

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

65 984

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 12p,4/01

Zgłoszono: 26.II.1968 (P 125 478)

Pierwszeństwo: _____

MKP C07d 99/24

Opublikowano: 15.VII.1972

UKD

Twórca wynalazku: Edwin Harold Flynn

Właściciel patentu: Eli Lilly and Company, Indianapolis (Stany Zjednoczone Ameryki)

Sposób wytwarzania nowych antybiotyków typu cefalosporyny

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych antybiotyków typu cefalosporyny o ogólnym wzorze 1, w którym R oznacza rodnik alkilowy o 1 lub 2 atomach węgla, a R¹ oznacza atom wodoru lub grupę acetoksyłową. Związki otrzymane sposobem według wynalazku mają podwójne wiązanie w pozycji 3 pierścienia dwuhydrotiazynowego oraz przyłączoną grupę β-laktamu. Niektóre związki o wzorze 1 nadają się do zwalczania chorób spowodowanych przez różne mikroorganizmy Gram-dodatnie i Gram-ujemne. Wprawdzie pewne związki cefalosporynowe, na przykład sól sodowa kwasu 7-²'-tienilo/-acetoamidocefalosporanowego, są znane jako antybiotyki do stosowania pozajelitowego, to jednak istnieje ciągłe zapotrzebowanie na dalsze różnicowanie i udoskonalone antybiotyki. Zaletą związków wytwarzanych sposobem według wynalazku jest to, że wykazują one znaczną aktywność przy stosowaniu doustnym.

W zależności od wartości pH środowiska reakcyjnego sposobem według wynalazku otrzymuje się związki o wzorze 1 w postaci wolnych kwasów lub soli wewnętrznych. Mogą one być jednorodne lub stanowić mieszaninę racemiczną ich optycznie czynnych izomerów. Związki o wzorze 1 można ewentualnie przeprowadzać w ich sole z farmakologicznie dopuszczalnymi zasadami, na przykład w postaci soli sodowych, potasowych lub amonowych, albo w postaci addycyjnych soli z mocnymi

2

kwasami, również dopuszczalnymi w farmakologii, takimi jak kwas solny, siarkowy, bromowodorowy, fosforowy lub trójfluorooctowy itp. Związki o wzorze 1 korzystnie wytwarza się i stosuje jako antybiotyki w postaci soli wewnętrznych lub amfoterycznych. Poniżej przedstawione związki stanowią przykłady związków otrzymanych sposobem według wynalazku: kwas 7-[4-(aminometylo)-fenyloacetoamido]cefalosporanowy, kwas 7-[4-(α-aminometylo)fenyloacetoamido]-cefalosporanowy, kwas 7-[4-(α-aminopropyl)-fenyloacetoamido]-cefalosporanowy, kwas 7-[4'-(α-aminometylo)fenyloacetoamido]dezacetoksycefalosporanowy i kwas 7-[4'-(α-aminopropyl)fenyloacetoamido]dezacetoksycefalosporanowy. Kwasy te mogą być przeprowadzone w znany sposób w omówione wyżej sole.

Związki otrzymane sposobem według wynalazku są zbliżone do cefalosporyny C, ale podczas gdy cefalosporyny C zawierają w położeniu 7 grupę 5'-amino-N'-adypamoidową, to związki otrzymywane sposobem według wynalazku cechuje obecność w położeniu 7 grupy acyloamidowej, zawierającej w pozycji 4 pierścienia fenyłowego kwasu fenylooctowego niższą grupę α-aminoalkilową. W kwasach dezacetoksycefalosporanowych o wzorze 1 w pozycji 3 znajduje się grupa metylowa, natomiast w cefalosporynach C, występuje w tej pozycji grupa acetoksymetylowa. Ponadto, w przeciwieństwie do cefalosporyn C posiadających stosunkowo niski efekt bakteriobójczy, związki otrzymane sposobem

według wynalazku odznaczają się silnym działaniem bakteriobójczym i są zdolne do hamowania rozwoju licznych rodzajów drobnoustrojów w różnych środowiskach.

Cefalosporyna C, będąca najodpowiedniejszym produktem wyjściowym przy wytwarzaniu związków sposobem według wynalazku, może być otrzymana w hodowli organizmów wytwarzających cefalosporynę C w odpowiedniej pożywce opisanej w brytyjskim opisie patentowym Nr 810.196. Cefalosporyna C może być również otrzymana sposobem podanym w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki Nr 3 082 155, polegającym na stosowaniu mieszaniny odmian organizmów zawierającej *Cephalosporinum* I.M.I. 49137 oraz odpowiedniej pożywki zawierającej źródło azotu organicznego w obecności tlenu cząsteczkowego. Otrzymaną cefalosporynę C wydziela się z mieszaniny, przy czym nadaje się ona do dalszej przeróbki na kwas 7-aminocefalosporanowy. Reakcja ta polega na przerwaniu bocznego łańcucha 5'-amino-N'-adypamoidowego pomiędzy grupą amidokarbonylową i atomem azotu grupy amidowej, korzystnie przez poddanie cefalosporyny C reakcji z chlorkiem nitrozyłu w roztworze kwasu mrówkowego, a następnie hydrolizę metodą Morina, opisano w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki Nr 3 188 311.

