

(19) DANMARK



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET



(12) FREMLÆGGESESSKRIFT (11) 143342 B

- (21) Ansøgning nr. 1318/70 (51) Int.Cl.³ C 07 D 501/22
(22) Indleveringsdag 17. mar. 1970 C 07 D 501/10
(24) Løbedag 17. mar. 1970
(41) Alm. tilgængelig 19. sep. 1970
(44) Fremlagt 10. aug. 1981
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet 18. mar. 1969, 808313, US
- (71) Ansøger ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, US.
- (72) Opfinder William Lee Garbrecht, US.
- (74) Fuldmægtig Ingeniørfirmaet Hofman-Bang & Boutard.

- (54) Cephalosporin-forbindelser til
anvendelse som mellemprodukter
ved fremstilling af cephalixin
og fremgangsmåde til fremstil-
ling af disse forbindelser.

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte cephalosporin-forbindelser til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af cephalixin, og opfindelsen angår endvidere en fremgangsmåde til fremstilling af de omhandlede cephalosporin-forbindelser.

U.S.A. patent nr. 3.275.626 omhandler en fremgangsmåde til omdannelse af et penicillinsulfoxid til et desacetoxyccephalosporin ved opvarmning under sure betingelser. Det fremkomne cephalosporin har en methylgruppe i 3-stillingen, og i 7-stillingen sidder den substituent, som var i penicillinudgangsmaterialets 6-stilling. Amidogruppen i 7-stillingen kan fraspaltes på egnet vis til opnåelse af 7-aminoforbindelsen. Acylering af 7-aminogruppen med en egnet acylgruppe resulterer i dannelsen af antibiotisk aktive cephalosporiner.

UK 143342 B

For at beskytte carboxylgruppen i molekylet under reaktionen foretrakkes det at anvende en ester af penicillinet. Den anvendte estergruppe bør være let at fjerne efter reaktionens afslutning, da de frie cephalosporinsyrer er mere aktive end cephalosporinesterne.

De hidtil anvendte estergrupper har haft én eller flere ulemper. Det kan f.eks. være vanskeligt at fjerne gruppen for at gendanne den frie carboxylgruppe, eller gruppen kan spalte fra under reaktionen, hvilket fører til uønskede biprodukter, og endelig kan de under reaktionen optrædende mellemprodukter være viskose olier, som er vanskelige at have med at gøre. Af typiske tidligere anvendte estere kan nævnes methyl-, benzyl- og 2,2,2-trichlor-ethylestere.

Det har nu vist sig hensigtsmæssigt at anvende en p-nitrobenzylester ved syntesen af cephalixin. Således vil de omhandlede cephalosporinmellemprodukter ved ringudvidelse af et penicillinsulfoxid ved opvarmning under sure betingelser, fulgt af en sidekædefraspaltning, en acylering med phenylglycin og fjernelse af p-nitrobenzylgruppen og beskyttelsesgruppen på sidekædeaminogruppen resultere i forøgede udbytter og lettere omgang med mellemprodukterne. p-Nitrobenzylestere har en stærk tendens til at få adskillige mellemprodukter til at krystallisere, hvilket letter isoleringen af disse samt forøger produktrenheden og udbyttet. Denne estergruppe er endvidere stabil overfor syrer, således at der ikke opstår uønskede biprodukter under ringudvidelsen eller sidekædefraspaltningen på grund af partiel deesterifikation. p-Nitrobenzylgruppen fjernes let under dannelse af cephalixin ved reduktion i surt medium, en ren, mild reaktion, som ikke forårsager nedbrydning og Δ^2 -isomerisering.

De omhandlede cephalosporin-forbindelser til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af cephalixin er ejendommelige ved, at de har den i krav 1 anførte almene formel I.

Opfindelsen angår endvidere en fremgangsmåde til fremstilling af disse forbindelser, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved det i den kendetegnende del af krav 2 anførte.

Begge de nye forbindelser, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er p-nitrobenzylestere af cephalosporin-forbindelser,

og de er nyttige mellemprodukter ved fremstilling af cephalalexin ud fra penicilliner. p-Nitrobenzylestergruppen giver disse forbindelser gode egenskaber, herunder tendens til krystallisation og stabilitet under de anvendte reaktionsbetingelser, men gruppen er endvidere let at fjerne ved hydrogenering eller kemisk reduktion under sure betingelser.

