



GRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

258143
(11) (B2)

[51] Int. Cl.⁴
C 07 D 501/22
//A 61 K 31/545

[22] Přihlášeno 24 07 86
[21] (PV 5613-86.I)

[32] [31] [33] Právo přednosti od 29 07 85
(759805) Spojené státy americké

[40] Zveřejněno 17 09 87

[45] Vydáno 15 12 88

[72]
Autor vynálezu CRAFT LEONARD B. jr., NORTH SYRACUSE, NEW YORK (Sp. st. a.)

[73]
Majitel patentu BRISTOL-MYERS COMPANY, NEW YORK, N. Y. (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby krystalického solvátu

1

2

Způsob výroby krystalického solvátu 7-
-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetami-
do]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]cef-3-em-4-karbo-
xylové kyseliny s dimethylformamidem, ob-
sahujícího na 1 mol kyseliny 1,5 molu di-
methylformamidu, spočívající v reakci sho-
ra uvedené kyseliny s nejméně 1,5 molu
dimethylformamidu v inertním kapalném pro-
středí, v němž je výsledný solvát neroz-
pustný, vybraném ze skupiny zahrnující di-
methylformamid, methanol, vodu a jejich
směsi. Výsledný solvát představuje stabil-
ní skladovatelnou krystalickou formu výše
zmíněné kyseliny, která je antibiotikem se
širokým spektrem účinku.

Vynález se týká dimethylformamidového solvátu určitého cefalosporinového antibiotika.

7-[(D)-2-Amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]cef-3-em-4-karboxylová kyselina, která bude pro zjednodušení v některých případech dále označována zkratkou BMY — 28 100, je orálně účinným cefalosporinovým antibiotikem vykazujícím široké spektrum antibakteriální aktivity proti jak gram pozitivním, tak gram negativním organismům. Tato sloučenina je předmětem amerického patentového spisu č. 4 520 022 uděleného 28. května 1985.

Pokud jde o vícestupňovou syntézu organických sloučenin, zejména pak cefalosporinových sloučenin, je obvykle žádoucí vyvinout takový postup, při němž by jeden nebo několik meziproduktů představovalo stabilní krystalické sloučeniny. Důvodem je skutečnost, že krystalické sloučeniny lze běžně získat ve vyšší čistotě a, pokud jsou za skladovacích podmínek stálé, lze je použít k vytvoření dostatečných zásob meziproduktů pro výrobní kampaň. Vynález dává k dispozici takovýto krystalický meziprodukt stálý za skladovacích podmínek, jímž je solvát BMY — 28 100 s dimethylformamidem. Tento solvát má charakteristickou krystalickou strukturu a obsahuje BMY — 28 100 a dimethylformamid v molekulárním poměru 1 : 1,5. Krystalická struktura výše zmíněné látky byla charakterizována pomocí práškové rentgenové difrakce (difrakční data jsou uvedena níže). Dále byla shora uvedená látka charakterizována infračerveným absorpčním spektrem měřeným pomocí KBr-techniky, a složení popisované látky pak pomocí NMR spektra.

Infračervené absorpční spektrum dimethylformamidového solvátu (1,5 molu dimethylformamidu) BMY — 28 100 je uvedeno na obrázku, kde na úsečce označené T (%) jsou uvedeny hodnoty transmise (propustnosti) v %, na úsečce označené λ (μm) vlnové délky v mikrometrech a na úsečce označené τ (cm^{-1}) pak odpovídající vlnočty v cm^{-1} .

Dimethylformamidový solvát se s výhodou vyrábí tak, že se BMY — 28 100 v neutrální formě nebo ve formě obojetného iontu uvede v roztoku do styku s dimethylformamidem. Pro přípravu roztoku se vybírá takové rozpouštědlo, které je inertní a nereaguje ani s BMY — 28 100, ani s dimethylformamidem, a v němž je žádaný solvát nerozpustný. Mezi vhodná rozpouštědla náleží dimethylformamid, methanol nebo vo-

da a směsi dimethylformamidu či methanolu s vodou. Výhodným reakčním prostředím je vodný dimethylformamid. Na každý mol BMY — 28 100 se používá nejméně 1,5 molu dimethylformamidu. Hodnota pH se udržuje v rozmezí zhruba od 4,5 do 6,0, s výhodou za použití terciárního alifatického aminu, jako triethylaminu. S výhodou se používá podstatný nadbytek dimethylformamidu. Účelně se používá objem dimethylformamidu stejný až asi dvojnásobný v porovnání s objemem vodného roztoku BMY — 28 100. K zvýšení účinnosti krystalizace je možno k reakční směsi přidat vyšší alkanol (se 2 až 4 atomy uhlíku) rozpustný ve vodě, jako isopropanol.

