

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

69090

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 12p,4/01

Zgłoszono: 30.XII.1968 (P 130 919)

Pierwszeństwo: 02.I.1968 dla zastrz.

1 — 6

16.IX.1968 dla zastrz. 7

Szwajcaria

MKP C07d 99/24

Opublikowano: 31.XII.1973

Właściciel patentu: Ciba-Geigy S.A., Bazylea (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego

¹
Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych, terapeutycznie aktywnych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego, o wzorze 1, w którym R_1 oznacza ewentualnie uwodornioną grupę imidazolową lub imidazolilową, związaną atomem azotu z grupą acetyloaminową, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową zestryfikowaną kwasem karboksylowym różnym od kwasu octowego, w której atomy estrowe tlenu mogą być zastąpione atomami siarki lub grupę karbamoiloksyloową ewentualnie podstawioną przy atomie azotu, w której atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki albo czwartorzędową grupę aminową, jak i ich ewentualnie wewnątrzcząsteczkowych soli.

Podane wyżej określenie „uwodornione pochodne” imidazolu dotyczy imidazoliny lub imidazolidyny. Reszty imidazolowe mogą zawierać jeden lub kilka ewentualnie jednakowych podstawników zwłaszcza takich, jak małowcząsteczkowe rodniki alkilowe, alkoksylowe lub grupy wodorotlenowe jak i małowcząsteczkowe grupy alkilomerkaptanowe albo atomy chlorowca.

Zestryfikowana grupa hydroksylowa R_2 , w której atomy tlenu mogą być zastępowane atomami siarki, wywodzi się z kwasu karboksylowego różnego od kwasu octowego i stanowi zwłaszcza grupę mono- albo dwucykliczną arylokarbonylohydroksylową, lub tiokarbonylohydroksylową, arylokarbonylomerkaptanową albo tiokarbonylomerkaptanową, a zwłaszcza benzylomerkaptanową.

²
Jako dalsze przykłady R_2 należy wymienić: (grupę oksykarbamylową o wzorze: $—O—CO—NH—R_3$, w którym R_3 oznacza rodnik alifatyczny, aromatyczny, aryloalifatyczny albo heterocykliczny, zwłaszcza ewentualnie podstawiony a korzystnie rodnik niskoalkilowy o prostym lub rozgałęzionym łańcuchu podstawiony jedną lub kilkoma grupami niskoalkoksylowymi lub atomami chlorowca, taki jak rodnik metylowy, etylowy, a zwłaszcza β -chloroetylowy,

grupę merkaptokarbamylotiolową o wzorze 2: w którym R_3 ma wyżej podane znaczenie, zaś R_4 oznacza atom wodoru, albo R_3 , albo czwartorzędową grupę aminową, w której czwartorzędowy atom azotu stanowi np. część pierścienia aromatycznego, np. chinolinowego, izochinolinowego, albo pirymidynowego, a zwłaszcza ewentualnie podstawionego pierścienia pirydynowego. np. o wzorze 3, w którym R_5 oznacza atom wodoru, albo jeden lub kilka małowcząsteczkowych rodników alkoksylowych, karbamylowych, albo karboksylowych lub jeden albo kilka atomów chlorowca.

Jako sól nowych związków wymienia się sole z metalami, zwłaszcza terapeutycznie użyteczne sole metali alkalicznych lub ziem alkalicznych, jak sód, potas, amon, wapń, albo sole zasad organicznych, jak np. trójetyloaminy, N-etylo-piperidyny, dwubenzylotetylenodwuaminy, prokainy. Jeżeli symbol R_1 albo R_2 oznacza grupę zasadową, wówczas

mogą również powstawać sole wewnątrzcząsteczkowe.

Nowe związki wykazują szczególnie dobre oddziaływanie przeciwbakteryjne i jak wykazano w badaniach na zwierzętach, np. myszach, związki te działają skutecznie zarówno przeciwko bakteriom gramo-dodatnim, jak i zwłaszcza gramujemnym, np. przeciwko odpornemu na penicylinę *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhosa* i *Bacterium proteus* i dlatego też związki te można stosować do zwalczania infekcji wywołanych wymienionymi mikroorganizmami, jak i stosować jako dodatki do pasz lub w celu konserwowania produktów żywnościowych, albo jako środków dezynfekcyjnych. Szczególnie cenne są związki, o wzorze 1, w którym R_1 oznacza pierścień imidazolu ewentualnie podstawiony grupę metylową w pozycji 2 lub 3, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową zestryfikowaną kwasem karboksylowym różnym od kwasu octowego lub oznacza rodnik β -chloroetylokarbamylowy albo rodnik pirydyniowy ewentualnie podstawiony w wyżej podany sposób.

