

2

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

69084

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 12p,4/01

Zgłoszono: 30.XII.1968 (P 130 918)

Pierwszeństwo: 02.I.1968 dla zastrz.

1 — 7

13.IX.1968 dla zastrz. 8

Szwajcaria

MKP C07d 99/24

Opublikowano: 31.XII.1973

Właściciel patentu: CIBA — Geigy A.G., Bazylea (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego

1

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania nowych fizjologicznie aktywnych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego o wzorze 1, w którym R_1 oznacza pięcioczłonowy, częściowo nienasycony pierścień heterocykliczny o co najmniej jednym atomie azotu i co najmniej jednym innym heteroatomie z grupy azotu lub siarki, związany z atomem siarki grupy acetylomerkaptanowy po przez pierścieniowy atom węgla umiejscowiony między dwoma heteroatomami, ewentualnie podstawiony grupą merkaptocetylową w pozycji 5, jak i ewentualnie podstawiony rodnikami niskoalkilowymi w pozostałych pozycjach, a R_2 oznacza grupę wodorotlenkową ewentualnie zestryfikowaną kwasem karboksylowym, w której atomy tlenu grupy estrowej mogą być zastąpione atomami siarki, grupę karbamoiloksyłową ewentualnie N-podstawioną, w której atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki lub czwartorzędową grupą aminową, jak i ich ewentualnie soli wewnętrznych.

Symbol R_1 oznacza zwłaszcza jednopierścieniowy pięcioczłonowy częściowo nienasycony rodnik heterocykliczny zawierający atomy azotu lub siarki jako heteroatomy, korzystnie taki, jak np. rodniki imidazolilowy-(2), imidazolinilowy-(2), oksazolilowy-(2), oksazolinilowy-(2), tiazolilowy-(2), tiazolinilowy-(2), 1,2,4-triazolilowy-(3), 1,3,4-ditiazolilowy-(2), 1,2,4-tiadiazolilowy-(3), piramidylowy-(2),

2

1,2,4-triazynilowy-(2), 1,3,5-triazynilowy-(2), 1,3-tiazynilowy-(2), 1,3,4-tiadiazynilowy-(2), 1,3,5-tiadiazynilowy-(4), 1,3,4-oksadiazynilowy-(2), 1,3,5-dioksazynilowy-(2). Rodniki mogą być także podstawione, zwłaszcza niższą grupą alkilową lub alkoksylową, wodorotlenową, merkaptanową lub atomem chlorowca.

Zestryfikowana grupa wodorotlenowa R_2 , w której atomy tlenu mogą być zastąpione przez atomy siarki wywodzi się z kwasu karboksylowego. Jest to zwłaszcza grupa acetoksylowa albo podstawiona, np. niższym rodnikiem alkilowym, niższym rodnikiem alkoksylowym lub niższym rodnikiem alkylomerkaptanowym, atomem chlorowca lub grupą nitrową jedno- lub dwupierścieniową grupą arylokarbonyloksylową lub aryliotiokarbonyloksylową, arylokarbonylomerkaptanową lub aryliotiokarbonylomerkaptanową, zwłaszcza benzoilomerkaptanową. Jako dalsze przykłady podstawników oznaczonych symbolem R_2 należy wymienić:

grupę karbamoiloksyłową o wzorze $-O-CO-NH-R_3$, w którym R_3 oznacza rodnik alifatyczny, aromatyczny, aromatyczno-alifatyczny lub heterocykliczny, a zwłaszcza niepodstawiony lub podstawiony, przede wszystkim podstawiony jedną lub kilku niższymi grupami alkoksylowymi lub atomami chlorowców niższy rodnik alkilowy o prostym lub rozgałęzionym łańcuchu, jak rodnik metylowy, etylowy, a zwłaszcza β -chloroetylowy; albo grupę tiokarbamoilomerkaptanową o wzorze 2, w którym R_3 ma wyżej podane znaczenie, a R_4

3

oznacza atom wodoru lub ma znaczenie takie jak R_3 , albo czwartorzędową grupę aminową, w której czwartorzędowy atom azotu może stanowić np. część pierścienia heterocyklicznego, jak pierścienia chinolinowego, izochinolinowego lub pirymidynowego, a przede wszystkim niepodstawionego lub podstawionego pierścienia pirydynowego, np. o wzorze 3, w którym R_5 oznacza atom wodoru albo jedną lub kilka niższych grup alkilowych, niższych grup alkoksycarbonylowych, karbamoilowych albo karboksylowych lub jeden albo kilka atomów chlorowca.

