

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 20.VIII.1968 (P 128 703)

Pierwszeństwo: 21.VIII.1967 Wielka Brytania

Opublikowano: 9.III.1974

Kl. 12p,4/01

MKP C07d 99/24

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

Sposób wytwarzania nowych związków cefalosporynowych

1

Przedmiotem wynalazku jest nowy sposób wytwarzania analogów cefalosporyny C.

Nazwy związków o których mowa w niniejszym opisie wyprowadza się od związku zwanego cefam, którego strukturę obrazuje wzór 1 (J. Am. Chem. Soc. 1962, t. 84, s. 3400).

Kwasy 7 β -acyloamidocefemo-3-karboksylowe-4 posiadające w pozycji 3 grupę inną niż 3-acetoksymetylową są interesujące ze względu na odmienną aktywność antybiotyczną w porównaniu do odpowiadających im kwasów 3-acetoksymetylo-7 β -acyloamido-cefemo-3-karboksylowych-4. Na przykład N-[7 β -(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemylometyloj-pirydynio-karboksylan-4, o nazwie cefalorydyna, posiada większą aktywność antybiotyczną niż kwas 3-acetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido) cefemo-3-karboksylowy-4.

W brytyjskim opisie patentowym nr 1 012 943 omówione jest bezpośrednie przegrupowanie grupy acyloksylowej podstawnika 3-acyloksymetylowego kwasów cefemo-3-karboksylowych-4 pod wpływem związków o właściwościach nukleofilowych. Reakcja ta nie zachodzi ze wszystkimi związkami nukleofilowymi, a ponadto w wielu przypadkach uzyskuje się niskie wydajności. Reakcja ze związkami nukleofilowymi zawierającymi siarkę przebiega często z dobrymi wydajnościami, lecz brak aktywności przeciwko gramujemnym organizmom sprawia, że produkty te są mniej przydatne jako antybiotyki. W brytyjskim opisie patentowym

2

nr 912 541 omówione jest bezpośrednie przegrupowanie grup acetoksylowych pochodnych cefalosporyny C pod wpływem związków takich jak pirydyna, dających w wyniku pochodne cefalosporyny C o wysokiej wydajności.

Obecnie stwierdzono że wiele związków nukleofilowych daje się zastosować w reakcji podstawienia w egzocyklicznej grupie metylenowej, jeżeli grupę 3-acyloksymetylową najpierw zhydrolizuje się do grupy 3-hydroksymetylowej, a następnie przeestryfikuje ją (w razie potrzeby po uprzednim ochronnym zestryfikowaniu grupy 4-karboksylowej) niżej opisanymi kwasami, a następnie podda reakcji ze związkiem nukleofilowym. Proces ten stanowi alternatywę metody opisanych w brytyjskich opisach patentowych nr 1 012 943 i 912 541. Ponadto, metoda ta pozwala otrzymywać analogi cefalosporyny trudno dostępne drogą bezpośredniego przegrupowania grup acetoksylowych.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania analogów cefalosporyny polegający na tym, że związek o wzorze 19 w którym R^u oznacza aryl (karbocykliczny lub heterocykliczny), cykloalkil, podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil albo niearomatyczną heterocykliczną grupę, n oznacza liczbę całkowitą, a X oznacza atom chloru, bromu lub jodu, grupę formyloksylową lub acetoksylową posiadającą co najmniej jeden podstawnik wytrącający elektron na α -atomie węgla lub pierścieniowy podstawnik grupy benzoiloksylowej przy

czym ten pierścieniowy podstawnik należy do rodzaju wytrącających elektron lub grupę izotocyjanianową albo jego ester poddaje się reakcji ze związkiem posiadającym atom nukleofilowy taki jak węgiel, azot, tlen lub siarkę przy czym pH waha się w granicach od 5—8 na przykład 6—7 w celu wymiany grupy X na grupę nukleofilową otrzymując związek o wzorze 18 w którym A oznacza resztę nukleofilową związku takiego jak trzeciorzędowa amina alifatyczna, amina aromatyczna, aralifatyczna i cykliczna, heterocykliczna zawierająca więcej niż jeden heteroatom przy czym co najmniej jeden heteroatom jest atomem azotu, jak cyjanki, pirole, podstawione pirole, związek posiadający ustabilizowany karbanion, tiomocznik, alifatyczny, aromatyczny, aralifatyczny, alicykliczny i heterocykliczny podstawiony tiomocznik, aromatyczny i alifatyczny tiamid, tiosiarczan oraz alkohole i fenole.

Poniżej omówiono specyficzne klasy związków zawierających atomy nukleofilowe, zwanych dla uproszczenia nukleofilami węglowymi, azotowymi, tlenowymi lub siarkowymi.

Najlepiej jeżeli grupa X jest jedna z trzech głównych typów, w zależności od tego czy atom chlorowca, tlenu czy azotu jest bezpośrednio związany z grupą $Q-CH_2-$ w której Q oznacza resztę cefalosporyny. Te trzy typy grup, tj. chlorowce, grupy tlenodawcze i grupy azotodawcze zostaną poniżej kolejno omówione.

Stwierdzono, że X oznacza atom chlorowca, to grupa 4-karboksylowa albo może być, albo może nie być zestryfikowana. Ponieważ estry na ogół nie wykazują istotnej aktywności antybiotycznej, a ponadto odpowiednio izomeryczne kwasy cefemo-2-karboksylowe-4 również jej nie przejawiają, pożądanym jest stosowanie takich grup estryfikujących, które dają się łatwo wprowadzić i usunąć bez wywołania znaczniejszej izomeryzacji typu $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$ (która, jak wiadomo, łatwo zachodzi w tego rodzaju reakcjach). Korzystnymi grupami estryfikującymi są grupy: dwufenylometylowa, β , β , β -trójchloroetylowa i III-rz.-butylowa; grupę dwufenylometylową można łatwo wprowadzić działając dwufenyldwuazometanem, a usunąć np. za pomocą mieszaniny kwasu trójfluorooctowego i anizolu w temperaturze pokojowej, podczas gdy grupę β , β , β -trójchloroetylową można usunąć za pomocą cynku i kwasu octowego.

Związki $3-CH_2X$, w których X oznacza Cl lub Br, można otrzymać z odpowiednich związków $3-CH_2OH$ standardowymi metodami przez zastąpienie grupy -OH chlorem lub bromem. Tak na przykład związki $3-CH_2Cl$ można otrzymać z odpowiednich związków $3-CH_2OH$ przez reakcję z chlorkiem tionyłu, chlorobezwodnikami kwasów jak N,N-dwualkilo- lub N,N-dwuarylochlorosulfonamidami, np. N,N-dwumetylochlorosulfonamidami lub alkilochlorosiarczynami. Związki $3-CH_2Br$ można w podobny sposób otrzymać przez reakcję odpowiednich związków bromowych ze związkami $3-CH_2OH$ lub przez reakcję tych ostatnich z PBr_3 i pirydyną. Związki $3-CH_2J$ można otrzymać z odpowiednich chlorków lub bromków np. przez reakcję z jodkiem metalu alkalicznego.

Związki $3-CH_2OH$ można otrzymać np. przez hydrolizę odpowiedniego związku $3-CH_2O-COCH_3$. Hydrolizę zaleca się przeprowadzić enzymatycznie, stosując na przykład esterazę z kielków pszenicy lub esterazę rodzaju Rhizobium, jak podano w belgijskim opisie patentowym nr 671 692, lub też esterazę otrzymaną ze skórek pomarańczy, jak podano w brytyjskim opisie patentowym nr 966 222.

Kwasy 3-chlorowcometylo-7 β -acyloaminocefemo-3-karboksylowe-4, w których chlorowcem jest chlor, brom lub jod, następnie sole tych kwasów i metali alkalicznych jak sodu lub potasu względnie zasad organicznych, oraz ich estry, w których grupy estryfikujące dają się łatwo wprowadzić i usunąć bez znaczniejszej izomeryzacji typu $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$, są związkami nowymi.

Drugą klasę materiałów wyjściowych przydatnych w sposobie według wynalazku stanowią związki o wzorze cząstkowym $Q-CH_2-O-$ (gdzie Q ma wyżej podane znaczenie). Klasa ta obejmuje estry pochodnych kwasu octowego zawierające co najmniej jeden elektronodonorowy podstawnik przy węglu oraz estry podstawionych w rdzeniu kwasów benzoesowych, przy czym podstawnik w rdzeniu również ma charakter elektronodonorowy. Kwasek HX może być w tym przypadku którykolwiek z licznych kwasów chlorowcooctowych) szczególnie zalecany jest kwas dwuchlorooctowy, kwasy metoksy-, alkilotio- lub cyjanooctowy, kwas glioksyłowy, kwas fenylopropionowy, hemiestry kwasu malonowego lub szczawowego, kwas fenyloglioksyłowy lub podstawiony kwas fenyloglioksyłowy, przy czym podstawnikami mogą być jeden lub więcej atomów chlorowca (F, Cl, Br lub J), grupy metoksyłowe lub metylowe. Gdy kwasem HX jest podstawiony kwas benzoesowy, wybór podstawnika w pierścieniu benzenowym będzie uzależniony w pewnej mierze od rozważenia stereochemii kwasu benzoesowego HX. W ogólności zaleca się podstawianie grupy fenyłowej raczej w pozycji 3 lub 4 aniżeli w pozycji 2, gdyż ta daje maksymalny wzrost zawady sterycznej. Stąd możliwymi podstawnikami są na przykład grupy 4-metylo-, 3-chloro lub bromo-, 3- lub 4-nitro lub 3,5-dwunitro-, 3- lub 4-trójfluorometylo-, 4-karbamoilo-, 3- lub 4-(zestryfikowana karboksylo), albo 3- lub 4-cyjano.

Jako kwas HX może być również stosowany kwas mrówkowy.

Gdy grupa X zawiera centrum reaktywne, np. aktywny atom chloru jak w grupie dwuchloroacetoksyłowej, wprowadzany nukleofil może atakować również i to centrum. W tych okolicznościach pożądanym jest stosowanie odpowiedniego nadmiaru wprowadzanego nukleofilu, np. nadmiar dwóch równoważników, w przypadku gdy zastępuje się grupę dwuchloroacetoksyłową.

Produkt wyjściowy o wzorze $Q-CH_2-O-$ (w którym Q ma wyżej podane znaczenie) otrzymuje się zwykle przez acylowanie pochodnej kwasu cefalosporanowego zawierającego grupę 3-hydroksymetylową. Jako czynnik acylujący zaleca się reaktywną pochodną kwasu, taką jak keton (o ile istnieje), chlorowcobezwodnik kwasu, np. chlorobezwodnik lub bromobezwodnik, bezwodnik lub mieszaną

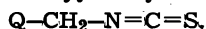
bezwodnik, np. z kwasem piwalowym lub utworzony z chloromrówczanem, albo aktywny ester lub azyd; można również stosować sam kwas łącznie z czynnikiem estyfikującym, np. z karbonyldwuimidazolem lub karbodwuimidem takim jak N,N'-dwuetylo-, dwupropylo- lub -dwuizopropylo-karbodwuimid lub korzystnie N,N'-dwucyklo-heksylokarbodwuimid.

Acylowanie powinno być przeprowadzone w takich warunkach, aby w możliwie dużym stopniu zapobiec utworzeniu laktonu i izomeryzacji $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$. Tworzenie się laktonu można ograniczyć przez estyfikację grupy 4-karboksylowej przed acylowaniem. Grupa estyfikująca powinna łatwo dawać się wprowadzać jak i usunąć bez wywoływania izomeryzacji $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$. Jak wspomniano wyżej, korzystnymi grupami ochronnymi są grupy: dwufenylometylowa i β , β , β -trójchloroetylowa, które można łatwo wprowadzać i usunąć (po zacylowaniu grupy 3-CH₃OH) zasadniczo bez izomeryzacji $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$.

Grupę estyfikującą zaleca się usunąć przed reakcją kwasu cefalosporanowego z wprowadzanym nukleofilem.

Kwasy 3-chlorowcoacetoksymetylo-7 β -acyloamidocefemo-3-karboksylowe-4, w których atomy chlorowca stanowią chlor, brom lub jod, kwasy 3-formyloksymetylo-7 β -acyloaminocefemo-3-karboksylowe-4 oraz ich sole np. z metalami alkalicznymi takimi jak sód lub potas i z zasadami organicznymi, jak również ich estry, przy czym korzystna jest grupa estyfikująca dająca się łatwo wprowadzić i usunąć bez znaczącej izomeryzacji $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$, są związkami nowymi.

