

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

198112
(11) (B2)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 09 06 72
(21) (PV 7790-75)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 09 06 71
(19604/71) Velká Británie

(40) Zveřejněno 31 08 79

(45) Vydáno 15 02 83

(51) Int. Cl.³
C 07 D 499/12 //
A 61 K 31/43

(72) (73)
Autor vynálezu
a současně
majitel patentu

FERRES HARRY a
CLAYTON JOHN PETER, HORSHAM
(Velká Británie)

(54) Způsob výroby ftalidesteru kyseliny 6-[D(—)α-aminofenyl- acetamido]penicilanové

1

Tento vynález se týká způsobu výroby ftalidesteru kyseliny 6-[D(—)α-aminofenylacetamido]penicilanové a jeho farmaceuticky přijatelných adičních solí s kyselinou.

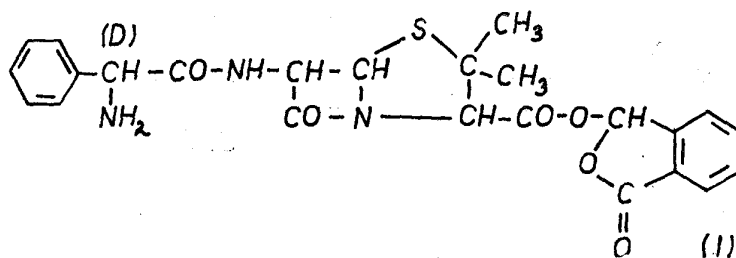
Kyselina 6-[D(—)α-aminofenylacetamido]penicilanová se velmi často používá pro své široké antibiotické spektrum. Avšak tato kyselina se při orálním podání absorbuje neúplně do krevního oběhu. Někteří odborníci se domnívají, že to není výhodné, a v důsledku toho se někteří z nich pokusili nalézt deriváty kyseliny 6-[D(—)α-aminofenylacetamido]penicilanové, které po orál-

2

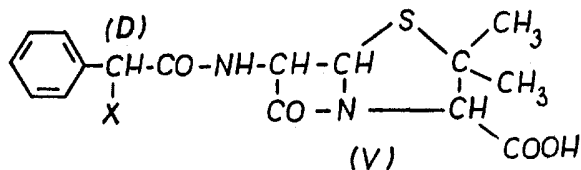
ním podání způsobí vyšší úroveň koncentrace penicilinu v krvi, než jaké by bylo možné dosáhnout podáním samotného původního penicilinu.

Předmětem tohoto vynálezu je výroba nového esteru kyseliny 6-[D(—)α-aminofenylacetamido]penicilanové, který způsobuje vysokou koncentraci séra výchozího penicilinu při orálním podání.

Podle vynálezu se ftalidester kyseliny 6-[D(—)α-aminofenylacetamido]penicilanové vzorce I

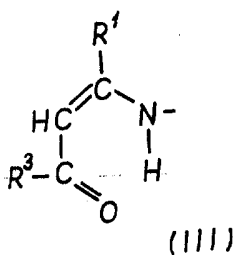


a jeho farmaceuticky přijatelné adiční soli s kyselinou vyrábějí tak, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce V,



kde

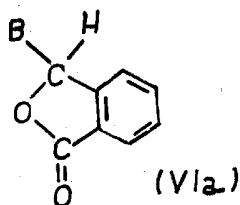
X představuje aminoskupinu, protonovanou aminoskupinu, benzyloxykarbonylamino-skupinu nebo enaminoskupinu obecného vzorce III



kde znamená

R¹ alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a

R³ alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo její tautomerní modifikace se sloučeninou obecného vzorce VIa,



kde

B představuje atom halogenu, a v případě, že X má jiný význam než je aminoskupina, převede se potom za kyselých nebo neutrálních podmínek X na aminoskupinu a výsled-

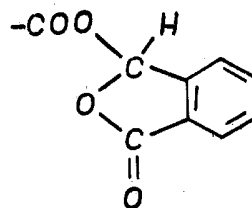
ný produkt se popřípadě převede na adiční sůl s kyselinou.

Přednostně se jako adičních solí sloučeniny podle vynálezu s kyselinou používá hydrochloridu, ale mohou se použít též soli jiných anorganických nebo organických kyselin, zejména pokud tvoří soli se samotnou kyselinou 6-[D(-)-α-aminofenylacetamido]-penicilanovou. Sloučeniny podle tohoto vynálezu též tvoří soli s jinými penicilanovými kyselinami, jako například s 3-(2'-chlor-6'-fluorfenyl)-5-methyl-4-isoxazolylnicilanem.

