

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

65080

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 12 p, 4/01

Zgłoszono: 30.X.1968 (P 129 811)

MKP C 07 d 99/24

Pierwszeństwo: 03.XI.1967 Szwajcaria

Opublikowano: 25.V.1972

UKD

Właściciel patentu: Ciba Société Anonyme, Bazylea (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania pochodnych kwasu cefalosporanowego

1

Przedmiotem wynalazku jest nowy sposób wytwarzania pochodnych kwasu cefalosporanowego, mianowicie kwasu 3-dezacetoksymetylo-3-formylo-7-aminoizocefalosporanowego (kwasu 3-formylo-7-amino-cefem-2-4-karboksylowego) i jego pochodnych 7-acylowych o wzorze 1, w którym X oznacza atom wodoru lub resztę acylową i soli tych związków.

Jak wiadomo, związki takie wytwarza się całkowicie syntetycznie (porównaj belgijski opis patentowy nr 686 670). Ponadto wiadomo jest, że estry kwasów 0-dezacetylo-7-acyloaminocefalosporanowych utlenia się do odpowiednich związków 3-formylowych (patrz Chamberlin i inni, J. Med. Chem. 10,967 (1967), jednakże nie uzyskuje się na tej drodze wolnych kwasów 4-karboksylowych jak również estrów nie można później przekształcić w wolne kwasy 4-karboksylowe.

Nieoczekiwanie stwierdzono, że związki o wzorze 1 można wytwarzać bezpośrednio przez utlenianie związków o wzorze 2, w którym X ma wyżej podane znaczenie. Sposób według wynalazku polega na tym, że w związkach o wzorze 2 grupę oksymetylową utlenia się do grupy formylowej i na żądanie otrzymane związki o wzorze 1, w którym X oznacza atom wodoru, poddaje się acylowaniu.

Utlennianie sposobem według wynalazku prowadzi się korzystnie przy pomocy środków utleniających używanych do utleniania na aldehydy pierwszorzędowych alkoholi, zwłaszcza α , β — alkoholi niena-

2

syconych, zaś nie utleniających atomu siarki znajdującego się w pierścieniu dwuhydroksytriazyny. Wchodzą w grę np. nadające się do tego celu zwłaszcza takie środki jak kwas chromowy, dwutlenek manganu, nadtlenek niklu, węglan srebra na obojętnym nośniku np. żelu krzemionkowym, N-bromoacetamidzie, N-bromoimidzie bursztynowym, 2,3,5,6-czterochloro-1,4-benzochinonie i przede wszystkim 2,3-dwuchloro-5,6-dwucyjano-1,4-benzochinonie.

Reakcję prowadzi się w obojętnym rozpuszczalniku np. dioksanie, czterowodorofuranie, sulfotlenku dwumetylu, octanie etylu, chlorowanych węglowodorach jak chloroform lub chlorek metylenu, korzystnie w temperaturze pokojowej lub nieco podwyższonej (do 100°C).

Związki o wzorze 2 stosowane jako substancje wyjściowe otrzymuje się z dobrą wydajnością przez mikrobiologiczną dezacetylację odpowiednich kwasów izocefalosporanowych za pomocą drobnoustrojów stosowanych w znanych sposobach przy dezacetylacji kwasów cefalosporanowych, jak drobnoustroje wymienione w brytyjskim opisie patentowym nr 1.080.904 np. *Bac subtilis* ATCC 6633. Nieoczekiwanym jest fakt, że drobnoustroje zdolne są także do dezycetylowania kwasów izocefalosporanowych, chociaż te kwasy posiadają prawdopodobnie konformację znacznie różniącą się od konformacji kwasu cefalosporanowego (porównaj Abrahama, Quarterly Rev. 21, 239 (1967)).

