

NORGE



**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

Utlekningsskrift nr. 122925

Int. Cl. C 07 d 99/16 kl. 12p-4/01

Patentsøknad nr. 147.305 Inngitt 29.I.1963

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 1.VII.1968

Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 6.IX.1971

Prioritet begjært fra: 29.I.1962 USA,
nr. 169.657.

Bristol-Myers Company,
Thompson Road, East Syracuse, N.Y., USA.

Oppfinnere: David A. Johnson, 106 Margo Lane, Fayetteville, N.Y.
USA,

og
Saul Wolfe, 200 Park Street, Kingston, Ontario,
Canada.

Fullmektig: Dr.ing. K.O. Berg.

Fremgangsmåte ved fremstilling av α -aminobenzyl-penicillin og
derivater derav.

Den foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte til fremstilling av α -aminobenzylpenicillin og beslektede ringsubstituerte forbindelser.

α -aminobenzylpenicillin er beskrevet i litteraturen, f.eks. i U.S. patent nr. 2.985.648. I det nevnte patentskrift beskrives en fremgangsmåte til fremstilling av α -aminobenzylpenicillin ved først å fremstille α -aminofenyleddiksyre og omsetning av denne syre til beskyttelse av aminogruppen, f.eks. med benzoksykarbonylchlorid for dannelselse av α -karbobenzylloksyaminofenyleddiksyre, hvorefter det av denne forbindelse dannes et blandet anhydrid, som omsettes med 6-aminopenicillinsyre med

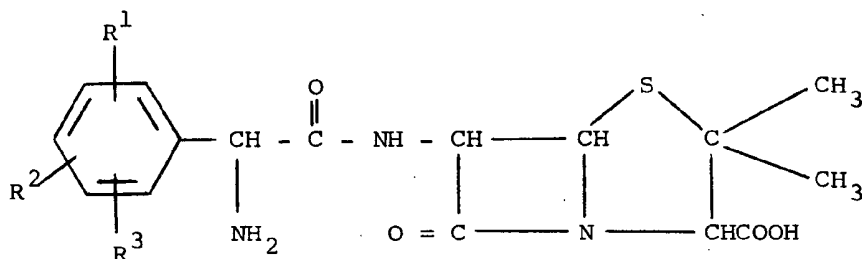
påfølgende fjernelse av den beskyttende gruppe fra aminogruppen ved hydrogenolyse og endelig rensing av produktet. En slik fremgangsmåte har i praksis vist seg å være svært vanskelig å utføre i kommersiell skala og har forøvrig den ulempe at den er meget kostbar, idet særlig hydrogenolysen krever vesentlige mengder hydrogeneringskatalysator.

Den foreliggende oppfinnelse har til hensikt å avhjelpe de mangler som følger med de tidligere kjente fremgangsmåter, og angår således en i forhold til dette forbedret fremgangsmåte til fremstilling av α -aminobenzylpenicilliner. Oppfinnelsens formål er særlig å angi en kommersielt anvendelig fremgangsmåte, ved hvilken 6-aminopenicillansyre vil kunne omsettes med 2-fenylglycylkloridhydroklorid til fremstilling av α -aminobenzylpenicillin og de diastereoiso-mere i stort utbytte og i det vesentlige fri for forurensninger med minst mulig arbeid. Andre formål for og fordeler ved den foreliggende oppfinnelse vil fremgå av nedenstående detaljerte beskrivelse av oppfinnelsen.

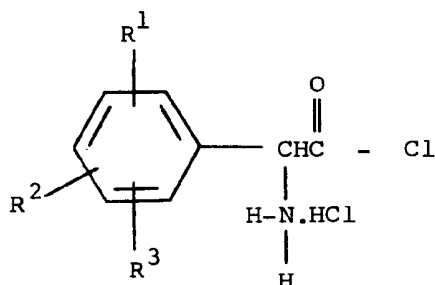
Ifølge en artikkel av Emil Fischer, "Synthese von Polypeptiden, XIII. Chloride der Aminosäuren und Polypeptide und ihre Verwendung zur Synthese", Ber. deut. chem. Ges., 38(3), 2914-2925, 1905, er det kjent å omsette kloridhydroklorider av aminosyrer med vann, slik at begge kloratomer omdannes til kloridioner øyeblikkelig ved berøring med kaldt vann, hvorefter det lett kan titreres med sølvnitrat til analyseformål. Disse kloridhydroklorider av aminosyrer kunne bare anvendes til fremstilling av peptider hvis reaksjonen fant sted såvel under absolutt vannfrie betingelser som med andre aminosyrer hvor karboksylgruppen var beskyttet, f.eks. ved forestring. Dette nødvendiggjorde en senere forsepning ved forhøyet temperatur.

Som følge av den usedvanlige raske hydrolyse av 2-fenylglycylkloridhydroklorider med vann har det ifølge oppfinnelsen overraskende vist seg, at disse kan omsettes med 6-aminopenicillansyre til fremstilling av en α -aminobenzylpenicillin enten i rent vann eller i et vandig, flytende medium med stort utbytte.

I overensstemmelse med dette fremstilles α -aminobenzylpenicillin med den generelle formel:



hvor R^1 , R^2 og R^3 hver betegner hydrogen, nitro, lavere alkyl, fluor, klor, brom, jod, lavere alkoxy, lavere alkylsulfonyl eller trifluormetyl, samt salter derav. Fremgangsmåten karakteriseres ved at 6-aminopenicillansyre omsettes med 1 - 3 ekvivalenter 2-fenylglycykloridhydroklorid med den generelle formel:



hvor R^1 , R^2 og R^3 har samme betydning som foran angitt,

i vandig medium ved en temperatur mellom -50 og $+20^{\circ}\text{C}$ og ved en pH-verdi på 1,5 - 5,5, hvorefter de således fremstilte forbindelser, om ønsket, omdannes til salter på i og for seg kjent måte.

Med "et vandig medium" forstås her et reaksjonsmedium som inneholder i det minste noen få prosent vann. Dette er meget vesentlig, idet reaksjonen ikke vil forløpe godt i et oppløsningsmiddel som f.eks. bare inneholder noen få ppm vann.

En særlig foretrukken utførelsesform for oppfinnelsen består

i at 6-aminopenicillansyre omsettes med 1,0 - 1,5 ekvivalenter 2-fenylglycykloridhydroklorid i et vandig medium ved en temperatur på ca. 0°C og en pH verdi på 2 - 3. De her anvendte molforhold, temperaturer og pH verdier har vist seg å gi de største utbytter av det ønskede α -aminobenzylpenicillin. En annen foretrukken utførelsesform for oppfinnelsen er at pH-verdien i sluttreaksjonsblandingen heves til ca. 7, hvorefter uoppløselige materialer fjernes ved filtrering. Denne utførelsesform for oppfinnelsen er å foretrekke når det ønskes oppnådd et produkt med størst mulig renhet.

De penicilliner som fremstilles ved anvendelse av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, kan lett omdannes til karboksylsure salter, f.eks. ikke-toksiske metallsalter, såsom natrium, kalium, kalsium, aluminium og ammoniumsalter og disses ikke-toksiske, substituerte ammoniumsalter med et amin, såsom trialkylamin, procain, dibenzylamin, N-benzyl- β -fenetylamin, 1-ephenamin, N,N'-dibenzyletylendiamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis-dehydroabietyletylendiamin eller N-(lavere)alkylpiperidiner, f.eks. N-etyl piperidin.