Następną klasę materiałów wyjściowych stosowanych w sposobie według wynalazku są związki o wzorze Q-CH₂-H (w którym Q ma wyżej podane znaczenie), przy czym korzystną grupą związków tego typu są izotiocyaniany o wzorze



Pożądane jest, by grupa 4-karboksylowa nie była zestryfikowana, lecz by występowała w postaci -COO- lub -COOH, wtedy gdy X oznacza grupę tleno- lub azotodawczą.

Przykładami nukleofilów azotowych są trzeciorzędowe aminy alifatyczne, aromatyczne, aryloalifatyczne i cykliczne łącznie z trójalkilaminami, np. trójetiloaminą, zasady pirydynowe jak pirydyna i alkilopirydyny; heterocykliczne aminy zawierające więcej niż jeden heteroatom, przy czym co najmniej jednym z heteroatomów powinien być azot, takie jak pirymidyny, puryny, pirydazyny, pirazyny, pirazole, imidazole, triazole i tiazole.

Termin „nukleofile azotowe” obejmuje związki o następujących wzorach:

NR^aR^bR^c, w którym R^a, R^b i R^c są takie same lub różne i oznaczają podstawione lub niepodstawione grupy alifatyczne, aryloalifatyczne lub aromatyczne jakiegokolwiek dwie grupy tworzące w razie potrzeby razem z atomem azotu pierścień heterocykliczny, który może być przerwany przez jeden lub więcej dalszych heteroatomów;

Związki o wzorze 2, w którym n oznacza 0 lub liczbę całkowitą od 1 do 5, zaś R^d oznacza, jeśli n wynosi od 2 do 5, tą samą lub różne grupy

alifatyczne, aryłowe lub aryloalifatyczne lub rodnik alkoksylowy lub acyloksymetylowy, formylowy, karbamoilowy, acyloksylowy, estryfikowany karboksylowy, alkoksylowy, aryloksylowy, aryloalkoksylowy, alkilotiolowy, arylotiolowy, aryloalkilotiolowy, cyjanowy, hydroksylowy, N-jednoniżsoalkilokarbamoilowy, N,N-dwuniżsoalkilokarbamoilowy, N-(hydroksyniżsoalkilo)-karbamoilowy lub karbamoiloniżsoalkilowy.

Związki o wzorze 3, w którym R^d ma wyżej podane znaczenie a m oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 4.

Związki o wzorze 4, w którym R^d i m mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 5, w którym R^d i m mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 6, w którym R^d ma wyżej podane znaczenie p oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 3, a R^e oznacza rodnik alifatyczny, aryloalifatyczny, aryłowy lub acylowy względnie atom wodoru.

Związki o wzorze 7, w którym R^d, R^e i p mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 8, w którym R^d, R^e i p mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 9, w którym R^d i R^e mają wyżej podane znaczenie zaś q oznacza 0, 1 lub 2.

Związki o wzorze 10, w którym R^d i q mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 11, w którym R^d i p mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 12, w którym R^d i p mają wyżej podane znaczenie.

Przykładami nukleofilów węglowych są cyjanki, pirole i podstawione pirole, np. indole, oraz związki dające trwałe jony węglowe, np. acetyleny i związki zawierające grupy β -dwuketonowe, np. estry acetoctowe i malonowe oraz cykloheksanodiony-1,3.

Pojęcie „nukleofil węglowy” oznacza następujące związki:

Związki o wzorze M^{v+}(CN)^{v-}, w którym M oznacza kation metalu, korzystnie potasowca lub wapniowca, lub czwartorzędowy jon amoniowy, zaś v oznacza wartościowość kationu.

Związki o wzorze 13, w którym R^j oznacza grupę alifatyczną, aryloalifatyczną lub aryłową względnie grupę karboksylową, acyloksylową lub acylową, p oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 3, zaś R^k oznacza grupę alkilową, aryloalkilową lub aryłową względnie atom wodoru, przy czym co najmniej jedna z pozycji β jest niepodstawiona.

Związki o wzorze 14, w którym R^j i R^k mają wyżej podane znaczenie a n oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 5, a pozycja 3 jest niepodstawiona.

Związki o wzorze (R^s-C=C-)_vM^{v+}, w którym R^s oznacza grupę alifatyczną, aryloalifatyczną lub aryłową lub atom wodoru, zaś M i v mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze 15, w którym grupy R^h, które mogą być takie same lub różne, oznaczają atomy wodoru lub grupy alkilowe, aryloalkilowe lub aryłowe, zaś R^m oznacza grupę alkilową, aryloalkilową, alkoksylową, aryloalkoksylową lub aryloksylową.

Związki o wzorze $R-(C=C)_n-C=C-$, w którym R oznacza grupę lub atom elektronodawczy, zaś n oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 5.

Przykładami „nukleofilów siarkowych” są: tiomocznik, alifatyczne, aromatyczne, aryloalifatyczne, alicykliczne i heterocykliczne podstawione tiomoczniki, aromatyczne i alifatyczne tioamidy, np. tioacetamid, oraz tiosemikarbazydy i tiosiarczany.

Pojęcie „nukleofil siarkowy” oznacza następujące związki.

Związki o wzorze $R^1R^2N-CS-NR^3R^4$, w którym R^1 , R^2 , R^3 i R^4 , które mogą być takie same lub różne, oznaczają atomy wodoru lub grupy alifatyczne, alicykliczne, aromatyczne, aryloalifatyczne albo heterocykliczne lub R^1 i R^3 razem tworzą grupę dwuwartościową lub R^2 i R^4 mogą stanowić grupę $-NR^1R^3$, w której R^1 i R^3 mają wyżej podane znaczenie.

Związki o wzorze $HR^4-CS-NR^5R^6$, w którym R^4 oznacza grupę alifatyczną lub aryloalifatyczną o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym, zaś R^5 i R^6 , które mogą być takie same lub różne, oznaczają grupy alifatyczne, aryloalifatyczne, acylowe lub aryłowe, albo atomy wodoru.

Związki o wzorze 16, w którym M oznacza kation metalu, korzystnie potasowca lub wapniowca albo czwartorzędowy jon amoniowy, zaś v oznacza wartościowość kationu.

Przykładami „nukleofilów tlenowych” są: woda i alkohole, np. alkanole jak metanol, etanol, propanol i butanol. Woda dostarcza zarówno H_2O : jak i OH^- i jest konkurencyjnym nukleofilem w każdej reakcji przebiegającej w środowisku wodnym.

Pojęcie „nukleofil tlenowy” oznacza następujące związki.

Związki o wzorze HOR^t , w którym grupa R^t oznacza niższy alkil (np. metyl-, etyl-, n-propyl-, izopropyl-, n-butyl-, izobutyl itd.); niższy alkenyl (np. winyl, alil, izopropenyl itd.); niższy alkinył (np. etynyl, propynyl itd.); niższy cykloalkil (np. cyklopentyl, cykloheksyl itd.); niższocykloalkiloniższyalkil (np. cyklopentylometyl, cykloheksyloetyl itd.); aryl (np. fenyl lub naftyl); aryłoniższyalkil (np. benzyl); rodnik heterocykliczny; heterocykloniższy alkil (np. furfuryl) lub którąkolwiek z tych grup przedstawioną np. jedną lub więcej grupami takimi jak niższa alkoksyl (np. metoksyl, etoksyl itd.), niższa alkilotio (metylotio, etylotio), chlorowiec (chloro-, bromo-, jodo lub fluoro-), niższy alkil (metylo-, etylo itd.), nitro-, hydroksyl, acyloksyl, karboksyl, karbal-koksyl, niższoalkilokarbonylo-, niższoalkilosulfinylo-, niższoalkilosulfonylo-, niższoalkoksylsulfonylo-, amino-, niższoalkiloamino lub acyloamino.

Szczególnie korzystne są związki, w których R^t oznacza niższą grupę alkilową. Tego rodzaju kwasy 7 β -acyloamido-3-niższoalkoksylmetylo-cefemo-3-karboksylowe-4 wykazują interesujące własności jako podawane doustnie antybiotyki.

Reakcję przeprowadza się w roztworze w temperaturze np. $0^\circ - 120^\circ C$, korzystnie w temperaturze $35^\circ - 75^\circ C$, najkorzystniej zaś w temperaturze około $50^\circ C$. Reakcja zazwyczaj przebiega całkowicie (w wodnych roztworach) w ciągu około 15 minut w temperaturze $50^\circ C$, natomiast odpo-

wiednio dłużej w niższych temperaturach albo odpowiednio krócej w wyższych temperaturach. Reakcja przebiega korzystnie, w przypadku gdy użyje się (od jednego do dziesięciu równoważników molowych wprowadzanego nukleofilu. Korzystna wartość pH roztworu reakcyjnego w warunkach wodnych mieści się w granicach 5—8, najkorzystniej zaś 6—7. W razie potrzeby, pH roztworu należy ustalić przez dodanie czynnika buforującego, takiego jak np. octan sodu. Gdy reakcja przebiega w warunkach niewodnych, środowisko reakcji nie powinno być ani zbyt zasadowe ani zbyt kwaśne.

Ponieważ mechanizm reakcji ma charakter polarny albo jonowy, pożądane jest prowadzenie reakcji w środowisku polarnym. W zasadzie najbardziej odpowiednią jest woda, lecz również można stosować rozpuszczalniki organiczne, takie jak dioksan, octan etylu, formamid, N,N-dwumetyloformamid lub aceton. Rozpuszczalniki organiczne mogą być stosowane w obecności lub nieobecności wody.

Zasadniczo w warunkach niewodnych jako środowisko reakcji mogą być użyte alkohol i fenol, co jest korzystne z tego względu, że nieobecność wody w środowisku zapobiega ubocznej reakcji zachodzącej pomiędzy wodą a cząsteczką cefalosporyny. Można również stosować rozpuszczalniki niepolarne i w tym przypadku dodatek zaledwie 0,5% wody zapewnia potrzebny stopień polarności. W niektórych przypadkach sam nukleofil może być rozpuszczalnikiem, w szczególności w przypadku gdy z alkoholi otrzymuje się eter.

Jako środowiska organiczne, można stosować nitryle niższych alkanokwasów, np. acetonitryl lub propionitryl; chlorowcowęgłowodory, np. chlorek metylenu, czterochlorek węgla, chloroform, dwuchlorek etylenu lub perchloroetylen; niższe nitroalkany, np. nitrometan; związki nitroaromatyczne, np. nitrobenzen; etercykliczne, np. dioksan lub tetrahydrofuran; amidy o ogólnym wzorze $R^5 \cdot CO \cdot NR^6R^7$, w którym R^5 oznacza atom wodoru lub grupę alkilową zawierającą 1 do 5 atomów węgla, zaś R^6 i R^7 , które mogą być takie same lub różne, oznaczają atom wodoru lub grupę alkilową zawierającą 1 do 5 atomów węgla lub też R^6 i R^7 tworzą razem z dodatkowym atomem azotu pierścień heterocykliczny. Przykładem tego typu amidów są N,N-dwumetyloformamid, N,N-dwumetyloformamid, N,N-dwumetyloacetamid, formamid i N-metyloformamid. Stosowane mogą być także inne rozpuszczalniki takie jak N-niższoalkilopirrolidyny, np. N-metylopirolidon i dwuniższoalkilosulfoksydy, np. dwumetylosulfoksyl.

Środowisko reakcji nie musi być ciekłe w temperaturze pokojowej. Substancje stałe, np. acetamid, mogą być używane w takim przypadku gdy są ciekłe w temperaturze reakcji.

Z mieszaniny reakcyjnej, która może zawierać np. nieprzereagowaną cefalosporynę i inne substancje, można wydzielić produkt reakcji różnymi metodami obejmującymi rekrytalizację, jonoforezę, oraz chromatografię na papierze lub na wymiennikach jonowych.