W przypadku otrzymywania pochodnych kwasu dezacetoksycefalosporanowego, cefalosporynę C poddaje się przeróbce zwykłym sposobem na kwas 7-dezacetoksycefalosporanowy. Sposób ten polega, na przykład na katalitycznym uwodornieniu cefalosporyny C i następnie hydrolizie mającej na celu usunięcie bocznego łańcucha 5-aminoadypoilowego sposobem opisanym, na przykład w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki Nr 3 129 224. Otrzymane kwasy 7-dezacetoksycefalosporanowe stosuje się zamiast kwasów 7-aminocefalosporanowych jako substraty do otrzymywania związków o wzorze 1 sposobem według wynalazku.

Sposobem według wynalazku związku o wzorze 1 stanowiące pochodne kwasu 7-{2'-[4''-(α -aminoalkilofenyl)acetoamido]-cefalosporanowego otrzymuje się przez acylowanie kwasu 7-aminocefalosporanowego albo kwasu 7-dezacetoksycefalosporanowego w postaci bądź to wolnego kwasu bądź to odpowiednich rozpuszczalnych w wodzie soli tych kwasów, znanych z opisu patentowego Stanów Zjednoczonych Ameryki Nr 3 207 755, za pomocą środka acylującego zawierającego co najmniej jedną grupę o ogólnym wzorze 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie, w którym grupa aminowa jest chroniona w znany sposób. Proces acylowania prowadzi się w znany sposób. Dogodnymi środkami acylującymi są chlorki lub bromki kwasu 4- α -aminoalkilofenyllooctowego, których grupy aminowe chroni się uprzednio w zwykły sposób takimi grupami, jak na przykład grupa karbobenzoksylowa, karboalkoksylowa, III rzęd.-butylokarbonylowa, β -hydroksyalkilidenowa, furfurylohydroksykarbonylowa, adamantylohydroksykarbonylowa itp. Proces acylowania kwasu 7-aminocefalosporanowego lub 7-dezacetoksycefalosporanowego prowadzi się korzystnie w obojętnym środowisku wodnym lub w środowisku odpowiedniego rozpuszczal-

nika organicznego, w temperaturze nieco poniżej temperatury pokojowej, ale wyższej od temperatury krzepnięcia mieszaniny reakcyjnej.

Przeważnie kwas 7-aminocefalosporanowy lub kwas 7-dezacetoksycefalosporanowy miesza się z odpowiednią ilością kwaśnego węgla sodowego lub innego czynnika alkalizującego, w celu otrzymania wartości pH 5 — 9, co sprzyja powstawaniu soli i rozpuszczaniu produktu. Otrzymany produkt rozpuszcza się w wodnym roztworze acetonu o stężeniu 50% objętościowych w taki sposób, aby stężenie kwasu 7-aminocefalosporanowego lub 7-dezacetoksycefalosporanowego w roztworze wynosiło około 1—4% wagowych, po czym roztwór ochładza się do temperatury 0°—5°C i mieszając oraz chłodząc dodaje do niego chlorek 4-aminoalkilofenyllooctylu z chronioną grupą aminową w 20% nadmiarze. Podczas dodawania wartości pH roztworu utrzymuje się na stałym poziomie 6—7,5 dodając do mieszaniny reakcyjnej kwaśny węgiel sodu, bądź wprowadzając bełkotką gazowy dwutlenek węgla. Po dodaniu całej ilości środka acylującego przerywa się proces chłodzenia i mieszaninę reakcyjną miesza aż do osiągnięcia temperatury pokojowej, a następnie zakwasza się kwasem solnym lub innym odpowiednim kwasem do wartości pH około 2, w celu otrzymania produktu w postaci wolnego kwasu 7-{2'-[4''-(α -aminoalkilofenyl)-acetoamido]-cefalosporanowego z chronioną grupą aminową lub odpowiedniej pochodnej kwasu 7-dezacetoksycefalosporanowego. Produkt ten ekstrahuje się z mieszaniny reakcyjnej za pomocą rozpuszczalnika organicznego, takiego jak na przykład octan etylu. Otrzymany wyciąg alkalizuje się do wartości pH około 5,5 za pomocą wodorotlenku potasu lub sodu, amoniaku, odpowiedniej aminy lub innej zasady zawierającej sód, potas, jon amonowy lub inny kation, po czym ekstrahuje wodą.

Ekstrakt wodny, zawierający pochodną z chronioną grupą aminową w postaci anionu soli w połączeniu z odpowiednim kationem, oddziela się od roztworu organicznego i odparowuje do sucha. Pozostałość rozpuszcza się w możliwie najmniejszej ilości alkoholu metylowego, po czym oddziela żądany produkt przez odparowanie bądź ochłodzenie roztworu i krystalizację z dodatkiem alkoholu izopropylowego jako czynnika zmniejszającego rozpuszczalność. Otrzymany produkt odsącza się, przemyna acetonem i suszy.

