



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

MKP C07d 99/20

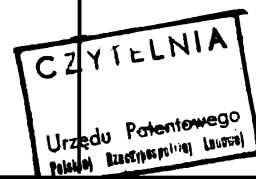
Zgłoszono: 10.04.1970 (P. 139942)

Pierwszeństwo: 11.04.1969 Japonia

Int. Cl.²
C07D 499/48

Zgłoszenie ogłoszono: 15.05.1973

Opis patentowy opublikowano: 22.04.1976



Twórcy wynalazku: Jinnosuke Abe, Tetsuo Watanabe, Teruo Take, Kentaro Fujimoto, Tadashi Fujii, Kazumari Takemura, Kazuyoshi Nishiie

Uprawniony z patentu: Toyo Jozo Kabushiki Kaisha, Ohhito-machi, Skizuokaken (Japonia)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych penicyliny

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych penicyliny o wzorze 1, w którym R oznacza rodnik chroniący grupę karboksylową, a każdy z podstawników R_1 i R_2 oznacza atom wodoru lub chlorowca.

Acylowe pochodne kwasu 6-aminopenicylanowego, znane pod nazwą „penicylina syntetyczna”, wytwarzano dotychczas przez acylowanie związku wyjściowego z zastosowaniem halogenków kwasowych, bezwodników kwasowych, mieszanin bezwodników kwasowych, estrów aktywowanych, środków kondensujących itp.

Wytwarzanie związku wyjściowego, a ściślej kwasu 6-aminopenicylanowego, wymagało kłopotliwego wyosabniania tego kwasu z roztworu fermentacyjnego, w którym benzylopenicylinę i fenoksymetylopenicylinę poddawano procesowi odacylowania drogą działania enzymów wytworzonych przez specjalnie dobrane drobnoustroje, bądź w którym kwas 6-aminopenicylanowy wytwarzano drogą bezpośredniej fermentacji.

Wyosabnianie kwasu 6-aminopenicylanowego jest procesem trudnym ze względu na szczególnie nietrwały i atmosferyczny charakter tego kwasu, a także na jego rozpuszczalność w wodzie. Cechy te zwiększały oczywiście koszty produkcji penicyliny syntetycznej.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania wspomnianych pochodnych penicyliny przez zastosowanie jako związku wyjściowego benzylopeni-

2

cyliny, którą można wytwarzać ekonomiczną metodą fermentacji. Sposób ten różni się zasadniczo od dotychczas stosowanej metody tym, że nie opiera się na stosowanym zwykle acylowaniu kwasu 6-

5 -aminopenicylanowego.

Sposób według wynalazku polega na tym, że ester benzylopenicyliny o ogólnym wzorze 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z czynnikiem chlorującym w obecności trzeciorzędowej zasady organicznej, po czym otrzymany związek o wzorze 3 poddaje się reakcji z solą kwasu izoksazolokarboksylowego o wzorze 4, w którym M oznacza atom metalu, a R_1 i R_2 mają wyżej podane znaczenie.

10 Jako związek wyjściowy w procesie prowadzonym sposobem według wynalazku stosuje się wytworzoną drogą znanego procesu fermentacji benzylopenicylinę (zwaną dalej „PcG”) w postaci estru (zwanego dalej „estrem PcG”) o wzorze 2, w którym to estrze PcG do karboksylowego rodnika PcG wprowadzono rodnik ochronny. Celem stosowania tej ochrony jest skuteczne zapobieżenie wytwarzaniu się produktów ubocznych w następnym etapie procesu z udziałem czynnika chlorującego.

15 20 25 30 Jako rodnik ochronny stosuje się rodnik metylo-
wy, etylowy, III-rzęd. butylowy, p-metoksybenzylo-
wy, benzyloowy, p-nitrobenzyloowy, benzyldrylo-
cyjanometyloowy, fenyloacyloowy, p-bromofenyloacy-
loowy, trójmetylosililowy i inne tym podobne rod-
niki stosowane zwykle w syntezie peptydów.

