etilo tiene la ventaja de ser más económico y su acilación con el núcleo correspondiente daría lugar a un producto muy inestable que se eliminaría con facilidad. De esta forma se vería favorecida la acilación de los núcleos por la parte correspondiente del ácido en el anhídrido mixto. Por estas razones hemos utilizado el cloroformiato de etilo para la formación del anhídrido mixto.

Otro problema que presenta la acilación, al tener que realizarse con disolventes orgánicos, es la disolución del 6-APA, 7-ACA y 7-ADCA, ya que son insolubles en dichos disolventes. Para solubilizarlos hay que transformarlos en sales de TEA, utilizando agua y acetona como disolventes, manteniendo la temperatura entre 0 y 5°C y controlando el exceso de TEA que puede provocar la ruptura del anillo β -lactámico a un pH superior a 8.

Siguiendo las directrices anteriores, y tal y como se describe en la parte experimental, se obtuvieron la N-pirrolilacetamidopenicilina, la N-pirrolilacetamidocefalosporina y la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina con rendimientos desde el ácido N-pirrolilacético del 89, del 85 y del 85 %, respectivamente. El esquema general de las reacciones está representado en la fig. 4.

La N-pirrolilacetamidopenicilina ha sido obtenida en forma de sal potásica y es un polvo blanco, soluble en agua, metanol y etanol, poco soluble en benceno, cloroformo, acetona, ciclohexano y éter etílico. Funde con descomposición entre 190-200°C. Tiene un $\text{pK}_a = 3,02 \pm 0,01$. Por CLAE sólo se detecta un pico cromatográfico. Los espectros UV, IR y RMN confirman la estructura de la N-pirrolilacetamidopenicilina potásica.

La N-pirrolilacetamidocefalosporina se ha obtenido también en forma de sal potásica y es un polvo amarillento, soluble en agua y metanol, poco soluble en etanol, benceno, cloroformo, acetona, ciclohexano y éter etílico. Funde con descomposición alrededor de 160° C, presenta un $\text{pK}_a = 2,98 \pm 0,01$. Por CLAE, en las condiciones especificadas en la parte experimental, sólo se detecta un pico en el cromatograma. Los espectros UV, IR y RMN confirman la estructura de la N-pirrolilacetamidocefalosporina potásica.

La N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina se ha obtenido, asimismo, en forma de sal potásica, y es un polvo amarillo, soluble en agua y metanol, poco soluble en etanol, benceno, cloroformo, acetona, ciclohexano y éter etílico. Funde con descomposición entre 180-185°C. Presenta un $\text{pK}_a = 3,26 \pm 0,01$. Por CLAE sólo se detecta un pico en el cromatograma. Los espectros UV, IR y

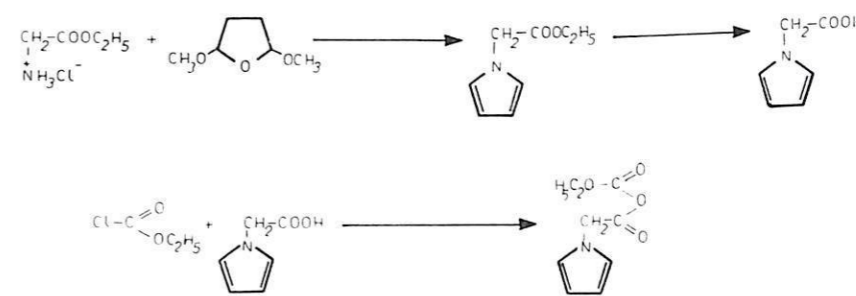
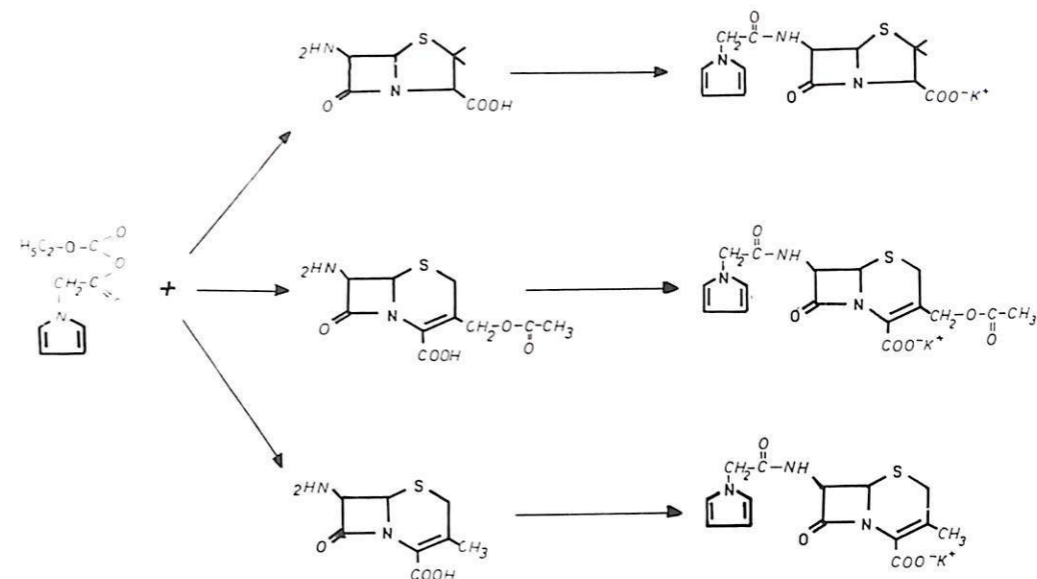