Sposób według wynalazku polega na tym, że reakcji poddaje się ewentualnie uwodorniony imidazol, ze związkiem o wzorze 4, w którym Z oznacza resztę chlorowcoacylową, a R_2 ma wyżej podane znaczenie, albo związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru, a R_2 ma wyżej podane znaczenie, lub oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem octowym acyluje się reaktywną pochodną grupy o wzorze R_1-CH_2O- w którym R_1 oznacza ewentualnie uwodorniony rodnik imidazolu i w otrzymanym związku o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem octowym, ewentualnie estryfikuje się grupę wodorotlenową kwasem karboksylowym różnym od kwasu octowego, w którym atomy tlenu można zastępować atomami siarki, lub wymienia się grupę acetylową na inną grupę acylową kwasu karboksylowego lub N-podstawioną grupę karbamoilową, w których to grupach atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki lub na czwartorzędową grupę aminową i ewentualnie przeprowadza otrzymane związki w ich sole z metalami, takie jak sole z metalami alkalicznymi, metalami ziem alkalicznych lub w sole z amoniakiem albo z organicznymi zasadami lub otrzymane sole przeprowadza w wolne kwasy karboksylowe i ewentualnie w ich wewnętrzne sole.

Reakcję ewentualnie uwodornionego imidazolu, ze związkiem o wzorze 4, w którym Z oznacza grupę chlorowcoacetylową, prowadzi się korzystnie w rozpuszczalniku obojętnym wobec reagentów, takim jak chlorek metylenu, chloroform, czterochlorek węgla, czterowodorofuran, dwuoksan, dwumetyloformamid, albo acetonitryl oraz w obecności środka wiążącego chlorowódor, np. słabej zasady nieorganicznej, jak np. węglanu, kwaśnego węglanu lub octanu metalu alkalicznego bądź też trzeciorzędowej aminy, a zwłaszcza etylodwuzopropylaminy (zasady Hunig'a). W charakterze środka wiążącego chlorowódor można stosować również nadmiar imidazolu albo uwodornionego imidazolu.

Reakcja przebiega w temperaturze pokojowej w ciągu kilku godzin, a jeśli to jest korzystne wówczas można ją prowadzić w temperaturze obniżonej lub podwyższonej temperaturze.

5 Acylowanie związków o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru prowadzi się w znany sposób np. za pomocą halogenku kwasowego, korzystnie chlorku kwasowego, albo azydru kwasowego, lub bezwodnika kwasowego, a zwłaszcza mieszanego bezwodnika, np. mieszanego bezwodnika wytworzonego z mono zestryfikowanego kwasu węglowego, kwasu piwalinowego, albo trójchlorooctowego albo za pomocą wolnego kwasu w obecności środka kondensacyjnego jak np. karbodwuimidu, np. dwucykloheksylokarbodwuimidu.

15 Acylowanie związku oznaczonego wzorem 4 można również prowadzić w ten sposób, że związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru najpierw przeprowadza się w odpowiednią pochodną krzemu lub cyny, po czym otrzymany produkt acyluje za pomocą kwasu lub zdolnej do reakcji pochodnej kwasu zawierającej grupę R_1-S-CH_2-CO- , oraz ewentualnie odszczepia grupę krzemową lub cynową, za pomocą alkoholu albo wody (porównaj np. brytyjski opis patentowy 1073530, oraz zgłoszenie holenderskie 67.17107).

25 W sposobie według wynalazku ewentualnie uwodorniony imidazol korzystnie poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 4, w którym R_2 ma wyżej podane znaczenie, a Z oznacza resztę chlorowcoacylową taką jak bromoacetylową.

30 Jako imidazol lub imidazolinę w sposobie według wynalazku, korzystnie stosuje się imidazol lub imidazolinę podstawioną niskocząsteczkowymi rodnikami alkilowymi lub niskocząsteczkowymi rodnikami alkoksylowymi.

