

URZĄD
PATENTOWY
PRLPatent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 20.08.1968 (P 128 702)

Pierwszeństwo: 21.08.1967

dla zastrz. 1—12, 14, 15, 17—22,
30—31
06.08.1968 dla zastrz. 13, 16, 23—29
Wielka Brytania

Opublikowano: 10.06.1974

Kl. 12p,4/01

MKP C07d 99/24

Twórca wynalazku: _____

Właściciel patentu: Glaxo Laboratories Limited (Greenford, Wielka
Brytania)

Sposób wytwarzania związków cefalosporynowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania związków typu cefalosporyny, mających zastosowanie przy wytwarzaniu antybiotyków. W szczególności wynalazek dotyczy sposobów N-dezacylacji związków cefalosporynowych.

Nazwa związków cefalosporynowych wywodzi się od cefanu o wzorze 1 (J. Am. Chem. Soc. 1962, t. 84, s. 3400).

N-dezacylacja związków 7 β -acyloamido-cefalosporyny stanowi ważny etap w procesie wytwarzania antybiotyków cefalosporynowych. Sposób według wynalazku daje możliwość wprowadzania i usuwania podstawników acylowych w dowolnej fazie syntezy antybiotyków cefalosporynowych.

Znane są różne ogólne metody N-dezacylacji związków cefalosporynowych polegające między innymi na bezpośredniej hydrolizie kwasowej przy użyciu np. 0,1 do 1,0 N kwasu solnego oraz metoda N-dezacylacji kwasu 7 β -acyloamido-cefalosporynowego w rozpuszczalniku organicznym odczynnikiem działającym jako zewnętrzne źródło jonów alkilokarboniowych, jak to opisano w brytyjskim opisie patentowym nr 1 070 312. Jednak obie te metody otrzymywania związków 7 β -aminowych są mało wydajne.

Znane są również metody dezacylacji poszczególnych związków 7 β -acyloamido-cefalosporynowych do związków 7 β -aminowych, które przebiegają z większą wydajnością niż poprzednie. Meto-

2

dy te polegają na N-dezacylacji związków cefalosporynowych zawierających α -aminoadypolilową grupę acylową przy pomocy chlorku nitrozyłu jak to opisano w brytyjskim opisie patentowym nr 1 017 534, przy czym metoda ta jest efektywna jedynie do usuwania grup aminoadypolilowych a nie nadaje się do usuwania innych grup 7-acyloamidowych, oraz N-dezacylacji tego rodzaju związków metodą chlorowcoimidową opisaną w austriackim opisie patentowym nr 246 920 według której możliwe jest jedynie usuwanie grup aminoadypolilowych. Wszystkie inne metody usuwania grup acylowych opisane w literaturze, ze względu na bardzo małe wydajności nie mają żadnego praktycznego znaczenia. Nieoczekiwanie, stwierdzono, że metoda chlorowcoimidowa umożliwia otrzymywanie z dobrą wydajnością odpowiednich pochodnych 7 β -aminowych ze związków 7 β -acyloamido-cefalosporynowych. Sposób ten jest szczególnie korzystny do N-dezacylacji związków 7 β -acyloamido-cefalosporynowych otrzymywanych drogą syntetyczną lub półsyntetyczną, a zwłaszcza takich, w których grupa acylowa jest inna niż grupa δ -aminoadypolilowa występująca w cefalosporynie C. Sposób ten nadaje się do N-dezacylowania związków 7 β -acyloamidocefalosporynowych otrzymywanych przez przekształcenie 6 β -acyloamidowych analogów penicyliny (amerykański opis patentowy nr 3 275 626), w których grupę acylową stanowi fenoksyacetyl lub fenylacetyl.

Sposobem według wynalazku otrzymuje się związki o ogólnym wzorze 2, w którym Y oznacza wodór, grupę hydroksylową, acetoksyłową lub zestryfikowaną hydroksylową taką jak alkoksylowa, a R¹ oznacza wodór lub resztę związku hydroksylowego, np. alkoholu, fenolu lub silanolu o ogólnym wzorze R²OH w którym R² oznacza grupę zabezpieczającą grupę karboksylową. Polega on na tym, że związek o ogólnym wzorze 3, w którym R³ oznacza grupę R^u(CH₂)_nCO— w której R^u oznacza aryl (homocykliczny lub heterocykliczny), cykloalkil, podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil lub heterocykliczną grupę niearomatyczną, a n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4; grupę C_nH_{n+1}CO— w której n oznacza liczbę całkowitą od 1—7 a grupa alkilowa może mieć łańcuch prosty lub rozgałęziony, który w pewnych wypadkach może zawierać atom tlenu, siarki, lub być podstawiony przez podstawnik taki jak grupa cyjanowa lub karboksylowa; lub grupę R^vOCH₂CO— w której R^v oznacza aryl (homocykliczny lub heterocykliczny), cykloalkil podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil lub niearomatyczną grupę heterocykliczną, a R² i Y mają wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji ze składnikiem tworzącym chlorowcoimid, takim jak tlenochlorek fosforu lub pięciochlorek fosforu, następnie przeprowadza się powstały chlorowcoimid w iminoeter, hydrolizuje go po czym usuwa się ewentualnie grupę R². Uzyskany produkt o wzorze 2 można wyodrębnić w postaci soli addycyjnej z kwasem, którą ewentualnie acyluje się.

Sposobem według wynalazku otrzymuje się także związki o ogólnym wzorze 4, w którym R⁵ oznacza grupę acylową, Y i R' mają wyżej podane znaczenie, przy czym na związek o ogólnym wzorze 5, w którym R⁶ oznacza grupę acylową inną niż R⁵ i R², zaś Y ma wyżej podane znaczenie, działa się składnikami tworzącym chlorowcoimid, przekształca powstały chlorowcoimid w iminoeter i hydrolizuje go na związek o ogólnym wzorze 2, w którym R¹ i Y mają wyżej podane znaczenie, po czym związek ten wyodrębnia się w postaci soli addycyjnej i acyluje czynnikiem acylującym w warunkach całkowicie bezwodnych w fazie ciekłej w obojętnej zasadzie Lewisa o stałej dielektrycznej powyżej 15 zawierającej akceptor chlorowcowodoru.

Związki o wzorze 3, w których Y oznacza atom wodoru, można otrzymać metodą opisaną w brytyjskim opisie patentowym nr 1 121 308. Jeżeli Y oznacza grupę acetoksyłową, związki o wzorze 3 otrzymuje się z cefalosporyny C. Jeżeli zaś Y oznacza grupę acyloksylową różną od acetoksyłowej, to związki o wzorze 3 otrzymuje się metodą według patentu belgijskiego nr 674 258. Związki o wzorze 3, w których Y oznacza grupę hydroksylową, można otrzymać metodą opisaną w patencie brytyjskim nr 1 121 308.

Związki o wzorze 3, w których Y oznacza resztę związku nukleofilowego, można np. otrzymać metodą polegającą na reakcji związku cefalosporynowego, w których Y oznacza grupę acetoksyłową, z nukleofilem siarkowym, azotowym lub nieorganicznym, jak opisano w brytyjskim opisie paten-

towym nr 1 012 943, z nukleofilem siarkowym jak opisano w brytyjskim opisie patentowym nr 1 059 562 i 1 101 423, lub z nukleofilem azotowym, jak opisano w brytyjskim opisie patentowym nr 912 541.

Związki o wzorze 3, w których Y oznacza steryfikowaną grupę hydroksylową, a w szczególności gdy Y oznacza grupę alkoksylową, można otrzymać metodami opisanymi we wcześniejszym zgłoszeniu patentowym.

Składniki tworzące chlorowcoimid stosowane w sposobie według wynalazku są to chlorowcobezwodniki kwasów (chloro-, bromo- i jodobezwodniki) otrzymywane z kwasów fosforowych, korzystnie takie jak np. tlenochlorek fosforu lub pięciochlorek fosforu.

Reakcję ze składnikiem tworzącym chlorowcoimid można prowadzić w obecności zasady nieorganicznej lub organicznej. Stosowanymi zasadami organicznymi są trzeciorzędowe aminy jak np. pirydyna lub dwumetyloamolina, natomiast nieorganicznymi węglan wapniowy. Pomimo, że reakcję można prowadzić bez zasady to brak zasady prowadzi do obniżenia wydajności.

Składnik tworzący chlorowcoimid można, jeżeli to konieczne dodawać do związku 7β-acyloamidowego w postaci roztworu. Korzystnie w obojętnym rozpuszczalniku organicznym takim jak chlorowany węglowodór, np. chlorek metylenu.

Chlorowcoimid można przeprowadzić w iminoeter przez reakcję z alkoholem, korzystnie z niższym alkoholem, w obecności trzeciorzędowej aminy w sposób wyżej opisany. W celu zapewnienia maksymalnej konwersji na żądany iminoeter, przebieg reakcji należy dokładnie śledzić np. metodą chromatografii cienkowarstwowej. Zanikanie plamki substancji wyjściowej i rozwijanie się plamki związku 7β-aminowego służy za miarę postępu zachodzącej reakcji. Iminoeter można zhydrolizować lub zalkoholizować przy pomocy wody lub niższego alkoholu, np. metanolu w obecności katalizatora zasadowego lub kwaśnego. Jako katalizatory kwaśne, stosuje się kwasy mineralne i organiczne takie jak np. kwas solny, trójfluorooctowy, p-toluenosulfonowy, fosforowy lub mrówkowy. Jako katalizatory zasadowe: amoniak oraz sole słabych kwasów z metalem alkalicznym lub metalem z grupy ziem alkalicznych.

W sposobie według wynalazku korzystnie jest stosować takie związki cefalosporynowe, które zawierają w pozycji 4 grupę estrową będącą resztą związku hydroksylowego, dającą się łatwo odszczepić, np. przez hydrolizę lub redukcję, w razie potrzeby w dalszym etapie reakcji. Grupę estryfikującą w pozycji 4 można zachować do momentu aż otrzymany związek 7β-aminowy zostanie zreacylowany. Grupę estryfikującą można jednak odszczepić w jednym z wcześniejszych etapów reakcji.

Reszty alkoholu lub fenolu dające się łatwo odszczepić (zawierające podstawniki elektronoakceptorowe), są to np. grupy sulfonowe lub zestryfikowane grupy karboksylowe. Grupy te można odszczepić za pomocą odczynników alkalicznych, zwracając jednak uwagę aby nie spowodować izomeryzacji typu Δ³ → Δ². Benzylowe grupy estro-

we w pozycji 4 można usunąć przez hydrogenizację, reakcja ta może jednak spowodować zatrucie katalizatora. Zalecaną metodą jest hydroliza kwasowa; do grup, które można usunąć przez hydrolizę kwasową, należą: grupa adamantylowa i reszty trzeciorzędowego alkoholu butylowego, alkanole zawierające w pozycji α rodniki elektronodonorowe takie jak acyloksylowe, alkoksylowe, chlorowcowe, alkiloliolowe, fenylowe, alkoksifylenowe, aromatyczne, heterocykliczne i trzeciorzędowe butylowe. Rodniki te można otrzymać z alkoholi takich jak alkohol p-metoksybenzylowy, dwu-p-metoksifyleno-metanol, trójfenylometanol i dwufenylometanol lub ich reaktywne pochodne, np. bromki lub pochodne dwuazowe. Związki zawierające między innymi grupę dwufenylometoksykarbonylową, β , β , β -trójchloroetoksykarbonylową lub III-rzęd-butoksykarbonylową w pozycji 4 podlegają w bardzo małym stopniu w warunkach reakcji izomeryzacji $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$. Resztę alkoholów dających się łatwo odszczepić środkami redukującymi jest reszta β , β , β -trójchloroetanolowa, którą można usunąć działając cynkiem z kwasem octowym.

Grupę estrów w pozycji 4 można usunąć stosując kwas trójfluorooctowy, korzystnie w połączeniu z anizolem lub kwas solny z domieszką kwasu octowego.

Inne, dające się łatwo usunąć grupy estrowe w pozycji 4 to estry silylowe i stannyłowe.

Estry stannyłowe pochodzą z reszty związku cyny czterowartościowej; a środki stannyłujące mają wzory ogólne $R_3^3\text{SnOSnR}_3^3$, $R_3^3\text{SnOH}$, $R_3^3\text{SnOCOR}^3$, $R_3^3\text{SnOR}^3$, SnR_4^3 lub $\text{Sn(OR}^3)_4$, w których R^3 oznacza grupę węglowodorową, np. niższą grupę alkilową, grupę aryłową lub aryloalkilową. Tlenek trój-n-butylocyny jest szczególnie korzystny dzięki swojej łatwej dostępności i niskiej toksyczności; szczególnie przydatny jest również wodorotlenek trójetylocyny. Halogenki trójniższoalkilocyny, np. chlorek trójbutylocyny mogą reagować z solą kwasu cefalosporynowego i metalu alkalicznego, np. z solą sodową, dając estry stannyłowe.