W związkach o wzorze 2, stosowanych jako sub-

stancje wyjściowe reszta acylowa X oznacza resztę alifatycznego, aromatycznego, heterocyklicznego, aralifatycznego lub heterocykliczno-alifatycznego kwasu karboksylowego lub oznacza resztę pochodzącą od kwasu węglowego np. resztę III-rzęd, butyloksykarboksylową. X oznacza zwłaszcza resztę acylową aktywnego kwasu 7-acyloaminocefalospo-
 ranowego, jak resztę o wzorze $R_2(CH_2)_nCO$, w którym n oznacza liczbę całkowitą 0—4, korzystnie 1, grupa CH_2 ewentualnie może być podstawiona grupą aminową, cyjanową, wolną lub zestryfikowaną grupą karboksylową, zestryfikowaną grupą hydroksylową lub karbametylą, zaś R_2 oznacza niepodstawioną lub podstawioną resztę aryłową, aryloksylową, aryliotio, cykloalkilową, heterocyklotio, np. 2,6-dwumetoksybenzoyl, czterowodoronaftoyl, 2-metoksynaftoyl, 2-etoksynaftoyl, fenyloacetyl, fenoksyacetyl, S-fenyliotioacetyl, S-bromofenyliotioacetyl, α -fenyloksypropionyl, α -fenyloksydenyloacetyl, α -metoksydenyloacetyl, α -metoksy-3,4-dwuchlorofenyloacetyl, α -cyjanofenyloacetyl, benzyloksykarbamyl, S-benzylotioacetyl, S-benzylotiopropionyl, sześciowodorobenzyloksykarbonyl, cyklopentanoil, 2-tienyloacetyl, α -cyjano-2-tienyloacetyl, 3-tienyloacetyl, 2-furyloacetyl, 2-fenyl-5-metyloizoksazoylkarbonyl, 2-(2'-chlorofenyl)-5-metyloizoksazoylkarbonyl lub oznacza resztę o wzorze $C_nH_{2n+1}CO$ lub $C_nH_{2n-1}CO$, w którym n oznacza liczbę całkowitą 1—7, a łańcuch jest prosty lub rozgałęziony i ewentualnie zawiera mostek tlenowy lub siarkowy albo podstawiony jest chlorowcem, grupą trójfluorometyl, cyjan, amin, nitro, karboksyl np. oznacza resztę propionyl, butyryl, heksanoil, oktanoil, butyliotioacetyl, akrylil, krotonyl, 2-pentenol, allilotioacetyl, chloroacetyl, β -bromopropionyl, aminoacetyl, α -karboksypionyl, cyjanometyl, α -cyjano- β -dwumetyloakroil.

Reszta acylowa X w związkach o wzorze 2, może też oznaczać resztę o wzorze $R-NH-CO-$, w którym R jest resztą węglowodoru aromatycznego lub alifatycznego ewentualnie podstawioną, zwłaszcza niższą resztę alkilową podstawioną niższą grupą alkoksylową i/lub atomami chlorowców.

Wolne kwasy mogą być przeprowadzane w znany sposób w odpowiednie sole. Solami tymi są bądź sole z metalami, przede wszystkim z metalami dającymi się zastosować terapeutycznie, metalami alkalicznymi lub metalami ziem alkalicznych jak sól, potas lub wapń, bądź sole z zasadami organicznymi np. z trójetyloaminą, N-etylopiperidyną, dwubenzyletylidenodwuaminą, prokainą.

Produkty końcowe o wzorze 1 posiadają działanie bakteriobójcze jak wykazały np. badania in vitro. Działają one np. na Staphylococcus aureus. Związki te mogą być przeto stosowane do zwalczania infekcji wywołanych takimi drobnoustrojami, ponadto mogą być stosowane jako dodatki do pasz, stosowane do konserwacji środków spożywczych lub jako środki dezynfekujące. Mogą być także stosowane jako półprodukty do wytwarzania innych pochodnych kwasu izocefalospo-
 ranowego jak pochodne opi-
 sane we francuskim opisie patentowym nr 1 495 049

i jako odpowiednie pochodne kwasu cefalospo-
 ranowego. Izomeryzacja do pochodnych kwasu cefalospo-
 ranowego następuje np. według sposobu opisa-
 nego we francuskim opisie patentowym nr 1 495 049
 przez traktowanie środkami słabo zasadowymi.

Nowe kwasy i ich sole mogą znaleźć zastosowanie jako leki np. w postaci preparatów farmaceutycznych. Produkty te zawierają związki według wynalazku w mieszaninie ze stałymi lub ciekłymi nośnikami nadającymi się do stosowania dojelitowo, pozajelitowo lub miejscowo, przyjętymi do stosowania w farmacji, pochodzenia organicznego lub nieorganicznego. Do wytwarzania takich preparatów brane są pod uwagę substancje, które nie reagują z nowymi związkami np. takie jak woda, żelatyna, laktoza, skrobia, alkohol stearylowy, stearynian magnezu, talk, oleje roślinne, alkohole benzylowe, guma, glikol propylenowy, glikole polialkilenowe, wazelina, cholesterol lub inne znane nośniki leków.