Otrzymany produkt pośredni poddaje się procesowi usunięcia grupy ochronnej z grupy aminowej. Operacja ta może być wykonana przed lub po krystalizacji, korzystnie przez uwodornienie w łagodnych warunkach w obecności katalizatora palladowego lub przez poddanie produktu krótkotrwałej reakcji ze słabym kwasem, na przykład kwasem mrówkowym w temperaturze pokojowej w czasie 1—5 godzin. Grupa ochronna może być również usunięta z półproduktu za pomocą kwasu trójfluorooctowego, przy czym zachodzi jednocześnie reakcja tworzenia soli kwasu trójfluorooctowego z kwasem 7-{2'-[4''-(aminoalkilofenyl)acetoamido]-cefalosporanowym lub odpowiednim kwasem dezacetoksycefalosporanowym. Możliwe jest usuwanie reszty kwasowej kwasu trójfluorooctowego na drodze reakcji z odpowiednią żywicą

anionowymienną w postaci zasady lub octanu, przy czym wówczas otrzymuje się produkt w postaci amfoterycznej. Odpowiednimi żywicami są w tym przypadku słabe żywice anionowymiennne, takie jak „Amberlite IR-4B” i „De-acidite — E” w postaci octanów, bądź silnie zasadowe anionity zdolne do eliminowania chlorków lub innych anionów z roztworów cefalosporyn — takie jak na przykład „Amberlite IRA-400”, „Dowex 1” lub „De-acidite — FF”.

Pośród organicznych aminowych żywic jonowymiennych znajdujących zastosowanie przy otrzymywaniu związków wytwarzanych sposobem według wynalazku można wymienić żywice wytwarzane przez firmę Rohm and Haas Co. pod nazwami handlowymi „Amberlite LA-1” i „Amberlite LA-2”, a także żywice podane w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 2 870 207. Żywica anionowymienna „Amberlite LA-1” należy do grupy ciekłych amin drugorzędowych o wysokim ciężarze cząsteczkowym, nierozpuszczalnych w wodzie, lecz z łatwością rozpuszczalnych w węglowodorach i innych rozpuszczalnikach niewodnych. Żywica „Amberlite LA-1” zawiera dwa silnie rozgałęzione łańcuchy alifatyczne przyłączone do atomu azotu, co nadaje jej doskonałą rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych przy bardzo małej rozpuszczalności w wodzie. Te właściwości, w połączeniu z dużą reaktywnością drugorzędowych amin w stosunku do kwasów powodują, że żywica ta nadaje się szczególnie dobrze do eliminowania kwasów z roztworów wodnych.

Proces acylowania kwasów 7-aminocefalosporanowych i 7-dezacetoksycefalosporanowych może być również prowadzony przy użyciu odpowiedniej reaktywnej pochodnej kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)-fenylo]-octowego stosowanego jednocześnie z karboimidem, przy czym w tym przypadku reakcja acylacji zachodzi w temperaturze otoczenia. Do tego celu można stosować jakiegokolwiek karboimidy, przy czym aktywną częścią karboimidu jest układ $—N=C=N—$. Przykłady takich karboimidów podano w opisie patentowym Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 3 252 973, a mianowicie: N,N'-dwytylokarbodwuimid, N,N'-dwypropylokarbodwuimid, N,N'-dwyizopropylokarbodwuimid, N,N'-dwykloheksylokarbodwuimid, N,N'-dwyallilokarbodwuimid, N,N'-dwy(p-dwumetyloaminofenylo)-karbodwuimid, N-etylo-N'-(4"-etylo-2"-oksyrinylo)-karbodwuimid itp.

Acylację kwasów 7-aminocefalosporanowego lub 7-dezacetoksycefalosporanowego można prowadzić w inny jeszcze sposób, a mianowicie przy użyciu wybranych aktywnych pochodnych kwasu [4'-(α -aminoalkilo)-fenylo]-octowego, na przykład odpowiednich bezwodników kwasowych, mieszanych bezwodników kwasowych, bądź też przy użyciu aktywnych estrów, na przykład estru p-nitrofenolowego lub cyjanometylowego.

Niektóre spośród związków kwasu 4-(α -aminoalkilo)-fenylooctowego w postaciach nadających się do acylowania kwasów 7-aminocefalosporanowego lub 7-dezacetoksycefalosporanowego, to jest w postaci halogenków kwasowych, mieszanych bezwodników lub chlorowcomrówczanów, zawierają nie-

symetryczny atom węgla i dzięki temu możliwe jest istnienie izomerów optycznie czynnych. Te związki stereoizomeryczne mogą być stosowane do wytwarzania związków o wzorze 1 sposobem według wynalazku zarówno w stanie czystym, to jest bez domieszek innych izomerów, albo w postaci mieszanin izomerów optycznych. Przykładem takiego związku mieszanego jest mieszanina stereoizomerów kwasu 7-{2'-[4'-(d- i l- α -aminoetylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Taka mieszanina może być otrzymana, na przykład, przez podanie kwasu 7-aminocefalosporanowego reakcji z mieszaniną kwasów 2-[4'(d i l- α -aminoetylo)fenylo]-octowych lub ich pochodnych o większej reaktywności, bądź też przez zmieszanie w odpowiednim stosunku oddzielnych izomerów prawo i lewoskrętnych kwasu 7-{2'-[4'-(α -aminoetylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego, otrzymanych sposobami opisanymi poniżej w przykładach. W celu otrzymania oddzielnych izomerów optycznych cefalosporyny kwasy 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowe rozdziela się w zwykły sposób, polegający na podawaniu reakcji wolnego kwasu z cynchoniną, strychniną, brucyną itp. i na rozdzielaniu otrzymanych soli drogą frakcjonowanej krystalizacji.