Jeśli R w ogólnych sformułowaniach może oznaczać grupę acylową, to można stosować specjalne rodniki acylowe określone przez podane niżej wzory ogólne, należy jednakże podkreślić, że nie oznacza to, że jest to wyczerpująca lista wszystkich możliwych grup N-acylowych, które mogą być obecne. Są to następujące grupy acylowe:

$R^u C_n H_{2n} CO-$, w której R^u oznacza grupę aryłową (karbocykliczną lub heterocykliczną), cykloalkilową, podstawioną aryłową, podstawioną cykloalkilową lub niearomatyczną grupę heterocykliczną, zaś n jest liczbą całkowitą od 1 do 4. Przykładami tej grupy są: grupa fenyloacetylowa, podstawiona fenyloacetylowa, np. fluorofenyloacetylowa, nitrofenyloacetylowa, acetoksyfenyloacetylowa, alkaniofenyloacetylowa lub hydroksyfenyloacetylowa, tienylo-2- i tienylo-3-acetylowa, 4-izoksazolilo- i podstawioną 4-izoksazoliloacetylowa oraz pirydyloacetylowa.

Podstawioną grupą 4-izoksazolilową może być grupa 3-arylo-5-metylo-4-izoksazolilowa, w której jako aryl może występować grupa fenyłowa lub chlorowcofenyłowa, np. chloro- lub bromofenyłowa. Grupą acylową tego typu jest 3-o-chlorofenylo-5-metylo-izoksazolo-4-acetyl.

$C_n H_{2n+1} \cdot CO-$, w której n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 7. Grupa alkilowa może być prosta lub rozgałęziona i w razie potrzeby może być przerywana atomem tlenu lub siarki lub podstawioną np. grupą cyjanową. Przykładami tego rodzaju grup są: grupa kaproilowa, enantioilowa, kapryloilowa, butylotioacetylowa i cyjanoacetylowa.

$C_n H_{2n-1} \cdot CO-$, w której n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 7. Grupa alkenylova może być prosta lub rozgałęziona i, w razie potrzeby, może być przerywana atomem tlenu lub siarki. Przykładami tego rodzaju grup są: grupa akrylilowa, krotonoilowa i alilotioacetylowa.

$R^u O \cdot CH_2 \cdot CO-$, w której R^u ma wyżej podane znaczenie. Przykładem tego rodzaju grupy jest grupa fenoksyacetylowa; $R^u S \cdot CH_2 \cdot CO-$, w której R^u ma wyżej podane znaczenie. Przykładami tego rodzaju grup zawierających wiązania tioeterowe są grupa S-fenylotioacetylowa, S-chlorofenylotioacetylowa i S-bromofenylotioacetylowa.

$R^u (CH_2)_n Z (CH_2)_m \cdot CO-$, w której R^u ma wyżej podane znaczenie, m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 5, n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, zaś Z oznacza atom tlenu lub siarki. Przykładami tego rodzaju grup są: grupa S-benzylotioacetylowa, S-benzylotioakrotylowa i S-fenetylotioacetylowa.

$R^u CO-$, w której R^u ma wyżej podane znaczenie. Przykładami tego rodzaju grup są: grupa benzoilowa, podstawiona benzoilowa (np. aminobenzoilowa), 4-izoksazolilokarbonyłowa i podstawiona 4-izoksazolilokarbonyłowa oraz cyklopentylkarbonyłowa. Gdy grupa benzoilowa jest podstawiona, podstawnikami mogą być np. grupy alkilowe lub alkoksylowe w pozycji 2, oraz 2 i 6; przykładem tego rodzaju grupy jest grupa 2,6-dwumetoksybenzoilowa. Gdy R^u oznacza podstawioną grupę 4-izoksazolilową, podstawniki mogą być te same jak w przypadku opisanym wyżej dla grupy $R^u C_n H_{2n} \cdot CO-$. Grupą acylową tego typu jest

grupa 3-o-chlorofenylo-5-metylo-izoksazolilo-4-karbonyłowa.

Grupa aminoacylowa, np. $R^w CH(NH_2) \cdot (CH_2)_n \cdot CO-$, w której n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 10, lub $NH_2 \cdot Ar(CH_2)_m \cdot CO-$, gdzie m oznacza zero lub liczbę całkowitą od 1 do 10, R^w oznacza atom wodoru lub grupę alkilową, aryloalkilową lub karboksylową lub też grupę o podanym wyżej znaczeniu jak dla grupy R^u zaś Ar oznacza grupę arylenową, np. p-fenilenową lub 1,4-naftylenową. Przykłady tego rodzaju grup omówione są w brytyjskim opisie patentowym nr 1 054 806. Grupą tego rodzaju jest grupa p-aminofenyloacetylowa. Inne tego typu grupy acylowe obejmują np. grupę δ -aminoadipoilową, otrzymaną z aminokwasów występujących w naturze.

Grupa o wzorze 17, w którym rodniki R^x , oznaczają takie same lub różne, grupy takie jak atomy wodoru lub jednowartościowe grupy organiczne np. niższe grupy alkilowe lub podstawione chlorowcem niższe grupy alkilowe.

Grupy glioksyliłowe i podstawione grupy glioksyliłowe o wzorze $R^y - CO \cdot CO-$, w którym R^y oznacza grupę alifatyczną, aryloalifatyczną lub aromatyczną, np. grupę aromatyczną o sumie ciężarów atomów większej niż 78, jak np. grupa tienyłowa lub jedno-, dwu- i trójpodstawiona grupa fenyłowa, przy czym podstawnikami są np. jeden lub więcej atomów chlorowca (F, Cl, Br i J), grupy metoksyłowe, metylowe lub aminowe albo skondensowany pierścień benzenowy. W skład tej grupy wchodzi również α -karbonyłowe związki pochodne powyższych niepodstawionych i podstawionych grup glioksyliłowych, np. z hydroksylaminą, semikarbazydem, tiosemikarbazydem, izoniazylem lub hydrazyną.

α -Podstawione grupy acylowe kwasów karboksylowych, gdzie α -podstawnikiem są grupy; aminowa, podstawiona mianowa [np. acyloamidowa lub grupa otrzymana przez reakcję grupy aminowej i/lub acyloamidowej(ych) z aldehydem lub ketonem, np. acetonem lub metyloetyloketonem], hydroksylowa, karboksylowa, estryfikowana karboksylowa, cyjanowa, chlorowcowa, acyloksylowa (np. formyloksylowa lub niższa alkanoiloksyłowa) lub zetyfikowana grupa hydroksylowa. Kwas karboksylowy może być alifatyczny, np. α -podstawiony kwas parafinowy lub aryloalifatyczny, np. α -podstawiony kwas fenylooctowy. Grupy acylowe o tym charakterze obejmują grupę $Ar \cdot CH(X) \cdot CO-$, gdzie Ar i X mają wyżej podane znaczenie.

Poniższe przykłady objaśniają wynalazek.

W przykładach użyto następujących określeń:

System A: czynnik spływający n-propanol — woda = 7:3 na bibule Whatman nr 1 w temperaturze pokojowej.

System B: butanol — etanol — woda = 4:1:5, zrównoważony w temperaturze pokojowej, przy czym faza górna stosowana jest jako czynnik rozwijający w układzie spływającym, w równowadze z fazą dolną na bibule Whatman 3MM zbuforowanym do pH 6 0,05 molowym roztworem ortofosforanu jednosodowego.

System C: octan etylu — butanol — 0,1 molowy roztwór octanu sodowego, pH 5 = 8:1:8, zrówno-

ważony w 38°C, przy czym faza górna stosowana jest jako czynnik rozwijający w układzie spływającym, w równowadze z fazą dolną w 38°C na bibule Whatman nr 1 zbuforowanym do pH 5 0,1 molowym roztworem octanu sodowego.

R_F oznacza wartość R_F podzieloną przez tą wartość dla kwasu 3-acetoksymetylo-7- β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4.

Warunki dla elektroforezy jak opisano przez Cocker i inni, J. Chem. Soc. 1965, s. 5015.

Rozpuszczalniki organiczne suszono nad bezwodnym siarczanem magnezowym.

Cefalorydynę wykrywano po niebieskim zabarwieniu jaki daje z aerozolem roztworem jodoplatynianu potasowego, który to odczynnik opisano w „Chromatography”, E. Merck A. G., Darmstadt, strona 133.

Przykład I. Otrzymywanie N-[7 β -(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydynio-karboksyłanu-4.

Związek tytułowy otrzymywano według następującego schematu reakcji (poszczególne etapy reakcji opisano bardziej szczegółowo poniżej):

Kwas 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowy-4 $\rightarrow$ β -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-karboksylowy-4 $\rightarrow$ N-[7 β -(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydynio-karboksyłanu-4.

3-Hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu otrzymano w następujący sposób: 500 mg kwasu 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 rozpuszczono w bezwodnym tetrahydrofuranie i zadano roztworem 300 mg (1,1 równoważnika) dwufenylodwuazometanu w eterze naftowym. Azot wydzieliał się powoli, po czym po 2,5 godzinach roztwór odparowano, pozostałość rozpuszczono w octanie etylu, roztwór przemyto roztworem dwuwęglanu sodowego i powtórnie odparowano. Otrzymało 0,5 g substancji gumowatej, która uległa zestaleniu przez rozcieranie z eterem. Próbkę przekrystalizowano z metanolu. Temperatura 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, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 151$ ($\epsilon = 7850$), $\nu_{\max}$ (bromoforn) 3420 (OH), 3280 (NH), 1750 (β -laktam), 1722 cm^{-1} (COOR). (Oznaczono C — 62,2; H — 4,5; N — 5,4; S — 12,1%. $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ zawiera C — 62,3; H — 4,7; N — 5,4; S — 12,3%). $R_F = 0,83$ (płytki z żelu krzemionkowego; octan etylu: benzen = 1:2).

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-karboksylan-4 dwufenylometylu i 1,58 ml (20 milimoli) pirydyny rozpuszczono w 100 ml bezwodnego tetrahydrofuranu i ochłodzono do -20°C. Roztwór 2,95 g (1,96 ml, 20 milimoli) chlorku dwuchloroacetyl w 5 ml

tetrahydrofuranu dodawano kroplami. 15 minut po wkropleniu mieszaninę przesączono i odparowano, zaś pozostałość wytrądzono z mieszaniną octanu etylu i wodnego roztworu dwuwęglanu sodowego.

Po odstaniu fazę organiczną przemyto solanką, wysuszono i zateżono do małej objętości; roztwór ten wkroplono do eteru naftowego uzyskując białą stałą substancję (2,1 g; 85% wydajności). Temperatura topnienia $> 60^\circ\text{C}$ (mięknie), $[\alpha]_D^{25} = +17,5^\circ$ (c, 1,4, dioksan), $\lambda_{\max}$ (etanol) 236 nm ($\epsilon = 13\ 300$), 259 nm ($\epsilon = 7600$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1763 (β -laktam), 1760 (CO₂CHCl₂), 1725 (COOR), 1680 i 1510 cm^{-1} (CONH). Widmo MRJ (CDCl₃) —COCHCl₂ 4,13 τ , $R_F = 0,37$ (płytki z żelu krzemionkowego; 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 trójfłurooctowego. Po 4 minutach rozpuszczalnik usunięto w 30°C. Pozostałość rozpuszczono w 10 ml octanu etylu i wkroplono, mieszając, do 400 ml eteru naftowego. Otrzymano produkt w ilości 4,92 g (95% wydajności) miał postać żółtego ciała stałego o temperaturze topnienia $> 60^\circ\text{C}$ (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). Widmo MRJ (CDCl₃) —O—COCHCl₂ 4,0 τ .

Sól z dwucykloheksyloaminą wykrystalizowano z acetonu. Jej temperatura topnienia $> 100^\circ\text{C}$ (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). Widmo MRJ (CDCl₃) —CH₂·O·COCHCl₂ 3,91 τ . (Oznaczono: C, 52,0; H, 5,7; N, 6,3; Cl, 14,2%. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2 \cdot (\text{C}_6\text{H}_{11})_2\text{NH}$ zawiera: C, 52,0; H, 5,8; N, 6,5; Cl, 14,8%).

Reakcja kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 z pirydyną przebiega, jak stwierdzono, w dioksanie, octanie etylu, metanolu, dwumetyloformamidzie, formamidzie i wodzie, dając cefalorydynę. Według szkiecowego przepisu otrzymywania opisanego przez Taylor'a, J. Chem. Soc. 1965, s. 7020, okazało się, że reakcja przebiega z wyższą wydajnością w rozpuszczalnikach o dużej stałej dielektrycznej, jak to wynika z tabeli 1.