Den temperatur omsetningen ifølge oppfinnelsen utføres ved vil kunne variere mellom ca. -50 og +20°C. Hensiktsmessig utføres omsetningen ved ca. -20 til 0°C og mest foretrukket ved ca. 0°C. Omsetningstiden vil likeledes kunne varieres innenfor vide grenser, f.eks. mellom ca. 1 og 120 minutter. Et foretrukket reaksjonsintervall ligger på mellom 20 og 60 minutter, i første rekke avhengig av reaksjonskomponentenes mengde.

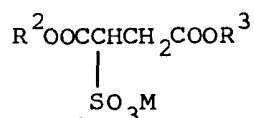
For å oppnå maksimalt utbytte er det hensiktsmessig, men ikke absolutt nødvendig, å sette til den vandige oppløsning av 6-aminopenicillansyre så meget uorganisk klorid, f.eks. natriumklorid, kalsiumklorid, at det oppnås metning. Det er videre hensiktsmessig, men ikke absolutt nødvendig, å anvende i det vandige reaksjonsmedium et vannoppløselig, organisk oppløsningsmiddel, som fortrinnsvis ikke reagerer med et syrekloridhydroklorid, f.eks. aceton, i en mengde tilsvarende ca. 20 - 90 % av sluttvolumet. Andre slike oppløsningsmidler er diok-

san og tetrahydrofuran, idet det foretrekkes å anvende flyktige oppløsningsmidler, som lett vil kunne fjernes ved destillasjon, f.eks. i vakuum ved slutten av reaksjonsforløpet. De ovenfor anførte, hensiktsmessige angivelser har særlig betydning når man ønsker å utføre reaksjonen ved eller under 0°C . For å oppnå størst utbytte foretrekkes det å anvende aceton og tetrahydrofuran, men lavere alifatiske alkoholer, dioksan og tilsvarende oppløsningsmidler vil kunne anvendes, slik det har vist seg ved enkle forsøk. Således omfatter det vandige reaksjonsmedium ifølge oppfinnelsen blandinger av aceton og vann, hvor acetoninnholdet ligger helt opp til 90 %.

Det faste 2-fenylglycykloridhydroklorid tilsettes hensiktsmessig i hyppige, små porsjoner, f.eks. i 10 - 100 like store porsjoner, som drysses over overflaten eller på annen måte dispergeres i vidtgående grad til oppløsning av 6-aminopenicillansyre i det i det vesentlige vandige reaksjonsmedium. Da det dreier seg om en heterogen reaksjon, foretrekkes det, men det er på ingen måte nødvendig at 2-fenylglycykloridhydrokloridpartiklene er små, f.eks. av en slik størrelsesorden at de er i stand til å passere gjennom en sikt med 80 masker pr. cm, eller mikroniserte, dvs. slik at gjennomsnittsstørrelsen er mindre enn 5 mikron. Det foretrekkes imidlertid at 2-fenylglycykloridhydrokloridet tilsettes intermitterende eller som en kontinuerlig strøm i form av en oppslemning, f.eks. i tørr aceton eller tilsvarende vannfri, ikke-reagerende, vannoppløselig, organisk oppløsningsmiddel eller i form av en oppløsning i et tilsvarende oppløsningsmiddel, f.eks. dimetylacetamid eller annet oppløsningsmiddel, i hvilket 2-fenylglycykloridhydroklorid er lett oppløselig. I dette siste tilfelle holdes mengden av dimetylacetamid nede på et minimum, da dette stoff har tendens til å påvirke utvinningen av sluttproduktet på uhensiktsmessig måte.

Omsetningen ifølge oppfinnelsen mellom 2-fenylglycykloridhydroklorid og 6-aminopenicillansyre utføres ikke, slik det kunne ventes, ved alkalisk pH-verdi som ved Schotten-Baumann-reaksjonen. Omsetningen utføres ved sur pH-verdi for i det hele

traksjon av den vandige oppløsning ved en pH-verdi mellom 1 og 3 med et mindre volum av et med vann ikke-blandbart, organisk oppløsningsmiddel, hvori er oppløst mellom 0,5 og 10 vekts-% av en vandig oppløsning av forbindelsen med den generelle formel



hvor R^2 og R^3 hver betegner lavere alkylgrupper inneholdende fra 7 til 11 karbonatomer og M betegner et hydrogenatom eller et alkalimetallradikal,

hvorefter den organiske oppløsningsmiddelfase, som inneholder størstedelen av den amfotære α -aminobenzylpenicillin, isoleres. Produktet isoleres deretter som et rent, fast stoff fra den ovennevnte organiske oppløsningsmiddelfase på forskjellig måte, f.eks. ved direkte bunnfelling av et alkalimetallsalt dannet ved tilsetning av f.eks. en tilstrekkelig mengde natrium- eller kalium-2-etylheksanoat, eller ved direkte bunnfelling av penicillin i sin amfotære eller zwitterionform ved tilsetning av en base, såsom natriumhydroksyd eller trietylamin, inntil pH-verdien ligger på ca. 5,6, hvilket måles ved rystning av en prøve i vann, eller ved tilbake-ekstraksjon til lite vannvolum ved en pH-verdi på ca. 5 - 8 og fortrinnsvis 6,5 - 7, med påfølgende isolering herfra av det faste produkt, f.eks. ved lyofilisering eller bunnfelling etter at pH-verdien er innstilt til ca. 4 - 5.

Før ekstraksjon av produktet fra det vandige reaksjonsmedium til oppløsningsmiddelfasen ved hjelp av en av de ovenfor anførte "bæremiddel"-prosesser er det hensiktsmessig, men ikke absolutt nødvendig å fjerne en større mengde av fortynningsmidlet, f.eks. aceton, ved destillasjon i vakuum ved en pH-verdi på ca. 5, og å fjerne forurensninger og fargelegemer ved ekstraksjon av den vandige reaksjonsblanding ved sterkt sur pH-verdi, f.eks. ved en pH-verdi på 2, med et med vann ikke-blandbart, organisk oppløsningsmiddel, f.eks. metylisobutylketon.

Dess^{uten} vil det kunne anvendes filtrering til å fjerne forurensninger, som bunnfelles fra den vandige reaksjonsblanding før eller etter den ovenfor anførte konsentrasjonsbehandling.

Ved produktene ifølge den foreliggende oppfinnelse er α -karbonatomet i acylgruppen (som α -aminogruppen er bundet til) et asymmetrisk karbonatom, og disse produkter kan derfor eksistere i to optisk aktive, isomere former [som D(-) og L(+) diastereoisomere] samt i den optisk inaktive DL-form, som er en blanding av de optisk aktive former; alle slike isomere former fremstilles ved anvendelse av fremgangsmåten ifølge den foreliggende oppfinnelse ut fra den hensiktsmessige form for 2-fenylglycylkloridhydroklorid som utgangsmateriale.

Den foretrukne reaksjonskomponent ifølge den foreliggende oppfinnelse er 2-fenylglycinkloridhydroklorid, også kalt 2-fenylglycylkloridhydroklorid.

Fremstilling av 2-fenylglycylkloridhydroklorid

Metode I.

D(-)-2-fenylglycin (25,0 g 0,165 mol [α]_D = 153°) suspenderes i 500 ml metylendiklorid og fosforpentaklorid (63,0 g, 0,30 mol) sattes til suspensjonen ved 3°C. Etter 10 minutters forløp sattes til reaksjonsblandingen 2 ml dimetylformamid, hvorefter blandingen omrørtes i 10 minutter i isbad og deretter i 2 timer ved romtemperatur. Det fremkomne produkt, 2-fenylglycylkloridhydroklorid, ble isolert ved filtrering, utvasket med metylendiklorid og eter, tørret i vakuum over P₂O₅ i 2 timer veiet til 19,6 g.