Po rozdzieleniu, poszczególne frakcje soli zakwasza się, otrzymując wolne, rozdzielone kwasy w postaci prawo- i lewoskrętnych izomerów. Każdy z tak otrzymanych prawo- lub lewoskrętnych kwasów 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowych może być zastosowany w postaci kwasu w obecności karboimidu do reakcji z kwasami 7-aminocefalosporanowymi lub 7-aminodezacetoksycefalosporanowym, albo też może być przeprowadzony w odpowiedni halogenek kwasowy, mieszany bezwodnik lub chlorowcomrówczan, przy czym reakcje te powinny być prowadzone tak, aby uniknąć powstawania odmian racemicznych.

Aktywność biologiczną związków otrzymanych sposobem według wynalazku zbadano wobec różnych mikroorganizmów. Stwierdzono, że kwas 7-{2'-[4'-(d- α -aminoetylo)-fenylo]-acetamido}-cefalosporanowy, otrzymany w sposób opisany w niżej przytoczonym przykładzie I, w stosunku do 4 szczepów odpornego na penicylinę *Staphylococcus aureus* wykazuje minimalne stężenie hamujące wynoszące 0,2—0,8 μ g/ml w obecności surowicy krwi ludzkiej i 0,3—0,8 μ g/ml w przypadku nieobecności surowicy. Wartości porównawcze penicyliny, uzyskane metodą płytkową na płytkach Petriego, wynoszą 1,4—9 μ g/ml, a dla znanego antybiotyku cefalotyny wynoszą 0,9—2,2 μ g/ml. Otrzymany sposobem według wynalazku kwas 7-{2'-[4'-(d- α -aminoetylo)-fenylo]-acetamido}-cefalosporanowy przy dwukrotnym stosowaniu doustnym wykazuje w stosunku do wyodrębnionego z myszy β -hemolitycznego szczepu C203 *Streptococcus pyogenes* średnią dawkę skuteczną ED₅₀ wynoszącą 7,5 mg/kg. W stosunku do wymienionych niżej organizmów Gram-ujemnych kwas ten wykazuje minimalne stężenia hamujące, określone metodą płytkową, podane w tablicy 1.

Kwas 7-{2'-[4'-(aminometylo)-fenylo]-acetamido}-cefalosporanowy, otrzymany w sposób opisany w niżej przytoczonym przykładzie III, w stosunku do 4 szczepów odpornego na penicylinę *Staphylo-*

7
Tablica 1

Badany mikroorganizm	Minimalne stężenie hamujące $\mu\text{g/ml}$
N-9 <i>Shigella</i> sp.	24
N-10 <i>Escherichia coli</i>	15
N-26 <i>Escherichia coli</i>	16
X-26 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
X-68 <i>Aerobacter aerogenes</i>	10
K-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
powyżej <i>Shigella sonnei</i>	20

coccus aureus wykazuje minimalne stężenie hamujące wynoszące 0,4 $\mu\text{g/ml}$ w obecności surowicy krwi ludzkiej i 0,8 — 1 $\mu\text{g/ml}$ w przypadku nieobecności surowicy. Kwas ten przy dwukrotnym stosowaniu doustnym wykazuje w stosunku do wyodrębnionego z myszy β -hemolitycznego szczepu C203 *Streptococcus pyogenes* średnią dawkę skuteczną ED_{50} wynoszącą 6,75 mg/kg, zaś w stosunku do organizmów Gram-ujemnych wykazuje minimalne stężenie hamujące, określone metodą płytkową na płytkach Petriego, podane w tablicy 2.

Tablica 2

Badany mikroorganizm	Minimalne stężenie hamujące $\mu\text{g/ml}$
N-9 <i>Shigella</i> sp.	24
N-10 <i>Escherichia coli</i>	15
N-26 <i>Escherichia coli</i>	16
X-26 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
X-68 <i>Aerobacter aerogenes</i>	10
K-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
powyżej <i>Shigella sonnei</i>	20

Kwas 7-{2'-[4''-(aminometylo)-fenylo]-acetoamido}-3-metylo-3-cefemokarboksylowy-4, otrzymany w sposób opisany w przykładzie IV, podawany doustnie myszom, wykazuje w stosunku do *Streptococcus pyogenes*, grupa A, szczep C203, dawkę skuteczną ED_{50} wynoszącą 31,2 mg/kg, podczas gdy śmiertelna dawka tego kwasu dla myszy wynosi 3250 mg/kg. Próby na rozmazach agarowych przeciwko różnym drobnoustrojom, wykonane przy użyciu tego kwasu, wykazują maksymalne stężenie hamujące w ciągu 48 godzin. W stosunku do *Streptococcus faecalis* wynosi ono poniżej 6,25 $\mu\text{g/ml}$ i w stosunku do *Escherichia coli* Nr 2 również poniżej 6,25 $\mu\text{g/ml}$. Maksymalne stężenie hamujące tego kwasu w stosunku do 4 różnych szczepów odpornego na penicylinę *Streptococcus aureus* wynosi w obecności surowicy krwi ludzkiej 5—11 $\mu\text{g/ml}$, a w przypadku nieobecności surowicy 8 $\mu\text{g/ml}$.

Następujące przykłady objaśniają sposób według wynalazku, nie ograniczając jednak jego zakresu.

