



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 14.06.71 (P. 176079)

Pierwszeństwo: 30.04.71 Wielka
Brytania

Zgłoszenie ogłoszono: 30.07.73

Opis patentowy opublikowano: 15.11.1981

Int. Cl.² C07D 501/20
C07D 501/60
//A61K 31/545

Twórca wynalazku _____

Uprawniony z patentu: Merck and Co., Inc., Rahway, New Jersey (Stany Zjednoczone Ameryki)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych 7-acyloamidocefalosporyn

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych 7-acyloamidocefalosporyn. Jedną z metod wytwarzania cefalosporyn stosowanych w medycynie jako antybiotyki jest przekształcanie cefalosporyny C do kwasu 7-aminocefalosporanowego i następnie jego acylowanie celem wytworzenia pożądanej pochodnej 7-aminocefalosporyny.

Sposób ten ma tę wadę, że wymaga wyizolowania i oczyszczania produktu pośredniego kwasu 7-aminocefalosporanowego.

Stwierdzono również, że niektóre mikroorganizmy wytwarzają cefalosporyny, mające przy atomie C-7 podstawnik metoksyloowy. Te cefalosporyny mają również grupę aminoadypoilową, którą korzystnie jest zastąpić inną grupą acylową w celu wytworzenia cefalosporyn o zwiększonej skuteczności antybiotycznej.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych 7-acyloamidocefalosporyn o ogólnym wzorze 30, w którym R₁ oznacza atom wodoru lub grupę metoksy, A oznacza niższą grupę alkanoiloksy o 2—6 atomach węgla lub grupę karbamoiloksy, R₁₀ oznacza atom wodoru, grupę azydową, karboksylową lub hydroksylową, R₁₁ oznacza fenyl, 2-furyl, 3-furyl, 2-tienyl, 3-tienyl, 3-izotiazolil, 4-izotiazolil, 5-izotiazolil, 1,2,5-tiadiazolil, 4-pirydyli, tetrazolil, albo chlorofenyl, R₄ oznacza atom wodoru, grupę metylową, etylową,

2

III.rz.-butylową, ftaloimidometyl, sukcynoimidometyl, fenacyl, p-bromofenacyl, 2,2,2-trójkloroetyl, 2-metylotioetyl, 2-/p-metylofenylo-/etyl, 2-/p-metylofenylo-/sulfonyloetyl, 2-metyloaminoetyl, 2-chloroetyl, 2-bromoetyl, benzyl, p-nitrobenzyl, p-metoksybenzyl, 3,5-dwunitrobenzyl, 2,4,6-trójmetylobenzyl, 3,5-dwuchloro-4-hydroksybenzyl, benzhydryl, p-metoksybenzhydryl, fenyl, acetoksymetyl, piwaloiloksymetyl, metoksymetyl, p-nitrofenyl albo 3,5-dwunitrofenyl, który polega na tym, że związek o wzorze 31, w którym R₂ oznacza grupę trójkloroetoksykarbonylową, III.rz.-butoksykarbonylową, benzoilometoksykarbonylową, trójmetylosililową, p-metoksybenzylkarbonylową, 2-nitrofenylosulfonylową, 2,4-dwunitrofenylosulfonylową, chloroacetylową albo o-nitrofenyloetyl, R₁, A i R₄ mają wyżej podane znaczenie a X oznacza atom tlenu lub siarki, poddaje się reakcji z równomolową ilością środka acylującego o wzorze 32, w którym R₁₀ i R₁₁ mają wyżej podane znaczenie wraz z nadmiarem środka silylującego takiego jak N-/trójmetylosililo-/acetamid, N-/trójpropylosililo-/acetamid, N-/trójbutylosililo-/acetamid, N-/trójfenylosililo-/acetamid albo N-/trójbenzylosililo-/acetamid, N, O-bis/trójfenylosililo-/acetamid, N, O-bis-/trójbenzylosililo-/acetamid, N-/trójmetylosililo-/trójfluoroacetamid, N-/trójbutylosililo-/trójfluoroacetamid, N-/trójmetylosililo-/benzamid, N-/trójmetylosililo-/dwufenylo-mocznik, N-/trójmetylosililo-/etylokarba-

minian, N-/trójfenylosililo/-sukcynamid, N-/trójmetylosililo/-ftalimid, N-/trójmetylosililo/-benzenosulfonamid, N-/trójmetylosililo/-uretan, N-/trójmetylosililo/-ftalimid, monosililo-/trójfluoroacetamid albo bis-/etoksykarbonyloamino/-dwumetylosilan w neutralnym rozpuszczalniku w temperaturze 25–70°C w ciągu 3–65 godzin dodaje się ewentualnie niższy alkanol albo niższy alkiolol o 1–6 atomach węgla w części alkilowej, alkohol benzytowy, 2,5 n HCl lub wodny roztwór kwaśnego węglanu sodowego i wydziela się produkt.

Stwierdzono, że według wynalazku związki cefalosporynowe mogą być transacylowane według schematu 1, w którym B' i R' oznaczają grupy acylowe, R₁ oznacza atom wodoru, albo podstawnik taki jak grupa metoksylova, R'' oznacza atom wodoru lub grupę blokującą, a A oznacza atom wodoru lub podstawnik organiczny nie poddający się działaniu opisanych warunków reakcji albo tworzący się podczas odszczepiania którejkolwiek z grup blokujących lub ochronnych.

Na schemacie 1 przedstawiono reakcję związku o wzorze 1 ze środkiem acylującym w obecności czynnika sililującego z wytworzeniem związku 7-dwuacyloamidocefalosporynowego o wzorze 2, który następnie rozszczepia się do związku 7-acyloamidocefalosporynowego o wzorze 3.

Etap wytwarzania dwuacylowanego produktu najlepiej przebiega przy ścisłym kontakcie związku cefalosporynowego ze środkiem acylującym w odpowiednim rozpuszczalniku w obecności czynnika sililującego. Temperatura reakcji nie jest szczególnie krytycznym parametrem, a temperatury w zakresie 20–100° są na ogół wystarczające, jednak według wynalazku przyjmuje się za korzystną temperaturę 25–70°C. Jako środowisko reakcji odpowiednie są rozpuszczalniki nie posiadające aktywnego atomu wodoru, a więc chloroform, acetonitryl, chlorek metylenu, dioksan, benzen, chloroobenzen, czterochlorek węgla, eter dwuetylowy i temu podobne.

Środkiem acylującym może być halogenek acylowy, bezwodnik kwasowy lub bezwodnik mieszaniny, przy czym korzystne są halogenki acylowe, na przykład chlorek acetylu.

Związki azotowo-krzemowe są przydatne jako czynniki sililujące na ogół o ogólnym wzorze (R₅)_n-Si-(NHR₁₀)_m, w którym R₅ oznacza grupę alkilową, arylową, albo aryloalkilową o 1–8 atomach z których każda może być ewentualnie podstawiona grupami cyjanowymi lub atomami chlorowca, n i m ma wartość 2 albo 3, R₁₀ oznacza grupę zawierającą ugrupowanie acylowe kwasu węglowego, karboksylowego, karbaminowego, sulfonowego, sulfaminowego, sulfinowego, fosfonowego, fosforowego i temu podobne. Przykłady takich czynników sililujących przedstawiają wzory 15–27, w których R₅ ma wyżej podane znaczenie, R₆ oznacza atom wodoru lub oznacza grupę o znaczeniu podanym dla R₅, R₇, R₈ i R₉ każdy oznacza grupę alkilową, arylową lub aryloalkilową, o 1–8 atomach węgla, B grupę alkilenową o 2–5 atomach węgla, a D ma takie znaczenie jak B albo monopierścieniową grupę arylową.

Jako specjalne czynniki sililujące mogą być wymienione trójhydrokarbylosililo amidy takie jak N-/trójmetylosililo/-acetamid, N-/trójpropylosililo/-acetamid, N-/trójbutylosililo/-acetamid, N-/trójfenylosililo/-acetamid, N-/trójbenzylosililo/-acetamid, N,O-bis-/trójmetylosililo/-acetamid, N,O-bis-/trójfenylosililo/-acetamid, N,O-bis-/trójbenzylosililo/-acetamid, N-/trójmetylosililo/-trójfluoroacetamid, N-/trójbutylosililo/-trójfluoroacetamid, N-/trójmetylosililo/-benzamid, podstawione krzemem moczniki takie jak N-/trójmetylosililo/-dwufenylomocznik, N,N-bis-/trójmetylosililo/-dwufenylomocznik, sililo-uretany takie jak N-/trójmetylosililo/-uretan, N-/trójmetylosililo/-etylokarbaminian, sililimidy takie jak N-/trójmetylosililo/-sukcynimid albo N-/trójmetylosililo/-ftalimid, monosililo-/trójfluoroacetamid, sililo-sulfonamidy takie jak N-/trójmetylosililo/-benzenosulfonamid, reagenty dwualkilo-, dwuarylo- albo dwuaryloalkilo-sililowe takie jak bis-/etoksykarbonyloamino/-dwumetylo-silan i temu podobne.

W podstawniku w pozycji 3 wzorów 1, 2 i 3 —CH₂A A oznacza atom wodoru, albo podstawniki znane w chemii cefalosporyn.

Jeżeli A oznacza grupę hydroksylową to może ona występować w postaci laktanowej utworzonej przy udziale grupy karboksylowej w pozycji 4, a jeśli A oznacza grupę aminową to może ona występować w postaci laktamu utworzonego z udziałem grupy karboksylowej w pozycji 4. Podstawnik A może oznaczać atom chlorowca, grupę azydową, alkoksylową, aryloksylową, aryloalkoksylową, heterocykloksylową, merkaptol, alkiolol, aryliolol, aryloalkilolol, heterocyklotolol, aminową, alkioloaminową, alkanoloaminową, hydroksyfenylową, acyliolol, acyloksy, sulfomoioksy i temu podobne.

Grupy heterocykliczne mogą mieć 5- lub 6-członowe pierścienie, zawierające jeden lub więcej atomów azotu, tlenu lub siarki.

Grupami acylowymi mogą być niższe grupy alkanoilowe o 2–6 atomach węgla, karbamoilowe, tiokarbamoilowe i N-alkilo- albo N,N-dwualkiloowymi ich pochodnymi.

Grupy alkilowe wyżej wymienionych podstawników zawierają 1–6 atomów węgla i mogą być ewentualnie podstawione takimi podstawnikami jak atom chlorowca, grupa aminowa, alkoksylowa, cyjanowa, karboksylowa, sulfonowa i temu podobne.

Podstawniki we wzorach 1, 2 i 3 oznaczone jako B' i R' korzystnie oznaczają rodniki kwasów karboksylowych. Przykłady rodników o ogólnym wzorze R₁₁R₁₀-CHCO-, w którym jak to określono niżej R₁₀ i R₁₁ stanowią korzystną grupę podstawników ze względu na ich ogólnie przydatną aktywność antybiotyczną. R₁₀ oznacza atom wodoru, chlorowca, grupę aminową, guanidynową, fosfonową, hydroksylową, tetrazolilową, karboksylową, sulfonową, sulfonaminową a R₁₁ oznacza grupę fenylova, podstawioną grupę fenylova, jednopierścieniową 5- lub 6-członową grupę heterocykliczną zawierającą jeden lub więcej atomów tlenu, siarki lub azotu, podstawioną grupę heterocykliczną, fenyliolol, ewentualnie podstawioną grupę hetero-

cyklotio, albo grupę cyjanową. Podstawnikami mogą być atom chlorowca, grupa karboksymetylowa, guanidynowa, guanidynometylowa, karbokaminometylowa, aminometylowa, nitrowa, metoksylova albo metylowa.

Korzystnymi przykładami takich podstawników są grupa fenacetylowa, 3-bromo-feniloacetylowa, p-aminoetylofeniloacetylowa, 4-karboksymetylofeniloacetylowa, 4-karboksyamidometylofeniloacetylowa, 2-furyloacetylowa, 5-nitrofuryloacetylowa, 3-furyloacetylowa, 2-tienyloacetylowa, 5-chlorotienyloacetylowa, 5-metoksytienyloacetylowa, α -guanidyno-2-tienyloacetylowa, 3-tienyloacetylowa, 4-metylotienyloacetylowa, 3-izotiazoliloacetylowa, 4-metoksyizotiazoliloacetylowa, 4-izotiazoliloacetylowa, 3-metyloizotiazoliloacetylowa, 5-izotiazoliloacetylowa, 3-chloroizotiazoliloacetylowa, 3-metylo-1,2,5-oksadiazoliloacetylowa, 1,2,5-tiadiazolilo-4-acetylowa, 3-metylo-1,2,5-tiadiazolilo-4-acetylowa, 3-chloro-1,2,5-tiadiazolilo-4-acetylowa, 3-metoksy-1,2,5-tiadiazolilo-4-acetylowa, fenylotioacetylowa, 4-pirydylotioacetylowa, cyanoacetylowa, tetrazoliloacetylowa, α -fluorofeniloacetylowa, D-fenylglicylova, 3-hydroksy-D-fenylglicylova, 2-tienyloglicylova, 3-tienyloglicylova, fenylomalonylova, 3-chlorofenylomalonylova, 2-tienylomalonylova, 3-tienylomalonylova, α -fosfono-feniloacetylowa, α -sulfaminofeniloacetylowa, α -hydroksyfeniloacetylowa, α -tetrazolilofeniloacetylowa i α -sulfonylofeniloacetylowa.

Etap odszczepienia pierwotnej grupy acylowej można przeprowadzić między innymi przedłużając okres reakcji, przez dodatek alkoholu takiego jak niższy alkanol lub tiol, albo przez hydrolizę w wodnym roztworze zawierającym niewielką ilość kwasu lub zasady. Tak więc odszczepienie może nastąpić przez dodatek niższego alkanolu lub niższego tiolu o 1—6 atomach węgla; aryloalkanolu takiego jak alkohol benzylovy, albo odpowiedniego tiolu z innymi związkami powodującymi odszczepienie hydrolityczne w wodzie.

W korzystnej wersji sposobu według wynalazku stwierdzono, że cefalosporyny wytworzone na drodze fermentacji mogą być przekształcone w pochodne mające inną grupę acylową zamiast grupy aminoacylowej bez uprzedniego odszczepiania tej grupy i następnej reakcji powstałego związku 7-aminowego. Sposób według wynalazku umożliwia łatwe wytwarzanie związków cefalosporynowych i produktów pośrednich przydatnych w tym sposobie.

Ogólnie przebieg procesu przedstawia schemat 2. We wzorach na tym schemacie R_1 oznacza atom wodoru lub grupę metoksylova. A oznacza atom wodoru lub podstawnik nie ulegający działaniu warunków reakcji, albo przekształcający się w niego podczas usuwania którejkolwiek z grup blokujących lub ochronnych, R' oznacza grupę acylową, R'' oznacza atom wodoru albo podstawnik blokujący albo ochronny a R_2 oznacza podstawnik blokujący albo ochronny.

Zgodnie ze schematem związek cefalosporynowy o wzorze 4, albo jego pochodna o wzorze 5, w której podstawnik aminowy i/lub grupa kar-

boksylowa są blokowane lub chronione, poddaje się działaniu czynnika acylującego w obecności związku siliłowego celem wytworzenia pośredniego produktu dwuacylowanego o wzorze 6 albo 7. Człon aminoacylowy poddaje się następnie selektywnemu rozszczepieniu z wytworzeniem nowego acylowanego związku cefalosporynowego o wzorze 8, albo jego soli w przypadku gdy R'' oznacza atom wodoru. Tak więc choć sposobem według wynalazku można realizować bez blokowania lub ochrony grupy aminowej i karboksylowej wyjściowego związku cefalosporynowego, to korzystniejsze jest prowadzenie procesu z uprzednim zablokowaniem lub ochroną obu tych grup to znaczy aminowej jak i karboksylowej, ponieważ zapewnia to maksymalną wydajność pożądanego nowego związku cefalosporynowego.

Ilustrację, bardziej szczegółową takiego korzystnego przebiegu sposobu według wynalazku przedstawia schemat 3, na którym R' oznacza atom wodoru lub grupę metoksylova, R_2 i R_3 oznaczają grupy blokujące lub ochronne, A' oznacza grupę acylową, a R' oznacza grupę acylową. Zgodnie z tym schematem wyjściowy związek cefalosporynowy o wzorze 9 jest najpierw blokowany na drodze reakcji z odpowiednim reagentem celem ochrony podstawnika 5'-aminowego (wzór 10).