35 W przypadku wytwarzania związków o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę pirydyniową, korzystnie poddaje się reakcji związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, ze związkiem pirydyniowym.

40 Związki o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza niskocząsteczkową grupę alkilooksykarbamylową wytwarza się przez poddanie reakcji soli sodowej kwasu o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową i niskoalkiloizocyjanianem.

45 Jako niskoalkiloizocyjanian korzystnie stosuje się izocyjanian, w którym rodnik niskoalkilowy podstawiony jest jedną lub kilkoma niskimi grupami alkoksylowymi lub atomami chlorowca i odpowiednio uzyskuje się związki o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę karbamoiloksylową o wzorze $-O-CO-NHR_3$, w którym R_3 oznacza niskoalkilowy rodnik ewentualnie podstawiony niskimi grupami alkoksylowymi lub atomami chlorowca.

50 Jako niskoalkiloizocyjanian podstawiony chlorowcem stosuje się β -chloroetyloizocyjanian i otrzymuje odpowiednio związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę karbamoiloksylową o wzorze $-O-CO-NHR_3$, w którym R_3 oznacza rodnik β -chloroetylowy.

65 W sposobie według wynalazku stosuje się zwa-

5

szcza takie surowce wyjściowe, które prowadzą do uzyskania wymienionych, szczególnie cennych produktów końcowych.

Pochodne cefalosporynowe są stosowane jako związki wyjściowe, są ogólnie znane lub można je wytwarzać według znanych sposobów.

Sposób według wynalazku obejmuje również te metody postępowania, w których jako produkt wyjściowy stosuje się związek przejściowy otrzymany w dowolnym etapie procesu lub stosuje się związek w postaci soli.

Nowe związki można stosować w leczeniu w postaci preparatów farmaceutycznych, zawierających te związki w mieszaninie z odpowiednim do stosowania miejscowego, dojelitowo albo pozajelitowo farmaceutycznym nośnikiem organicznym lub nieorganicznym, stałym lub ciekłym. Jako nośniki odpowiednie są te substancje, które nie reagują z nową grupą związków, jak np. woda, żelatyna, laktoza, skrobia, alkohol, stearylowy, stearynian magnezu, talk, olejki roślinne, alkohole benzylowe, guma, glikol propylenowy, glikole polialkilenowe, wazelina, cholesterol, lub inne znane nośniki farmaceutyczne.

Preparaty farmaceutyczne można wytwarzać w postaci tabletek, drażetek, maści, kremów, kapsułek, bądź też w ciekłej postaci jako roztwory, zawiesiny albo emulsje. Preparaty ciekłe są ewentualnie sterylizowane i/lub zawierają substancje pomocnicze, jak środki konserwujące, stabilizujące, zwilżające albo emulgatory, środki pomagające rozpuszczaniu, albo sole dla zmieniania ciśnienia osmotycznego, bądź też substancje buforujące, jak i ewentualnie inne środki cenne pod względem terapeutycznym substancje. Preparaty wytwarza się znanymi powszechnie metodami.

Sposób według wynalazku ilustrują niżej podane przykłady, w których temperaturę podano w stopniach Celsjusza, a kwas 7-aminocefalosporanowy oznaczono symbolem 7-ACA.

W chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym stosowano następujące układy:
Układ 52=n-butanol-kwas octowy-woda (75:7,5:21)
Układ 101A=n-butanol-pirydyna-kwas octowy-woda (42:24:4:30).

Przykład I. 5,92 g (15 mM) bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 45 ml dwumetyloformamidu. Do tego dodaje się roztworu 3,37 g (49,5 mM) imidazolu w 22,5 ml chlorku metylu. Całość przepłukuje się 7,5 ml chlorku metylenu. Ponieważ mieszanina reakcyjna nagrzewa się, kolbę należy wstawić na krótki przeciąg czasu do wody z lodem. Po 6 godzinach dodaje się 1,17 ml lodowatego kwasu octowego i wyodrębnia kwas 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowy przy pomocy frakcjonowanego wytrącania.

W tym celu mieszaninę reakcyjną zadaje się 37,5 ml mieszaniny 4 objętości chlorku metylenu i 1 objętości czterowodorofuranu, w rezultacie czego powstaje osad, który oddziela się przez odsączenie na nuczcy.