Metode II.

En suspensjon av tørr DL-2-fenylglycin (10,0 g, 0,066 mol) i 400 ml karbontetraklorid ble avkjølt til 0°C, og tilsatt fosforpentaklorid (15,0 g, 0,072 mol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 5 minutter i isbad og deretter ved romtemperatur i 18 timer. Produktet, DL-2-fenylglycylkloridhydroklorid, ble isolert ved filtrering, utvasket med tørr eter, tørket i vakuum over P₂O₅ i 3 timer og veiet til 11,2 g (82 % av det teoretiske

utbytte). Infrarød analyse viste at produktet i det store og hele var det ønskede produkt med visse forurensninger som viste seg å være 2-fenylglycin.

Oppfinnelsen vil i det følgende bli nærmere belyst med eksempler, som også delvis omfatter fremstilling av utgangsmaterialer.

EKSEMPEL 1

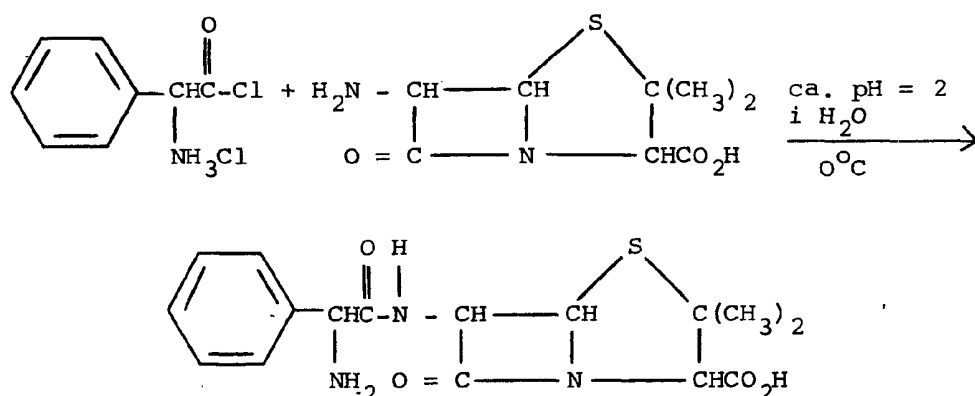
Til 2,16 g, 0,010 mol 6-aminopenicillansyre oppløst i 50 ml vann inneholdende 3 ml 6-n H_2SO_4 og avkjølt til $0^{\circ}C$ sattes i en porsjon 3,09 g, 0,015 mol fast 2-fenylglycylkloridhydroklorid. Temperaturen ble hevet til $10^{\circ}C$, og det fremkom en klar, gul oppløsning. På dette tidspunkt var pH-verdien mindre enn 2. Omrøringen fortsattes i 20 minutter i isbad og i ytterligere 5 minutter etter at isbadet var tatt vekk. pH-verdien ble innstilt ved tilsetning av 10 % NaOH til 4,5. Bunnfellingen av et fast stoff (angivelig 2-fenylglycin) begynte på dette tidspunkt, og 1,9 g av dette stoff ble isolert ved filtrering. Det vandige filtrat inneholdende α -aminobenzylpenicillin ble inndampet til tørrhet, hvorved det fremkom 4,7 g uren α -aminobenzylpenicillin påvist ved papirkromatografi.

EKSEMPEL 2

1,25 g, 0,0058 mol 6-aminopenicillansyre og 3,35 g, 0,0162 mol 2-fenylglycylkloridhydroklorid i form av faste stoffer ble blandet i et tørt glass, og reaksjonen startet ved tilsetning av 50 ml iskaldt vann. Det fremkom straks en klar oppløsning. pH-verdien på dette tidspunkt var mindre enn 2. Reaksjonen fortsattes ved $0^{\circ}C$ i 20 minutter og deretter i ytterligere 15 minutter etter fjernelse fra isbadet. Oppløsningen ble deretter nøytralisert ved tilsetning av 10 % NaOH. Bunnfellingen av et fast stoff (angivelig 2-fenylglycin) begynte ved en pH-verdi på 3,4; det faste stoff ble isolert ved filtrering og utvasket med aceton og veiet til 1,8 g. Det vandige filtrat inneholdende produktet ble inndampet til tørrhet, hvorved det fremkom 3,25 g urent α -aminobenzylpenicillin, som ble påvist ved papirkromatografi.

EKSEMPEL 3

20,8 g, 0,138 mol α -aminofenyleddiksyre, 42 g, 0,202 mol PCl_5 og 2 ml dimetylformamid ble omrørt ved 0°C i 30 minutter i 500 ml CH_2Cl_2 . Kjølebadet ble fjernet, og blandingen omrørt i ca. 2 timer, i hvilket tidsrom tilstandsformen ble forandret fra hvit, viskos form til gullig, lettflytende form. Det faste 2-fenylglycylchloridhydroklorid ble isolert ved filtrering, utvasket med 500 ml CH_2Cl_2 og deretter med 250 ml eter, og etter tørking 1 time i vakuum ble produktet veiet til 11,8 g (0,057 mol). Dette stoff ble under omrøring ved 0°C på en gang satt til en oppløsning bestående av 3,0 g, 0,0139 mol 6-aminopenicillansyre og 2,5 ml 6-n H_2SO_4 (15 milliekvivalenter) i 50 ml vann. Temperaturen ble hevet fra 6°C til 20°C i 2 minutter og deretter senket i 8 minuttér til 8°C . Det fremkom herved en lysegul oppløsning. Etter ytterligere 10 minutters forløp ble oppløsningen nøytralisert med NaOH, og det bunnfelte, faste stoff (angivelig 2-fenylglycin) ble isolert ved filtrering og veiet til 7,4 g tilsvarende 0,049 mol. Det vandige filtrat viste seg ved biologisk analyse å inneholde det ønskede produkt, α -aminobenzylpenicillin.

EKSEMPEL 4

5,0 g, 0,023 mol 6-aminopenicillansyre ble oppløst i 100 ml vann ved en pH-verdi på 6,0, hvorefter det ble tilsatt 400 ml aceton, og blandingen ble avkjølt til 0°C .

I løpet av 30 minutter ble i ca. 10 porsjoner tilsatt 7,1 g, 0,035 mol fast D(-)-2-fenylglycylchloridhydroklorid. Temperaturen ble holdt på mellom -5° og -1°C . pH-verdien falt til 1,5 etter at ca. halvdel av D(-)-2-fenylglycylchloridhydrokloridet var tilsatt. Av hensyn til den resterende del ble pH-verdien holdt mellom 1,5 og 2,0 ved tilsetning av vandig NaOH. Ved slutten av reaksjonen ble pH-verdien innstilt til 5,0, og den klare, gule oppløsning (bortsett fra en liten mengde fnugget bunnfall fjernet ved filtrering) konsentrert i vakuum til et volum på 100 ml. Etter konsentrering var pH-verdien 7,6, og denne verdi ble innstilt til 7,0, hvorefter oppløsningen ble avkjølt til 3°C , og det herved bunnfelte, gule, faste stoff ble isolert ved filtrering, tørket (korrigert smeltepunkt $179 - 230^{\circ}\text{C}$ under dekomponering, 1,1 g) og kassert.

Det gule filtrat ble utvasket ved en pH-verdi på 2 med 25 ml metylisobutylketon, som fjernet den gule farge og bunnfelte en liten mengde hvitt, fast stoff. Denne blanding ble ført gjennom diatomjord, og den anrikede, vandige fase (216 ml) ble isolert. Den anrikede, vandige fases pH-verdi ble innstilt til 7,0; en porsjon fortynnet 50 ganger ble analysert til 575 mcg/ml som viser et utbytte på 6,2 g eller 72 %.

Denne vandige fase som inneholdt produktet D(-)- α -aminobenzylpenicillin ble ekstrahert to ganger ved en pH-verdi på 2,0 med 5,5 g bis-(2-etylheksyl)natriumsulfosisuccinat (0,0124 mol) i 110 ml metylisobutylketon hver gang.

Det anrikede metylisobutylketon ble delt i to like store volumdeler med 110 ml i hver. Den ene del ble innstilt til en pH-verdi på 5,6 med trietylamin og den andre med 10 % NaOH. Begge deler ble omrørt kaldt i halvannen time til bunnfelling av produktet, D(-)- α -aminobenzylpenicillin.

Det med trietylamin nøytraliserte, anrikede metylisobutylketon ble filtrert, og de fremkomne, hvite prizmer av D(-)- α -aminobenzylpenicillin utvasket med metylisobutylketon og deretter

med blandede lavere alkaner av den art som forhandles under varemerket "Skellysolve B", dvs. petroleumeter med kokepunktintervall mellom 60 og 71°C; deretter tørket, og produktet viste seg å ha et smeltepunkt på mellom 198 og 210,5°C under dekomponering (korrigert) og å veie 2,6 g tilsvarende 61,5 % utbytte. Det med natriumhydroksyd nøytraliserte, anrikede metylisobutylketon ble på samme måte filtrert, og de hvite nåler av D(-)- α -aminobenzylpenicillin utvasket med metylisobutylketon og deretter med blandede lavere alkaner ("Skellysolve B"), hvorefter det ble tørket, og smeltepunktet bestemt til 197,5 - 210,5°C under dekomponering (korrigert), og vekten var 1,9 g tilsvarende 45 % utbytte.

EKSEMPEL 5

Til 10,8 g, 0,05 mol 6-aminopenicillansyre i 200 ml vann og 1000 ml aceton ved en pH-verdi på 6,3 og ved -40°C ble under omrøring tilsatt 21,6 g fast D(-)-2-fenylglycyklorkloridhydroklorid i porsjoner på 2 g hver 5 - 7 minutter. Etter tilsetning av 6,0 g kloridhydroklorid tilsattes 2,0 ml 4-n NaOH (til en samlet mengde på 10 ml) etter hver porsjonsvis tilsetning av kloridhydroklorid. Etter 75 minutters omrøring ble den klare reaksjonsoppløsning oppvarmet hurtig til 20°C, og pH-verdien viste seg å være 1,1, hvorefter den ble innstilt til 2. Størstedelen av acetonet ble fjernet ved destillasjon i vakuum, hvorved det ble tilbake et vandig konsentrat anrikt med d(-)- α -aminobenzylpenicillin; dette konsentrats pH-verdi ble innstilt fra 1,1 til 2,1, hvorefter det ble filtrert, og volumet bestemt til 270 ml som inneholdt produktet i 81 % utbytte, bestemt ved biologisk analyse.

En 50 ml porsjon av dette anrikede, vandige konsentrat ble innstilt til en pH-verdi på 7,0, hvorefter det avkjøltes 20 minutter, filtrertes og ekstrahertes ved en pH-verdi på 2,0 med 37 ml av en 10 %'s oppløsning av bis-(2-etylheksyl)natriumsulfosuccinat i metylisobutylketon. Den organiske oppløsningsmiddelfase som inneholdt produktet ble isolert, og pH-verdien innstilt til 4,0 med 10 % NaOH. Etter filtrering ble oppløsningen oppbevart på is, og dens pH-verdi ble langsomt øket til

5,5 ved anvendelse av 10 % NaOH, hvorved produktet D(-)- α -aminobenzylpenicillin ble bunnfelt som et fast stoff. Etter 2 timers forløp ble produktet isolert ved filtrering, utvasket først med tørr metylisobutylketon og deretter med lavere alkaner ("Skellysolve B"); produktet ble tørket og viste seg å veie 1,3 g (et utbytte på 38 %) og å inneholde 960 - 990 mcg/mg D(-)- α -aminobenzylpenicillin ved biologisk analyse.

EKSEMPEL 6

Vandige oppløsninger av 6-aminopenicillansyre (6-APA) fremstilles i vann eller i mettede, vandige natriumkloridoppløsninger, hvortil var tilsatt enten en eller fire volumdeler aceton, slik at sluttkonsentrasjonen av 6-aminopenicillansyren ble mellom 2 og 40 mcg/ml. Oppløsningene ble under omrøring holdt på en temperatur på mellom 40 og 0°C, og det ble tilsatt fast D(-)-2-fenylglycykloridhydroklorid (Cl-HCl) i to porsjoner i en mengde, som ga et molforhold mellom kloridhydroklorid og 6-APA på enten 1,5 eller 3,0. Samtidig ble tilsatt, hvor dette nedenfor er anført i tabellen, trietylamin (TRA) i en mengde som var ekvimolær med den anvendte kloridhydrokloridmengde. Etter 5 eller 10 minutters rystning ble reaksjonsproduktenes pH-verdi innstilt til 7,0, hvorefter det ble foretatt en biologisk analyse til bestemmelse av produktenes innhold av D(-)- α -aminobenzylpenicillin, ut fra hvilket det prosentvise reaksjonsutbytte ble beregnet. Behandlingsbetingelsene og resultatene var følgende:

122925

14

For-sök nr.	Kons. 6-APA mg/ml	Kons. NaCl	Temp. °C	Cl-HCl ekviv.	TEA	% Aceton	% Utbytte
1	10	mettet	-40	3	ja	80	53
3	40	0	0	3	ja	20	59
5	8	mettet	0	3	ja	20	42
7	40	mettet	0	1,5	nei	20	40
9	40	mettet	-25	1,5	ja	20	61
11	8	mettet	-25	3	nei	20	32
13	10	mettet	0	3	nei	80	70
15	2	mettet	-40	1,5	nei	80	65
2	2	mettet	0	1,5	ja	80	64
4	2	0	-40	3	ja	80	67
6	8	0	-4	1,5	ja	20	10
8	8	0	0	1,5	nei	20	10
10	40	0	-5	3	nei	20	22
12	10	0	0	1,5	ja	80	75
14	2	0	0	3	nei	80	65
16	10	0	-40	1,5	nei	80	61

Det fremgår av denne tabell at det ønskede produkt ble fremstilt i alle tilfelle. Således var verken anvendelse av natriumklorid, tilsetning av trietylamin eller anvendelse av temperaturer helt ned til -25°C eller anvendelse av større konsentrasjoner aceton i seg selv av kritisk betydning for å oppnå store utbytter, men hver av disse forholdsregler økte utbyttet, særlig hvis de øvrige forholdsregler ikke ble tatt. Konsentrasjonen av 6-APA var av uvesentlig betydning, bortsett fra at særlig store konsentrasjoner viste seg å være virkningsfulle. På tilsvarende måte var det molære overskudd av kloridhydroklorid av uvesentlig betydning, bortsett fra at små overskudd var ganske virksomme.

EKSEMPEL 7

I to forsøksrekker ble 0,5 g 6-aminopenicillansyre holdt oppløst i 100 ml aceton og oppløst i en blanding av 50 ml vann,

2,5 NaCl og 50 ml aceton ved en temperatur på -40°C under tilsetning i fire porsjoner av 1,0 g fast D(-)-2-fenylglycylkloridhydroklorid. Det ble likeledes tilsatt henholdsvis 2,5 ml og 1,25 ml 4-n NaOH. Utbyttene av D(-)- α -aminobenzylpenicillin (bestemt ved biologisk analyse av reaksjonsproduktet etter fortynning med vann til 250 ml til en pH-verdi på 6,0) var 16 % for det vannfrie acetonforsøk og 74 % for det vandige acetonforsøk.

EKSEMPEL 8

a) 2-(o-klorfenyl)glycin.

Til en oppløsning under omrøring av 104,8 g natriumcyanid, 480 g ammoniumkarbonat i 1400 ml vann ble på en gang tilsatt 280 g ortoklorbenzaldehyd i 1400 ml etanol. Etter omrøring i ca. 16 timer ved $30 - 50^{\circ}\text{C}$ ble til den mørke oppløsning tilsatt trekull; og det ble filtrert gjennom diatomjord ("Supercel"). Etter å ha fjernet etanol ved destillasjon i vakuum ble den vandige oppløsning syrnet til en pH-verdi på 2 inntil bunnfelling av krystallinsk, fast stoff, som ble isolert ved filtrering etter 30 minutters avkjøling, utvasket med vann og forsepet ved tilbakeløpskjøling i 24 timer i 1,2 liter 10 % NaOH. Etter innstilling av pH-verdien til 7 og avkjøling ble det utfelte faste produkt, 2-(o-klorfenyl)glycin, isolert ved filtrering og oppløst i vandig HCl, gjenutfelt ved å innstille pH-verdien til 7, hvorefter det igjen ble isolert og viste seg å veie 0,61 g og å dekomponere ved oppvarming ved ca. 219°C .

b) 2-(o-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid.

Til 17,1 g 2-(o-klorfenyl)glycin i 300 ml CH_2Cl_2 ved 0°C ble tilsatt 27,4 g PCl_5 . Temperaturen ble hevet til 15°C , og alt det faste stoff gikk i oppløsning. Produktet, 2-(o-klorfenyl)-glycylkloridhydroklorid, begynte hurtig å bunnfelles; etter 15 minutters omrøring ble stoffet isolert ved filtrering, hvorefter det ble utvasket med eter, og produktet viste seg å veie 17 g.

c) 6- α -amino-o-klorfenylacetamido]penicillansyre;
 α -amino-o-klorbenzylpenicillin.

Det ble fremstilt en oppløsning ved at 14,4 g 6-aminopenicillansyre oppløstes i 200 ml vann, innstilt ved hjelp av 10 % NaOH til en pH-verdi på 6,5, hvorefter det tilsattes 600 ml aceton; pH-verdien ble gradvis satt ned til 2,6 ved tilsetning av konsentrert saltsyre. Til denne oppløsning ved 0°C ble i små porsjoner tilsatt 17,1 g 2-(o-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid. pH-verdien ble holdt på 2 ved tilsetning av NaOH. Den grumsete blanding klarnet til en oppløsning. Etter tilsetning av syrekloridet til oppløsningen omrørtes i 15 minutter, hvorefter pH-verdien innstiltes til 5,5, og acetonet ble fjernet ved destillasjon i vakuum, slik at det ble en vandig remanens igjen, hvorfra et gult fast stoff ble fjernet ved filtrering. pH-verdien av filtratet ble senket til 2 ved anvendelse av fortynnet H₂SO₄, og det ekstrahertes med metylisobutylketon, som ble kastet. Deretter ble den vandige fase ekstrahert med metylisobutylketon (100 ml) inneholdende 22 g bis(2-etylheksyl)natriumsulfosuccinat ("Aerosol OT"). Metylisobutylketonoppløsningen av produktet, α -amino-o-klorbenzylpenicillin, ble tørket over vannfri MgSO₄. Ved innstilling av pH-verdien til 5,5 med trietylamin bunnfelles produktet i form av et fast stoff som ble isolert ved filtrering, og viste seg å veie 3,5 g og å dekomponere langsomt ved oppvarming over 180°C.

Analyse beregnet for C₁₆H₁₈ClN₃O₄S: C 49,9, H 4,74.
Funnet: C 49,79, H 5,83.

EKSEMPEL 9

a) 2-(m-klorfenyl)glycin.

Til en suspensjon bestående av 104,8 g natriumcyanid og 480 g ammoniumkarbonat i 1200 ml vann ble under omrøring tilsatt en oppløsning av 200 g tilsvarende 1,42 mol m-klorbenzaldehyd i 1200 ml etanol. Blandingen omrørtes i 10 timer ved 50°C og ble deretter avkjølt og omrørt i 48 timer ved romtemperatur. Etter tilsetning av vann ble etanol og noe vann fjernet ved destillasjon i vakuum, slik at volumet ble ca. 800 ml. Denne

gjenværende suspensjon ble syrnet med konsentrert saltsyre under kraftig reaksjon. Blandingen fikk stå 1 time, og det faste stoff isolertes ved filtrering, ble utvasket med vann, sugetørket på filter og viste seg å veie 590 g. Dette stoff ble oppløst i 2 liter 10 % NaOH og tilbakeløpskjølt i 24 timer, hvorved det fremkom en oppløsning som ble tilsatt karbon for filtrering gjennom diatoméjord. ("Supercel"). Filtratets pH-verdi ble innstilt til 7,2 med konsentrert saltsyre inntil bunnfelling av det faste stoff som ble isolert ved filtrering, suspendert i vann og gjort alkalisk med 10 % NaOH. Etter at en liten mengde uoppløselig materiale var fjernet ved filtrering ble filtratet langsomt syrnet med iseddik. De faste stoffer som ble bunnfelt ved en pH-verdi på 9 - 10, ble fjernet ved filtrering og kastet. Syrningen fortsattes ned til en pH-verdi på 7 til bunnfelling av produktet 2-(m-klorfenyl)glycin, som ble isolert, oppløst så fullstendig som mulig ved suspensjon i vann, hvorefter det ble tilsatt 500 ml konsentrert saltsyre og filtrert. Filtratet innstiltes omhyggelig på en pH-verdi på 7 med 2-n NaOH. Etter avkjøling i 3 timer ved 0°C ble det krystallinske bunnfelte produkt isolert, hvorefter det ble tørket og viste seg å veie 100,9 g og å ha et smeltepunkt på 268 - 269°C under dekomponering.

b) 2-(m-klorfenyl)glycykloridhydroklorid.

10 g tilsvarende 0,0541 mol 2-(m-klorfenyl)glycin og 14,6 g tilsvarende 0,0703 mol PCl_5 ble blandet i 200 ml kloroform ved romtemperatur (23°C), og det ble tilsatt 6 dråper dimetylformamid. Reaksjonsblandingen omrørtes i 16 timer ved romtemperatur, og det bunnfelte produkt, 2-(m-klorfenyl)glycykloridhydroklorid, ble isolert ved filtrering på hart, tilbakeholdende filterpapir, hvorefter det først ble utvasket med CCl_4 , deretter med CH_2Cl_2 og endelig med blandede, lavere alkaner ("Skellysolve B"); produktet ble så på en gang anbragt i en vakuumdessicator over P_2O_5 . Produktet veide 5,0 g og ble straks anvendt til acylering av 6-amino-penicillansyre.

c) 6-(α -amino-m-klorfenylacetamido)penicillansyre;
 α -amino-m-klorbenzylpenicillin.