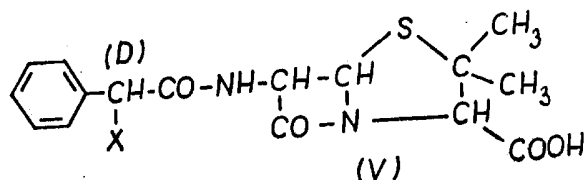
Reakce se obvykle provádí v inertním rozpuštědle při teplotě místnosti.

Reakci lze provést též s reaktivním esterifikovaným derivátem výchozích sloučenin, spadajícím do rozsahu vymezení substituentů.

Výrazem reaktivní esterifikovaný derivát sloučenin výše uvedeného obecného vzorce V se rozumějí takové deriváty, které při vzájemné reakci tvoří za reakčních podmínek skupinu obsahující esterovou vazbu vzorce

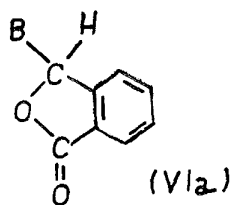


Z literatury je známa řada způsobů k provedení esterifikace, při kterých se používá několika různých kombinací reaktivních esterifikovaných derivátů s karboxylovými a hydroxylovými skupinami. Reakce se může provádět například tak, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce V,



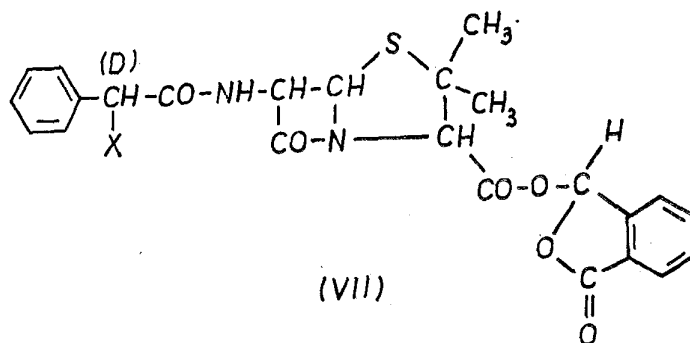
kde

X má význam uvedený svrchu, se sloučeninou obecného vzorce VIa,



kde

B má význam uvedený svrchu, za vzniku esteru obecného vzorce VII,



kde

X má svrchu uvedený význam, a v případě, že

X má jiný význam než je aminoskupina, se popřípadě převede potom na aminoskupinu.

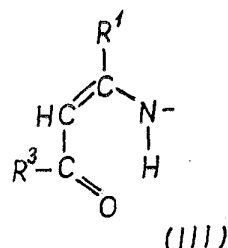
Pro postup uvedený výše se mohou aplikovat specifické způsoby esterifikace známé z literatury. Ačkoliv skupina X v látce obecného vzorce V může znamenat volnou aminoskupinu, je lépe reakci uskutečnit s látkou obecného vzorce V, kde X znamená chráněnou aminoskupinu, přednostně enaminoskupinu svrchu uvedeného vzorce III, nebo skupinu, kterou lze převést na aminoskupinu, jako například azidoskupinu. V takovém případě se obvykle nechají reagovat sodná nebo draselná sůl N-chráněné sloučeniny obecného vzorce V se sloučeninou obecného vzorce VI, kde B má svrchu uvedený význam.

Ve sloučenině obecného vzorce V představuje X aminoskupinu, kterou lze převést na chráněnou aminoskupinu, a z ní lze naopak aminoskupinu uvolnit.

Mezi příklady chráněné aminoskupiny lze zahrnout protonovanou aminoskupinu ($X = NH_3^+$), která se po acylaci může přeměnit na volnou aminoskupinu jednoduše neutralizací, benzyloxykarbonylaminoskupinu ($X = NH-CO_2-CH_2-Ph$), kde Ph značí fenyl) nebo substituované benzyloxykarbonylaminoskupiny, které se potom převedou na aminoskupinu katalytickou hydrogenací a různé skupiny, ze kterých lze po acylaci získat aminoskupinu pomocí hydrolýzy za mírně kyselých podmínek. (Alkalické hydrolýzy se obvykle nepoužívá, vzhledem k tomu, že za alkalických podmínek probíhá

hydrolýza ftalidové skupiny.)

Příkladem skupiny X, která se může posléze hydrolyzovat na aminoskupinu za mírně kyselých podmínek, je enaminoskupina obecného vzorce III,



kde

R^1 a R^3 mají shora uvedený význam, nebo její tautomerní modifikace.