Takto vzniklý solvát obsahující 1,5 molu dimethylformamidu se snadno izoluje filtrací, lze jej na filtru promýt nerozpouštědlem, jako dimethylformamidem, acetonem nebo methylenchloridem a skladovat v běžných nádobách po dlouhou dobu bez toho, že by docházelo k jeho rozkladu. Ani při mezní skladovací teplotě nebo vlhkosti nelze zjistit žádné známky rozkladu.

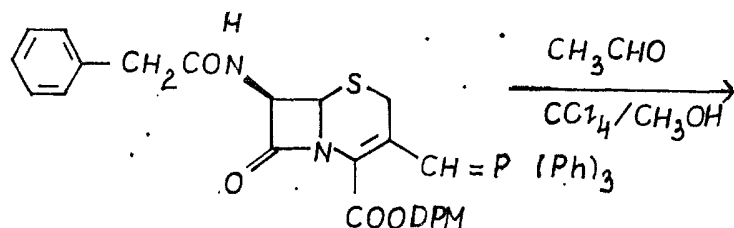
Z dimethylformamidového solvátu je možno získat BMY — 28 100 v neutrální formě nebo ve formě obojetného iontu rozpouštěním tohoto solvátu ve vodě a izolací BMY — 28 100 z vodného roztoku, například lyofilizací. Dimethylformamidové solváty jiných cefalosporinových antibiotik byly již popsány jako meziprodukty upotřebitelné pro izolační čisticí a skladovací účely. Tak například americký patentový spis č. 3 985 741 se zabývá dimethylformamidovým solvátům cefadroxilu a americký patentový spis č. 4 525 587 dimethylacetamidovým solvátům cefotaximu.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje. Ve vzorcích a schématech uvedených v těchto příkladech mají používané zkratky následující významy:

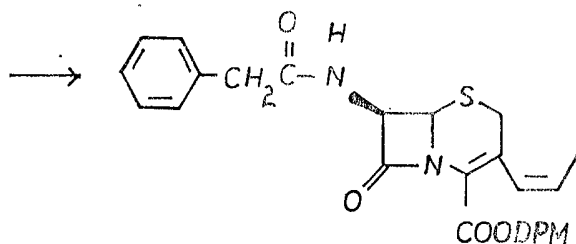
Ph = fenyl
DPM = difenylmethyl
BOC = $-\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$
DMF = dimethylformamid
TEA = triethylamin
DMA = dimethylanilin
TMCS = trimethylchlorsilan

Příklad 1

Difenylmethyl-7-fenylacetamido-3-[(Z)-propen-1-yl]cef-3-em-4-karboxylát



mol. hmotnost 758,8



(1)

mol. hmotnost 524,6

Roztok sestávající z 18 litrů tetrachlormethanu, 1,8 litru methanolu a 12 g p-benzoylbenzoové kyseliny se za míchání ochladí na 8 °C a přidá se k němu 970 ml acetaldehydu, přičemž teplota roztoku vystoupí na +14 °C. Po 5 minutách se přidá 588 g (0,7749 molu) difenylmethyl-7-fenylacetami-

do-3-[(trifenylfosforanylidem)methyl]-3-cefem-4-karboxylátu, chladicí lázeň se odstraní a směs se intenzivně míchá v dusíkové atmosféře při teplotě 35 °C za nepřístupu světla až do úplného rozpuštění fosforanu.

Výsledný roztok se zahustí ve vakuu, zbytek se rozpustí ve 2 litrech ethanolu a roztok se zahustí ve vakuu na polokrystalický odparek, který se suspenduje ve 3 litrech ethanolu.

Směs se 2 hodiny míchá při teplotě +5 stupňů Celsia, načež se nechá přes noc stát. Krystaly se dvakrát odfiltrují, promyjí se ethanolom a vysuší se ve vakuu při teplotě místnosti. Získá se 191 g (47 %) produktu o teplotě tání 124 až 128 °C, obsahujícího podle vysokotlaké kapalinové chromatografie na silikagelu (5 μm), za použití směsi 85 % toluenu a 15 % ethylacetátu jako elučního činidla, 7,5 % trans-isomeru.