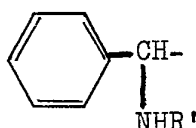
Mellemprodukterne, hvori R betegner benzyl og phenoxymethyl, har samme sidegrupper som henholdsvis penicillin G og penicillin V.

Penicillinsulfoxidesteren med formlen (II) kan fremstilles på vilkårlig egnet vis, f.eks. ved at man oxiderer den fri penicillinsyre som beskrevet i U.S.A. patent nr. 3.197.466, fulgt af en esterificering af sulfoxidet ved omsætning med et p-nitrobenzylhalogenid, eller ved at man først fremstiller esteren af penicillinet, hvorpå man oxiderer penicillinesteren til sulfoxidet.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af cephalosporiner som mellemprodukter opvarmes denne penicillinsulfoxidester under sure betingelser, hensigtsmæssigt til en temperatur på 75 - 175°C, f.eks. som beskrevet i U.S.A. patent nr. 3.275.626. Denne behandling resulterer i udvidelse af penicillinkernen under dannelse af en cephalosporin-forbindelse med formlen (I). Denne type forbindelse er kendt som et desacetoxycephalosporin, da forbindelsen er substitueret i 3-stillingen med en methylgruppe i stedet for med en acetoxymethylgruppe som i cephalosporin C.

Ved fremstilling af cephalalexin ud fra de omhandlede mellemprodukter fraspaltes benzyl- eller phenoxymethyl-sidekæden på desacetoxycephalosporinet under dannelse af 7-aminoforbindelsen. Denne forbindelse er p-nitrobenzylesteren af 7-aminodesacetoxycephalosporinsyre. Denne sidekædefraspaltning kan foretages ved en vilkårlig egnet fremgangsmåde, f.eks. som beskrevet i U.S.A. patenterne nr. 3.183.311, 3.207.755 og 3.234.223, britisk patent nr. 1.119.806 og tysk patent nr. 6.513.095.

Derefter acyleres den frie aminogruppe med phenylglycin, hvorved der i 7-stillingen indføres en gruppe med formlen:



og hvori R' er en blokerende gruppe. Denne acylering udføres under anvendelse af velkendte acyleringsmetoder, hvorved phenylglycinet aktiveres med et carbodiimid eller anvendes i form af et syrechlorid eller bromid eller blandet anhydrid som f.eks. isobutyl eller sek.-butyl, blandet anhydrid. Det er indlysende, at phenylglycinets aminogruppe beskyttes under acyleringsreaktionen med en ofte anvendt aminobeskyttende gruppe som f.eks. trimethylsilyl, tert-butoxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, p-nitrobenzyloxycarbonyl eller den med methylacetoacetat dannede enamin.

Til sidst fjernes de blokerende grupper i aminen og carboxylgruppen for at opnå cephalalexin. Den fremgangsmåde, der må anvendes til fjernelse af den blokerende gruppe i aminen, afhænger af den benyttede gruppe, og kan f.eks. bestå i sur hydrolyse eller hydrogenolyse.

p-Nitrobenzylgruppen fjernes let ved reduktion i et surt medium. Samme behandling vil fjerne visse aminblokerende grupper, som f.eks. enamingrupperne, og vil derfor sørge for fjernelse af begge blokerende grupper. Reduktionen kan ske kemisk, f.eks. ved anvendelse af zink og saltsyre, eller ved katalytisk hydrogenering under anvendelse af katalysatorer som f.eks. palladium, platin eller oxiderne heraf.

Selv om reaktionsmekanismen ikke er fuldt opklaret, synes der at ske en partiel reduktion af p-nitrobenzylgruppen, hvilket fører til et syrelabilt mellemprodukt. Dette spaltes let i nærværelse af en syre, hvorved den frie cephalosporinsyre dannes.

Den foreliggende opfindelse illustreres nærmere af nedenstående eksempler 1 og 2, og de følgende eksempler 3-10 illustrerer anvendelsen af de omhandlede mellemprodukter. Den i eksempel 1 som udgangsmateriale anvendte p-nitrobenzylester af penicillin V-1-oxid fremstilledes som følger:

En blanding af 37,0 g penicillin V-1-oxid, 15,0 ml trimethylamin

og 22,0 g p-nitrobenzylbromid i 300 ml acetone omrøres i 4 timer ved stuetemperatur. Et krystallinsk stof begynder at fælde ud i løbet af den første time, og blandingen bliver tyktflydende i løbet af den første reaktionsperiode. Til blandingen sættes 600 ml vand, der omrøres i 1/2 time, og det udfældede bundfald isoleres og vaskes med vand og ether. Efter tørring vejer de farveløse krystaller 47 g, smp. 186° - 196° C. Produktet vides ved hjælp af tyndtlagschromatografi at bestå af en forbindelse, hvis struktur og renhed er påvist ved NMR-spektroskopi.