Do przesączu stale mieszając, dodaje się 30 ml chlorku metylenu i 160 ml czterowodorofuranu i wytworzonej bezbarwnej osad odsącza się na nuczcy i przemywa czterowodorofuranem. W celu usunię-

6

cia pozostałości dwumetyloformamidu osad rozcieńcza się z 75 ml mieszaniny: chlorek metylenu — czterowodorofuran (4:1), odsącza na nuczcy i jeszcze raz przemywa czterowodorofuranem. Po wysuszeniu pod obniżonym ciśnieniem uzyskuje się kwas 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowy w postaci prawie bezbarwnego proszku.

Substancja zabarwia się w temperaturze 131° na żółtawy kolor i topnieje w temperaturze 141—150°, z równoczesnym rozkładem w opróżnionej z powietrza kapilarze.

$[\alpha]_D^{20} = +127^\circ \pm 1^\circ$ (w wodzie, $c=1$). $Rf_{52}=0,03$; $R_{101A}=0,50$.

1,97 g kwasu 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego rozpuszcza się w 100 mililitrach wody, ogrzewa do temperatury 37°, po czym odczyn roztworu doprowadza się do wartości pH 7,5, za pomocą 57,5 ml 0,1 N roztworu wodorotlenku sodu. Następnie dodaje się 50 mg preparatu zawierającego zawiesinę acetyloesterazy (z *Bacillus subtilis* ATCC 6633, porównać Patent brytyjski 1 080 904) w 2 ml wody i zubożetnia wytwarzany kwas octowy, do wartości pH 7,3 0,1 N roztworem wodorotlenku sodu, za pomocą automatycznego przyrządu do miareczkowania. Po upływie 4 godzin reakcja enzymatycznej hydrolizy zostaje zakończona. Następnie roztwór doprowadza się do wartości pH 6,5, po czym sączy się przez filtr G4 ze szkła spiekanego i liofilizuje.

W rezultacie uzyskuje się 2,62 g soli sodowej kwasu 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-O-desacetylo-cefalosporanowego, w postaci żółtawej żywicy.

Ten nieoczyszczony produkt zadaje się mieszaniną 22 ml bezwodnego dwumetyloformamidu i 6,15 ml trójetyloaminy, po czym dodaje, 3,7 ml β-chloroetyloizocyjanianu i miesza w ciągu 0,5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie rozpuszczalnik oddestylowuje się pod obniżonym ciśnieniem i brązową pozostałość o charakterze żywicy rozcieńcza wielokrotnie z porcjami po 100 ml bezwodnego eteru. Nierozpuszczalną w eterze pozostałość rozpuszcza się w 60 ml wody i ekstrahuje 2 razy 300 ml porcjami, a następnie 2 razy 150 ml porcjami estru octowego. Fazy organiczne przemywa się 2-krotnie porcjami po 15 ml wody. Fazę wodną przesącza się przez kolumnę z „Sephadexu” i przemywa wodą. Stosuje się kolumnę o 2,1 cm średnicy i 9 cm wysokości z Sephadexu CM 25C (postać H⁺). Pierwsze 80 ml eluaty zawiera produkt uboczny. Następne 150 ml wycieku zawiera żółtawy roztwór czynnika aktywnego. Roztwór przesącza się przez ciekłą warstwę „Celitu” i liofilizuje. W ten sposób uzyskuje się wysokiej czystości preparat kwasu O-desacetylo-O-(β-chloroetylokarbamilo)-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego w postaci puszystego proszku o niżej podanej charakterystyce.

Widmo w nadfiolecie:

Preparat ten posiada $\lambda_{\max}$ 254 nm, $\epsilon=8050$ (w wodzie).

Skręcalność optyczna wynosi: $[\alpha]_D^{20} = +154^\circ \pm 1^\circ$ ($c=0,83$ w wodzie).

Chromatogram cienkowarstwowy:

wartość Rf :

7

w układzie 101A=0,3; w układzie ester octowy-pirydyna-kwas octowy lodowaty-woda (62 : 21 : 6 : 11) = 0,07.