Příklad 2

Difenylmethyl-7-amino-3-[(Z)-propen-1-yl]-cef-3-em-4-karboxylát-hydrochlorid

K míchanému roztoku 159,7 g (0,767 molu) chloridu fosforečného ve 2,8 litru dichlormethanu se během 20 minut přidá 56,7 ml (0,700 molu) pyridinu ve 280 ml dichlormethanu. Suspenze se v dusíkové atmosféře ochladí na 2 °C a přidá se k ní 256 g (0,488 molu) produktu z příkladu 1. Směs se 40 minut míchá a výsledná suspenze se rychle vylije do energicky míchaného roztoku 209 ml (2,33 molu) 1,3-butandiolu v 1,4 litru dichlormethanu, ochlazeného na -20 °C tak, aby teplota směsi nepřestoupila -5 °C. Chladicí lázeň se odstraní, po 45 minutách vystoupí teplota na 10 °C a na této výši se udržuje 35 minut.

Po přidání 1,0 litru vody se v míchání pokračuje ještě 5 minut, načež se vrstvy nechají oddělit. Organická vrstva se promyje 600 ml 2N kyseliny chlorovodíkové a 400 mililitry nasyceného roztoku chloridu sodného, spojené vodné extrakty se promyjí dvakrát vždy 600 ml dichlormethanu a tyto organické fáze se spojí s původním dichlormethanovým extraktem.

Dichlormethanová fáze se vysuší bezvodým síranem hořečnatým, suspenze se zfiltruje a odfiltrovaný síran hořečnatý se promyje dvakrát vždy 500 ml dichlormethanu. Spojené filtráty se zahustí ve vakuu na rotační odparce na objem 2,4 litru a koncentrát se zředí 2,5 litru ethylacetátu. Roztok se znovu zahustí na objem cca 1,3 litru, výsledná suspenze krystalů se zfiltruje a pevný materiál se promyje třikrát vždy 300 ml ethylacetátu. Po vysušení na vzduchu a ve vakuu nad oxidem fosforečným se získá 149,8 g sloučeniny uvedené v názvu, ve formě béžových krystalů. Výtěžek činí 69,3 procent.

Příklad 3

7-Amino-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-cef-3-em-4-karboxylová kyselina

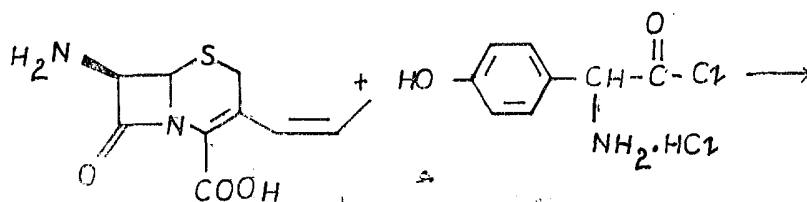
K míchanému roztoku tvořenému 260 ml anisolu a 1,38 litru trifluoroctové kyseliny, ochlazenému na 0 °C, se přidá 149,7 g (0,338 molu) hydrochloridu difenylmethyl-7-amino-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cefem-4-karboxylátu z příkladu 2 a výsledná suspenze se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Většina nadbytečné trifluoroctové kyseliny se odpaří ve vakuu na rotační odparce, z odparku se oddekantuje kapalina nad usazeninou a zbylá suspenze se 1 hodinu trituje s 1,5 litru suchého etheru. Krystalický produkt se odfiltruje a vysuší se nad oxidem fosforečným. Získá se 87,24 g trifluoracetátu sloučeniny uvedené v názvu.

Těchto 87,24 g trifluoracetátu se za míchání suspenduje v 900 ml vody (pH cca 2,5), směs se ochladí na +5 °C a její pH se 12N kyselinou chlorovodíkovou upraví na hodnotu 0,6. Žlutý roztok se vyčerpá aktivním uhlím a suspenze se zfiltruje přes vrstvu křemeliny. Výsledný roztok se ochladí na +5 °C a jeho pH se 20% hydroxidem sodným upraví na hodnotu 2,0. Suspenze se k proběhnutí krystalizace 1 hodinu udržuje v chladničce. Krystaly se shromáždí, promyjí se 800 ml vody a 800 ml acetonu, a vysuší se ve vakuu při teplotě místnosti. Výtěžek produktu činí 69,4 g (85,5 %). Podle vysokotlaké kapalinové chromatografie (kolona RP 18 MERCK, 95 ml 0,1M dihydrogenfosforečnanu amonného + 5 ml acetonitrilu, detekce při 290 nm) obsahuje produkt 9,7 % trans-isomeru.

