



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 05.09.75 (P. 183137)

Pierwszeństwo: 05.09.74 Stany Zjednoczone
Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 25.09.76

Opis patentowy opublikowano: 31.05.1979

Int. Cl.²

C07D 499/00

C07D 257/04

A61K 31/43

Twórca wynalazku _____

Uprawniony z patentu: Pfizer Inc., Nowy Jork (Stany Zjednoczone
Ameryki)

Sposób wytwarzania pochodnych 3-tetrazolilowych kwasu 6-aminopenicylanowego

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania pochodnych 3-tetrazolilowych kwasu 6-aminopenicylanowego, które stanowią cenne półprodukty do wytwarzania środków przeciwbakteryjnych.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku, w dalszej części opisu, określa się jako pochodne penamu.

Penicyliny, β -laktamowa grupa antybiotyków, są N-acylowymi pochodnymi kwasu 6-amino-2,2-dwumetyloopenamokarboksylowego-3. Ponieważ własności fizykochemiczne i biologiczne penicylin są w znacznym stopniu zdeterminowane przez charakter podstawnika w położeniu 6, modyfikacja chemiczna podstawników w pierścieniu penamowym skupiła się na tym położeniu.

Prace nad polepszeniem terapeutycznej wartości penicylin doprowadziły także do chemicznej modyfikacji w położeniu 3. Grupę 3-karboksylową przekształcono w szereg innych grup, otrzymując sole, bezwodniki, pochodną karbamylową, estry, tiokwas, pochodną hydroksymetylową, azydek kwasowy, izocyjanian, karbaminiany, pochodną hydroksamową i nitrylową (Khokhlov i współpracownicy, Dokł. Akad. Nauk ZSRR, 135, 875—878 (1969); C. A. 55, 11394F (1961). Przegląd takich modyfikacji podali Hamilton i Miller, Chemotherapy, 12, 73—88 (1967).

Grupę 3-karboksylową zastąpiono ponadto grupą formylową [Gottstein i współpracownicy, J. Org. Chem. 31, 1922 (1966)], przekształcono w chlorek kwasowy [Wolfe i współpracownicy, Can. J.

2

Chem. 46, 2549 (1968)], w grupę hydroksylową [Heusler, Helv. Chim. Acta, 55, 388 (1972), Sheehan i Brandt, J. Amer. Chem. Soc. 87, 5468 (1965)], w dwuazoketon (Kleiver, Khim. Geterotsikl. Soed. 1966, 702; Ramsey i Stoodley, J. Chem. Soc. (C) 1969, 1319), w grupę karboksymetylową (Kleiver, Khim. Geterotsikl. Soed. 1966), w chloroketony (3-COCH₂Cl) (Ramsey i Stoodley, Chem. Commun. 1970, 1517) oraz w N-sulfonylamidy (3-CONHSO₂Me) (opis patentowy St. Zjedn. Am. nr 3641000). Z nieznanym wyjątkiem soli, pewnych łatwo hydrolizujących estrów oraz tiokwasów, wszystkie te przekształcenia dają w wyniku silnie zmniejszoną aktywność przeciwbakteryjną.

Stwierdzono, że przekształcenie grupy 3-karboksylowej kwasu 6-amino-2,2-dwumetyloopenamokarboksylowego-3 lub odpowiedniego kwasu z zabezpieczoną grupą 6-aminową w grupę 3-tetrazolilową daje w wyniku pochodne penamowe, które stanowią bardzo wartościowe produkty pośrednie do wytwarzania środków przeciwbakteryjnych. Związki te są określone wzorem 1, w którym R oznacza atom wodoru lub grupę zabezpieczającą grupę aminową i przedstawione w polskim opisie patentowym nr 95747.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania pochodnych 3-tetrazolilowych kwasu 6-aminopenicylanowego o wzorze 1, w którym R oznacza grupę zabezpieczającą grupę aminową.

Sposób według wynalazku polega na reakcji pochodnej cyjanowej o wzorze 2 z jonami azydkowymi w obojętnym rozpuszczalniku i w obecności źródła kwasu.

Związki o wzorze 2 są związkami nowymi.

Określenie „grupa zabezpieczająca grupę aminową” oznacza jakąkolwiek grupę, która pozwala na syntezę związków o wzorze 1 w warunkach procesu, to znaczy w środowisku kwaśnym i w określonej temperaturze i którą można usunąć w takich warunkach, w których pierścień β -laktamowy pozostaje zasadniczo nienaruszony. Charakter grupy zabezpieczającej grupę aminową nie ma istotnego znaczenia. Grupa oznaczona symbolem R nie bierze udziału w tworzeniu ugrupowania tetrazolilowego, a jej zadaniem jest zabezpieczenie grupy aminowej i układu pierścieni 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu w procesie wytwarzania związków o wzorze 1. Grupę tę usuwa się następnie w odpowiednim, zwykle w ostatnim lub przedostatnim etapie procesu prowadzonego sposobem według wynalazku, w którym nie jest ona już dalej potrzebna. Wybor i identyfikacja poszczególnych grup zabezpieczających może być łatwo dokonana przez specjalistę. Przydatność i efektywność grupy zabezpieczającej grupę aminową można określić w reakcji 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu z zabezpieczoną grupą 6-aminową, prowadzonej sposobem według wynalazku. Wszystkie takie grupy mogą być stosowane w sposobie według wynalazku.

Ogólnie wszystkie grupy znane w syntezie polipeptydów jako zabezpieczające grupy aminowe nadają się do wykorzystania w sposobie według wynalazku. Szczególnie interesujące dzięki ich efektywności w zabezpieczaniu grup 6-aminowych i łatwości usuwania w warunkach, w których pierścień β -laktamowy pozostaje zasadniczo nienaruszony są grupy takie jak 2,2,2-trójkloroetoksykarbonylowe (np. 2,2,2-trójkloroetoksykarbonylowa, 2,2,2-trójbromoetoksykarbonylowa) oraz trójfenylo-metylowa (tritylowa), zwłaszcza o wzorze 4, w którym R_1 , R_2 i R_3 oznaczają atom wodoru, chloru, bromu, fluoru, grupę alkilową o 1—4 atomach węgla, alkoksylo- wą o 1—4 atomach węgla oraz fenylo- wą.

Jeżeli R w związku o wzorze 1 oznacza atom wodoru, to w kwaśnym środowisku reakcji grupa aminowa staje się jodem amoniowym jest więc zabezpieczona.

Określenie „grupa zabezpieczająca grupę aminową” oznacza ponadto grupy acylowe organicznych kwasów karboksylowych. Szczególnie korzystne są grupy 2-feniloacetylowa i 2-fenoksyacetylowa, ponieważ są one grupami acylowymi penicyliny G i penicyliny V, które stanowią odpowiednie związki wyjściowe dla związków o wzorze 1, w którym R oznacza atom wodoru.

Korzystnie w sposobie według wynalazku stosuje się 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamy z zabezpieczoną grupą 6-aminową w których R oznacza grupę trójfenylo-metylową o wzorze 4, ponieważ związki takie uzyskuje się łatwo przez tritylowanie 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu lub 6-APA/6-amino-2,2-dwumetylo-3-karboksy-

lo-penam), za pomocą odpowiedniej pochodnej chlorowcowej o wzorze 4, na przykład chlorku lub bromku trójfenylo-metylu. Szczególnie korzystną grupą zabezpieczającą grupę aminową jest grupa trójfenylo-metylowa, dzięki jej dostępności.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku są cennymi produktami pośrednimi w procesie syntezy 6-acyloamido-2,2-dwumetylo-3-tetrazolilo-5/penamów, skutecznych środków przeciwbakteryjnych.