Ester silylowy może powstać przez reakcję grupy 4-karboksylowej z silanolem, a także przez podanie grupy 4-karboksylowej reakcji z pochodną silanolu, np. z odpowiednim chlorkiem lub aminą. Estry silylowe utworzone są z reszt krzemu czterowartościowego, zaś środkami silylującymi są zazwyczaj silazany o ogólnych wzorach $R_3^4\text{Si} \cdot \text{NR}_3^4$, $R_3^4\text{Si} \cdot \text{NH} \cdot \text{SiR}_3^4$, $R_3^4\text{SiNH} \cdot \text{COR}^4$, $R_3^4\text{Si} \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{SiR}_3^4$, $R^4\text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NR}^4 \cdot \text{SiR}_3^4$ lub $R^4\text{C(OSiR}_3^4)_3$: NSiR_3^4 , w których grupy R^4 są takie same lub różne i oznaczają atomy wodoru lub grupy alkilowe, aryłowe lub aryloalkilowe. Gdy wszystkie grupy R^4 stanowią wodoru związki te są nietrwałe w warunkach reakcji korzystne jest aby grupy R^4 silazanu były grupami węglowodorowymi, a szczególnie by grupą węglowodorową był metal lub fenyl, taki jak np. w sześciometylosilazanie $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NH}$. Przy wytwarzaniu estrów na skalę przemysłową korzystne jest stosowanie chlorków sililu takich jak np. Me_3SiCl , dających w połączeniu ze słabą zasadą, jak np. Et_2NH , silyloaminy, np. $\text{Me}_3\text{Si} \cdot \text{NEt}_2$.

Przebieg reakcji można śledzić przez pomiar ilo-

ści lotnej aminy lub amoniaku, o ile są one produktami rozkładu. Silazany dające wzrost ilości amoniaku lub lotnej aminy są szczególnie zalecane, gdyż wskutek ulatniania się zasady w warunkach 5 reakcji unika się izomeryzacji Δ^2 . Korzystnie jest przedmuchiwać mieszaninę reakcyjną gazem obojętnym w celu usunięcia lotnych produktów i zabezpieczenia przed wilgocią.

Silany o ogólnym wzorze $R^4\text{SiH}$, w którym R^4 10 ma wyżej podane znaczenie, nie są odpowiednie jako reagenty, gdyż są zbyt reaktywne. Jeśli środkiem silylującym jest halogenek, np. MeSiCl , wywołujący wydzielanie się chlorowcowodoru, podczas reakcji silylowania należy dodać słabej zasady, np. pirydyny mającej charakter akceptora kwasu. 15 Silne zasady mogłyby spowodować izomeryzację pochodnej cefalosporyny na związek Δ^2 .

Do reakcji silylowania stosuje się co najmniej 1 mol związku organokrzemowego ale można też 20 stosować nadmiar do 3 moli i więcej. Jako środkiem silylującym jest nierozcieńczony związek krzemoorganiczny lub obojętny rozcieńczalnik taki jak węglowódor, np. benzen, toluen lub ksylen względnie chlorowany węglowódor, np. chloroform 25 lub chlorek metylenu.

Efekt N-dezacylacji estrów silylowych zależy od 30 wzajemnej proporcji reagentów i np. duży nadmiar zasady powoduje, że reakcja zachodzi z małą wydajnością. Stwierdzono, że odpowiedni stosunek estru silylowego do składnika tworzącego chlorowcoimid do zasady wynosi 1:1:4. Stosunek reagentów 1:1:4 jest szczególnie korzystny, gdy 35 składnikiem tworzącym chlorowcoimid jest pięciochlorek fosforu, a zasadą pirydyna.

W sposobie według wynalazku, korzystne jest 40 użycie estrów silylowych, gdyż wtedy grupę estryfikującą usuwa się w łagodnych warunkach podczas jednego z etapów reakcji, np. podczas tworzenia iminoeteru.

Silylowa grupa estrowa daje się łatwo odszczepić 45 przy nadmiarze związku lub związków zawierających aktywny wodor, np. wody, wody zakwaszonej lub zalkalizowanej, alkoholi lub fenoli.

Sposobem według wynalazku usuwa się ze związków 7 β -acyloamido-cefalosporynowych różne grupy, grupy acylowe, a otrzymane związki 7- β -aminowe można zreacylować różnymi kwasami. Tego 50 rodzaju grupy acylowe można podzielić na typy o następujących wzorach ogólnych:

Typ 1 o ogólnym wzorze $R^u(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$, w którym R^u 55 oznacza grupę aryłową (karbocykliczną lub heterocykliczną), cykloalkilową, podstawioną aryłową, podstawioną cykloalkilową lub niearomatyczną grupę heterocykliczną, a n oznacza liczbę stałą od 1 do 4. Przykładem takich grup są grupy fenylacetylowe, podstawiona fenylacetylowa, np. fluorofenylacetylowa, nitrofenylacetylowa, acetoksifylenylacetylowa, alkanokarbonylofenylacetylowa lub hydroksifylenylacetylowa, tienylo-2- i 60 -3-acetylowa; 4-izoksazolilo- i podstawiona 4-izoksazoliloacetylowa oraz pirydylacetylowa. Podstawioną grupą 4-izoksazolilową może być grupa 3-arylo-5-metylo-4-izoksazolilowa, w której grupę aryłową stanowi fenyl lub chlorowcofenyl, np. chloro- lub bromofenyl. Przykładem tego typu gru-

py jest grupa 3-o-chlorofenilo-5-metylo-4-izoksazolilo-acetylowa.

Typ 2 o ogólnym wzorze $C_nH_{2n+1}CO-$, w którym n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 7. Grupa alkilowa może być prosta lub rozgałęziona, zaś w razie potrzeby może być przedzielona atomem tlenu lub siarki lub podstawiona np. grupą cyjanową lub karboksylową. Przykładem tego typu grup acylowych są: grupa acetylowa, kaproilowa, enantolowa, kapryloilowa, butyloacetylowa, cyjanocetylowa, adypolilowa i glutarolilowa.

Typ 3 o ogólnym wzorze $R^V \cdot CH_2 \cdot CO-$, w którym R^V oznacza grupę arylową (karbocykliczną lub heterocykliczną), cykloalkilową, podstawioną arylową, podstawioną cykloalkilową lub niearomatyczną grupę heterocykliczną. Przykładem tego typu grupy acylowej jest grupa fenoksyacetylowa.

Sposób według wynalazku jest szczególnie korzystny do usuwania grup 7β -acylowych takich jak grupa tienyloacetylowa, fenyloacetylowa, fenoksyacetylowa, benzoilowa i acetylowa.

Związki otrzymywane sposobem według wynalazku są przydatne do wytwarzania związków szeregu cefalosporyny mających własności antybakteryjne. Związki takie otrzymuje się przez acylowanie grupy 7β -aminowej N-zdezacylowanego związku cefalosporynowego o wzorze 2, w którym R^1 i Y mają wyżej podane znaczenie zaś N-zdezacylowy związek cefalosporynowy można stosować w postaci wolnego kwasu 4-karboksylowego lub w postaci estru z alkoholem lub fenolem, który może być łatwo odszczepiony w późniejszym stadium reakcji np. przez hydrolizę lub redukcję. N-zdezacylowany związek cefalosporynowy może być użyty w postaci soli addycyjnej z kwasem, np. jako azydek lub hydrokarbylosulfonian wolnego kwasu 4-karboksylowego lub jego estru. Przykładem kwasów hydrokarbylosulfonowych są kwasy alkilbenzenosulfonowe, np. kwas p-toluenosulfonowy oraz kwasy niższe alkanosulfonowe, np. kwas metanosulfonowy. Korzystnie jest wyodrębnić związek 7β -aminowy w postaci soli, zacylować, a następnie jeśli to konieczne usunąć grupę R^2 , gdyż wtedy uzyskuje się dużą wydajność.

W sposób wyżej opisany acylowanie grupy 7β -aminowej można przeprowadzić stosując jako grupę estryfikującą w pozycji 4 resztę dwufenylometanolu albo też estry siliolowe.

Do acylowania stosuje się środki acylujące takie jak chlorowco-, bezwodniki (np. chlorki bromobezwodniki), bezwodniki lub mieszane bezwodniki kwasów, np. z kwasem piwalowym lub otrzymane z chlorowcomrówczanów, np. niższych alkilochlorowcomrówczanów oraz aktywne estry lub azydy lub też same kwasy wraz ze środkiem estryfikującym, np. z karbonyloimidazolem lub z karbodwuimidem jak z N,N-dwuetylo-, dwupropylo- lub -dwuizopropylo-karbodwuimidem lub najkorzystniej z N,N-dwucykloheksylokarbodwuimidem.

N-acylację można przeprowadzić w środowisku wodnym z halogenkiem kwasowym np. w wodnym roztworze mieszanego z wodą ketonu jak aceton lub w wodnym roztworze tetrahydrofuranu, korzystnie także w obecności środka wiążącego

kwasy, np. kwaśnego węglanu sodowego. Korzystnie jest utrzymywać podczas reakcji $pH = 5-7$ i temperaturę od 0 do $25^\circ C$. Acylację można również przeprowadzać w środowisku rozpuszczalnika organicznego, takiego jak octan etylu, przez np. zwykłe ogrzewanie pod chłodnicą zwrotną.

Alternatywnie acylację można przeprowadzać halogenkiem kwasowym lub mieszanym bezwodnikiem kwasowym w zasadniczo bezwodnym środowisku w fazie ciekłej, w obojętnej zasadzie Lewisa (korzystnie zawierającej trzeciorzędowy atom azotu) o stałej dielektrycznej powyżej 15, korzystnie powyżej 30 i w obecności akceptora chlorowcowodoru. Korzystną wielkością stałej dielektrycznej zasady jest wielkość w granicach 30-40 a korzystną zasadą N,N-dwumetyloformamid lub N,N-dwumetyloacetamid. Reakcję można prowadzić stosując wolny kwas 4-karboksylowy lub jego ester lub sól addycyjną związku 4-karboksylowego lub jego estru, np. p-toluenosulfonianu. Najkorzystniej jest stosować sól addycyjną tego estru w całkowicie bezwodnych warunkach.

Najkorzystniejszy jako halogenek kwasowy jest chlorek lub bromek.

Metody acylowania w warunkach bezwodnych opisane są szczegółowo w brytyjskim opisie patentowym nr 1 104 937.

Poniższe przykłady objaśniają istotę wynalazku. W przykładach tych używa się następujących określeń:

System A: układ następujący: n-propanol: woda=7:3 na bibule Whatman nr 1 w temperaturze pokojowej.

System B: układ n-butanol: etanol: woda=4:1:5, zrównoważony w temperaturze pokojowej; układ zstępujący z górną fazą rozwijającą w równowadze z fazą dolną. Bibuła Whatman nr 3MM zbuforowana do pH 6,0 za pomocą 0,05 M roztworu fosforanu jednosodowego.

System C: układ octan etylu: n-butanol: 0,1 M roztwór octanu sodowego (pH 5,0) zrównoważony w $38^\circ C$; układ zstępujący z górną fazą rozwijającą w równowadze z fazą dolną. Bibuła Whatman nr 1 zbuforowana do pH 6,0 za pomocą 0,1 M roztworu octanu sodowego.

R_T oznacza wartość R_F podzieloną przez taką wartość charakterystyczną dla kwasu 3-acetoksymetylo- 7β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4. R_p oznacza wartość R_F podzieloną przez taką wartość charakterystyczną dla kwasu 3-acetoksymetylo- 7β -fenyloacetamido-cefemo-3-karboksylowego-4.

Warunki dla elektroforezy takie, jak opisał Cocker i inni, J. Chem. Soc. 1965, s. 5015.

Przykład I. Otrzymywanie kwasu 7β -(D-amino- α -fenyloacetamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowego-4.

Związek ten otrzymano według następującego schematu, którego poszczególne etapy opisano poniżej bardziej szczegółowo:

Kwas 3-hydroksymetylo- 7β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 $\rightarrow$ 3-hydroksymetylo- 7β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ 3-metoksymetylo- 7β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-

metylu → kwaśny p-toluenosulfonian 7β-amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu → kwas 7β-(D-α-amino-α-fenylacetamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymuje się w następujący sposób:

500 mg kwasu 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 rozpuszcza się w bezwodnym tetrahydrofuranie i zalewa roztworem 300 mg (1,1 równoważnika) dwufenyldwuzometanu w benzynie.