Ze względu na to, że wprowadzony w odpowiedniej pozycji rodnik ochronny winien być usunięty w końcowym etapie procesu, należy dokonać wnikliwego doboru takiego rodnika, w celu uniknięcia ewentualnych niekorzystnych wpływów na strukturę wytworzonej penicyliny, a także zapewnienia łatwego odszczepienia rodnika od gotowego produktu. Z tego ostatniego punktu widzenia korzystnie stosuje się rodnik benzylowy, p-nitrobenzylowy lub benzyhydroxyloowy, które dają się łatwo oddzielać drogą redukcji katalitycznej. Korzystne jest także zastosowanie rodnika: fenyloacylowego, p-bromo-fenyloacylowego itp., które można łatwo usunąć za pomocą tiofenolanu sodowego. Nie zaleca się natomiast stosowania jako rodnika karboksyloochronnego rodnika metylowego, etylowego, III-rzęd. butylowego, p-metoksybenzylowego itp., które dają się łatwo usuwać drogą hydrolizy z zastosowaniem mocnego kwasu lub zasady, ponieważ wprowadzenie takiego rodnika może spowodować zniszczenie struktury penicyliny podczas etapu usuwania go z tego produktu, wysoce nietrwałego wobec działania kwasów i zasad.

Zakres wynalazku obejmuje również przypadek, gdy pochodne penicyliny o wzorze 1 mają postać estrów (zwanymi dalej „estrami DA-Pc (1)”, o ile obecność rodnika ochronnego nie wywiera farmakologicznie szkodliwego wpływu na produkt końcowy. Zamiast któregoś z wyliczonych wyżej rodników można więc stosować inny rodnik organiczny, o ile nie wpłynie on niekorzystnie na przebieg reakcji z czynnikiem chlorującym i nie wywoła żadnego niepożądanego działania farmakologicznego.

W wyniku reakcji estru PcG o wzorze 2 z czynnikiem chlorującym otrzymuje się związek o wzorze 3, zawierający chlorek imidu jako rodnik. Ogólnie biorąc, reakcja ta polega na tym, że N-jedno-podstawiony amid kwasu karboksylowego reaguje z czynnikiem chlorującym dając związek podstawiony chlorkiem amidu. Spośród wielu czynników chlorujących, takich jak PCl_3 , PCl_5 , $POCl_3$, $COCl_2$, $SOCl_2$ itp., najkorzystniej stosuje się PCl_3 w obecności III-rzędowej zasady organicznej (por. opis patentowy Republiki Południowej Afryki nr 6712827).

Prowadząc powyższą reakcję można korzystnie zastosować odpowiedni bezwodny rozpuszczalnik organiczny, taki jak benzen, toluen, chloroform, dwuchlorometan, dwuchloroetan, eter etylowy, eter izopropylowy itp. Przy doborze rozpuszczalnika należy zwrócić uwagę, aby nie miał on szkodliwego wpływu na przebieg reakcji, rozpuszczał ester PcG o wzorze 2 i nie mieszał się z wodą, co jest ważne ze względu na konieczność wypłukiwania produktów ubocznych po zakończeniu reakcji.

W przypadku zastosowania PCl_3 jako czynnika chlorującego wytwarzają się $POCl_3$ i HCl. Jeżeli HCl odkłada się w postaci soli kwasu solnego z zastosowaną w procesie III-rzędową zasadą organiczną, można go łatwo odfiltrować z roztworu reakcyjnego, podczas gdy $POCl_3$ usuwa się z tego roztworu przez wypłukanie wodnym roztworem słabej zasady, takiej jak wodorowęglan sodowy lub potasowy, co umożliwia odporność wytworzonego produktu o wzorze 3 na działanie wody. Płukania

tego dokonuje się korzystnie jak najszybciej, a po jego zakończeniu suszy się roztwór macierzysty przez dodanie środka takiego jak bezwodny siarczan sodowy, bezwodny siarczan magnezowy itp.

Związki zawierające chlorek imidu jako podstawnik są zasadniczo nietrwałe pod wpływem działania wody, natomiast związek o wzorze 3 wytworzony powyższym sposobem jest zasadniczo odporny na to działanie. Jest zatem faktem wysoce korzystnym, że podczas etapu płukania roztwór macierzysty zawiera trwały związek o wzorze 3.

Nieprzereagowaną III-rzędową zasadą organiczną usuwa się łatwo z roztworu macierzystego za pomocą rozcieńczonego kwasu w postaci soli addycyjnej tego kwasu. Ze względu jednak na nietrwałość związku o wzorze 3 w obecności kwasu, nie zaleca się usuwania zasady z roztworu.

Jako III-rzędową zasadą organiczną stosuje się najkorzystniej słabą zasadę, taką jak pirydyna, chinolina, dwumetyloamolina itp. Praktyczną takim doboru zasady jest fakt, że w kolejnym etapie reakcji, w którym reagują ze sobą związek o wzorze 3 i sól kwasu izoksazolokarboksylowego o wzorze 4 dając ester DA-Pc (1), obecność nieprzereagowanej III-rzędowej zasady organicznej o wysokim stopniu zasadowości, takiej jak etyloamina, wywołały epimeryzację, a ściślej stereochemiczne przemieszczenie atomu wodoru w pozycji 6 pierścienia penicylinowego. Natomiast obecność słabej zasady, takiej jak pirydyna nie wywołuje w zasadzie takiego przemieszczenia.

Zawarty w roztworze macierzystym związek o wzorze 3 wprowadza się w reakcję z solą kwasu izoksazolokarboksylowego bezpośrednio lub roztwór ten kondensuje się, a do reakcji stosuje inny odpowiedni rozpuszczalnik. Ze względu na końcowe płukanie roztworem wodnym, zaleca się stosować odpowiedni rozpuszczalnik nie mieszący się z wodą.

Jako sól metalu kwasu karboksylowego stosuje się na przykład sodową, potasową, litową lub srebrną sól kwasu 3-fenyl-5-metyloizoksazolokarboksylowego-4 lub 3-chlorowco podstawionego kwasu fenyl-5-metyloizoksazolokarboksylowego-4, takiego jak kwas 3-(2'-chlorofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4, kwas 3-(2'-bromofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4, kwas 3-(2'-fluorofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4, kwas 3-(2'-6-dwuchlorofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4, kwas 3-(2'-chloro-6'-fluorofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4, kwas 3-(2'-bromo-6'-chlorofenyl)-5-metyloizoksazolokarboksylowy-4 itp. Sól tę wprowadza się bezpośrednio do roztworu reakcyjnego zawierającego związek o wzorze 3, bądź stosuje się zawiesinę tej soli w rozpuszczalniku występującym w roztworze.

Kwas karboksylowy stosuje się w postaci jego soli metalu dlatego, że na przykład w przypadku zastosowania mocnej III-rzędowej zasady organicznej, takiej jak trójetyloamina, nastąpiłaby epimeryzacja tej zasady w strukturze wytworzonego estru DA-Pc (1). Zastosowanie soli metalu eliminuje lub maksymalnie ogranicza ryzyko epimeryzacji.

Zasadniczo stosuje się teoretycznie wyliczoną ilość soli kwasu karboksylowego o wzorze 4. Ze względu

du jednak na to, że usunięcie nadmiaru tej soli jest łatwiejsze od usunięcia nadmiaru związku o wzorze 3, korzystnie stosuje się niewielki nadmiar soli kwasu karboksylowego.

Reakcję można prowadzić nawet w temperaturze pokojowej, przy czym w celu przyspieszenia reakcji stosuje się temperaturę podwyższoną do 40—50°C. Nagłe ogrzewanie lub zastosowanie temperatury wyższej od 50°C spowodowałoby rozpuszczenie związku o wzorze 3 lub wytworzonego estru DA-Pc (1).