p-Nitrobenzylchlorid reagerer analogt under dannelsen af den ønskede ester, såfremt der tilsættes en lille smule kaliumiodid som promotor. Dimethylformamid eller dimethylacetamid er bedre opløsningsmiddelmedier end acetone i dette tilfælde. Der kan foretages en esterificering med p-nitrobenzylalkohol ved hjælp af phosgenmetoden.

EKSEMPEL 1

En opløsning af 10,0 g af p-nitrobenzylesteren af penicillin V-1-oxid, der er fremstillet som anført ovenfor, 1,0 g p-toluensulfonsyremonohydrat, 10,0 ml eddikesyreanhydrid og 400 ml dimethylacetamid opvarmes på dampbad i 16 timer. Den ravfarvede opløsning inddampes på dampbad i vakuum, og den tilbageblevne sirup tilsættes 150 ml methanol, hvorved der sker en næsten øjeblikkelig udkrystallisation af produktet. Efter afkøling i adskillige timer isoleres de brune krystaller, som vaskes med methanol og tørres. Råproduktet vejer 6,25 g, smp. 172° - 180° C. Ved omkrystallisation i acetonitril opnås rent p-nitrobenzyl-3-methyl-7-phenoxyacetamido- Δ^3 -cephem-4-carboxylat i form af fine, farveløse nåle, smp. 191° - 193° C. Renhed og struktur bestemmes ved tyndtlagschromatografi og NMR-spektroskopi.

EKSEMPEL 2

En opløsning af 10,0 g af p-nitrobenzylesteren af penicillin-G-sulfoxid og 0,191 g methansulfonsyre i 75 ml dimethylacetamid (spektrofotometrisk kvalitet) og 100 ml benzen (analytisk renhed) blev opvarmet under tilbagesvaling ved $95-96^{\circ}\text{C}$ i 14 timer under anvendelse af en Dean-Stark vandfælde til azeotropisk fjernelse

af vand. Tyndtlagschromatografi viste tilstedeværelsen af en del udgangsmateriale samt en intens plet. Den resulterende opløsning blev oparbejdet med isopropanol og ether, hvilket gav 4,73 g (49% udbytte) af et fnugget, flødefarvet fast stof med et smeltepunkt på 216,5-218°C. Produktet vistes ved IR-, NMR- og UV-spektroskopi at være p-nitrobenzyl-3-methyl-7-phenyl-acetamido- Δ^3 -cephem-4-carboxylat.

EKSEMPEL 3

En blanding af 4,84 g af produktet fra eksempel 1 og 3,80 g p-toluensulfonsyre, monohydrat i 100 ml methanol koges under tilbagesvaling i 5 timer. Efter afkøling genvindes ureageret udgangsmateriale ved filtrering (1,15 g). Moderluden inddampes til ca. 50 ml under reduceret tryk, og der tilsættes ether for at fremkalde krystallisation. Efter afkøling isoleres og tørres det voksagtige, noget ustabile p-toluensulfonsyresalt af p-nitrobenzyl-3-methyl-7-amino- Δ^3 -cephem-4-carboxylat. Dette produkt vejer 2,57 g og har et smp. på 100° - 105° C. Produktets identitet påvises ved hjælp af tyndtlagschromatografi, omdannelse til den frie base, smp. 174° - 176° C, og omdannelse til hydrochloridet, smp. (dekom.) 197° - 200° C.

EKSEMPEL 4

En suspension af 30,0 g natrium-N-(2-methoxycarbonyl-1-methylvinylamino)-D- α -phenylglycin i 500 ml tørt acetonitril afkøles til -10° C og omsættes under omrøring med 1,0 ml N-methylmorpholin og derpå med 11,0 ml ethylchlorformiat. Denne blanding omrøres i 30 minutter, og 38,7 g af hydrochloridet fra eksempel 3 tilsættes, hvorefter der dråbevis tilsættes 14,0 ml triethylamin i løbet af 10 minutter. Blandingen omrøres i 1 1/2 time ved -10° C, hvorefter der hurtigt tilsættes 1500 ml vand dråbevis, og omrøringen fortsættes i yderligere 1/2 time. Det udfældede hvide stof isoleres, vaskes med vand og tørres. Det rene p-nitrobenzyl-3-methyl-7-[2-(2-methoxycarbonyl-1-methylvinylamino)-2-D-phenylacetamido]- Δ^3 -cephem-4-carboxylat vejer 58,0 g, smp. 158° - 162° C. Omkrystallisation i varm methanol øger smeltepunktet til 188° - 190° C. Produktet vises ved hjælp af tyndtlagschromatografi at bestå af en enkelt forbindelse, og strukturen bekræftes ved NMR-spektroskopi.

