

## RESEÑA ANALÍTICA

# Cefalosporinas: métodos de síntesis y estudios de modelación molecular

Zalua Rodríguez-Riera, Blanca Idelmis Tolón-Murguía y Miguel Antonio López-López.

Centro de Química Biomolecular, Avenida 200 y Calle 21, Reparto Atabey, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: zaluarodriguez@infomed.sld.cu

Recibido: 31 de octubre de 2010.

Aceptado: 23 de diciembre de 2010.

Palabras clave: cefalosporinas, síntesis, acilación, grupos protectores de la acilación, modelación molecular.  
Key words: cephalosporins, synthesis, acylation, acylation protective groups, molecular modelation,

**RESUMEN.** Las cefalosporinas son los antibióticos más utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas por su amplio espectro de acción, buenas propiedades farmacocinéticas y baja toxicidad. La búsqueda de nuevas cefalosporinas efectivas frente a bacterias patógenas es una línea de investigación actual. En este trabajo se resumen los métodos de síntesis basados en la acilación de la función amino, unida a la posición C-7 $\beta$  y de introducción de sustituyentes en la posición C-3 del núcleo cefalosporánico más utilizados en la obtención de cefalosporinas, así como los grupos que con mayor frecuencia se utilizan para proteger los centros reactivos que existen en la molécula. Además, se resumen los estudios de modelación molecular realizados con el fin de contribuir al conocimiento de las propiedades electrónicas y las características químico estructurales en las cefalosporinas, así como de los mecanismos moleculares que sustentan su mecanismo de acción. Como resultado se puede afirmar que existe un amplio arsenal de procedimientos para efectuar modificaciones estructurales en las posiciones C-3 y C-7 $\beta$  del núcleo cefalosporánico, incluidos los métodos requeridos para la protección de grupos funcionales. Por otra parte, los trabajos de modelación molecular están avalados por numerosas publicaciones en que los métodos de la Mecánica Molecular y la Química Cuántica han desempeñado un papel fundamental en la determinación de los requisitos estructurales que influyen sobre la actividad antibacteriana y en la farmacocinética de estos compuestos. Sin embargo, los estudios de estructura actividad son relativamente escasos, en particular, los vinculados a la orientación del trabajo químico-sintético encaminado hacia la búsqueda de nuevas estructuras activas.

**ABSTRACTS.** Cephalosporins are the most commonly used antibiotics in the treatment of infectious diseases because of their broad antibacterial spectrum, good pharmacokinetics properties and relatively low toxicity. The search of new cephalosporins effective against bacterial pathogens is a current research. In the present paper, the synthetic methods based on of acylation of amino function at C-7 $\beta$  position and the procedures to introduce different substituents at C-3 position of cephalosporanic core are reviewed. In addition, a survey of the protective groups most often used to temporarily block the molecule reactive centers during the cephalosporin synthesis is made. In the other hand, it is summarized the molecular modeling studies made in order to know the electronic properties and structural chemical characteristics of cephalosporins, as well as the molecular mechanisms that support its mode of action. As a conclusion it is possible to assert that there is a wide array of procedures to make structural changes at C-3 and C-7 $\beta$  positions of the cephalosporanic core, including the methods required for the protection of functional groups during cephalosporin synthesis. In relation with the molecular modeling, there are a lot of publications where the molecular mechanics methods and quantum chemistry have played a key role in determining the structural requirements that influence the antibacterial activity and pharmacokinetics of these compounds. However, there are few structure-activity relationship studies, especially those focused on guiding the chemical-synthetic efforts directed towards the search for new active structures.

## INTRODUCCIÓN

Las cefalosporinas constituyen el grupo de antibióticos más utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Su importancia radica en la combinación de una potente acción bactericida y un amplio espectro de acción, con buenas propiedades farmacocinéticas y una baja toxicidad.<sup>1,2</sup>

Actualmente, se manifiesta la proliferación de bacterias grampositivas multiresistentes a la acción de numerosos antimicrobianos tales como el *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SaRM).<sup>3</sup> Este fenómeno ha hecho impostergable la necesidad de disponer de nue-

vos antibióticos con actividad antimicrobiana selectiva frente a estas bacterias.<sup>4</sup>

La búsqueda de nuevas cefalosporinas efectivas frente a estas bacterias patógenas es una línea de investigación actual debido a las ventajas terapéuticas y al perfil de seguridad de esta familia de antibióticos.<sup>5</sup> Así, el primer antibiótico  $\beta$ -lactámico con actividad bacteriana frente a SaRM fue una cefalosporina, denominada cef-tobiprol medocaril introducida en el mercado durante 2008.<sup>6,7</sup> Recientemente, se introdujo la ceftarolina fosamil,<sup>8</sup> mientras que otras cefalosporinas se encuentran en diferentes fases de ensayo clínico con este mismo fin.<sup>9</sup>