Tabela 1

Rozpuszczalnik	Stała dielektryczna w 25°C	Maksymalna wydajność (%)
Dioksan	2,2	10
Octan etylu	6,0	3
Metanol	32,6	21
N,N-dwumetyloformamid	36,7	20
Formamid	100,0	53
Woda	78,5	44

Stwierdzono, że reakcja przebiega w temperaturze pomiędzy 25° a 75°C. Stwierdzono również, że wydajność reakcji w niepolarnych rozpuszczalnikach wzrasta ze wzrostem zawartości wody w tych rozpuszczalnikach.

Wydajność reakcji była największa, gdy użyto 2 równoważniki pirydyny.

Przykład II. Otrzymywanie N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydydio-karboksylanu-4.

Związek powyższy otrzymano według następującego schematu reakcji (poszczególne etapy reakcji opisano bardziej szczegółowo poniżej):

3-Hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu → 3-formyloksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu → kwas 3-formyloksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 → N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydydio-karboksylan-4.

3-formyloksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu otrzymano w następujący sposób:

3 g (5,8 milimola) 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu i 6,5 ml (82 milimole) pirydyny rozpuszczono w 100 ml bezwodnego tetrahydrofuranu i ochłodzono do -60°C. Roztwór około 80 milimoli fluorku formylu w 100 ml bezwodnego tetrahydrofuranu ochłodzony do -60°C dodawano kroplami, utrzymując mieszaninę w -40°C przez 1 godzinę. Po doprowadzeniu do temperatury pokojowej mieszaninę przesączono, zateżono i rozdzielono pomiędzy octan etylu a 2 N roztwór kwasu solnego. Przy przemywaniu roztworu octanu etylu większą ilością kwasu wytrąciła się pewna ilość (1,77 g) produktu; z pozostałego octanu etylu po osuszeniu i odparowaniu uzyskano resztę produktu (1,33 g). Próbkę produktu przekrystalizowano z octanu etylu. Jego punkt topnienia 139°C, $\nu_{\max}$ (CHBr₃), 1792 (β-laktam), 1730 i 1232 (COOR), 1690 i 1618 cm⁻¹ (CONH). Widmo MRJ (dwumetylosulfoksyd) CHO przy 1,79. Oznaczono: C, 61,3; H, 4,4; N, 4,8%. C₂₈H₂₄N₂O₆S₂ zawiera C, 61,3; H, 4,4; N, 5,1%. R_F = 0,7 (płytką z żelu krzemionkowego, benzen: octan etylu = 2:1).

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

Z 1,5 g 3-formyloksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu wytworzono zawiesinę w 5 ml anizolu i dodano 10 ml kwasu trójfluorooctowego. Po 4 minutach mieszaninę odparowano do suchości pod próżnią 0,1 mm. Pozostałą stałą substancję przemyto eterem, uzyskując 960 mg (91%) produktu. Próbkę produktu przekrystalizowano z mieszaniny metanolu z eterem naftowym. Temperatura topnienia > 90°C (mięknie; rozkład w 107°C), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 233 nm (ϵ = 13 200), 260 nm (ϵ = 6800). Oznaczono: C, 46,5; H, 3,9; N, 6,5; S, 16,0%. C₁₅H₁₄N₂O₆S₂ · 1/2 H₂O zawiera C, 46,1; H, 3,8; N, 6,9; S, 16,3%.

Sól sodowa: $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 232 nm (ϵ = 13 000), 257-9 nm (ϵ = 6300), $\nu_{\max}$

(Nujol) 1752 (β-laktam), 1718 i 1710 (mrówczan), 1608 (COO-), 1660 i 1538 cm⁻¹ (CONH). Widmo MRJ (D₂O), -CHO przy 1,8τ, R_T = 0,7 (system C). Oznaczono: C, 46,5; H, 3,9; N, 6,5; S, 16,02%. C₁₅H₁₄N₂O₆S₂ · 1/2 H₂O zawiera C, 46,1; H, 3,8; N, 6,9; S, 16,3%.

N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydydio-karboksylan-4 otrzymano w następujący sposób:

38 mg kwasu 3-formyloksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 przetrzymywano w 38°C w 1 ml wody zawierającej 0,08 ml pirydyny. Po 1, 2 i 3 godzinach pobierano próbki po 5 μl, które poddawano elektroforezie przy pH 1,9 oraz chromatograficznej analizie bibulowej w systemie C. Tworzenie się cefalorydyny stwierdzano przez porównanie ze wzorcowym widmem cefalorydyny na elektroforetogramie i chromatogramie oraz przez spryskanie bibuły odczynnikami jodoplatynianowym, który daje niebieskie zabarwienie z cefalorydyną.

Przykład III. Reakcja kwasów 3-acetoksy-, 3-chloroacetoksy-, 3-dwuchloroacetoksy-, 3-trójkloroacetoksy- i 3-fenylogliksylioksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 z wodnymi roztworami zasad i pirydyny:

Pochodne 3-chloroacetoksymetylowe, 3-trójkloroacetoksymetylowe i 3-fenylogliksylioksymetylowe otrzymywano przez dodanie kroplami 4 równoważników pirydyny w bezwodnym wolnym od nadtlenu tetrahydrofuranie, przy ciągłym mieszaniu w temperaturze pokojowej do roztworu 4 równoważników 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylo-metylu i 4 równoważników odpowiedniego chlorku kwasowego w bezwodnym, wolnym od nadtlenu tetrahydrofuranie. Mieszaninę mieszano przez 30 minut; wytrącony chlorowodorek pirydyny usuwano, a przesącz odparowywano do suchości. Pozostałość rozpuszczano w octanie etylu i przemywano nasyconym roztworem dwuwęglanu sodowego w celu usunięcia nieprzereagowanego chlorku kwasowego. Następnie przemywano roztwór rozcieńczonym kwasem solnym i solanką przed ususzeniem MgSO₄ i odparowaniem. Jeśli pozostałości nie można było zmusić do krystalizacji, rozpuszczano ją w octanie etylu, a produkt otrzymywano w formie stałej przez powolne wlewanie tego roztworu do dużej ilości eteru naftowego.

Estryfikującą grupę dwufenylo-metylową usuwano w analogiczny sposób opisany w przykładzie I przez hydrolizę kwasową za pomocą kwasu trójfluorooctowego z anizolem.

Kwas 3-acetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 rozpuszczono w 0,5 N wodnym roztworze dwuwęglanu sodowego; pozostawał on niezmienny. Natomiast pozostałe wymienione na wstępie niniejszego przykładu związki ulegały w tych samych warunkach natychmiastowej przemianie na produkty o tej samej wartości R_F co kwas 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4.

38 mg każdego ze związków wymienionych na wstępie niniejszego przykładu utrzymywano w 38°C w 1 ml wody zawierającej 0,08 ml pirydyny. Po

1, 2 i 3 godzinach pobierano jednakowej wielkości próbki po 5 μ l, poddawano elektroforezie przy pH 1,9 i chromatografii bibułowej w systemie C. Tworzenie się cefalorydyny stwierdzano przez porównanie ze wzorcowym widmem cefalorydyny na elektroforetogramach i chromatogramach oraz przez spryskiwanie bibuły odczynnikami jodoplatynianowym, który daje niebieskie zabarwienie z cefalorydyną.

Po 3 godzinach wykryto zaledwie ślady cefalorydyny powstałej z kwasu 3-acetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4, natomiast z wszystkimi pozostałymi związkami konwersja na cefalorydynę dobiegła do końca w ciągu 1 godziny i okazała się wydajna.

Przykład IV. Otrzymywanie cefalorydyny: Z 1,0 g (2,15 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 utworzono zawiesinę w 4 ml wody i dodano 0,352 ml (4,3 milimola) pirydyny. Roztwór ogrzewano do 50°C przez 1 godzinę, zakwaszono do pH 4,5 kwasem octowym i przemyto octanem etylu, a na koniec eterem naftowym. Wodny roztwór uwolniono od rozpuszczonego w nim rozpuszczalnika organicznego i wprowadzono na kolumnę wypełnioną (od góry do dołu) kolejno warstwą 8 ml nieaktywnego obojętnego tlenku glinu, 20 ml Dowexu 1 (AcO-) i 5 ml Zeokarbu 226 (H+). Wymywanie wodą prowadzono tak długo aż eluat przestał wykazywać skręcalność optyczną; cały eluat wysuszono w stanie zamrożonym, a pozostałość roztarto z metanolem, uzyskując białą stałą substancję w ilości 296 mg, $[\alpha]_D^{25} = +48,8$ (c 0,8, woda), $\lambda_{\max}$ (woda) 238 nm ($\epsilon_{1\text{cm}}^{1\%} = 351$), 255 nm ($\epsilon_{1\text{cm}}^{1\%} = 324$).

Produkt wykazał takie same widmo IR i MRJ co prawdziwa cefalorydyna. Jego zachowanie się chromatograficzne i elektroforetyczne było również identyczne.

Przykład V. Otrzymywanie kwasu 3-izotiocyanianometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4: 2 g kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 rozpuszczono w 30 ml acetonu zawierającego 0,3 ml wody i dodano 2 g tiocyjanianu potasowego. Mieszaninę utrzymywano w 47°C przez 30 minut, a następnie wleto do 20 ml 2 N kwasu solnego. Produkt wyekstrahowano octanem etylu; przez wytrząsanie z nasyconym roztworem dwuwęglanu sodowego przeprowadzono produkt do warstwy wodnej, z której wyodrębniono go przez zakwaszenie i ekstrakcję octanem etylu. Warstwę organiczną wysuszono i zateżono, a roztwór wleto następnie mieszając do eteru naftowego; produkt wydzielono w postaci żółtej stałej substancji w ilości 600 mg. 500 mg tej substancji rozpuszczono w acetonie i zadano roztworem 1,1 równoważnika heptanokarboksyłanu-3 sodu; po dodaniu eteru wytrąciła się sól sodowa związku wymienionego na wstępie niniejszego przykładu. Sól tę rozpuszczono w wodzie i przesączono przez obojętny tlenek glinu, a eluat wysuszono w stanie zamrożonym otrzymując białą stałą substancję w ilości 400 mg. $[\alpha]_D^{25} = +29^\circ$ (c 1,0, woda), $\lambda_{\max}$ (bufor fosfora-

nowy pH 6) 236 nm ($\epsilon = 14\,200$), 260 nm ($\epsilon = 8600$), $\nu_{\max}$ (kwasu) (CHBr₃) 2090 (N=C=S), 1790 (β -laktam), 1730 (COOH), 1682 i 1518 cm⁻¹ (CONH). Widmo MRJ (D₂O) CH₂-N=C=S przy 5,50 τ . (Znaleziono: C, 39,3; H, 3,3; N, 8,4%. C₁₆H₁₂N₃O₄S₂Na · 2 1/2 H₂O zawiera C, 39,0; H, 3,7; N, 9,0%). R_T = 2,05 (system C), 1,35 (system B). Produkt reagował z azydkiem sodowym w dwumetyloformamidzie z wydzielaniem gazu, co potwierdza prawdopodobieństwo obecności grupy izotiocyanianowej (Lieber, Chem. and Ind., 1958, 11234).

Reakcję kwasu 3-izotiocyanianometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 z pirydyną przeprowadzono następująco:

5 mg izotiocyanianu w 0,4 ml wody zawierającej 0,08 ml pirydyny utrzymywano w 50°C przez 1 godzinę. Kolejne próbki mieszaniny reakcyjnej poddawano elektroforezie przy pH 1,9 oraz chromatografii bibułowej stwierdzając, że zawierają one składnik odznaczający się tym samym stopniem migracji i takim samym zachowaniem chromatograficznym co cefalorydyna.