Grupa aminowa może być zablokowana metodą znaną przez takie grupy jak acylowa lub aryloilo- wa, alkoksykarbonylova, alkilsulfonylova, arylo- sulfonylova i temu podobne. Szczególnie do ochrony grupy aminowej mogą być wskazane grupa trójchloroetoksykarbonylova, IIIrz-butoksykarbonylova, benzoilometoksykarbonylova, trójmetylo- siliilowa, p-metoksybenzoiloksylova, 2-nitrofenylo- sulfenylova, 2,4-dwunitrofenylosulfenylova, chloroacetamidowa, orto-nitrofenylotio i temu podobne, przy czym jako korzystną należy wymienić po- chodną trójchloroetoksykarbonylova, która — do- godnie wytwarza się na drodze reakcji związku ce- falosporynowego z chlorkiem trójchloroetoksykar- bonylowym w obecności neutralizatora kwasu ta- kiego jak zasada lub sól zasadowa, na przykład fosforan dwualkilowy i temu podobne.

Korzystne jest na ogół prowadzenie tej reakcji ze związkami cefalosporynowymi, w których grupa karboksylowa jest podobnie blokowana lub chro- niona (wzór 11), ponieważ zapewnia to maksymal- ną wydajność docelowego produktu. Jako grupy blokujące lub ochronne korzystne są takie, które mogą być usunięte z wytworzeniem wolnego kwasu bez uszkodzenia ugrupowania β -laktamowe- go, ponieważ związki cefalosporynowe przeważnie stosuje się w postaci soli takich jak sole metalu alkalicznych lub aminowych. Przydatne w tym ce- lu grupy są znane w stanie techniki.

Przykładami odpowiednich pochodnych są estry alkoholi, fenoli, merkaptanów i tiofenoli o ogólnym wzorze —COXR_4 , w którym R_4 oznacza rod- nik alkoholu lub tiolu na przykład metyl, etyl, IIIrz-butyl, podstawiony alkil, taki jak ftalimido- metyl, sukcydimidometyl, fenacyl, podstawiony fe- nacyl, na przykład p-bromofenacyl, β -podstawio- na grupa etylowa jak 2,2,2-trójchloroetyl, 2-mety-

lotioetyl, 2-/p-metylofenilo/-etyl, 2-/p-metylofenilo/-sulfonyloetyl, 2-metyloaminoetyl, 2-chloro-etyl albo 2-bromo-etyl, benzyl, podstawiony benzyl, jak p-nitro-benzyl, p-metoksy-benzyl, 3,5-dwunitro-benzyl, 2,4,6-trójmetrylo-benzyl, 3,5-dwuchloro-4-hydroksy-benzyl i temu podobne, benzhydryl albo podstawiony benzhydryl jak p-metoksy-benzhydryl, grupa acyloksy-alkilowa jak acetoksymetylowa, piwaloiloksymetylowa, grupa alkoksylowa, jak metoksymetylowa, albo monocykliczna grupa arylowa na przykład fenylova, lub podstawiona fenylova jak p-nitrofenylova, albo 3,5-dwunitrofenylova. Te grupy ochronne lub blokujące podstawnik karboksylowy wytwarza się znanymi metodami.

Tak ochroniony związek cefalosporynowy poddaje się reakcji ze środkiem acylującym w obecności związku siliowego takiego jak opisano wyżej celem wytworzenia imidu lub produktu dwuacylowanego (wzór 12). Środkiem acylującym może być halogenek (chlorek lub bromek) kwasowy lub jego funkcjonalną pochodną taką jak bezwodnik kwasowy, merkaptyd, mieszaný bezwodnik z innym kwasem karboksylowym, aktywowany ester kwasu karboksylowego taki jak ester p-nitrofenylowy i temu podobne.

Korzystnym czynnikiem acylującym w sposobie według wynalazku są pochodne kwasów karboksylowych. Korzystne grupy acylowe oznaczające podstawnik R' mają wzór ogólny 28, w którym X oznacza atom wodoru, chlorowca, grupę aminową, guanidynową, fosfonową, hydroksylową, tetrazolową, karboksylową, sulfonową, albo sulfonaminową, R_3 oznacza fenyl, podstawiony fenyl, jednopierścieniową, 5- albo 6-członową resztę heterocykliczną, zawierającą jeden lub więcej atomów tlenu, siarki, albo azotu, podstawioną grupę heterocykliczną, fenyltio, fenyloksi, ewentualnie podstawioną grupę tioheterocykliczną, niższą grupę alkilową o 1–6 atomach węgla, grupę cyjanową, przy czym grupy R_3 mogą być ewentualnie podstawione atomem chlorowca, grupą karboksymetylową, guanidynową, guanidynometylową, karboksamidometylową, aminometylową, nitrową, metoksylova, albo metylova.

W przypadku gdy czynnik acylujący zawiera grupy takie jak aminowe czy karboksylowe, to mogą one być blokowane lub chronione podczas acylowania a następnie uwalniane metodami znanymi w stanie techniki. Alternatywnie czynnik acylujący może zawierać grupę azydową, która może być zredukowana znanymi metodami do grupy aminowej.

Specjalnie korzystnymi czynnikiem acylującymi są takie, które zawierają grupę acetylową względnie podstawioną grupę acetylową jak fenylaoetyl, tienylaoetyl (2- i 3-), furylaoetyl (2- i 3-), fenoksyacetyl, fenyltioaoetyl, α -azydofenylaoetyl, i temu podobne, ponieważ wytworzone acylowane związki cefalosporynowe mają zwiększoną aktywność antybiotyczną.

Sposób według wynalazku korzystnie przebiega ze związkami $3-CH_2OA'$ -cefalosporynowymi, w których A' oznacza grupę acylową.

Przykładem takich grup acylowych mogą być

wspomniane już niższe grupy alkanoilowe (C_2-C_6) a zwłaszcza acetyl i karbamoil, ponieważ związki cefalosporynowe mające te grupy wykazują zwiększoną aktywność antybiotyczną, przy czym grupa acetylowa może być łatwo zastąpiona celem wytworzenia innych 3-podstawionych związków cefalosporynowych, metodami znanymi ze stanu techniki.

Jako czynnik siliujący korzystnie stosuje się związki trójorganosililowe albo dwuorganosililowe takie jak opisano wyżej. Szczególnie przydatne są w tym celu związki trójalkilosililowe, a zwłaszcza trójmetrylosililowe, które są łatwo dostępne. Przykłady takich związków trójalkilosililowych przedstawiono wzorami 15–25, z których przykładowo można wymienić N-trójmetrylosililoacetamid, N-trójmetrylo-sililo-trójfluoroacetamid, N,0-bis /trójmetrylosililo/-trójfluoroacetamid, N-trójmetrylosililo-benzenosulfonamid, N-trójmetrylosililo-metylosulfonamid, N-trójmetrylosililomocznik, N,N-bis /trójmetrylosililo/-mocznik, N-trójmetrylosililo-N,N'-dwufenylomocznik, N-trójmetrylosililo-N,N'-dwumetylomocznik, N-trójmetrylosililo-etylouretan, N-trójmetrylosililo-metylouretan, N-trójmetrylosililo-benzylouretan, N-trójmetrylosililo-ftalimid, i inne związki trójalkilosililowe takie jak odpowiednie związki trójetylowe.

Przekształcenie imidowego chronionego związku cefalosporynowego 11 w związek dwuacylowany 12 prowadzi się korzystnie przez ścisły kontakt związku cefalosporynowego z czynnikiem acylującym w odpowiednim rozpuszczalniku w obecności związku siliowego.

Temperatura prowadzenia tej reakcji nie jest krytyczna, a temperatury $-20-100^\circ C$ są w zasadzie wystarczające, jednak korzystnie reakcję prowadzi się w zakresie temperatur $25-70^\circ C$.

Jako medium reakcji odpowiednie są rozpuszczalniki nie zawierające aktywnego atomu wodoru takie jak chloroform, acetonitryl, chlorek metylenu, dioksan, benzen, chlorowcobenzen, czterochlorek węgla i eter dwuetylowy.

Etap rozszczepienia pierwotnej grupy aminoacyloilowej może być zrealizowany różnymi drogami, a mianowicie przez przedłużenie czasu reakcji, przez dodatek alkoholu takiego jak niższy alkohol lub niższy tiol albo na drodze hydrolizy w roztworze wodnym z dodatkiem zasady lub kwasu. W pewnych przypadkach rozszczepienia dokonuje się przez dodatek niższego alkanolu lub niższego tiolu o 1–6 atomach węgla, aryloalkanolu takiego jak alkohol benzylowy lub odpowiedniego tiolu.

Podczas reakcji acylowania następuje pewne rozszczepienie grupy aminoacyloilowej, zależnie od warunków w jakich prowadzi się acylowanie. Tak więc przedłużone ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej może spowodować rozszczepienie grupy aminoacyloilowej i wytworzenie pożądanego 7-acylowanego związku cefalosporynowego (wzór 13 i 14).

Według korzystnej wersji wynalazku rozszczepienie dwuacylowanego związku albo imidu zachodzi również przez reakcję imidu z halogenkiem sililu takim jak chlorek trójmetrylosililowy. Proces

ten przebiega łatwo podczas ogrzewania w ciągu 1 godziny chlorku trójmetrylosililowego z imidem w odpowiednim niereaktywnym rozpuszczalniku takim jak dwuchlorek etylenu w temperaturze około 60°C. Monoacylowany związek cefalosporynowy wydziela się następnie z mieszaniny reakcyjnej w sposób znany.

Stwierdzono również, że zgodnie z innym korzystnym wariantem wynalazku podczas procesu acylowania przebiega spontanicznie rozszczepienie imidu zależnie od charakteru czynnika sililującego. Tak więc w przypadku reakcji estru kwasu 7 β -/D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleryloamido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-3-cefem-3-karboksylowego-4 z chlorkiem 2-tienyloacetylu w obecności N-trójmetrylosililo-benzenosulfonamidu w temperaturze 65°C w ciągu około 10 godzin bezpośrednio z mieszaniny reakcyjnej izoluje się z dobrą wydajnością odpowiedni ester kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Przy oddzielaniu w odpowiedni sposób grup ochronnych podstawnika aminowego członu aminoadypoilowego takich jak grupa trójkloroetoksykarbonylowa albo IIIrz-butoksykarbonylowa następuje selektywne rozszczepienie grupy aminoadypoilowej.

Usuwanie grup ochronnych funkcji aminowej prawdopodobnie powoduje wewnętrzną cyklizację grupy aminoadypoilowej dającej w efekcie odszczepienie takiej grupy jak ester kwasu α -karboksylowego o wzorze 29.

Wydaje się, że mechanizm odszczepienia jest właśnie taki, jednak nie jest to całkowicie pewne czy wyjaśnienie przebiegu rozszczepienia w dalszych badaniach potwierdzi się i czy produkt rozszczepia się w inny sposób. Wyjaśnienie to przyjmuje się dla lepszego zrozumienia wynalazku.

Odszczepienie grup ochronnych funkcji aminowej i karboksylowej prowadzi się znanymi metodami. Na przykład grupę trójkloroetoksykarbonylową usuwa się w reakcji z cynkiem i kwasem octowym, a grupę IIIrz-butoksykarbonylową i benzhydrylową usuwa się w reakcji z kwasem trifluoroctowym.

Nowe związki 7-dwuacyloamidowe wytworzone w procesie sposobem według wynalazku są nie tylko przydatne jako produkty pośrednie w procesie wytwarzania monoacylowanych cefalosporyn, ale są też produktami przydatnymi jako czynniki przeciw różnym mikroorganizmom patogennym.

Związki cefalosporynowe wytwarzane sposobem według wynalazku są cennymi antybiotykami przeciw różnym gram-dodatnim i gram-ujemnym bakteriom. Kwas 3-acetoksymetylo-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4, znany pod nazwą cefalotyny jest cennym antybiotykiem, stosowanym w terapii medycznej. 7-metoksy-cefalosporyny mają biologiczne spektrum podobne do niepodstawionych cefalosporyn, a ponadto posiadają inne cenne właściwości. Ogólnie są one aktywne przeciw licznyim mikroorganizmom; odpornym wobec znanych cefalosporyn takich jak cefalorydyna i cefalotyna i są odporne na β -laktamazy; wytwarza-

ne przez odporne wobec cefalosporyn klinicznie izolowane patogeny takie jak *E. coli* i *A. cloacea*. Również są one na ogół bardziej aktywne przeciw szczepom *Proteus* takim jak *mirabilis* i są aktywne przeciw szczepom *Proteus morganii*, które są odporne wobec niepodstawionych cefalosporyn.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku są użyteczne do usuwania mikroorganizmów z leków i sprzętu medycznego i dentystycznego oraz jako bakterycydy w zastosowaniach przemysłowych, na przykład w farbках wodnych oraz w wodzie stosowanej w przemyśle papierniczym, zapobiegając wzrostowi szkodliwych bakterii.

7-metoksy-cefalosporyny wytwarzane sposobem według wynalazku są na ogół bardziej aktywne niż 7-/D-5'-amino-5'-karboksywaleryloamido/-7-metoksy-cefalosporyny przeciw różnym gram-ujemnym organizmom i wykazują zwiększoną aktywność przeciw gram-dodatnim organizmom. Na przykład te 7-metoksy-cefalosporyny są aktywne przeciw gram-dodatnim patogenom takim jak *Staphylococcus aureus* przy minimalnym stężeniu inhibitującym — MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 1,5 mikrograma/ml, *Streptococcus pyogenes* MIC $\sim$ 0,7 mikrograma/ml i *Diplococcus pneumoniae* MIC $\sim$ 0,7 mikrograma/ml, oraz przeciw gram-ujemnym organizmom takim jak *Aerobacter aerogenes* MIC $\sim$ 3 mikrograma/ml, *Proteus vulgaris* MIC $\sim$ 1,5 mikrograma/ml i *Proteus morganii* MIC $\sim$ 6 mikrograma/ml.

Aktywności produktów wytworzonych w wyżej podanych przykładach są następujące:

— kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7-fenylacetamido-cefam-3-karboksylowy-4 wobec *S. pyogenes* MIC = 1,56 mikrograma/ml i wobec *P. vulgaris* MIC = 1,56 mikrograma/ml

— kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy wobec *S. pyogenes* MIC = 0,78 mikrograma/ml, oraz wobec *P. morganii* MIC = 12,5 mikrograma/ml.

— kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7-/2-furyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy wobec *S. aureus* MIC = 6,25 mikrograma/ml oraz *P. vulgaris* MIC = 1,56 mikrograma/ml.

— kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7-tiofenoksycetamido-cefem-3-karboksylowy wobec *S. pyogenes* MIC = 0,78 mikrograma/ml oraz *D. pneumoniae* MIC = 0,78 mikrograma/ml.

— kwas 3-acetoksymetylo-7-metoksy-7-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4 wobec *S. pyogenes* MIC = 1,56 mikrograma/ml oraz *P. vulgaris* MIC = 0,78 mikrograma/ml.

— kwas 3-pirydynometylo-7-metoksy-7-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4 wobec *Serratia* MIC = 25 mikrogramów/ml oraz *S. aureus* MIC = 156 mikrogramów/ml.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być stosowane w preparatach farmaceutycznych jako takie lub ewentualnie w połączeniu z innymi składnikami aktywnymi.

Antybiotyki te mogą być stosowane w postaci odpowiednich soli w kapsułkach lub jako tabletki, proszki lub roztwory, zawiesiny albo eliksiry. Mogą być one podawane doustnie, dożylnie lub do-

mięśniowo. Jako nośniki w preparatach farmaceutycznych mogą być stosowane mannit, sacharoza, glikoza lub sterylne ciecz takie jak woda, solanka, glikole i oleje pochodzenia naftowego, zwierzęcego, roślinnego lub syntetyczne, między innymi na przykład olej z orzeszków ziemnych, olej mineralny lub sezamowy.

Ponadto do nośników mogą być dodawane inne składniki takie jak stabilizatory, lepiszcza, antyutleniające, substancje ochronne, smarne, środki suspendujące, regulujące lepkość lub środki zapachowe itp. Ponadto środki farmaceutyczne mogą zawierać inne składniki czynne takie jak antybiotyki celem rozszerzenia spektrum aktywności antybiotycznej.