La estructura química básica de las cefalosporinas consiste en un sistema  $\beta$ -lactámico acoplado a un anillo de dihidrotiazina que en su conjunto se denomina núcleo cefem (Fig. 1). La introducción de diferentes sustituyentes, fundamentalmente en las posiciones 3 ( $R_3$ ) y 7 ( $R_7$ ) de dicho núcleo, posibilita obtener una amplia variedad de cefalosporinas con diferente espectro antimicrobiano, propiedades farmacocinéticas y grado de estabilidad química.<sup>10</sup>

El objetivo de este trabajo consistió en realizar un estudio bibliográfico sobre los métodos de síntesis en cefalosporinas, basados en la reacción de acilación de la función amino, unida a la posición C-7 $\beta$  y de introducción de sustituyentes en la posición C-3 del núcleo cefalosporánico, más utilizados en la obtención de cefalosporinas, así como los grupos que con mayor frecuencia se emplean para proteger los centros reactivos que existen en la molécula. Además, resumir los estudios de modelación molecular basados en los métodos de la mecánica molecular y química cuántica más importantes realizados en esta familia de antibióticos

### SÍNTESIS DE CEFALOSPORINAS

Los procedimientos de síntesis química en cefalosporinas se caracterizan por evitar medios básicos o ácidos fuertes, así como por el empleo de bajas temperaturas debido a la extrema labilidad química y térmica del núcleo cefalosporánico. Además, en la molécula existen múltiples centros reactivos lo que requiere, por lo general, del uso intensivo de grupos protectores que puedan ser eliminados bajo condiciones suaves. A continuación, se resumen las características de varias de las principales reacciones que han sido utilizadas en su obtención.

#### Acilación de la función amino unida a la posición C-7 $\beta$ del núcleo cefalosporánico

La acilación de la función amino unida al C-7 $\beta$  del núcleo cefalosporánico es una de las principales reacciones durante la síntesis de cefalosporinas. Esta reacción permite introducir por la posición 7 $\beta$  ( $R_7$ ) la cadena lateral cuya estructura química y configuración espacial ejercen una mayor influencia sobre el grado de penetrabilidad del antibiótico y por lo tanto, definen su espectro antibacteriano. El grado de lipofilidad del sustituyente en esta posición determina la penetrabilidad en uno u otro tipo de bacteria.<sup>11</sup> El procedimiento a utilizar se selecciona sobre la base de las características estructurales, tanto del agente acilante portador de dicha cadena, como del núcleo cefem.

##### Método del reactivo de Vilsmeier

En este procedimiento el agente acilante es el cloruro de ácido, que se obtiene por tratamiento con sales de clorometilenoiminio preparadas de acuerdo con el procedimiento general de acilación de Vilsmeier-Haack-Arnold. Estas sales se pueden preparar por reacción de

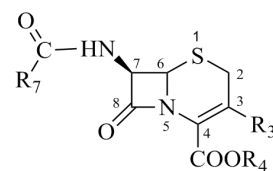


Fig. 1. Estructura básica de las cefalosporinas.

una *N,N*-formamida disustituida con el oxiclورو de fósforo, fosgeno u otro agente halogenante.<sup>12</sup> La etapa 1 de este método consiste en preparar el denominado reactivo de Vilsmeier (sal de clorometilenoiminio) por reacción de la dimetilformamida (DMF) con oxiclورو de fósforo a temperaturas entre 0 y 5 °C, en ausencia<sup>13</sup> o presencia de un disolvente como el tetrahidrofurano (THF),<sup>14</sup> acetato de etilo,<sup>15</sup> o diclorometano.<sup>16</sup> Como agente halogenante también se utiliza el cloroformiato de triclorometilo<sup>17</sup> (Fig. 2).

En la etapa 2, se adiciona el ácido portador de la cadena lateral sobre el reactivo de Vilsmeier a temperaturas entre 0 y 5 °C para garantizar la formación exclusiva del cloruro de ácido y excluir la posibilidad de que ocurra la formulación de la cadena lateral como reacción colateral.

Finalmente, en la etapa 3, se realiza la acilación del núcleo cefalosporánico por adición de la disolución obtenida en la etapa anterior sobre el núcleo cefalosporánico disuelto en una mezcla disolvente acuoso-orgánica o en un medio totalmente orgánico, en dependencia de la estabilidad del agente acilante frente al agua. Cuando se emplea un medio acuoso-orgánico, el disolvente de elección es el THF en presencia de trietilamina (TEA)<sup>16</sup> o hidrógenocarbonato de sodio<sup>18</sup> como bases que cumplen con la doble función de disolver al núcleo cefalosporánico y capturar el ácido formado. Si la reacción se efectúa en medio orgánico se pueden utilizar el THF, el acetato de etilo o el diclorometano como disolventes y la *bis*trimetilsililacetamida (BSA)<sup>19</sup> o la trimetilsililacetamida<sup>20</sup> para disolver al núcleo (Fig. 3). Su principal desventaja radica en que, dada la elevada reactividad de este tipo de derivados, es necesario proteger temporalmente al resto de las funciones activas de las moléculas involucradas, para evitar la ocurrencia de reacciones colaterales que impurifican el producto de interés y reducen los rendimientos.

##### Método de condensación directa

El método consiste en acilar el núcleo cefalosporánico por reacción del ácido portador de la cadena lateral sin derivatizar en presencia de un agente condensante como la dicitclohexilcarbodiimida (DCC),<sup>21</sup> el hidroc্লورو de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida,<sup>22</sup> y el oxiclورو de fósforo. En este último caso, es preciso emplear una amina terciaria, como la *N,N*-dietilanilina<sup>23</sup> con el objetivo de eliminar el ácido formado. Los procedimientos de condensación directa, aunque proporcionan buenos rendimientos están limitados al caso de que el

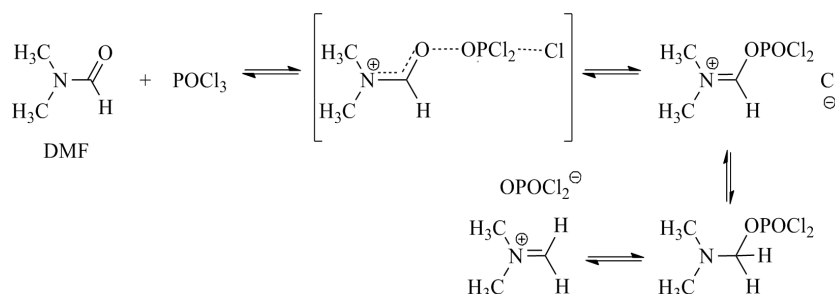


Fig. 2. Mecanismo de reacción de la formación del Reactivo de Vilsmeier.

núcleo cefalosporánico tenga protegida la función ácida unida al C-4, ya que de estar libre competiría con el ácido portador de la cadena lateral.

#### Método del anhídrido del ácido

El método consiste en la acilación del núcleo con un anhídrido mixto o simétrico del ácido portador de la cadena lateral a introducir. El anhídrido mixto se obtiene por tratamiento del ácido con cloroformiato de etilo<sup>24</sup> o isobutilo.<sup>25</sup> La acilación se realiza en un medio acuoso-orgánico compuesto por THF<sup>26</sup> o DMF. En el primero de los casos, se utiliza como aceptor del ácido formado la TEA<sup>27</sup> y en el segundo, se ha empleado la BSA.<sup>28</sup>

Cuando se utiliza un anhídrido simétrico, este se obtiene por condensación previa del ácido portador de la cadena lateral mediante el uso de la DCC como agente deshidratante.<sup>29</sup> La principal desventaja (en relación con el uso del anhídrido mixto) radica en que es necesario utilizar como mínimo dos equivalentes del ácido por equivalente del núcleo cefalosporánico y normalmente los ácidos portadores de la cadena lateral de estos antibióticos son productos de un elevado precio. Al igual que en los procedimientos descritos con anterioridad, esta técnica requiere de la protección del resto de las funciones activas de las moléculas que intervienen, dada la elevada reactividad de los anhídridos.

#### Introducción de sustituyentes en la posición C-3 del núcleo cefalosporánico por sustitución nucleofílica con tioles

Durante la síntesis de cefalosporinas, la modificación de la posición 3 (R3) del núcleo cefalosporánico mediante la introducción de diferentes sustituyentes,

tiene un marcado interés dada la influencia positiva que ejercen los grupos electroceptores y los buenos grupos salientes en esta posición sobre la reactividad del núcleo  $\beta$ -lactámico.

Con este propósito, se han descrito dos estrategias de síntesis (Fig. 4) cuya diferencia fundamental radica en el sustrato sobre el cual se realiza la modificación: (a) una 3-acetoximetilcefalosporina (donde la posición C-7 $\beta$  se encuentra previamente acilada con la cadena lateral deseada); (b) el 7-ACA, que luego de efectuarse la modificación en C-3 se acila por la posición C-7 $\beta$  para sintetizar la cefalosporina de interés.<sup>30</sup> Los agentes nucleofílicos portadores de un átomo de azufre en su estructura más utilizados son los tioles alquílicos y heteroarílicos, aunque también se han empleado tiosulfatos, carbamatos, tioureas y tioamidas.<sup>31</sup>

En la mayor parte de los casos, la reacción se efectúa en una mezcla disolvente compuesta por agua y acetona (esta última con la finalidad de favorecer la solubilidad del tiol), en presencia de una base inorgánica débil (como el hidrógenocarbonato de sodio) cuya función consiste en disolver al sustrato cefalosporánico en el medio, a temperaturas entre 60 y 70 °C y tiempos que pueden variar desde tres hasta 24 h.<sup>30,31</sup> Por lo general se obtienen bajos rendimientos debido a las reacciones colaterales relacionadas con la hidrólisis del ciclo  $\beta$ -lactámico. La función ácida del núcleo cefalosporánico debe encontrarse libre, ya que su protección en forma de éster conduce a la isomerización del doble enlace de la posición C3-C4 del anillo de dihidrotiazina con la consiguiente formación mayoritaria del isómero en el que dicho doble enlace