Příklad 4

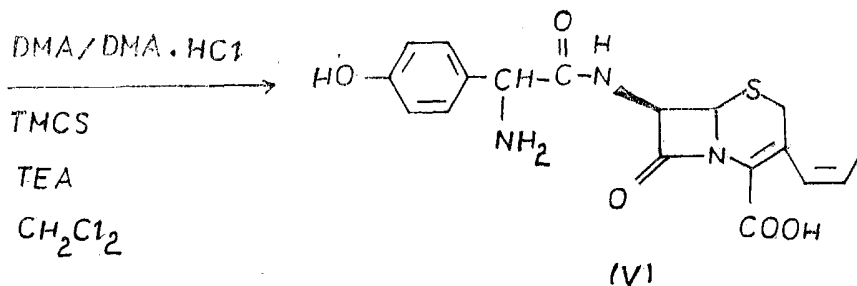
Solvát 7-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)-

acetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]cef-3-em-4-karboxylové kyseliny s 1,5 molu dimethylformamidu



(Ib)

mol. hmotnost 240,28

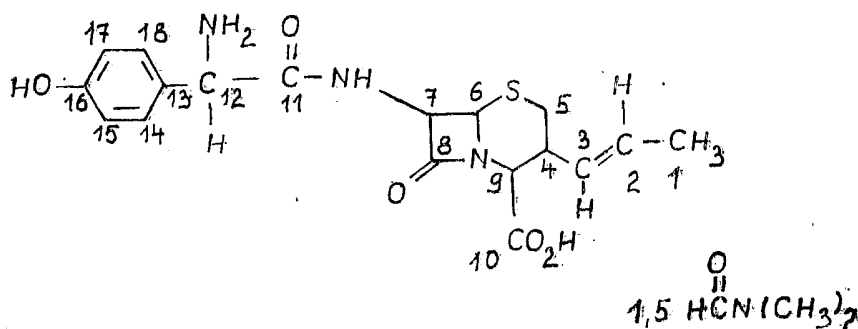


solvát s 1,5 molu dimethylformamidu mol. hmotnost 512

K míchané suspenzi 54 g (0,225 molu) produktu z příkladu 3 v 1,2 litru dichlormethanu se za udržování teploty na 20 °C přidá 59,9 ml (0,472 molu) trimethylchlorosilanu, 28,9 ml (0,229 molu) dimethylanilinu a 62,64 ml (0,432 molu) triethylaminu. Výsledná suspenze se 2 hodiny míchá při teplotě 20 °C, pak se ochladí na -10 °C, přidá se k ní nejprve 27,4 ml (33 %) dimethylanilin-hydrochloridu a pak ve 4 částech během 45 minut 64,3 g (0,229 molu) hydrochloridu p-hydroxyfenylglycinchloridu o čistotě 80 %. Suspenze se 2 hodiny míchá při teplotě -10 °C, přidá se k ní 23 mililitrů methanolu, směs se 10 minut míchá, načež se k ní za intenzivního míchání (aby se předešlo vzniku pryskyřčnatého materiálu) přikape 350 ml vody. Reakční

směs se ochladí na +5 °C a její pH se triethylaminem upraví na 2,2.

Vodná fáze o objemu 650 ml se promyje třikrát vždy 150 ml dichlormethanu, nerozpustný materiál se odfiltruje a pH vodné fáze se triethylaminem upraví na hodnotu 4,5. Po přidání 1,3 litru dimethylformamidu a 0,65 litru isopropanolu se směs 2 hodiny míchá a pak se nechá přes noc stát při teplotě +5 °C. Vyloučené krystaly se shromáždí, promyjí se minimálním množstvím dimethylformamidu a pak třikrát vždy 200 ml acetonu, načež se vysuší ve vakuu při teplotě místnosti. Získá se 74,4 g (64 %) sloučeniny 28100 ve formě dimethylformamidového solvátu obsahujícího 1,5 molu dimethylformamidu na každý mol 7-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]cef-3-em-4-karboxylové kyseliny. Tento solvát charakterizují následující spektrální údaje:



¹H-NMR spektrum solvátu s 1,5 molu di-methylformamidu (360 MHz; roztok v deuteriumoxidu a deuteriumchloridu):

δ (ppm) ^{*)}	tvar signálu	počet protonů	seskupení
7,92	singlet	1,5	$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{N} \\ \\ \text{O} \end{array}$ (dimethylformamid)
7,4	dublet	2	$\text{C}_{14}\text{H}_2, \text{C}_{18}\text{H}$
6,98	dublet	2	$\text{C}_{15}\text{H}_2, \text{C}_{17}\text{H}$
6,05	multiplet	1	C_3H
5,75—5,9	multiplet	1	C_2H
5,72	dublet	1	C_7H
5,18	dublet	1	C_6H
5,16	singlet	1	C_{12}H
3,25—3,55	multiplet	2	C_5H_2
3,0	singlet	4,5	NCH_3 (dimethylformamid)
2,86	singlet	4,5	NCH_3 (dimethylformamid)
1,60	singlet	3	C_1H_3