Azot powoli wydziela się i po 2,5 godziny roztwór odparowuje się, rozpuszcza pozostałość w octanie etylu i roztwór przemywa się roztworem kwaśnego węgla sodowego i odparowuje. Otrzymuje się 0,5 g gumowatej substancji, która została się po roztrąceniu z eterem. Próbkę jej przekrystalizowaną z metanolu miała temperaturę topnienia 164°C, $[\alpha]_D^{25} = +25^\circ$ (c 1,0, dioksan), $+22^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 234 nm, $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 255$ ($\epsilon = 13\,300$), 259 nm, $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 151$ ($\epsilon = 7850$), $\nu_{\max}$ (bromoform) 3420 (OH), 3280 (NH), 1750 (β-laktam), 1722 cm⁻¹ (COOR). (Oznaczono: C, 62,2; H, 4,5; N, 5,4; S, 12,1%. C₂₇H₂₄N₂O₅S₂ zawiera: C, 62,3; H, 4,7; N, 5,4; S, 12,3%). R_f = 0,83 (płytką z żelu krzemionkowego G; octan etylu : benzen = 1 : 2).

3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

20 g (38,4 milimola) 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu rozpuszczono w 1500 ml bezwodnego chlorku metylenu i zadano 0,3 ml (2 milimolami) kompleksu eterowego trójfluorku boru. Roztwór dwuzometanu (z 40 g nitrozometylomocznika) w 1500 ml eteru dodano w temperaturze 0°C. Roztwór utrzymywano w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę, po czym przesączono przez warstwę kwasu krzemowego, którą w końcu przemyto dokładnie octanem etylu. Roztwór odparowano, a otrzymaną spienioną pozostałość rozpuszczono w 100 ml etanolu, z którego wykryształizowało 14,3 g (68%) białej substancji o temperaturze topnienia 146–148°C $[\alpha]_D^{25} = 15,6^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 235 i 260 nm ($\epsilon = 14\,800$ i 9100) (oba wzgórki), $\nu_{\max}$ (Nujol) 3295 (–NH–), 1786 (β-laktam), 1725 i 1230 (–COOR–), 1668 i 1646 cm⁻¹ (–CONH–). (Oznaczono: C, 63,1; H, 4,9; N, 5,1; S, 11,5%. C₂₈H₂₆N₂O₅S₂ zawiera: C, 62,9; H, 4,9; N, 5,2; S, 12,0%). MRJ (CDCl₃) 5,76 (–CH₂OCH₃), 6,80 τ (–CH₂OCH₃).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7β-amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 4,0 g (7,65 milimola) 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 60 ml chlorku metylenu ochłodzono do –10°C i zadano 7,5 ml (95 milimolami) pirydyny. Następnie w ciągu 5 minut dodano mieszając roztwór 4,7 g (22,6 milimola) pięciochloru fosforu w 70 ml chlorku metylu, utrzymując temperaturę –10°C. Mieszanie kontynuowano przez dalszych 30 minut. Następnie dodano 75 ml zim-

nego metanolu w takim tempie, by temperatura nie podniosła się powyżej –10°C. Mieszanie kontynuowano przez 2,5 godziny w temperaturze pokojowej. Po dodaniu 105 ml 1 N kwasu solnego mieszano dalej w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę. Warstwę organiczną oddzielono, przemyto wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego i wodą, po czym odparowano. Pozostałość rozpuszczono w 20 ml octanu etylu i dodano roztwór 1,45 g (7,65 milimola) kwasu p-toluenosulfonowego w octanie etylu. Produkt wydzielił się w postaci białej krystalicznej substancji w ilości 3,0 g (67%). Przekrystalizowany z mieszaniny chloroformu z octanem etylu wykazał temperaturę topnienia 150°C, $[\alpha]_D^{25} = -8,3^\circ$ (c 1, chloroform), $\lambda_{\max}$ (etanol) 262 nm ($\epsilon = 7350$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1788 (β-laktam), 1732 i 1230 cm⁻¹ (–COOR). (Oznaczono: C, 58,7; H, 5,0; N, 4,6; S, 10,6%. C₂₉H₃₀N₂O₇S₂ zawiera: C, 58,9; H, 5,3; N, 4,7; S, 10,8%). MRJ (CDCl₃) 5,50 i 5,83 (kwartet, J = 15 c/s, –CH₂OCH₃), 6,86 τ (–CH₂OCH₃).

Kwas 7β-(D-α-amino-α-fenylacetamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

1,85 g (7,72 milimola) N-(III-rzęd.-butoksykarbonylo)-D-fenylglycyny rozpuszczono w 20 ml bezwodnego tetrahydrofuranu, a roztwór ochłodzono do –6°C. Do roztworu dodano 1,09 ml (7,72 milimola) trójetylaminy, a następnie roztworu 1,06 g (7,72 milimola) chloromrówczanu izobutyłu w 4 ml bezwodnego tetrahydrofuranu w takim tempie, by temperatura utrzymywała się poniżej –6°C. Po 30 minutowym mieszanii w temperaturze pokojowej odsączono wydzielony chlorek trójetylaminy. Przesącz wiano do roztworu 3,0 g (5,1 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7β-amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 15 ml acetonitrylu i 5 ml dwumetyloacetamidu. Po 30 minutach rozpuszczalniki usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszczono w octanie etylu. Roztwór ten ekstrahowano nasyconym wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego i wodą, a następnie odparowano rozpuszczalnik. Gumowatą pozostałość rozpuszczono w mieszaninie 3 ml anizolu i 12 ml kwasu trójfluorooctowego, a po 5 minutach roztwór odparowano pod wysoką próżnią. Oleistą pozostałość rozpuszczono w octanie etylu i wiano do dużej ilości lekkiej benzyny (frakcja 60–80°C). Produkt odsączono, wysuszono i zdyspergowano w 200 ml wody. Zawiesinę zadano jonitem „Amberlit” LA1 (AcO–) (20% obj. w eterze, 50 ml) i energicznie wytrząsnęto; utworzoną emulsję oddzielono przez odwirowanie. Warstwę wodną przemyto 3×40 ml octanu etylu i wysuszono w stanie zamrożonym. Otrzymano 1,4 g (72%) białej zliofilizowanej substancji, którą przekrystalizowano z wodnego roztworu propanolu. Temperatura topnienia 245–260°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25} = +100^\circ$ (c 1, woda), $\lambda_{\max}$ (woda) 260 nm ($\epsilon = 8100$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1756 (β-laktam), 1512 i 1692 (–CONH–), 1587 cm⁻¹ (–COO–). (Oznaczono: C, 52,9; H, 5,1; N, 10,5; S, 8,1%. C₁₇H₁₉N₃O₅S·½H₂O zawiera: C, 52,8; H, 5,2; N, 10,9; S, 8,3%). MRJ (D₂O) 2,41 (fenyl), 5,71,

6,88 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$), $R_f=0,09$ (system B); podczas elektroforezy substancja ta wędruje do anody przy pH 1,9.

Przykład II. Otrzymywanie kwasu 7 β -(p-chlorofenyloglioksalamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4:

Związek ten otrzymano przez zacylowanie 2,5 g (4,3 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu za pomocą mieszanego bezwodnika z 1,15 g (6,4 milimola) kwasu p-chlorofenyloglioksalowego i chlorku piwaloilu, metodą ogólną opisaną w przykładzie I. Wydajność 1,5 g (85%). Temperatura topnienia 154–156°C, $[\alpha]_D^{25}=98,5^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 264 nm ($\epsilon=21\,200$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1780 (β -laktam), 1674 i 1520 ($-\text{CONH}-$), 1690 ($-\text{COOH}$), 1720 cm^{-1} (PhCOCO). (Oznaczono: C, 49,1; H, 3,9; N, 6,5; S, 8,0%. $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{S} \cdot \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 49,2; H, 3,8; N, 6,7; S, 7,7%). MRJ (CDCl_3) 2,54, 1,70 (fenyl), 5,57, 6,63 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$). $R_f=0,43$ (system B), 0,65 (system C).

Przykład III. Kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-etoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

10 g (19,2 milimola) 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu rozpuszczono w 1000 ml bezwodnego chlorku metylenu i zadano 0,2 ml (1,33 milimola) kompleksu eterowego trójfluorku boru. Roztwór dwuazotanu (ze 100 g nitrozyloetylomocznika) w 1000 ml lekkiej benzyny (frakcja 60–80°C) dodano w temperaturze pokojowej. Po 30 minutach roztwór przesączono przez warstwę kwasu krzemowego, którą potem przemyto 3×50 ml octanu etylu. Rozpuszczalniki odparowano, a gumowatą pozostałość rozfrakcjonowano chromatograficznie na kolumnie wypełnionej kwasem krzemowym (6,5×25 cm) roztworem octanu etylu:benzen=1:9. Frakcje zawierające wyższy składnik gumowatej substancji ($R_f=0,7$ w układzie octan etylu:benzen=1:5 na płytce krzemowej G) połączono razem i odparowano uzyskując 4,1 g (39%) gumowatej pozostałości będącej 3-etoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanem-4 dwufenylometylu. Łańcuch boczny w pozycji 7 usunięto w sposób podobny do opisanego w przykładzie I. Wydajność końcowego produktu 1,42 g (12,5%) w przeliczeniu na związek hydroksymetylowy. Temperatura topnienia 154°C, $[\alpha]_D^{25}=-7,1^\circ$ (c 1, CHCl_3), $\lambda_{\max}$ (etanol) 262 nm ($\epsilon=7400$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1782 (β -laktam), 1220, 1712 ($-\text{COOR}$), 1175 cm^{-1} (SO_3^-). (Oznaczono: C, 59,6; H, 5,3; N, 4,5; S, 10,0%. $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 59,5; H, 5,5; N, 4,6; S, 10,6%). MRJ (CDCl_3) 5,44 i 5,83 (kwartet: J=16 c/s, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 6,78, 8,95 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Kwas 7 β -(D-a-amino-a-fenylacetamido)-3-etoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 otrzymano w następujący sposób:

2,0 g (3,34 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-etoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu zacylowano mieszanym bezwodnikiem z 1,21 g (4,8 milimola) N-(III-rzęd.-butoksykarbonylo)-D-fenylglicyny i chloromrówczanu izobutylu ogólną metodą opisaną w przykładzie I. Wydajność 1,1 g (84%). Temperatura

topnienia 183–230°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25}=74,8^\circ$ (c 1, H_2O), $\lambda_{\max}$ (woda) 260 nm ($\epsilon=7350$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1775 (β -laktam), 1698, 1560 ($-\text{CONH}-$), 1630 cm^{-1} ($-\text{COO}-$). MRJ (D_2O) 2,45 (fenyl), 5,80, 6,50, 8,85 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$). $R_f=0,66$ (system A), 0,13 (system B).

Przykład IV. 3-chlorometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

5,2 g (10 milimoli) 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu i 4 ml (40 milimoli) pirydyny w 75 ml bezwodnego tetrahydrofuranu dodano kroplami w 20°C do roztworu 2,38 g (1,45 ml, 20 milimoli) chlorku tionylu w 25 ml bezwodnego tetrahydrofuranu w przeciągu godziny. Po 15 minutach mieszaninę wiano do solanki, a produkt wyekstrahowano octanem etylu, ekstrakt organiczny odwodniono i zateżono. Zateżony roztwór wkropiono do eteru naftowego (frakcja 40–60°C), z którego wyodrębniono 3,9 g (73%) stałego produktu. Próbką przekrystalizowaną z etanolu posiadała temperaturę topnienia 125–133°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25}=6,5^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 235 nm ($\epsilon=13\,200$), 266 nm ($\epsilon=8000$), $\nu_{\max}$ (bromoform) 3390 ($-\text{NH}-$), 1785 (β -laktam), 1725 ($-\text{COOR}$), 1682 i 1510 cm^{-1} ($-\text{CONH}-$). MRJ (CDCl_3) 5,63 τ singlet grupy 3-metylenowej. (Oznaczono: C, 60,7; H, 4,7; N, 4,7; S, 11,7; Cl, 6,2%. $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{Cl}$ zawiera: C, 60,2; H, 4,3; N, 5,2; S, 11,9; Cl, 6,6%). $R_f=0,47$ (płytką krzemionkową, benzen:octan etylu=5:1).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-n-propoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 1,5 g (2,8 milimola) 3-chlorometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 80 ml acetonu zadano roztworem 0,45 g (3,0 milimoli) jodku sodowego w 15 ml acetonu. Roztwór pozostawiono w ciemności przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Roztwór przesączono i wiano do wody. Mieszaninę wyekstrahowano 3×15 ml eteru, a ekstrakt eterowy odwodniono nad siarczanem magnezowym i odparowano. Gumowatą pozostałość rozpuszczono w 50 ml n-propanolu i zadano 4 g (9,6 milimola) wodzianu nadchloranu rtęciowego. Po 5 minutach czarny osad odsączono na ziemi okrzemkowej. Przesącz odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszczono w octanie etylu, przesączono, przemyto wodnym roztworem kwaśnego węglanu sodowego i wodą, odwodniono i odparowano. Otrzymaną gumowatą pozostałość rozfrakcjonowano chromatograficznie na kolumnie z kwasem krzemowym (4,5×25 cm) w roztworze benzen:octan etylu=9:1. Frakcje zawierające związek n-propoksymetylowy (R_f około 0,7, octan etylu:benzen=1:5 na żelu krzemionkowym G) połączono razem i odparowano, uzyskując 0,6 g (38%) suchej pozostałości. Łańcuch boczny w pozycji 7 usunięto podobnym sposobem, jak opisany w przykładzie I. Wydajność ostatecznego produktu 85 mg (5% w przeliczeniu na związek 3-chlorometylowy). Produkt ten krystalizował z mieszaniny chloroformu z octanem etylu w postaci bezbarwnych igieł. Temperatura topnienia 155–159°C (rozkład),

$[\alpha]_D^{25} = -7^\circ$ (c 1, CHCl_3), $\lambda_{\max}$ (etanol) 263 nm ($\epsilon = 7000$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1788 (β -laktam), 1710 ($-\text{COOR}$), 1185 cm^{-1} (SO_3^-). MRJ (CDCl_3) 5,42 i 5,79 ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,80, 8,58, 9,18 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). (Oznaczono: C, 60,9; H, 5,7; N, 4,2; S, 10,1%). $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2$ zawiera: C, 61,0; H, 5,6; N, 4,6; S, 10,5%.

Przykład V. 3-benzoiloksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

1,58 g (1,58 ml, 20 milimoli) pirydyny dodano kroplami w temperaturze pokojowej do roztworu 2,08 g (4 milimoli) 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu (otrzymanego jak opisano w przykładzie I) w 50 ml bezwodnego tetrahydrofuranu zawierającego 2,88 g (2,36 ml, 20 milimoli) chlorku benzoilu. Mieszaninę mieszano przez 45 minut, przesączono i odparowano do suchości. Pozostałość rozdzielono pomiędzy octan etylu a 1 N roztwór kwaśnego węgla sodowego, po czym warstwę organiczną przemyto rozcieńczonym roztworem kwaśnego węgla sodowego, kwasem solnym, a na końcu solanką. Bezwodny roztwór odparowano, uzyskując 2,389 g (96%) stałej substancji, którą przemyto eterem. $R_f = 0,78$ (żel krzemionkowy G, octan etylu:benzen=1:2), $R_f = 0,62$ (żel krzemionkowy G, octan etylu:benzen=1:5).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7-amino-3-benzoiloksymetylocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

16 ml (192 milimole) bezwodnej pirydyny dodano do roztworu 10 g (16 milimoli) 3-benzoiloksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu w 125 ml bezwodnego chlorku metylenu w temperaturze -10°C . Mieszając roztwór dodawano w ciągu 5 minut do niego roztworu 10 g (48 milimoli) pięciochlorku fosforu w 150 ml chlorku metylenu. Mieszanie i chłodzenie kontynuowano przez 30 minut, po czym dodawano 160 ml metanolu ochłodzonego lodem w takim tempie, by temperatura nie podniosła się powyżej -10°C i prowadzono reakcję w -10°C przez 30 minut, a w końcu w temperaturze pokojowej przez 90 minut. Mieszaninę ochłodzono do 0°C i dodano 225 ml 1 N roztworu kwasu solnego; mieszanie prowadzono jeszcze przez 90 minut. Warstwę chlorku metylenu oddzielono, przemyto roztworem kwaśnego węgla sodowego i solanką i odwodniono nad siarczanem magnezowym. Po odparowaniu rozpuszczalnika gumowatą pozostałość rozpuszczono w 100 ml octanu etylu i dodano stężonego roztworu 3,07 g (16 milimoli) p-toluenosulfonianu w octanie etylu, utrzymując mieszaninę w 0°C przez 1 godzinę. 0,9 g (83%) wydzielonego produktu odsączono, przemyto acetonem i wysuszono. Temperatura topnienia $150-151^\circ\text{C}$ (rozkład), $[\alpha]_D^{23} = 12,6^\circ$ (c 1,0, dwumetylosulfotlenek), $\lambda_{\max}$ (etanol) 221-222 nm ($\epsilon = 32000$), 263 nm ($\epsilon = 8000$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1793 (β -laktam), 1722 ($-\text{COOR}$), 710 i 680 cm^{-1} (fenyl). MRJ (dwumetylosulfotlenek) 1,9-3,1 τ , 9 aromatycznych protonów. (Oznaczono: C, 61,6; H, 4,9; N, 3,8; S, 9,2%). $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 61,7; H, 4,9; N, 4,1; S, 9,4%. $R_f = 0,3$ (płytki żelu krzemionkowego G, octan etylu:benzen=1:5).

Podczas elektroforezy przy pH 1,9 i 7,0 produkt unosił część dodatniego ładunku siatki.

Przykład VI. 3-acetoksymetylo-7 β -waleramido-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

Zawiesinę 3,25 g (15 milimoli) pomarańczowego tlenku rtęciowego i 2,95 g (15 milimoli) hydrazonu benzofenonu w 100 ml eteru naftowego (frakcja 40-60°C) mieszano w ciemności przez 6 godzin w temperaturze pokojowej. Mieszaninę przesączono, a przesącz dodano do roztworu 3,56 g (10 milimoli) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -waleramido-cefemo-3-karboksylowego-4 w 100 ml dioksanu. Roztwór pozostawiono przez noc, po czym rozpuszczalniki odparowano na wyparce rotacyjnej przy temperaturze łaźni 30°C , uzyskując ciemno czerwony syrop. Syrop ten rozpuszczono w 200 ml octanu etylu i roztwór przemyto 200 ml 2 N kwasu solnego, 200 ml 3% roztworu kwaśnego węgla sodowego, 200 ml wody i 200 ml solanki, a następnie odwodniono nad siarczanem magnezowym. Po odparowaniu bezwodnego roztworu uzyskano 6,2 g żółtego syropu wykazującego większą plamkę c $R_f = 0,45$ i kilka mniejszych plamek na chromatogramie cienkowarstwowym (żel krzemionkowy GF₂₅₄ jako absorbent, octan etylu:benzen=1:4 jako układ rozwijający: wykrywanie UV). Syrop ten rozpuszczono w 25 ml benzenu, po czym przy energicznym mieszaniu tego roztworu dodawano do niego powoli 50 ml eteru naftowego (frakcja 40-60°C). Wydzielony kremowy osad odsączono, przemyto 20 ml mieszaniny eter naftowy:benzen=2:1 i 25 ml eteru naftowego, po czym wysuszono pod próżnią otrzymując 5,22 g (85%) 3-acetoksymetylo-7 β -waleramido-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu. $R_f = 0,45$ (chromatografia cienkowarstwowa jak wyżej), $[\alpha]_D^{21} = +124^\circ$ (c 1,02, dioksan), $\lambda_{\max}$ (etanol) 263-264 nm ($\epsilon = 8300$), $\nu_{\max}$ (CHBr_3) 1788 (β -laktam), 1730 (ester), 1688 i 1508 cm^{-1} (amid). MRJ (CDCl_3) 2,63 (singlet protonu 10; $\text{Ph}_2\text{C}-$), 3,03 (singlet protonu 1; $\text{Ph}_2\text{CH}\cdot\text{O}_2\text{C}$), 3,50 (dublet protonu 1, $J = 8,5$ c/s; CONH), 4,12 (podwójny dublet protonu 1, $J = 8,5$ c/s; C-7 H), 5,03 (dublet protonu 1, $J = 5$ c/s; C-6 H), 4,91 i 5,24 (dwa dublety protonu 1 - odgałęzienie kwartetu, $J = 14$ c/s; C-3 CH_2), 6,38 i 6,72 (dwa dublety protonu 1 - odgałęzienia kwartetu, $J = 18$ c/s; C-2 H_2), 7,73 (tryplet protonu 2, $J = 7$ c/s; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$), 7,97 (singlet protonu; 3; CH_3CO), 8,00-8,90 (multiplet protonu 4; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$), 9,11 τ (tryplet protonu 3, $J = 6$ c/s; CH_3CH_2-). (Oznaczono: C, 64,6; H, 5,8; N, 5,1; S, 6,0%). $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ zawiera: C, 64,4; H, 5,8; N, 5,4; S, 6,1%.

Przekształcenie 3-acetoksymetylo-7 β -waleramido-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu w kwas 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylan-4 dokonano w następujący sposób:

Roztwór 2,61 g (5 milimoli) 3-acetoksymetylo-7 β -waleramidocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu w 40 ml chlorku metylenu i 5 ml pirydyny ochłodzono do -20°C i przy energicznym mieszaniu wlało do niego w ciągu 2 minut zimny roztwór 3,12 g (15 milimoli) pięciochlorku fosforu w 50 ml chlorku metylenu. Roztwór (później zawiesinę) mieszano w -10°C przez 30 minut, do-

dano 50 ml ochłodzonego w lodzie metanolu i kontynuowano mieszanie przez 30 minut w -10°C , a następnie przez jedną godzinę w temperaturze pokojowej. Roztwór ochłodzono do 0°C i dodano 70 ml ochłodzonego w lodzie 1 N kwasu solnego, po czym powstały układ dwufazowy mieszano przez 45 minut, pozwalając mu dojść do temperatury pokojowej. Następnie dodano roztworu 7,5 g fosforanu trójpotasowego w 15 ml wody i nastawiono na pH 8,0 przez dodanie 57 ml 2 N roztworu wodorotlenku sodowego. Warstwę chlorku metylenu oddzielono i połączono z ekstraktami po ekstrakcji fazy wodnej za pomocą 2×50 ml chlorku metylenu. Połączony roztwór organiczny przemyto 50 ml wody i 50 ml solanki, po czym odwodniono nad siarczanem magnezowym.

Po częściowym odparowaniu odwodnionego roztworu (wyparka wirowa, następnie próżniowa pompa olejowa przez 1 godzinę) uzyskano 3,54 g brązowego oleju, który po rozcieńczeniu 3 ml anizolu umieszczono w naczyniu chłodzonym wodą i lodem i zadano 15 ml kwasu trójfluorooctowego. Mieszaninę utrzymywano w 0°C aż do widocznych oznak zakończenia reakcji, po czym trzymano jeszcze w temperaturze pokojowej przez 15 minut. Mieszaninę wlewo do 120 ml ochłodzonego w lodzie metanolu dodając jednocześnie 48 ml trój-n-butyloaminy w celu nastawienia pH równego 3,5. Mieszaninę w czasie dodawania reagentów chłodzono w łaźni wypełnionej lodem z solą i wstawiono na noc do lodówki. Wydzielony osad odsączono, przemyto 10 ml metanolu oraz 10 ml eteru i wysuszono pod próżnią, uzyskując 1,02 g (75%) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4 o λ_{max} (bufor pH 6) 264 nm ($\epsilon=7750$), zidentyfikowanego z autentycznym materiałem na podstawie chromatografii bibułowej oraz widm w podczerwieni i magnetycznego rezonansu protonowego.