Jako příklad skupiny X, kterou lze přeměnit na aminoskupinu, lze uvést azidoskupinu. V tomto případě se může konečná konverze na aminoskupinu provádět buď katalytickou hydrogenací, nebo elektrolytickou redukcí. Volba reaktivního derivátu samozřejmě závisí na vlivu chemické povahy α -substituentu X. Když X znamená skupinu stabilní v kyselině, jako protonovanou aminoskupinu NH_3^+ nebo azidoskupinu, může dojít ke konverzi. Aby se tomu zamezilo, používá se často smíšeného anhydridu. K tomuto účelu se hodí zejména smíšené anhydridy, jako jsou anhydridy kyseliny alkoxyravenčí, které se výhodně připravují reakcí soli alkalického kovu nebo terciárního aminu látky obecného vzorce V se vhodným alkylchloroformiátem v bezvodém prostředí při teplotě místnosti nebo teplotě nižší.

Mezi jiné reaktivní N-acylované deriváty látky obecného vzorce V lze zahrnout reak-

tivní meziprodukty vzniklé reakcí in situ a karbodiimidem nebo karbonyldiimidazolem.

Sloučenina podle tohoto vynálezu je dobře snášitelná a přednostně se podává orálně, zejména ve formě adiční soli s kyselinou. Obvykle se podává v kombinaci s vhodným farmaceuticky přijatelným nosičem. Sloučenina podle vynálezu může být v kompozicích přítomna v množství 1 až 95 hmotnostních % k celkové hmotnosti. Kompozice se může používat jako prášek pro přípravu sirupu, jako tablety, kapsle, pilulky nebo v jiných obvyklých formách.

Ester podle vynálezu nebo jeho soli se obvykle podávají v dávkových jednotkách, které obsahují množství ekvivalentní 0,025 až 1 g kyseliny 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanové a zejména v množství, které je ekvivalentní 0,1 až 0,7 g kyseliny penicilanové. Vhodné jsou dávkové jednotky obsahující 250 až 500 mg kyseliny penicilanové. Denní dávka závisí na stavu pacienta, ale obvykle přiměřená dávka činí 1 až 3 g esteru podle vynálezu (v přepočtu na penicilanovou kyselinu).

Sloučenina podle vynálezu, ftalidester kyseliny 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanové, je dobře absorbovatelná při orálním podání lidem nebo zvířatům. V séru se dosahuje vysoké úrovně koncentrace kyseliny 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanové.

Následující příklady ilustrují vynález.

Příklad 1

a) 3-Bromftalid-[3-brom-1-(3H)-isobenzofuranon]

10,0 g (0,075 mol) ftalidu se zahřívá pod zpětným chladičem s N-bromsukcinimidem ve 200 ml bezvodého chloridu uhličitého v přítomnosti katalytického množství α -azobutyronitrilu po dobu 3 až 4 hodin. Konec reakce se pozná podle toho, že zmizí N-bromsukcinimid ze dna reakční nádoby a sukcinimid se nahromadí na hladině. Sukcinimid se odfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu na 15 až 20 ml. Ochlazením koncentráta a jeho litrací se získá 13,0 g (81% výtěžek) surového 3-bromftalidu o teplotě tání 75 až 80 °C, ve formě bílé krystalické látky. Rekrystalizací produktu z cyklohexanu se získají v 95% výtěžku bezbarvé destičky, které tají při 78 až 80 °C.

NMR (CCl₄):
 δ = 7,67 (4H, m, aromáty),

δ = 7,38 (1H, m, CH—).

Br

b) Hydrochlorid D(—) α -aminobenzylpenicilinftalidesteru

17,5 g (0,05 mol) bezvodého D(—) α -ami-

nobenzylpenicilinu a 7,10 ml, tj. 1 ekvivalent, triethylaminu se smísí s 350 ml acetonu obsahujícího 1 % vody. Za půl hodiny se přidá 5 g kyselého uhličitanu draselného a 10,65 g (0,05 mol) 3-bromftalidu a směs se míchá při teplotě místnosti 4 hodiny. Směs se zfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu na objem asi 75 ml. Přidá se 500 ml ethylacetátu a výsledný roztok se promyje nejprve dvakrát 100 ml 2% vodného roztoku kyselého uhličitanu sodného a pak dvakrát 100 ml vody. K ethylacetátovému roztoku se přidá 150 ml vody a za intenzivního míchání se přikapává 1 N kyselina chlorovodíková, dokud vodná fáze nedosáhne pH 2,5. Ethylacetátová vrstva se oddělí a suší bezvodým síranem hořečnatým. Potom se k čirému zlutému ethylacetátovému filtrátu přidává ether, dokud neskončí srážení bílé amorfnní látky. Získá se 7,8 g, tj. 28,8 % produktu.