Przykład II. 11,75 g kwasu 3-(desacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-bromoacetyloamino-cefalosporanowego rozpuszcza się w 45 ml dwumetyloformamidu z dodatkiem roztworu 5,25 g imidazolu w 12 ml dwumetyloformamidu. Roztwór zadaje się 1,45 ml lodowatego kwasu octowego i pozostawia w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Po upływie 23 godzin, intensywnie mieszając i chłodząc w wodzie z lodem, dodaje się powoli 56 ml $\frac{1}{12}$ N roztwór kwasu solnego. Otrzymany brązowy osad o konsystencji smaru odsąca się przez cienką warstwę krzemionki („Hyflo”). Przesącza zadaje się szybko dalszymi 570 ml $\frac{1}{12}$ N roztworu kwasu solnego, przy badrze intensywnym mieszanii i oziębianiu w lodzie, po czym miesza się i chłodzi w ciągu następnej 1 godziny. Wytworzony płatkowaty osad kwasu 3-(desacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego, odsąca się na nuczcy i przemycza 10 ml wody. Otrzymuje się produkt o niżej podanej charakterystyce:

$Rf_{52}=0,13$; $Rf_{101A}=0,35$. Widmo w nadfiolecie w roztworze 0,1 M kwaśnego węglańu sodu:

$\lambda_{max}=243\text{ nm } (\epsilon=14'200)$

$\lambda_{max}=273\text{ nm } (\epsilon=15'600)$

Produkt wyjściowy można wytworzyć w następujący sposób:

Roztwór 17,5 g kwasu 3-(desacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-amino-cefalosporanowego (porównać brytyjski opis patentowy nr 650 444) i 12,5 ml trójetyloaminy w 1 litrze dwumetyloformamidu, wkrapla się w ciągu 1 godziny do roztworu 9,2 ml bromku bromoacetylowego w 100 ml chlorku metylenu, utrzymanego w temperaturze od -13° do -15°C , w atmosferze azotu. Następnie pozwala się na powolny wzrost temperatury do 10° w ciągu 1,5 godziny i przetrzymuje w tych warunkach mieszaninę w ciągu dalszych 30 minut; po czym oddestylowuje się większą część rozpuszczalnika pod obniżonym ciśnieniem do 0,5–1 mm Hg przy oziębianiu mieszaniny suchym lodem z acetonem. Oleisty produkt wlewa się do fosforanowego roztworu buforowego o pH=6 i wytrząsa z 1 litrem lodowatego kwasu octowego. Osad wytworzony na granicy faz odsąca się lub odwirowuje, po czym odczyn mieszaniny doprowadza się do wartości pH 2; fazę wodną nasyca solą kuchenną i oddziela fazę organiczną i fazę wodną ekstrahuje się kolejno 600 i 400 ml octanu etylu.

Fazę organiczną przemycza się nasycionym roztworem soli kuchennej, suszy siarczanem sodu i kolejno sączy przez kolumnę wypełnioną 100 mg żelu krzemionkowego. Przesącze odparowuje się do suchości pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość zadaje 30 ml etanolu i krystalizuje w temperaturze -20° . Otrzymuje się 7,8 g kwasu 3-(desacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-bromoacetyloaminocefalosporanowego o temperaturze topnienia $137-138^{\circ}$ o niżej podanej charakterystyce:

$Rf_{52}=0,55$.

Widmo w nadfiolecie (sól sodowa w wodzie)

$\lambda_{max} 243\text{ nm } (\epsilon=16'800)$ i $275\text{ nm } (\epsilon=20'600)$

8

$^{20} = -47 \pm 1^{\circ}$ ($c=1$; w mieszaninie 0,1 M kwaśnego węglańu sodu z acetonem (1 : 1).

Przykład III. 5,13 g kwasu 3-(desacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego rozpuszcza się w 45 ml pirydyny, po czym dodaje 45 ml dwuoksanu, a następnie 26 ml 40% roztworu nadchloranu rtęci i silnie mieszając, w atmosferze azotu, utrzymuje w temperaturze 45° w ciągu 45 minut. Następnie mieszaninę oziębia się, zadaje 13,8 ml kwasu merkaptobenzoowego i wytrząsa w ciągu 5 minut, po czym oddestylowuje się rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszcza w 250 ml wody i przesącza przez „Celite”. Przesącza przemycza się kolejno 110 ml toluenu, 2-krotnie roztworem 68 ml „Amberlitu” LA-2 w 140 ml toluenu, oraz dwukrotnie 110 ml toluenu.