EKSEMPEL 5

Fremgangsmåden i eksempel 4 gentages under anvendelse af 6,0 g af natriumsaltet af phenylglycin blokeret med tert-butyloxycarbonylgruppen, 0,1 ml N-methylmorpholin, 100 ml acetonitril, 2,20 ml ethylchlorformiat, 7,74 g af produktet fra eksempel 3 og 2,8 ml triethylamin. Der isoleres 10,1 g råprodukt, smp. 120° - 126° C. Omkrystallisation i acetonitril øger smeltepunktet til 130° - 132° C.

EKSEMPEL 6

Produktet fra eksempel 4 underkastes en hydrogenering under sure forhold for at fjerne både den enaminblokerende gruppe og p-nitrobenzylgruppen. I en Parr-hydrogeneringsbeholder anbringes 5,8 g af produktet fra eksempel 4, 2,0 g 5 % palladium på aluminiumoxid, 30 ml 1,0 N saltsyre og 70 ml methanol. Blandingen omrystes i en rystemaskine i 1/2 time og hydrogeneres derpå under 3,4 atm. hydrogentryk. Efter at hydrogenoptagelsen er afsluttet, filtreres blandingen, og det meste methanol afdestilleres under reduceret tryk. Den vandige blandings pH indstilles på 8 med koncentreret ammoniumhydroxid, og blandingen ekstraheres med adskillige portioner ethylacetat. Den vandige fraktions pH indstilles derefter på 4,5 med vandig saltsyre, og krystallisationen sættes i gang ved tilsætning af 3 - 4 rumfang acetonitril. 2,30 g af det rene cephalixin isoleres som et let gråligt krystallinsk stof. Renhed og struktur bekræftes ved NMR-spektroskopi.

EKSEMPEL 7

p-nitrobenzylgruppen fjernes fra produktet fra eksempel 5 ved hydrogenering. Til hydrogeneringsbeholderen sættes 5,8 g af det dobbeltblokerede cephalixin fra eksempel 5, 2,0 g 5 % palladium på aluminiumoxid, 25 ml 3A ethanol og 75 ml methanol. Denne blanding hydrogeneres i et Parr-apparat under 3,4 atm. hydrogentryk. Efter at hydrogenoptagelsen er afsluttet, filtreres blandingen, og katalysatoren vaskes med methanol. Filtrat og vaskevæske blandes sammen og inddampes i vakuum. Den gule sirupsagtige inddampningsrest opløses i 150 ml ethylacetat og ekstraheres

med 100 ml af en mættet natriumhydrogencarbonatopløsning. Den vandige ekstrakt omrøres med 150 ml ethylacetat, medens pH indstilles på ca. 1,5 med koncentreret saltsyre. Ethylacetatlaget fraskilles, og det vandige lag ekstraheres med endnu en portion ethylacetat. De sammenblandede ethylacetatekstrakter tørres over magnesiumsulfat og inddampes under reduceret tryk til ca. 50 ml. Opløsningen filtreres og fortyndes med 200 ml isopropyl-ether, hvorefter der tilsættes benzen, indtil der opstår en uklarhed. Efter adskillige timers afkøling isoleres det farveløse faste stof og tørres. Det tert-butylloxycarbonylblokerede cephalixin vejer 2,60 g. Strukturen og renheden bekræftes ved NMR-spektroskopi.

Såfremt phenylglycinets aminogruppe er beskyttet af den enaminblokerende gruppe, fjernes den blokerende gruppe let ved efteracyleringen at omsætte med p-toluensulfonsyre, monohydrat. Det isolerede produkt er p-nitrobenzylesteren af p-toluensulfonsyresaltet af cephalixin. Dette illustreres af det følgende eksempel.