Wprawdzie na ogół jako środki lecznicze stosuje się sole cefalosporyn to również niektóre estry takich cefalosporyn są również korzystnie przydatne w leczeniu ludzi i zwierząt. Specjalnie korzystne są estry, które ulegają na drodze biologicznej konwersji do wolnych kwasów i ich soli.

Przykładami takich estrów są estry niskoalkilowo-niskoalkilowe takie jak metoksymetylowy lub metoksyetylowy itp. aryloalkoksy-niskoalkilowe takie jak benzyloksymetylowy, benzyloksyetylowy, fenoksyetylowy itp. acetoksymetylowy, piwaloiloksymetylowy, piwaloiloksymetylowy, propionyloksymetylowy, butyryloksymetylowy, izobutyryloksymetylowy, benzoiloksymetylowy itp. Określenie niższy alkil odnosi się do grup o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym o 1—5 atomach węgla w grupie alkilowej. Estry takie mogą być wytworzone bezpośrednio przez stosowanie pożądanego estru w sposobie wyżej opisanym i wydzielenie estru pożądanego związku cefalosporynowego.

Na przykład jeśli zastosuje się ester metoksymetylowy 7 β -adypoil-cefalosporyny w opisanym wyżej procesie transacylacji wytworzy się ester metoksymetylowy nowego związku 7 β -acylamidocefalosporynowego bezpośrednio jak to opisano w powyższych przykładach. Alternatywnie wolny związek cefalosporynowy, wytworzony według wynalazku może być łatwo zestryfikowany w reakcji z odpowiednimi chlorowco-niskoalkilowym związkiem sposobem znanym ze stanu techniki.

Na przykład ester metoksymetylowy i fenoksymetylowy wytwarza się łatwo w reakcji estru chlorometylowego albo α -chloroanizolu z kwasem cefalosporynowym w obecności substancji wiążącej kwas, albo w reakcji soli cefalosporynowej ze związkiem chlorowcowym.

Podobnie estry acyloksy-niskoalkilowe wytwarza się łatwo w reakcji kwasu cefalosporynowego lub jego soli z estrem chlorometylowym lub bromometylowym odpowiedniego kwasu metodami znanymi.

Przykład I. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -fenyloacetamido-cefem-3'-karboksylowy-4.

A. Kwas 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

20,5 g soli monosodowej kwasu 7 β -D-5-amino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-

-metoksy-3-cefem-karboksylowego-4 rozpuszcza się w mieszaninie 80 ml acetonu i 240 ml wodnego 10% fosforanu dwusodowego. Do roztworu tego dodaje się kroplami 25 g (118 mmola) chlorku trójchloroetoksykarbonylowego w 80 ml acetonu. W trakcie wkraplania wartość pH roztworu utrzymuje się przy wartości 9, dodając kroplami 2,5 n lug sodowy.

Po 30 minutach mieszaninę ekstrahuje się octanem etylu, warstwę organiczną odrzuca, warstwę wodną zakwasza do wartości pH = 2,5 stężonym kwasem solnym. Wytrącony związek ekstrahuje się octanem etylu, osusza siarczanem sodowym, usuwa rozpuszczalnik w próżni i otrzymuje żądany związek w postaci oleju.

Widmo w nadfiolecie: (CH₃OH) $\lambda_{\max}$ = 262,5 μ m, ϵ = 5450 NMR (rozpuszczalnik DMSO, d₆), δ = 3,43 (O—CH₃, s), 4,73 (2—H₂, częściowo widoczne), 4,81 (CCl₃CH₂—O, s), 5,12 (6—H, s), około 4,74 (10—H₂, częściowo widoczne).

B. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu związku wymienionego w punkcie A w 500 ml octanu etylu dodaje się 17 g dwufenylo-dwuzometanu w 200 ml eteru, miesza przez noc i ekstrahuje roztworem kwaśnym węglanu sodowego oraz roztworem chlorku sodowego. Fazę organiczną osusza się, odparowuje i otrzymuje surowy związek, który oczyszcza się chromatograficznie na żelu krzemionkowym. Jako eluent stosuje się mieszaninę chloroformu i octanu etylu w stosunku 2:1. Związek ten wykazuje pojedynczą plamę na chromatografii cienkowarstwowej.

Widmo w nadfiolecie przy (CH₃OH): $\lambda_{\max}$ = 2650 μ m, ϵ 7000, NMR (rozpuszczalnik — CDCl₃): δ = 3,45 (O—CH₃, s) 3,35 (2—H₂, częściowo widoczne), 4,69 (CH₂CCl₃—O, s), 5,03 (6—H, s), około 4,88 (10—H₂, częściowo widoczne).

C. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-fenyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Mieszaninę 1,2 g (1,18 milimola) estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-3-cefem-karboksylowego-4, 5 ml acetonu nitrylu oraz 3 ml bis-trójmetylosililo-trójfluoroacetamidu pozostawia się w temperaturze pokojowej na przeciąg 6 godzin.

Następnie usuwa się lotne związki w wysokiej próżni, pozostałość rozpuszcza się w 3 ml chlorku metylenu, dodaje 0,23 ml (1,79 milimola) chlorku fenylacetanu i pozostawia w temperaturze pokojowej na przeciąg 65 godzin. Roztwór odparowuje się, pozostałość rozpuszcza w 5 ml czterohydrofuranu oraz 0,7 ml 2,5 n kwasu solnego. Po 20 minutach usuwa się rozpuszczalnik, a pozostałość rozpuszcza w chlorku metylenu i dodaje roztworu kwaśnego węglanu sodowego. Po rozdzieleniu warstw fazę organiczną przemywa się roztworem chlorku sodowego, suszy i odparowuje do sucha.

Otrzymany surowy produkt oczyszcza się chro-

matograficznie na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę chloroformu i octanu etylu w stosunku 95:5. Chromatografia cienkowarstwowa wykazuje, że związek ten jest homogen-
ny.

Widmo w nadfiolecie (CH_3OH): $\lambda_{\text{max}} = 2640 \mu\text{m}$, ϵ 6650, NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,50$ ($\text{O}-\text{CH}_3$, s), 3,31 ($2-\text{H}_2$, częściowo widoczny), 4,67 ($\text{CH}_2\text{CCl}_3-\text{O}$, s), 5,04 (s, 6-H), około 4,96 ($10-\text{H}_2$, częściowo widoczny), 3,95 (s, 13-H₂).

D. Ester benzhydriowy kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7- β -fenyloacetamido-cefem-3-karboksylowego-4.

Roztwór 104 mg estru dwubenzhydriowego kwasu 7- β -[D-5'-trójkloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerilo/-fenyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-3-cefem-karboksylowego-4 w 1 ml mieszaniny 90% kwasu octowego i 10% wody miesza się ze 100 mg pyłu cynkowego w ciągu 5 godzin.

Po przesączeniu roztwór odparowuje się w próżni, pozostałość rozpuszcza w chlorku metylenu, dodaje wody, rozdziela warstwy i warstwę chlorku metylenu ekstrahuje się roztworem kwaśnego węglanu sodowego oraz chlorku sodowego. Po osuszeniu i odparowaniu rozpuszczalnika otrzymuje się surowy produkt, który oczyszcza się chromatografią cienkowarstwową na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę chloroformu i octanu etylu w stosunku 3:2. Produkt ten określa się za pomocą widma w podczerwieni oraz widma NMR. Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję (CHCl_3) przy: 1780, 1730 oraz 1680 cm^{-1} .

Widmo w nadfiolecie: (CH_3OH) $\lambda_{\text{max}} = 2640 \mu\text{m}$, ϵ 5870, NMR (rozpuszczalnik CDCl_3): $\delta = 3,40$ (s, $\text{O}-\text{CH}_3$), 3,33 ($2-\text{H}_2$, częściowo widoczne), 5,01 (s-6-H) $\sim$ 4,88 ($10-\text{H}_2$, częściowo widoczne), 3,60 (s, 13-H₂).

E. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7- β -fenyloacetamido-cefem-3-karboksylowy-4.

17 mg estru benzhydriowego kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7- β -fenyloacetamido-3-cefem-karboksylowego-4 rozpuszcza się w 0,2 ml anizolu i zadaje 0,5 ml kwasu trójfluorooctowego w ciągu 5 minut. Mieszaninę zagęszcza się szybko w wysokiej próżni, rozcieńcza octanem etylu i ekstrahuje roztworem buforowym fosforanu sodowego o wartości pH = 7,5.

Roztwór buforowy zakwasza się do wartości pH = 2,5 rozcieńczonym kwasem solnym i ekstrahuje octanem etylu. Po osuszeniu i odparowaniu rozpuszczalnika, otrzymuje się związek, który poddaje się krystalizacji z octanem etylu. Temperatura topnienia 159–161°C.

Widmo w nadfiolecie (roztwór buforowy o pH = 7): $\lambda_{\text{max}} = 2670 \mu\text{m}$, ϵ 8650.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję (CH_3CN) przy: 1780, 1735 oraz 1700, NMR (rozpuszczalnik $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$): $\delta = 3,42$ (s, $\text{O}-\text{CH}_3$), 3,35 ($2-\text{H}_2$, częściowo widoczny), 5,01 (s, 6-H), 4,83 (d, $10-\text{H}_2$), 3,61 (s, 13-H₂).

Analiza elementarna dla $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{S}$:
obliczono: C 51,29, H 4,54%
znaleziono: C 51,47, H 4,75%

2 mg otrzymanego związku rozpuszcza się w 1 kropli metanolu i zadaje 2 mg dwuocanu dwubenzzyloetylenodwuaminy w octanie etylu. Utworzona sól dwubenzzyloetylenodwuaminowa powyższego związku wytrąca się po pewnym czasie w postaci igielkowych kryształów. Temperatura topnienia 140–143°C.

Widmo w nadfiolecie (w metanolu) wykazuje $\lambda_{\text{max}} = 263 \mu\text{m}$, ϵ 8600. Materiał wyjściowy sól monosodową kwasu 7- β -[D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-3-cefem-karboksylowego-4 wytwarza się następująco.

Wytwarzanie soli monosodowej kwasu 7- β -[D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo]-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4. Zmodyfikowany proces fermentacji.

Etap I. Hodowla na podłożu stałym.

Probkówkę z liofilizatem hodowli szczepu *Streptomyces lactamdurans* (NRRL3802) otwiera się aseptycznie i zliofilizowany materiał przenosi się na skosy agarowe z pożywką o składzie:

Pożywka XI

melasa z buraków	1%
wyciąg drożdżowy (Natal)	
Brewer's Yeast	1%
agar Difco o pH = 7	2,5%
woda do objętości	

Skosy inkubuje się przez 7 dni w temperaturze 28°C.

Tak przygotowane hodowle przechowywane w chłodzie są stabilne przez ponad 13 tygodni.

Etap II. Stadium posiewowe: system dwustopniowy

a) Pasaż pierwszy obejmuje szczepienie bezpośrednio ze skosu z etapu I, 40 ml pożywki o składzie 1% zawiesiny suszonych drożdży (Primary Dried Yeast N.F., firmy Yeast Product Corporation) o pH = 7 w 250 ml kolbach Erlenmeyera z łapaczem. Kolby umieszcza się na wytrząsarce obrotowej o 200 obr./min. i skoku 5 cm w temperaturze 28°C i wytrząsa od 2 do 3 dni.

b) Pasaż drugi — do kolby z zawartością pożywki o składzie 2% autolizatu drożdży (Fleischmann S-150 Yeast autolysate) o pH = 7, przenosi się 2,5% inokulum z pierwszego pasażu. Hodowlę tego pasażu przeprowadza się jak w przypadku pasażu pierwszego i czas inkubacji nie przekracza 48 godzin, przy czym hodowle charakteryzują się wzrostem umiarkowanym.

Etap III. Pożywka produkcyjna.

Pożywka produkcyjna na 1 litr wody destylowanej zawiera: 30 g rozpuszczalnych pozostałości górzelnicznych, 7,5 g zawiesiny suszonych drożdży (primary Dried Yeast N.F.) oraz 0,25% obj. odpieniacza (Mobilpar-S). Pożywkę doprowadza się do wartości pH = 7 niewielką ilością stężonego roztworu wodorotlenku sodowego, przenosi do kolb Erlenmeyera i autoklawuje się przez 15 do 20 minut w temperaturze 121°C.

Oziębioną pożywkę szczepi się 2,5% inokulum z pasażu drugiego. Czas inkubacji może wahać się od 50 do 100 godzin, choć najkorzystniej gdy trwa 72 godziny. Objętość pożywki w kolbie może wahać się od 30 do 50 ml, a korzystnie gdy wynosi

40 ml. Ilość inokulum może wahać się od 1% do 5%, praktycznie na ogół stosuje się 2,5%.

Etap IV. Oznaczenia

Po zakończeniu fermentacji usuwa się komórki przez odwirowanie i przesącz rozcieńcza fosforanowym roztworem buforowym o pH = 7. Stężenie kwasu 7β-/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-/karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4 w brzeczce fermentacyjnej określa się metodą biologiczną przy zastosowaniu krążków bibułowych. Jako organizm testowy używa się *Vibrio percolans* (ATCC 8461).

Krążki bibułowe po zanurzeniu w rozcieńczonym przesączu umieszcza się na powierzchni agaru z wsianym drobnoustrojem testowym, na płytkach Petriego i następnie szczepi się.

Równocześnie na powierzchni agaru umieszcza się krążki bibuły nasyczone uprzednio roztworem standardowym o znanym stężeniu kwasu 7β-/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4. W ten sposób przygotowane płytki Petriego inkubuje się przez noc w temperaturze 28°C, a następnie dokonuje pomiaru średnicy stref zahamowania wzrostu drobnoustrojów testowych.

Stężenie produktu w brzeczce fermentacyjnej oblicza się przez interpolację z krzywej standardowej przedstawiającej zależność średnicy stref zahamowania od znanego stężenia standardowego, badanego produktu. Tym sposobem obliczono, że *Streptomyces lactamdurans* NRRL-3802 wytwarza 78,6 μg/ml kwasu: β-/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4.

Etap V. Izolacja

2900 ml przesączu brzeczki doprowadza się do wartości pH = 7 rozcieńczonym kwasem solnym i przepuszcza przez kolumnę wypełnioną 100 g anionowej, silnie zasadowej żywicy jonowymiennej posiadającej podstawową budowę styreno-dwuwinylobenzenową (Dowex) i 1 x 2 cykl chlorkowy z szybkością 10 ml/min. Zbiera się frakcje po 500 ml wycieku. Znajdującą się w kolumnie żywicę jonowymienną przemywa się wodą i eluuje 3% chlorkiem amonu w 90% metanolu zbierając frakcje po 100 ml.

Frakcje łączy się i wartość pH doprowadza do 7,2–8,0 rozcieńczonym wodorotlenkiem sodowym, przy czym absorbuje na 100 g anionowej, silnie zasadowej żywicy jonowymiennej, posiadającej podstawową budowę podaną wyżej (Dowex 1 x 2 cykl chlorkowy) z szybkością 14 ml/min. Kolumnę przemywa się wodą i eluuje 5% wodnym roztworem chlorku sodowego zbierając frakcje po 50 ml. Frakcje te zagęszcza się następnie, rozcieńcza do objętości 500 ml, doprowadza pH z wartości 8,8 do 2 rozcieńczonym kwasem solnym, po czym absorbuje na 25 ml kationowej, silnie kwaśnej żywicy jonowymiennej typu sulfonowego, posiadającej podstawową budowę styreno-dwuwinylobenzenową (Dowex 50 x 2 cykl wodorowy) z szybkością 2,5 ml/minutę.

Kolumnę przemywa się 25 ml wody, eluuje 54 ml 2% roztworu pirydyny, do chwili gdy wyciek

z kolumny osiągnie wartość pH = 7. Eluat doprowadza się do pH = 8 rozcieńczonym ługiem sodowym, zagęszcza w próżni w celu usunięcia pirydyny i otrzymuje sól sodową kwasu 7β-/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4.