Przykład VI. Otrzymywanie N-[7 β -(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-trójetyloamoniokarboksyłanu-4:

1 g kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 rozpuszczono w 10 ml roztworu wody z acetonem (0,5:99,5) i dodano 0,55 ml (2 równoważniki) trójetyloaminy. Mieszaninę utrzymywano w temperaturze pokojowej przez 30 minut, po czym wleto do octanu etylu; jednocześnie dodano wody i kwasu octowego tak, by pH nie przekroczyło wartości 4,0. Roztwór wodny po przemyciu octanem etylu przepuszczono przez kolumnę wypełnioną Dowex'em 1 (AcO-) i eluat wysuszono w stanie zamrożonym. Zliofilizowaną substancję stałą rozpuszczono w metanolu i wytrącono przez wlewanie roztworu do eteru. Uzyskano 130 mg białej substancji stałej o $[\alpha]_D^{25} = +93^\circ$ (c 0,15, woda), $\lambda_{\max}$ (woda) 237 nm ($\epsilon = 12\,600$), 260 nm ($\epsilon = 9000$). Widmo MRJ układu (D₂O) -CH₂N(CH₂CH₃)₃ przy 6,73 τ i 8,72 τ . (Oznaczono: C, 49,0; H, 6,9; N, 9,2%. C₂₀H₂₇N₃O₄S₂ · 3H₂O zawiera: C, 48,9; H, 6,7; N, 8,6%). Podczas elektroforezy przy pH 7,0 związek nie wykazywał żadnego wyładowywania napięcia siatki, zaś przy pH 1,9 migrował mniej niż cefalorydyna. Związek zabarwiał się na niebiesko pod wpływem odczynnika jodoplatynianowego.

Przykład VII. Otrzymywanie kwasu 3-etoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4:

4,74 g kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 gotowano pod chłodnicą zwrotną w 175 ml etanolu przez 60 minut, mieszaninę przesączono, a przesącz odparowano uzyskując olej. Przez rozcieńczenie z octanem etylu uzyskano 354 mg osadu stałego, który odrzucono. Roztwór w octanie etylu wyekstrahowano roztworem wodnym dwuwęglanu sodowego; fazę wodną następnie zakwaszono i ekstrahowano octanem etylu. Po osuszeniu i odparowaniu tego roztworu uzyskano 3,34 g gumowatej substancji, którą powtórnie rozpuszczono w octanie

etylu. Przez dodanie czterokrotnej objętości eteru wytrącono osad, który odrzucono. Przesącz zateżono i pozostawiono w 0°C; wykryształizowała biała stała substancja o punkcie topnienia 160—165°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 157^\circ$ (c 0,7, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (roztwór NaHCO₃) 237 nm ($\epsilon = 12800$), 260 nm ($\epsilon = 8000$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1770 (β-laktam), 1720 (COOH), 1659 i 1678 cm⁻¹ (CONH). Widmo MRJ układu (D₂O z dwuwęglanem sodowym) —O—CH₂·CH₃ przy 6,5 i 8,83τ. (Oznaczono: C, 50,6; H, 4,8; N, 7,1; S, 16,3%. C₁₈H₁₈N₂O₆S₂ zawiera C, 50,2; H, 4,7; N, 7,4; S, 16,8%). R_F = 1,5 (system C), 1,35 (system B).

Przykład VIII. Otrzymywanie kwasu 3-etoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4:

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

Mieszaninę 5,2 g (10 milimoli) 3-hydroksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu i 4 ml (40 milimoli) pirydyny w 75 ml bezwodnego tetrahydrofuranu dodawano kroplami w 20°C do roztworu 2,38 g (1,45 ml; 20 milimoli) chlorku tionylu w 25 ml bezwodnego tetrahydrofuranu w ciągu godziny. Po 15 minutach mieszaninę wlewo do solanki, a produkt wyekstrahowano octanem etylu; ekstrakt organiczny osuszono i zateżono. Steżony roztwór wkröpiono do eteru naftowego (o temperaturze wrzenia 40—60°C) uzyskując 3,9 g (73% wydajności) stałego produktu. Próbkę produktu przekryształizowano z metanolu. Temperatura topnienia 125—133°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 6,5^\circ$ (c, 1,0, tetrahydrofuran); $\lambda_{\max}$ (etanol) 235 nm ($\epsilon = 13200$), 266 nm ($\epsilon = 8000$); $\nu_{\max}$ (bromoforn) 3390 (NH), 1785 -laktam), 1725 (COOR), 1682 i 1510 cm⁻¹ (CONH); τ (CDCI₃) 5,63, singlet grupy 3-metylenowej. (Oznaczono: C, 60,7; H, 4,7; N, 4,7; S, 11,7; Cl, 6,2%. C₂₇H₂₃N₂O₄S₂Cl zawiera C, 60,2; H, 4,3; N, 5,2; S, 11,9; Cl, 6,6%). R_F = 0,47 (płytki krzemionkowe; benzen: octan etylu = 5:1).

To samo doświadczenie powtórzone, stosując zamiast chlorku tionylu chlorosiarczyny n-butyli lub chlorosiarczyny dwumetyloaminy, oraz dodając pirydynę do pozostałych reagentów w -40°C. Po dodaniu całej ilości pirydyny mieszaninę podgrzano do temperatury pokojowej, wlewo do nasyconej solanki i przerabiano dalej jak wyżej.

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

10,3 g 3-chlorometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu rozpuszczono w 250 ml etanolu i utrzymywano w 60°C przez 4,5 godziny. Mieszaninę odparowano otrzymując 11,6 g piany, którą rozpuszczono w 20 ml anizolu i poddano reakcji z 70 ml kwasu trójfluorooctowego przez 6 minut. Rozpuszczalnik usunięto w 40°C pod próżnią 1 mm Hg. Pozostałą gumowatą substancję rozarto w octanie etylu, a utworzony osad odrzucono. Roztwór w octanie etylu wyekstrahowano roztworem dwuwęglanu sodowego, a oddzieloną warstwę wodną zakwaszono do pH 2,5 kwasem fosforowym i powtórnie wyekstrahowano

octanem etylu. Po osuszeniu i odparowaniu roztworu otrzymano gumowatą substancję, którą rozpuszczono w niewielkiej ilości octanu etylu i zadano czterokrotną objętością eteru. Wytrącony osad odrzucono, a przesącz odparowano, uzyskując 2,0 g gumowatej substancji, z której po przekryształizowaniu otrzymano 140 mg kwasu 3-etoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4. Ług macierzysty zateżono i ochłodzono, uzyskując 729 mg nieczystego produktu drugiego rzutu o tej samej wartości R_F co produkt rzutu pierwszego.

Przykład IX. Otrzymywanie kwasu 3-n-propoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4:

5 g (12,9 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 gotowano pod chłodnicą zwrotną w 50 ml n-propanolu przez 20 minut. Roztwór ochłodzono, a wytrącony brązowy stały osad odsączono i odrzucono. Przesącz zadano 300 ml wody i nastawiono na pH 8,5 wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego. Roztwór wyekstrahowano octanem etylu (2×20 ml), a ekstrakty odrzucono. Fazę wodną zakwaszono do pH 1,5 i wyekstrahowano octanem etylu (3×20 ml). Po osuszeniu odpędzono rozpuszczalnik, a pozostałość rozpuszczono w 50 ml octanu etylu i dodano 100 ml eteru. Wytrącony stały brązowy osad odsączono i odrzucono, a przesącz odparowano do suchości. Pozostałość przekryształizowano dwukrotnie z wodnego roztworu etanolu, uzyskując 500 mg (11,7% wydajności) kwasu 3-n-propoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w postaci bezbarwnych igieł o punktach topnienia 152—154°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 79,8^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy, pH 6) 236 nm ($\epsilon = 13000$), 260 nm ($\epsilon = 8700$) (wzgórek), $\nu_{\max}$ (Nujol) 3310 (—NH—), 1772 (β-laktam), 1724 (—COOH), 1665 i 1535 cm⁻¹ (—CONH—). (Oznaczono: C, 51,3; H, 5,1; N, 6,9; S, 15,9%. C₁₇H₂₀N₂S₂O₅ zawiera C, 51,5; H, 5,1; N, 7,1; S, 16,2%). Widmo MRJ (D₂O—NaHCO₃) 5,78, 6,60, 8,52, 9,13τ (—CH₂OCH₂CH₂CH₃), R_F 0,48 (system B); 0,54 (system C).

Przykład X. Reakcja pomiędzy kwasem 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowym-4 a różnymi alkoholami.

Roztwór 0,25 g powyższego kwasu w 10 ml odpowiedniego alkoholu gotowano pod chłodnicą zwrotną przez 20 minut. Próbki po 10 μl roztworu poddawano analizie chromatograficznej w systemie B i C. Bibulę oglądano w świetle ultrafioletowym (254 nm). Wartości R_F otrzymanych związków 3-alkoksymetylowych podano w tabeli 2.

Tabela 2

Alkohol	R _F , system B	R _F , system C
CH ₃ OH	0,26	0,29
CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂		
OH	0,46	0,50

Przykład XI. Otrzymywanie kwasu 3-izopropoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4.

12,0 g (25,8 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 gotowano pod chłodnicą zwrotną ze 100 ml izopropanolu przez 45 minut. Po przesączeniu przez warstwę ziemi okrzemkowej roztwór izopropanolowy wiano do 1000 ml wody i nastawiono na pH 8,5. Roztwór ten wyekstrahowano octanem etylu (2×100 ml), a ekstrakt odrzucono. Następnie roztwór zakwaszono do pH 1,5 2 N kwasem solnym i ekstrahowano octanem etylu (3×100 ml). Ekstrakt octanu etylu wysuszono nad siarczanem magnezowym i odparowano. Pozostałość w ilości 8,5 g rozpuszczono w możliwie najmniejszej ilości gorącego etanolu, z którego po ochłodzeniu wydzielono 1,5 g (z 15% wydajnością) kwasu 3-izopropoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4. Produkt ten przekrystalizowano z etanolu, otrzymując kryształy pryzmatyczne o temperaturze topnienia 169—171°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = +87^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 237 nm ($\epsilon = 14\,500$), 260 nm ($\epsilon = 7900$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1775 (β-laktam), 1728 (COOH), 1668 i 1535 cm^{-1} (CONH). Widmo MRJ (D_2O z dwuwęglanem sodowym) 5,64 i 5,95 (kwartet: J = 16 Hz, $-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 6,31, 8,87τ ($-\text{CH}_2-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$). (Oznaczono: C, 51,6; H, 5,1; N, 6,7; S, 16,3%). $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ zawiera: C, 51,5; H, 5,1; N, 6,1; S, 16,2%. R_F 0,32 (system B), 0,65 (system C).

Przykład XII. Reakcja kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 z różnymi alkoholami:

Roztwory 40 mg kwasu w 0,5 ml poszczególnego alkoholu ogrzewano do 80°C przez pół godziny. Próbkę roztworu po 5 μl nanoszono na bibułę i rozwijano rozpuszczalnikami systemu C do około 30 cm. Chromatogramy poddawano bioautografii na Staphylococcus aureus C 864 i Escherichia coli 573. Aktywność biologiczną (oznaczoną jako stosunek powierzchni obszaru biologicznie aktywnego do powierzchni obszaru absorbującego ultrafiolet) nowych plamek na chromatogramie (odmiennych od substancji pozostającej na linii podstawowej lub wędrującej z brzegiem plamy rozpuszczalnika) przedstawiono w tabeli 3.

Przykład XIII. Reakcja kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 z fenolem:

Mieszaninę 0,5 g (1,08 milimola) kwasu i 0,8 g (5,3 milimola) fenolu ogrzewano w 80°C przez 8 minut. Stop ochłodzono i rozpuszczono w 10 ml octanu etylu. Substancję nierozpuszczoną odsączono i odrzucono, zaś przesącz przemyto wodą (2×10 ml). Próbkę przesącza po 5 μl nanoszono na bibułę i rozwijano rozpuszczalnikami systemu C do około 30 cm. Chromatogramy poddawano bioautografii na Staphylococcus aureus C 864 i Escherichia coli 573. Wyniki określano w ten sam sposób co w przykładzie XII i podano w tabeli 3.

Przykład XIV. Otrzymywanie N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemyl)-metylo]-tiazolio-karboksyłan-4:

Tabela 3

Alkohol	R_F	Staphylococcus aureus	Escherichia coli
Cykloheksanol	0,57	+++	+
Alkohol benzylowy	0,47	+++	+
Alkohol fenyletynowy	0,56	+++	ślady
Alkohol furfurylowy	0,25	+++	++
plamka 1	0,53	+++	ślady
plamka 2	0,41	+++	ślady
2-Chloroetanol	0,70	+++	+
Fenol		+++	+

3 g (6,5 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 rozpuszczono w 50 ml 50%-go wodnego roztworu acetonu i zadano 1,8 ml (25,4 milimola) tiazolu, a roztwór ogrzewano w 50°C przez 30 minut. Aceton usunięto pod próżnią, a warstwę wodną ekstrahowano octanem etylu (2×10 ml). Rozpuszczony octan etylu usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a wodną pozostałość przepuszczono przez kolumnę wypełnioną jonitem Dowex 1 (AcO^-) (3×10 cm), który płukano wodą tak długo aż eluat przestał wykazywać skręcalność optyczną. Eluat suszono w stanie zamrożonym. Zliofilizowaną substancję stałą zadano metanolem, przy czym krystalizacja nastąpiła bez przechodzenia do roztworu. Otrzymano 800 mg (z 29% wydajnością) produktu o temperaturze topnienia 169—172°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 14,1^\circ$ (c 1,03, aceton: woda = 1,1), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 236-7 nm ($\epsilon = 18\,000$), 264 nm ($\epsilon = 10\,000$) (wzgórek), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1760 (β-laktam), 1692 ($-\text{CONH}-$), 1602 cm^{-1} ($\text{COO}-$). (Obliczono: C, 45,6; H, 3,7; N, 9,4; S, 21,1%). $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}_3\text{O}_4 \cdot 1\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 45,5; H, 4,0; N, 9,4; S, 21,4%. R_F 0,14 (system B), 0,04 (system C).

Przykład XV. Otrzymywanie kwasu 3-(N-pirazolilometylo)-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4:

3,2 g (6,9 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyłowego-4 rozpuszczono w 60 ml 50%-go wodnego roztworu acetonu i zadano 1,6 g (24 milimolami) pirazolu, a roztwór ogrzewano w 50°C przez 35 minut. Aceton usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a wodną pozostałość wyekstrahowano eterem (9×20 ml). Po osuszeniu eter odparowano, a stałą pozostałość przekrystalizowano z roztworu wody z alkoholem, otrzymując 1,3 g (z 47% wydajnością) produktu o temperaturze topnienia 180—185°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{30} = 53,5^\circ$ (c 1,01, etanol), $\lambda_{\max}$ (etanol) 236 nm ($\epsilon = 14\,000$), 261 nm ($\epsilon = 8250$) (wzgórek), $\nu_{\max}$ (Nujol) 3272 ($-\text{NH}-$), 1773 (β-laktam), 1712 ($-\text{COOH}$), 1660 i 1532 cm^{-1} ($-\text{CONH}-$). (Oznaczono: C, 50,9; H, 4,2; N, 13,9; S, 15,7%). $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{S}_2\text{O}_4$ zawiera: C, 50,5; H, 4,0; N, 13,9; S, 15,9%. Widmo MRJ (D_2O z NaHCO_3) 2,30, 3,62, 2,41 ($-\text{N}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{N}-$), R_F 0,37 (system B), 0,12 (system C).

Przykład XVI. Otrzymywanie N-[7β-2'-tienyloacetamido]-3-(3-cefemilo)-metylo]-5''-(β-hydroksyetylo)-4''-metylotiazolio-karboksylan-4:

1,0 g (2,15 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksy-metylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 i 0,7 g (4,9 milimola) 5-(β-hydroksyetylo)-4-metylotiazolu rozpuszczono w 20 ml 50%-go wodnego roztworu acetonu i roztwór ogrzewano w 50°C przez 30 minut. Roztwór ochłodzono i usunięto aceton pod zmniejszonym ciśnieniem. Warstwę wodną wyekstrahowano octanem etylu (2×10 ml), przepuszczono przez kolumnę wypełnioną jonitem Dowex 1 (AcO-) (2×8 cm), który przemywano wodą tak długo aż eluat nie wykazał więcej jakiegokolwiek wyraźnej skręcalności optycznej. Eluat wysuszono w stanie zamrożonym, uzyskując 400 mg (z 30% wydajnością) stałej, białej substancji o temperaturze topnienia 125–130°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 14,8^\circ$ (c 1,01, aceton : woda = 1 : 1), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 305 i 257 nm ($\epsilon = 14\,700$ i $12\,000$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1775 (β-laktam), 1670 i 1550 (—CONH—), 1615 cm^{-1} (—COO—). (Oznaczono: C, 47,7; H, 4,6; N, 8,1; S, 18,5%. $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_5 \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 47,7; H, 4,8; N, 8,3; S, 19,0%). R_F 0,16 (system B), 0,4 (system C).

Przykład XVII. Otrzymywanie chlorku N-[4-dwufenylometoksykarbonylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydyniowego:

1 g 3-chlorometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu utrzymywano w 50°C w 10 ml bezwodnej pirydyny przez 2 godziny. Pirydynę usunięto pod próżnią 0,1 mm Hg w 30°C, a pozostałość rozdzielono pomiędzy wodę i octan etylu. Warstwę wodną uwolniono od rozpuszczalników organicznych i wysuszono w stanie zamrożonym, otrzymując białą substancję stałą, z której przez ucieranie z eterem uzyskano 760 mg (z 65% wydajnością) chlorku N-[4-dwufenylometoksykarbonylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-pirydyniowego o $[\alpha]_D^{25} = +280^\circ$ (c 1,0, woda), $\lambda_{\max}$ (bufor fosforanowy pH 6) 240 nm ($\epsilon = 14\,800$), 249–250 nm ($\epsilon = 13\,700$) (oba odgięcia), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1780 (β-laktam), 1742 (COOR), 1545 i 1680 cm^{-1} (CONH). Widmo MRJ (pirydyna) 3-1-CH₂ przy 5,75τ. (Obliczono: C, 59,4; H, 4,7; N, 6,1; S, 9,9; Cl, 5,4%. $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{S}_2\text{O}_4\text{Cl} \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 59,5; H, 4,8; N, 6,5; S, 9,9; Cl, 5,5%). Produkt przenosi dodatni ładunek elektryczny przy pH 1,9 i pH 7 (elektroforeza). Zabarwia się na fioletowo pod wpływem odczynnika jodoplatynianowego.

W sposób analogiczny, jak w przykładzie I, usunięto estryfikującą grupę dwufenylometylową przez hydrolizę kwasową za pomocą kwasu trójfluorooctowego z anizolem.

Przykład XVIII. Otrzymywanie 3-n-propoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu:

Roztwór 1,5 g (2,8 milimola) 7β-(2'-tienyloacetamido)-3-chlorometylocefemo-3-karboksylan-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 prze-

sączono i wiano do wody. Mieszaninę wyekstrahowano eterem (3×15 ml), a ekstrakt eterowy wysuszono nad siarczanem magnezowym i odparowano. Gumowatą substancję 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 dwuwęglanu sodowego i wodą, wysuszono i odparowano. Uzyskaną gumowatą substancję rozfrakcjonowano chromatograficznie na kolumnie wypełnionej kwasem krzemowym (4,5×25 cm) roztworem 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 produktu (wydajność około 30%).

Przykład XIX. Otrzymywanie kwasu 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4:

Związek ten otrzymano drogą następujących reakcji według schematu, którego poszczególne stopnie opisano bardziej szczegółowo poniżej.

3-Chlorometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu → 3-jodometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu → 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu → kwas 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowy-4.

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

7,858 g (14,5 milimola) 3-chlorometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu rozpuszczono w acetonie i poddano reakcji z roztworem 7,8 g (50 milimoli) jodku sodowego w 100 ml acetonu przez 90 minut w ciemności. Pod koniec tego okresu czasu roztwór przesączono i wiano do 750 ml wody zawierającej chlorek sodowy i tiosiarczan sodowy. Wydzielony olej wyekstrahowano 4-krotnie eterem, warstwę organiczną przemyto najpierw wodą, a następnie dwukrotnie solanką, wysuszono i odparowano uzyskując spienioną substancję, którą przekrystalizowano z 18 ml octanu etylu otrzymując ostatecznie 3-jodometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu. Ług macierzysty przemyto roztworem tiosiarczanu sodowego, wodą i solanką, osuszono i odparowano, uzyskując 2,75 g zanieczyszczonego produktu z przybliżoną wydajnością 30%. Wydajność krystalicznego produktu 60%, temperatura topnienia 155–161°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} = 86,3^\circ$ (c 0,73; tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 290 nm ($\epsilon = 8400$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1773 (β-laktam), 1717 (CO₂R) i 1670 oraz 1520 cm^{-1} (—CONH—). Widmo MRJ (deuteriochloroform) 5,70τ (proton-2 szeroki singlet) (CH₂J). (Oznaczono: C, 51,6; H, 3,7; J, 19,7; N, 4,3; S, 10,2%. $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{JN}_2\text{O}_4\text{S}_2$ 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).

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

Roztwór 2,5 g (3,96 milimola) 3-jodometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w 100 ml benzenu zadano roztworem 0,9 g (około 4 milimoli) nadchloranu rtęciowego w 25 ml metanolu. Po odstaniu się roztworu przez 5 minut w temperaturze pokojowej roztwór przemyto kolejno wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego, tiosiarczanu sodowego i wodą, a następnie odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Gumowatą substancję rozpuszczono w roztworze benzen : octan etylu = 9 : 1, a roztwór przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem przez warstwę kwasu krzemowego, który następnie przemyto samym rozpuszczalnikiem. Połączone przesącza odparowano, a pozostałą gumowatą substancję rozpuszczono w 15 ml etanolu, z którego wykrystalizowano 0,61 g (wydajność 25%) 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w formie bezbarwnych pryzmatycznych kryształów o temperaturze topnienia 146—147°C, $[\alpha]_D^{25} + 15,6^\circ$ (c 1,0; tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 235 nm (wzgórek), 260 nm (wzgórek) ($\epsilon = 14\ 800$ i 9100), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1786 (β-laktam), 1725 (—COOR), 1668 i 1646 cm^{-1} (—CONH—). Widmo MRJ 5,76τ (—CH₂OCH₃), 6,80τ (—CH₂OCH₃). (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%).

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

2 g 3-metoksymetylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu rozpuszczono w mieszaninie 8 ml kwasu trójfluorooctowego i 2 ml anizolu i po 5 minutach usunięto te odczynniki pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymaną gumowatą substancję rozpuszczono w octanie etylu i wlało do nafty o temperaturze 60°—80°C, a produkt oddzielono przez odsączenie. Krystalizował on z octanu etylu w formie bezbarwnych pryzmatycznych kryształów o temperaturze topnienia 153—157°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{25} + 81,6^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), $\lambda_{\max}$ (etanol) 237 nm, 260 nm (wzgórek) ($\epsilon = 13\ 700$ i 7700), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1780 (β-laktam), 1720 (—COOH), 1690 i 1524 cm^{-1} (—CONH—), widmo MRJ 5,80τ (—CH₂OCH₃), 6,70τ (—CH₂OCH₃). (Oznaczono: C, 49,2; H, 4,4; N, 7,5; S, 17,0%). C₁₅H₁₆N₂O₅S₂ zawiera: C, 48,9; H, 4,4; N, 7,6; S, 17,4%).

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

Roztwór 8 g (12,7 milimola) 3-jodometylo-7β-(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 mieszaninę 20 ml 2 N kwasu solnego z 80 ml acetonu. Zawiesinę wytrząsnięto energicznie aż cały olej się rozpuścił i dodano 300 ml octanu etylu i 100 ml wody. Po wytrząśnięciu warstwę wodną oddzielono

i odrzucono, zaś warstwę organiczną przemyto wodnym roztworem tiosiarczanu sodowego, wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego i wodą, a następnie osuszono i odparowano. Spienioną pozostałość rozpuszczono w 25 ml octanu etylu i po 15 minutach otrzymano 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu odsączone, przemyto etanolem i wysuszono uzyskując 4,5 g (50% wydajności) produktu. Produkt ten krystalizował z etanolu w postaci bezbarwnych kryształów pryzmatycznych o temperaturze topnienia 167—170°C, $[\alpha]_D^{23} + 8,5^\circ$ (c 1,0, tetrahydrofuran), λ_{inf} (etanol) 260 nm ($\epsilon = 7500$), $\nu_{\max}$ (CHBr₃) 1780 (β-laktam), 1720 (COOR), 1702 (> 0), 1682 i 1512 cm^{-1} (—CONH—). Widmo MRJ (CDCl₃) 7,3—9,0τ (protony w pierścieniu cykloheksanonu). (Oznaczono: C, 65,4; H, 5,4; N, 4,5; S, 10,7%). C₃₃H₃₂N₂O₅S₂ · 1/2 H₂O zawiera: C, 65,6; H, 5,4; N, 4,6; S, 10,6%).