Przykład I. Mieszaninę 475 mg (5 milimoli) chloromrówczanu metylu i 25 ml acetonu zawierającego dwie krople dwumetylobenzyloaminy ochładza się w łaźni zawierającej mieszaninę lodu i alkoholu. Do ochłodzonej mieszaniny wkrapla się

8

mieszając w ciągu 30 minut 1,4 g (5 milimoli) kwasu 4-[N-(III rzęd.-butoksykarbonylo)-d- α -aminoetylo]-fenylooctowego rozpuszczonego w 25 ml acetonu zawierającego 500 mg trójetyloaminy, w celu otrzymania mieszanego bezwodnika kwasowego. Następnie przygotowuje się mieszaninę 1,5 g (5,5 milimoli) kwasu 7-aminocefalosporanowego w 30 ml wody zawierającej 550 mg (5,5 milimoli) trójetyloaminy i po oczyszczeniu węglem aktywowanym i ochłodzeniu wkrapla się ją mieszając w ciągu 5 minut do mieszaniny zawierającej uprzednio otrzymany bezwodnik kwasowy. Mieszaninę pozostawia się następnie na okres 1 godziny bez ogrzewania, w celu doprowadzenia reakcji do końca. Otrzymuje się kwas 7-{2'-[4''-(N-III-rz.-butoksykarbonylo)-d- α -aminoetylo]-fenylo}-acetoamino}-cefalosporanowy z chronioną grupą aminową. Kwas ten oczyszcza się przez usunięcie acetonu, przemycie pozostałości wodą, ochłodzenie i ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi po uprzednim zakwaszeniu roztworu do wartości pH 2,5 za pomocą 1n kwasu solnego w obecności octanu etylu. Nie obserwuje się strącania kwasu 7-aminocefalosporanowego. Następnie oddziela się warstwę wodną, warstwę organiczną suszy się za pomocą siarczanu magnezu i odparowuje octan etylu. Otrzymuje się 2,5 g bezpostaciowej cefalosporyny z chronioną grupą aminową, co odpowiada 93% wydajności teoretycznej. Otrzymany produkt rozciera się na proszek z eterem dwuizopropylowym i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się 2,0 g kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rz.-butoksykarbonylo)-d- α -aminoetylo]-fenylo}-acetoamido}-cefalosporanowego.

Analiza elementarna produktu wykazuje zawartość 55,94% C, 6,41% H i 6,91% N, podczas gdy wartości te obliczone dla związku o wzorze sumarycznym $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_8$ wynoszą 56,28% C, 5,86% H i 7,88% N.

Wartość pK_a otrzymanego związku wynosi 4,95. Absorpcja w ultrafiolecie w alkoholu etylowym wynosi $A_{m280} = 8050$.

1 g kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rz.-butoksykarbonylo)-d- α -aminoetylo]-fenylo}-acetoamido}-cefalosporanowego otrzymanego w sposób opisany powyżej rozpuszcza się w 10 ml zimnego kwasu trójfluorooctowego i pozostawia bez ogrzewania na okres 2 godzin, w celu odszczepienia trzeciorzędowej butoksykarbonylowej grupy chroniącej grupę aminową i utworzenia soli kwasu trójfluorooctowego i kwasu 7-{2'-[4''-(d- α -aminoetylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Sól tę wytrąca się z roztworu po dodaniu 3 porcji po 30 ml bezwodnego eteru etylowego. Sól tę odwirowuje się, przemycia bezwodnym eterem i suszy w eksykatorze próżniowym. Otrzymuje się 800 mg soli kwasu trójfluorooctowego kwasu 7-[d-4- α -aminoetylofenacetoamido]-cefalosporanowego, co odpowiada 78% wydajności teoretycznej. Wartości pK_a produktu wynoszą 4,7 i 9,2, a widmo w ultrafiolecie dla roztworu tego związku w etanolu wykazuje absorpcję $A_{m280} = 7730$.

Roztwór 500 mg (0,9 milimola) soli kwasu trójfluorooctowego i kwasu 7-{2'-[4''-(d- α -aminoetylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego w 4 ml wody wkrapla się w ciągu 1 godziny w tempera-

turze pokojowej do 20 ml 25% roztworu ciekłej anionowej żywicy jonowymiennej „Amberlite LA-1” w postaci octanu w ketonie metyloizobutylovym. Następnie oddziela się warstwę wodną, przemywa ją ketonem metyloizobutylovym, a na koniec eterem etylowym. Podczas zateżania roztworu pod zmniejszonym ciśnieniem strąca się sól wewnętrzna kwasu 7-{2'-[4''-(d- α -aminoetylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego, lecz nie krystalizuje. Otrzymuje się 265 mg produktu, co odpowiada 68% wydajności teoretycznej. Wartości pKa wynoszą dla produktu 4,8 i 9,35. Skręcalność właściwa związku wynosi +103,6°.

Przykład II. Postępując w sposób analogiczny do opisanego w przykładzie I, kwas 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonylo-1- α -aminoetylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowy wytwarza się przez reakcję chlorku kwasu 2-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonylo-1- α -aminoetylo)-fenylo]-octowego z kwasem 7-aminocefalosporanowym. Po roztarciu produktu z eterem dwuizopropylowym otrzymuje się 1,8 g kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonylo-1- α -aminoetylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego.

Produkt ten nie topnieje lecz rozkłada się w temperaturze około 110°C. Absorpcja w ultrafiolecie dla roztworów w alkoholu etylowym przy A_{m262} wynosi 7400 w roztworze wodnym 8200. Otrzymany związek posiada wartość pKa równą 4,9. Widmo w podczerwieni odpowiada strukturze tego związku.