En suspensjon av 3,02 g tilsvarende 0,014 mol 6-aminopenicillansyre i 60 ml vann ble innstilt til en pH-verdi på 6,5 med 20 % NaOH til dannelsen av en oppløsning. Det ble tilsatt 240 ml aceton, og oppløsningen ble omrørt og avkjølt til mellom 0 og -5°C . Deretter ble pH-verdien innstilt til mellom 2,5 og 3,0 med 6-n HCl. 5 g tilsvarende 0,0208 mol 2-(m-klorfenyl)glycykloridhydroklorid ble deretter tilsatt i små mengder i løpet av ca. 10 minutter, idet pH-verdien ble holdt på 2,2 til 2,8 ved tilsetning av 20 % NaOH etter behov. Omrøringen fortsattes i 10 minutter. Deretter innstiltes pH-verdien til 4,5 med 20 % NaOH, og acetonet ble fjernet ved destillasjon i vakuum. Det gjenværende konsentrat filtreres, hvorved det fremkom et fast stoff som ble avkjølt til $0^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$; pH-verdien var 3,5. Denne pH-verdi ble regulert til 6,8, og blandingen ble igjen filtrert. Filtratet ble dekket med 75 ml metylisobutylketon, hvorefter det ble avkjølt til $0^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$, og pH-verdien innstiltes til 2 med 20 % H_2SO_4 . Etter filtrering isoleres metylisobutylketonfasen, og denne fase ble kastet. Den vandige fase ekstraheres med 40 ml metylisobutylketon inneholdende 2,0 g bis(2-etylheksyl)natriumsulfosuccinat ("Aerosol OT"). Den organiske oppløsningsmiddelfase ble isolert, tørket over MgSO_4 , filtrert og blandet med ytterligere 20 ml metylisobutylketon anvendt til utvasking av filterkaken. Til filtratet ble dråpevis tilsatt trietylamin inntil det ikke lenger isoleres mere fast stoff. Det fnuggede, faste stoff, α -amino-m-klorbenzylpenicillin, ble isolert ved filtrering, oppslemmet 2 ganger i eter, tørket i vakuum over P_2O_5 og veiet til 690 mg.

EKSEMPEL 10

a) p-klorfenyleddiksyre.

500 g tilsvarende 3,3 mol p-klorbenzylcyanid, 477 ml svovelsyre og 625 ml vann ble under tilbakeløpskjøling omrørt i 6 timer. Etter avkjøling og henstand i 12 timer bunnfelles et hvitt, krystallinsk stoff av p-klorfenyleddiksyre. Vannet ble fradekantert, og det faste produkt oppløst i 2,5 liter varm

10 % NaOH og ekstrahert med eter. Ved syrning av den vandige fase med konsentrert saltsyre gjenutfeltes produktet, som ble isolert, lufttørret og viste seg å veie 732,5 g.

b) α -brom-p-klorfenyleddiksyre.

De ovenfor fremstilte 732,5 g p-klorfenyleddiksyre oppløstes under tilbakeløpskjøling i 3 liter karbontetraklorid. 184,5 ml tilsvarende 3,6 mol brom ble dråpevis tilsatt med en hastighet som var slik avpasset at tilbakeløpskjølingen stadig forløp kraftig, idet den ble fortsatt i 30 minutter etter at alt brom var tilsatt. Etter henstand i 12 timer og filtrering inntil alle faste stoffer var fjernet, ble oppløsningsmidlet fjernet ved destillasjon i vakuum, hvorved det ble igjen produktet α -brom-p-klorfenyleddiksyre i form av et gult, krystallinsk, fast stoff, som ble utvasket med blandede, lavere alkaner ("Skellysolve B") og omkrystallisert ut fra 5 liter kokende "Skellysolve B", hvorved det fremkom et utbytte på 732 g med et smeltepunkt på 86 - 89°C.

c) α -amino-p-klorfenyleddiksyre.

Til 150 ml konsentrert ammoniumhydroksyd som ble omrørt ved 0°C, tilsattes 40 g tilsvarende 0,161 mol α -brom-p-klorfenyleddiksyre. Blandingen ble omrørt i 2 timer. Etter filtrering destillertes filtratet i vakuum for å minske volumet og å fjerne overskudd av ammoniakk. Den fremkomne oppslemning hadde en pH-verdi på 6. Etter tilsetning av 50 ml vann ble det faste produkt oppsamlet ved filtrering, og dette produkt var α -amino-p-klorfenyleddiksyre, som ble oppslemmet i syre, lufttørket og veiet til 14,3 g med et smeltepunkt på 257 - 259°C.

d) 2-(p-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid.

Til en suspensjon avkjølt til -2°C bestående av 18,6 g tilsvarende 0,1 mol 2-(p-klorfenyl)glycin i 250 ml CH_2Cl_2 ble under omrøring tilsatt i en porsjon 41,7 g tilsvarende 0,2 mol PCl_5 , som ble vasket med 50 ml CH_2Cl_2 . Etter omrøring i 50 minutter ved -2° - 0°C tilsattes 2 ml dimetylformamid, og omrøringen ble fortsatt i 90 minutter ved ca. 0°C. Produktet, 2-(p-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid, ble bunnfelt og oppsamlet

ved filtrering på en grov, sintret trakt, utvasket to ganger med CH_2Cl_2 , tørket i vakuum over P_2O_5 og veiet til 5,2 g.

e) 6-[α -amino-(p-klorfenyl)acetamido]penicillansyre;
 α -amino-p-klorbenzylpenicillin.

3,5 g tilsvarende 0,016 mol 6-aminopenicillansyre ble suspendert i 70 ml vann og oppløst under omrøring og innstilling av pH-verdien til 6,5 ved hjelp av 10 % NaOH. Da oppløsningen var fullstendig, ble det tilsatt 280 ml aceton, og oppløsningen avkjøltes til -3°C . Etter at pH-verdien hurtig ble innstilt til 2,5 ved hjelp av 6-n HCl ble det tilsatt 5,2 g tilsvarende 0,024 mol 2-(p-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid i porsjoner i løpet av 15 minutter, idet pH-verdien ble holdt på mellom 2 og 3 ved tilsetning av 10 % NaOH. Blandingen ble omrørt i 10 minutter ved en pH-verdi på 2,6 og en temperatur på -2°C , og pH-verdien ble øket til 4,5 ved hjelp av 10 % NaOH, og en mindre mengde bunnfall ble fjernet ved filtrering og kastet.

Acetonet ble fjernet fra filtratet ved destillasjon i vakuum ved $30 - 40^\circ\text{C}$; to porsjoner bunnfall ble ved denne prosess fjernet og kastet. Den gjenværende vandige oppløsning hadde en pH-verdi på 2,5. Den ble avkjølt til 5°C , pH-verdien ble innstilt til 7, og oppløsningen ble dekket med metylisobutylketon, hvorefter pH-verdien ble innstilt til 2 ved hjelp av 6-n HCl. En liten mengde fast stoff ble fjernet og kastet. Metylisobutylketonfasen ble isolert og kastet.

Den fargeløse, vandige fase som inneholdt produktet ble ekstrahert med en oppløsning bestående av 2,7 g tilsvarende 0,006 mol bis(2-etylheksyl)natriumsulfosuccinat ("Aerosol OT") i ca. 50 ml metylisobutylketon. Den organiske oppløsningsmiddelfase ble isolert, filtrert gjennom vannfri Na_2SO_4 , konsentrert litt ved destillasjon i vakuum og nøytralisert til en pH-verdi på 5,5 ved hjelp av trietylamin. Produktet, α -amino-p-klorbenzylpenicillin, ble bunnfelt og isolert ved filtrering, oppslemmet i eter, ble oppsamlet igjen, tørket i vakuum over P_2O_5 og veiet til 1,8 g. Deretter pulveriseres produktet, hvor-

etter det ble oppslemmet i 15 minutter med 40 ml eter, filtrert og veiet til 1,1 g.