Jako sole nowych związków stosuje się sole metali, zwłaszcza metali alkalicznych lub metali ziem alkalicznych, odpowiednich do stosowania w lecznictwie, jak sodu, potasu, amonu, wapnia lub sole z zasadami organicznymi, np. z trójetyleaminą, N-etylopiperydyną, dwubenzyletylenodwuaminą lub prokainą. Jeżeli grupa R_2 ma charakter zasadowy, wówczas mogą tworzyć się sole wewnętrzne.

Nowe związki wykazują szczególnie dobre działanie przeciwbakteryjne, skuteczne zarówno wobec bakterii gramododatnich, jak również i to przede wszystkim wobec bakterii gramujemnych, np. na *Staphylococcus aureus* odporny na penicylinę, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhosa* i *Bacterium proteus*, jak potwierdziły to badania wykonane na zwierzętach, np. na myszach. Z tego względu nowe związki można stosować do zwalczania infekcji wywołanych przez wymienione drobnoustroje, jak również jako dodatki do pasz, do konserwowania środków spożywczych lub jako środki dezynfekcyjne.

Stwierdzono, że można wytworzyć nowe pochodne kwasu 7-aminocefalosporanowego, jeśli związek o wzorze 4, w którym Z oznacza rodnik chlorowcoacetylowy, a R_2 ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji wymiany z merkaptanem o wzorze R_1-SH , w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, albo związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru, a R_2 ma wyżej podane znaczenie acyluje się reaktywną pochodną grupy o wzorze R_1-S-CH_2-CO , w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie i w otrzymanym związku o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem karboksylowym zawierającym atomy tlenu dające się zastępować atomami siarki, ewentualnie wymienia się tą grupę na ewentualnie N-podstawioną grupę karbamoilową, zawierającą atomy tlenu dające się zastępować atomami siarki, lub czwartorzędową grupę aminową i ewentualnie przeprowadza w sól z metalem takim jak metal alkaliczny lub metal ziem alkalicznych, lub w sól z amoniakiem lub organiczną zasadą albo wytworzone sole przeprowadza w wolne kwasy albo w ich wewnętrzne sole.

Szczególnie wartościowe są związki o wzorze 1, w którym R_1 oznacza rodnik imidazolilowy-(2), imidazolinilowy-(2), tiazolilowy-(2), tiazolinilowy-(2) albo triazolilowy-(2), a R_2 oznacza grupę acetyloksylową, grupę pirydyniową, grupę karbamoiloksyloową, zawierającą niższy rodnik alkilowy lub grupę karbamoiloksyloową o wzorze $-O-CO-$ $-NH-R_3$, w którym R_3 oznacza niższy rodnik al-

4

kilowy podstawiony jednym lub kilkoma atomami chlorowca, korzystnie chloru albo grupę β -chloroetylokarbamoiloksyloową.

Sposobem według wynalazku otrzymuje się szczególnie cenne związki o wzorze 1, jeśli reakcji wymiany poddaje się merkaptan o wzorze R_1SH , w którym R_1 oznacza rodnik imidazolilowy, imidazolinilowy, tiazolilowy, tiazolinilowy lub triazolilowy.

Podobnie korzystne są związki o wzorze 1, w którym R_1 ma znaczenie takie, jak podano dla wzoru 1, a R_2 oznacza grupę acetyloksylową. Związki te można wytworzyć jeśli związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza wolną grupę wodorotlenową, zacetyluje się w znany sposób.