Dalších 0,8 g, tj. 3,0 %, produktu se dostane z vodné vrstvy tímto způsobem:

K vodné vrstvě se přidá 750 ml n-butanolu a výsledná směs se odpařuje ve vakuu, až se veškerá voda odstraní. Výsledný butanolský roztok se nalije do 2000 ml etheru, přičemž vysrážená amorfnní látka se separuje. Celkový výtěžek činí 31,8 %.

IR spektrum [KBr] obsahuje mimo jiné silné pásy:

1778 cm⁻¹,
1682 cm⁻¹,
1500 cm⁻¹,
1285 cm⁻¹,
1149 cm⁻¹,
978 cm⁻¹,
752 cm⁻¹,
697 cm⁻¹.

NMR [(CD₃)₂CO/D₂O]:

δ = 7,88 (4H, m, ftalidové aromáty),
 δ = 7,60 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,48 (5/6H, m, aromáty),
 δ = 5,50 (2H, m, β -laktamy),
 δ = 5,16 (1H, s, α -proton),
 δ = 4,54 (1H, s, C₃-proton),
 δ = 1,45 (6H, d, dimethyly).

Čistota zjištěná hydroxylaminovou a cysteinovou zkouškou činí 92,4 a 86,5 %.

Analýza pro

C₂₄H₂₄O₆N₃SCl:

vypočteno

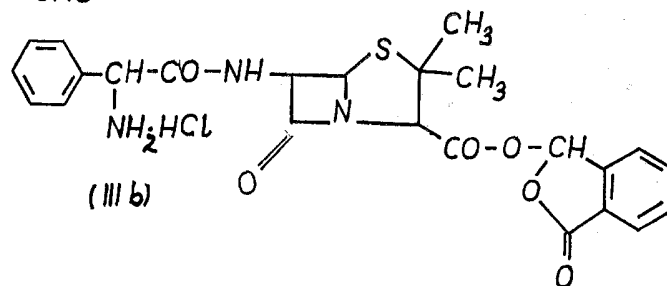
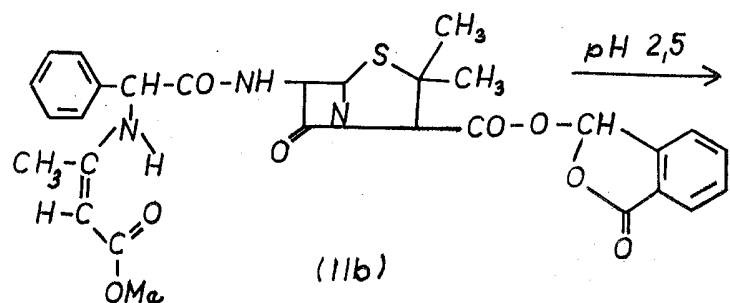
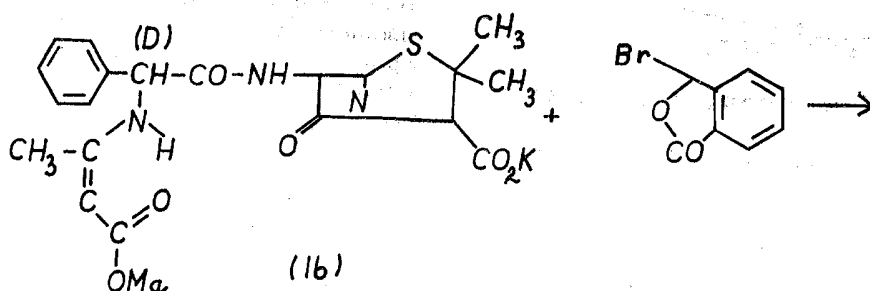
C 55,65, H 4,67, N 8,11, S 6,19,
Cl 6,84 %,

nalezeno

C 54,49, H 4,67, N 7,83, S 6,20,
Cl 5,18 %.