EKSEMPEL 8

En omrørt blanding af 30,0 g natrium-N-(2-methoxycarbonyl-1-methylvinylamino)-D- α -phenylglycin og 500 ml acetonitril afkøles til -15°C og omsættes med 9,0 ml methylchlorformiat og derefter med 0,5 ml N-methylmorpholin. Efter 15 minutters forløb tilsættes 38,7 g af hydrochloridet fra eksempel 3, og derefter tilsættes dråbevis 14,0 ml triethylamin i 40 ml acetonitril i løbet af 30 minutter. Reaktionsblandingen omrøres i yderligere 2 timer, medens temperaturen gradvis får lov til at stige til ca. 20°C . Der sættes 25 g p-toluensulfonsyre til reaktionsblandingen, og omrøringen fortsættes i ca. 2 timer. Det farveløse krystallinske bundfald af p-toluensulfonsyresaltet af p-nitrobenzyl-3-methyl-7-phenylglycylamido- Δ^3 -cephem-4-carboxylat isoleres og tørres. Udbyttet er 62,0 g, smp. $211^{\circ} - 216^{\circ}\text{C}$ (dekomp.). Produktet er tilstrækkeligt rent til omdannelse til cephalixin uden yderligere behandling.

EKSEMPEL 9

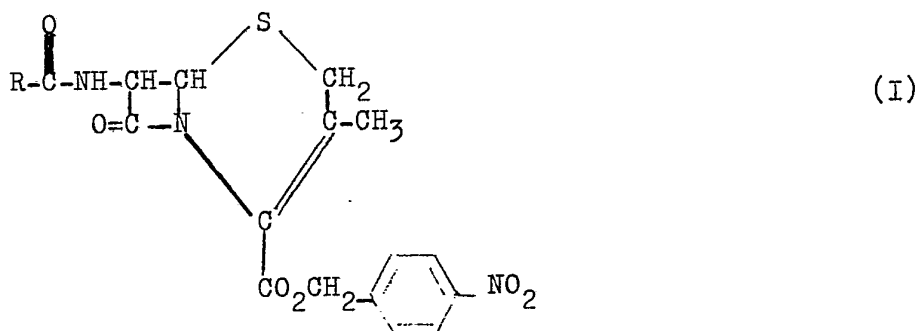
En blanding af 6,54 g af produktet fra eksempel 8, 50 ml acetonitril, 10 ml vand og 200 mg platinoxid hydrogeneres under 3,4 atm. hydrogentryk. Oparbejdelse af reaktionsblandingen som beskrevet i eksempel 6 giver 2,81 g cephalixin.

EKSEMPEL 10

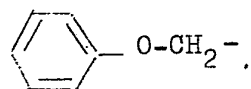
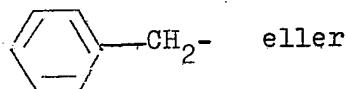
En blanding af 6,54 g af produktet fra eksempel 8, 50 ml acetonitril, 10 ml vand og 1,3 g zink omrøres i 2 - 3 timer, medens pH holdes på 1 ved periodisk tilsætning af koncentreret saltsyre. Reaktionsblandingen filtreres, og pH indstilles på ca. 4,5, hvorved der udfældes 1,90 g cephalixin.

P a t e n t k r a v :

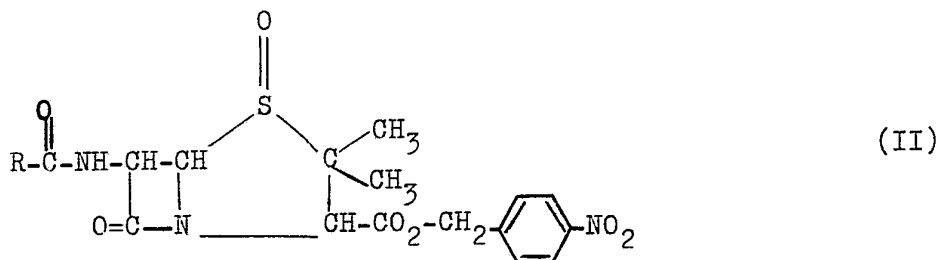
1. Cephalosporin-forbindelser til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af cephalalexin, k e n d e t e g n e t ved, at de har den almene formel:



hvor R er



2. Fremgangsmåde til fremstilling af de i krav 1 angivne cephalosporin-forbindelser, k e n d e t e g n e t ved, at en penicillin-sulfoxid-ester med formelen:



hvor R har den ovennævnte betydning, opvarmes under sure betingelser.

Fremdragne publikationer: