



Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 23.V.1967 (P 120 705)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 16.II.1970

Kl. 12 p, 4/01

MKP C 07 d

UKD

99/14

Współtwórcy wynalazku: doc. dr Jerzy Cieślak, mgr Irena Buśko, mgr Julian Sierankiewicz

Właściciel patentu: Instytut Antybiotyków, Warszawa (Polska)

Sposób otrzymywania penicylin półsyntetycznych

Wynalazek dotyczy sposobu otrzymywania penicylin półsyntetycznych o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru, chlorowca lub grupę hydroksylową.

Znane penicyliny półsyntetyczne takie jak benzylowa, fenoksymetylowa lub ampicylina pomimo wysokiej aktywności antybiotycznej okazują się nieskuteczne w wielu infekcjach, ponieważ stosunkowo szybko ulegają inaktywacji in vivo pod działaniem penicylinazy bakteryjnej. Wśród półsyntetycznych penicylin znane są antybiotyki odznaczające się zwiększoną w stosunku do penicyliny G i V opornością na działanie penicylinazy bakteryjnej jak na przykład metacylina, oksacylina, kloksacylina i inne. Jednakże jak wykazały badania in vitro penicyliny te odznaczają się mniejszą stabilnością wobec penicylinazy aniżeli związki otrzymane sposobem według wynalazku. Względna ich oporność na działanie Bacto-Penasy firmy Difco w stosunku do oporności metacyliny i oksacyliny ilustruje poniższa tablica.

Tablica

Penicylina	Ilość zinaktywowanego antybiotyku w ciągu 24 godzin w %
9-chloro-9-fluorenylowa	19
9-hydroksy-9-fluorenylowa	38
metacylina	76
oksacylina	41

Penicylina benzylowa w tych samych warunkach ulega całkowitej inaktywacji w ciągu 1 godziny. Związki otrzymane sposobem według wynalazku mogą znaleźć zastosowanie jako środki lecznicze dla ludzi i zwierząt głównie w infekcjach spowodowanych przez bakterie chorobotwórcze odporne na działanie innych antybiotyków z tej grupy oraz mogą służyć jako dodatek do pasz. Penicyliny o wzorze przedstawionym na rysunku odznaczają się wysoką stabilnością wobec penicyliny bakteryjnej inaktywującej działanie innych stosowanych w lecznictwie penicylin zachowując przy tym aktywność antybiotyczną. Dodatkową zaletą tych związków jest ich stosunkowo duża stabilność w środowisku kwaśnym, co umożliwia stosowanie per os w leczeniu zakażeń bakteryjnych u ludzi.

Sposób według wynalazku polega na kondensacji kwasu 6-aminopenicylanowego z chlorkami kwasów fluorénokarboksylowych-9 ewentualnie podstawionych w położeniu 9. W przypadku gdy reakcji z kwasem 6-aminopenicylanowym poddaje się chlorek fluorenokarboksylowego-9 ewentualnie podstawionego w położeniu 9 atomem chlorowca, wówczas otrzymuje się penicyliny o wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru lub chlorowca. Natomiast penicyliny o wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza grupę hydroksylową, wytwarza się przez kondensację kwasu 6-aminopenicylanowego z chlorkiem kwasu 9-dwuchloroacetoksyfluorenokar-

boksylowego-9 i hydrolizę otrzymanej jako produkt przejściowy penicyliny 9-dwuchloroacetoksy 9-fluorenylowej w środowisku słabo alkalicznym. Kondensację prowadzi się w środowisku wodno-ketonowym w ciągu 1,5–2 godzin w temperaturze -10 — 20°C . Jako keton stosuje się korzystnie aceton lub metyloizobutyloketon. Otrzymane penicyliny izoluje się przez zakwaszenie mieszaniny poreakcyjnej do wartości $\text{pH} = 2,5$ i ekstrakcję eterem.

Z wysuszonych ekstraktów eterowych wytrąca się penicyliny w postaci soli sodowych lub potasowych przez dodanie butanolowego roztworu soli sodowej lub potasowej kwasu 2-etylokapronowego.

Sposób według wynalazku w szczególności wyjaśniają następujące przykłady:

Przykład I. Do ochłodzonego do temperatury 0 – 5°C roztworu kwasu 6-aminopenicylanowego ($4,32\text{ g} - 0,02\text{ m}$) i ($5,04\text{ g} - 0,06\text{ m}$) kwaśnego węglanu sodowego w 80 ml wody i 20 ml acetonu dodaje się przy intensywnym mieszaniu w ciągu 10 minut ($6,58\text{ g} - 0,025\text{ m}$) chlorku kwasu 9-chloro-fluorenokarboksylowego-9 w 40 ml acetonu. Po dodaniu chlorku miesza się w ciągu $1,5$ godziny, a następnie ekstrahuje eterem ($2 \times 40\text{ ml}$) i ekstrakt eterowy odrzuca. Po oziębieniu do temperatury 0 – 5°C mieszaninę poreakcyjną zakwasza się 3 n HCl do wartości $\text{pH} = 2,5$ i trzykrotnie ekstrahuje eterem ($3 \times 50\text{ ml}$). Połączone ekstrakty eterowe przemycia się wodą, suszy i dodaje $11,3\text{ ml } 30\%$ butanolowego roztworu soli potasowej kwasu 2-etylokapronowego. Wytrącony osad po odsączeniu przemycia się bezwodnym eterem i suszy nad pięciotlenkiem fosforu. Otrzymuje się $7,22\text{ g}$ soli potasowej penicyliny 9-chloro-9-fluorenylowej, co stanowi 75% wydajności teoretycznej w przeliczeniu na kwas 6-aminopenicylanowy. Czystość według oznaczeń jodometrycznych 75% . Moc wobec szczepu testowego ATCC Bac. subtilis 6699 w przeliczeniu na 100% sól potasową penicyliny 9-chloro-9-fluorenylowej wynosi 1150 j/mg .