Figura 4.—Esquema general de las reacciones de síntesis.

RMN confirman la estructura de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina potásica.

Como ya hemos indicado, estos tres antibióticos preparados por nosotros presentan actividad biológica frente a organismos Gram positivos. Su espectro antimicrobiano se está realizando en las Laboratorios de Microbiología de Antibióticos, Sociedad Anónima.

RESUMEN

Se describe la síntesis de la N-pirrolilacetamidopenicilina, de la N-pirrolilacetamidocefalosporina y de la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina por acilación de los ácidos 6-Aminopenicilánico (6-APA), 7-Aminocefalosporánico (7-ACA) y 7-Aminodesacetoxicefalosporánico (7-ADCA), respectivamente, con el ácido N-pirrolilacético, previa transformación de éste en un anhídrido mixto con cloroformiato de etilo.

Los antibióticos se han obtenido en forma de sales potásicas con un rendimiento a partir del ácido N-pirrolilacético del 89 % para la N-pirrolilacetamidopenicilina, del 85 % para la N-pirrolilacetamidocefalosporina y del 85 % para la N-pirrolilacetamidodesacetoxicefalosporina.

Los productos sintetizados han sido caracterizados por sus correspondientes espectros UV, IR y RMN. Para el análisis de dichos productos se ha puesto a punto un método de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE) utilizando una columna de comprensión radial con un relleno de ODS y una fase móvil constituida por una disolución reguladora de fosfatos 0,05M de pH = 6 en metanol del 40/60 para la penicilina y del 60/40 para la cefalosporina y desacetoxicefalosporina.

SUMMARY

The synthesis of N-pirrollylacetamidopenicillin, N-pirrollylacetamidocephalosporin and N-pirrollylacetamidodesacetoxicephalosporin by acylation of 6-Aminopenicillanic (Acid 6-APA), 7-Aminocephalosporanic (Acid 7-ACA) and 7-Aminodesacetoxicephalosporanic (Acid 7-ADCA), respectively with N-pirrollylacetic Acid, after a previous transformation of the later into a mixed anhydride with Ethyl Chloroformiate has been described.

The antibiotics have been obtained in the form of Potassium salts with the following yields from N-pirrollylacetic Acid: 89 % of N-pirrollylacetamidopenicillin, 85 % of N-pirrollylacetamidocephalosporin and 85 % of N-pirrollylacetamidodesacetoxicephalosporin.

The synthesized antibiotics have been characterized by their corresponding spectra UV, IR y RMN.

A method of HPLC using a radial compression column with an ODS packing has been established for the analysis of the products obtained. The mobile phases formed by a phosphate buffer solution, pH = 6, in 40/60 v. methanol for cephalosporin and 60/40 v. methanol for penicillin.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ALBERT, A., y SERJEANT, F. F. (1971).—«*The Determination of Ionization constants*». Chapman and Hall, Ltd. London, Chap. 2.
- 2) ALEMANY, M. T. (1973).—Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.
- 3) CLAUSON-KAAS, N., y ELMING, N. (1952).—«The preparation of Pyrroles from Furans». *Acta Chem. Scand.*, **6**: 867-874.
- 4) GLOEDE, J.; PODUSKA, K.; GROSS, H., y RUDINGER, J. (1968).—«Amino Acids and Peptides. α -pyrrolo analogues of α -Amino Acids». *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **33**: 1307-1314.
- 5) NUDELMAN, A.; KAROLY, H., y BRAUN, F. (1978).—«Semisynthetic Cephalosporins. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 7-(1-Pyrrolyl)- and 7-(1-Indolyl) acetamidocephalosporin Derivates». *Journal of Medicinal Chemistry*, **21**: 962-964.