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

Roztwór 2,25 g (3,75 milimola) 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu i 3,75 ml (4,75 milimola) pirydyny w 30 ml chlorku metylenu ochłodzono do -10°C i zadano roztworem 2,55 g (11,3 milimola) pięciochlorku fosforu w 35 ml chlorku metylenu w ciągu 5 minut. Roztwór mieszało w -10°C przez 30 minut. 37,5 ml metanolu dodawano z taką szybkością by temperatura nie wzrosła ponad -10°C, po czym po dodaniu całej ilości pozwolono temperaturze wzrosnąć do pokojowej. Po pięciu godzinach roztwór ochłodzono do -10°C i zadano 50 ml wody, mieszając energicznie. Mieszanie kontynuowano w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Warstwę organiczną oddzielono i przemyto kolejno rozcieńczonym kwasem octowym, wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego i wodą, a następnie osuszono i odparowano. Gumowatą substancję 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. Kwaśny p-toluenosulfonian 7β-amino-3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu wydzielono w formie bezbarwnych kryształów pryzmatycznych w ilości 0,80 g (33% wydajności). Można go przekrystalizować z mieszaniny chloroformu z octanem etylu. Temperatura topnienia 162—166°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{23} - 0,9^\circ$ (c 1,0, chlorek metylenu : metanol = 4 : 1 objętościowo), $\lambda_{\max}$ (etanol) 259 nm ($\epsilon = 6900$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1780 (β-laktam), 1718 (COOR), 1700 cm^{-1} (> 0). Widmo MRJ ((CD₃)₂SO), 7,30 (protony w pierścieniu cykloheksanonu), 7,5—8,9τ (protony w pierścieniu cykloheksanonu). (Oznaczono: C, 62,3; H, 5,7; N, 3,9; S, 9,4%). C₃₄H₃₆N₂O₇S₂ · 1/2 H₂O zawiera: C, 62,1; H, 5,7; N, 4,3; S, 9,7%).

7β-(D-α-amino-α-fenylacetamido)-3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-cefemo-3-karboksylan-4 otrzymano w następujący sposób:

Roztwór 0,92 g (3,35 milimola) N-(III-rzęd.-butoksykarbonylo)-D-fenylglicyny w 10 ml bezwodnego tetrahydrofuranu zadano w -6°C 0,54 ml

(3,55 milimola) trójetyloaminy, a następnie roztworem 0,53 g (3,26 milimola) chloromrówczanu izobutylu w 4 ml bezwodnego tetrahydrofuranu w takim tempie, by temperatura nie wzrosła powyżej -6°C . Po 30 minutach mieszania w temperaturze pokojowej odsączono chlorek trójetyloamoniowy. Przesącz dodano do roztworu 1,5 g (2,55 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylo-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 8 ml acetonitrylu i 4 ml N,N-dwumetyloacetamidu. Po 60 minutach rozpuszczalnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem. Roztwór pozostałości w octanie etylu przemyto wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego i wodą, a następnie osuszono i odparowano rozpuszczalnik. Gumową substancję zadano 3 ml anizolu i 12 ml kwasu trójfluorooctowego, a po 5 minutach odczynnik usunięto pod próżnią. Oleistą pozostałość zdyspergowano w 100 ml wody i zadano 10% w-ą żywicą Amberlit LA1 (OAc-) w 50 ml eteru. Po wytrząśnięciu warstwę wodną oddzielono i przemyto octanem etylu (4 $\times$ 50 ml, a następnie wysuszono w stanie zamrożonym, uzyskując 700 mg (68% wydajności) białej stałej substancji o temperaturze topnienia 150—210 $^{\circ}\text{C}$, λ_{max} (H_2O) 261 nm ($\epsilon = 6600$), ν_{max} (H_2O) 261 nm ($\epsilon = 6600$), ν_{max} (Nujol) 1766 (β -laktam), 1700 ($> = \text{O}$), 1680 i 1530 ($-\text{CONH}-$), 1620 cm^{-1} ($-\text{COO}-$). Widmo MRJ ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) 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 ninhydryną. Szybsza plamka, która nie absorbuje ultrafioletu, odpowiada swym zachowaniem α -fenyloglicynie. Frakcja większa absorbuje światło ultrafioletowe.

Przykład XXI. Otrzymywanie 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 sodowego:

1,5 g (2,5 milimola) 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu rozpuszczono w mieszaninie 3 ml anizolu i 10 ml kwasu trójfluorooctowego. Po 5 minutach odczynnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt wytrącono przez rozpuszczenie w octanie etylu i wlanie do eteru naftowego. Otrzymaną w ten sposób białą stałą substancję rozpuszczono w 80 ml acetonu i zadano 10% w-ym roztworem heptanokarboksylanu-3 sodowego w acetonie (12,5 ml, 7,5 milimola), z którego wydzielił się 3-(2'-ketocykloheksylo)metylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 sodowy w formie bezbarwnych kryształów pryzmatycznych w ilości 800 mg (70% wydajności). $[\alpha]_{\text{D}}^{23} + 98,1^{\circ}$ (c 1,0, H_2O), λ_{max} (H_2O) 236 nm ($\epsilon = 13100$), λ_{inf} 260 nm ($\epsilon = 5900$), ν_{max} (Nujol) 1738 (β -laktam), 1690 ($> \text{O}$), 1645 i 1532 ($-\text{CONH}-$), 1600 cm^{-1} ($-\text{COO}-$). Widmo MRJ (D_2O) 7,0—9,0 τ (protony w pierścieniu cykloheksanonu). (Oznaczono: C, 51,4; H, 4,8; N, 5,6; S, 13,4%). $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NaN}_2\text{O}_5\text{S}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ zawiera: C, 51,6; H, 4,8; N, 6,0; S, 13,8%). R_E 0,48 (system B), 0,61 (system C).

Przykład XXII. Otrzymywanie 3-bromometylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu:

Roztwór 520 mg (1 milimola) 3-hydroksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu w 10 ml bezwodnego tetrahydrofuranu zawierającego 70 mg (1 milimol) pirydyny zadano kroplami w ciągu 15 minut roztworem 180 mg (0,4 milimola) trójbromku fosforu w 3 ml bezwodnego tetrahydrofuranu. Po odstaniu przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej mieszaninę odparowano, pozostałość zaś wytrząśnięto z benzenem i przesączono. Przesącz poddano chromatograficznemu frakcjonowaniu na krzemionce 0,65—0,2 (E. Merck A.G., Darmstadt, NRF), a frakcja wymyta roztworem benzen: octan etylu = 1:8, połączono razem i odparowano, uzyskując gumową substancję, która po roztrąceniu z zimnym bezwodnym etanolem uległa zestaleniu. Otrzymany produkt w ilości 180 mg przemyto eterem i wysuszono pod próżnią. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 33^{\circ}$ (c 1,0, tetrahydrofuran), λ_{max} (tetrahydrofuran) 276 nm ($\epsilon = 9300$), ν_{max} (bromoforn) 3390 (NH), 1780 (β -laktam), 1720 ($-\text{CO}_2\text{CHPh}_2$), 1500 i 1690 cm^{-1} ($-\text{CONH}-$). Widmo MRJ (CDCl_3) 6,2 ($-\text{CH}_2-\text{CONH}$), 4,20 i 5,07 (protony w pozycji 6 i 7), 5,72 τ ($-\text{CH}_2\text{Br}$), R_F 0,55 (żel krzemionkowy GF 254, octan etylu: benzen = 1:5). Oznaczono: Br, 12,7; S, 11,2%. $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}_4\text{S}_2$ zawiera: C, 55,6; H, 4,0; Br, 13,7; N, 4,8; S, 11,0%.

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

14 g (30,1 milimola) kwasu 3-dwuchloroacetoksymetylo-7 β B-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 gotowano pod chłodnicą zwrotną w 110 ml izopropanolu przez 45 minut. Po przesączeniu przez warstwę ziemi okrzemkowej, roztwór izopropanolowy wiano do 1000 ml wody i nastawiono pH na 8,5. Roztwór ekstrahowano octanem etylu (2 $\times$ 100 ml), a ekstrakty odrzucono. Następnie roztwór zakwaszono do pH 1,5 2 N kwasem solnym i ekstrahowano octanem etylu (3 $\times$ 100 ml). Ekstrakty octanu etylu osuszono nad siarczanem magnezowym i odparowano. Gumową substancję rozpuszczono w 40 ml octanu etylu i dodano 60 ml eteru. Powstały osad odsączono, a przesącz odparowano uzyskując 5,9 g pomarańczowej gumowatej substancji.

Roztwór 5,9 g tej substancji w 65 ml tetrahydrofuranu zadano nadmiarem dwufenyldwuwazometanu (otrzymanego z 4,5 g hydrazonu benzofenonu) w 80 ml eteru. Po 1 godzinie roztwór zadano 2 ml lodowatego kwasu octowego i odparowano. Otrzymaną gumową substancję poddano frakcjonowaniu chromatograficznemu na kolumnie z kwasem krzemowym (4 $\times$ 15 cm) przy użyciu benzenu i roztworu benzen: octan etylu = 9:1. Frakcje zawierające substancję o R_F około 0,7 w chromatografii cienkowarstwowej (żel krzemionkowy GF 254, benzen: octan etylu = 5:1) połączono razem i odparowano, uzyskując 1,73 g gumowatej, żółtawej substancji, która okazała się 3-izopropoksymetylo-7 β -(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanem-4 dwufenylometylu. Łańcuch boczny w pozycji 7 usunięto ogólną metodą opisaną w przykładzie III, otrzymując 600 mg (3,3%) w stosunku do związku dwuchloroacetoksymetylowego) kwaśnego p-tolue-

nosulfonianu 7 β -amino-3-izopropoksymetylo-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu. $\lambda_{\max}$ (etanol) 263 nm ($\epsilon = 6600$), $\nu_{\max}$ 1792 (β -laktam), 1728 (COOR), 1430 cm^{-1} (SO $_2$). (Oznaczono: C, 61,1; H, 6,0; N, 4,3; S, 10,3%. $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2$ zawiera: C, 61,0; H, 5,6; N, 4,6; S, 10,5%). Widmo MRJ (CDCl_3) 5,41 i 5,83 (kwartet, $J = 16$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 6,62 i 8,99 τ ($-\text{CH}_2-\text{CHCH}_3$).

W innym doświadczeniu otrzymano 3-izopropoksymetylo-7 β -aminocefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu w stanie krystalicznym o temperaturze topnienia 157–161°C (z rozkładem), $[\alpha]_D^{28} - 3^\circ$ (c 1,0; etanol), przed utworzeniem soli kwasu p-toluenosulfonowego.

Kwas 7 β -(D- α -amino- α -fenyloacetamido)-3-izopropoksymetylo-cefemo-3-karboksylan-4 otrzymano przez acylowanie 0,94 g (1,47 milimola) kwaśnego p-toluenosulfonianu 7 β -amino-3-izopropoksymetylo-cefemo-3-karboksylanu-4 dwufenylometylu mieszanym bezwodnikiem otrzymanym z N-(III-rz.-butoksykarbonylo)-D-fenyloglicyny (0,77 g, 3,06 milimola) i chloromrówczanu izobutyłu ogólną metodą opisaną w przykładzie III, uzyskując 0,46 g (74% wydajności). $[\alpha]_D^{28} + 45^\circ$ (c 1,0, H_2O), $\nu_{\max}$ (H_2O) 260 nm ($\epsilon = 6900$), $\nu_{\max}$ (Nujol) 1766 (β -laktam), 1695 cm^{-1} (COO-). Widmo MRJ (D_2O) 5,26, 6,02, 8,67 τ ($-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$). R_F 0,76 (system A), 0,18 (system B). Produkt ten zawierał zanieczyszczenia nie uwidaczniające się na chromatogramach w świetle ultrafioletowym; głównym zanieczyszczeniem jest prawdopodobnie α -fenyloglicyna (około 30%). (Oznaczono: S : N = 1 : 4,1. Obliczony z wzoru $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ stosunek S : N = 1 : 3).