Příklad 2

Hydrochlorid ftalid-6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanátu



25,18 g (0,05 mol) suspenze draselné soli ampicilin chráněného enaminem vzorce Ib se nechá reagovat s 10,65 g (0,05 mol) bromftalidu v 1500 ml směsi acetonu a ethylacetátu v poměru 1:2 po dobu 24 hodin. Po zfiltrování se organická vrstva promyje dvakrát 250 ml 1 N roztoku kyselého uhličitanu sodného a solanky, suší bezvodým síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Po přidání etheru vykristaluje ftalid α -aminofenylacetamidopenicilanátu chráněného enaminem vzorce II v 85% výtěžku.

NMR [(CD₃)₂SO]:

δ = 7,86 (4H, m, ftalidové aromáty),
 δ = 7,60 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,35 (5H, s, aromáty),
 δ = 5,30—5,65 (3H, m, β -laktamy a α -proton),
 δ = 4,53 (1H, s, C₃ proton),
 δ = 4,50 (1H, s, —H—),
 δ = 3,56 (3H, s, O—CH₃—),
 δ = 1,78 (3H, s, CH₃—),
 δ = 1,50 (6H, m, dimethyly).

Analýza pro

C₂₈H₂₉N₃O₈S:

vypočteno

C 59,26, H 5,11, N 7,40, S 5,68 %,

nalezeno

C 58,83, H 5,01, N 6,89, S 5,34 %.

Jediná skvrna na biochromatogramu při R_f = 0,95.

Z 10 g produktu vzorce II b, obsahujícího enaminovou chránicí skupinu ve vodném acetonu (250 ml vody a 250 ml acetonu), se odstraní chránicí skupina tím, že se roztok míchá 1 hodinu při pH 2,5. Aceton se odpaří ve vakuu a ester vzorce IIIb se vysolí z vodné fáze jako lepkavá žlutá látka kaučukovitého charakteru, která se rozpustí ve 200 ml ethylacetátu a promyje dvakrát 200 ml 1 N roztoku kyselého uhličitanu sodného a solanky a vysuší bezvodým síranem hořečnatým. Opětným přidáním přibližně 50 ml bezvodého esteru k bezvodé ethylacetátové vrstvě se získá ftalidester ampicilinu ve formě soli, tj. hydrochloridu, a to v podobě jemné bílé amorfnní látky v 80% výtěžku.

NMR [(CD₃)₂SO/D₂O]:

δ = 7,88 (4H, m, ftalidové aromáty),
 δ = 7,60 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,48 (5/6H, m, aromát),
 δ = 5,50 (2H, m, β -laktamy),
 δ = 5,16 (1H, s, α -proton),

$\delta = 4,54$ (1H, s, C β -proton),
 $\delta = 1,45$ (6H, d, dimethyly).

Čistota zjištěná hydroxylaminovou zkouškou činí 110,3 %.

Jediná skvrna na biochromatogramu při $R_f = 0,85$.

Analýza pro C₂₄H₂₁N₃O₆SO₃:

vypočteno:

C 55,65, H 4,67, N 8,11, S 6,19 %,

nalezeno:

C 54,60, H 4,70, N 7,92, S 6,40 %.

Příklad 3

Ftalid-6-aminopenicilanát

Způsob 1

Směs 10,8 g (0,05 mol) 6-aminopenicilanové kyseliny a 6,9 ml (0,05 mol) triethylaminu se míchá v 20 ml bezvodého acetonu při teplotě místnosti 1/2 hodiny. Směs se ochladí na teplotu 0 °C a najednou se přidá roztok 10,65 g (0,05 mol) 3-bromftalidu ve 20 mililitrech bezvodého acetonu. Výsledná žlutá směs se míchá při teplotě místnosti 5 hodin. Reakční směs se zředí 150 ml bezvodého diethyletheru a zfiltruje. Čirý žlutý filtrát se promyje 100 ml 1 N kyselého uhličitany sodného a 100 ml nasyceného roztoku solanky. K čirému, vysušenému žlutému filtrátu se přidá 9,5 g, tj. 1 ekvivalent monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové ve 150 mililitrech bezvodého acetonu. Bezprostředně z roztoku vykřystaluje epi-6-aminopenicilanát ve formě soli s kyselinou p-toluensulfonovou.

6- α (trans)isomer:

NMR [(CD₃)₂SO]:

$\delta = 7,84$ (4H, s, ftalidové aromáty),
 $\delta = 7,58$ (1H, s, —CO—O—CH),
 $\delta = 7,30$ (4H, q, sulfonátové aromáty),
 $\delta = 5,35$ (1H, d, C β -proton, $J = 2\text{Hz}$),
 $\delta = 4,89$ (1H, s, C β -proton),
 $\delta = 4,70$ (1H, d, C α -proton, $J = 2\text{Hz}$),
 $\delta = 2,30$ (3H, s, CH₃),
 $\delta = 1,48$ (6H, d, dimethyly).