Następnie fazę wodną przesącza się przez kolumnę, wypełnioną kolejno warstwami 10 ml „Sephadex” CM C-25 (postać H^{+}), 42 ml „Aloxu”, 10,5 ml „Zeo-karb” 226 (postać H^{+}), 42 ml „Aloxu”, 10,5 ml „Dowexu-1” (postać octanowa) i 10 ml „Sephadexu” CM C-25 (postać H^{+}). „Celite”, fazy organiczne oraz kolumnę ekstrahuje się 2-krotnie porcjami po 30 ml wody, po czym kolumnę eluuje się jeszcze 300 ml wody. Połączone eluaty zagęszczają się pod obniżonym ciśnieniem, odsąca z niewielkiej ilości osadu i odparowuje do suchości. Pozostałość ekstrahuje się na ciepło 10 ml alkoholu, uzyskując w ten sposób czysty kwas 3-(desacetoksymetylo)-3-pirydyniometylo-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowy o niżej podanej charakterystyce:

$[\alpha]_D^{20} = +76^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c=1$ w wodzie); widmo w nadfiolecie w roztworze wodnym:

$\lambda_{max} 257\text{ m}\mu$ ($\epsilon=11'650$); $Rf_{101A}=0,05$.

Przykład IV. 7,13 g kwasu 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego rozpuszcza się w 200 ml wody i za pomocą 180 mg acetyloestary, w temperaturze 37°C , przeprowadza się w kwas 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-O-dezacylocefalosporanowy według sposobu opisanego w przykładzie I i otrzymuje 9,04 g soli sodowej tego kwasu.

7,32 g otrzymanego surowego produktu przenosi się do mieszaniny 100 ml suchego dwumetyloformamidu i 18 ml trójetyloaminy, po czym w ciągu 5 minut dodaje się roztwór 9,4 ml (8,55 g) metyloizocyjanianu w 30 ml dwumetyloformamidu i miesza w ciągu 50 minut w temperaturze otoczenia. Następnie roztwór przesącza się, oddestylowuje rozpuszczalnik w wysokiej próżni i pozostały smolisty brązowy osad wymywa 3 razy 350 ml porcjami absolutnego eteru, po czym nierozpuszczalną w eterze pozostałość rozpuszcza się w 200 ml wody o wartości pH 7 i kolejno ekstrahuje octanem etylu w porcjach 1500 ml, 1500 ml i 1000 ml i 750 ml, po czym organiczne fazy przemycza się 2 razy 75 ml porcjami wody. Fazę wodną razem z wodą stosowaną do mycia przepuszcza się przez kolumnę o pojemności 100 ml, wypełnioną Sephadex'em, po czym kolumnę płucze się wodą.

W powyższej operacji stosuje się kolumnę o przekroju 3,0 cm i wysokości 15 cm, oraz Sephadex CM 25 C (w postaci H^{+}). Pierwsze 250 ml eluatu zawiera produkt uboczny, natomiast następne 300 ml eluatu w postaci żółtego roztworu, zawiera wła-

ściwy produkt, który suszy się za pomocą liofilizacji. W celu dalszego oczyszczenia liofilizat rozpuszcza się w 45 ml wody, i traktuje aktywnym węglem (Norit), po czym przesącza przez Celit i przesącz doprowadza do wartości pH 6, za pomocą nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodu i otrzymany roztwór filtruje ponownie przez kolumnę wypełnioną 50 ml Sephadex'u CM 25 C (w postaci H⁺), a następnie poddaje liofilizacji.

Otrzymuje się 1,9 g kwasu O-dezacetylo-O-metylokarbamoilo-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego w postaci bardzo czystej jako bezbarwny proszek o niżej podanej charakterystyce: Widmo w ultrafiolecie $\lambda_{\max}$ 260 nm ($\epsilon=8050$);

skręcalność optyczna: $[\alpha]_D^{20} = +139 \pm 1^\circ$ ($c = 0,94$ w wodzie)

Chromatogram cienkowarstwowy na żelu krzemionkowym:

$R_{f_{101A}} = 0,25$; $R_{f_{52}} = 0,03$.

Przykład V. 8,3 g kwasu 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego rozpuszcza się w 230 ml wody i za pomocą 210 mg acetyloesterazy, w temperaturze 37°C, przeprowadza się w kwas 7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-O-dezacetylo-cefalosporanowy, według sposobu opisanego w przykładzie I i otrzymuje się 10,5 g soli sodowej tego kwasu.