Dla wygody związki te określono jako pochodne penamu. Termin penam zdefiniowano w J. Am. Chem. Soc., 75, 3293 (1953) jako układ posiadający strukturę o wzorze 5. Stosując tę terminologię dobrze znany antybiotyk, penicylina G, został określony jako kwas 6-/2-feniloacetylamido/-2,2-dwumetylo-penam-karboksylowy-3. 3-tetrazolino- wa pochodna penicyliny G o wzorze 1, w którym R oznacza grupę 2-feniloacetylową, określona została jako 6-/2-feniloacetylamido/-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Znane 5- podstawione tetrazole mogą występować w dwóch izomerycznych odmianach, odpowiednio o wzorze 6 i 7, które współistnieją w dynamicznej równowadze tautomerycznej.

W literaturze opisano szereg metod syntezy tetrazoli, na przykład Benson, Chem. Rev. 41, 1—61 (1947) oraz „Heterocyclic compounds” tom 8, wyd. Elderfield, John Wiley and Sons, Inc. N. Y. (1967). Wytwarzanie 5-podstawionych tetrazoli drogą reakcji alkilo- lub arylo-nitrylu z kwasu azotowodorowym zostało opisane w wyżej podanych publikacjach przez Bucklera i współpracowników. J. Red. Chem., 13, 725—9 (1970) oraz przez Juby i współpracowników J. Med. Chem. 11, 111—7 (1968). Metody opisane w literaturze charakteryzują się raczej uciążliwymi warunkami reakcji, jak podwyższone temperatury i przedłużone czasy reakcji, co w zastosowaniu do 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamów i odpowiednich penamów z zabezpieczoną grupą 6-aminową, mogłoby spowodować znaczną degradację reagentów i produktów.

Sposobem według wynalazku 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/0-tetrazolilo-5/penamy i odpowiednie penamy z zabezpieczoną grupą aminową otrzymuje się na drodze reakcji 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamów z jonami azydkowymi w stosunkowo łagodnych warunkach i w obecności kwasów. Proces ten ilustruje schemat 1.

Związki, w których R oznacza atom wodoru, tworzą łatwo sole addycyjne z kwasami organicznymi lub nieorganicznymi.

Sposób według wynalazku polega ogólnie na reakcji odpowiedniego 6-amino- i 6-N-ochronione amino/-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu o wzorze 2 ze źródłem jonów azydkowych w obojętnym rozpuszczalniku.

Jak widać ze schematu 2 w sposobie tym można stosować szereg prekursorów związków o wzorze 1.

Na schemacie 2 penicylina G może być zastąpiona penicyliną V, trityl może być zastąpiony dowolną grupą zabezpieczającą grupę aminową.

6-APA oznacza 6-amino-2,2-dwumetylo-3-karbo-
ksyloopenam

6-APA-nitryl oznacza 6-amino-2,2-dwumetylo-3-
-cyjanopenam

6-APA-amid oznacza 6-amino-2,2-dwumetylo-3-
-karbamylopenam

6-APT oznacza 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/0-tetra-
zolo-5/penam

Jony azydowe mogą pochodzić z różnych źró-
deł, przy czym jednym kryterium jest, aby źród-
ło to było zdolne do uwalniania jonów w danych
warunkach reakcji, tj. rozpuszczalnika i tempe-
ratury. Do odpowiednich źródeł jonów azydko-
wych należą nieorganiczne i organiczne azydki,
przy czym w przypadku azydów organicznych
ugrupowanie organiczne musi posiadać zdolność
silnego przyciągania elektronów. Przykładowymi
źródłami jonów azydowych są azydki metali, w
szczególności azydki metali alkalicznych, azydki
trójalkilosililowe o 1—4 atomach węgla w każdej
grupie alkilowej, takie jak azydek trójmetylosili-
lu i azydek trójetylosililu, azydek cztero-n-butylo-
aminowy, azydek czterometyloguanidyniowy, kwas
azotowodorowy, azydek amoniowy, azydek trójflu-
orometylu, azydek N,N-dwumetyloaniliniowy, azy-
dek N-metylomorfoliniowy oraz azydek trójety-
loamoniowy.

Stosunek molowy azydku do pochodnej cyjano-
penamu utrzymuje się ogólnie w zakresie od oko-
ło 1:1 — około 6:1 w celu maksymalnego zmniej-
szenia możliwości rozpadu pierścienia penamo-
wego. Stosunek ten może mieć wyższe wartości,
lecz ogólnie towarzyszy temu zmniejszenie wy-
dajności produktu tetrazolowego.

Reakcję prowadzi się w obecności źródła kwasu
jako katalizatora. W pewnych przypadkach na
przykład, przy stosowaniu azydku metalu jako
źródła jonów azydowych, obecność kwasu jest
konieczna do zajścia reakcji. Kwasy Lewisa, ta-
kie jak trójchlorek boru, działają także jako ka-
talizatory w reakcjach z udziałem kwasu azoto-
wodorowego i azydów metali, na przykład
azydku sodowego.

Przy stosowaniu azydów metali jako katali-
zator wykorzystuje się cały szereg źródeł kwasu,
takich jak kwasy organiczne i nieorganiczne. Naj-
ważniejsze jest, aby kwas był dostatecznie roz-
puszczalny w układzie rozpuszczalników stosowa-
nych do przeprowadzenia reakcji. Można to
sprawdzić w prostym doświadczeniu. Typowymi
przykładami kwasów są kwasy sulfonowe, takie
jak kwas metano- i etanosulfonowy, kwas p-to-
luenosulfonowy, kwas benzenosulfonowy, kwasy
naftalenosulfonowe, kwasy alkanokarboksylowe,
takie jak kwas octowy, n-masłowy, oktanokarbo-
ksylowy, benzoesowy i podstawione kwasy ben-
zoesowe, chlorowódór i żywiec kationowymienne.

W miejsce powyższych kwasów można stosować
sole addycyjne amin z kwasami, zwłaszcza chlo-
rowodorki amin. Można wykorzystać sole addy-
cyjne szeregu amin, pierwszo-, drugo- i trzecio-
rzędowych, przy czym charakter kwasowej części
soli addycyjnej nie wpływa na przebieg procesu.
Tym niemniej sole addycyjne z kwasami są ko-
rzystniejsze od innych z uwagi na większą do-

stępność, łatwość przygotowania i rozpuszczalność
w mieszaninie reakcyjnej. Przydatność danej soli
addycyjnej aminy z kwasem można łatwo okreś-
lić w reakcji prowadzonej sposobem według wy-
nalazku.