EKSEMPEL 11

D,L- α -amino-2,4-diklorfenylacetylkloridhydroklorid.

En suspensjon under omrøring bestående av 22,0 g tilsvarende 0,1 mol D,L- α -amino-2,4-diklorfenyleddiksyre i 150 ml metylenklorid ble avkjølt til -5°C og 30,1 g tilsvarende 0,15 mol fosforpentaklorid ble tilsatt i en porsjon. Idet blandingen ble beskyttet mot fuktighet ved hjelp av et kalsiumkloridrør, ble den omrørt i 3,5 timer ved en temperatur mellom -8° og -5°C . Etter 20 minutters forløp fremkom en oppløsning, og ut fra denne isolertes langsomt et krystallinsk fast stoff. Dette ble oppsamlet ved suging, utvasket fire ganger med metylenklorid og tørket i vakuum over fosforpentoksyd.

Utbyttet var 18,1 g (66 %), smeltepunktet var $202 - 210^{\circ}\text{C}$ under dekomponering, idet stoffet skrumpet inn, uten å smelte mellom 175 og 202°C . En infrarød kurve viste et sterkt syrekloridbånd ved 5,6 mikron.

Analyse for $\text{C}_8\text{H}_7\text{Cl}_4\text{NO}$: Beregnet for Cl 51,6
Funnet Cl 51,6

6-(D,L- α -amino-2,4-diklorfenylacetamido)penicillansyre.

pH-verdien av en suspensjon bestående av 9,5 g tilsvarende 0,044 mol 6-aminopenicillansyre i 200 ml vann ble innstilt til 6,3 ved hjelp av 10 % natriumhydroksyd, og den fremkomne oppløsning ble fortynnet med 800 ml aceton og avkjølt til -3°C . pH-verdien ble satt ned til 2,5 ved hjelp av 6-n saltsyre, og under kraftig omrøring tilsattes i løpet av 15 minutter 18,2 g tilsvarende 0,066 mol D,L- α -amino-2,4-diklorfenylacetylklorid-dihydroklorid. Etter tilsetningen av hver av porsjonene ble pH-verdien regulert, slik at den stadig lå mellom 2 og 2,5 ved hjelp av 10 % NaOH. Oppløsningen ble omrørt i 5 minutter, hvorefter pH-verdien ble øket til 4,5 ved hjelp av 10 % NaOH, og acetonen ble fjernet under forminsket trykk ved 30°C . Det faste stoff som ble isolert, ble oppsamlet ved filtrering, og

filtratet avkjølt til 0 - 5°C. pH-verdien ble innstilt til 2 ved hjelp av 20 % svovelsyre, og blandingen ble ekstrahert to ganger med metylisobutylketon, idet ekstraktene ble kastet. Den klare, vandige oppløsning ble deretter ekstrahert med en oppløsning bestående av 5,8 g tilsvarende 0,013 mol "Aerosol OT" i 100 ml metylisobutylketon. Dette ekstrakt ble filtrert gjennom vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum ved 30°C, inntil alt vann var fjernet. Deretter innstiltes pH-verdien til 5 ved tilsetning av trietylamin. Det faste stoff ble isolert, oppsamlet, utvasket med eter og tørket i vakuum over P₂O₅ som produktet A. En annen ekstraksjon av den vandige oppløsning med samme mengde "Aerosol OT" og etterfølgende behandling som ovenfor anført ga et fast produkt B.

Vekt av A var 0,4 g (2,2 %); smeltepunktet var 162 - 166°C under dekomponering. Et infrarødt spektrum viste et β-laktambånd ved 5,8 mikron. En infrarød kurve for fraksjon B viste intet β-laktambånd.

Analyse for C ₁₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₃ O ₄ S:	Beregnet	C 45,80,	H 4,33
	Funnet	C 47,48,	H 5,03

EKSEMPEL 12

DL-α-amino-m-klorfenylacetylkloridhydroklorid.

En suspensjon av 20 g tilsvarende 0,108 mol DL-α-amino-m-klorfenyleddiksyre i 300 ml metylenklorid ble avkjølt til -3°C. 29,2 g tilsvarende 0,140 mol fosforpentaklorid ble tilsatt, og blandingen ble omrørt i en halv time, i hvilket tidsrom temperaturen fikk lov til å stige til 2°C. 8 dråper dimetylformamid ble tilsatt, og blandingen ble omrørt ved 3°C i 15 minutter. Det findelte, faste stoff ble oppsamlet ved filtrering, utvasket en gang med metylenklorid og to ganger med "Skellysolve B". Produktet ble straks anbragt i en vakuumdessicator over fosforpentoksyd og tørket til konstant vekt; utbyttet var 17,4 g (67,1 %).

6-(α-amino-m-klorfenylacetamido)penicillansyre.

10,2 g tilsvarende 0,0472 mol 6-aminopenicillansyre ble sus-

pendert i 200 ml vann. pH-verdien ble innstilt til 6,5 med 20 % vandig natriumhydroksyd, hvorved det fremkom en klar oppløsning. Oppløsningen ble fortynnet med 800 ml aceton og avkjølt til -5°C . pH-verdien ble innstilt til 2,5 med 6-n saltsyre. 17 g tilsvarende 0,0707 mol pulverisert DL- α -amino-m-klorfenylacetylkloridhydroklorid ble tilsatt i små porsjoner i løpet av 20 minutter. pH-verdien ble holdt mellom 2,3 og 2,6 ved tilsetning av 20 % natriumhydroksyduppløsning dersom dette var nødvendig. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 10 minutter, og pH-verdien ble innstilt deretter til 4,5 ved hjelp av 20 % natriumhydroksyd. Blandingen ble filtrert til fjernelse av en mengde krystallinsk, fast stoff.

Acetonet ble fjernet fra filtratet ved forminsket trykk under anvendelse av en roterende "flash"-evaporator ved en maksimumstemperatur på 30°C . Under denne behandling isolertes en mengde oransjefarget, gummiaktig stoff, som ble fjernet ved filtrering. Filtratets pH-verdi ble innstilt til 7 ved hjelp av 20 % natriumhydroksyd, hvorefter det ble filtrert.

Det vandige filtrat ble dekket med 75 ml metylisobutylketon (MIBK, avkjølt til 5°C , og pH-verdien ble innstilt til 2 ved hjelp av 20 % svovelsyre. MIBK-fasen ble isolert og kastet. Den vandige fase ble igjen ekstrahert med 75 ml MIBK, hvorefter MIBK-fasen ble kastet.

En oppløsning bestående av 10,5 g tilsvarende 0,0236 mol "Aerosol OT" i 100 ml MIBK ble fremstilt. Oppløsningen ble delt i tre like store porsjoner. Den vandige fase inneholdende rå penicillin ble etter hvert ekstrahert med hver porsjon av "Aerosol OT"-MIBK-oppløsning, idet ekstraktene ble holdt isolert. Hvert ekstrakt ble tørket med vannfri magnesiumsulfat, filtrert og pH-verdien ble innstilt til ca. 5 ved hjelp av trietylamin. Et gelatinøst, amorf, fast stoff ble isolert i hvert tilfelle. Hver fast fraksjon ble oppsamlet ved filtrering, utvasket en gang med MIBK og deretter tre ganger med eter, hvorefter det ble tørket i vakuum over fosforpentoksyd. De tre fraksjoner av rå penicillin ble beteg-

net I, II og III. Utbyttene var følgende: fraksjon I 1,9 g, fraksjon II 1,36 g, fraksjon III 1,0 g.