Przykład VII. Kwas 3-metylo-7 β -fenyloacetamido-cefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

2,0 g (9,35 milimola) kwasu 7 β -amino-3-metylocefemo-3-karboksylowego-4 rozpuszczono w 40 ml 5% wodnego roztworu kwaśnego węglanu sodowego (23,8 milimola) i dodano 25 ml acetonu. Do roztworu dodano mieszając w 23°C w ciągu 10 minut 1,5 ml (11,7 milimola) świeżo przedestylowanego chlorku fenyloacetyl w 15 ml acetonu. Mieszaninę reakcyjną mieszano dalsze 20 minut, po czym dalej mieszając dodano 40 ml octanu etylu i 10 ml 6 N kwasu solnego. Warstwę wodną oddzielono, a następnie wyekstrahowano 2×25 ml octanu etylu. Oba ekstrakty połączono razem, mieszano przez 10 minut z dodatkiem 1 g węgla aktywnego, odwodniono nad bezwodnym siarczanem sodowym, przesączono i odparowano do małej objętości do wystąpienia krystalizacji. Zatężony roztwór pozostawiono przez 1 godzinę w 0°C , po czym osad oddzielono, przemyto mieszaniną octanu etylu i eterem dwuetylowym i wysuszono w 40°C pod próżnią, uzyskując 1,73 g (55,5%) produktu. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +206^{\circ}$ (c 0,5, bufor fosforanowy pH 7), λ_{max} (pH 7) 261 nm ($\epsilon=8250$). (Oznaczono: C, 57,2; H, 4,8; N, 8,8; S, 9,75%. $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}$ (332,4) zawiera: C,

57,8; H, 4,85; N, 8,45; S, 9,65%). $R_f=0,775$ (n-propanol: woda=7:3).

3-metylo-7 β -fenyloacetamido-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 1,0 g (3,01 milimola) kwasu 3-metylo-7 β -fenyloacetamidocefemo-3-karboksylowego-4 w 15 ml dioksanu zadano roztworem ok. 1 równoważnika dwufenylo-dwuazometanu w 5 ml eteru naftowego (frakcja $40-60^{\circ}\text{C}$). Mieszaninę pozostawiono na noc, a uzyskany różowy żel zmieszano i roz tarto ze 100 ml eteru uzyskując 1,42 g (95%) estru dwufenylo-metylowego. $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +15,5^{\circ}$ (c 1,00, chloroform), λ_{max} 258 nm ($\epsilon=7080$), ν_{max} (CHBr₃) 1770 (β -laktam), 1715 cm^{-1} ($-\text{CO}_2\text{R}$). MRJ ($\text{CDCl}_3 + \text{Me}_2\text{SO}-d_6$) 7,82 τ ($3-\text{CH}_3$). (Oznaczono: C, 69,1; H, 5,5; N, 5,4; S, 6,2%. $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (498,6) zawiera: C, 69,85; H, 5,3; N, 5,6; S, 6,4%).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7-amino-3-metylocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

Z 1,5 g (3 milimoli) 3-metylo-7 β -fenyloacetamidocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu usunięto łańcuch boczny w pozycji 7 w sposób podobny do opisanego w przykładzie I. Wydajność surowego produktu 1,14 g (66%). Przez roztarcie z octanem etylu uzyskano czysty produkt o λ_{max} (etanol) 258 nm ($\epsilon=6750$), λ_{max} (CHBr₃) 1772 (β -laktam), 1713 cm^{-1} ($-\text{CO}_2\text{R}$). MRJ (CDCl_3) 7,82 τ ($3-\text{CH}_3$). (Oznaczono: C, 59,0; H, 5,0; N, 4,7%. $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 58,9; H, 5,3; N, 4,9%).

Przykład VIII. 3-acetoksymetylo-7 β -(4'-dwufenylo-metoksykarbonylobutanamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

26 g (0,133 mola) hydrazonu benzofenonu, 30 g bezwodnego siarczanu sodowego, 400 ml bezwodnego eteru, 10 ml nasyconego roztworu etanolowego wodorotlenku potasowego i 70 g żółtego tlenku rtęciowego mieszano w ciemności przez 90 minut w temperaturze pokojowej. Mieszaninę przesączono, osad na sączku przemyto starannie eterem i połączone przesącze zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze pokojowej uzyskując ciemno-czerwony olej, który rozpuszczono całkowicie w 200 ml eteru naftowego (frakcja $40-60^{\circ}\text{C}$) i dodano do roztworu 14,54 g (37,6 milimola) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(4'-karboksybutanamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 (otrzymanego przez acylowanie kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4 bezwodnikiem kwasu glutarowego) w 500 ml dioksanu. Mieszaninę pozostawiono w ciemności przez 16 godzin w temperaturze pokojowej i zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze pokojowej, uzyskując czerwony olej, który rozpuszczono w 300 ml octanu etylu i roztwór przemyto 300 ml 2 N kwasu solnego, 300 ml 3% roztworu kwaśnego węglanu sodowego, 300 ml sody, 300 ml solanki. Po odwodnieniu roztworu nad siarczanem magnezowym zatężono go pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując żółtawy produkt stały, który po rozpuszczeniu w 200 ml benzenu i dodaniu powoli około 400 ml eteru naftowego (frakcja $40-60^{\circ}\text{C}$) aż do wystą-

pienia zmętnienia, zaszczipiono, wymieszano i pozostawiono do krystalizacji. Następnie dodano eteru naftowego do łącznej zawartości 1,0 l i odstawiono na 2 dni do lodówki w celu dokończenia krystalizacji. Krystaliczny produkt odsączono pod próżnią, przemyto starannie eterem naftowym (40–60°C) i wysuszono pod próżnią w 40°C przez noc, uzyskując 25,32 g (93,6%) czystego produktu o temperaturze topnienia 125–127°C, $[\alpha]_D^{20} = +16,2^\circ$ ($c = 0,99$, dioksan). Chromatografia cienkowarstwowa: $R_f = 0,69$ oraz ślad zanieczyszczenia na linii wyjściowej (absorbent żel krzemionkowy, układ rozwijający octan etylu:benzen=1:2); $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ (etanol) λ_{max} 265 nm ($\epsilon = 8200$). (Oznaczon: C, 67,5; H, 5,4; N, 3,7; S, 4,53%). Obliczono z wzoru sumarycznego $C_{41}H_{38}N_2O_8S$: C, 68,5; H, 5,3; N, 3,9; S, 4,5%).

Kwas 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 3,54 g (5 milimoli) 3-acetoksymetylo-7 β -(4'-dwufenylometoksykarbonylobutanamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w 132 ml osuszonego nad P_2O_5 chlorku metylenu i 5,1 ml (64 milimolach) pirydyny ochłodzono do –20°C i dodano zimnego roztworu 3,2 g (15 milimoli) pięciochlorku fosforu w 57 ml bezwodnego chlorku metylenu w ciągu 3 minut, w czasie których temperatura roztworu wzrosła do –14°C. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 45 minut w –10°C, a następnie w ciągu 30 sekund dodano 33 ml ochłodzonego do –20°C metanolu. Mieszanie kontynuowano przez 30 minut w –10°C, a następnie przez 1 godzinę w 20°C, w którym to czasie żółtawa barwa mieszaniny reakcyjnej uległa rozjaśnieniu. Następnie dodano 110 ml ochłodzonego lodem 1 N roztworu kwasu solnego i mieszano energicznie w 20°C przez 45 minut. Wtedy dodano roztworu 4,16 g fosforanu trójpotasowego w 8,4 ml wody, a potem 112 ml 2 N roztworu wodorotlenku sodowego aż do osiągnięcia pH=8,0. Warstwę chlorku metylenu oddzielono, zaś warstwę wodną wyekstrahowano 2×25 ml chlorku metylenu. Połączone ekstrakty przemyto 25 ml wody i 25 ml solanki, a następnie odwodniono nad 65 g siarczany magnezowego i zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskując 5,44 g oleju. Olej ten rozpuszczono w 2,5 ml anizolu, ochłodzono do –15°C i wdroplono mieszając w ciągu 7 minut 7,28 ml kwasu trójfluorooctowego. Temperaturę podwyższono do 25°C i mieszano przez 30 minut. Mieszaninę reakcyjną wraz z 11 ml trójetyleaminy wlało jednocześnie do 88 ml metanolu z taką szybkością, by pH utrzymywało się stale poniżej 7 osiągając w końcu 3,5, a temperatura utrzymywała się w granicach –10°C. Mieszaninę przechowano przez noc w lodówce, po czym powstały osad odsączono, przemyto 2×5 ml metanolu, 2×5 ml chlorku metylenu i 2×5 ml eteru, wysuszono pod próżnią w 40°C uzyskując 0,940 g (69,0%) produktu. $[\alpha]_D^{20} = +116,9^\circ$ (c 1,0, 0,5 N roztwór $NaHCO_3$), $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ λ_{max} 263 nm ($\epsilon = 8550$) (0,1 N $NaHCO_3$). Stwierdzono, że pH ługu macierzystego wynosiło poniżej 3,5, po czym po nastawieniu na tę wartość uzyskano dalsze 0,135 g (9,9%) kwasu 3-acetoksymety-

lo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4 o $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ λ_{max} 267 nm ($\epsilon = 8180$).

Przykład IX. Otrzymywanie kwasu 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4.

Związek ten otrzymano według następującego schematu reakcji, którego poszczególne etapy opisano poniżej bardziej szczegółowo:

3-chlorometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3--karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ 3-jodometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylo-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ kwas 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylocefemo-3-karboksylowy-4.

3-jodometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

7,858 g (14,5 milimola) 3-chlorometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu rozpuszczono w acetonie i poddano w ciemności reakcji z roztworem 7,8 g (50 milimoli) jodku sodowego w 100 ml acetonu przez 90 minut. Pod koniec tego okresu czasu roztwór przesączono i wlało do 750 ml wody zawierającej chlorek sodowy i tiosiarczan sodowy. Wydzielony olej wyekstrahowano 4-krotnie eterem, a warstwę organiczną przemyto 1 raz wodą i 2 razy solanką, a następnie osuszono i odparowano otrzymując spienioną pozostałość, którą przekrystalizowano z 16 ml octanu etylu, uzyskując ostateczny produkt. Ług macierzysty przemyto roztworem tiosiarczany sodowego, wodą i solanką, osuszono i odparowano uzyskując 2,75 g (około 30%) zanieczyszczonego produktu. Wydajność produktu krystalicznego 60%. Temperatura topnienia 155–161°C (rozkład). $[\alpha]_D^{20} = -86,3^\circ$ (c 0,73, tetrahydrofuran), λ_{max} (etanol) 290 nm ($\epsilon = 8400$), ν_{max} (Nujol) 1773 (β -laktam), 1717 (CO_2R), 1670 i 1520 cm^{-1} ($-CONH-$). MRJ (deuteriochloroform) 5,70 τ (szeroki singlet protonu 2, CH_2J). (Oznaczone: C, 51,6; H, 3,7; J, 19,7; N, 4,3; S, 10,2%). $C_{37}H_{23}JN_2O_4S_2$ zawiera: C, 51,3; H, 3,7; J, 20,1; N, 4,4; S, 10,2%). $R_f = 0,65$ (żel krzemionkowy G, benzen:octan etylu=5:1, chromatogram cienkowarstwowy).

3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 8 g (12,7 milimola) 3-jodometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w bezwodnym benzenie zadano 4 g (26,2 milimola) N-(1-cykloheksenylo)-pirolidyny i gotowano pod chłodnicą zwrotną przez 5 minut. Następnie roztwór ochłodzono i dodano mieszaniny 20 ml 2 N kwasu solnego z 80 ml acetonu. Zawiesinę wytrząsano energicznie aż cały olej się rozpuścił, po czym dodano 300 ml octanu etylu i 100 ml wody. Po wytrząśnięciu warstwę wodną oddzielono i odrzucono, zaś warstwę organiczną przemyto wodnym roztworem tiosiarczany sodowego, wodnym roztworem kwaśnego węglanu sodowego i wodą, po czym osuszono i odparowano.

Spiononą pozostałość rozpuszczono w 25 ml octanu etylu, a po 15 minutach wydzielony osad odsączono, przemyto etanolem i wysuszono uzyskując 4,5 g (59%) produktu, który krystalizował z etanolu w postaci pryzmatycznych kryształów o temperaturze topnienia 167–170°C, $[\alpha]_D^{23} = +8,5^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), λ_{inf} (etanol) 260 nm ($\epsilon = 7500$), ν_{max} (CHBr₃) 1780 (β -laktam), 1720 (COOR), 1702 ($>=0$), 1682 i 1512 cm⁻¹ (—CONH). MRJ (CDCl₃) 7,3–9,0 τ (protony w pierścieniu cykloheksanonu). (Oznaczono: S, 65,4; H, 5,4; N, 4,5; S, 10,7%. C₃₃H₃₂N₂O₅S₂·1/2H₂O zawiera: C, 65,6; H, 5,4; N, 4,6; S, 10,6%).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 2,25 g (3,75 milimola) 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu i 3,75 ml (4,75 milimola) pirydyny w 30 ml chlorku metylenu ochłodzono do -10°C i zadano roztworem 2,35 g (11,3 milimola) pięciochlorku fosforu w 35 ml chlorku metylenu w ciągu 5 minut, po czym roztwór mieszano w -10°C przez 30 minut. Następnie dodawano 37,5 ml metanolu w takim tempie, by temperatura nie podniosła się powyżej -10°C, zaś po dodaniu całej ilości metanolu pozwolono by wzrosła do temperatury pokojowej. Po odstaniu się roztworu przez 5 godzin, ochłodzono go do -10°C i zadano 50 ml wody energicznie mieszając. Mieszanie kontynuowano w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Warstwę organiczną oddzielono i przemyto kolejno rozcieńczonym kwasem octowym, wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego i wodą, po czym osuszono i odparowano. Gumowatą pozostałość rozpuszczono w 20 ml octanu etylu i 50 ml eteru i zadano 0,73 g (7,7 milimola) kwasu p-toluenosulfonowego w 30 ml octanu etylu. Otrzymany produkt wydzielono w postaci pryzmatycznych kryształów w ilości 0,80 g (33%). Produkt ten można przekrystalizować z mieszaniny chloroformu z octanem etylu. Temperatura topnienia 162–166°C (rozkład). $[\alpha]_D = -0,9^\circ$ (c 1, chlorurek metylenu:metanol=4:1 (objętościowo), λ_{max} (etanol) 259 nm ($\epsilon = 6900$), ν_{max} (Nujol) 1780 (β -laktam), 1718 (COOR), 1700 cm⁻¹ ($>=0$). MRJ [(CD₃)₂SO] 7,30 (protony w pierścieniu cykloheksanonu), 7,5–8,9 τ (protony w pierścieniu cykloheksanonu). (Oznaczono: C, 62,3; H, 5,7; N, 3,9; S, 9,4%. C₃₄H₃₆N₂O₇S₂·1/2H₂O zawiera: C, 62,1; H, 5,7; N, 4,3; S, 9,7%).

Kwas 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylocefemo-3-karboksylanu-4 otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 0,92 g (3,35 milimola) N-(III-rzęd.-butoksykarbonylo)-D-fenyloglicyny w 10 ml bezwodnego tetrahydrofuranu zadano w -6°C 0,54 ml (3,35 milimola) trójetiloaminy, a następnie roztworem 0,53 g (3,36 milimola) chloromrówczanu izobutyli w 4 ml bezwodnego tetrahydrofuranu w takim tempie, by temperatura nie podniosła się powyżej -6°C. Po 30 minutowym mieszanym w temperaturze pokojowej odsączono wydzielony chlorek trójetiloaminiowy. Przesącz wiano do roztworu 1,5 g (2,55 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -

-amino-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 8 ml acetonitrylu i 4 ml N,N-dwumetyloacetamidu. Po 60 minutach rozpuszczalniki usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Roztwór pozostałości w octanie etylu przemity wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego i sodą, a następnie osuszono i odparowano rozpuszczalnik. Gumowatą pozostałość zadano 3 ml anizolu i 12 ml kwasu trójfluorooctowego, a po 5 minutach reagenty te usunięto pod próżnią. Pozostały olej zdyspergowano w 100 ml wody i zadano 10% żywicą Amberlit LAl (OAc-) w 50 ml eteru. Po wytrząśnięciu wodną warstwę oddzielono i przemyto 4×50 ml octanu etylu, a następnie wysuszono w stanie zamrożonym, uzyskując 700 mg (68%) stałego produktu o temperaturze topnienia 150–210°C, λ_{max} (H₂O) 261 nm ($\epsilon = 6600$), ν_{max} (Nujol) 1766 (β -laktam) 1700 ($>=0$), 1680 i 1530 (—CONH—), 1620 cm⁻¹ (—COO—). MRJ [(CD₃)₂SO] 2,52 (fenyl), 7,0–9,0 τ (protony w pierścieniu cykloheksanu). $R_f = 0,17$ (system B), 0,06 (system C). Elektroforeza przy pH 1,9 daje 2 plamki, obie dające zabarwienie z ninhydriną. Plamka szybsza nie absorbująca promieniowania ultrafioletowego odpowiada swym zachowaniem α -fenyloglicynie. Frakcja większa absorbuje UV.

Przykład X. Otrzymywanie kwasu 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4:

Związek ten otrzymano według następującego schematu reakcji, którego etapy opisano poniżej bardziej szczegółowo:

3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ kwas 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 $\rightarrow$ kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ kwas 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4.

3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

2,08 g (4 milimole) 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu i 1,58 ml (20 milimoli) pirydyny rozpuszczono w 100 ml bezwodnego tetrahydrofuranu i ochłodzono do -20°C i dodano kroplami roztworu 2,95 g (1,96 ml, 20 milimoli) chlorku dwuchloroacetylu w 5 ml bezwodnego tetrahydrofuranu. Po 15 minutach mieszaninę przesączono i odparowano, a pozostałość rozdzielono pomiędzy octan etylu i roztwór kwaśnego węgla sodowego. Warstwę organiczną przemyto solanką, osuszono i zateżono do małej objętości, stężony roztwór wkroplono do benzyny uzyskując 2,1 g (85%) białej stałej substancji o temperaturze topnienia $>60^\circ\text{C}$ (mięknie), $[\alpha]_D^{23} = +17,5^\circ$ (c 1,14, dioksan), λ_{max} (etanol) 236 nm ($\epsilon = 13\,300$), 259 nm ($\epsilon = 7600$), ν_{max} (CHBr₃) 1783 (β -laktam), 1760 (CO₂CHCl₂), 1725 (COOR), 1680 i 1510 cm⁻¹ (CONH). MRJ (CDCl₃) 4,13 τ (—COCHCl₂). $R_f = 0,37$ (płytki żelu krzemionkowego G, benzen:octan etylu=5:1).

Kwas 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

6,8 g 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu rozpuszczono w 5 ml anizolu i dodano 15 ml kwasu trójfluorooctowego. Po 4 minutach rozpuszczalniki usunięto w 30°C. Pozostałość rozpuszczono w octanie etylu i powtórnie odparowano, gumowatą pozostałość rozpuszczono ponownie w 10 ml octanu etylu i wkróplono mieszając do 400 ml eteru naftowego. Otrzymano 4,92 g (95%) produktu w postaci żółtej stałej substancji o temperaturze topnienia >60°C (mięknie, rozkład w 99°C), $[\alpha]_D^{27} = +56^\circ$ (c 0,7, dioksan), $\lambda_{\max}$ (etanol) 237 nm ($\epsilon = 12\,500$), 259 nm ($\epsilon = 7500$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 3390 (NH), 1788 (β -laktam), 1760 (COOR), 1685 i 1518 (CONH), 1735 i 1715 cm⁻¹ (COOH). MRJ (CDCl₃) 4,0 τ (-O · COCHCl₂).

Sól z dwucykloheksyloaminą krystalizuje z acetonu w temperaturze topnienia >100°C (mięknie, rozkład w 210°C), $[\alpha]_D^{25} = +36^\circ$ (c 1,0, chloroform), $\lambda_{\max}$ (etanol) 235 nm ($\epsilon = 13\,600$), 265 nm ($\epsilon = 6950$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1774 (β -laktam), 1765 (COOR), 1635 (COO-), 1680 i 1518 (CONH), 812 cm⁻¹ (CHCl₂). MRJ (CDCl₃) 3,91 τ (-CH₂ · O · COCHCl₂). (Oznaczono: C, 52,0; H, 5,7; N, 6,3; Cl, 14,2%). C₁₆H₁₄Cl₂N₂O₆S₂ · (C₆H₁₁)₂NH zawiera: C, 52,0; H, 5,8; N, 6,5; Cl, 14,8%).

Kwaśny p-toluenosulfonian 7 β -amino-3-izopropoksymetylo-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

14 g (30,1 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w 110 ml izopropanolu ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 45 minut. Po przesączeniu przez warstwę ziemi okrzemkowej roztwór izopropanolowy wlało do 1000 ml wody i nastawiono pH na 8,5. Roztwór wyekstrahowano 2×100 ml octanu etylu i ekstrakty odrzucono. Następnie roztwór zakwaszono do pH 1,5 2 N kwasem solnym i ekstrahowano 3×100 ml octanu etylu. Połączone ekstrakty w octanie etylu osuszono nad siarczanem magnezowym i odparowano. Gumowatą pozostałość rozpuszczono w 40 ml octanu etylu i dodano 60 ml eteru. Osad odsączono, a przesącz odparowano uzyskując 5,9 g pomarańczowej gumowatej substancji.

Roztwór 5,9 g tej pomarańczowej gumowatej substancji w 65 ml tetrahydrofuranu zadano nadmiarem roztworu dwufenyldwiazometanu (otrzymanego z 4,5 g hydrazonu benzofenonu) w 80 ml eteru. Po godzinie roztwór zalano 2 ml lodowatego kwasu octowego i odparowano. Otrzymaną gumowatą pozostałość rozfrakcjonowano chromatograficznie na kolumnie z kwasem krzemowym (4×15 cm) za pomocą benzenu i układu benzen: octan etylu=9:1. Frakcje zawierające substancję o R_f około 0,7 na chromatogramie cienkowarstwowym (żel krzemionkowy GF 254, benzen: octan etylu=5:1) połączone razem i odparowano, uzyskując 1,73 g żółtawej gumowatej substancji, którą zidentyfikowano jako 3-izopropoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu. Łańcuch boczny w pozycji 7 usunięto

ogólną metodą opisaną w przykładzie I uzyskując 600 mg produktu (3,3%) w stosunku do wyjściowego związku dwuchloroacetoksymetylowego. $\lambda_{\max}$ (etanol) 263 nm ($\epsilon = 6600$), $\nu_{\max}$ 1792 (β -laktam), 1728 (COOR), 1130 cm⁻¹ (SO₃-). (Oznaczono: C, 61,1; H, 6,0; N, 4,3; S, 10,3%). C₃₁H₃₄N₂O₇S₂ zawiera: C, 61,0; H, 5,6; N, 4,6; S, 10,5%). MRJ (CDCl₃) 5,41 i 5,83 [kwartet J=16 Hz, -CH₂OCH(CH₃)₂], 6,62, 8,99 τ [-CH₂-CH(CH₃)₂].

W innym doświadczeniu otrzymano 7 β -amino-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w stanie krystalicznym, temperatura topnienia 157–161°C (rozkład), $[\alpha]_D^{28} = -3^\circ$ (c 1,0, etanol), zanim przekształcono go w sól kwasu p-toluenosulfonowego.

Kwas 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

0,94 g (1,47 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-izopropoksymetylocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu zacylowano mieszanym bezwodnikiem otrzymanym z 0,77 g (3,06 milimola) N-(III-rzęd.-butoksykarbonylo)-D-fenyloglicyny i chloromrówczanu izobutyłu, ogólną metodą opisaną w przykładzie I, uzyskując 0,46 g (74%) produktu o $[\alpha]_D^{28} = +45^\circ$ (c 1, H₂O), $\lambda_{\max}$ (woda) 260 nm ($\epsilon = 6900$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1766 (β -laktam), 1695 cm⁻¹ (COO-). MRJ (D₂O) 5,26, 6,02, 8,67 τ [-CH₂OCH(CH₃)₂]. R_f=0,76 (system A), 0,18 (system B). Produkt ten zawiera zanieczyszczenia nie ujawniające się na chromatogramach w świetle ultrafioletowym; głównym zanieczyszczeniem jest prawdopodobnie α -fenyloglicyna (około 30%). (Oznaczono: S:N=1:4,1. Obliczono z wzoru C₁₉H₂₃N₃O₅S: S:N=1:3).

Przykład XI. Otrzymywanie kwasu 7 β -buteno-3-amido-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowego-4.

Roztwór 1,5 g (2,58 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w 3 ml N,N-dwumetyloacetamidu i 10 ml acetonitrylu zadano 1 g (9,6 milimola) chlorku winyloacetyl. Roztwór utrzymywano w temperaturze pokojowej przez 15 minut, a następnie odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostały olej rozpuszczono w octanie etylu, a roztwór wyekstrahowano wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego. Po odparowaniu roztworu krystaliczną pozostałość zadano 10 ml kwasu trójfluorooctowego i 3 ml anizolu. Po 8 minutach reagenty usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszczono w 3 ml octanu etylu, z którego wydzielono 300 mg (37%) produktu w postaci pryzmatycznych kryształów. Temperatura topnienia 157–161°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25} = +95^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 261 nm ($\epsilon = 6600$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1773 (β -laktam), 1662 i 1540 (-CONH-), 1700 cm⁻¹ (COOH). MRJ [D₂O (NaHCO₃)] 4,75 CH₂=CHCH₂-, 3,8–4,27 (CH₂=CHCH₂-), 6,87 (CH₂=CHCH₂-), 5,80 (-CH₂OCH₃), 6,71 τ (-CH₂OCH₃). (Oznaczono: C, 49,7; H, 5,1; N, 9,1; S, 10,1%). C₁₅H₁₆N₂O₅S zawiera: C, 50,0; H, 5,2; N, 9,0; S, 10,3%).

Przykłady XII–XVIII. Przykłady te objaśniają acylację kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -

-amino-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu (otrzymanego jak to opisano w przykładzie I) za pomocą różnych środków acylujących. Acylowanie przeprowadzono w analogiczny sposób jak opisano w przykładzie I. Charakterystykę otrzymanych produktów podano niżej.

Przykład XII. Kwas 7 β -cyanoacetamido-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

Temperatura topnienia 190–192°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25} = +113^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 260–263 nm ($\epsilon=7100$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 2264 (CN), 1772 (β -laktam), 1720 (COOH), 1660 i 1538 cm^{-1} (CONH). MRJ ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaHCO}_3$) 5,78 ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$), 6,70 ($-\text{O}-\text{CH}_3$), 4,32 i 4,80 τ (protony w pozycji 6 i 7). (Oznaczono: C, 46,1; H, 4,2; N, 13,4; S, 10,0%. $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ zawiera: C, 46,3; H, 4,2; N, 13,5; S, 10,3%. $R_f=0,10$ (system C).

Przykład XIII. Kwas 3-metoksymetylo-7 β -trójchloroacetamidocefemo-3-karboksylowy-4 (sól z dwucykloheksyloaminą).

Temperatura topnienia 195–200°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25} = +71^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 262 nm ($\epsilon=6200$), $\nu_{\max}$ (bromoform) 3425 (NH), 1774 (β -laktam), 1722 i 1518 (CONH), 1632 cm^{-1} (COO-). MRJ (CDCl_3) 5,58 (CH_2OCH_3), 6,65 τ (CH_2OCH_3). (Oznaczono: C, 48,8; H, 5,7; N, 7,2; S, 6,6; Cl, 18,0%. $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ zawiera: C, 48,4; H, 6,0; N, 7,4; S, 5,6; Cl, 18,6%). $R_f=0,43$ (system C).

Przykład XIV. Kwas 3-metoksymetylo-7 β -(2',2',2'-trójchloroetoksykarbonyloamino)-cefemo-3-karboksylowy-4 (sól z dwucykloheksyloaminą).

Temperatura topnienia, 171–174°C (rozkład), $[\alpha]_D^{25} = +69^\circ$ (c 1, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 263 nm ($\epsilon=7400$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1776 (β -laktam), 1522 i 1746 ($\text{NHCO}_2\cdot\text{CH}_2\text{CCl}_3$), 1590 i 1636 (COO-), 3445 cm^{-1} (NH). MRJ (CDCl_3) 5,17 ($\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{O}$), 5,57 (CH_2-OCH_3), 6,64 (CH_2OCH_3). (Oznaczono: C, 48,2; H, 5,8; N, 6,9; S, 5,3; Cl, 17,0%. $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ zawiera: C, 48,0; H, 6,0; N, 6,9; S, 5,3; Cl, 17,7%). $R_f=0,51$ (system C).

Przykład XV. Kwas 7 β -S-benzylotioacetamido-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

Temperatura topnienia 101–106°C, $[\alpha]_D^{25} = +128^\circ$ (c 1,0, etanol), $\lambda_{\max}$ (etanol) 255–258 nm ($\epsilon=7300$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1790 (β -laktam), 1742 (COOH), 1684 i 1518 cm^{-1} (CONH). MRJ (CDCl_3) 5,59 ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$), 6,21 ($\text{PhCH}_2-\text{S}-$), 6,64 τ ($-\text{O}-\text{CH}_3$).

Przykład XVI. Kwas 7 β -bromoacetamido-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

Temperatura topnienia 154°C (rozkład), $[\alpha]_D = +95^\circ$ (c 1,01, dioksan), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 258 nm ($\epsilon=9050$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1775 (β -laktam), 1725 ($-\text{CO}_2\text{H}$), 1655 i 1550 (CONH). MRJ ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaHCO}_3$) 5,82 ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$), 6,01 ($\text{Br}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}$), 6,71 ($-\text{O}-\text{CH}_3$), 8,82 i 6,35 τ (0,5 mola etanolu). (Oznaczono: C, 37,5; H, 4,2; Br, 19,9; N, 6,6; S, 8,1%. $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_5 \cdot \frac{1}{2}\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ zawiera: C, 37,1; H, 4,15; Br, 20,6; N, 7,2; S, 8,3%). $R_f=0,26$ (system B).

Przykład XVII. Kwas 7 β -(p-fluorofenoksyacetamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

Temperatura topnienia 146–148°C, $[\alpha]_D^{25} = +65,9^\circ$ (c 1,00, dioksan), $\lambda_{\max}$ (bufor pH 6) 262 nm

($\epsilon=9740$), $\nu_{\max}$ (bromoform) 1780 (β -laktam), 1736 (COOH), 1692 i 1520 cm^{-1} (CONH). (Oznaczono: C, 52,0; H, 4,3; N, 7,2; S, 8,4; F, 4,6%. $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6\text{FS}$ (396) zawiera: C, 51,5; H, 4,3; N, 7,1; S, 8,1; F, 4,8%).

Przykład XVIII. Kwas 7 β -(2',5'-dwuchlorofenyloacetamido)-3-metoksymetylocefemo-3-karboksylowy-4.

Temperatura topnienia 114–125°C (rozkład), R_p (system A), $R_p=2,44$ (system C), $[\alpha]_D^{21} = +123^\circ$ (c 1,00, Me_2SO), $\lambda_{\max}$ (etanol) 262 nm ($\epsilon=6800$), 225 nm ($\epsilon=14300$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 3220 (NH), 1778 (β -laktam), 1710 (CO_2H), 1660 i 1550 cm^{-1} (CONH). MRJ ($[\text{D}_3\text{C}]_2\text{SO}$) 2,4–2,7 (3 protony aromatyczne), 4,23 (podwójny dublet protonu 1, J 8,5 i 5 Hz, 7–H), 4,86 (dublet protonu 1, J 5 Hz, 6–H), 5,77 (singlet protonu 3, 3– CH_2), 6,24 (singlet protonu 2, metylen benzyloowy), 6,43 (singlet protonu 2, 2– CH_2), 6,76 τ (singlet protonu 3, OCH_3). (Oznaczono: C, 46,9; H, 3,7; N, 6,4; S, 7,6; Cl, 15,5%. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{SO}_5\text{Cl}_2$ zawiera: C, 47,3; H, 3,7; N, 6,4; S, 7,4; Cl, 16,4%).

Przykład XIX. Otrzymywanie kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-metylocefemo-3-karboksylanu-4 2,2,2-trójchloroetylowego.

Łańcuch boczny w pozycji 7 z 1,0 g (2,16 milimoli) 3-metylo-7 β -fenyloacetamidocefemo-3-karboksylanu-4 2,2,2-trójchloroetylowego usunięto w podobny sposób jak w przykładzie I, $\lambda_{\max}$ (etanol) 263 nm ($\epsilon=6000$), MRJ (CDCl_3) 7,82 τ (3– CH_3), uzyskując 0,27 g (24%) produktu. $\nu_{\max}$ (Nujol) 1766 (β -laktam), 1720 cm^{-1} (CO_2R). MRJ (CDCl_3) 7,67 (3– CH_3) w stanie zanieczyszczonym.

Przykład XX. Otrzymywanie kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4.

Związek ten otrzymano według następującego schematu reakcji, którego etapy opisano poniżej bardziej szczegółowo:

Kwas 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-karboksy-5'-ketopentanamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 $\rightarrow$ kwas 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-karboksy-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 $\rightarrow$ 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-dwufenylometoksykarboksylo-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu $\rightarrow$ kwas 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowy-4.

Kwas 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-karboksy-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

4,12 g (10 milimoli) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-karboksy-5'-ketopentanamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 o $\lambda_{\max}$ (bufor pH 6) 260 nm ($\epsilon=5270$), $R_{\text{cef C}}=1,14$, śladowe plamki przy $R_{\text{cef C}}=0,45$, 3,73 (system C) zdyspergowano w 100 ml wody i nastawiono na pH 8,0 przez dodatek 0,1 N roztworu wodorotlenku sodowego. Otrzymany roztwór utrzymywano w 0°C dodając jednocześnie 0,38 g (milimoli) borowodorku sodowego; następnie dodano kwasu octowego lodowatego w celu nastawienia na pH 8. Roztwór mieszano w 0°C przez 10 minut, a następnie dodawano żywicy Dowex 50 (forma H Φ) tak długo aż uzyskano wartość pH=2,0. Mieszaninę mieszano dalsze 10 minut, przesączono w celu usunięcia żywicy, a przesącz wysuszone w stanie zamrożonym uzyskując puszystą substancję stałą, którą wytrąsnięto w 3 $\times$ 400 ml eteru, następnie odsączono uzyskując

2,85 g produktu w postaci bezbarwnego proszku. $R_{\text{cef C}} = 2,18$, ν_{max} (bufor pH 6; 29 337) 258 nm ($\epsilon = 6000$), ν_{max} (Nujol) 1780 (β -laktam), 1738 (octan), 1670, 1540 cm^{-1} (amid). MRJ ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaHCO}_3$) 4,33 (dublet protonu 1, J 5 c/s, C-7H), 4,85 (dublet protonu 1, J 4,5 c/s, C-6H), 7,87 τ (singlet protonu 3; CH_3CO).

3-acetoksymetylo-7 β -(5'-dwufenylometoksykarbonylo-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób:

9,82 g (50 milimoli) hydrazanu benzofenonu i 10,84 g (50 milimoli) tlenku rtęciowego w 175 ml eteru naftowego (frakcja 40–60°C) mieszano w ciemności przez 6 godzin w temperaturze pokojowej. Mieszaninę przesączono, a przesącz wlało do 200 ml eteru naftowego. Porcję 30 ml tego roztworu wlało do zawiesiny 1,04 g (2,5 milimola) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-karboksylo-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w 50 ml dioksanu i mieszano przez noc w temperaturze pokojowej. Z uzyskanego roztworu odparowano rozpuszczalniki uzyskując purpurowy olej, który rozpuszczono w 100 ml octanu etylu. Roztwór ten przemyto 100 ml 2 N kwasu solnego, 100 ml 3% roztworu kwaśnego węgla sodowego i 2 $\times$ 100 ml wody, osuszono nad siarczanem magnezowym i odparowano rozpuszczalniki, uzyskując 1,41 g żółtej gumowatej substancji, którą wymieszano w 300 ml eteru przez 7 godzin. Niewielką ilość nierozpuszczonej stałej substancji odsączono, a przesącz odparowano uzyskując 1,07 g żółtego produktu w postaci spienionej. Chromatogram cienkowarstwowy: $R_f = 0,88$ (płytki żelu krzemionkowego, układ rozwijający: aceton), λ_{max} (etanol) 260 nm ($\epsilon = 7000$), ν_{max} (CHBr_3) 1780 (β -laktam), 1730 cm^{-1} (estry).

Kwas 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowy-4 otrzymano w następujący sposób:

1,07 g (4,3 milimola) 3-acetoksymetylo-7 β -(5'-dwufenylometoksykarbonylo-5'-hydroksypentanamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu zadano 0,90 g (4,3 milimola) pięciochlorku fosforu i 1 ml pirydyny w 24 ml chlorku metylenu podobnie jak w przykładzie VI. Kontynuacja procesu poprzednio opisanego dała w wyniku 0,02 g (5%) produktu identycznego pod względem chromatograficznym i spektralnym w podczerwieni z autentycznym materiałem.

Przykład XXII. Otrzymywanie kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4.

Zawiesinę 772 mg (2 milimole) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(4'-karboksybutanamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w 7 ml chlorku metylenu doprowadzono do roztworu przez dodatek 0,55 ml (3,9 milimola) trójetyloaminy, po czym do uzyskanego w ten sposób roztworu dodano 0,515 ml (4,5 milimola) trójmetylochlorosilanu. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 2 godziny, dodano 1,92 ml (24 milimola) pirydyny, po czym po ochłodzeniu do -10°C wdroplono roztwór 1,246 g (6 milimoli) pięciochlorku fosforu w 12 ml chlorku metylenu. Zawiesinę mieszano w -10°C przez 35 minut, po czym wdroplono do niej 5 ml ochłodzonego w lodzie metanolu i mieszano dalej w 0°C przez 3 go-

dziny przed jej waniem do 2 ml wody. Mieszaninę nastawiono na pH 3,5 6 N roztworem wodorotlenku sodowego, po czym po odstaniu się powstałego układu dwufazowego przez 16 godzin w 0°C odsączono 0,033 g (6%) wytrąconego produktu. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +85,9^\circ$ (c 0,99, 0,2 N, bufor fosforanowy pH 7), λ_{max} 261 nm ($\epsilon = 6900$), pH 6 bufor fosforanowy. Przez elektroforezę przy pH 1,9 stwierdzono jego identyczność z autentycznym materiałem.