Aminy nieukleofilowe zalecane są bardziej, po-
nieważ nie wchodzi w reakcje uboczne z β -lak-
tamem pochodnej nitrylowej. Korzystnymi solami
addycyjnymi z kwasem są sole z kwasami mine-
ralnymi i z innymi wyżej wymienionymi kwasami.
Szczególnie użyteczne są chlorowodorki nie-
nukleofilowych amin trzeciorzędowych, takich jak
trójetyloamina, trój-n-propyloamina, trój-n-bu-
tyloamina, trójmetyloamina, N,N-dwumetyloani-
lina, N-metylopiperidyna oraz N-metylomorfolina,
ze względu na zadowalające przekształcenie ni-
trylu w tetrazol, jakie aminy te zabezpieczają w
tym procesie.

Odpowiednimi obojętnymi rozpuszczalnikami są
chlorowcowane węglowodory, takie jak trójchlo-
roetany, chloroform, chlorek metylenu, eter, ta-
kie jak dioksan, czterowodorofuran, eter dwume-
tylowy i dwuetylowy glikolu etylenowego i dwu-
etylenowego, polietery makrocycliczne, benzen,
ksylen, tetralina i pirydyna. Chloroform jest ko-
rzystnym rozpuszczalnikiem z punktu widzenia
dobrych wydajności reakcji oraz łatwości oddzie-
lania od tetrazolopenamu.

Korzystne, lecz niekonieczne, jest stosowanie
rozpuszczalników bezwodnych w celu uniknięcia
szkodliwego wpływu na wydajności żądanych po-
chodnych tetrazolowych, przy czym dopuszczalna
jest zawartość do 5% objętościowych wody.

W celu przyspieszenia reakcji korzystnie jest,
aby w rozpuszczalniku rozpuszczały się wszystkie
reagenty. Całkowita rozpuszczalność nie jest jed-
nak konieczna i rozpuszczalność częściowa reagen-
tów w układzie rozpuszczalników jest wystarcza-
jąca dla przebiegu reakcji z odpowiednią szyb-
kością.

Reakcję prowadzi się zwykle w temperaturze
około 20°C—110°C. Korzystny przedział temperatur
wynosi około 25°C—około 80°C, a zalecany około
40°C—około 70°C. Temperatura nie jest czynnikiem
decydującym i można stosować temperatury zarów-
no niższe, jak i wyższe. Niższe temperatury wyma-
gają oczywiście dłuższych czasów reakcji niż tempe-
ratury wyższe, przy czym unika się zwykle tempe-
ratur powyżej 110°C, aby zapobiec rozkładowi sub-
stratów i produktów.

Czas przebiegu reakcji zależy częściowo od rea-
gentów i stosowanego układu rozpuszczalników. Z
reguły reakcja jest zakończona w okresie około 1,5
—około 24 godzin.

Wartość stosunku molowego katalizatorów, ta-
kich jak sole addycyjne amin z kwasami do źródła
jonów azydowych zmienia się od około 1:1—około
5:1, przy czym unika się zwykle wyższych jego war-
tości w celu zmniejszenia do minimum rozkładu
pierścienia penamowego. Kwas lub sól aminy są
właściwie słabymi katalizatorami, tym niemniej
czasami dogodnie jest je stosować.

Wydajność produktu tetrazolowego zwiększa się
w obecności zasady, która w mieszaninie reakcyj-
nej tłumi oddziaływanie jonów azydowych na

β -laktam cyjanopenamu. Charakter zasady może szeroko zmieniać, przy czym wymaga się, aby była ona rozpuszczalna i posiadała charakter nienukleofilowy. Korzystnymi zasadami są organiczne aminy pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowe. Jeżeli jako katalizator stosuje się sól addycyjną z kwasem, dogodnie jest stosować nadmiar odpowiedniej aminy jako zasady. W takim przypadku ilość zasady jest zazwyczaj nie większa niż 3 mole na mol azydku, ponieważ większe ilości powodują rozpad pierścienia penamowego. Korzystnymi zasadami są trójetiloamina, piperidyna, N,N-dwumetyloanilina, anilina, N-metylopiperidyna oraz N-metylomorfolina.

Pochodne 3-/tetrazolilo-5/penamowe o wzorze 1 odzyskuje się na drodze zateżenia mieszaniny reakcyjnej pod zmniejszonym ciśnieniem oraz przez poddanie surowego produktu chromatografii na żelu krzemionkowym z użyciem jako eluenta mieszaniny chloroform- 10% metanol, z kolejnym odparowaniem eluenta i krystalizację z odpowiedniego układu rozpuszczalników.

Korzystny sposób odzyskiwania, zwłaszcza przy stosowaniu chloroformu jako rozpuszczalnika, polega na przemyciu mieszaniny reakcyjnej kolejno wodnym roztworem kwasu i wodą, a następnie na wysuszeniu i zateżeniu roztworu chloroformowego. Produkt oddziela się przez odsączenie lub odwirowanie.

W innych modyfikacjach procesu przedstawionego na schemacie 2, pochodne tetrazolowe otrzymuje się z 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu oraz nityli penicyliny G i penicyliny V, stosując opisane tu sposoby postępowania.

Wyjściowe, nowe 3-cyjanopenamy o wzorze 2 otrzymuje się przez odwodnienie odpowiednich 3-karbamylopenamów o wzorze 3, w którym R^0 ma znaczenie podane dla R, lub oznacza grupę 2-fenylacetylową lub 2-fenoksyacetylową, R ma wyżej podane znaczenie a Z oznacza grupę $-CONH_2$.

Wyjściowe związki amidowe podane na schemacie 2 wytwarza się w sposób opisany w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 2 593 852, polegającym na reakcji odpowiedniego bezwodnika 6-amino-2,2-dwumetylo-3-karboksypenam (nr bezwodnika penicyliny G lub penicyliny V) z amoniakiem w rozpuszczalniku takim jak izopropanol. 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-karbamylopenam został opisany przez w Nature, 195, 1200-1 (1962). W inny sposób przygotowuje się je zgodnie ze sposobem opisanym przez Johnsona w J. Am. Chem. Soc. 75, 3637-7 (1953), polegającym na reakcji soli trójetiloamoniowej odpowiedniego związku 6-amino-2,2-dwumetylo-3-karboksypenamowego z chloromrówczanem etylu w obojętnym rozpuszczalniku, takim jak chloroform lub chlorek metylenu z utworzeniem mieszanego bezwodnika. Reakcja bezwodnika mieszanego z wodorotlenkiem amonowym daje amid. W miejsce soli trójetiloamoniowej można użyć szeregu soli amoniowych, przy czym korzystna jest N-metylomorfolinowa sól 6-amino-2,2-dwumetylo-3-karboksypenam dzięki zadawalającym wydajnościom.