W celu wyosobnienia estru DA-Pc (1) z roztworu po zakończeniu reakcji płucze się ten roztwór kolejno rozcieńczonym kwasem, rozcieńczonym roztworem alkalicznym i wodą, usuwając w ten sposób pozostałą III-rzędową zasadę organiczną i nieprzereagowaną sól kwasu karboksylowego o wzorze 4, po czym kondensuje się roztwór i poddaje chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, tlenku glinowym itp., z zastosowaniem odpowiedniego rozpuszczalnika, takiego jak mieszanina benzenu z octanem etylu. Otrzymane eluaty estru DA-Pc (1) kondensuje się pod ciśnieniem zredukowanym, a następnie wyosobnia ester i krystalizuje w konwencjonalny sposób, po czym korzystne jest zastosowanie rozpuszczalnika krystalizacyjnego lub czynnika liofilizującego, co ułatwia wyosobnienie estru DA-Pc (1).

Związki określane terminem ester DA-Pc (1) są związkami nowymi. Przez poddanie tych związków ofenylaoetylowaniu i odestryfikowaniu, otrzymuje się izoksazolilopenicylinę o wzorze 5, w którym R_1 i R_2 mają wyżej podane znaczenie. Związek ten ma ważne zastosowanie bakteriobójcze.

Jak wynika z powyższego opisu, sposób chemicznego wytwarzania izoksazolilopenicyliny według wynalazku nie przewiduje zastosowania PcG, wytworzonej konwencjonalną metodą fermentacji. Ester DA-Pc (1) jest więc niezwykle cennym związkiem pośrednim, mającym zastosowanie przy wytwarzaniu izoksazolilopenicyliny, a poza tym można z niego wytworzyć nową penicylinę poddając go odestryfikowaniu.

Poniższe przykłady objaśniają sposób według wynalazku nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. Wytwarzanie p-bromofenyloacylowego estru PcG. 350 ml dwumetyloformamidu dodaje się do 391 g (1,05 mola) soli potasowej PcG i 278 g (1 mol) bromku p-bromofenyloacylowego i miesza się mieszaniną reakcyjną w temperaturze 15°C. Przebieg reakcji obserwuje się metodą jodową na chromatograficznej warstwie żelu krzemionkowego. O zakończeniu reakcji świadczy zużycie bromku p-bromofenyloacylowego, które następuje po upływie 5 godzin od momentu rozpoczęcia reakcji. Roztwór reakcyjny miesza się z 1,1 litra chloroformu, po czym kilkakrotnie płucze się mieszaniną kolejno wodą, 10% wodnym roztworem wodorowęglanu sodowego i wodą, w celu usunięcia rozpuszczalnika i nieprzereagowanej PcG. Następnie suszy się fazę chloroformową z zastosowaniem bezwodnego siarczanu sodowego, po czym sęży się roztwór chloroformowy do połowy jego objętości pod obniżonym ciśnieniem i dodaje doń około 800 ml ligroiny, w celu wytrącenia wytworzonego

p-bromofenyloacylowego estru PcG. Po odsączeniu i wysuszeniu produktu otrzymuje się 504 g estru, przy czym wydajność w stosunku do ilości potasowej soli PcG wynosi 90,4%.

Cienkowieńcowy chromatogram produktu na żelu krzemionkowym (mieszanina benzenu z octanem etylu w stosunku 10:1 jako rozpuszczalnik) wykazuje pojedynczą plamę.

Analiza elementarna $C_{21}H_{23}O_5N_2SBr$:

	C %	H %	N %	Br %
Stwierdzono:	53,93	4,31	5,38	15,43
Obliczono:	54,25	4,36	5,28	15,04

Przykład II. Wytwarzanie p-nitrobenzylowego estru PcG. 400 ml dwumetyloformamidu dodaje się do 373 g (1 mol) soli potasowej PcG i 185 g (0,9 mola) bromku p-nitrobenzylowego i miesza się tę mieszaninę w temperaturze 40°C. Przebieg reakcji obserwuje się metodą jodową na chromatograficznej warstwie żelu krzemionkowego, a o zakończeniu reakcji świadczy całkowite zużycie bromku. Po ochłodzeniu wprowadza się mieszaninę reakcyjną do 1,2 litra benzenu i kilkakrotnie płucze kolejno wodą, 10% wodnym roztworem wodorowęglanu sodowego i wodą w celu usunięcia rozpuszczalnika i nieprzereagowanej PcG. Po wysuszeniu fazy benzenowej za pomocą bezwodnego siarczanu sodowego i poddaniu go liofilizacji, otrzymuje się 340 g liofilizowanego p-nitrobenzylowego estru PcG, przy czym wydajność w stosunku do ilości soli potasowej PcG wynosi 74,5%.