W przypadku wytwarzania tych pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego o wzorze 1, w którym R_2 oznacza grupę pirydyniową, związki te można np. otrzymać przez poddanie reakcji soli sodowej kwasu 3-(dezaacetoksymetylo)-3-benzotiotiometylo-1 [tiazolinilo(2)-merkaptocetyloamino]-cefalosporanowego ze związkiem pirydyniowym prowadzoną do uzyskania kwasu 3-(dezaacetoksymetylo)-3-pirydyniometylo-7-[tiazolinilo(2)-merkaptocetyloamino]-cefalosporanowego.

Związki o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza niskoalkilową grupę karbamoiloksyloową można wytworzyć jeśli sól sodową związku o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową, podda się reakcji z niskoalkiloizocyjaniem.

Jeśli w powyższej reakcji jako niskoalkiloizocyjanie stosuje się izocyjanie alkiłu, w którym rodnik niskoalkilowy podstawiony jest jednym lub kilkoma grupami alkoksylowymi lub atomami chlorowca, wówczas można otrzymać związki o wzorze 1, w którym symbol R oznacza N-podstawioną grupę karbamoiloksyloową o wzorze $O-CO-NR_3$, w którym R_3 oznacza grupę niskoalkilową ewentualnie podstawioną wyżej wymienionymi grupami lub atomami chlorowca, przy czym korzystne związki otrzymuje się jeśli jako niskoalkiloizocyjanie stosuje się β -chloroetyloizocyjanie.

Związek o wzorze 4, w którym Z oznacza rodnik chlorowcoacetylowy, a R_2 ma znaczenie jak podano dla związku o wzorze 1, poddaje się reakcji wymiany z merkaptanem w środowisku rozpuszczalnika obojętnego w stosunku do tego związku, jak chlorek metylenu, chloroform, czterochlorek węgla, czterowodorofuran, dwuoksan, dwumetyloformamid lub acetonitryl. Reakcję tę można również prowadzić w obecności środka wiążącego wydzielający się chlorowcowodór, takiego jak np. słaba zasada nieorganiczna, jak węglan, kwaśny węglan lub octan metalu alkalicznego lub trzeciorzędowa amina, a zwłaszcza N,N-dwuiizopropyletyloamina (zasada Hüniga). Reakcja ta przebiega w ciągu kilku godzin w temperaturze pokojowej, ewentualnie można ją prowadzić w temperaturze niższej lub podwyższonej.

Związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom

wodoru, acyluje się w sposób powszechnie stosowany do acylowania aminokwasów, np. za pomocą halogenku kwasowego, jak chlorku kwasowego lub azydki albo bezwodnika kwasowego zwłaszcza mieszanego bezwodnika, np. mieszanego bezwodnika otrzymanego z monoestru kwasu węglowego, kwasu piwalinowego lub kwasu trójchlorooctowego lub za pomocą wolnego kwasu w obecności środka kondensującego jak karbondwuimidu, np. dwucykloheksylo-karbondwuimidu. Acylować można także w ten sposób, że związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru, najpierw krzemuje się lub cynuje, produkt krzemowania lub cynowania acyluje się kwasem lub reaktywną pochodną kwasu zawierającą grupę R_1-S-CH_2-CO a zawarte ewentualnie w cząsteczce grupy krzemowe lub cynowe odszczepia się za pomocą alkoholu lub wody (porównaj na przykład brytyjski opis patentowy nr 1 073 530 i holenderskie zgłoszenie patentowe nr 67.17107).

Do reakcji stosuje się przede wszystkim takie surowce wyjściowe, z których otrzymuje się produkty odznaczające się szczególnie dużą aktywnością.

Pochodne cefalosporyny stosowane jako surowce wyjściowe są znane lub można je otrzymać znanymi metodami.

Wynalazek obejmuje również te sposoby postępowania, w których jako surowce wyjściowe stosuje się związki pośrednie otrzymane w poszczególnych fazach procesu lub wytwarza się związki wyjściowe w warunkach reakcji lub w których składniki reakcji stosuje się w postaci soli.

Nowe związki można stosować jako środki lecznicze np. w postaci preparatów farmaceutycznych. Preparaty te zawierają substancję aktywną w postaci mieszaniny z odpowiednim nośnikiem farmaceutycznym organicznym lub nieorganicznym, stałym lub ciekłym, odpowiednim do wprowadzenia jelitowego, miejscowego lub pozajelitowego. Jako materiały nośnikowe odpowiednie są takie substancje, które nie reagują z nowymi związkami, jak np. woda, żelatyna, laktoza, skrobia, alkohol stearylowy, stearynian magnezowy, talk, oleje roślinne, alkohole benzytowe, guma, glikol propylenowy, glikole polialkilenowe, wazelina, cholesteryna lub inne znane nośniki stosowane do wytwarzania leków. Preparaty farmaceutyczne można stosować np. jako tabletki, drażetki, maście, kremy, kapsułki lub w postaci ciekłej jako roztwory, zawiesiny lub emulsje. Są one ewentualnie sterylizowane i/lub zawierają substancje pomocnicze, jak środki konserwujące, stabilizatory, zwilżacze lub emulgatory, środki zwiększające rozpuszczalność lub sole powodujące zmianę ciśnienia osmotycznego albo substancje buforowe. Mogą zawierać także inne cenne substancje lecznicze. Preparaty otrzymuje się powszechnie stosowanymi metodami.

Sposób według wynalazku wyjaśniają niżej podane przykłady, w których temperatury podano w stopniach Celsjusza, przy czym w celu uproszczenia kwas 7-amino-cefalosporanowy oznaczono symbolem 7-ACA.

W chromatografii cienkowarstwowej na płytkach silikażelowych stosowano następujące układy:

układ 52 = n-butanol-lodowaty kwas octowy-woda (75 : 7,5 : 21)

układ 101 A = n-butanol-pirydyna-lodowaty kwas octowy-woda (42 : 24 : 4 : 30)

5 Przykład I. 3,93 g (10 mM) bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 20 ml chlorku metylenu z dodatkiem 3,45 ml (20 mM) N-etylodwizopropylloaminy. Następnie dodaje się roztwór 1,37 g (12 mM) 2-merkaptio-1-metyloimidazolu w 20 ml chlorku metylenu i spłukuje się 10 ml chlorku metylenu.

10 Po upływie 7 godzin odparowuje się rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem a otrzymany olej zadaje 10 ml metanolu i 1,65 ml lodowatego kwasu octowego. Po upływie krótkiego czasu roztwór krystalizuje całkowicie. Zawiesinę odsącza się na nuczcy, przemywa metanolem, suszy i otrzymuje praktycznie czysty kwas 7-[metyloimidazolilo-(2)-merkaptio-acetyloamino]-cefalosporanowy. Temperatura topnienia mierzona w kapilarze próżniowej wynosi 177—179° (rozkład).

25 Substancję przekształca się w krystaliczną sól sodową w następujący sposób: 2,9 g substancji w postaci zawiesiny w 60 ml metanolu zadaje się 3,75 ml 3 n roztworu metanolowego -etylo-pentanokarboksylanu sodowego. Podczas mieszania i krótkiego ogrzewania na łaźni wodnej w temperaturze 30° sól sodowa przejściowo rozpuszcza się, a następnie krystalizuje. Mieszaninę zagęszcza się pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości 15 ml, pozostawia w spokoju w temperaturze -20° na przeciąg jednej godziny, odsącza na nuczcy, przemywa mieszaniną czterowodorofuranu i metanolu (1:1) i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem. Sól 30 sodowa jest łatworozpuszczalna w wodzie i posiada $[α]_D^{20} = +107° \pm 1°$ ($c = 1$, H_2O), widmo UF (w wodzie) posiada maksimum przy $λ = 256$ nm ($ε = 12 800$). Temperatura topnienia 150—154° (z rozkładem). $R_F(52) = 0,04$; $R_F(101A) = 0,35$.

40 Przykład II. 3,93 g (10 mM) bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 15 ml chlorku metylenu z dodatkiem 3,45 ml (20 M) N,N-dwizopropylloaminy. Następnie dodaje się roztwór otrzymany przez rozpuszczenie 1,23 g (12 mM) 2-merkaptioimidazolu w 20 ml dwumetyloformamidu i rozcieńczenie 10 ml chlorku metylenu. Popłukuje się 5 ml chlorku metylenu.

50 Po upływie 6 godzin odparowuje się chlorek metylenu pod zmniejszonym ciśnieniem wytwarzanym przez pompę wodną strumieniową, a następnie pod ciśnieniem około 0,3 mm Hg w temperaturze 30°, oddestylowuje się możliwie całkowicie dwumetyloformamid. Otrzymuje się 10,7 g gęstego oleju. Po dodaniu 100 ml czterowodorofuranu otrzymuje się osad, który następnie ugniata się intensywnie. Osad ten odsącza się i rozciera z 50 ml czterowodorofuranu, odsysa rozpuszczalnik i przemywa niewielką ilością czterowodorofuranu, a następnie heksanem. Po wysuszeniu pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymuje się 6,75 g żółtawego proszku.

65 4,5 g tego surowego produktu rozpuszcza się w 13,5 ml dwumetyloformamidu i rozcieńcza metanolem w ilości 13,5 ml. Do otrzymanego roztworu dodaje się szczyptę „Noritu” (węglu aktywnego) i

wytrząsa roztwór z tym węglem w ciągu 5 minut. Następnie suszy się roztwór przez warstwę „Hyflo Supercel” (ziemia okrzemkowa), a filtr przemycia się 6 ml mieszaniny dwumetyloformamidu i metanolu (1:1). Przesąc i przemyci łączy się i dodaje do nich 165 ml czterowodorofuranu, przy czym tworzy się jasnożółty osad. Całość pozostawia się w spokoju na przeciąg 1 godziny w temperaturze -20°. Ciecz sączy się następnie na nuczycielkę a otrzymany osad przemyci bardzo dobrze stosując do tego celu kolejno mieszaninę metanol-czerowodorofuran (1:4,5), czysty czterowodorofuran i na końcu heksan. Po wysuszeniu otrzymuje się kwas 7-[imidazolinyl-(2)-merkaptocetyloamino]-cefalosporynowy w postaci prawie bezbarwnego, bezpostaciowego proszku, który na chromatogramie cienkowarstwowym jest jednolity. $R_F(52) = 0,05$; $R_F(101A) = 0,25$. Temperatura topnienia mierzona w kapilarze próżniowej wynosi 213—216° (z rozkładem). Skręcalność optyczna $[\alpha]_D^{20} = 143^\circ \pm 2^\circ$ (w wodzie, $c = 0,5$).

Przykład III. 3,93 g bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 27 ml chlorku metylenu z dodatkiem 3,45 ml N,N-dwuwizopropylaminy. Następnie dodaje się roztwór otrzymany przez rozpuszczenie 1,43 g 2-merkaptotiazolu w 2 ml dwumetyloformamidu i rozcieńczenie 8 ml chlorku metylenu i spłukuje się 10 ml chlorku metylenu.

Po upływie 7 godzin odparowuje się rozpuszczalnik najpierw pod zmniejszonym ciśnieniem wytwarzanym przez pompę wodną strumieniową a następnie pod ciśnieniem około 0,3 mm Hg (na łożni wodnej o temperaturze 30°). Otrzymuje się 7 g gęstego oleju.

6,3 g tego surowego produktu wlewa się do 27 ml 10% roztworu dwuwodorofosforanu potasowego, doprowadza roztwór do wartości pH 5, za pomocą 0,3 ml 2 N roztworu sodu. Następnie przenosi się roztwór do rozdzielacza i ekstrahuje najpierw 55 ml chlorku metylenu, a później 90 ml octanu etylowego. Warstwy organiczne przemyci się dwukrotnie porcjami po 45 ml roztworu buforu fosforanowego o pH = 5 i odrzuca je. Następnie łączy się wszystkie warstwy wodne, dodaje 180 ml octanu etylowego, doprowadza roztwór do wartości pH 2,9 za pomocą 11 ml 1 N kwasu solnego, a warstwę wodną nasyci się solą kuchenną. Całość wytrząsa się długo, rozdziela nie mieszając warstwy, a warstwę wodną ekstrahuje jeszcze dwukrotnie octanem etylu użytym w porcjach po 90 ml. Warstwy organiczne przemyci się kolejno nasyconym roztworem soli kuchennej w porcjach po 45 ml, suszy siarczanem sodowym, łączy i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem do suchości. Bezpostaciowa pozostałość krystalizuje prawie całkowicie po dodaniu 6 ml mieszaniny składającej się z octanu etylu i czterowodorofuranu (9:1). Kryształy (1,76 g) odsącza się na nuczycielkę i przemyci octanem etylu.

W celu dalszego oczyszczenia kryształy rozpuszcza się w 15 ml czterowodorofuranu, dodaje minimalną ilość węgla aktywnego (Norit), wytrząsa w temperaturze pokojowej, sączy przez warstwę ziemi okrzemkowej „Hyflo-Supercel”, przemyci

filtr 5 ml czterowodorofuranu, odparowuje rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, a bezpostaciową pozostałość krystalizuje z 5 ml mieszaniny octanu etylu i czterowodorofuranu (9:1). Kryształy odsącza się na nuczycielkę, przemyci octanem etylu i suszy pod bardzo niskim ciśnieniem. Otrzymuje się czysty kwas 7-[tiazolinyl-(2)-merkaptocetyloamino]-cefalosporynowy o temperaturze topnienia (mierzonej w kapilarze próżniowej): 131—138° (z rozkładem).

W celu otrzymania soli sodowej wytwarza się zawiesinę 1,6 g kwasu w 32 ml metanolu i dodaje się 2,1 ml 3 M roztworu metanolowego etylopentanokarboksylanu sodowego. Otrzymany w ten sposób roztwór zagęszcza się pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości 8—10 ml i pozostawia w spokoju w temperaturze -20° na okres około 2,5 godzin. Otrzymaną zawiesinę kryształów odsącza się na nuczycielkę, a kryształy soli sodowej przemyci kolejno 12 ml mieszaniny metanol-octan etylu (1:1), 5 ml octanu etylu i heksanem. Temperatura topnienia soli sodowej: 185—189° (rozkład). Skręcalność optyczna $[\alpha]_D^{20} = \pm 120^\circ \pm 1^\circ$ (w wodzie, $c = 1$). $R_F(52) = 0,26$; $R_F(101A) = 0,55$.

Przykład IV. 3,93 g bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 20 ml chlorku metylenu, z dodatkiem 3,45 ml dwuwizopropylaminy. Następnie dodaje się roztwór otrzymany przez rozpuszczenie 1,22 g 3-merkaptio-1,2,4-triazolu w 10 ml dwumetyloformamidu i rozcieńczenie 10 ml chlorku metylenu i spłukuje się 10 ml chlorku metylenu.

Po upływie 7 godzin odparowuje się chlorek metylenu, najpierw pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskanym za pomocą pompki wodnej, a następnie pod ciśnieniem około 0,2 mm Hg (łożnia wodna, temperatura 30—40°). Jako pozostałość otrzymuje się 10,5 g brązowego oleju. Surowy produkt wlewa się do 20 ml 10% roztworu dwuwodorofosforanu potasowego i roztwór doprowadza się do wartości pH 5, za pomocą 0,9 ml 2 N roztworu sodu. Następnie przenosi się roztwór do rozdzielacza i ekstrahuje kolejno 80 ml chlorku metylenu i 30 ml octanu etylu. Warstwy organiczne przemyci się dwukrotnie porcjami po 20 ml buforu fosforanowego o pH = 5. Następnie łączy się warstwy wodne i dodaje 300 ml octanu etylowego, po czym przez dodanie 1,0 ml stężonego kwasu solnego nastawia się pH do wartości 2,9. W wyniku tych operacji wytrąca się bezbarwny osad, który występuje w obydwu warstwach. Całą zawartość rozdzielacza odsącza się na szklanym lejku próżniowym, a osad zatrzymany na filtrze przemyci octanem etylu, po czym kilkakrotnie rozciera z czterowodorofuranem (około 150 ml i uzyskuje krystaliczny kwas 7-[1,2,4-triazolilo-(3)-merkaptocetyloamino]-cefalosporynowy o dużej czystości. Po rozdzieleniu przesąc zawierający obydwie warstwy odzyskuje się dodatkową ilość surowego kryształu.