Poznámka:

*) trimethylsilylpropansulfonová kyselina jako standard

IČ spektrum (KBr-technika) solvátu obsahujícího 1,5 molu dimethylformamidu (viz obr. 1):

vlnočet (cm^{-1})	funkční skupina
2 600—3 250	OH, NH, NH_3^+
1 780	β -laktamový karbonyl
1 700	amidický karbonyl
1 665	amidický karbonyl (dimethylformamid)
1 570	CO_2^-
1 400	CO_2^-

Rentgenová difraktografie solvátu obsahujícího 1,5 molu dimethylformamidu (práškový vzorek):^{*)}

d (10^{-10} m)	I/I ₀
13,24	100
9,50	8
7,82	9
7,42	10
7,14	12
6,76	15
5,88	5
5,28	10
5,06	3
4,82	10
4,72	8
4,64	5
4,53	9
4,47	16
4,39	25
4,29	33
4,10	13
4,04	10
3,69	5
3,62	6

d (10^{-10} m)

I/I₀

3,58	9
3,56	8
3,48	4
3,29	10
3,19	5
2,98	5
2,71	4

Poznámka:

*) Stanovováno na práškovém difraktometru Rigaku za použití měděné antikatody a niklového filtru, se vzorkem na skleněné misce. Rychlost rozkladu 2°/min v se mechanicky zaznamenává k zjištění rozmezí od 5° do 40°, přičemž diagram se mechanicky zaznamenává k zjištění úhlů maximální difrakce. Ze záznamu se pak vypočítávají mezirovinné vzdálenosti (d) a relativní intenzity (I/I_0).

Příklad 5

7-[D]-2-Amino-2-[4-hydroxyfenyl]acetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]cef-3-em-4-karboxylová kyselina

25 g dimethylformamidového solvátu z příkladu 4 se rozpustí ve 400 ml vody. Po filtraci k odstranění nerozpustných podílů se roztok nastříkne do kolony MODULPREP, JOBIN-YVON s náplní Lichroprep a podrobí se chromatografii za použití rozpouštědlového systému tvořeného směsí vody a acetonitrilu v poměru 92 : 8. Detekce se provádí při 325 nm a kontrola analytickou vysokotlakou kapalinovou chromatografií.

Příslušné frakce (každá frakce má objem cca 250 ml) se spojí (frakce 10 až 20) a k odstranění acetonitrilu se zahustí na objem 1,5 litru. Koncentrát se ochlazuje na -60°C a podrobí se lyofilizaci. Zbytek po lyofilizaci (14,2 g) se vnese do 140 ml vody a směs se

10 minut míchá za chlazení v ledu. Výsledný krystalický produkt se shromáždí a přes noc se suší ve vakuu (bez oxidu fosforečného). Získá se 13,34 g sloučeniny uvedené v názvu. Výtěžek (po čištění) činí 65 %.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby krystalického solvátu 7-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cefem-4-karboxylové kyseliny s dimethylformamidem, majícího sumární vzorec $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S} \cdot 1,5 [\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}]$ a následující rentgenový práškový difraktogram

d (10^{-10} m)	I/I ₀
13,24	100
9,50	8
7,82	9
7,42	10
7,14	12
6,76	15
5,88	5
5,28	10
5,06	3
4,82	10
4,72	8
4,64	5
4,53	9
4,47	16
4,39	25
4,29	33
4,10	13
4,04	10
3,69	5
3,62	6
3,58	9
3,56	8

d (10^{-10} m)	I/I ₀
3,48	4
3,29	10
3,19	5
2,98	5
2,71	4

vyznačující se tím, že se 7-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cefem-4-karboxylová kyselina uvede do styku s nejméně 1,5 molu dimethylformamidu v inertním kapalném prostředí, v němž je shora zmíněný solvát nerozpustný, tvořeném dimethylformamidem, methanolem, vodou nebo jejich směsí.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se pracuje při teplotě 0 až 25°C , s výhodou při teplotě 5°C .

3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se na vodný roztok 7-[(D)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cefem-4-karboxylové kyseliny působí dimethylformamidem při pH 4,5.

4. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se ke kapalnému prostředí k zvýšení účinnosti krystalizace solvátu přidá ve vodě rozpustný alkanol se 2 až 4 atomy uhlíku.

5. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako kapalně prostředí použije vodný dimethylformamid.