Preparaty farmaceutyczne mogą być sporządzane np. w postaci tabletek, drażetek, maści, kapsulek, kremów lub w postaci płynnej jako roztwory, zawiesiny lub emulsje. Ewentualnie mogą być sterylizowane i/albo zawierać środki pomocnicze, jak środki konserwujące, stabilizujące, zwilżające, emulgujące, środki ułatwiające rozpuszczanie lub sole w celu zmiany ciśnienia osmotycznego albo bufory. Mogą one także zawierać inne substancje terapeutycznie czynne. Preparaty te otrzymuje się znanymi sposobami.

Następujące przykłady wyjaśniają sposób według wynalazku bez ograniczenia jego zakresu. Temperatury są podane w stopniach Celsjusza. Do chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemowym zastosowano następujące układy rozpuszczalników:

układ 52: n-butanol, lodowaty kwas octowy, woda
 (75 : 7,5 : 21)

układ 67: n-butanol, etanol, woda
 (40 : 10 : 50)

układ 92: n-butanol, lodowaty kwas octowy, woda
 (40 : 10 : 40)

Przykład. 2,79 g kwasu 3-hydroksymetylo-7-fenylotioaminocefemo-2-karboksylowego-4 (8,0 milimola) rozpuszczono w 85 ml absolutnego dioksanu i zadano 2,29 g 2,5-dwuchloro-5,6-dwucyjan-
 -1,4-benzochinonu (10,0 milimola). Klarowną mieszaninę reakcyjną pozostawiono w temperaturze 45°
 w ciągu 20 godzin, a następnie w ciągu 2 godzin w temperaturze około 5°. Wytrącony 2,3-dwuchloro-
 -5,6-dwucyjanohydrochinon w postaci krystalicznych płatków odsączono, przesącz odparowano do sucha pod próżnią, pozostałość rozproszono w małej ilości octanu etylu, a roztwór przesączono.

Roztwór w octanie etylu rozcieńczony do objętości 240 ml ekstrahowano chłodząc porcjami raz 120 ml i dwa razy po 90 ml 0,5 M wodorofosforanu dwupotasowego. Fazę wodną przemyto dwoma porcjami po 150 ml octanu etylu, rozwarstwiono ją przy pomocy 250 ml octanu etylu ochłodzonego lodem i nastawiono wartość pH na 2,1 za pomocą stężonego kwasu fosforowego podczas energicznego mieszania. Fazę wodną oddzielono, nasycono solą

kuchenną i przemyto dwoma porcjami octanu etylu (150 ml, 130 ml). Organiczny ekstrakt przemyto czterokrotnie po 70 ml nasyconym roztworem soli kuchennej. Po wysuszeniu siarczanem sodu i odparowaniu rozpuszczalnika pozostało 3,76 g bezpostaciowego produktu chromatograficznie prawie jednorodnego. Tę pozostałość poddano chromatografowaniu na 180 g żelu krzemowego (E. Merck).

Wyodrębniono 1,5 g kwasu 3-formylo-7-fenyl-o-acetyloaminocefemo-2-karboksylowego-4 chromatograficznie czystego w układzie chlorek metylenu: octan etylu (4 : 1 objętościowo). $R_{f52} = 0,39$, $R_{f67} = 0,27$, $R_{f92} = 0,53$. Z frakcji zanieczyszczonych wyodrębniono za pomocą ponownej chromatografii kolumnowej dalsze 0,663 g czystego produktu. Substancja krystalizuje z mieszaniny metanolu i chlorku metylenu podczas dodawania metanolu (według ciężaru równoważnikowego i widma rezonansu jądra) temperatura topnienia 137,5—138,5°.

Widmo w nadfiolecie = 95% etanolu

$\lambda_{\max} = 288 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 18'850$)

$\lambda_{\min} = 246 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 2'075$).

Wartości przeliczono na ciężar równoważnikowy 389,09. Skracalność optyczna: $(\alpha)_D^{23} = + 580 \pm 1^\circ$ ($C = 1,168$ w dioksanie).

Substancję wyjściową otrzymano jak następuje: 3,40 g (8,7 milimola) kwasu 3-acetoksymetylo-7-fenyl-o-acetyloaminocefemo-2-karboksylowego-4 roztworzono w 70 ml destylowanej wody. Nastawiono wartość pH na 7,3 przez dodanie 1-n ługu sodowego podczas mieszania mieszadłem wiracyjnym.