IR(KBr): silné pásy při

1780 cm⁻¹,
 1210 cm⁻¹,
 1170 cm⁻¹,
 1010 cm⁻¹,
 970 cm⁻¹,
 682 cm⁻¹,
 574 cm⁻¹.

Zbývající olej se dostane z matečného louhu. Získá se malé množství (asi 5 %) přimě-

řeně čisté látky odpovídající přírodnímu cis-isomeru, ve formě p-toluensulfonátu, a to opakovanou frakční krystalizací 6- α (trans)-isomeru ze směsi acetonu a etheru v poměru 3 : 1.

6- β (cis)isomer:

NMR [(CD₃)₂SO]:

$\delta = 7,84$ (4H, s, ftalidové aromáty),
 $\delta = 7,58$ (1H, s, —CO—O—CH),
 $\delta = 7,30$ (4H, q, sulfátové aromáty),
 $\delta = 5,50$ (1H, d, C β -proton, $J = 4\text{Hz}$),
 $\delta = 5,14$ (1H, d, C α -proton, $J = 4\text{Hz}$),
 $\delta = 4,68$ (1H, s, C β -proton),
 $\delta = 2,27$ d (3H, s, CH₃),
 $\delta = 1,53$ (5H, d, dimethyly).

IR (KBr): silné pásy při

1780 cm⁻¹,
 1210 cm⁻¹,
 1170 cm⁻¹,
 1010 cm⁻¹,
 970 cm⁻¹,
 682 cm⁻¹,
 574 cm⁻¹.

Způsob 2

Roztok 9,8 g (0,02 mol) 6-tritylaminopenicilanové kyseliny ve 100 ml bezvodého acetonu se ochladí na 0 °C a přidá se 2,9 mg, (0,02 mol) triethylaminu a pak 4,1 g (0,02 mol) 3-bromftalidu ve 20 ml bezvodého acetonu.

Reakční směs se míchá při 0 °C po dobu 2 hodin a pak 1 hodinu při teplotě místnosti. Vysrážený triethylamoniumbromid se odstraní filtrací. Filtrát se odpaří, zředí 150 ml ethylacetátu, dvakrát promyje 150 ml chladného 2% roztoku kyselého uhličitany sodného a dvakrát 100 ml vody s ledem. Ethylacetátová vrstva se suší bezvodým síranem hořečnatým. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu, přičemž se získá ftalid-6-tritylaminopenicilanát ve formě bílé amorfnní látky.

NMR [(CD₃)₂SO]:

$\delta = 7,4$ (20H, široký singlet s malou inflexí při $\delta = 7,80$ (aromatické protony a —CO—O—CH—),
 $\delta = 4,41$ (2H, m, β -laktamové protony),
 $\delta = 4,15$ (1H, široký singlet, C β -protony),
 $\delta = 1,38$ (6H, d, dimethyly).

IR (KBr): široké pásy při

1745 cm⁻¹,
 980 cm⁻¹,
 750 cm⁻¹,
 708 cm⁻¹.

Na 5,9 g (0,01 mol) ftalid-6-tritylaminopenicilanátu ve 200 ml acetonu, obsahujícího 0,2 % vody, se působí 1,9 g (0,01 mol) mo-

nohydrátu p-toluensulfonové kyseliny. Směs se nechá stát 2 hodiny při teplotě místnosti a přidá se 0,25 ml vody. Vysrážení p-toluensulfonátu ftalid-6-aminopenicilanátu se dosáhne pomalým přidáváním 250 ml petrol-etheru o teplotě varu 40 až 60 °C. Filtrací a posléze promytím petroletherem se odstraní sůl p-toluensulfonové kyseliny. Vzorek se překrystaluje z acetonu a diethyletheru s 85% výtěžkem.

NMR [(CD₃)₂SO]:

δ = 7,84 (4H, s, ftalidové aromáty),
 δ = 7,58 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,30 (4H, q, sulfonátové aromáty),
 δ = 5,50 (1H, d, β -laktamy, J=4Hz),
 δ = 5,14 (1H, d, β -laktam, J=4Hz),
 δ = 4,68 (1H, s, C₃-proton),
 δ = 2,27 (3H, s, CH₃),
 δ = 1,53 (6H, d, dimethyly).