Trójfenyloametylową grupę zabezpieczającą i jej

podstawione pochodne o wzorze 4 usuwa się przez potraktowanie zabezpieczonego związku szeregiem odczynników kwasowych, w warunkach, które są znane jako odpowiednie do usuwania grupy trójfenyloametylowej. Możliwe jest na przykład użycie kwasu sulfonowego, takiego jak kwas metanosulfonowy, benzenosulfonowy lub p-toluenosulfonowy, bezwodny kwas chlorowcowodorowy, taki jak chlorowódor lub bromowódor, albo kwas alkanokarboksyowy, taki jak kwas octowy, kwas propionowy, kwas chlorooctowy, kwas trójfluorooctowy, itp. Reakcję normalnie prowadzi się rozpuszczając związek wyjściowy w odpowiednim rozpuszczalniku i dodając około dwa równoważniki molowe związku o charakterze kwasowym w temperaturze zbliżonej do temperatury otoczenia. Reakcja przebiega do końca w czasie około 1 godziny, przy czym produkt obecny jest w środowisku reakcyjnym w postaci odpowiedniej soli addycyjnej z kwasem. Należy dobrać taki rozpuszczalnik, który będzie rozpuszczał wyjściową pochodną penamową. Przykładami rozpuszczalników są takie związki jak etery, na przykład eter dwuetylowy, czterowodorofuran, dioksan i 1,2-dwumetoksyetan chlorowcowęgłowodory, takie jak chloroform, chlorek metylenu i 1,2-dwuchloroetan, niższe ketony alifatyczne, takie jak octan, keton metyloametylowy i metyloamizobutyloowy, estry, takie jak octan etylu i octan butylu, węglowodory, takie jak heksan, cykloheksan i benzen, oraz niższe alkohole takie jak metanol, etanol i butanol. Chociaż powszechnie stosuje się około dwa równoważniki molowe kwasu to w przypadku, gdy reakcję prowadzi się w obecności jednego równoważnika molowego wody lub jeżeli kwas wprowadza się w postaci monohydratu, wystarcza jeden równoważnik.

Jednakże produkt reakcji nie powinien być narażony na działanie nadmiaru kwasu przez dłuższe okresy czasu, ponieważ w takim przypadku istnieje niebezpieczeństwo rozkładu pierścienia β -laktamowego. Wskazany jest taki układ: kwas-rozpuszczalnik, aby związek wyjściowy pozostawał rozpuszczony, natomiast tworząca się sól addycyjna wytrącała się w miarę tworzenia. Sól tę można pod koniec reakcji odsączyć. Przy stosowaniu mieszaniny kwasu p-toluenosulfonowego z acetonem, produkt wytrąca się zwykle w postaci p-toluenosulfonianu.

Jeżeli grupą zabezpieczającą grupę aminową jest grupa 2,2,2-trójklorowcoetoksykarbonylowa to usuwa się ją ze związku o wzorze 1 drogą redukcyjnego odblokowania. Sposób ten polega na potraktowaniu zabezpieczonego związku płynem pyłem cynkowym w 90% wodnym kwasie mrówkowym lub stopem cynkowo-miedziowym w kwasie mrówkowym rozcieńczonym acetonitrylem, tak jak opisano przez Chanvette'a i współpracowników w J. Org. Chem. 36, 1259-67 (1971).

6-amino-2,2-dwumetylo-3-/0-tetrazolilo-5/penam jest cennym produktem pośrednim do wytwarzania 6-acyloamido-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamów, środków przeciwbakteryjnych o znacznej aktywności. Związki takie wytwarza się przez acylowanie 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu (6-APT) aktywną pochodną odpowiedniego

kwasu karboksylowego, w odpowiednim układzie rozpuszczalników. Powszechnie stosowaną aktywną pochodną jest halogenek kwasowy, taki jak chlorek kwasowy. W typowym acylowaniu, w przybliżeniu jeden równoważnik molowy chlorku kwasowego dodaje się do roztworu 6-APT lub jego soli w takim rozpuszczalniku jak chlorowane węglowodory, na przykład chloroform lub chlorek metylenu, eter, np. czterowodorofuran lub 1,2-dwumetoksyetan, ester, jak octan etylu lub octan butylu, niższy keton alifatyczny, jak aceton lub keton metylowoetylowy albo trzyczlorodowy amid, jak N,N-dwumetyloformamid lub N-metylopiroliden, w temperaturze — około — 40°C — około 30°C, a zwłaszcza około —10°C — około 10°C ewentualnie w obecności około 1 równoważnika molowego środka wiążącego kwasy na przykład trójetyleaminy, pirydyny lub wodorowęglanu sodowego. Reakcja dobiega do końca w stosunkowo krótkim czasie, np. w przybliżeniu w ciągu jednej godziny, a produkt oddziela się w znany sposób, mając na uwadze wrażliwość ugrupowania β -laktanowego.

Dla przykładu, mieszaninę reakcyjną odparowuje się do sucha i dodaje rozpuszczalnik nie mieszający się z wodą oraz wodę, przy czym w przypadkach, w których produkt wytrąca się, oddziela się go przez filtrację. Jeżeli natomiast produkt nie wytrąca się, to pH warstwy wodnej doprowadza się do odpowiedniej wartości i odparowuje fazę zawierającą produkt. Tak uzyskany produkt można ewentualnie oczyszczać dalej. Acylowanie halogenkami kwasowymi można także prowadzić przy wykorzystaniu wodnego układu rozpuszczalników. W sposobie tym, zbliżonym do reakcji Schotten-Baumanns, halogenek kwasowy dodaje się do roztworu materiału wyjściowego w wodzie albo też mieszaninę wody i innego obojętnego rozpuszczalnika utrzymuje się w granicach pH około 6,0 o około 9,0 w czasie przed, podczas i po dodaniu. Pod koniec reakcji wytrącanie produktu można często zapoczątkować przez odpowiednie nastawienie pH. W innym sposobie produkt można przeprowadzić do niemieszającego się z wodą rozpuszczalnika, a następnie roztwór odparować do sucha.

Inną aktywną pochodną kwasu karboksylowego, użyteczną jako środek acylujący, jest mieszanina bezwodnika. W postępowaniu tym roztwór uprzednio przygotowanego bezwodnika mieszanego poddaje się reakcji z 6-APT, zwykle w postaci soli trzyczlorodowej aminy, np. soli trójetyleaminy, w temperaturze około —30°C — około 20°C, zwłaszcza w temperaturze około —10°C. W większości przypadków bezwodnik mieszaniny i 6-APT poddaje się reakcji w stosunku molowym wynoszącym praktycznie 1:1. Produkt oddziela się zwykle przez odparowanie mieszaniny reakcyjnej do sucha, a następnie dodanie niemieszającego się z wodą rozpuszczalnika organicznego i wody, przy czym produkt często wytrąca się po ostrożnym nastawieniu pH. W innych przypadkach fazy rozdziela się i odparowuje do sucha fazę zawierającą produkt. Tak uzyskany surowy produkt oczyszcza się dalej, jeżeli jest to konieczne.

Inny wariant polega na przekształceniu kwasu karboksylowego w aktywny ester, który nastę-

pnie poddaje się reakcji z 6-APT lub jego solą. Do aktywnych estrów, jakie można zastosować, należą na przykład estry fenylowe, takie jak estry p-nitrofenylowe i 2,4,5-trójklorofenylowe, estry ti-dowe, takie jak estry tiofenylowe i tiolometylowe, estry N-hydroksylowe, takie jak estry N-hydroksysukcynimidowe i N-hydroksyftalimidowe. Estry przygotowuje się bardzo znanymi sposobami natomiast acylowanie dogodnie jest prowadzić rozpuszczając aktywny ester i 6-APT lub jego sól w dipolarnym oprotocznym rozpuszczalniku takim jak N,N-dwumetyloformamid, N,N-dwumetyloacetamid lub N-metylopiroliden. Roztwór przechowuje się z kolei przez kilka godzin w temperaturze otoczenia, a następnie klasycznymi metodami oddziela produkt. W pewnych przypadkach produkt można oddzielić przez proste wytrącenie, dodając odczynnik nie będącego rozpuszczalnikiem takiego jak eter metylowy lub aceton. Produkt odsącza się ewentualnie oczyszcza dalej. W szeregu przypadkach aktywny ester można zastąpić odpowiednim azydkiem kwasowym.