Cienkowieńcowy chromatogram na żelu krzemionkowym (rozpuszczalnik — jak w przykładzie I) wykazuje pojedynczą plamę.

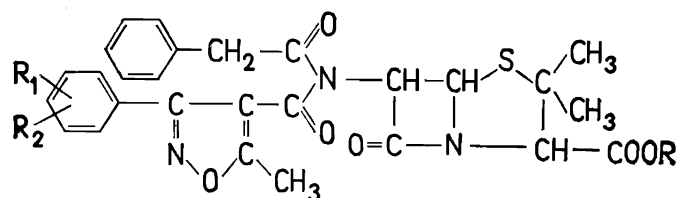
Analiza elementarna produktu:

	C %	H %	N %
Stwierdzono:	58,70	4,96	8,88
Obliczono:	58,85	4,94	8,95

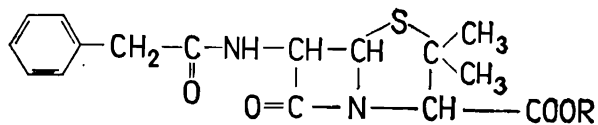
Przykład III. Wytwarzanie p-bromofenyloacylowego estru N-(3-fenyl-5-metylo-4-izoksalilo)-benzylopenicyliny. 50,3 g (0,1 mola) p-bromofenyloacylowego estru PcG wytworzonego w przykładzie I rozpuszcza się w 200 ml bezwodnego benzenu, po czym mieszając roztwór w temperaturze -7°C dodaje się doń 32,4 ml (0,4 mola) bezwodnej pirydyny i w ciągu około 30 minut wkrapla roztwór 21,8 g (0,165 mola) PCl_5 w 350 ml bezwodnego benzenu. Po zakończeniu wkraplania kontynuuje się reakcję w ciągu 1,5 godziny w temperaturze -5°C do -7°C. Po odsączeniu pirydynowej soli kwasu solnego, jak najkrócej płucze się roztwór macierzysty czterokrotnie i 1n roztworem wodorowęglanu sodowego i dwukrotnie wodą w celu usunięcia nieprzereagowanego PCl_5 i wytworzonego $POCl_3$.

Chłodzony lodem wypłukany roztwór benzenowy suszy się za pomocą bezwodnego kwasu 3-fenyl-5-metyloizoksazolokarboksylowego-4, stopniowo podnosi się temperaturę mieszaniny tak, aby reakcja przebiegała w ciągu 4 godzin w temperaturze 30—35°C i w ciągu 1 godziny w temperaturze 45°C.

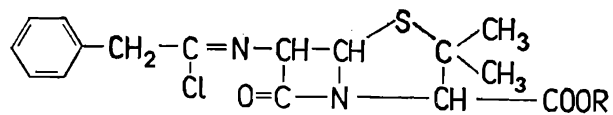
Po zakończeniu reakcji płucze się mieszaninę dokładnie kolejno 0,5n kwasem solnym, 1n wodnym roztworem wodorowęglanu sodowego, nasyconym wodnym roztworem soli kuchennej i wodą, w celu usunięcia nieprzereagowanej pirydyny i kwasu



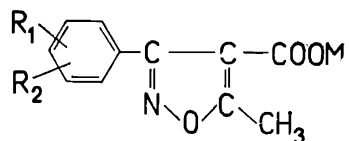
Wzór 1



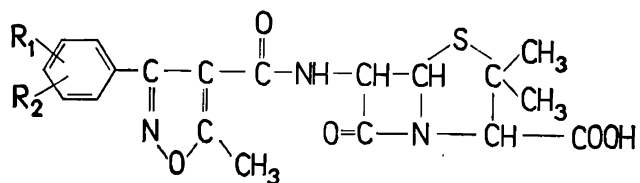
Wzór 2



Wzór 3



Wzór 4



Wzór 5