2,5 g surowych kryształów rozpuszcza się w 30 ml mieszaniny czterowodorofuranu i metanolu (1:1), do otrzymanego roztworu dodaje się szczypotę węgla aktywnego „Norit” i krótko wytrząsa roztwór przez warstwę ziemi okrzemkowej (Hyflo Supercel), a filtr przemyci 3 ml wyżej wymienio-

nej mieszaniny i 5 ml metanolu. Przesącza się pod obniżonym ciśnieniem do objętości około 5 ml, po czym zaszczepia uzyskując natychmiast krystaliczny produkt o temperaturze topnienia: 149–151° (rozkład).

1,55 g otrzymanego kwasu miesza się z 50 ml metanolu i do otrzymanej zawiesiny dodaje się 1,85 ml 3 M roztworu metanolowego etylopentanokarboksylanu sodu. Klarowny roztwór zagęszcza się pod obniżonym ciśnieniem do objętości około 10–12 ml, przy czym tworzą się powoli kryształy, po czym dodaje się jeszcze 2,5 ml czterowodorofuranu i pozostawia roztwór w temperaturze -20° na okres około 2 godzin. Otrzymaną zawiesinę kryształów odsącza się na nuczcy, a osad przemycywa kolejno mieszaniną metanolu z czterowodorofuranem (1:1), czterowodorofuranem, octanem etylu i heksanem.

Skreślalność optyczna soli sodowej $[\alpha]_D^{20} = +113^\circ \pm 1^\circ$; temperatura topnienia: 220–230° (z rozkładem). $R_F (52) = 0,21$; $R_F (101A) = 0,5$.

Przykład V. 393 mg (1,0 mM) bromoacetylo-7-ACA rozpuszcza się w 2,0 ml chlorku metylenu z dodatkiem 258 mg N,N-dwuwizopropylloaminy. Następnie dodaje się roztwór otrzymany przez rozpuszczanie 180 mg 2,5-dwumerkapto-1,3,4-tiadiazolu w 0,5 ml dwumetyloformamidu i rozcieńczenie 2,2 ml chlorku metylenu. Popłukuje się 1 ml chlorku metylenu.

Po upływie 6 godzin odparowuje się rozpuszczalnik, najpierw pod zmniejszonym ciśnieniem wytworzonym przez pompę wodną strumieniową, a następnie pod ciśnieniem 0,2 mm Hg (łaźnia wodna o temperaturze 30°). Jako pozostałość otrzymuje się około 1,1 g żółtawego oleju. Ten surowy produkt wlewa się do 10 ml 10% roztworu dwuwodorofosforanu potasowego i przez dodanie 0,3 ml 2 N roztworu sody nastawia się pH na 5. Następnie przenosi się roztwór do rozdzielacza i ekstrahuje kolejno 20 ml chlorku metylenu i 30 ml octanu etylu. Warstwy organiczne przemycywa się dwukrotnie porcjami po 10 ml buforu fosforanowego o pH = 5. Następnie łączy się warstwy wodne i dodaje 40 ml octanu etylu, po czym przez dodanie 2,7 ml 1 N kwasu solnego nastawia się pH na 2,9, a warstwę wodną nasycy się solą kuchenną. Całość wytrząsa się silnie, rozdziela nie mieszające się warstwy, a warstwę etylu użytym w porcjach po dwukrotnie octanem etylu użytym w porcjach po 20 ml. Wszystkie 3 warstwy organiczne przemycywa się kolejno nasyconym roztworem soli kuchennej w porcjach po 8 ml. Następnie suszy się siarczanem sodowym, sączy i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem do suchości. Pozostałość przekryształizowuje się z mieszaniny octan etylu-czterowodorofuran (9:1).