Otrzymany surowy produkt przenosi się do mieszaniny 110 ml suchego dwumetyloformamidu i 27 ml trójetylaminy, po czym w ciągu 5 minut dodaje się roztwór 18 ml etyloizocyjanianu w 50 ml dwumetyloformamidu i miesza w ciągu 50 minut, w temperaturze otoczenia. Następnie roztwór przesącza się, oddestylowuje rozpuszczalnik w wysokiej próżni i pozostały smolisty brązowy osad wymywa się 3 razy 500 ml porcjami absolutnego eteru, po czym nierozpuszczalną w eterze pozostałość rozpuszcza się w 200 ml wody o wartości pH 7 i kolejno ekstrahuje się octanem etylu w porcjach 2000 ml, 1500 ml i 1500 ml, po czym organiczne fazy przemywa się 2 razy 100 ml porcjami wody. Fazę wodną, razem z wodą stosowaną do mycia, przepuszcza się przez kolumnę o pojemności 120 ml, wypełnioną Sephadex'em, po czym kolumnę płucze się wodą.

W powyższej operacji stosuje się kolumnę o przekroju 3,0 cm i wysokości 18 cm, wypełnioną Sephadex'em CM 25 C (w postaci H⁺). Pierwsze 320 ml eluatu zawiera produkt uboczny, natomiast następne 260 ml eluatu w postaci żółtawego roztworu zawiera właściwy produkt, który suszy się za pomocą liofilizacji. W celu dalszego oczyszczenia liofilizowany produkt rozpuszcza się w 45 ml wody i traktuje aktywnym węglem (Norit), po czym przesącza przez Celit i przesącz doprowadza do wartości pH 6, za pomocą nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodu i otrzymany roztwór ponownie filtruje przez kolumnę wypełnioną 80 ml Sephadex'u CM 25 C (w postaci H⁺), a następnie poddaje liofilizacji. Otrzymuje się 2,9 g kwasu O-dezacetylo-O-etylokarbamoilo-7-[imidazolilo(1)-acetyloamino]-cefalosporanowego w postaci bezbarwnego proszku o niżej podanej charakterystyce.

Widmo w ultrafiolecie: $\lambda_{\max}$ 258 nm ($\epsilon=780$)

Skręcalność optyczna: $[\alpha]_D^{20} = +1500^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,98$ w wodzie)

Chromatogram cienkowarstwowy na żelu krzemionkowym:

$R_{f_{101A}} = 0,32$; $R_{f_{52}} = 0,04$

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego, o wzorze 1, w którym R₁ oznacza ewentualnie uwodornioną grupę imidazolową lub imidazolilową związaną atomem azotu z grupą acetyloaminową R₂ oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem karboksylowym różnym od kwasu octowego, grupę karbamoiloksyłową ewentualnie podstawioną przy atomie azotu, w której atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki lub oznacza czwartorzędową grupę aminową, jak i ich wewnętrznych soli, **znamienny tym**, że poddaje się reakcji ewentualnie uwodorniony imidazol, ze związkiem o wzorze 4, w którym Z oznacza resztę chlorowcoacylową, a R₂ ma wyżej podane znaczenie, albo związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru, a R₂ ma wyżej podane znaczenie lub oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem octowym, acyluje się reaktywną pochodną grupy o wzorze R₁-CH₂-CO-, w którym R₁ oznacza ewentualnie uwodorniony rodnik imidazolu i w otrzymanym związku o wzorze 1, w którym R₁ ma wyżej podane znaczenie, a R₂ oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem octowym, ewentualnie estryfikuje się grupę wodorotlenową kwasem karboksylowym różnym od kwasu octowego, w którym atomy tlenu można zastępować atomami siarki lub wymienia się grupę acetylową na inną grupę acylową kwasu karboksylowego lub N-podstawioną grupę karbamoilową, w których to grupach atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki lub na czwartorzędową grupę aminową i ewentualnie przeprowadza otrzymane związki w ich sole z metalami takie jak sole z metalami alkalicznymi, metalami ziem alkalicznych lub w sole z amoniakiem albo z organicznymi zasadami lub otrzymane sole przeprowadza w wolne kwasy karboksylowe i ewentualnie w ich wewnętrzne sole.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że poddaje się reakcji ewentualnie uwodorniony imidazol, ze związkiem o wzorze 4, w którym R₂ ma znaczenie jak w zastrz. 1, a Z oznacza resztę chlorowcoacylową taką jak bromoacetylową, oznacza rodnik bromoacetylowy, z ewentualnie uwodornionym imidazolem.

3. Sposób według zastrz. 1 lub 2, **znamienny tym**, że stosuje się imidazol lub imidazolinę podstawioną niskocząsteczkowymi rodnikami alkilowymi lub niskocząsteczkowymi rodnikami alkoksylowymi.

4. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**, że reakcji poddaje się związek o wzorze 1, w którym R₁ ma znaczenie jak w 1 zastrz., a R₂ oznacza zestryfikowaną grupę wodorotlenową, ze związkiem pirydyniowym i otrzymuje kwas 7-aminocefalosporanowy, w którym R₁ ma wyżej podane znaczenie, a R₂ oznacza grupę pirydyniową.

11

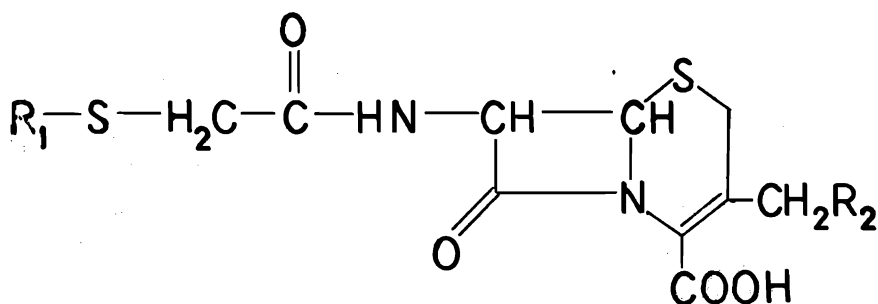
5. Sposób według zastrz. 1—4, **znamienny tym**, że reakcji poddaje się sól sodową związku o wzorze 1, w którym R_1 ma znaczenie jak w 1 zastrz., a R_2 oznacza grupę wodorotlenową, z niskoalkiloizocyjanianem i otrzymuje związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza niskocząsteczkową grupę alkilooksykarbamylową.

6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako niskoalkiloizocyjanian stosuje się izocyjanian, w którym rodnik niskoalkilowy podstawiony jest jedną lub kilkoma niskimi grupami alkoksylowymi lub atomami chlo-

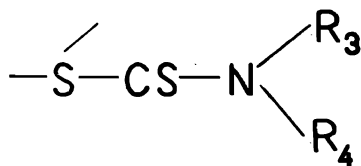
12

rowca i uzyskuje związki o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę karbamoiloksyłową o wzorze $-C-CONHR_3$, w którym R_3 oznacza niskoalkilowy rodnik ewentualnie podstawiony niskimi grupami alkoksylowymi lub atomami chlorowca.

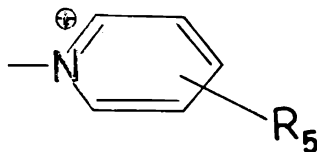
7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że jako niskoalkiloizocyjanian podstawiony chlorowcem stosuje się β -chloroetyloizocyjanian i otrzymuje związek o wzorze 1, w którym R_1 ma znaczenie jak w zastrz. 1, a R_2 oznacza grupę karbamoiloksyłową o wzorze $-C-CO-NHR_3$, w którym R_3 oznacza rodnik β -chloroetylowy.



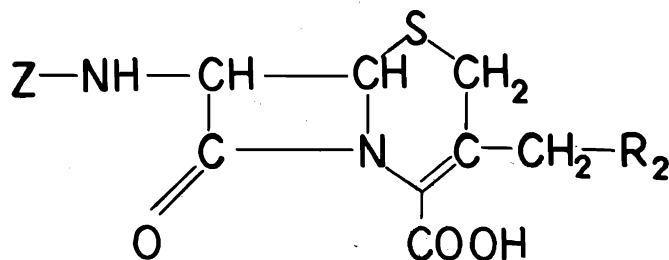
Wzór 1



Wzór 2



Wzór 3



Wzór 4