Analiza elementarna dla C₁₆H₂₁N₄SO₉Na:

obliczono: C 41,0 H 4,5 N 12,0 S 6,8%

znaleziono: C 39,31 H 4,76 N 11,16 S 6,46%

Przykład II. Kwas 3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-7β/-fenyloacetamido/-cefem-3-karboksyowy-4.

A. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7β-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerylo/-fenyloacetyloamino/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4.

Roztwór 9,3 g (10 milimoli) estru dwubenzhydrylowego kwasu 7β-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4, 7,8 g (40 milimoli) N-trójmetylosililofthalimidu oraz 5,3 ml (40 milimoli) chlorku fenyloacetylu w 50 ml acetonitrylu ogrzewa się w temperaturze 40°C w ciągu 20 godzin. Mieszaninę oziębia się do temperatury pokojowej, sączy, przesącz odparowuje do sucha, a pozostałość uciera z heksanem.

Nierozpuszczalną pozostałość, zawierającą ester dwubenzhydrylowy kwasu 7β-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerylo/-fenyloacetyloamino/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4 stosuje się bez oczyszczania w następnym etapie.

B. Ester benzhydrylowy kwasu 3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-7β/-fenyloacetamido/-cefem-3-karboksyowego-4.

Surowy produkt otrzymany w etapie A rozpuszcza się w mieszaninie 50 ml octanu etylu, 45 ml kwasu octowego oraz 5 ml wody. Do roztworu tego dodaje się 20 g sproszkowanego cynku i miesza w temperaturze pokojowej w ciągu 4 godzin. Nadmiar cynku odsącza się a przesącz poddaje rozdzielowi między octan etylu i wodę.

Warstwę organiczną przemywa się roztworem kwaśnego węgla sodowego i wodą, suszy się, odparowuje rozpuszczalnik i otrzymuje surowy produkt, który oczyszcza się chromatograficznie na 1 kg żelu krzemionkowego, stosując jako eluent mieszaninę chloroformu, heksanu i metanolu w stosunku 47:7:6.

Otrzymany związek posiada własności fizykochemiczne opisane w przykładzie I, etap D.

C. Kwas 3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-7β/-fenyloacetamido/-cefem-3-karboksyowy-4. Związek ten otrzymuje się w sposób podany w przykładzie I, etap E i posiada takie same własności fizykochemiczne, jak produkt opisany w przykładzie 1.

Przykład III. Kwas 3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-7β/-2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksyowy-4.

A. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7β-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerylo/-2-tienyloacetamido/-3-karbamoiloksymetylo/-7-metoksy-cefem-3-karboksyowego-4.

Mieszaninę 6 g (6,3 milimola) estru dwubenzhy-

drylowego kwasu β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo]-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4, 4,7 g (40 milimoli) N-trójmetylosililotrójfluoroacetamidu, 3,42 ml (25 milimoli) chlorku 2-tienyloacetylu oraz 50 ml chloroformu ogrzewa się w temperaturze 47°C w ciągu 16 godzin. Po usunięciu rozpuszczalnika przez odparowanie, pozostałość ekstrahuje się heksanem i oczyszcza chromatograficznie na 1 kg żelu krzemionkowego, stosując jako eluen 10% octanu etylu w chloroformie.

Widmo w nadfiolecie (CH_3OH): $\lambda_{\text{max}} = 265 \mu\text{m}$, ϵ 5810, NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,53$ (s, $-\text{OCH}_3$), około 3,4 (d, 2- H_2), 4,74 ($\text{CH}_3\text{CH}_2-\text{O}$, s, 5,05 (s, 6-H), około 5,0 (10- H_2 , częściowo widoczny), 4,15 (s, 13- H_2).

B. Ester benzhydrylowy kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

4,2 g (3,8 milimola) estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerilo/-2-tienyloacetamido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w 30 ml octanu etylu dodaje się do 30 ml 90% wodnego roztworu kwasu octowego i 12 g pyłu cynkowego.

Całość miesza się energicznie w ciągu 5 i 1/2 godziny w temperaturze pokojowej, odsącza się cynk, nadmiar kwasu octowego usuwa przez przemycie wodą i izoluje żądany związek w ten sposób, jak podano w przykładzie I, etap E. Na chromatogramie cienkowarstwowym rozwijanym mieszaniną 7% metanolu w mieszaninie chloroformu i N-heksanu w stosunku 1:1, związek ten daje jedną plamę.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję (CHCl_3) przy: 1740, 1800 cm^{-1} .

Widmo w nadfiolecie: $\lambda_{\text{max}} = 263 \mu\text{m}$, ϵ 5800; NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,45$ (s, $-\text{OCH}_3$), około 3,4 (d, 2- H_2), 5,82 (s, 6-H), około 4,92 (10- H_2 , częściowo widoczny), 3,85 (s, 13- H_2).

C. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido-cefem-3-karboksylowy-4.

Zimny roztwór 1,36 g estru benzhydrylowego kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4 w 10,88 ml anizolu miesza się z 5,44 ml kwasu trójfluoroctowego w temperaturze 0°C w ciągu 30 minut.

Związki lotne usuwa się w wysokiej próżni, a produkt rekrytalizuje z octanem etylu. Temperatura topnienia 165–167°C. Widmo w nadfiolecie (w roztworze buforowym o pH = 7,0): $\lambda_{\text{max}} = 263 \mu\text{m}$, ϵ 8840.

236 μm ϵ 14000 [α]_D = +199° c = 1, w metanolu; NMR (rozpuszczalnik $-\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$): $\delta = 3,48$ (s, $-\text{OCH}_3$), około 3,4 (2- H_2 , częściowo widoczny), 5,05 (s, 6-H), 4,91 (d, 10- H_2), 3,86 (s, 13- H_2).

Przykład IV. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7 β -2-furyloacetamido/-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywale-

rylo/-2-furyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Mieszaninę 9,3 g estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4, 7 ml bis-/trójmetylosililo/-trójfluoroacetamido, 4,7 ml chlorku 2-furyloacetylu oraz 50 ml dwuchlorometanu ogrzewa się w temperaturze 47°C w ciągu 16 godzin.

Rozpuszczalnik usuwa się przez odparowanie, pozostałość ekstrahuje benzenem i otrzymany produkt stosuje się bez oczyszczenia w następnym etapie.

NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,48$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,08 (d, 2- H_2), 4,63 (OCH_2CCl_3 , s), 5,02 (s, 6-H), około 4,88 (d, 10- H_2), 3,72 (s, 13- H_2).

B. Ester benzhydrylowy kwasu 7 β -2-furyloacetamido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Ester dwubenzhydrylowy, otrzymany w etapie A, poddaje się reakcji z pyłem cynkowym i kwasem octowym w sposób opisany w przykładzie III, etap B. Po krystalizacji z mieszaniny chloroformu i heksanu, czysty związek posiada następujące własności fizykochemiczne: temperatura topnienia 168°–171°C.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję (CHCl_3) przy: 1800 cm^{-1} , 1720 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} . Widmo w nadfiolecie: $\lambda_{\text{max}} = 265 \mu\text{m}$, ϵ 7200; NMR (rozpuszczalnik $-\text{CD}_3\text{CN}$): $\delta = 3,43$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,39 (2- H_2 , częściowo widoczny), 5,0 (s, 6-H), 4,75 (d, 10- H_2), 3,64 (s, 13- H_2).

C. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-furyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Związek ten wytwarza się z produktu etapu B, w sposób opisany w przykładzie III, etap C. Po rekrytalizacji z octanu etylu, związek posiada temperaturę topnienia 156°–161°C.

Widmo w nadfiolecie (roztwór buforowy o pH 7): $\lambda_{\text{max}} = 265 \mu\text{m}$, ϵ 7200. Widmo w podczerwieni zgodne z budową związku. NMR (rozpuszczalnik $-\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$): $\delta = 3,44$ (s, $-\text{OCH}_3$), około 3,38 (2- H_2 , częściowo widoczny), 5,02 (s, 6-H), 4,82 (d, 10- H_2), 3,66 (s, 13- H_2).

Przykład V. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -tiofenoksyacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerilo/-tiofenoksyacetamido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-3-karboksylowego-4.

W identyczny sposób jak podano w przykładzie IV, etap A, zastępując chlorek 2-furyloacetylu równomolarną ilością chlorku fenylotioacetylu, otrzymuje się związek podany w tytule.

NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,33$ (s, $-\text{OCH}_3$), około 3,23 (2- H_2 , częściowo widoczny), 4,87 ($\text{O}-\text{CH}_2\text{CCl}_3$, μ), 5,0 (s, 6-H), 4,87 (u, 10- H_2), 3,68 (s, 13- H_2).

B. Ester benzhydrylowy kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -tiofenoksyacetamido-cefem-3-karboksylowego-4.

W sposób podany w przykładzie IV punkt B

stosując ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksylwalerylo/-tiofenoksyacetamido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 zamiast estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-trójkloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksylwalerylo/-2-furyloacetamido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 otrzymuje się po chromatograficznym oczyszczeniu czysty związek, który daje jedną plamę na chromatografie cienkowsarstwowym. Widmo w podczerwieni jest zgodne z budową tego związku.

Widmo w nadfiolecie: $\lambda_{\max} = 274 \mu\text{m}$, ϵ 11350; NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,34$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,24 (2-H₂, częściowo widoczny), 5,0 (s, 6-H), 4,08 (d, 10-H₂), 3,68 (s, 13-H₂).

C. Kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -tiofenoksyacetamido-cefem-3-karboksylowy-4.

Powyższy związek otrzymuje się ze związku otrzymanego w punkcie B, w sposób podany w przykładzie III, punkt C. Na chromatogramie cienkowsarstwowym związek wykazuje jedną plamę. Temperatura topnienia 119°–123°C.

Widmo w nadfiolecie (roztwór buforowy o pH = 7): $\lambda_{\max} = 247 \mu\text{m}$, ϵ 10400; NMR (rozpuszczalnik $-\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$) $\delta = 3,38$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,34 (2-H₂, częściowo widoczny), 5,0 (s, 6-H), 4,82 (s, 10-H₂), 3,71 (s, 13-H₂).

Przykład VI. Kwas 7 β -[D,L- α -azydofenyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Kwas 7 β -[D-5-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5-karboksylwaleramido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

50 g kwasu 7 β -[D-5-amino-5-karboksylwaleramido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 rozpuszcza się w mieszaninie 1500 ml wodnego 5% roztworu fosforanu dwupotasowego i 1000 ml acetonu, przy czym doprowadza się do wartości pH = 9,5 przy użyciu 2,5 n roztworu wodorotlenku sodowego. Do roztworu tego w trakcie mieszania dodaje się 50 ml azydku IIIrz.-butoksykarbonylu utrzymując mieszaninę w pH = 9,5 w ciągu 20 godzin.

Następnie mieszaninę ekstrahuje się octanem etylu i fazę octanu etylu odrzuca, a fazę wodną oziębia się do temperatury 0°C, miesza z 1200 ml octanu etylu, zakwasza do wartości pH = 2,5 stężonym kwasem solnym, oddziela fazę octanu etylu, suszy się siarczanem sodowym i zagęszcza w próżni. Otrzymuje się pozostałość, którą można stosować dalej bez konieczności oczyszczania.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję przy: 1790 cm^{-1} (β -laktam), oraz 1700 cm^{-1} . Widmo w nadfiolecie (roztwór buforowy o pH = 7), $\lambda_{\max} = 263 \mu\text{m}$, ϵ 6820; NMR (rozpuszczalnik $-\text{DMSO}$, d_6): $\delta = 3,30$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,42 (2-H₂, częściowo widoczny), 5–06 (s, 6-H), 4,78 (d, 10-H), 1,38 (s, IIIrz.-butyl).

B. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5-karboksylwaleramido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu 15 g kwasu 7 β -[D-5-butoksykarbony-

loamino-5-karboksylwaleramido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w 500 ml octanu etylu dodaje się 5,5 g dwufenylodwiazometanu w 70 ml estru. Mieszaninę ogrzewa się do temperatury 40°C w trakcie mieszania i po upływie 30 minut dodaje się 5,5 g dwufenylodwiazometanu w 70 ml eteru.

Po upływie dalszych 3 godzin rozpuszczalnik usuwa się w próżni i zastępuje go mieszaniną 500 ml metanolu i 20 ml wody. Roztwór ten ekstrahuje się czterokrotnie heksanem i odparowuje w próżni. Pozostałość rozpuszcza się w octanie etylu, suszy się siarczanem sodowym, odparowuje w próżni i otrzymuje związek wymieniony w tytule, który stosuje się w następnym etapie bez oczyszczania.

NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$), $\delta = 3,60$ (s, $-\text{OCH}_3$), 3,4 (2-H₂, częściowo widoczny), 5,10 (s, 6-H), 4,95 (10-H, częściowo widoczny).

C. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7 β -[D-5'-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5'-karboksylwalerylo/-D,L- α -azydofenyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Mieszaninę 10,8 g estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5'-karboksylwaleramido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4, 100 ml chloroformu, 16,2 g bis-trójmetylosililo-trójkfluoroacetamidu oraz chlorku D,L- α -azydofenyloacetylu ogrzewa się w temperaturze 45°C w ciągu 16 godzin.

Mieszaninę rozcieńcza się 300 ml chloroformu, przemywa z 2% wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego oraz nasyconym roztworem chlorku sodowego, suszy się siarczanem sodowym, odparowuje się i otrzymuje oleistą pozostałość, którą oczyszczają się przez wytrącenie z roztworu chloroformowego przy użyciu heksanu. Otrzymany jasnożółty związek używa się w następnym etapie bez oczyszczania.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję przy: 1790 (β -laktam), 1735, 2100 ($-\text{N}_3$); NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): $\delta = 3,70$ (s, OCH_3), 3,2 (2-H₂, częściowo widoczny).

D. Kwas 7 β -[D,L- α -azydofenyloacetamido]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

Roztwór 13 g estru dwubenzhydrylowego kwasu 7 β -[D-5'-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5'-karboksylwalerylo/-D,L- α -azydofenyloacetyloamino]-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w 13 ml anizolu wylewa się do 65 ml kwasu trójkfluorooctowego, oziębionego do temperatury 0°C. Po upływie 5 minut roztwór ten wylewa się do 1800 ml, oziębionego do temperatury 0°C eteru, w trakcie mieszania.

Utworzony osad oddziela się i poddaje rozdzielni między 10% wodny roztwór fosforanu dwusodowego i octan etylu. Fazę octanu etylu odrzuca się, zaś fazę wodną podwarstwia octanem etylu i w trakcie mieszania doprowadza w niskiej temperaturze do wartości pH = 2 przy użyciu 60% wodnego roztworu kwasu fosforowego.

Warstwę octanu etylu oddziela się, przemywa nasyconym wodnym roztworem chlorku sodowego,

suszy się siarczanem sodowym, usuwa rozpuszczalniki w próżni i otrzymuje się związek wymieniony w tytule.

Widmo w nadfiolecie (w roztworze buforowym o pH = 7): $\lambda_{\max}$ = 264 μm , 231 μm , ϵ 7537 oraz 13567.

Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję przy: 1760 (β -laktam), 1705, 2105 cm^{-1} ($-\text{N}_3$), NMR (rozpuszczalnik $-\text{CD}_3\text{CN}$): δ = 3,36 (s, $-\text{OCH}_3$), 3,50 (s, $-\text{OCH}_3$), 3,40 (2-H₂, częściowo widoczny), 5,06 (s, 6-H), 4,86 (s, 10-H), 5,15 (s, 13-H).

Przykład VII. Kwas 7 β -D,L- α -aminofenilo-acetyloamido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

Zawieszinę 1 g kwasu 7 β -D,L- α -azydofeniloacetamido/-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w 10 ml kwasu octowego i 90 ml wody w temperaturze 0°C miesza się z 5 g pyłu cynkowego w ciągu 10 minut, po czym sączy się.

Przesącz wysycha się siarkowodorem, sączy się, przesącz liofilizuje otrzymując białą pozostałość, którą przemywa się eterem, suszy się w próżni i otrzymuje związek wymieniony w tytule w postaci białego proszku.

Widmo w nadfiolecie (roztwór buforowy o pH = 7): $\lambda_{\max}$ = 264 μm , ϵ 6525. Widmo w podczerwieni wykazuje absorpcję przy: 1770 (β -laktam), oraz 2650 i 1550 cm^{-1} (HN_3^+); NMR (rozpuszczalnik $-\text{D}_2\text{O} + \text{HCO}_3^-$): δ = 3,78 (s, OCH_3), 3,84 (s, OCH_3), 3,90 (2-H₂, częściowo widoczny).