Analiza elementarna otrzymanego związku wykazuje: 55,69% C, 6,39% H i 7,64% N, podczas gdy wzorowi sumarycznemu $C_{25}H_{31}N_3O_9S$ odpowiada: 56,27% C, 5,86% H i 7,88% N.

1 g otrzymanego kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonylo-1- α -aminoetylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego rozpuszcza się w 10 ml zimnego kwasu trójfluorooctowego i pozostawia nie ogrzewając w ciągu 2 godzin w celu oderwania grupy chroniącej grupę aminową i otrzymania soli kwasu trójfluorooctowego kwasu 7-{2'-[4''-(1- α -aminoetylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Sól tę strąca się z roztworu przez dodanie do niego 3 porcji po 30 ml bezwodnego eteru etylowego. Strąconą sól odwirowuje się, przemywa i suszy w eksykatorze próżniowym. Otrzymuje się 820 mg produktu o wartościach pKa wynoszących 4,7 i 9,2. Absorpcja w ultrafiolecie przy A_{m260} wynosi 6700.

Roztwór 500 mg soli kwasu trójfluorooctowego 7-{2'-[4''-(1- α -aminoetylo)-acetoamido}-cefalosporanowego w 10 ml wody wkrapla się mieszając w czasie 1 godziny, w temperaturze pokojowej, do 20 ml ciekłej 25% anionowymiennej żywicy „Amberlite LA-1” w postaci octanu w środowisku ketonu metyloizobutylovego. Oddziela się fazę wodną, przemywa ją ketonem metyloizobutylovym i wodą i odparowuje do małej objętości, otrzymując 275 mg (wydajność 70%) krystalicznego związku amfoterycznego, to jest soli wewnętrznej kwasu 7-{2'-[4''-(1- α -aminoetylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Otrzymany związek wykazuje absorpcję w ultrafiolecie przy A_{m260} wynoszącą 7720 i posiada dwie wartości pKa — 4,7 oraz 9,3. Widmo w podczerwieni odpowiada strukturze

związku. Skręcalność optyczna związku wynosi 197,8°.

Przykład III. 2,75 g (10,4 milimoli) kwasu 2-[4'' (III-rzęd. butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-octowego rozpuszcza się w mieszaninie 30 ml dwuoksanu i 15 ml acetonu i do roztworu dodaje 1,05 g (10,4 milimoli) trójetyloaminy w 5 ml acetonu. Otrzymaną mieszaninę chłodzi się na łaźni lodowo-alkoholowej i mieszając wkrapla w ciągu 20 minut roztwór 1,41 g chloromrówczanu izobutyli w 5 ml dwuoksanu. Mieszaninę miesza się jeszcze w ciągu 10 minut w temperaturze -5°C w celu zakończenia reakcji i otrzymania ~~zadanej~~ bezwodnika kwasowego. Do oziębionej mieszaniny dodaje się w jednej porcji świeżo przygotowany roztwór 2,83 g (10,4 milimoli) kwasu 7-aminocefalosporanowego i 1,05 g trójetyloaminy w 20 ml zimnej wody. Mieszaninę pozostawia się przez noc w temperaturze 0°C, po czym zateża się ją pod zmniejszonym ciśnieniem w celu odpędzenia dwuoksanu i acetonu, a następnie rozcieńcza 30 ml wody i przemywa 150 ml octanu etylu. Do mieszaniny dodaje się następnie 200 ml octanu etylu i mieszając traktuje 1 n kwasem solnym aż do otrzymania wartości pH 2,8. Po oddzieleniu warstwy z octanem etylu, zawierającą aminozwiązek z chronioną grupą aminową, przemywa się 2 porcjami wody po 100 ml i następnie dodaje 100 ml wody i tyle 1 n roztworu wodorotlenku potasowego, aby uzyskać wartość pH 6,5 i spowodować powstanie soli potasowej kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Wodny roztwór tej soli przemywa się 100 ml octanu etylu, rozdziela warstwy, odrzuca warstwę organiczną, a warstwę wodną suszy się pod zmniejszonym ciśnieniem aż do otrzymania półkrystalicznej pozostałości.

Otrzymaną sól oczyszcza się przez krystalizację, rozpuszczając ją w 15 ml ciepłego alkoholu metyloвого, sącząc roztwór i strącając krystaliczny osad soli przez dodanie do roztworu około 15 ml alkoholu izopropylowego. Kryształy wraz z ługiem macierzystym ochładza się do temperatury 0°C, odsącza i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się 1,0 g soli potasowej kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd. butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Absorpcja produktu w ultrafiolecie przy A_{m260} wynosi 8140, a wartość pKa wynosi 4,8.