Roztwór ogrzano do temperatury 35° na łaźni termostatowej i zadano 400 mg liofilizatu komórkowego z *Bacillus subtilis* ATCC 6633 w 3 ml wody. Wartość pH = 7,4 ustalono na stałe za pomocą dodawania 1-n ługu sodowego okresowo je sprawdzając. Po upływie około 2,5 godziny wprowadzono ilość teoretycznie zapotrzebowanej ilości ługu. Mieszaninę pozostawiono do przereagowania aż do momentu, gdy wartość pH roztworu reakcyjnego w ciągu wielogodzinnego stania w temperaturze pokojowej nie uległa zmianie.

W celu dalszej obróbki dodano dla rozwarstwienia 300 ml ochłodzonego octanu etylu i zakwaszono mieszaninę do wartości pH = 2,0 podczas energicznego mieszania. Fazę wodną po rozdzieleniu warstw wysyciono solą kuchenną i ekstrahowano dwoma porcjami zimnego octanu etylu po 250 ml. Fazy organiczne przemyto 5-krotnie po 60 ml nasyconym roztworem soli kuchennej, wysuszono nad siarcza-

nem sodu i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość 2,974 g surowego produktu chromatograficznie jednorodnego odpowiada wydajności 98,3%. Wielokrotna krystalizacja z mieszaniny octanu etylu daje 2,884 g białych kryształów w postaci igieł (95,3%), które topią się w temperaturze 156—156,5°.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania pochodnych kwasu cefalosporanowego o wzorze 1, w którym X oznacza atom wodoru lub resztę acylową, **znamienny tym**, że w związku o wzorze 2, w którym X ma wyżej podane znaczenie utlenia się grupę hydroksymetylową do grupy formylowej i otrzymany związek o wzorze 1, w którym X oznacza atom wodoru, ewentualnie acyluje się, po czym otrzymany kwas ewentualnie przeprowadza się w sól lub sól przeprowadza w wolny kwas.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że do utleniania stosuje się środki utleniające, nadające się do utleniania pierwszorzędowych alkoholi do aldehydów i nie utleniające atomu siarki w pierścieniu dwuwodorotriazyny.

3. Sposób według zastrz. 1—2, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się za pomocą znanych środków utleniających, które utleniają α, β -nienasycone alkohole do aldehydów.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się za pomocą 2,3-dwuchloro-5,6-dwucyjano-1,4-benzochinonu.

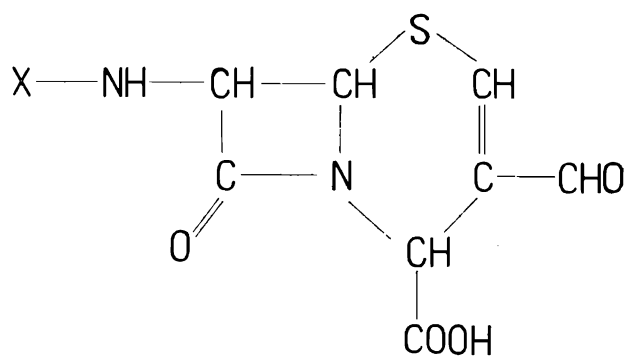
5. Sposób według zastrz. 1—4, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w obojętnym rozpuszczalniku.

6. Sposób według zastrz. 1—5, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2, w którym X oznacza resztę kwasu karboksylowego.

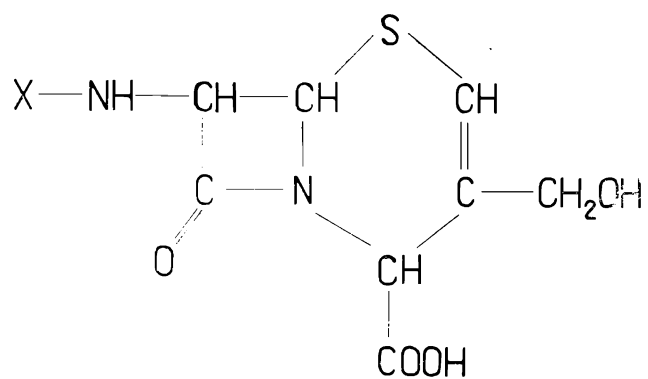
7. Sposób według zastrz. 1—5, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2, w którym X oznacza resztę fenyloacetylową.

8. Sposób według zastrz. 1—7, **znamienny tym**, że stosuje się substancje wyjściowe o wzorze 2 wytwarzane przez dezacetylację za pomocą drobnoustrojów odpowiednich związków kwasu izocefalosporanowego zamiast grupy hydroksymetylowej grupę acetoksyloową.

9. Sposób według zastrz. 8, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2 otrzymany na drodze dezacetylacji związków kwasu izocefalosporanowego za pomocą *Bacillus subtilis* ATCC 6633.



Wzór 1



Wzór 2