Przykład VIII. Kwas acetoksymetylo-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Kwas 7 β -D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-3-acetylometylo-cefem-3-karboksylowy-4.

Do roztworu 2,5 g (0,53 mola) kwasu 7 β -D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowego-4 w 13 ml acetonu i 40 ml wodnego 10% roztworu fosforanu dwupotasowego dodaje się kroplami 3,35 g (0,159 mola) chloru trójkloroetylokarbonylu. W czasie dodawania wartości pH roztworu utrzymuje się w granicach 8,5–9,0 przez stopniowe dodawanie 17% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego.

Po 30 minutach mieszaninę przemywa się octanem etylu, warstwę wodną zakwasza do pH = 2,5 stężonym kwasem solnym, powstały osad ekstrahuje się octanem etylu, roztwór suszy się siarczanem sodowym, sączy i po usunięciu rozpuszczalnika otrzymuje się 2,7 g związku wymienionego w tytule.

B. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7-D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu kwasu 7 β -D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-3-acetyloamido-cefem-3-karboksylowego-4 w 30 ml octanu etylu dodaje się 2 g dwufenylokwazometanu w 25 ml eteru, miesza przez noc, usuwa się rozpuszczalnik i otrzymuje 4 g surowego związku.

Związek oczyszcza się chromatograficznie na żelu krzemionkowym stosując chloroform jako e-

luent i otrzymuje 2,3 g czystego związku wymienionego w tytule.

NMR (rozpuszczalnik $-\text{CDCl}_3$): δ = 2,0 (s, metyl), 4,9 (kwartet, 10-H₂), 3,2 (kwartet, 2-H₂), 4,95 (d, 6-H), 5,92 (7-H), 7,0 (2s, protony benzhydrylowe).

C. Ester dwubenzhydrylowy kwasu 7- β /D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywalerilo/-2-tienyloacetyloamino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowego-4.

Mieszaninę 2 g (0,02 mola) związku otrzymanego w punkcie B, 1,65 g (0,09 mola) N-trójmetylosililo-trójkloroacetamidu, 1,31 g (0,0815 mola) chlorku 2-tienyloacetylu oraz 6 ml chlorku metylenu ogrzewa się w temperaturze 40°C–45°C na łaźni olejowej w atmosferze azotu w ciągu 20 godzin.

Mieszaninę reakcyjną wylewa się do 100 ml heksanu, sączy się przez ziemię okrzemkową, usuwa się rozpuszczalnik w próżni i otrzymuje się związek wymieniony w tytule.

D. Ester benzhydrylowy kwasu 3-acetoksymetylo-7-2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Związek otrzymany w punkcie C rozpuszcza się w 10 ml octanu etylu, dodaje się do 10 ml 90% wodnego roztworu kwasu octowego i 1,0 g cynku miesza się 2 godziny w temperaturze pokojowej i sączy. Przesącz przemywa się dwiema porcjami wody, zimnym roztworem kwaśnego węgla sodowego, oraz 15 ml nasyconego roztworu chlorku sodowego.

Roztwór w octanie etylu suszy się siarczanem sodowym, sączy się, usuwa rozpuszczalnik i otrzymuje 1,9 g surowego związku, który poddaje się chromatografii na żelu krzemionkowym eluując mieszaniną chloroformu i octanu etylu, w stosunku 50 : 1.

Otrzymuje się 0,380 g związku, który po rekrytalizacji z octanu etylu posiada temperaturę topnienia 141,5°–143°C.

Widmo w nadfiolecie (CH_3OH): $\lambda_{\max}$ = 263 μm ; ϵ 7580. Analiza elementarna dla $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$: obliczono: C 61,91; H 4,66; N 4,98%; znaleziono: C 62,14; H 4,84; N 4,91%.

E. Kwas 3-acetoksymetylo-7-2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Oziębiony roztwór 100 mg związku otrzymanego w punkcie D w 1 ml anizolu i 0,5 ml kwasu trójklorooctowego miesza się w temperaturze 0°C w ciągu 35 minut. Następnie oddaje się 50 ml czterochlorku węgla i całość odparowuje się do sucha.

Pozostałość uciera się z heksanem, dekantuje rozpuszczalnik i pozostałość rozpuszcza się w 10 ml octanu etylu. Roztwór ten zagęszcza do objętości 1 ml, dodaje eteru, wytrącony osad oddziela się i rekrytalizuje z mieszaniny eteru oraz octanu etylu uzyskując 0,025 g związku wymienionego w tytule o temperaturze topnienia 163°C.

Przykład IX. Kwas 7-trójkloroacetyloamino-3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Eter dwubenzhydrylowy kwasu 7-[N-trójkloroacetylo-6S'-trójkloroetoksykarbonyloamino-5'-

-karboksy/waleramido]-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Mieszaninę estru dwubenzhydrylowego kwasu 7-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksy-waleramido/-5-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4/ (2 g; 2,1 mmola), chlorku trójfluoroacetylenu (4,0 g, 30,0 mmoli), chlorku metylenu (10 ml), N-trójmetylosililo amidu kwasu trójfluorooctowego (5 ml; 32 mmola) umieszcza się w ampulce, zatapia i pozostawia w temperaturze pokojowej przez 21 godzin. Po tym czasie lotne produkty usuwa się pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 6,5 g surowego materiału.

W ten sposób uzyskany produkt—ester dwubenzhydrylowy kwasu 7-[N-trójfluoroacetylo-6S'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksy/waleramido]-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 stosuje się bezpośrednio w następnym etapie.

B. Ester benzhydrylowy kwasu 7-/trójfluoroacetyloamino/-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4.

Roztwór imidu uzyskanego według produktu A, (6,5 g) w bezwodnym acetonitrylu (40 ml) miesza się przez 1 godzinę z aktywowanym pyłem cynkowym (10 g) i kwasem octowym (2,0 ml). Otrzymaną mieszaninę sączy się, a cynkowy osad przemywa chlorkiem metylenu. Przesącz zateża się do sucha po czym podaje się na kolumnę chromatograficzną z żelalem krzemionkowym (60 g) i wymywa mieszaniną chloroform — heksan — metanol (50:50:2) uzyskując związek wymieniony w tytule IR: 1800, 1750 (CH_2Cl_2).

NMR potwierdza strukturę związku.

C. Kwas 7-/trójfluoroacetyloamino-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

Ochłodzony roztwór (0—4°C) dioksanu (0,04 ml), chlorku metylenu (0,27 ml) i kwasu trójfluorooctowego (0,27 ml) dodaje się do ochłodzonego roztworu (0—4°C) anizolu (0,19 ml), chlorku metylenu (0,52 ml) i produktu z punktu B (100 mg).

Reakcję przeprowadza się w temperaturze 0—4°C przez 40 minut. Po tym czasie reakcję przerywa się dając 1 ml dioksanu i 10 ml czterochlorku węgla, a następnie zateża do suchej pozostałości. Pozostałość rozciera się z heksanem uzyskując związek wymieniony w tytule. IR 1800, 1740 (CH_3CN). NMR potwierdza strukturę związku.

Przykład X. Kwas benzhydrylo-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7-trójfluoroacetamido-cefem-3-karboksylowy-4.

Mieszaninę estru dwubenzhydrylowego kwasu 7β-/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksy-waleramido/-3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 (5 g), bezwodnika kwasu trójfluorooctowego (1,4 ml) trójmetylosililo amidu kwasu octowego (2,25 g) i chlorku metylenu (20 ml) ogrzewa się w temperaturze 40°C przez 3 godziny.

Mieszaninę wlewa się do heksanu, a osad rozpuszcza w acetonitrylu. Do tego roztworu dodaje się kwasu octowego (4 ml) i pyłu cynkowego (25 g), a następnie mieszaninę wytrząsa się przez 3 godziny. Po przesączeniu usuwa się rozpuszczalnik,

a pozostałość podaje na kolumnę chromatograficzną z żelalem krzemionkowym (100 g) stosując do wymywania mieszaninę benzenu i octanu etylu. Związek wymieniony w tytule daje spodziewane widmo NMR.

Przykład XI. Kwas 3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7β-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Ester dwu/metoksymetylowy/kwasu 3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7β-/D-5-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-/karboksy-waleramido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do ochłodzonej zawiesiny soli dwu/cykloheksyloaminy/ i kwasu 3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4 (9,85 g) w chlorku metylenu (osuszonym na sitacie monekularnym, 170 ml) dodaje się w 0°C kroplami przez 60 minut przy ciągłym mieszaniu, roztwór chlorometylometylowego eteru (1,60 g) w 50 ml chlorku metylenu. Po dodaniu mieszaninę miesza się przez 2 godziny w 0°C.

Następnie mieszaninę sączy się przez złożę celitu i złożę przemywa chlorkiem metylenu (3×30 ml). Przesącze odparowuje się do suchej pozostałości pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 5—10°C, a pozostałość wytrząsa z 200 ml chlorku metylenu i 100 ml wody z lodem.

Oddziela się warstwę organiczną, przemywa 200 ml wody z lodem, zimnym 0,1% NaHCO_3 (200 ml) wodą (200 ml) i 50 ml wodnym roztworem NaCl oraz suszy się nad siarczanem magnezu. Po odsączeniu suszającego czynnika, rozpuszczalnik usuwa się pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 6—25 g produktu w postaci szklawa.

B. Ester dwu/metoksymetylowy/ kwasu 3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7η-[D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksy-waleramido/-tienyloacetyloamino]-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu 10 g estru dwu/metoksymetylowego/kwasu 3-karbamiloksymetylo-7-metoksy-7β-/D-5-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksylowa-waleramido/-cefem-3-karboksylowego-4 w 80 ml osuszonego na sitach chlorku metylenu, dodaje się α-pinenu (13,5 ml), N-trójmetylosililo uretanu etylowego (12,1 ml) i chlorku 2-tienyloacetylenu (7,0 ml). Roztwór łagodnie ogrzewa się pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 50°C na łaźni olejowej w atmosferze suchego azotu przez 17 godzin.

Następnie roztwór ochładza się do temperatury pokojowej i dodaje 500 ml wodnego roztworu zawierającego 10% chlorku sodowego i 2,5% kwasnego węglanu sodu, następnie dodaje się metanolu (30 ml) i miesza energicznie przez 15 minut w temperaturze otoczenia. Następnie oddziela się warstwę, wodną warstwę ponownie przemywa się chlorkiem metylenu (20 ml), i połączone warstwy chlorku metylenu przemywa się nasycionym wodnym roztworem chlorku sodowego (30 ml), roztwór chlorku sodowego ponownie przemywa się chlorkiem metylenu (30 ml) i połączone roztwory chlorku metylenu suszy nad siarczanem magnezu, filtruje, a osad przemywa chlorkiem metylenu o objętości 2—3 razy większej od objętości płacka filtracyjnego.

Połączone roztwory chlorku metylenu i chlorek metylenu z przemywania zateża się pod zmniejszonym ciśnieniem do 50 ml, chłodzi się wkraplając do energicznie mieszanego heksanu z lodem (500 ml) i po 15 minutach osiadania dekantuje się warstwę heksanową z nad gumowatego ciała stałego i filtruje przez złożę celitu. Gumowatą substancję i złożę celitowe przemywa się około 50 ml heksanu, następnie złożę celitowe przemywa się 50 ml chlorku metylenu i tego chlorku metylenu używa się do rozpuszczenia gumowatej substancji. Roztwór chlorku metylenu ponownie wytrąca się heksanem.

Powstały produkt—ester dwu/metoksymetylowy/ kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5'-tróchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywalerio/-tienyloacetyloamino]-cefem-3-karboksylowego-4 rozpuszcza się w 230 ml octanu etylu i stosuje w następnym etapie.

C. Ester dwu/metoksymetylowy/ kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Roztwór w octanie etylu umieszcza się w 500 ml trójszyjnej kolbie zaopatrzonej w termometr, mechaniczne mieszadło i doprowadzenie azotu. Do roztworu dodaje się pył cynkowy (50,6 g), miesza się i dodaje 11,5 ml lodowatego kwasu octowego. Po zmieszaniu tych wszystkich składników reakcję przeprowadza się w temperaturze 25°C, w atmosferze azotu przez 1 godzinę. Następnie odsadza się cynk i przemywa octanem etylu (2 $\times$ 75 ml).

Przesącz przemywa się 2 $\times$ 150 ml wody i raz zimnym 2,5% kwaśnym węglanem sodu (150 ml) a następnie 100 ml nasyconego roztworu chlorku sodowego. Roztwór octanu etylu suszy się nad siarczanem sodowym, sączy się i zateża do uzyskania produktu o konsystencji gumy.

Chłodzoną (0—4°C) kolumnę z płaszczem (2,5 cm wewnętrznej średnicy) napęnia się zawiesziną 64 g żelu krzemionkowego (60—200 mesh) w chlorku metylenu (200 ml). Żel krzemionkowy osadza się, a nadmiar chlorku metylenu odparowuje się tak, aby jego poziom osiągnął poziom złoża. Na tę kolumnę podaje się 6,4 g pozostałości w minimalnej ilości chlorku metylenu (5—10 ml), kolbę i ściany kolumny przemywa się chlorkiem metylenu (10 ml), a następnie kolumnę wymywa się 2 litrami 40% roztworu octanu etylu w benzenie, pobierając 60 ml frakcje.

Frakcje zateża się do suchej pozostałości. Frakcje 10—18 zawierające właściwy produkt odparowuje się do uzyskania 2,9 g estru dwu/metoksymetylowego/ kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Otrzymany produkt (2,64 g) rozpuszcza się w chlorku metylenu (150 ml) i sączy się. Do tego roztworu dodaje się etanolu (20 ml) i zateża w temperaturze pokojowej na wyparce obrotowej do objętości około 20 ml. Do tej objętości dodaje się 20 ml etanolu i zateża do około 30 ml. Roztwór zaszczenia się i pozostawia do wykrystalizowania uzyskując 2,1 g czystego estru. Temperatura topnienia 151—153°C.

D. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Zawieszinę metoksymetylowego estru (920 mg) w 9,2 ml metanolu (zawierającym 10% stężonego HCl) miesza się w temperaturze pokojowej przez 50 minut. Całkowity przebieg reakcji stwierdza się na drodze analizy chromatograficznej stosując octan etylu/benzen w stosunku 6:4.

Następnie ostrożnie dodaje się roztworu 1,65 g NaHCO₃ w 40 ml wody i klarowny roztwór zateża do objętości 30—35 ml w temperaturze pokojowej pod zmniejszonym ciśnieniem. Wodny roztwór ekstrahuje się octanem etylu do usunięcia obojętnych zanieczyszczeń i odrzuca organiczną warstwę.

Wodną warstwę ochładza się do temperatury 0—5°C, dodaje octanu etylu (40 ml) i doprowadza pH do wartości 1,8 za pomocą zimnego, 10% HCl przy ciągłym mieszaniu. Warstwy oddziela się, a warstwę octanu etylu przemywa 3 $\times$ 3 ml wody z lodem. Warstwę wodną i wodę z przemywania łączy się i ponownie ekstrahuje 2 $\times$ 20 ml octanu etylu. Drugi ekstrakt octanu etylu dwukrotnie przemywa się zimną wodą i dodaje ją do pierwszego ekstraktu. Odparowuje się rozpuszczalnik do suchej pozostałości, płucze 10 ml mieszaniny benzen-metanol (8:2) i suszy do stałej masy. Rekrytalizuje się surowy produkt, z mieszaniny metanol/octan etylu uzyskując kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Przykład XII. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -2-tienyloacetamido/cefem-3-karboksylowy-4.

A. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksylowy-4.

Jednosodową sól kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5'-amino-5'-karboksywaleramido/-cefem-3-karboksylowego-4 (0,37 g) rozpuszcza się w 15 ml wody. Następnie dodaje się dioksan (30 ml) i doprowadza pH do wartości 8,5—9,0 za pomocą wodorotlenku sodu. Dodaje się chlorku 2-nitrofenylosulfenylowego (0,55 g) i przez 20 minut przeprowadza reakcję z wodnym roztworem wodorotlenku sodowego utrzymując pH w granicach 8,5—9,0. Po mieszanii reagentów dodatkowo przez 30 minut, dodaje się 45 ml wody, mieszaninę sączy się a przesącz ekstrahuje 25 ml octanu etylu.