Roztwór 0,75 g otrzymanej soli w 15 ml wody traktuje się 15 ml wody traktuje się 15 ml 96% kwasu mrówkowego i ogrzewa roztwór w temperaturze 40°C w ciągu około 3,5 godziny, po czym zateża się pod zmniejszonym ciśnieniem aż do otrzymania krystalizującej żywcowatej pozostałości. Otrzymany 7-{2'-[4''-(aminometylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporian nieznacznie rozpuszcza się w gorącej i zimnej wodzie, nie rozpuszcza się w octanie etylu i kwasie octowym, lecz rozpuszcza w kwasie mrówkowym. Sporządza się zawiesinę soli w 10 ml wody i ustala się jej wartość pH na 1 za pomocą 1 n kwasu solnego. Przy tej wartości pH rozpuszcza się większość części stałych. Roztwór sączy się, po czym ponownie ustala wartość pH na 4,2 za pomocą 1 n roztworu wodorotlenku sodowego. Wytrącony kłaczkowaty osad

odsacza się otrzymując około 20 ml roztworu soli wewnętrznej kwasu 7-{2'-[4''-(aminometylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego. Roztwór odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując krystaliczny produkt. Otrzymana sól wewnętrzna kwasu 7-{2'-[4''-(aminometylo)fenylo]-acetoamido}-cefalosporanowego w mieszaninie z 2/3 częściami dwumetyloformamidu posiada wartości pKa wynoszące 4,7 i 9,4. Absorpcja w ultrafiolecie przy A_{m260} wynosi 6930.

Przykład IV. Sporządza się mieszaninę 5 g (0,00186 mola) kwasu 2-[4'-(III-rzęd.-butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-octowego, 1,9 g trójetylaminu i 2,52 g chloromrówczanu izobutyłu rozpuszczonego w 100 ml czterowodorofuranu, otrzymując mieszaną bezwodnik kwasu amino 2-[4'-(III-rzęd.-butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-octowego i kwasu izomaskowego. Następnie sporządza się roztwór 4,0 g kwasu 7-aminodezacetoksycefalosporanowego w 60 ml czterowodorofuranu i 60 ml wody i za pomocą trójetylaminy doprowadza wartość pH tego roztworu do 8. Roztwór ten dodaje się następnie mieszając do uprzednio przygotowanej ochłodzonej mieszaniny zawierającej mieszaną bezwodnik. Mieszaninę pozostawia się do całkowitego przereagowania. Otrzymany jako produkt pośredni kwas 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd.-butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-acetoamido}-dezacetoksycefalosporanowy wyodrębnia się z mieszaniny sposobem opisanym w przykładzie I. Otrzymuje się 2,06 g tego produktu, posiadającego absorpcję w ultrafiolecie wynoszącą przy A_{m260} — 4770. Wartości pKa wynoszą 5,55 i 7,1. Związek strąca się ponownie z mieszaniny eterów dwuetylowego i nadtowego i otrzymuje 1,6 g oczyszczonego produktu, posiadającego absorpcję w ultrafiolecie wynoszącą przy A_{m220} = 12,800, przy A_{m260} — 5700, a wartości pKa wynoszą 5,5 i 7,2.

1,6 g kwasu 7-{2'-[4''-(N-III-rzęd.-butoksykarbonyloaminometylo)-fenylo]-acetoamido}-dezacetoksycefalosporanowego poddaje się reakcji z 6 ml kwasu trójfluorooctowego w sposób opisany w przykładzie II, w celu odszczepienia grupy ochronnej z grupy aminowej i utworzenia soli kwasu trójfluorooctowego kwasu 7-{2'-[4''-(aminometylo)-fenylo]-acetoamido}-dezacetoksycefalosporanowego, która strąca się z roztworu po dodaniu eteru etylowego. Otrzymuje się 1,2 g tej soli. Absorpcja w ultrafiolecie przy A_{m260} = 6500. Wartości pKa wynoszą dla tego związku 5,55 i 9,1.

1 g otrzymanej soli dodaje się do mieszaniny 2 ml wody i 2 ml ketonu metyloizobutylowego, w której sól nie rozpuszcza się. Do otrzymanej zawiesiny dodaje się 3 ml wody i poddaje mieszaninę reakcji z anionowymienią żywicą „LA-1” produkcji firmy Rohm & Haas, znajdującej się w postaci octanowej. Mieszaninę miesza się w ciągu 1 godziny aż do zakończenia reakcji, odsacza fazę stałą, przemycza ją wodą, ketonem metyloizobutylowym i nitylem octowym, po czym suszy. Otrzymuje się 390 mg wewnętrznej soli kwasu 7-{2'-[4''-(aminometylo)fenylo]-acetoamido}-3-metylo-3-cefemo-4-karboksylowego. Widmo w podczerwieni odpowiada strukturze związku. Absorpcja w ultrafiolecie wynosi przy A_{m216} = 13 070 i przy A_{m260} =

= 7130. Próba Moora-Steina wykazuje jedno maksimum. Wartości pKa dla tego związku wynoszą 5,35 i 9,2.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych antybiotyków typu cefalosporyny o ogólnym wzorze 1, w którym R oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1 lub 2 atomach węgla, a R¹ oznacza atom wodoru lub grupę acetoksyłową, jak również ich wewnętrznych soli lub mieszanin stereoizomerów, **znamienny tym**, że kwas 7-aminocefalosporanowy lub kwas 7-aminodezacetoksycefalosporanowy lub ich rozpuszczalne w wodzie sole acyluje się za pomocą środka acylującego zawierającego co najmniej jedną grupę o ogólnym wzorze 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie i w którym grupa aminowa jest chroniona w znany sposób, po czym usuwa się w znany sposób grupę ochronną i otrzymamy związek o wzorze 1 ewentualnie przeprowadza znanymi sposobami w sól z farmakologicznie dopuszczalnym kwasem lub zasadą.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że proces acylowania prowadzi się w środowisku wodnym lub w rozpuszczalniku organicznym w temperaturze powyżej temperatury krzepnięcia mieszaniny reakcyjnej, do temperatury pokojowej.

3. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**, że proces acylowania prowadzi się w środowisku obojętnym.

4. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**, że proces acylowania prowadzi się w temperaturze 0°C—5°C.

5. Sposób według zastrz. 1—4, **znamienny tym**, że jako środek acylujący stosuje się chlorek lub bromek kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowego z chronioną grupą aminową.

6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w wodnym roztworze acetonu.

7. Sposób według zastrz. 1—4, **znamienny tym**, że jako środek acylujący stosuje się mieszaną bezwodnik kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowego z chronioną grupą aminową i niższego kwasu karboksylowego.

8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w wodnym roztworze czterowodorofuranu.

9. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w mieszaninie acetonu i dioksanu.

10. Sposób według zastrz. 1—9, **znamienny tym**, że z kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)-fenylo]-octowego z chronioną grupą aminową odszczepia się grupę ochronną przez reakcję uwodornienia, prowadzoną w łagodnych warunkach w obecności katalizatora palladowego.

11. Sposób według zastrz. 1—9, **znamienny tym**, że z kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)-fenylo]-octowego z chronioną grupą aminową, odszczepia się grupę ochronną na drodze hydrolizy za pomocą słabych kwasów.

12. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że hydrolizę prowadzi się za pomocą kwasu mrów-

kowego w temperaturze pokojowej w czasie 1—5 godzin.

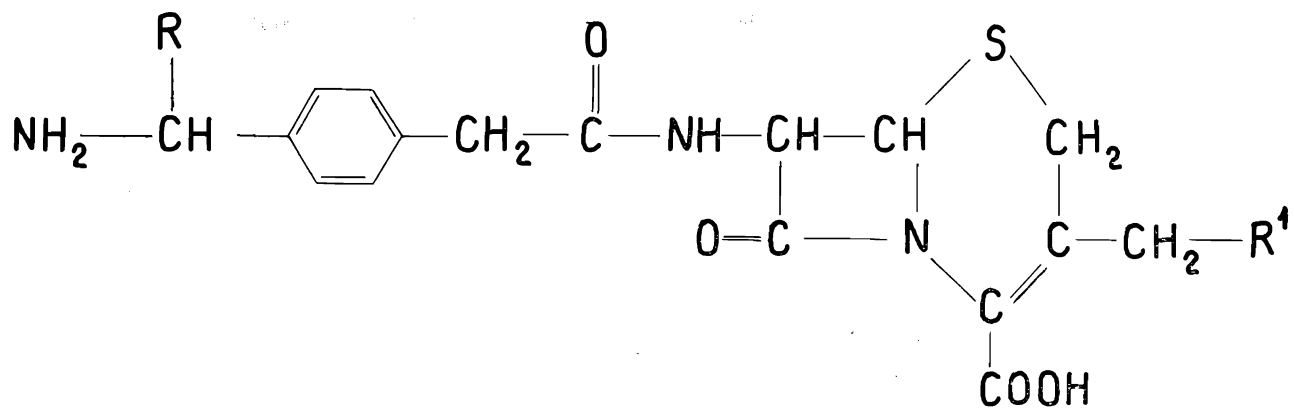
13. Sposób według zastrz. 1—9, **znamienny tym**, że z kwasu 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowego z chronioną grupą aminową odszczepia się grupę ochronną w reakcji z kwasem trójfluorooctowym, przy czym powstaje sól kwasu trójfluorooctowego z kwasem 7-{2'-(4''-(aminoalkilo)fenylo)-acetoamido}-cefalosporanowym lub z kwasem 7-{2'-(4''-(aminoalkilo)fenylo)-acetoamido}-dezacetoksycefalosporanowym.

14. Sposób według zastrz. 13, **znamienny tym**, że sól kwasu trójfluorooctowego i kwasu 7-{2'-(4''-(aminoalkilo)fenylo)-acetamido}-cefalosporanowego lub sól kwasu trójfluorooctowego i kwasu 7-{2'-(4''-(aminoalkilo)fenylo)-acetamido}-dezacetoksycefalosporanowego poddaje się reakcji z ży-

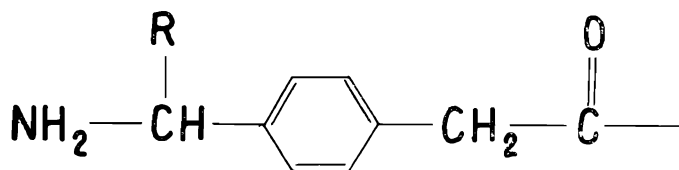
wicą anionowymienną w postaci zasady lub octanu, w celu otrzymania amfoterycznych kwasów cefalosporanowych lub dezacetoksycefalosporanowych.

15. Sposób według zastrz. 1—14, **znamienny tym**, że do acylowania stosuje się kwasy 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowe w postaci rozdzielonych, optycznie czynnych kwasów diastereoizomerycznych.

16. Sposób według zastrz. 15, **znamienny tym**, że mieszaninę racemiczną optycznie czynnych wolnych kwasów 2-[4'-(α -aminoalkilo)fenylo]-octowych rozdziela się przez poddawanie jej reakcji z cynchoniną, strychniną lub brucyną i następnie frakcjonowaną krystalizację soli diastereoizomerycznych i oddzielne zakwaszanie rozdzielonych soli, w celu otrzymania wolnych kwasów w postaci izomerów lewo- i prawoskrętnych.



Wzór 1



Wzór 2