Jeszcze inna metoda polega na reakcji 6-APT z kwasem karboksylowym w obecności pewnych środków znanych jako środki tworzące wiązania peptydowe. Do takich środków należą karbodwuimidy, np. dwucykloheksylokarbodwuimid i 1-etylo-3-/3-dwumetyloaminopropyl/karbodwuimid, alkoksyacetyleny np. metoksyacetylen i etoksyacetylen oraz N-etoksykarbonylo-2-etoksy-1,2-dwu-wodorochinalina. Reakcję prowadzi się w odpowiednim rozpuszczalniku, na przykład takim, który będzie rozpuszczał reagujące związki i nie będzie oddziaływał ze związkami wyjściowymi lub produktem, na przykład w acetonitrylu, N,N-dwumetyloformamidzie i metylopirolidynie.

W opisanych wyżej metodach acylowania 6-APT podstawniki wodorowe grupy 6-aminowej i ugrupowania tetrazolilowego można kolejno zastąpić podstawnikami trójalkilosililowymi. Wymienione podstawniki trójalkilosililowe usuwa się następnie i zastępuje wodorem, pod koniec acylowania przez proste krótkotrwałe poddanie produktu działaniu protenowego układu rozpuszczalników, takiego jak woda lub niższy alkanol na przykład metanol lub etanol. Dzięki dostępności materiałów wyjściowych korzystna jest grupa trójmetylosililowa. Do wyjściowego 6-APT można ją wprowadzić dobrze znanymi metodami, takimi np. jak użycie trójmetylochlorosilanu lub N-trójmetylosililoacetamidu, co zostało opisane przez Birkofera i Rittera w *Angewandte Chemie* (wydanie międzynarodowe w jęz. angielskim), 4, 417—418 i 426 (1956).

Należy dobrać jednak takie warunki, aby grupa β -laktamowa pierścienia penamowego nie została naruszona. W dodatkowym wariantcie stopniowych reakcji przedstawionych na schemacie 2 możliwe i często korzystne jest prowadzenie różnych etapów reakcji bez wydzielania produktów pośrednich. 6-APT-nitryl można, na przykład przeprowadzić w jednym etapie w tritylo-6-APT, który z kolei można pozbawić grup tritylowych i acylować w jednoetapowym procesie z wytworzeniem 6-acylo-APT. Dalej, amid penicyliny G można odacylować i odwodnić w pojedynczej reakcji z wytworzeniem

nitrylu 6-APT. Takie jednoetapowe procesy eliminują konieczność wydzielania i oczyszczania produktów pośrednich, są dogodniejsze, prostsze i bardziej ekonomiczne w prowadzeniu, często zapewniają lepsze wydajności w stosunku do procesów prowadzonych w sposób wielostopniowy.

6-acylamido-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamy, dla których związki wytworzone sposobem według wynalazku stanowią produkty pośrednie, są jak wspomniano uprzednio cennymi środkami przeciwbakteryjnymi, aktywnymi in vitro przeciw szeregowi bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych. Ich użyteczną aktywność można łatwo wykazać przy pomocy prób in vitro przeciw różnym drobnoustrojom w naparze mózgowo-sercowym drogą zwykłej techniki dwukrotnych rozcieńczeń. Ich aktywność in vitro czyni je użytecznymi do zastosowań zewnętrznych w postaci maści, kremów, itp. lub do wyjaławiania np. sprzętu w pomieszczeniach dla chorych.

Są one także skutecznymi środkami przeciwbakteryjnymi in vitro dla ludzi i zwierząt, nie tylko drogą podawania pozajelitowego, lecz także doustnego.

Dawki doustne i dojelitowe dla opisanych tu związków są odpowiednio rzędu do 200 mg/kg i 100 mg/kg ciała na dzień.

Do takich celów można stosować czyste materiały lub mieszaniny z innymi antybiotykami, przy czym można je podawać jako takie lub inną metodą stosowaną w farmacji. Przykładowo można je podawać doustnie w postaci tabletek zawierających takie rozczynniki jak skrobia, cukier mlekowy, niektóre glinki itp., albo w kapsułkach lub w mieszaninie z takimi samymi lub równoważnymi ziółkami. Mogą być one także używane doustnie w postaci eliksirów lub zawiesin doustnych, które mogą zawierać środki zapachowe i barwiące, albo wstrzykiwane pozajelitowo tj. domięśniowo lub podskórnio. Przy podaniu pozajelitowym najlepiej jest stosować je w postaci sterylnego roztworu, który może być roztworem wodnym, takim jak woda, izotoniczny roztwór soli, izotoniczny roztwór dekstrozy, roztwór Ringera, albo roztworem niewodnym, takim jak roztwór w oleju tłuszczowym pochodzenia roślinnego (nasiona bawełny, olej z orzechów ziemnych, kukurydza, sezam), względnie z innymi niewodnymi nośnikami, nie zmniejszającymi terapeutycznej skuteczności preparatu i nie toksycznymi w stosowanej objętości lub proporcji (gliceryna, glikol propylenowy, sorbit). Korzystnie sporządza się także preparaty nadające się do odrębnego przygotowania roztworów przed podaniem. Preparaty te mogą zawierać ciekłe rozcieńczalniki, np. dwuetylowęglan glikolu propylenowego, glicerynę, sorbit, itp., środki buforujące oraz lokalne środki nieczulające i sole nieorganiczne.

Przykład I. 6-[dwufenylo-/2-metylofenylo/metyloamino]-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Drobnosproszkowany azydek sodowy (325 mg, 5 mmoli) dodaje się do roztworu 6-[dwufenylo-/2-metylofenylo/metyloamino]-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu (45,4 mg, 1 mmol) w wolnym od etanolu chloroformie (5 ml) zawierającym 271 mg (2 mmole) chlorowodoru N-metylopiperydyny

i 5 kropli N-metylopiperydyny. Mieszaninę ogrzewa się przez 1 godzinę pod chłodnicą zwrotną, po czym dodaje się drugi równoważnik chlorowodoru N-metylopiperydyny. Ogrzewanie kontynuuje się przez dalszą godzinę, a następnie mieszaninę reakcyjną pozostawia się przez noc w temperaturze pokojowej. Z kolei dodaje się chloroform (15 ml) i wodę (15 ml) przy pH 2,5. Mieszaninę wytrząsa się, oddziela warstwę wodną i przemycwa 4-krotnie wodą. Warstwę chloroformową suszy się za pomocą $MgSO_4$ i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując pozostałość w postaci pianki. Wydajność wynosi 25%, tj. 124 mg.

Widmo NMR związku w $CDCl_3$ wykazuje pasma absorpcyjne przy 1,0—1,60 (2s, 3H każdy, metylo C-2), 1,97 (s, 3H, $AR-CH_3$, 3,04) (d, $J = 11$ Hz, 1H, NH), 4,40—4,67 (m, 2H, $H_2 + H_6$), 5,17 (s, 1H, H_3) oraz 7,16 (m, 14 protonów aromatycznych) ppm.

W podobny sposób 6-[dwufenylo-/2-bromofenylo/metyloamino]-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenam, 6-[dwufenylo-/2-metylofenylo/metyloamino]-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenam, a także sole addycyjne 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu z kwasem p-toluenosulfonowym, benzenosulfonowym, metanosulfonowym, chlorowodorowym, bromowodorowym, octowym, trójfluorooctowym i chlorooctowym, przekształca się w odpowiednie 6-/N-ochronione amino-/2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamy.

Przykład II. 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę zawierającą 5,58 g (12,7 mmola) 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu, 1,72 g (12,7 mmola) chlorowodoru N-metylopiperydyny, 826 mg (12,7 mmola) azydku sodowego oraz 150 ml dioksanu ogrzewa się przez 15 godzin w stanie wrzenia pod chłodnicą zwrotną, po czym brunatną mieszaninę reakcyjną zależa się pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując ciemnobrunatny szlam. Produkt ten poddaje się chromatografowaniu na kolumnie (38,1 × 44,45 cm) wypełnionej żelazem krzemionkowym (70—230 mesh), stosując chloroform — 10% metanol jako eluent. Zbiera się frakcje po 60 ml, przy czym produkt, zawarty we frakcjach 12—50 odzyskuje się przez ich odparowanie pod zmniejszonym ciśnieniem do otrzymania gęstego pomarańczowo-brunatnego oleju. Olej uciera się z chloroformem, a otrzymane białe kryształy odsąca się i przemycwa chloroformem (830 mg, 13,6%).

Krystaliczny produkt oczyszcza się dalej przez rozpuszczenie w minimalnej objętości ciekłego acetonu z kolejnym dodaniem 1,5 objętości heksanu i oziębieniem. Kryształy oddziela się przez filtrację, przemycwa heksanem i suszy przez 4 godziny w temperaturze 56°C pod próżnią. Wydajność: 780 mg surowego produktu daje 513 mg oczyszczonego produktu o temperaturze topnienia 118°C z rozkładem. Widmo NMR oraz analiza ilościowa wskazuje, że uzyskany produkt jest hemihydratem, prawdopodobnie wskutek obecności wody w reagentach i rozpuszczalnikach.

Widmo NMR produktu w $DMSO-D_6$ wykazuje pasma absorpcyjne przy 0,92—1,60 (2s, 3H każdy, metyle C-2), 3,35 (d, $J = ca$ 11 Hz, 1H, NH), 4,48—4,68 (m, 2H, H_2CH_6), 5,32 (s, 1H, H_3), 6,15

(s, 1H, tetrazolowe NH), 7,10—7,80 (s, 15H protony aromatyczne) ppm.

Przykład III. 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę benzenowego solwatu 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu (258 mg, 0,5 mmola), azydku sodowego (33 mg, 0,5 mmola), chlorowodoru trójetiloaminy (69 mg, 0,5 mmola) i chloroformu (10 ml) miesza się i ogrzewa przez trzy godziny pod chłodnicą zwrotną. Z kolei dodaje się dalszą porcję (0,5 mmola) azydku sodowego i kontynuuje ogrzewanie przez noc. Wtedy do mieszaniny dodaje się po jednym równoważniku azydku sodowego i chlorowodoru trójetiloaminy i ogrzewa ją przez dodatkowe dwie godziny pod chłodnicą zwrotną. Dodawanie powtarza się jeszcze dwa razy, po czym mieszaninę ponownie ogrzewa się przez noc pod chłodnicą zwrotną. Następnie mieszaninę schładza się do temperatury pokojowej i dodaje kolejno chloroform (10 ml) i wodę (10 ml). Przy pomocy 6n kwasu solnego nastawia się wartość pH mieszaniny na 2,0, po czym całość miesza się energicznie i rozdziela warstwy. Warstwę chloroformową przemywa się wodą i zaszczenia kryształem produktu z przykładu II. Krystalizacja zachodzi w ciągu 5 minut. Otrzymaną papkę miesza się przez 10 minut, a następnie powoli dodaje do takiej samej objętości heksanu. Otrzymaną zawiesinę miesza się jeszcze przez 15 minut i sączy. Osad na sączku przemywa się heksanem i suszy na powietrzu. Wydajność 124 mg, tj. 51,5%.

Widmo NMR produktu w DMSO-D₆ wykazuje pasma absorpcyjne identyczne z pasmami produktu z przykładu II.

Przykład IV. 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę suchego chlorowodoru N-metylopiperydyny (8,14 g, 0,06 mola) bezwodnego chloroformu wolnego od etanolu (180 ml), 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu (13,2 g, 0,03 mola), drobno sproszkowanego azydku sodowego (3,9 g, 0,06 mola) oraz N-metylopiperydyny (8,9 g, 0,09 mola) ogrzewa się przez 80 minut do temperatury 53°C (temperatura wewnętrzna). Następnie mieszaninę chłodzi się do temperatury pokojowej i rozcieńcza chloroformem wolnym od etanolu (750 ml) oraz wodą (800 ml). Po starannym wytrząśnięciu warstwę chloroformową oddziela się i przemywa kolejno 1,5 n kwasem solnym (1 × 1000 ml) oraz wodą (1 × 800 ml). Roztwór chloroformowy filtruje się przez bezwodny siarczan sodowy, a następnie zateża pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 300 ml, przy czym wydzielają się białe kryształy. Zateżony produkt rozcieńcza się heksanem (350 ml) i po 15 minutach sączy. Oddzielony krystaliczny produkt przemywa się heksanem i suszy na powietrzu przez 15 minut, a następnie przez 1 godzinę pod próżnią w temperaturze 58°C. Wydajność 7,66 g, tj. 52,9%.

Widmo NMR związku w DMSO-D₆ wykazuje pasma absorpcyjne identyczne z pasmami produktu z przykładu II.

Przykład V. 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwume-

tylo-3-cyjanopenamu (4,39 g, 0,01 mola), bezwodnego chloroformu wolnego od etanolu (20 ml), sproszkowanego azydku sodowego (650 mg, 0,01 mola) i N-metylopiperydyny (2,98 g, 0,03 mola) ogrzewa się do temperatury 58—60°C. (temperatura wewnętrzna). Z kolei co 15 minut przez 1 godzinę dodaje się mieszając 5 ml roztworu suchego chlorowodoru N-metylopiperydyny (1,5 g, 0,011 mola) w chloroformie wolnym od etanolu. Mieszaninę miesza się i ogrzewa przez 1,5 godziny w temperaturze 58°-60°C. Dodaje się N-metylopiperydynę, a następnie drobno sproszkowany azydek sodowy (650 mg) i chlorowodorek N-metylopiperydyny (1,5 g, 0,11 mola) w chloroformie wolnym od etanolu (20 ml). Po dodatkowym ogrzaniu przez 1 godzinę mieszaninę schładza się do temperatury pokojowej, a następnie rozcieńcza wodą (150 ml) i chloroformem wolnym od etanolu (250 ml). Z kolei, po starannym wytrząśnięciu, oddziela się warstwę chloroformową i przemywa kolejno in HCl (1 × 250 ml) i wodą (1 × 150 ml).

Roztwór chloroformowy sączy się przez bezwodny siarczan sodowy a następnie zateża pod chłonic próżnią do objętości około 100 ml, przy której zaczynają pojawiać się kryształy. Zateżony produkt rozcieńcza się wtedy heksanem (150 ml) i po 20 minutach sączy się. Krystaliczny produkt przemywa się 50 ml roztworu chloroformu-heksan w stosunku 1:1. Po wysuszeniu na powietrzu produkt dalej suszy się w piecu próżniowym przez 1 godzinę w temperaturze 40°C. Wydajność 2,93 g białych kryształów (60,7%), o temperaturze topnienia 133—137°C z rozkładem.

Widmo NMR produktu wykazuje pasma absorpcyjne identyczne z pasmami produktu z przykładu II.

Przykład VI. 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę 6-trójfenyloametyloamino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu (10 g, 0,0193 mola), azydku sodowego (7,41 g, 0,114 mola), chlorowodoru N-metylopiperydyny (3,39 g, 0,025 mola) oraz chloroformu (100 ml) ogrzewa się przez 4 godziny pod chłodnicą zwrotną w okrągłodennej kolbie zaopatrzonej w miedzadko, chłodnicę i rurkę ze środkiem suszącym. Następnie mieszaninę reakcyjną schładza się i dodaje wodę (300 ml) oraz chloroform (100 ml). Po starannym wytrząśnięciu oddziela się warstwę chloroformową i przemywa kolejno 1n kwasem solnym (100 ml) i nasyconą solanką (100 ml). Po szybkim przesączeniu przez bezwodny siarczan sodowy roztwór zateża się pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 75 ml. Wtedy do koncentratu dodaje się heksan (20 ml) w celu wytrącenia produktu w postaci całych kryształów, które odsąca się, przemywa roztworem (50 ml) 20% heksanu i chlorku metylenu i suszy pod próżnią w temperaturze pokojowej. Wydajność 2,7 g (29,6%) produktu o temperaturze topnienia 133—136°C.

Widmo NMR produktu w DMSO-D₆ wykazuje pasma absorpcyjne identyczne z pasmami produktu z przykładu II.

Przykład VII. 6-/2-fenylacetamido-/2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penam.

Mieszaninę jednowodnego kwasu p-toluenosulfonowego (788 mg, 4,14 mmola), acetonu (35 ml) —

i 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu (2,0 g, 4,14 mmola) miesza się przez 20 minut w temperaturze pokojowej, a następnie rozcieńcza się wodą (100 ml) i eterem izopropylowym (100 ml). Dwufazową mieszaninę miesza się energicznie i doprowadza pH do 7 przy pomocy 2n wodorotlenku sodowego. Z kolei dodaje się chlorek fenylacetyle (700 mg, 4,55 mmola), świeżo przedestylowany, a pH mieszaniny reakcyjnej utrzymuje się na poziomie 5,5–6,5 przez dodawanie 2n wodorotlenku sodowego, jeżeli jest to konieczne. Reakcję kontynuuje się, aż pH osiągnie wartość 6,5. Następnie obydwie fazy rozdziela się i przemywa warstwę wodną eterem (2 × 50 ml). Po dodaniu chloroformu do warstwy wodnej, pH nastawia się na 2 przy pomocy 6n HCl. Po wytrząśnięciu warstwy rozdziela się i warstwę wodną ekstrahuje chloroformem (2 × 50 ml). Po połączeniu warstw chloroformowych, suszy się je Na_2SO_4 , a następnie zależa pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 50 ml. Z kolei do koncentratu dodaje się po kropki roztwór eteru w heksaniu w stosunku 1:1, z energicznym mieszaniem, aż do zupełnego wytrącenia produktu. Uzyskany biały osad oddziela się przez filtrację i suszy na powietrzu. Wydajność 850 mg (57,4%) produktu o temperaturze topnienia 168–170°C.

Widmo NMR związku w $\text{DMSO}-D_6$ wykazuje pasma absorpcyjne przy 1,10–1,68 (2s, każdy, metyle C-2), 3,60 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 5,28 (s, 1H, H_3), 5,42–5,80 (m, 2H, $\text{H}_5 + \text{H}_6$) oraz 7,30 (s, 5 protonów aromatycznych) ppm.

Przykład VIII. 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Do zawiesiny 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu (483 mg, 1,0 mmola) w suchym acetonie (5 ml) dodaje się w temperaturze pokojowej jednowodny kwas p-toluenosulfonowy (209 mg, 11 mmola). Otrzymany roztwór miesza się przez 10 minut, a następnie dodaje eter (30 ml) w czasie 5 minut. Mieszaninę miesza się przez 10 minut, po czym osad dekantuje się. Stałą substancję rozpuszcza się w czterowodorofuranie (30 ml) i wprowadza do kolumny (300 × 6 mm) wypełnionej 10 g florisilu (syntetyczny krzemian magnezowy). Kolumnę przemywa się czterowodorofuranem, aż do uzyskania 125 ml eluatu, który odparowuje się do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 40°C. Uzyskuje się 210 mg stałej substancji, sporządza jej zawiesinę w eterze (30 ml), sączy, przemywa eterem i suszy na powietrzu. Wydajność 121 mg (50%).

Widmo NMR produktu w $\text{DMSO}-D_6$ wykazuje pasma absorpcyjne przy 1,08–1,52 (2s, 3H każdy, metyle C-2), 4,60–5,52 (2d, $J = 4,0$ Hz, $\text{H}_5 + \text{H}_6$), 5,10 (s, 1H, H_3) oraz 5,88 (s, 3H, NH_3) ppm.

Przykład IX. Tosylan 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu.

Mieszaninę 6-trójfenyloamino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu, jednowodnego kwasu p-toluenosulfonowego i bezwodnego acetonu miesza się przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po półgodzinnym mieszanii wytrąca się osad do którego dodaje się bezwodny aceton. Po zakończeniu mieszania osad odsacza się, przemywa aceto-

nem i eterem, po czym suszy się na powietrzu. Postępując w sposób analogiczny do wyżej opisanego inne pochodne trójfenyloametylowe z przykładów I–IV przekształca się w sole addycyjne z kwasem p-toluenosulfonowym.

Użycie innych kwasów zamiast kwasu p-toluenosulfonowego powoduje także odtritylowanie produktów z przykładów I–VI, dając odpowiednią sól 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu z uży-
tym kwasem, np. kwasem benzenosulfonowym, metanosulfonowym, chlorowodorowym, bromowodorowym, trójfluorooctowym, chlorooctowym lub octowym.

Przykład X. Do roztworu bezwodnego amidu penicyliny G (3,6 g 0,0108 mola) i chinoliny (6,97 g, 0,0854 mola) w denterochloroformie (50 ml) dodaje się w temperaturze -5°C , w jednej porcji pięciochlorek fosforu (5,05 g, 0,0243 mola). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze -5°C przez pół godziny, a następnie pozostawia do ogrzania do temperatury pokojowej. Widmo magnetyczne rezonansu jądrowego wskazuje na pełne przereagowanie w kierunku utworzenia 6-/1-chloro-2-fenyletylidenoimino-/2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu. Pasma absorpcyjne występują przy 1,54–1,72 (s, 3H każdy, metyle C-2) 3,98 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CCl}_2$), 4,79 (s, 1H, H_3), 5,25–5,70 (m, 2H, $\text{H}_5 + \text{H}_6$), 7,35 (s, 5H, O).

Mieszaninę reakcyjną ponownie chłodzi się do -5°C i traktuje n-propanolem (7,8 ml), a następnie miesza przez 1 godzinę. Analiza NMR mieszaniny reakcyjnej wykazuje, że protony chloroimino-β-laktamu zniknęły i zostały zastąpione przez nową grupę protonów, które przypisuje się odpowiedniemu aminoeterowi. Potraktowanie mieszaniny reakcyjnej wodą (1 ml) powoduje wytrącenie chlorowodoru 6-amino-2,2-dwumetylo-3-cyjanopenamu (1,60 g 64%).

Przykład XI. 6-/2-fenoksyacetamido-/2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Zawiesinę 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu (480 mg) w wodzie (10 ml) ochładza się mieszając do temperatury 0°C , a następnie doprowadza pH do wartości 8,0 przy pomocy wodorotlenku sodowego. Do tak przyrządzonego roztworu dodaje się porcjami chlorek fenoksyacetyle (0,25 ml), utrzymując pH roztworu między 7 i 8 przy pomocy 0,1 n wodorotlenku sodowego. Roztwór miesza się przez dalsze 30 minut w temperaturze 0°C przy pH 8, przy czym ekstrahuje się go chloroformem oddzielając ekstrakty. Warstwę wodną zakwasza się do pH 2 przy pomocy rozcieńczonego kwasu chlorowodorowego i ponownie ekstrahuje chloroformem. Te ostatnie ekstrakty suszy się przy pomocy siarczana wapnia i odparowuje pod próżnią uzyskując produkt w postaci gąbczastej masy. Produkt oczyszcza się rozpuszczając go w chloroformie (20 ml) i wkraplając otrzymany roztwór do heksanu (250 ml). Wytrącony osad odsacza się uzyskując 395 mg 6-/2-fenoksyacetamido-/2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu w postaci białego amorficznego ciała stałego. Widmo w podczerwieni (pastylka Kör) produktu wykazuje pasma absorpcyjne przy 1785 cm^{-1} (karbonyl β-laktamu), 1670 cm^{-1} (1 pasmo amidowe) oraz 1540 cm^{-1}

(II pasmo amodowe). Widmo NMR w DMSO- D_6 wykazuje pasma absorpcyjne przy 7,50–6,70 ppm (m, protony aromatyczne), 5,70 (m, protony przy C-5 i C-6), 5,35 (s, metyl przy C-3), 4,66 ppm (s, 2H, ϕ OCH $_2$) oraz 1,66–1,16 ppm (s, 3H każdy, metyle C-2).

Aktywność przeciwbakteryjna in vitro związku, wyrażona jako minimalne stężenie hamujące rozwój bakterii ze szczepu *Streptococcus pyogenes* wynosi poniżej 0,1 mg/ml.

Przykład XII. 6-/2-fenyloacetamido/-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Produkt otrzymuje się powtarzając sposób postępowania z przykładu XI, lecz stosując zamiast chloru fenoksyacetylu równoważną ilość chlorku fenyloacetylu jako środka acylującego. Jego minimalne stężenie wstrzymujące rozwój bakterii (MIC) wynosi w przypadku *Streptococcus pyogenes* poniżej 0,1 mg/ml.

Przykład XIII. 6-/2-amino-2-fenyloacetamido/-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penam.

Zawiesinę 6-amino-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/-penamu (200 mg) w wodzie (5 ml) ochładza się mieszając do temperatury 0–5°C przy pomocy łaźni lodowej. Po nastawieniu pH na wartość 7,0 przy pomocy rozcieńczonego roztworu wodorotlenku sodowego, do zawiesiny dodaje się porcjami chlorowodorek chlorku D-2-amino-2-fenyloacetylu (274 mg, wg Harcastle et al., Journal of organic Chemistry, 31, 897 (1966) przez 15 minut w temperaturze 0–5°C, utrzymując pH między 6 i 7 dodatkiem rozcieńczonego wodorotlenku sodowego. Po dodaniu całości chlorku mieszaninę reakcyjną miesza się przez dalsze 15 minut, a następnie sączy. Wartość pH ługów macierzystych nastawia się na 4,4 przy pomocy rozcieńczonego kwasu chlorowodorowego, po czym roztwór pozostawia się na noc w lodówce. Po przesączeniu roztworu ługi macierzyste wprowadza się na kolumnę 25 g Sephadex LH-20, zarobionego wodą (Pharmacia Fin Chemicals, Inc.). Kolumnę wymywa się wodą i zbiera frakcje, których skład ustala się drogą chromatografii cienkowarstwowej. Frakcje zawierające czysty produkt łączy się i odparowuje pod wysoką próżnią do objętości około 1 ml. Zatężony roztwór odstawia się na krótki okres czasu. Wykryty

wuje por produkt, który odsącza się, przemywa krótko wodą i suszy. Wydajność 55 mg czystego 6-/D-2-amino-2-fenyloacetamido/-2,2-dwumetylo-3-/tetrazolilo-5/penamu o temperaturze topnienia 192–196°C. Widmo w podczerwieni (pastylka KBr) wykazuje absorpcję przy 1770 cm^{-1} (karbonyl β -laktamu), 1680 cm^{-1} (pasmo amidowe) oraz 1520 cm^{-1} (II pasmo amidowe).

Minimalne stężenie wstrzymujące rozwój bakterii wynosi w przypadku *Streptococcus pyogenes* poniżej 0,1 mg/ml.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania pochodnych 3-tetrazolilowych kwasu 6-aminopenicylanowego o wzorze 1, w którym R oznacza grupę zabezpieczającą grupę aminową, **znamienny tym**, że pochodną cyjanową o wzorze 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z jonami azydowymi w obojętnym rozpuszczalniku, w obecności źródła kwasu i ewentualnie z otrzymanego produktu usuwa się grupę zabezpieczającą grupę aminową w reakcji z reagentem kwasowym.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w temperaturze 20–110°C.

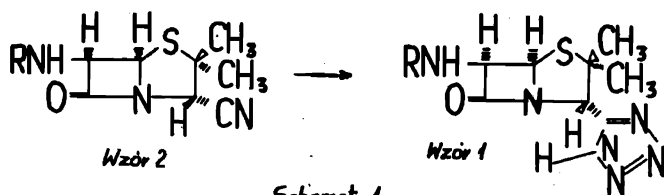
3. Sposób według zastrz. 1, albo 2, **znamienny tym**, że jako źródło kwasu stosuje się sól addycyjną aminy z kwasem.

4. Sposób według zastrz. 3, **znamienny tym**, że jako sól addycyjną aminy z kwasem stosuje się chlorowodorek trzeciorzędowej aminy.

5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako źródło kwasu stosuje się sól addycyjną aminy z kwasem, przy czym w mieszaninie reakcyjnej znajduje się także amina.

6. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się pochodną cyjanową o wzorze 2, w którym R oznacza grupę zabezpieczającą o wzorze 4, w którym każdy z podstawników R_1 , R_2 i R_3 oznacza atom wodoru, chloru, bromu, fluoru, grupę alkilową o 1–4 atomach węgla, alkoksylową o 1–4 atomach węgla lub grupę fenyłową.

7. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako reagent kwasowy stosuje się kwas p-toluenosulfonowy.



Schemat 1