Przykład XXII. Otrzymywanie kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4:

Do roztworu 777 mg (2 milimoli) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(4'-karboksybutanamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w 7 ml chloroformu zawierającego 0,55 ml (3,9 milimola) trójetyloaminy dodano 0,515 ml (4,5 milimola) trójmetylochlorosilanu, po czym po wymieszaniu w temperaturze pokojowej przez 2 godziny dodano 0,64 ml (8 milimoli) pirydyny, następnie roztwór ochłodzono do -10°C i zadano roztworem 456 mg (2,2 milimola) pięciochlorku fosforu w 10 ml chloroformu w ciągu 2 minut. Mieszaninę reakcyjną mieszano w 0°C przez 30 minut, wdroplono 5 ml ochłodzonego w lodzie metanolu w temperaturze -10°C , roztwór mieszano przez dalsze 3 godziny w 0°C , a w końcu wlało do 2 ml wody. pH roztworu nastawiono na 3,5 6 N roztworem wodorotlenku sodowego i po pozostawieniu na 16 godzin w 0°C odsączono wydzielony z dwufazowego układu produkt w ilości 0,105 g (20%). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +92,7^\circ$ (c 1,11, 0,2 M, bufor fosforanowy pH 7,0), λ_{max} 262 nm ($\epsilon = 6800$) (bufor fosforanowy pH 6). Elektroforeza przy pH 1,9 wykazała, że produkt ten jest identyczny z autentycznym materiałem.

Przykład XXIII. Otrzymywanie kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4:

Do roztworu 0,363 g (1 milimola) kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -pentanamidocefemo-3-karboksylowego-4 w 5 ml chlorku metylenu zawierającego 0,14 ml (1 milimol) trójetyloaminy dodano 0,175 ml (1,5 milimola) trójmetylochlorosilanu, po czym po wymieszaniu w temperaturze pokojowej przez 2,5 godziny dodano 0,32 ml (4 milimole) pirydyny, następnie roztwór ochłodzono do -10°C i zadano roztworem 0,254 g (1,2 milimola) pięciochlorku fosforu w 5 ml chlorku metylenu w ciągu 5 minut. Mieszaninę reakcyjną mieszano w 0°C przez 30 minut, wdroplono w -10°C 5 ml oziębionego lodem metanolu, po czym mieszano w 0°C przez dalsze 2,5 godziny i w końcu wlało do 2 ml wody. Powstały układ dwufazowy mieszano przez 10 minut w temperaturze pokojowej, nastawiono pH na 3,6 6 N roztworem wodorotlenku sodowego, po czym po odstaniu się roztworu przez 16 godzin w 0°C odsączono wytrącony produkt w ilości 0,195 g (72%). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +87,6^\circ$ (c 0,97, 0,2 M bufor fosforanowy pH 7,0), λ_{max} 262 nm ($\epsilon = 7600$). Elektroforeza przy pH 1,9 wykazała, że próbka produktu jest identyczna z autentycznym materiałem.

Przykład XXIV. Otrzymywanie 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylan-4 metylowego.

Roztwór 0,370 g (1 milimola) 3-acetoksy-metylo-7 β -pentanamido-cefemo-3-karboksylan-4 metylu

w 5 ml chlorku metylenu ochłodzone do -10°C i zadano roztworem 0,250 g (1,2 milimola) pięcioclororku fosforu w 5 ml chlorku metylenu. Roztwór mieszano w temperaturze od -10°C do 0°C przez 2 godziny, wkropiono 5 ml ochłodzonego lodem metanolu i kontynuowano mieszanie w 0°C przez 30 minut oraz w temperaturze pokojowej przez dalsze 1,5 godziny. Po dodaniu 5 ml 1 N kwasu solnego powstały układ dwufazowy mieszano w temperaturze pokojowej przez 30 minut, po czym nastawiono na pH 7,0 6 N roztworem wodorotlenku sodowego. Obie fazy rozdzielono, a fazę organiczną po przemyciu wodą odparowano uzyskując 0,340 g gumowatej substancji, która w trakcie elektroforezy przy pH 1,9 dawała większą plamkę (reagującą z ninhydryną), która migrowała w kierunku katody o taki sam dystans co ester kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylowego-4.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania związków cefalosporynowych o ogólnym wzorze 2, w którym X oznacza wodór, grupę hydroksylową, acetoksyłową lub zestryfikowaną hydroksylową taką jak alkoksylową, R^1 oznacza wodór lub resztę związku hydroksylowego o wzorze R^2OH , w którym R^2 oznacza grupę zabezpieczającą grupę karboksylową, **znamienny tym**, że związek o wzorze 3, w którym R^3 oznacza grupę $\text{R}^u(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$ w której R^u oznacza aryl homocykliczny lub heterocykliczny, cykloalkil, podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil lub heterocykliczną grupę niearomatyczną, a n oznacza liczbę całkowitą od 1-4, grupę $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{CO}-$ w której n oznacza liczbę całkowitą od 1-7, a grupa alkilowa może mieć łańcuch prosty lub rozgałęziony, który w pewnych wypadkach może zawierać atom tlenu, siarki lub być podstawiony przez podstawnik taki jak grupa cyjanowa lub karboksylowa, lub grupę $\text{R}^v\text{OCH}_2\text{CO}-$ w której R^v oznacza aryl homocykliczny lub heterocykliczny, cykloalkil, podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil lub niearomatyczną grupę heterocykliczną, a R^2 i Y mają wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji ze składnikiem tworzącym chlorowcoimid, takim jak tlenochlorek fosforu lub pięciochlorek fosforu następnie przeprowadza się chlorowcoimid w iminoeter, hydrolizuje go po czym usuwa się ewentualnie grupę R^2 , a otrzymany związek o wzorze 2 przeprowadza się ewentualnie w sól addycyjną z kwasem, którą ewentualnie acyluje się.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w obecności nieorganicznej lub organicznej zasady.

3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że jako zasadę organiczną stosuje się trzeciorzędową aminę.

4. Sposób według zastrz. 3, **znamienny tym**, że jako trzeciorzędową aminę stosuje się trójetylaminę, pirydynę lub dwumetyloanilinę.

5. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że jako nieorganiczną zasadę stosuje się węglan wapniowy.

6. Sposób według zastrz. 1-5, **znamienny tym**, że składnik tworzący chlorowcoimid dodaje się do

związku 7 β -acyloamidowego w postaci roztworu.

7. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że składnik tworzący chlorowcoimid dodaje się w obojętnym rozpuszczalniku organicznym.

8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że jako obojętny rozpuszczalnik organiczny stosuje się chlorowany węglowodór.

9. Sposób według zastrz. 8, **znamienny tym**, że jako chlorowany węglowodór stosuje się chlorek metylenu.

10. Sposób według zastrz. 1-9, **znamienny tym**, że chlorowcoimid przekształca się w iminoeter przez reakcję z alkoholem w obecności trzeciorzędowej aminy.

11. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że jako alkohol stosuje się niższy alkohol.

12. Sposób według zastrz. 1-11, **znamienny tym**, że iminoeter hydrolizuje się wodą lub niższym alkoholem w obecności zasadowego lub kwaśnego katalizatora.

13. Sposób według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako niższy alkohol stosuje się metanol.

14. Sposób według zastrz. 12 i 13, **znamienny tym**, że jako katalizator kwaśny stosuje się kwas mineralny lub organiczny.

15. Sposób według zastrz. 14, **znamienny tym**, że jako kwaśny katalizator stosuje się kwas chlorowodorowy, trójfluorooctowy lub p-toluenosulfonowy.

16. Sposób według zastrz. 12 lub 13, **znamienny tym**, że jako katalizator zasadowy stosuje się amoniak lub sól słabego kwasu.

17. Sposób według zastrz. 16, **znamienny tym**, że jako sól stosuje się sól metalu alkalicznego lub metalu z grupy ziem alkalicznych.

18. Sposób według zastrz. 1-17, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3, w którym R^2 oznacza łatwo odszczepialną grupę stanowiącą resztę alkoholu lub fenolu a R^3 i Y mają wyżej podane znaczenie.

19. Sposób według zastrz. 1-18, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3, w którym R^2 oznacza grupę dwufenyloetylową, trzeciorzędową butylową lub β , β , β -trójchloroetylową a R^3 i Y mają wyżej podane znaczenie.

20. Sposób według zastrz. 1-19, **znamienny tym**, że grupę dwufenyloetylową lub trzeciorzędową butylową w związku o wzorze 3 usuwa się za pomocą mieszaniny kwasu trójfluorooctowego i anizolu w temperaturze pokojowej.

21. Sposób według zastrz. 1-19, **znamienny tym**, że grupę β , β , β -trójchloroetylową w związku o wzorze 3 usuwa się za pomocą Zn z kwasem octowym.

22. Sposób według zastrz. 1-19, **znamienny tym**, że grupę dwufenyloową we wzorze 3 wprowadza się za pomocą reakcji z dwufenyloldwuzometanem.

23. Sposób według zastrz. 1-17, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3, w którym R^2 oznacza estryfikującą grupę allilową a R^3 i Y mają wyżej podane znaczenie.

24. Sposób według zastrz. 23, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3 otrzymany przez sililowanie wolnego kwasu soli metalu alkalicz-

nego związku o ogólnym wzorze 3, za pomocą silazanu o wzorach ogólnych R_3^4Si , NR_2^4 , $R_3^4Si \cdot NH \cdot SiR_3^4$, $R_3^4Si \cdot NH \cdot COR^4$, $R_3^4SO \cdot NH \cdot CO \cdot NH \cdot SiR_3^4$, $R^4NH \cdot CO \cdot NR^4 \cdot SiR_3^4$ lub $R^4C(OSiR_3^4) : NSiR_3^4$, w których R^4 oznacza grupę węglowodorową.

25. Sposób według zastrz. 24, **znamienny tym**, że stosuje się silazany, w których grupę węglowodorową stanowi grupa metylowa lub fenyłowa.

26. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako silazan stosuje się sześciometylodwusilazan $(Me_3Si)_2NH$.

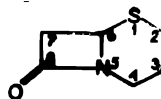
27. Sposób według zastrz. 23, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3 otrzymany przez sililowanie związku o ogólnym wzorze 3 za pomocą chlorku sililu.

28. Sposób według zastrz. 27, **znamienny tym**, że jako chlorek sililu stosuje się Me_3SiCl .

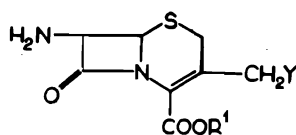
29. Sposób według zastrz. 23–28, **znamienny tym**, że estyfikującą grupę sililową odszczepia się działając na ester związku o wzorze 2, w którym R' i Y mają wyżej podane znaczenie, związkiem zawierającym aktywny wodór.

30. Sposób według zastrz. 30 i 31, **znamienny tym**, że związek o wzorze 2 w postaci wolnej aminy przeprowadza się w sól kwasu p-tolueno sulfonowego lub azotowego.

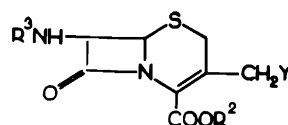
31. Sposób według zastrz. 1–3, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 3, w którym R^3 oznacza grupę fenyloacetylową lub fenoksyacetylową a Y i R^2 mają wyżej podane znaczenie.



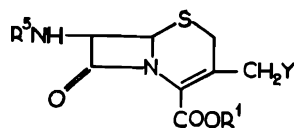
WZÓR 1



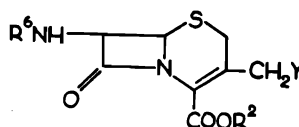
WZÓR 2



WZÓR 3



WZÓR 4



WZÓR 5

ERRATA DO OPISU PATENTOWEGO NR 69494

latm 19, wiersz 11
jest: (Oznaczono: S, 65,4; H, 5,4; N, 4,5;
winno być: (Oznaczono: C, 65,4; H, 5,4; N, 4,5⁰%)

Cena 10,— zł