Przykład II. Do ochłodzonego do temperatury 0 – 5°C roztworu kwasu 6-aminopenicylanowego ($5,4\text{ g} - 0,025\text{ m}$) i ($6,3\text{ g} - 0,075\text{ m}$) kwaśnego węglanu sodu w 100 ml wody i 25 ml acetonu dodaje się jednorazowo przy intensywnym mieszaniu chlorek kwasu fluorenokarboksylowego-9 ($6,81\text{ g} - 0,0312\text{ m}$) w 50 ml acetonu. Po dodaniu chlorku roztwór miesza się w ciągu 2 godzin. Z mieszaniny poreakcyjnej izoluje się penicylinę 9-fluorenylową w postaci soli potasowej w sposób analogiczny jak w przykładzie I. Otrzymuje się $7,14\text{ g}$ soli potasowej penicyliny (64% wydajności teoretycznej). Czystość według oznaczeń jodometrycznych 75% . Moc biologiczna w przeliczeniu na 100% sól potasową penicyliny 9-fluorenylowej wynosi 1440 j/mg .

Przykład III. Do roztworu kwasu 6-aminopenicylanowego ($7,45\text{ g} - 0,0345\text{ m}$) i kwaśnego węglanu sodu ($3,0\text{ g} - 0,036\text{ m}$) dodaje się chlorek kwasu 9-dwuchloroacetoksyfluorenokarboksylowego-9 ($12,3\text{ g} - 0,036\text{ m}$) w 105 ml ketonu metyloizobutyloвого i miesza w ciągu $1,5$ godziny. Następnie dodaje się 50 ml nasyconego wodnego roztworu chlorku sodu, oddziela warstwę metyloizobutylo-

ketonu i po wysuszeniu dodaje się $17,5\text{ ml } 2\text{ n}$ butanolowego roztworu soli sodowej kwasu 2-etylokapronowego. Wydzieloną sól sodową penicyliny 9-dwuchloroacetoksy-9-fluorenylowej rozpuszcza się w 1 n roztworze kwaśnego węglanu sodu, następnie dodaje jeszcze roztworu węglanu do wartości $\text{pH} = 8$ i miesza w ciągu 15 minut. Do otrzymanego roztworu dodaje się 100 ml eteru i zakwasza 3 n HCl do wartości $\text{pH} = 2,5$. Po oddzieleniu warstwy eterowej ekstrahuje się warstwę wodną jeszcze dwukrotnie eterem ($2 \times 50\text{ ml}$). Połączone ekstrakty eterowe suszy się siarczanem magnezu i wytrąca sól sodową penicyliny 9-hydroksy-9-fluorenylowej dodatkiem 2 n butanolowego roztworu soli sodowej kwasu 2-etylokapronowego. Wydzielony produkt przemycia się kilkakrotnie bezwodnym eterem i suszy nad pięciotlenkiem fosforu. Otrzymuje się $5,85\text{ g}$ soli sodowej penicyliny, co stanowi 38% wydajności teoretycznej w przeliczeniu na kwas 6-aminopenicylanowy. Czystość według oznaczeń jodometrycznych 72% . Moc biologiczna w przeliczeniu na 100% sól sodową penicyliny 9-hydroksy-9-fluorenylowej wynosi 225 j/mg .

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania penicylin półsyntetycznych o ogólnym wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru, chlorowca albo grupę hydroksylową, **znamienny tym**, że kwas 6-aminopenicylanowy kondensuje się z chlorkiem kwasu fluorenokarboksylowego-9, ewentualnie podstawionego w położeniu 9 atomem chlorowca, przy czym otrzymuje się penicylinę o wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru lub chlorowca, albo kondensuje się z kwasem 6-aminopenicylanowym chlorek kwasu 9-dwuchloroacetoksyfluorenokarboksylowego-9, po czym otrzymaną jako produkt przejściowy penicylinę 9-dwuchloroacetoksy-9-fluorenylową poddaje się hydrolizie, przy czym otrzymuje się penicylinę o wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza grupę hydroksylową, po czym otrzymaną penicylinę ewentualnie przeprowadza się w sól.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że kondensację prowadzi się w temperaturze -10 do -20°C w środowisku wodno-ketonowym w ciągu $1,5$ – 2 godzin.

3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że jako keton stosuje się aceton lub metyloizobutyloketon.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że penicylinę wyodrębnia się przez zakwaszenie mieszaniny poreakcyjnej do wartości $\text{pH} = 2,5$ i następną ekstrakcję eterem.

5. Sposób według zastrz. 1 i 4, **znamienny tym**, że penicylinę przeprowadza się w sól przez działanie na ekstrakt eterowy butanolowym roztworem soli potasowej lub sodowej kwasu 2-etylokapronowego.

6. Sposób według zastrz. 1,2, **znamienny tym**, że penicylinę 9-dwuchloroacetoksy-9-fluorenylową poddaje się hydrolizie w środowisku słabo alkalicznym.