Wyniki doświadczeń biologicznych z zastosowaniem związków otrzymanych w przykładach podano w tabeli 4.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania nowych związków cefalosporynowych o ogólnym wzorze 18 w którym R^u oznacza karbocykliczny lub heterocykliczny aryl, cykloalkil, podstawiony arylen, podstawiony cykloalkilen lub niearomatyczną grupą heterocykliczną, n oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4 a A oznacza pozostałość nukleofilową związku takiego jak trzyczlorodowa amina alifatyczna, amina aromatyczna, aralifatyczna i cykliczna, heterocykliczna zawierająca więcej niż jeden heteroatom przy czym co najmniej jeden heteroatom jest atomem azotu, cyjanku, pirole, podstawione pirole, związek posiadający ustabilizowany karbanion, tiomocznik, alifatyczny, aromatyczny, aralifatyczny, alicykliczny i heterocykliczny podstawiony tiomocznik, aromatyczny i alifatyczny tioamid, tiosiarczan oraz alkohole i fenole, **znamienny tym**, że związek o ogólnym wzorze 19 w którym R^u i n mają wyżej podane znaczenie, a X oznacza atom chloru, bromu

lub jodu, grupę formyloksylową lub acetoksyloową posiadającą co najmniej jeden podstawnik wytrącający elektron na α -atomie węgla lub pierścieniowy podstawnik grupy benzoyloksylowej przy czym ten pierścieniowy podstawnik należy do rodzaju wytrącających elektron lub grupę izotocyjanianową lub jego ester reaguje ze związkiem mającym atom nukleofilowy taki jak węgiel, azot, tlen lub siarka, przy czym pH waha się od 5 do 8 korzystnie od 6 do 7, w wyniku czego następuje wymiana grupy X na nukleofil.

2. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że jako związek z nukleofilem stosuje się trójalkilaminę np. trójetyloaminę lub aminę heterocykliczną np. pirydynę, alkilopirydynę, pirymidynę, purynę, pirydazyne, pirazyne, pirazol, imidazol, triazol lub tiazol.

3. Sposób według zastrz. 1–2 **znamienny tym**, że jako związek z nukleofilem stosuje się fenol lub alkohol np. metanol, etanol, propanol lub butanol.

4. Sposób według zastrz. 1–3 **znamienny tym**, że reakcję związku o wzorze 10 lub jego estru ze związkiem z nukleofilem prowadzi się w roztworze reagentów w temperaturze od 0–120°C, np. od 35–75°C, korzystnie w temperaturze około 50°C przez około 15 min.

5. Sposób według zastrz. 1–4 **znamienny tym**, że stosuje się 1–10 równoważników molowych związku z nukleofilem na jeden równoważnik molowy związku o wzorze 19 lub jego estru.

6. Sposób według zastrz. 1–5 **znamienny tym**, że pH reakcji reguluje się przez buforowanie.

7. Sposób według zastrz. 1–6 **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w środowisku polarnym takim jak dioksan, octan etylu, formamid, N,N-dwumetyloformamid lub aceton, albo w środowisku rozpuszczalnika niepolarnego.

8. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że w przypadku wytwarzania związku o wzorze ogólnym 20, w którym R oznacza grupę acylokarboksylową o wzorze $R^u(\text{CH}_2)_n\text{CO}$ w którym R^u oznacza aryl (karbocykliczny lub heterocykliczny), cykloalkil, podstawiony aryl, podstawiony cykloalkil lub niearomatyczną grupą heterocykliczną, a n oznacza liczbę całkowitą od 1–4, a Y oznacza chlorobrom lub jod, oraz jego soli i estrów, związek o wzorze ogólnym 21, w którym R ma wyżej podane znaczenie lub h jego sól albo ester, taki jak ester dwufenylometylowy, poddaje się reakcji z chlorkiem tionylu, chlorkiem kwasowym takim jak N,N-dwualkilochlorosulfinoamid lub N,N-dwuarylochlorosulfinoamid, bromkiem kwasowym lub trójbromkiem fosforu i pirydyną, następnie jeżeli wymagany jest związek 3-jodometylowy, związek 3-chlorometylowy lub 3-bromometylowy poddaje się reakcji z jodkiem metalu alkalicznego takim jak jodek sodu.

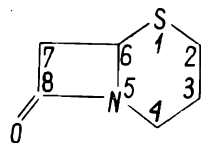
Tabela 4

Przy- kład	Związek	Próba rozcieńczeń (1 /ml)												Ochrona myszy ED ₅₀ mg/kg/dawkę		ROI(R ³⁾)
		Gram dodatni						Gram ujemny								
		Staphy- lococcus aureus 604	Staphy- lococcus aureus 663	Staphy- lococcus aureus 3452	Staphy- lococcus aureus 11092	Staphy- lococcus aureus 11127	Strep- toccus faecalis 850	Esche- richia coli 573	Salmo- nellatyphi- murium 804	Proteus mirabi- lis 431	Pseudo- monas pyocy- anea 150	Staphy- lococcus aureus 663 ¹⁾	Staphy- lococcus aureus 11127 ¹⁾			
VI	N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-trójetylo-amonio-karboksylan-4	0,62	0,31	2		3,1		125	125	125	> 250	3		< 1,0		
VIII ³⁾	3-chlorometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu	4	1	2			62						> 50	2,5		
XIV	N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-tiazolio-karboksylan-4	1,25	0,08	< 0,5				16	16	31	> 250	< 6		< 1,0		
XV	kwas 3-(N-pirazolilometylo)-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowy-4	0,6	0,08	8,0				62	62	62	62			1,0		
XVI	N-[7β-(2'-tienyloacetamido)-3-(3-cefemilo)-metylo]-5''-(β-hydroksyetylo)-4''-metylotiazolio-karboksylan-4	0,16	0,08	< 0,5				8	16	62	> 250	< 6		< 1,0		
XIX ³⁾	3-jodometylo-7β-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 dwufenylometylu	16	1	8		8	125						> 50	2,8		
XX	7β-(D-α-amino-α-fenylacetamido)-3-(2'-ketocykloheksylo)-metylocefemo-3-karboksylan-4	0,6	0,6	2		2	62	125	62	62	> 250					
XXI ¹⁾	3-(2'-ketocykloheksylo)-metylo-7β-(2''-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylan-4 sodowy	0,3	0,08	< 0,5		< 0,5	125	250	250	62	> 250					

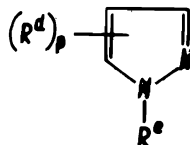
1) Domięśniowo

2) Procent antybiotyku odzyskiwanego z moczu samiec szczurów po zaaplikowaniu doustnym

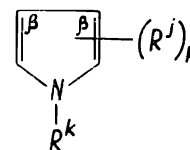
3) Próbe wykonano z wolnym kwasem



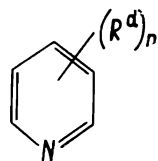
Wzòr 1.



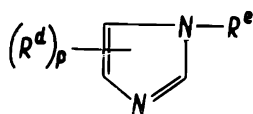
Wzòr 7.



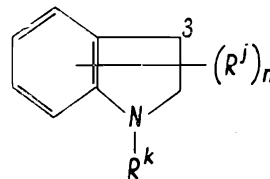
Wzòr 13



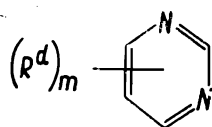
Wzòr 2



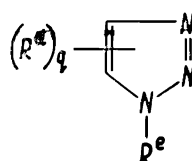
Wzòr 8.



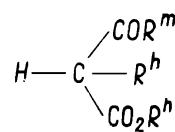
Wzòr 14



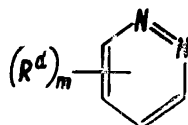
Wzòr 3.



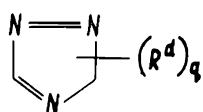
Wzòr 9



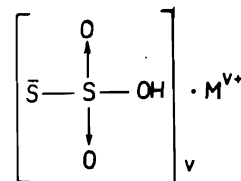
Wzòr 15



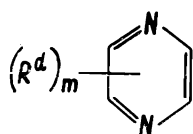
Wzòr 4.



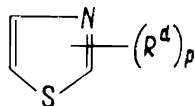
Wzòr 10.



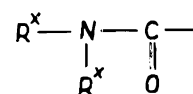
Wzòr 16



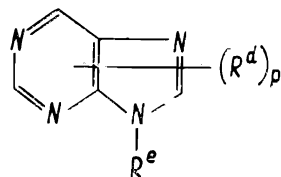
Wzòr 5.



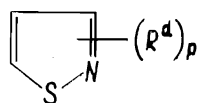
Wzòr 11.



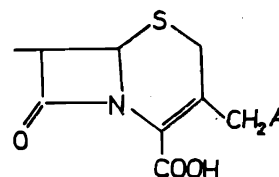
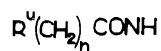
Wzòr 17



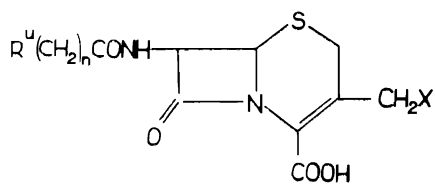
Wzòr 6.



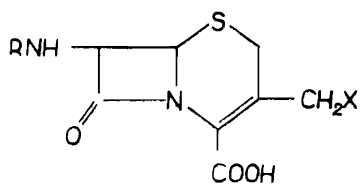
Wzòr 12.



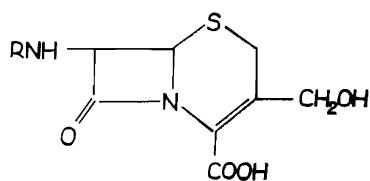
Wzòr 18



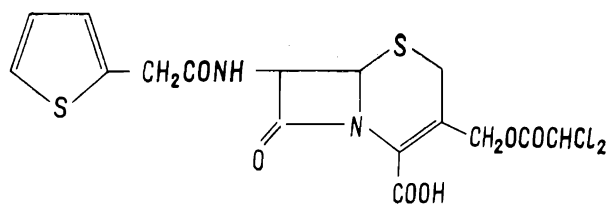
Wzór 19



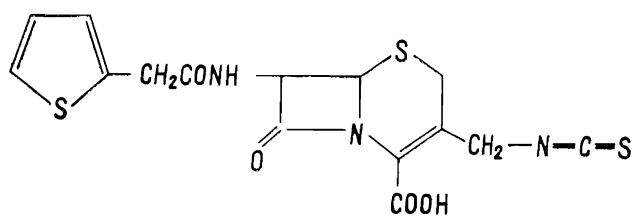
Wzór 20



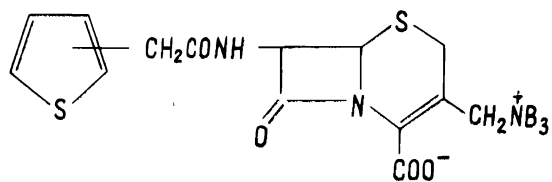
Wzór 21



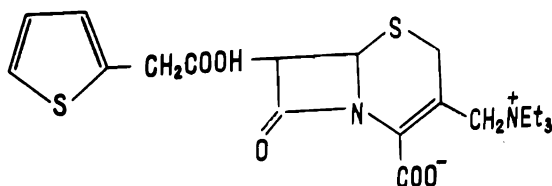
Wzór 22



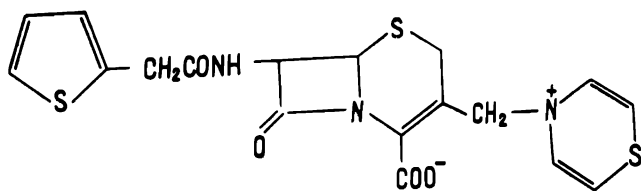
Wzór 23.



Wzór 24.



Wzór 25.



Wzór 26.

ERRATA

- 1) łam 15, wiersz 2
jest: elektroferezie
winno być: elektroforezie
- 2) łam 16, wiersz 43
jest: $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$
winno być: $-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$
- 3) łam 24, wiersz 19
jest: $\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$
winno być: $\frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$
- 4) łam 25, wiersz 61
jest: R_E
winno być: R_F
- 5) łam 26, wiersz 32
jest: $7\beta\text{B}$
winno być: 7β

Cena 10 zł