Analýza pro C₂₃H₂₄N₂S₂O₈:

vypočteno:

C 53,08, H 4,61, N 5,39, S 12,31 %,

nalezeno:

C 52,32, H 4,60, N 4,94, S 12,27 %.

Způsob 3

Ftalidester benzylpenicilinu

20,0 g (10,054 mol) draselné soli benzylpenicilinu se rozpustí v 50 ml bezvodého methylformamidu a ochladí na 0 °C a potom se k míchanému roztoku najednou přidá 11,5 gramů (0,054 mol) 3-bromftalidu ve 20 ml bezvodého dimethylformamidu. Reakční směs se nechá zahřát na teplotu místnosti a potom se míchá další 2 hodiny. Směs se potom nalije do 600 ml ledově chladné vody a intenzívně míchá. Pevná sraženina bílé barvy se oddělí, shromáždí a dobře promyje vodou. Po sušení se rekrystaluje z horkého isopropylalkoholu, čímž se získá 10,5 g, tj. 41,9 % bílého krystalického produktu o teplotě tání 167 až 169 °C.

IR spektrum (nujol) obsahuje kromě jiného silné pásy při

1770 cm⁻¹,
 1678 cm⁻¹,
 1524 cm⁻¹,
 970 cm⁻¹.

NMR [(CD₃)₂SO/D₂O] vykazuje tyto píky:

δ = 7,88 (4H, m, ftalidové aromáty),
 δ = 7,61 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,28 (5H, s, aromáty),
 δ = 5,55 (2H, m, β -laktamy),
 δ = 4,55 (1H, s, C₃-proton),
 δ = 3,56 (2H, s, PhCH₂CO),
 δ = 1,53 (6H, d, dimethyly).

Čistota zjištěna hydroxylaminovou zkouškou činí 109,2 %.

Analýza pro O₂₄H₂₂N₂SO₆:

vypočteno:

C 61,80, H 4,72, N 6,02, S 6,86 %,

nalezeno:

C 61,55, H 4,90, N 5,87, S 6,72 %.

11,6 g (0,025 mol) ftalidesteru benzylpenicilinu se rozpustí ve 250 ml methyldichloridu a zmrazí na —25 °C. K roztoku se během 5 minut přidá 5,60 ml (0,025 mol) N-methylmorfolinu a pak 6,0 g chloridu fosforečného ve 150 ml methyldichloridu. Roztok se zbarví světle žlutě. Teplota roztoku po 1/2 hodinovém míchání vzroste na 0 °C. Reakční směs se znovu ochladí na —25 °C a přidá se 5,60 ml N-methylmorfolinu a bezvodý methanol; teplota pomalu vzroste přibližně na —10 °C.

Po dalším dvouhodinovém míchání při —5 až 0 °C se za intenzívního míchání přidá 400 mililitrů vody a upraví pH směsi z 1,2 na 6,0 pomocí zředěného roztoku hydroxidu sodného.

Organická fáze se oddělí, promyje vodou a nasycenou solankou a přefiltruje přes silikonovaný papír.

K organické vrstvě se za míchání přidá 4,75 g (0,025 mol) monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny ve 100 ml acetonu. Potom se přidává ether, dokud se roztok nevyčerpá. Stáním přes noc při 0 °C se získá 7,0 g bílého krystalického p-toluensulfonátu ftalidesteru 6-aminopenicilanové kyseliny a dalších 2,5 g se získá z odpařeného filtrátu. Celkový výtěžek činí 9,5 g, tj. 73,4 %.

NMR [(CD₃)₂SO]:

δ = 7,84 (4H, s, ftalidové aromáty),
 δ = 7,58 (1H, s, —CO—O—CH—),
 δ = 7,30 (4H, s, sulfátové aromáty),
 δ = 5,50 (1H, d, β -laktam, J=4Hz),
 δ = 5,14 (1H, d, β -laktam, J=4Hz),
 δ = 4,68 (1H, s, C₃-proton),
 δ = 2,27 (3H, s, CH₃—),
 δ = 1,53 (6H, d, dimethyly).

Analýza pro C₂₃H₂₄N₂S₂O₈:

vypočteno:

C 53,08, H 4,61, N 5,39, S 12,31 %,

nalezeno:

C 52,50, H 4,62, N 4,98, S 12,34 %.