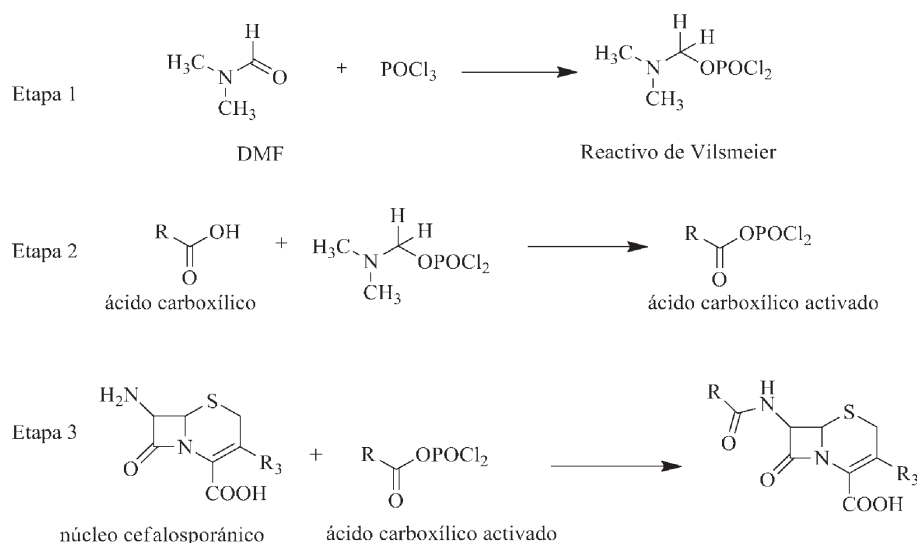


Fig. 3. Método de acilación por el reactivo de Vilsmeier.

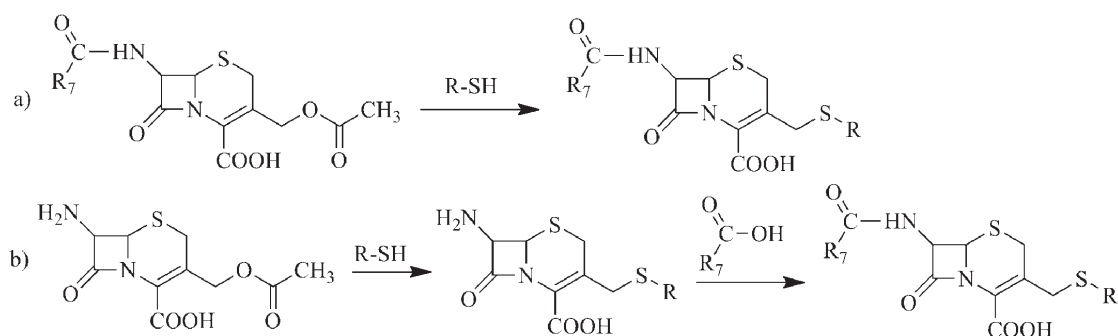


Fig. 4. Estrategias de síntesis para la introducción de sustituyentes en la posición C-3 del núcleo cefem.

se localiza entre las posiciones C-2 y C-3, el cual resulta biológicamente inactivo.

La cefazolina y el cefamandol son ejemplos de cefalosporinas con tioles heterocíclicos en su estructura.

### Protección temporal de la función amino unida a la posición C-7 $\beta$ del núcleo cefalosporánico

La protección de la función amino unida a la posición C-7 $\beta$  del núcleo cefalosporánico es una operación de suma importancia durante la síntesis de cefalosporinas, ya que permite anular la reactividad de este grupo funcional con el objetivo de realizar otras modificaciones estructurales en el núcleo cefalosporánico.

#### Protección por acilación con cloruros de ácido

Entre los grupos protectores más utilizados se encuentran el fenilacetilo<sup>32</sup> y el fenoxiacetilo,<sup>33</sup> los cuales se introducen en la molécula por acilación con los correspondientes cloruros de ácido. La eliminación de estos grupos se efectúa por el método del iminocloruro con el que a partir de la formación de este derivado se forma el iminoéter que al hidrolizarse permite obtener el derivado de interés.<sup>34</sup> Como agente halogenante para la formación del iminocloruro se utiliza el pentacloruro de fósforo en diclorometano, cloroformo o tetracloruro de carbono como disolventes en presencia de una amina terciaria como la piridina. Para la posterior formación del iminoéter se han utilizado como alcoholes el metanol, propanol,<sup>33</sup> 2-butanol<sup>35</sup> y el 1,3-propanodiol.<sup>32</sup>

#### Protección por formación de Bases de Schiff

En cefalosporinas, otra forma de bloquear la función amino consiste en la preparación de Bases de Schiff por tratamiento del núcleo cefalosporánico con salicilaldehído<sup>36</sup> o benzaldehído,<sup>37</sup> reacción que constituye un caso particular de la formación de iminas por la adición de aminas a aldehídos y cetonas. El proceso transcurre mediante la formación inicial del *N*-hemiaminal correspondiente y la posterior pérdida de agua. Con frecuencia el equilibrio necesita ser desplazado por remoción del agua, ya sea por destilación azeotrópica o con un agente desecante como sulfato de sodio anhidro o tamices moleculares. La eliminación del grupo protector se realiza por tratamiento con ácido clorhídrico en disolventes orgánicos, ya sea en medio heterogéneo o mediante el uso de mezclas que garantizan la formación de un medio homogéneo.

### Protección de la función ácida unida a la posición C-4 del núcleo cefalosporánico

La protección temporal de la función ácida unida a la posición C-4 es, en muchas ocasiones, una operación imprescindible con el objetivo de realizar modificaciones en las restantes posiciones del núcleo cefalosporánico. Se conoce que los grupos protectores más utilizados son los ésteres de *p*-nitrobenzilo, de *p*-metoxibencilo, de *tert*-butilo y de difenilmetilo.<sup>38</sup> Este último se introduce por tratamiento con difenildiazometano y es el más empleado porque además de ser un reactivo selectivo para proteger grupos ácidos, la reacción de protección ocurre a temperatura ambiente y en condiciones neutras de reacción donde no se afecta la estabilidad del núcleo cefem. Con relación a la posterior eliminación de estos grupos protectores, el *p*-nitrobenzilo se puede eliminar por hidrogenólisis en presencia de paladio sobre carbón como catalizador y mediante el uso de diferentes disolventes como metanol, THF o sus mezclas. Los grupos protectores *p*-metoxibencilo, *tert*-butilo y difenilmetilo se eliminan por tratamiento con TFA en presencia de anisol como auxiliar de la desprotección.<sup>39</sup>

### ESTUDIOS DE MODELACIÓN MOLECULAR EN CEFALOSPORINAS

El diseño empírico y tradicional de cefalosporinas tiene su mayor auge en las décadas de los sesentas y setentas del siglo xx, período en que muy pocos cálculos teóricos proporcionaron informaciones útiles. En la década de los ochentas, los estudios computacionales en cefalosporinas comienzan a desarrollarse con la expectativa de contribuir al diseño de nuevos antibióticos cada vez más potentes.<sup>40</sup> El estudio y desarrollo de métodos de modelación molecular han contribuido al conocimiento de las propiedades electrónicas y las características químicas estructurales en las cefalosporinas, así como de los mecanismos moleculares que sustentan su mecanismo de acción.

La reactividad química del anillo  $\beta$ -lactámico frente a los nucleófilos y su influencia en la interacción enzima-sustrato en cefalosporinas, ha sido objeto de estudio de varios grupos de expertos en química computacional. Donald B. Boyd, uno de los líderes indiscutibles en este campo, demuestra que la fortaleza del enlace C-N y la carga sobre el grupo carbonilo son factores que influyen en la actividad biológica. De igual modo, basado en el estudio de los mapas de densidad electrónica, sostiene que la deficiencia de densidad electrónica en las cercanías del grupo carbonílico del anillo  $\beta$ -lactámico, se relaciona con la susceptibilidad de este sitio al ataque nucleofílico y utiliza la energía del estado de transición en la reacción de acilación como un índice de reactividad teórico del anillo  $\beta$ -lactámico.<sup>41</sup>

Otros especialistas evalúan, mediante métodos de cálculo *ab initio*, la reactividad química del grupo carbonilo del anillo  $\beta$ -lactámico frente al ataque nucleofílico de los grupos hidroxilo y la influencia de los disolventes en esta reacción.<sup>42,43</sup>

Estudios con diferentes aproximaciones teóricas, en su mayoría de naturaleza semiempírica, modelan la geometría molecular de las cefalosporinas<sup>44</sup> y evalúan las relaciones entre las propiedades geométricas y electrónicas en cefalosporinas activas e inactivas.<sup>45</sup>

La influencia del sustituyente de la posición C-3 del núcleo cefem sobre el mecanismo de acción de las cefalosporinas y sus propiedades como grupo saliente han sido estudiados mediante el cálculo de los orbitales moleculares por el método CNDO/2 y se ha demostrado que su labilidad es un factor importante en la activación del ataque nucleofílico del núcleo  $\beta$ -lactámico.<sup>46</sup>

El empleo de métodos cuantitativos de relación estructura química-actividad biológica conocidos como métodos QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationships*) basados en el cálculo de descriptores moleculares en cefalosporinas tiene sus orígenes en la década de los ochentas con el establecimiento de una correlación entre la energía del estado de transición y la actividad biológica frente a bacterias Gram negativas.<sup>47</sup> La utilización de la polarizabilidad y la energía del estado de transición permiten modelar la permeabilidad a través de la membrana y la reactividad del anillo  $\beta$ -lactámico frente a las PBPs de varias cefalosporinas.<sup>48</sup> El empleo de otros descriptores electrónicos y lipofílicos permite estudiar las características del mecanismo de resistencia basado en el eflujo activo del antimicrobiano en las bacterias Gram negativas con el objetivo de poder diseñar nuevas cefalosporinas resistentes.<sup>49</sup>

La modelación de los parámetros relacionados con la absorción, distribución, metabolismo y eliminación en el organismo permite la búsqueda de nuevos candidatos a fármacos con buenas propiedades farmacocinéticas.<sup>50</sup>

La obtención de modelos cuantitativos que de forma simple permiten predecir diferentes parámetros farmacocinéticas de varias cefalosporinas comerciales se realiza mediante el empleo del método de redes artificiales de neuronas<sup>51</sup> y del cálculo de descriptores topológicos a partir de la estructura bidimensional de estos compuestos.<sup>52</sup>

Al analizar la literatura relacionada con el empleo de métodos de modelación molecular en cefalosporinas, la mayoría se basa en el estudio de la relación existente entre las características estructurales de estos compuestos y la potencia antibacteriana, su espectro de actividad y resistencia a la inactivación enzimática. De forma general, es posible concluir que existen muy pocos trabajos basados en el cálculo de modelos matemáticos que relacionen la estructura química con la actividad biológica y que permitan predecir la actividad de nuevos compuestos.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que existe el volumen de información necesario para enfrentar el gran reto que constituye desarrollar nuevas cefalosporinas con la finalidad de enfrentar la acción de cepas de *Staphylococcus* resistentes. En particular, la búsqueda de nuevas cefalosporinas activas contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de acuerdo con la estrategia de obtención de antibióticos de espectro reducido contra patógenos específicos, resulta un campo de sumo interés.

Desde el punto de vista sintético, la química de las cefalosporinas es bien conocida y la literatura al respecto es abundante. Existe un amplio arsenal de procedimientos para efectuar modificaciones estructurales en las posiciones C-3 y C-7 del núcleo cefalosporánico, incluidos los métodos requeridos para la protección de grupos funcionales, aspecto crucial durante la preparación de este tipo de agentes antibacterianos.

Por otra parte, los trabajos de modelación molecular en cefalosporinas están avalados por numerosas publicaciones en las que los métodos de la Mecánica Molecular como de la Química Cuántica han desempeñado un papel fundamental en la determinación de los requisitos estructurales que influyen sobre la actividad antibacteriana y en la farmacocinética de estos compuestos. Sin embargo, los estudios QSAR mediante el empleo de diferentes descriptores son relativamente escasos, en particular, los vinculados a la orientación del trabajo químico sintético encaminado hacia la búsqueda de nuevas estructuras activas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beers MH. El Manual Merck de diagnóstico y tratamiento. 11th ed, España, S.A. Madrid: Elsevier: 2007:p.1555-58.
2. Suárez C, Gudiol F. Beta-lactams antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27(2):116-29.
3. Ippolito G, Leone S, Lauria FN, Nicastrì E, Wenzel RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the superbug. *Int J Infect Dis.* 2010;Suppl 4:S7-11.
4. Stryjewski ME, Corey GR. New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Crit Care.* 2009;15(5):403-12.
5. Hamilton-Miller JMT. Development of the semi-synthetic penicillins and cephalosporins. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;3:189-92.
6. Anderson SD, Gums JG. Ceftobiprole: an extended-spectrum anti methicillin resistant *Staphylococcus aureus* cephalosporin. *Ann Pharmacother.* 2008;42:806-16.
7. Vidaillac C, Rybak MJ. Ceftobiprole: first cephalosporins with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacotherapy.* 2009;29(5):511-25.
8. Parish D, Scheinfeld N. Ceftaroline fosamil, a cephalosporin derivative for the potential treatment of MRSA infection. *Curr Opin Invest Drugs.* 2008;2:201-9.
9. Shahid M. Beta-lactams and Beta-lactamase-inhibitors in current- or potential-clinical practice: A comprehensive update. *Crit Rev Microbiol.* 2009;35(2):81-108.
10. Petri WA Jr. Chemotherapy of Microbial Diseases, Antimicrobial Agents: Penicillins, Cephalosporins, and other  $\beta$ -Lactam Antibiotics. En: Brunton L, Lazo J and Parker K, editores. Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed, New York: McGraw-Hill: 2005:p.200-57.
11. Roche A, Zito SW. Foye's Principles of medicinal chemistry. 6th ed. Lippincott W. and Wilkins ed, London, 2007:p.1046-52.
12. Just C. Iminium Salts in Organic Chemistry. En: Böhme H. and Viehe H. G. editores. Advances in Organic Chemistry: Methods and Results, Vol. 9, NY: Wiley-Interscience: 1976: p.225-342
13. Takaya T, Takasugi H, Masugi T, Kochi H, Nakano H. Studies on  $\beta$ -lactam antibiotics. II. Synthesis and structure-activity relationships of  $\alpha$ -hydroxyiminoarylacetyl cephalosporins. *J Antibiotics.* 1981;34(10):1290-99.
14. Takasugi H, Kochi H, Masugi T, Nakano H, Takaya T. Studies on  $\beta$ -lactam antibiotics. VII. Effect on antibacterial activity of the oxime O-substituents with various functional groups in the 7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxyiminoacetamido] cephalosporins. *J Antibiotics.* 1983;36(7):846-54.
15. Takasugi H, Takaya T, Murakawa T, Nakano H. Studies on  $\beta$ -lactam antibiotics. III. Synthesis and enzymatic stability of 3-acyloxymethyl-7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(methoxyimino) acetamido]-3-cephem-4-carboxylic acids. *J Antibiotics.* 1981;34(10):1300-18.
16. Iwamatsu K, Atsumi K, Sakagami K, Ogino H, Yoshida T, Tsuruoka, T *et al.* A new antipseudomonal cephalosporin CP 6162 and its congeners. *J Antibiotics.* 1990;43(11):1450-63.
17. Iwamatsu K, Tushima M, Tamura A, Shihabara S. Novel cephalosporin derivatives possessing a bicyclic heterocycle at the 3-position. Part I: Synthesis and biological activities of 3-benzothiazol-2-yl) thiocephalosporin derivatives, CP 0467 and related compounds. *Bioorg Med Chem.* 1998;(6):1009-17.
18. Nishimura S, Yasuda N, Sasaki H, Sakane K, Takaya T. Synthesis and antibacterial activity of 7 $\beta$ -[1-(2-aminothiazol-4-yl)-1-cyclopropanecarboxyamido] cephem derivatives. *J Antibiotics.* 1990;43(10):1278-85.
19. Yamada H, Ueda S, Mutoh M, Nagata H, Nouda H, Fukasawa M, Okuda T. New orally active cephalosporin esters. *J Antibiotics.* 1990;43(5):578-83.
20. Yamanaka H, Kawabata K, Miyai K, Takasugi H, Kamimura T, Mine Y, Takaya T. Studies on  $\beta$ -lactam antibiotics. X. Synthesis and structure-activity relationships of 7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(carboxymethoxyimino) acetamido] cephalosporin derivatives. *J Antibiotics.* 1986;39(1):101-10.
21. Mochizuki H, Oikawa Y, Yamada H, Kusakabe S, Shihara T, Murakami K, et al. Antibacterial and pharmacokinetic properties of M 14659, a new injectable semisynthetic cephalosporin. *J Antibiotics.* 1988;41(3):377-91.
22. Gentili D, Macchia M, Menchini E, Nencetti S, Orlandini E, Rosello A. *et al.* Synthesis and antimicrobial properties of cephalosporin derivatives substituted on the C(7) nitrogen with arylmethoxyimino or arylmethoxyamino alkanoyl groups. *IL Farmaco.* 1999;54:224-31.
23. Jung MH, Choo KW, Park J-G, Kim YH. Synthesis and pharmacokinetic profile of 3-methoxymethyl cephalosporin prodrugs. *Arch Pharm Res.* 1998;21(5):559-64.
24. Macchia M, Menchini E, Orlandini E, Rosello A. Synthesis and antimicrobial activity of 7 $\beta$ -(S)- and 7 $\beta$ -[(R)-3-(methyleneaminoxy)-2-methylpropionamido] substituted cephalosporanic acid derivatives. *IL Farmaco.* 1996;51(4):283-86.
25. Dunn GL, Hoover JRE, Berges DA, Taggart JJ, Davis LD, Dietz EM. *et al.* Orally active 7-phenylglycyl cephalosporins. Structure-activity studies related to cefatrizine (SKF 60771). *J Antibiotics.* 1976;29(1):65-80.
26. Iwamatsu K, Inouye S, Tsuruoka T, Mizutani K, Omoto S, Ogino H. *et al.* Synthesis and biological activity of 7 $\beta$ -(2-amino-2-carboxy)-ethylthioacetamido-7 $\alpha$ -methoxy cephalosporin derivatives. *J. Antibiotics.* 1983;36(3):229-41.

27. Fleischmann K, Adam F, Duerckheimer W, Hertzsch W, Hörlein R, Jendralla H. *et al.* Synthesis of HR 916 B: The first technically feasible route to the 1-(pivaloyloxy)ethyl esters of cephalosporins. *Liebigs Ann.* 1996;1735-44.
28. Yamada H, Jimpo K, Tobiki H, Komatsu T, Noguchi H, Irie K. New broad-spectrum cephalosporins with antipseudomonal activity. I. Synthesis and antibacterial activity of 7β-[D-2-[(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carbonylamino)- and (4-hydroxypyridine-3-carbonylamino)]-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido] cephalosporins. *J Antibiotics*, 1983;36(5):522-31.
29. Heymes R, Lutz A. Akyloxymes of 7-amino-thiazolyl-acetamido-cephalosporanic acids. US Patent 4, 396, 618,1983.
30. Valenci M, Japelf M. The synthesis and antibacterial activity of 3-heteroarylthiomethyl substituted aminothiazole cephalosporins antibiotics. *Acta Pharm.* 1994;44:133-43.
31. Valenci M, Japelf M, Vroom E. Synthesis of 3-thiosubstituted cephalosporins. *Acta Chim Slov.* 1996;43(2):181-88.
32. Park H, Lee YS, Lee, YS. Synthesis and biological activity of C-3 direct heterocycl carbon substituted novel cephalosporins. *J Antibiotics.* 1996;49(4):405-07.
33. Nakayama E, Watanabe K, Miyauchi M, Fujimoto K, Ide IJ. Studies on orally active cephalosporin esters. VI. Synthesis and antimicrobial activity of 3-(3-isoxazolyl)oxymethyl cephalosporins derivatives. *J Antibiotics.* 1990; 43(9):1122-30.
34. Chauvette RR, Hayes HB, Huff GL, Pennington P A. Preparation of 7-aminocephalosporanic acid and 6-aminopenicillanic acid. *J Antibiotics.*1972;25(4):248-50.
35. Spry DO, Snyder N J, Kasher JS. C(3)-cyclopropyl cepheems and carbacephems. *J Antibiotics.* 1989;42(11):1653-59.
36. Chiba T, Yamanaka H, Kawabata K, Takasugi H, Masugi T, Takaya T. Studies on β-lactam antibiotics IX. Synthesis and biological activity of a new orally active cephalosporin, cefixime (FK 027). *J Antibiotics.* 1985;38(12):1738-51.
37. Kamachi H, Narita Y, Imura S, Aburaki S, Yamashita H, Tomatsu K, Okumura, J, Naito T. Synthesis of a new series of cephalosporins having 3-substituted-ammonium-1-propenyl group at the C-3 side chain. *J Antibiotics.* 1990;43(5):533-43.
38. López MA, Rodríguez Z, González M, Valdés B; Vélez H, Agüero J, Fini A. Improvements of the synthesis of diphenylmethyl 7β-(o-hydroxy) benzyldene amino-3-hydroxymethyl-3-cephem-4-carboxylate. *IL Fármaco.* 2001;58 (8):629-31.
39. Kawabata K, Ohki H, Inamoto Y, Okuda S, Kamimura T, Sakane K. Studies on 3'-quaternary ammonium cephalosporins. III Synthesis and antibacterial activity of 3'-(3-aminopyrazolium) cephalosporins. *Bioorg Med Chem.* 1997;5(3):557-67.
40. Boyd DB, Snoddy JD. Insight into lactam antibiotics and their receptors from computational chemistry. En *Molecular aspects of chemotherapy.* Shugar D, Rode, W, Borowski E, editores. Polish Scient Publish, Warsaw, Poland; NY: Springer-Verlag: 1992:p.1-22.
41. Boyd DB. Computer-assisted molecular design studies of β-lactam antibiotics. *Frontiers of antibiotic research*, Academic Press Inc. 1987; 339-56.
42. Frau J, Donoso J, Munoz F, García BF. Semiempirical and ab initio calculations on the basis hydrolysis of β-lactam ring. Influence of the solvent. *J Mol Struct.* 1997;390:247-9.
43. Bounaim L, Smeyeres NJ, González-Jonte RH, Alvarez-Idaboy JR, Ezzamarty A, Smeyer YG. A study of the nucleophilic attack of the beta-lactamic bond of antibiotics in water solution. *J Mol Struct.* 2001;394:22-73.
44. Massova I, Mobashery S. Molecular Bases for interaction between β-lactam antibiotics and β-lactamases. *Acc Chem Res.* 1997;30:162-67.
45. Leon S, Aleman C, García M, Muñoz S. Theoretical Study of the Conformational and Electrostatic Properties of C4-Monosubstituted 2-Azetidinones. *Struct. Chem.* 1997;(8):39.
46. Boyd DB. β-lactam antibacterial agents: computational chemistry investigations. En Greenbergs A. editor. *The amide linkage: selected structural aspects in chemistry, biochemistry and material science.* USA: John Wiley & Sons, Inc: 2000:p.337-75.
47. Boyd DB, Herron DK, Lunn WH, Spitzer WA. Parabolic relationship between antibacterial activity of cephalosporins and β-lactams reactivity predicted from molecular orbital calculations. *J Am Chem Soc.* 1980;102:1812-15.
48. Choi JH, Kim H. Structure-Activity relationship, study on cephalosporins with mechanism based descriptors. *Bull Korean Chem Soc.* 1993;14:631-35.
49. Ferreira MM, Kiralj R. QSAR Study of β-lactam Antibiotic Efflux by the Bacterial Multidrug Resistance Pump AcrB. *J Chemometr.* 2004;18:242-52.
50. Mager, DE. Quantitative structure pharmacokinetic pharmacodynamic relationships. *Adv Drug Deliver Rev.* 2006;58:1326-56.
51. Turner JV, Maddalena DJ, Cutler DJ, Agatonovic-Kustrin S. Multiple Pharmacokinetic Parameter Prediction for a Series of Cephalosporins. *J Pharmaceut Sci.* 1983; 92(3):552-9
52. Dureja H, Gupta S, Kumar A. Topological Models for Prediction of Pharmacokinetic Parameters of Cephalosporins using Random Forest, Decision Tree and Moving Average Analysis *Sci Pharm.* 2008;76:377-94.