Krystallisering av 6-(α -amino-m-klorfenylacetamido)-penicillansyre.

1,26 g fraksjon II ble suspendert i 25 ml vann, og pH-verdien ble innstilt på 2 ved hjelp av 6-n saltsyre. Blandingen ble filtrert for å fjerne uoppløselig stoff. Filtratet ble fortynnet med et like stort volum metanol. pH-verdien ble innstilt til 4,3 ved hjelp av 20 % natriumhydroksyd. Ved skrapning av kolbens vegger med en glasstang begynte isoleringen av det krystallinske stoff ut fra den opprinnelige klare oppløsning. Etter en halv times forløp ble en del krystallinsk stoff oppsamlet ved filtrering, hvorefter det ble tørket i vakuum over fosforpentoksyd; utbyttet var 0,22 g, smeltepunktet 198 - 204°C under dekomponering.

Analyse beregnet for $C_{16}H_{18}ClN_3O_4S$: C 50,06, H 4,73, N 10,92
Funnet: C 50,04, H 4,85, N 10,89

EKSEMPEL 13

Den i eksempel 10, avsnitt e) anførte fremgangsmåte ble anvendt, idet det ble anvendt 0,024 mol 2-(p-fluorfenyl)-glycyl-kloridhydroklorid i stedet for 2-(p-klorfenyl)-glycylkloridhydroklorid, hvorved det fremkom α -amino-p-fluorbenzylpenicillin, som inhiberte veksten av Staphylococcus aureus Smith ved 0,15 mcg. pr. ml, Diplococcus pneumoniae ved 0,2 mcg. pr. ml og Streptococcus pyogenes digonnet f ved 0,15 mcg pr. ml.

EKSEMPEL 14

Den i eksempel 10, avsnitt e) anførte fremgangsmåte ble anvendt, idet det ble anvendt 0,024 mol 2-(p-metylphenyl)-glycyl-kloridhydroklorid i stedet for 2-(p-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid, og det fremkom α -amino-p-metylbenzylpenicillin, som inhiberte veksten av Staphylococcus aureus Oxford ved 0,069 mcg pr. ml, Diplococcus pneumoniae ved 0,03 mcg pr. ml og Streptococcus viridans ved 0,069 mcg pr. ml.

EKSEMPEL 15

Den i eksempel 10, avsnitt e) anførte fremgangsmåte ble anvendt, idet det ble anvendt 0,024 mol D-(-)-2-(m-nitrofenyl)-glycylkloridhydroklorid i stedet for 2-(p-klorfenyl)glycylkloridhydroklorid, og det fremkom D-(-)- α -amino-m-nitrobenzylpenicillin, som inhiberte veksten av *Staphylococcus aureus* Smith ved 0,09 mcg pr. ml, *Diplococcus pneumoniae* ved 0,02 mcg pr. ml og *Streptococcus pyogenes* digonnet f ved 0,02 mcg pr. ml.

EKSEMPEL 16

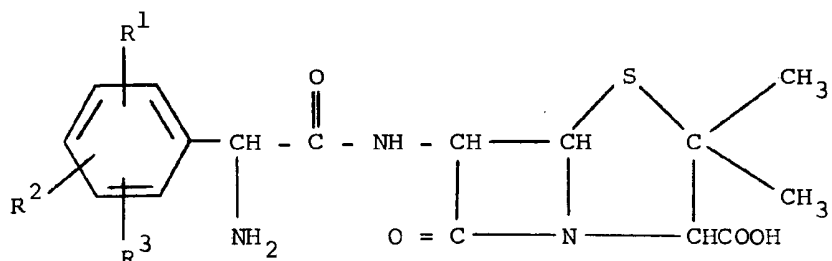
Den i eksempel 10, avsnitt e) anførte fremgangsmåte ble anvendt, idet det ble benyttet 0,024 mol 2-[p-(metylsulfonyl)-fenyl]-glycylkloridhydroklorid i stedet for 2-(p-klorfenyl)-glycylkloridhydroklorid, og det fremkom α -amino-p-(metylsulfonyl)benzylpenicillin, som inhiberte veksten av *Staphylococcus aureus* Smith ved 0,2 mcg pr. ml, *Diplococcus pneumoniae* ved 0,2 mcg pr. ml og *Streptococcus pyogenes* digonnet f ved 0,1 mcg pr. ml.

EKSEMPEL 17

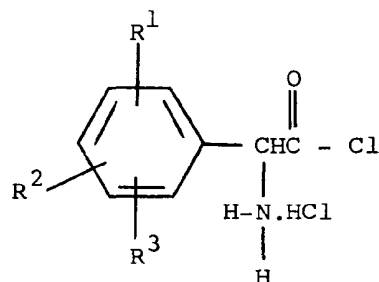
Den i eksempel 10, avsnitt e) anførte fremgangsmåte ble anvendt, idet det ble benyttet 0,024 mol 2-(3',4'-di-metoksyfenyl)-glycylkloridhydroklorid i stedet for 2-(p-klorfenyl)-glycylkloridhydroklorid, og det fremkom herved α -amino-3,4-dimetoksybenzylpenicillin, som inhiberte veksten av *Staphylococcus aureus* Smith ved 1,2 mcg pr. ml, *Diplococcus pneumoniae* ved 0,4 mcg pr. ml og *Streptococcus pyogenes* digonnet f ved 0,3 mcg pr. ml.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte for fremstilling av α -aminobenzylpenicillin med den generelle formel:



hvor R^1 , R^2 og R^3 hver betegner hydrogen, nitro, lavere alkyl, fluor, klor, brom, jod, lavere alkoxy, lavere alkylsulfonyl eller trifluormetyl, samt salter derav, karakterisert ved at 6-aminopenicillansyre omsettes med 1 - 3 ekvivalenter 2-fenylglycylkloridhydroklorid med den generelle formel:



hvor R^1 , R^2 og R^3 har samme betydning som foran angitt,

i vandig medium ved en temperatur mellom -50° og $+20^{\circ}\text{C}$ og ved en pH-verdi på 1,5 - 5,5, hvorefter de således fremstilte forbindelser, om ønsket, omdannes til salter på i og for seg kjent måte.

2. Fremgangsmåte etter krav 1, karakterisert ved at 6-aminopenicillansyre omsettes med 1,0 - 1,5 ekvivalenter 2-fenylglycylkloridhydroklorid i et vandig medium ved en temperatur på ca. 0°C og en pH-verdi på 2 - 3.

3. Fremgangsmåte etter krav 1 eller 2, karakterisert ved at det som reaksjonsmedium anvendes en vandig oppløsning av et uorganisk klorid.

4. Fremgangsmåte etter krav 1 eller 2, k a r a k t e-
r i s e r t v e d at det som reaksjonsmedium anvendes
vandig aceton, og at en vesentlig mengde av acetonet fjernes
fra reaksjonsblandingen ved destillasjon i vakuum ved en pH-
verdi på ca. 5.

5. Fremgangsmåte etter krav 1 - 4, k a r a k t e-
r i s e r t v e d at pH-verdien i sluttreaksjonsblandin-
gen heves til ca. 7, hvorefter uoppløselige materialer fjernes
ved filtrering.

Anførte publikasjoner: -