Příklad 4

Stanoví se rychlost hydrolyzy hydrochloridu ftalidesteru kyseliny 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanové inkubací esteru, při ekvivalentu 5 μ g/ml 6-[D(—) α -aminofenylacetamidopenicilanové kyseliny v 1/20

mol pufru (fosforečnan draselný) při pH 7,0 v 90 % lidské krve a v 90 % krve skunka veverkovitého. U esteru se rovněž zjistí hydrolýza se zhomogenizovaným tenkým střevem skunka veverkovitého při ekvivalentu 100 $\mu\text{g/ml}$ 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilanové kyseliny; reakční směs se zředí na ekvivalent 5,0 $\mu\text{g/ml}$ penicilanové kyseliny před zkouškou. Homogenizovaná tkáň se získá homogenizací promytého tenkého střeva skunka veverkovitého se čtyřnásobkem jeho hmotnosti v 1/20 molárním fosforečnanu draselném jako pufru. Tato látka se zředí v poměru 1 : 10 pro reakční směs.

Všechny reakční směsi se podrobí inkubaci při 37 °C. Po inkubaci se ester oddělí od reakční směsi elektroforézou. 5 μl alikvotní podíl reakční směsi a 6-[D(—) α -aminofenyl-

acetamido]penicilanové kyseliny, připravené standardním způsobem ve vhodném prostředí, se dá na desky ze škroboagarového gelu, udržované pufrům na pH 5,5. 20 minut se na desky příčně působí napětím 15 voltů na cm. Při tomto pH kyselina penicilanová zůstane poblíž původního místa a přítomný ester migruje směrem ke katodě. Množství penicilanové kyseliny přítomné v reakčních směsích se stanoví při převrstvení gelových desek výživným agarem (agar na bázi oxidované krve) naočkovaným *Sarcina lutea* NCTC 8340, a inkubaci pro dobu 16 hodin při 30 °C.

Změří se pásmo potlačení, způsobené ampicilinem, v testovaných a standardních vzorcích a vypočte se množství penicilanové kyseliny vzniklé při reakci.

Výsledky

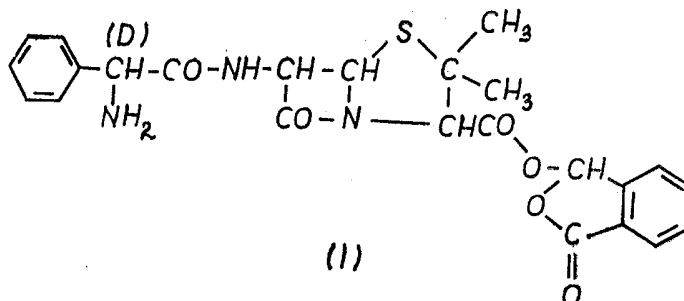
Prostředí pro
hydrolýzu

% hydrolýzy při 37 °C na 6-[D(—) α -amino-
fenylacetamido]penicilanovou kyselinu

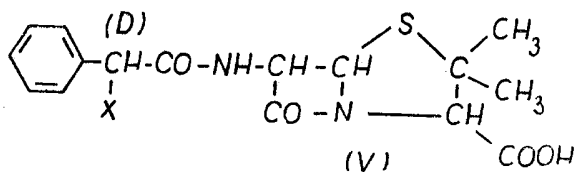
	3 min.	8 min.	15 min.	25 min.
Kyselina (pH 2,0)	0	0	0	0
Vodný pufr	10	15	20	25
(pH 7,0)				
Lidská krev	50	62	80	84
(pH 7,0)				
Krev skunka veverkovitého	78	84	90	100
(pH 7,0)				
Tenké střevo skunka	80	84	92	100
veverkovitého				

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby ftalidesteru kyseliny 6-[D(—) α -aminofenylacetamido]penicilánové vzorce I

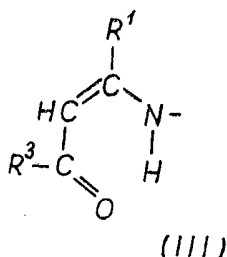


a jeho adičních solí s kyselinou, vyznačující se tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce V,



kde

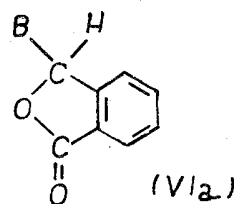
X představuje aminoskupinu, protonovanou aminoskupinu, benzyloxykarbonylaminoskupinu nebo enaminoskupinu obecného vzorce III,



kde znamená

R¹ alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a

R³ alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo její tautomerní modifikace se sloučeninou obecného vzorce VIa,



kde

B představuje atom halogenu, a v případě že X má jiný význam než je aminoskupina, převede se potom za kyselých nebo neutrálních podmínek X na aminoskupinu a výsledný produkt se popřípadě převede na adiční sůl s kyselinou.