Wodną warstwę ochładza się do 0—5°C, zakwasa stężonym kwasem solnym i produkt ekstrahuje octanem etylu. Warstwę octanu etylu przemywa się wodą, suszy nad siarczanem sodowym, sączy się i zateża otrzymując związek wymieniony w tytule w ilości 0,60 g.

B. Sól bis-dwucykloheksyloaminy i kwasu 3-karbamyloksymetylo-7 β -[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksylowego-4.

Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksylowy-4 (0,55 g) rozpuszcza się w 25 ml octanu etylu, sączy się i przesącz podaje działaniu przez 15 minut soli dwucykloheksy-

loaminy i kwasu octowego (0,675 g) rozpuszczonej w 100 ml octanu etylu. Osady łączy się na lejku, przemywa 10 ml octanu etylu, następnie 2×10 ml estru izopropylowego i suszy się pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 0,38 g związku wymienionego w tytule.

C. Ester dwu-metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7β-[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksyłowego-4.

Do roztworu 0,25 g soli bis-dwucykloheksyloaminy w 5 ml chlorku metylenu w atmosferze azotu dodaje się 0,045 ml eteru chlorometylometylowego w 1,5 ml chlorku metylenu i przez 15 minut temperaturę doprowadza się do 5°C. Po 4 godzinach przebiegu reakcji w temperaturze 0–5°C reagenty sączy się i przesącz przemywa 2 ml wody zawierającej 25 mg kwaśnego węglanu sodu.

Warstwę chlorku metylenu suszy się nad siarczanem sodowym, sączy się i zateża do uzyskania 0,155 g surowego produktu. Surowy dwueter rozpuszcza się w 0,5 ml mieszaniny octanu etylu z benzenem (1:1) i podaje na chromatografii na 0,75 g żelu krzemionkowego stosując tę samą mieszaninę rozpuszczalników i uzyskując 0,114 g związku wymienionego w tytule.

D. Ester dwu-metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7β-[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido/-2-tienyloacetylo/amino]-cefem-3-karboksyłowego-4.

Do roztworu estru dwu-metoksymetylowego kwasu 3-karbamyloksymetylo-7β-[D-5-/2-nitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksyłowego-4 (0,345 g) w 3 ml chloroformu (wolnego od alkoholu) dodaje się 0,477 ml pienu, 0,430 ml N-trójmetylosilylo-uretanu etylenowego i 0,248 ml chlorku tienyloacetylowego i mieszaninę miesza w temperaturze pokojowej przez 23 godziny.

Mieszaninę reakcyjną dodaje się do 50 ml heksanu w celu wytrącenia osadu. Heksan dekantuje się, a osad przemywa 10 ml heksanu, a następnie rozpuszcza w 10 ml suchego chlorku metylenu i ponownie wytrąca przez dodanie do 50 ml heksanu w celu uzyskania surowego produktu (0,252 g).

Surowy produkt poddaje się chromatografii na kolumnie z 2,5 g żelu krzemionkowego stosując mieszaninę octanu etylu z benzenem (1:1) i uzyskując 0,106 g wymienionego w tytule związku.

E. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7β-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksyłowy-4.

Do roztworu 10 mg dwumetoksymetylowego estru otrzymanego według punktu D w 0,15 metanolu dodaje się 0,05 ml kwasu octowego i 10 mg tiacetamidu otrzymując po 5 minutach metoksymetylowy ester. Gdy czas reakcji przeciągnie się do 30 minut uzyskuje się związek wymieniony w tytule na skutek przegrupowania estru metoksymetylowego.

Innymi czynnikami prócz tioacetamidu, które mogą odszczepić grupę nitrofenylosulfenylową są: tiomocznik, kwas siarkawy, tiouretan, tiosiarczan sodowy, tiofenol, kwas bioglikolowy, siarkowodór

i tiocyjanian amonu i mogą one być stosowane zamiast tioacetamidu.

Przykład XIII. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7β-/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksyłowy-4.

Jeśli chlorek 2,4-dwunitrofenylosulfenylowy zastosuje się zamiast chlorku 2-nitrofenylosulfenylowego jak w przykładzie XII A, a pozostałe stopnie przeprowadzi się tak jak w przykładzie XII B, C, D, E, uzyska się taki sam produkt. W takim przypadku procesy te będą przebiegały następująco:

Do roztworu 4,41 g jednosodowej soli kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7β-/D-5'-amino-5'-karboksywaleramido/-cefem-3-karboksyłowego-4 w 106 ml wody i 244 ml dioksanu dodaje się 8,4 g chlorku 2,4-dwunitrofenylosulfenylowego przy pH doprowadzonym do 8,5–9,0 przez dodatek wodorotlenku sodowego. Po jednej godzinie mieszaninę reakcyjną rozcieńcza się 350 ml wody, sączy się, a przesącz ekstrahuje 2×175 ml octanu etylu.

Warstwę wodną ochładza się do 0–5°C, dodaje 175 ml octanu etylu i doprowadza pH do wartości 2,2 za pomocą stężonego HCl. Warstwę octanu etylu przemywa się wodą, suszy nad siarczanem sodowym, sączy się i zateża pod zmniejszonym ciśnieniem do otrzymania 8,52 g produktu.

Na 8,5 g związku N-/2,4-dwunitrofenylosulfenylowego w 195 ml octanu etylu działa się 6,8 g octanu dwucykloheksyloaminy w 700 ml octanu etylu. Po 45 minutach zbiera się wytworzoną sól i przemywa 100 ml octanu etylu, a następnie 3×20 ml eteru izopropylowego. Po wysuszeniu pod zmniejszonym ciśnieniem produkt waży 8,7 g.

Na zawiesinę 8,0 g soli N-/2,4-dwunitrofenylosulfenyl-/dwucykloheksyloaminy w 128 ml chlorku metylenu działa się w temperaturze 0°C 1,5 ml eteru chlorometylometylowego w 51 ml chlorku metylenu przez 25 minut. Po 2 godzinach mieszaninę reakcyjną sączy się, a przesącz przemywa 200 ml wody z lodem, 200 ml zimnego, nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodu, 2×200 ml wody z lodem, 200 ml zimnego nasyconego roztworu chlorku sodu, następnie suszy się nad siarczanem sodowym, sączy się i zateża uzyskując 5,14 g surowego estru.

Produkt rozpuszcza się w 25 ml octanu etylu i sączy się przez złożę 52 g silikażelu, następnie zateża pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 4,72 g oczyszczonego estru.

Na roztwór 0,50 g estru N-/2,4-dwunitrofenylosulfenyl/dwumetoksy-metylowego w 4 ml chlorku metylenu działa się 0,652 ml α-pineni, 0,586 ml N-trójmetylosilylouretanu etylowego i 0,338 ml chlorku tienyloacetylowego i ogrzewa w stanie wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 17 godzin, a następnie mieszaninę reakcyjną wylewa się do 50 ml chłodzonego lodem heksanu, otrzymując osad, który ponownie strąca się z chłodzonego lodem heksanu uzyskując 0,686 g dwuacylowanego produktu.

20,1 mg dwuacylowanego produktu w 0,47 ml kwasu octowego dodaje się do 23,2 mg tiomocz-

nika i utrzymuje przez 95 minut otrzymując kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4, co stwierdzono za pomocą cienkowarstwowej chromatografii w porównaniu z autentyczną próbką tego samego produktu.

Przykład XIV. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

A. Ester dwu-benzylloksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do zawiesiny 985 mg bis-dwucykloheksyloaminowej soli kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido/-cefem-3-karboksylowego-4 w 17 ml chlorku metylenu w temperaturze 0—1°C dodaje się 0,294 ml eteru chlorometylowobenzylowego w 5 ml chlorku metylenu w ciągu 52 minut. Po 4 godzinach mieszaninę reakcyjną sączy się, a na przesącz działa 2 $\times$ 5 ml zimnego, nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodu, 2 $\times$ 10 ml wody z lodem, a następnie suszy się nad siarczanem sodowym i sączy się.

Przesącz zateża się do suchej pozostałości, z której tworzy się zawiesinę w 15 ml eteru izopropylowego i związek wymieniony w tytule zbiera się na lejku (726 mg).

B. Ester dwu-benzylloksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5-trójkloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywalerilo/2-tienyloacetylo-amino]-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu 0,20 g estru dwu-benzylloksymetylowego w 1,6 ml chlorku metylenu dodaje się 0,222 ml α -pinenu, 0,20 ml N-trójmetylosilylouretanu etylowego i 0,115 ml chlorku 2-tienyloacetylowego i ogrzewa w stanie wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 23 godziny.

Mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się 2 ml chłodzonego lodem roztworu, zawierającego 2,5% kwaśnego węglanu sodu i 10% chlorku sodowego, następnie roztwór chlorku metylenu przemywa się 2 ml nasyconego chlorku sodowego, suszy się nad siarczanem magnezu, sączy się i przesącz dodaje do 50 ml zimnego heksanu w celu wytrącenia wymienionego w tytule produktu (0,161 g).

C. Ester benzylloksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do roztworu imidu otrzymanego według punktu B (0,150 g) w 4,1 ml dioksanu zawierającego 0,20 ml kwasu octowego dodaje się w ciągu 2,5 godziny 0,86 g aktywowanego cynku. Mieszaninę reakcyjną sączy się, a pozostałość przemywa na lejku 20 ml chloroformu.

Połączone przesącze przemywa się 2 $\times$ 20 ml wody, 10 ml zimnego, nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodu, 10 ml nasyconego chlorku sodowego, następnie suszy się nad siarczanem magnezu, sączy się, a następnie zateża uzyskując 0,143 g pozostałości zawierającej benzylloksymetylowy ester.

D. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

25,4 mg benzylloksymetylowego estru rozpuszcza się w 0,25 ml roztworu składającego się z 9 ml metanolu i 1 ml stężonego kwasu solnego. Po jednej godzinie reakcja jest zakończona i oddziela się produkt przez zateżenie pod zmniejszonym ciśnieniem. Wydajność 44%.

Przykład XV. Ester metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

A. Kwas 7-/D-5-chloroacetamidoadipamido/-7-metoksy-3-karbamyloksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4.

W mieszalniku Waringa z płaszczem chłodzącym rozpuszcza się jednosodową sól kwasu 7 β -/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 (14,2 g o zawartości czystego związku 63,6%) w 200 ml chłodzonego lodem wodnego roztworu zawierającego 4,9 ml 85% H_3PO_4 (doprowadza się pH do wartości 7,0 50% NaOH). Elektrode pH-metru zanurza się do roztworu i przy maksymalnym mieszaniu doprowadza się pH do wartości 11,0.

Dodaje się 4,0 ml świeżo przedestylowanego chlorku chloroacetylowego i utrzymuje się pH 10,5—11,0 przez dodatek NaOH. Następnie w ten sam sposób dodaje się kolejną porcję chlorku kwasowego (4,0 ml a następnie 2,0 ml) i po 10 minutach maksymalnego mieszania stwierdza się zakończenie konwersji do związku wymienionego w tytule, za pomocą chromatografii cienkowarstwowej.

Mieszaninę reakcyjną miesza się z równą objętością octanu etylu i w temperaturze 0°C zakwasa stężonym kwasem solnym do pH 1,7. Oddziela się poszczególne warstwy, a ekstrakcję powtarza czterema dodatkowymi objętościami octanu etylu zawierającymi po 1 ml kwasu octowego. Połączone ekstrakty suszy nad Na_2SO_4 , zateża pod zmniejszonym ciśnieniem i 300 ml benzenu wytrąca oleistą pozostałość. Surowy, wymieniony w tytule związek (5,35 g 51%, około 60% czystego) uzyskuje się przez odwirowanie.

B. Ester bis-metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7-/D-5-chloroacetamidoadipamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do 100 ml suszonego na sicie molekularnym chlorku metylenu dodaje się 1,35 ml sym-kolidyny i 2,68 g (5,13 mmola) substancji uzyskanej według punktu A. Jasnożółta zawiesinę ochładza się do 5°C w atmosferze azotu i intensywnie mieszając i utrzymując temperaturę w zakresie 5—10°C dodaje się dwie porcje 0,335 ml $ClCH_2OCH_3$.

Mieszaninę miesza się 45 minut i dodaje dodatkowo 10% kolidyny i $ClCH_2OCH_3$. Po 1,75 godziny całkowitego czasu reakcji mieszaninę sączy się. Przesącz przemywa się trzema porcjami po 50 ml wody z lodem, 50 ml nasyconego roztworu chlorku sodowego i suszy nad Na_2SO_4 .

Przesączone ekstrakty zateża się pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 1,80 g surowego dwu-estru, który oczyszcza się chromatograficznie na 30 g gruboziarnistego żelu krzemionkowego. Wy-

mycie 400–500 ml CH_2Cl_2 daje produkty uboczne, a wymycie 500 ml octanu etylu daje 1,22 g dwuustru wymienionego w tytule w postaci amorficznego ciała stałego o barwie białej.

C. Ester metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -[D-5-chloroacetamidoady-poilu/2-tienyloacetylo/amino]-cefem-3-karboksylowego-4.

Do 100 mg produktu uzyskanego według punktu B w uszczelnionym Hypovialu dodaje się 0,350 ml wolnego od etanolu CHCl_3 , 0,068 ml N-trójmetylosilylouretanu etylowego (0,395 mmola) i chlorku 2-tienyloacetylowego (0,034 ml, 0,274 mmola). Homogeniczną mieszaninę odstawia się na 24 godziny w temperaturze pokojowej.

Mieszaninę reakcyjną wytrąca się w 3 objętościach suchego heksanu i odwirowany osad rozpuszcza się w CH_2Cl_2 , następnie roztwór zateża się pod zmniejszonym ciśnieniem do otrzymania piany o jasnożółtej barwie; wydajność 80 mg. Cienkowarstwowa chromatografia i widmo NMR świadczą, że jest to zasadniczo czysty, wymieniony w tytule związek.

D. Ester metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Surowy imid wytworzony według punktu C (20 mg) w 0,250 ml absolutnego alkoholu poddaje się działaniu 5 mg tiomocznika na przeciąg 24 godzin w temperaturze pokojowej. Za pomocą cienkowarstwowej chromatografii stwierdza się obecność metoksymetylowego estru i fakt, że początkowy imid całkowicie przereagował.

Na surowy imid (25 mg) i pył cynkowy (100 mg) działa się mieszaniną 0,5 ml octanu etylu i 0,025 ml lodowatego kwasu octowego. Po 4 godzinach w temperaturze pokojowej cienkowarstwowa chromatografia wskazuje na obecność wymienionego w tytule związku.

Przykład XVI. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

0,1 g soli bis-dwucykloheksyloaminowej kwasu 3-karbamyloksymetylo-7 β -[D-5-/2,4-dwunitrofenylosulfenylamino/-5-karboksywaleramido]-cefem-3-karboksylowego-4 umieszcza się w 3 ml CH_2Cl_2 i przez 2 godz. miesza się w temperaturze 25°C z 26,5 μl chlorku trójmetylosilylu. Odsąca się chlorowodorek dwucykloheksyloaminy (42 mg) a do przesączu dodaje się 100 μl N-trójmetylosilylouretanu etylowego i 43,5 μl (0,35 mmola) chlorku 2-tienyloacetylu. Roztwór ogrzewa się w stanie wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 19 godzin.

Następnie dodaje się 6 ml heksanu i po skłarowaniu dekantuje. Tę czynność powtarza się jeszcze dwukrotnie w celu usunięcia nadmiaru chlorku 2-tienyloacetylu. Do 85 mg substancji nierozpuszczalnej w heksanie dodaje się 50 mg tioacetamidu w 1 ml metanolu i miesza przez 2,5 godziny. Następnie dodaje się octanu etylu (5 ml) i przemycia roztworem kwaśnego węgla sodu (pH 8,3).

Warstwę wodną przemycia się octanem etylu i zakwasza do pH 2,8 za pomocą 17% H_3PO_4 . Produkt (28 mg) zawierający związek wymieniony w

tytule ekstrahuje się z zakwaszonej warstwy wodnej octanem etylu.

Przykład XVII. Ester metoksymetylowy kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do mieszaniny 6,75 ml α -pinenu i 12 ml dwuchloroetanu dodaje się 5,55 mg N-trójmetylosilylobenzeno sulfonamidu, 3,5 ml chlorku 2-tienyloacetylowego i 500 mg estru metoksymetylowego kwasu 7 β -/D-5-trójkloroetoksy-karbonyloamino-5-karboksywaleramido/-3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4. Otrzymaną mieszaninę reakcyjną ogrzewa się przez 10 godzin pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 65°C. 3,4 ml uzyskanego roztworu chłodzi się w suchym lodzie, a następnie ogrzewa do wrzenia pod chłodnicą zwrotną.

Otrzymany roztwór, zawierający stałe kryształy rozcieńcza się dwuchloroetanem do 100 ml. Wynik analizy otrzymanego roztworu wskazuje obecność 41,8 mg związku wymienionego w tytule.

Przykład XVIII. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Do zawiesiny 200 mg kwasu 7 β -/D-5'-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido/-3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w wolnym od etanolu chloroformie (2 ml) dodaje się 432 mg N-trójmetylosilyloamidu kwasu trójfluorooctowego i 0,56 mg trójetyluaminy. Do tej mieszaniny dodaje się 182 μl chlorku tienyloacetylowego. Następnie roztwór ogrzewa się na łaźni olejowej w temperaturze 45°C przez 9 i 1/2 godziny. Następnie mieszaninę chłodzi się przez dodatek n-heksanu. Roztwór odwirowuje się i usuwa heksan z nad gumowatego ciała stałego. Tę procedurę powtarza się, a frakcje heksanu odrzuca. Gumowate ciało stałe rozpuszcza się w 10 ml kwasu mrówkowego przez 30 minut.

Następnie usuwa się kwas mrówkowy pod zmniejszonym ciśnieniem. Substancję stałą wprowadza się do mieszaniny octanu etylu (3 ml) i wody (3 ml), a pH doprowadza do wartości 2,5. Warstwę octanu etylu zateża się do suchej pozostałości. Zarówno analiza chromatograficzna cienkowarstwowa jak i cieklą chromatografia wykazują obecność kwasu 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Surowy produkt oczyszcza się na drodze preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej stosując płytki żelu krzemionkowego i rozpuszczalnik złożony z benzenu 50; metanolu 10; kwasu octowego 6.

Przykład XIX. Kwas 3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4.

Do zawiesiny 200 mg kwasu 7 β -/D-5-amino-5-karboksywaleramido/-3-karbamyloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 w 2 ml wolnego od etanolu chloroformu dodaje się 430 mg N-trójmetylosilyloamidu kwasu benzenosulfonowego i 0,6 mg trójmetyloaminy. Do tej miesza-

ny dodaje się 182 μ l chlorku tienyloacetylowego.

Uzyskaną mieszaninę reakcyjną ogrzewa się na łaźni olejowej przez 10 godzin w temperaturze 45°C, a następnie chłodzi dodając do n-heksanu.

Roztwór odwirowuje się i usuwa heksan znad gumowatego ciała stałego. Tę procedurę powtarza się jeszcze dwa razy, a heksan usuwa. Gumowatą substancję dodaje się do mieszaniny 3 ml octanu etylu i 3 ml wody, a pH doprowadza do 2,5. Zateżnienie warstwy octanu etylu do suchej pozostałości daje surowy kwas 3-karbamyluksymetylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowy-4, który analizuje się chromatograficznie na płytkach i przy pomocy chromatografii cieczowej.

Surowy produkt oczyszcza się na drodze preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej stosując płytki żelu krzemionkowego, a jako rozpuszczalnik mieszaninę benzenu 50; metanolu 10; kwasu octowego 6.

Przykład XX. Sól dwubenzylodwuwaminowa kwasu 3-metylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

A. Kwas 7 β -/D-5-amino-5-karboksylwaleramido/-3-metylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowy-4.

Na zawieszony w wodzie (80 ml) katalizator 10% pallad na węglu drzewnym działa się wodorem. Po odsączeniu, katalizator ponownie zawiesza się w wodzie (50 ml) i do tej mieszaniny (2,67 g) dodaje się sól sodową kwasu 7 β -/D-5-amino-5-karboksylwaleramido/-3-karbamyluksy-3-metylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 (1,0 g) w wodzie (10 ml). Uzyskaną mieszaninę wytrząsa się 22 godziny w temperaturze pokojowej. Katalizator odsącza się i przemywa wodą (50 ml).

Połączoną wodę z przemywania i z filtracji zateża się do suchej pozostałości uzyskując z 52,8% wydajnością kwas 7 β -/D-5-amino-5-karboksylwaleramido/-7-metoksy-3-metylo-cefem-3-karboksylowy-4.

(528 mg).

UV, λ max 265 μ m $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ wynosi 100.

B. Sól dwubenzylodwuwaminy kwasu 7 β -/D-5-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5-karboksylwaleramido/-7-metoksy-3-metylo-cefem-3-karboksylowego-4.

Roztwór dwusodowej soli kwasu 7 β -/D-5-amino-5-karboksylwaleramido/-7-metoksy-3-metylo-cefem-3-karboksylowego-4 (11,5 g) rozpuszcza się w wodzie (150 ml) i acetonie (50 ml). pH doprowadza się do 9–9,1 za pomocą wodorotlenku sodowego i dodaje 10 ml azydromrówczanu IIIrz.-butylowego. Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze pokojowej przez 16 godzin utrzymując pH w granicach 9–9,1 za pomocą dodatku wodorotlenku sodowego.

Następnie mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się octanem etylu (100 ml) i odrzuca organiczną warstwę. Produkt wytrąca się przez obniżenie pH do 2,5 dodając rozcieńczony kwas solny. Osad odwirowuje się i przekształca w jego dwubenzylodwuwaminę sól, którą krystalizuje się z octanu

etyl. W ten sposób uzyskuje się 4,3 g soli dwubenzylodwuwaminowej kwasu 7 β -/D-5-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5-karboksylwaleramido/-7-metoksy-3-metylo-cefem-3-karboksylowego-4.

Temperatura topnienia 177–179°C (rozkład).

UV: λ max 263 μ m, 238 μ m $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ = 98,2; 81,1

Elementarna analiza $C_{38}H_{49}N_5O_9S$:

obliczono: C 59,42 H 6,74 N 9,63

znaleziono: C 60,02 H 6,80 N 9,79.

C. Sól dwubenzylodwuwaminy kwasu 3-metylo-7-metoksy-7 β -/2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksylowego-4.

Do kwasu 7 β -/D-5-IIIrz.-butoksykarbonyloamino-5-karboksylwaleramido/-3-metylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 dodaje się 200 ml rozcieńczonego wodą kwasu solnego (0,1 N) i 100 ml octanu etylu w celu ekstrakcji wolnego kwasu. Do roztworu wolnego kwasu (1,33 g 2,74 mmola) w chlorku metylenu (10 ml) dodaje się bis-trójmetylosilyloamid kwasu trójfluorooctowego (2,2 ml) i monotrójmetylosilyloamid kwasu trójfluorooctowego (0,5 ml).

Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodaje się chlorku 2-tienyloacetylowego (1,1 ml) i miesza w atmosferze azotu przez 18 godzin w temperaturze 43°C. Rozpuszczalnik usuwa się pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozdziela pomiędzy octan etylu i wodny bufor fosforanowy (pH 7,5). Warstwę wodną zakwasza się rozcieńczonym kwasem solnym, a wytrącony produkt ekstrahuje octanem etylu.

Dodatek dwubenzylodwuwaminy powoduje krystalizację 250 mg pożądanego produktu w postaci soli w proporcji 2 równoważniki produktu na jeden mol dwubenzylodwuwaminy. Rekrytalizacja soli z etanolu daje zasadniczo już czysty produkt. Temperatura topnienia 153–155°C (rozkład) z poprzedzającym ciemnieniem.

Analiza elementarna dla $C_{46}H_{52}S_4N_6O_{10}$:

obliczono: C 56,54 H 5,36 N 8,60 S 13,12

znaleziono: C 55,75 H 5,16 N 8,37 S 12,16

Przykład XXI. Kwas 7-/fenyloacetylo-2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4.

Zawiesinę cefalotynu sodowego (3,36 g) w wolnym od alkoholu, bezwodnym chloroformie (20 ml) siluluje się przez dodatek trójmetylochlorosilanu (2,2 ml). Po mieszanii przez 30 minut, dodaje się N-trójmetylosilyloamid kwasu trójfluorooctowego (5,0 ml) i chlorek fenylacetylowy (4,0 ml), a następnie mieszaninę ogrzewa się do 45°C przez dwa dni pod chłodnicą połączoną z suszącą rurką. Odparowuje się lotne składniki i otrzymuje substancję, którą rozpuszcza się w 100 ml octanu etylu i przemywa trzy razy wodą.

Warstwę octanu etylu suszy się nad siarczanem magnezu, sączy się i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem do suchej pozostałości. Pozostałość tę uciera się z chloroformem, odsącza substancje nierozpuszczalne i z przesącza wytrąca produkt za pomocą heksanu. Tę procedurę powtarza się jeszcze dwukrotnie. Kwas 7-/fenyloacetylo-2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4 (540 mg) w formie wolnej od rozpuszczal-

ników otrzymuje się przez wymrożenie z roztworu benzenowego.

IR: (CHCl_3) 1780 cm^{-1} ; 1720 cm^{-1}

NMR: (CDCl_3) — zgodny ze strukturą:

$\phi \text{CH}_2(\text{CO})$ —(4,03 ppm)

2-tienylo— CH_2 —(CO)—(4,3 ppm)

Chromatografia cienkowarstwowa: jedna duża plama, $R_f = 0,69$ (EtOAc: 62, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$: 21, HOAc: 6, H_2O : 11) na żelu krzemionkowym.

Przykład XXII. Kwas 7-/dwu-2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4.

Zawiesinę cefalotynu sodowego (1,18 mg) w wolnym od alkoholu, bezwodnym chloroformie (10 ml) siliuje się przez dodatek trójmetrylochlorosilanu (1,1 ml). Po 30 minutach mieszania, do mieszaniny dodaje się N-trójmetrylosilyloamid kwasu trójfluorooctowego (2,5 ml) i chlorek 2-tienyloacetylu (2,0 ml) i ogrzewa do 45°C.

Mieszaninę utrzymuje się w tej temperaturze przez dwa dni, a następnie odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem do suchej pozostałości, którą rozpuszcza się w octanie etylu (50 ml) i trzykrotnie przemywa wodą. Warstwę octanu etylu suszy się nad siarczanem magnezu, sączy się i przesącza odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem do suchej pozostałości.

Pozostałość rozpuszcza się w chloroformie i trzykrotnie wytrąca w heksanie za każdym razem odrzucając klarowną ciecz znad osadu. Kwas 7-/dwu-2-tienyloacetylo-/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4 w postaci wolnej od rozpuszczalników uzyskuje się przez wymrożenie z roztworu benzenowego.

NMR: (Rozpuszczalnik — CDCl_3) — zgodny ze strukturą: $\delta = 4,25$ (2-tienylo— CH_2 —(CO)—, 4H)

Chromatografia cienkowarstwowa: jedna duża plama, $R_f = 0,67$ (EtOAc: 62, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$: 21, HOAc: 6, H_2O : 11) na żelu krzemionkowym.

Przykład XXIII. Kwas 7-/2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4.

Kwas 7-/fenyloacetylo-2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowy-4 (250 mg) rozpuszcza się w czterohydrofuranie (10 ml) i wodzie (10 ml). Doprowadza się pH roztworu do 9 i pozostawia mieszaninę na 1 godzinę. Następnie roztwór ekstrahuje się octanem etylu, ekstrakt przemywa roztworem kwaśnego fosforanu dwusodowego.

Po osuszeniu odparowuje się rozpuszczalnik i otrzymuje mieszaninę materiału wyjściowego i kwasu 7-/2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowego-4. Wzajemny stosunek tych dwóch substancji wynosi 7:3. Produkt oddziela się chromatograficznie od substratu i otrzymuje się 62 mg zasadniczo czystego kwasu 7-/2-tienyloacetylo/amino-3-acetoksymetylo-cefem-3-karboksylowego-4.

Przykład XXIV. Do roztworu 19,6 g uretanu etylowego i 27,8 g trójetyloaminy w 300 ml benzenu ochłodzonego do 15°C wkrapla się 12,1 ml dwumetylo-dwuchlorosilanu utrzymując temperaturę mieszaniny poniżej 18°C.

Powstałą mieszaninę pozostawia się na 15 minut

stałe mieszając, sączy się, a placek filtracyjny przemywa się niewielką ilością benzenu. Przesącza i przemycia zateża się do około 30 ml pod zmniejszonym ciśnieniem, sączy się i placek filtracyjny przemywa się niewielką ilością benzenu. Przesącza i przemycia pozostawia się na noc pod zmniejszonym ciśnieniem, po czym wykrystalizowuje bis/etoksykarbonyloamino-/dwumetylo-silan o wzorze $(\text{CH}_3)_2\text{Si}=(\text{NHCOOC}_2\text{H}_5)_2$, który oddziela się i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem.

Mieszanina 100 mg estru dwu/metoksymetylowego/ kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -/D-5-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido-cefem-3-karboksylowego, 135 μl α -pinenu, 164 mg opisanego wyżej dwumetylo-silanu, 70 μl chlorku trójacetylowego i 2,4 ml dwuchloroetanu ogrzewa się w temperaturze 65°C w ciągu 1 godziny. Chromatografia powstałego produktu wykazała, że wytworzył opisany wyżej imid estru dwu/metoksymetylowego/ kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -/D-5'-trójchloroetoksykarbonyloamino-5'-karboksywaleramido-/tienyloacetyloamino-/cefem-3-karboksylowego-4.

Przykład XXV. Do 1 g estru dwu/metoksymetylowego/ kwasu 7 β -/D-5-trójchloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido-/3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4, rozpuszczonego w 24 ml dwuchloroetanu zawierającego 1,35 ml α -pinenu dodaje się 1,7 g N-trójmetrylosililo-dwufenylofosfonamidu, który wytwarza się z chlorku dwufenylofosforowego i sześciometylo-dwusilazanu.

Do mieszaniny tej dodaje się chlorku tienyloacetylu i temperaturę podnosi do 65°C i utrzymuje w tej temperaturze w ciągu 12 godzin.

Po schłodzeniu do temperatury pokojowej mieszaninę tę dodaje się do roztworu 50 ml zawierającego 2% NaCl, 2,5% NaHCO_3 i 3 ml metanolu. Mieszaninę miesza się energicznie w temperaturze pokojowej w ciągu 15 minut. Po rozdzieleniu warstw, warstwę organiczną dodaje się do 250 ml chłodzonego lodem heksanu, rozpuszcza się ponownie w chlorku metylenu i powtarza się wytrącanie heksanem. Wytworzony tak ester dwu/metoksymetylowy/ kwasu 7 β -/D-5-trójchloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramido-/tienyloacetyloamino-3-karbamoiloksymetylo-/7-metoksy-cefem-3-karboksylowego-4 nadaje się do dalszego przerobu.

Przykład XXVI. Do 1 g imidu estru metoksymetylowego (wytworzonego według przykładu XXV), rozpuszczonego w 10 ml dwuchloroetanu, zawierającego 2 ml α -pinenu dodaje się 0,3 ml chlorku trójmetrylosililowego.

Roztwór ogrzewa się w temperaturze 65°C w ciągu 1,5 godziny w atmosferze azotu. Rozpuszczalnik odpędza się pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszcza się w 5 ml octanu etylowego. Do roztworu tego dodaje się 5 ml benzenu i całość chłodzi się do 0°C na przeciąg kilku godzin.

Ester metoksymetylowy kwasu 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β /2-tienyloacetamido-/cefem-3-karboksylowego-4 oddziela się przez sączenie,

przemywa się 5 ml zimnej mieszaniny benzenu i octanu etylowego (1:1) i suszy się pod zmniejszonym ciśnieniem.

Przykład XXVII. 2 g estru dwu/metoksymetylowego/ kwasu 7- β -/-trójchloroetoksykarbonyloamino-5-karboksywaleramino/-3-karbamoiloksy-metylo-7-metoksy-cefem-3-karboksyłowego-4 rozpuszcza się w 48 ml dwuchloroetanu, zawierającego 2 ml α -pinenu po czym zadaje się 1,9 g N-trójmetylosililo-amidu kwasu metanosulfonowego i 1,4 ml chlorku tienyloacetylowego.

Klarowny roztwór ogrzewa się w temperaturze 65°C w ciągu 12 godzin w atmosferze azotu. Po schłodzeniu roztworu do temperatury pokojowej wkrapla się go do 500 ml ochłodzonego heksanu. Heksan dekantuje się z nad gumowatego osadu i odrzuca się. Gumowaty osad rozpuszcza się w 20 ml chlorku metylenu i ponownie strąca się przy użyciu 500 ml zimnego heksanu. Po zdekantowaniu gumowaty osad rozpuszcza się w mieszaninie 75 ml octanu etylowego i 25 ml metanolu.

Roztwór chłodzi się do 0°C, dodaje się 2 ml stężonego kwasu solnego i utrzymuje się temperaturę mieszaniny 0°C w ciągu 1,5 godziny. Roztwór wlewa się do 52 ml wody, zawierającej 5,2 g NaHCO₃. Warstwę roztworu kwaśnego węglanu ekstrahuje się 2 razy 20 ml octanu etylowego i warstwę octanu etylowego odrzuca się.

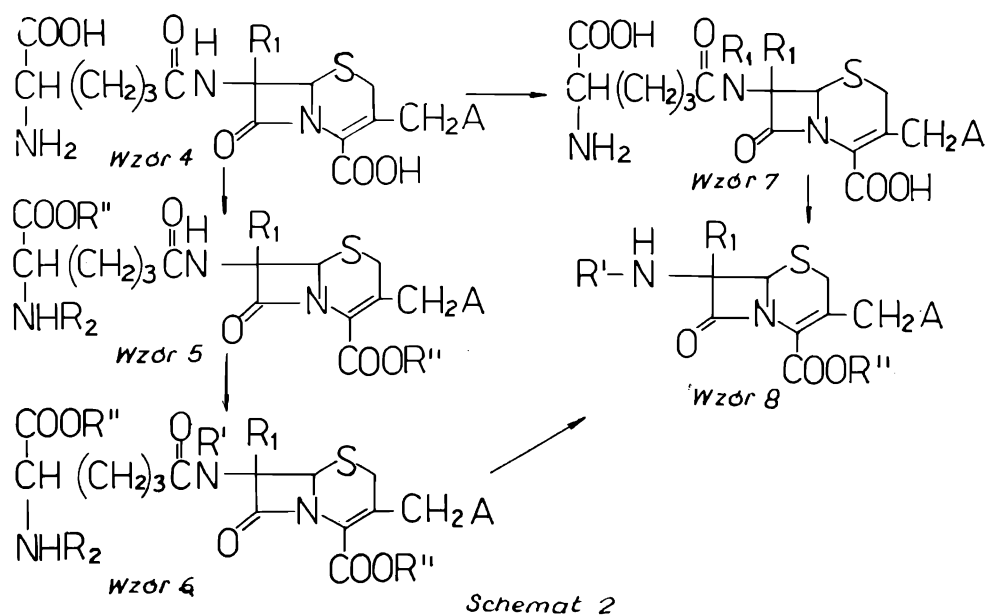
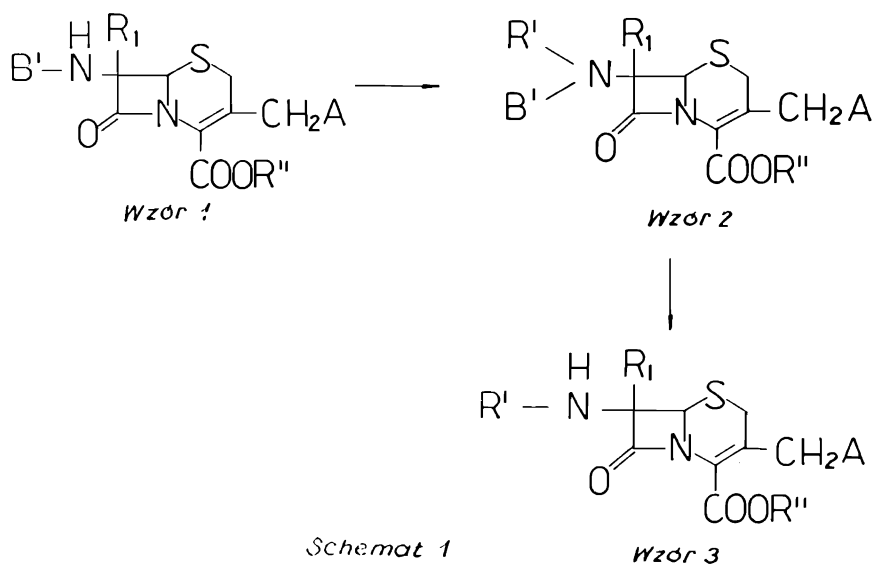
Roztwór kwaśnego węglanu zakwasza się do pH = 1,8 i ekstrahuje się 3 razy 25 ml octanu etylowego. Po zateżeniu warstwy organicznej wykrystalizowuje kwas 3-karbamoiloksymetylo-7-metoksy-7 β -/-2-tienyloacetamido/-cefem-3-karboksyłowy-4.

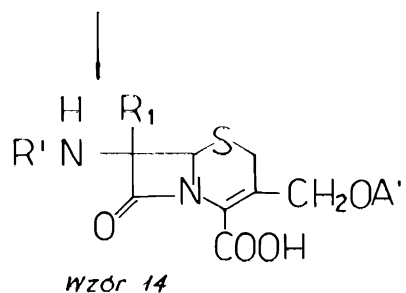
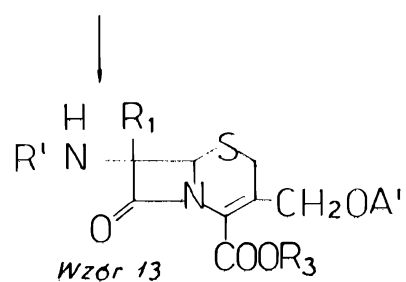
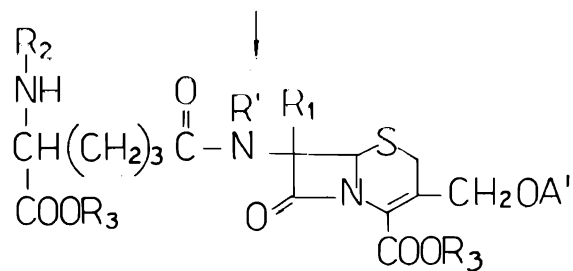
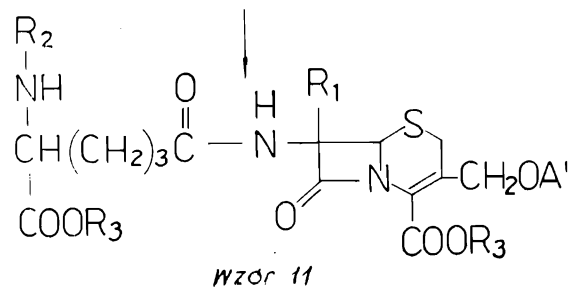
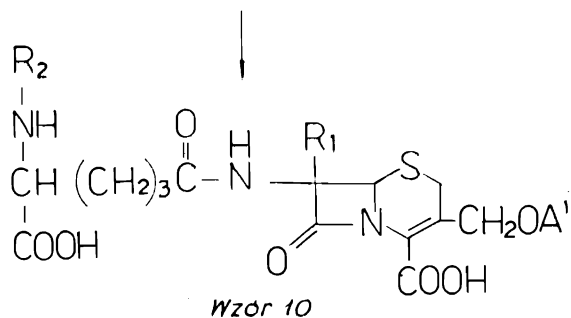
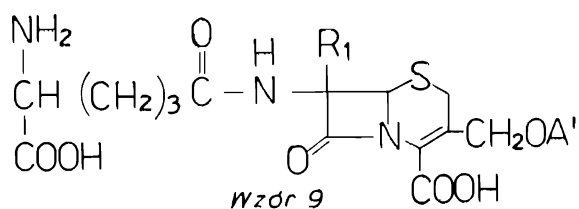
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych pochodnych 7-acyloamidocefalosporyn o ogólnym wzorze 30, w którym R₁ oznacza atom wodoru lub grupę metoksy, A oznacza niższą grupę alkanoiloksy o 2—6 atomach węgla lub grupę karbamoiloksy, R₁₀ oznacza atom wodoru, grupę azydową, karboksylową lub hydroksylową, R₁₁ oznacza fenyl, 2-furyl, 3-furyl, 2-tienyl, 3-tienyl, 3-izotiazolil, 4-izotiazolil,

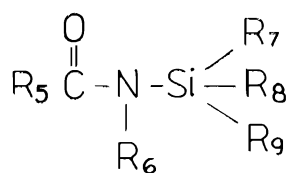
5-izotiazolil, 1,2,5-tiadiazolil, 4-pirydył, tetrazolil, albo chlorofenyl, R₄ oznacza atom wodoru, grupę metylową, etylową, III.rz.-butylową, ftaloimidometyl, sukcynoimidometyl, fenacyl, p-bromofenacyl, 2,2,2-trójchloroetyl, 2-metylotioetyl, 2-/p-metylofenylo/-etyl, 2-/p-metylofenylo/-sulfonyloetyl, 2-metyloaminoetyl, 2-chloroetyl, 2-bromoetyl, benzyl, p-nitrobenzyl, p-metoksybenzyl, 3,5-dwunitrobenzyl, 2,4,6-trójmetylobenzyl, 3,5-dwuchloro-4-hydroksybenzyl, benzhydryl, p-metoksybenzhydryl, fenyl, acetoksymetyl, piwaloiloksymetyl, metoksymetyl, p-nitrofenyl albo 3,5-dwunitrofenyl, **znamienny tym**, że związek o wzorze 31, w którym R₂ oznacza grupę trójchloroetoksykarbonyłową, III.rz.-butoksykarbonyłową, benzoilometoksykarbonyłową, trójmetylosililową, p-metoksybenzylksoylową, 2-nitrofenylosulfenylową, 2,4-dwunitrofenylosulfenylową, chloroacetylową albo o-nitrofenyloetyl, R₁, A i R₄ mają wyżej podane znaczenie a X oznacza atom tlenu lub siarki, poddaje się reakcji z równomolową ilością środka acylującego o wzorze 32, w którym R₁₀ i R₁₁ mają wyżej podane znaczenie wraz z nadmiarem środka silylującego takiego jak N-/trójmetylosililo/-acetamid, N-/trójpropylosililo/-acetamid, N-/trójbutylosililo/-acetamid, N-/trójfenylosililo/-acetamid albo N-/trójbenzylosililo/-acetamid, N,O-bis-/trójfenylosililo/-acetamid, N,O-bis-/trójbenzylosililo/-acetamid, N-/trójmetylosililo/-trójfluoroacetamid, N-/trójbutylosililo/-trójfluoroacetamid, N-/trójmetylosililo/-benzamid, N-/trójmetylosililo/-dwufenylo-mocznik, N-/trójmetylosililo/-etylokarbaminian, N-/trójfenylosililo/-sukcynimid, N-/trójmetylosililo/-ftalimid, N-/trójmetylosililo/-benzenosulfonamid, N-/trójmetylosililo/-uretan, N-/trójmetylosililo/-ftalimid, monosililo-trójfluoroacetamid, albo bis-/etoksykarbonyloamino/-dwumetylosilan w neutralnym rozpuszczalniku w temperaturze 25—70°C w ciągu 3—65 godzin dodaje się ewentualnie niższy alkanol albo niższy alkilotiol o 1—6 atomach węgla w części alkilowej, alkohol benzyłowy, 2,5n HCL lub wodny roztwór kwaśnego węglanu sodowego i wydziela się produkt.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako neutralny rozpuszczalnik stosuje się acetonitryl, chloroform, albo chlorek metylenu.

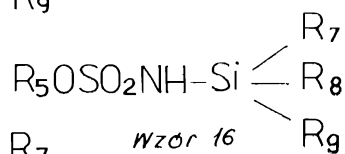




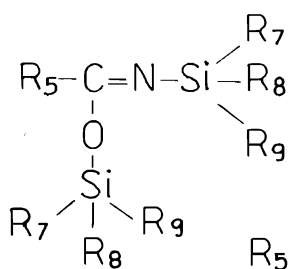
Schemat 3



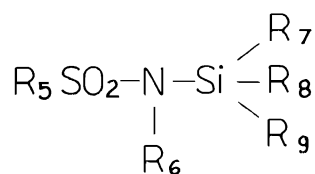
Wzór 15



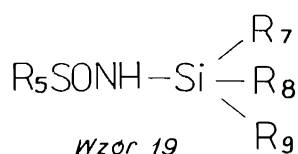
Wzór 16



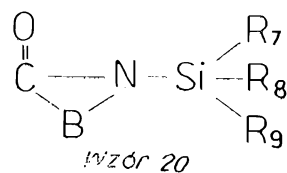
Wzór 17



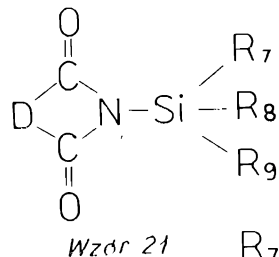
Wzór 18



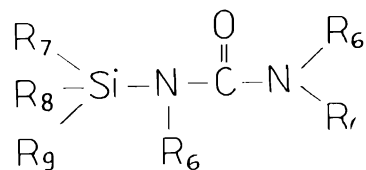
Wzór 19



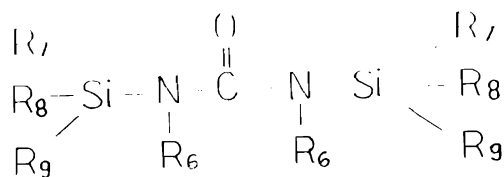
Wzór 20



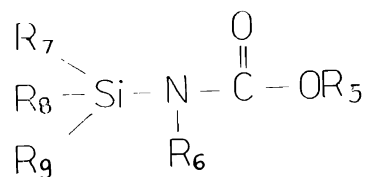
Wzór 21



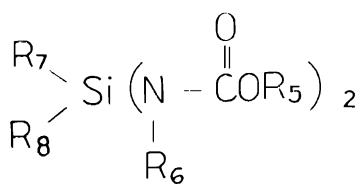
Wzór 22



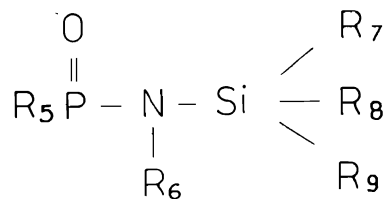
Wzór 23



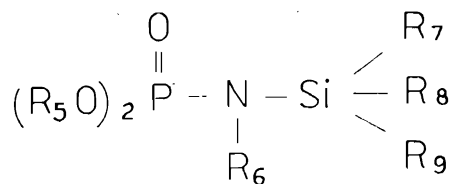
Wzór 24



Wzór 25



Wzór 26

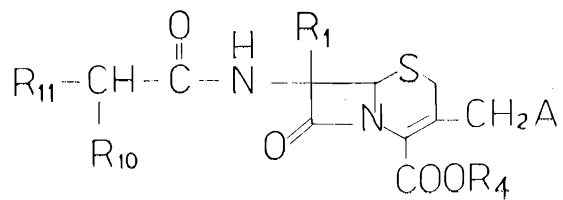


Wzór 27

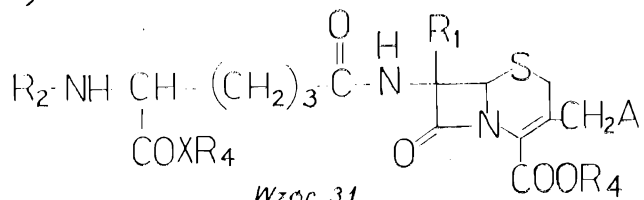


Wzór 28

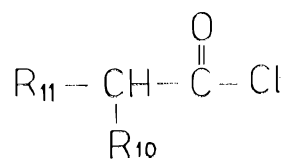
Wzór 29



Wzór 30



Wzór 31



Wzór 32