Temperatura topnienia kwasu 7-[5-merkaptio-1,3,4-tiadiazolilo-(2)-merkaptio-acetyloamino] -cefalosporanowego mierzona w kapilarze próżniowej wynosi 130–142° (z rozkładem). $R_F (52) = 0,36$; $R_F (101A) = 0,6$.

Przykład VI. 11,75 g kwasu 3-(deacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-bromoacetyloamino-cefalosporanowego rozpuszcza się w 75 ml dwu-

metyloformamidu z dodatkiem 8,75 ml N-etylo-dwuwizopropylloaminy. Następnie dodaje się roztwór 3,58 g 2-merkaptio-tiazolinu w 25 ml dwumetyloformamidu i pozostawia całość w spokoju, w ciemności w temperaturze pokojowej. Po upływie 20 godzin odparowuje się większość rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem (0,5–1 mm Hg), a otrzymaną oleistą pozostałość miesza się z 250 ml buforu fosforanowego o pH = 6 i 250 ml octanu etylu. Następnie nastawia się pH warstwy wodnej na 6 i rozdziela warstwę organiczną od warstwy wodnej. Warstwę organiczną odrzuca się. Warstwę wodną zakwasza się kwasem solnym nastawiając jej pH na 2,3 i nasycy ją solą kuchenną. Następnie ekstrahuje się ją kolejno porcjami po 1000, 250 i 250 ml octanu etylu. Ekstrakty w octanie etylu przemycywa się nasyconym roztworem soli kuchennej, suszy siarczanem sodowym i sączy przez kolumnę zawierającą 75 g silikażelu. Połączone przesącze zawierają 11 g suchej pozostałości. Chromatografuje się je na kolumnie zawierającej 520 g silikażelu za pomocą chloroformu lub mieszaniny chloroform-aceton (9:1). Z eluatów otrzymuje się 7,6 g bezpostaciowego kwasu 3-(deacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-[tiazolinylo-(2)-merkaproacetyloamino] -cefalosporanowego. Działając na otrzymany kwas α -etylopentanokarboksylanem sodowym przekształca się go na krystaliczną sól sodową o wzorze 5.

$R_F (52)$ Maksima w widmie ultrafioletu w wodzie występują przy $\lambda = 240$ nm ($\epsilon = 19200$) i $\lambda = 274$ nm ($\epsilon = 20000$).

Kwas 3-(deacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-bromoacetyloamino-cefalosporanowy stosowany jako surowiec wyjściowy można otrzymać w następujący sposób:

Roztwór 17,5 g kwasu -3(deacetoksymetylo)-3-benzoiłotiometylo-7-amino-cefalosporanowego (porównaj opis patentowy belgijski nr 650 444) i 12,5 ml trójetyloaminy w 1 l dwumetyloformamidu wkrapla się w ciągu 1 godziny, dobrze mieszając, w temperaturze -13 do -15° roztworu 9,2 ml bromku bromoacetylu w 100 ml chlorku metylenu. Wkraplanie prowadzi się w atmosferze azotu. Następnie podgrzewa się roztwór powoli w ciągu 1½ godziny do temperatury 10° i utrzymuje w tej temperaturze jeszcze w ciągu 0,5 godziny. Następnie odparowuje się większość rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem (0,5–1 mm Hg) stosując mieszaninę suchego lodu i acetonu jako medium chłodnicze w skraplaczu oparów. Oleistą pozostałość wylewa się do roztworu buforu fosforanowego o pH = 6 i wytrząsa z 1 l octanu etylu. Na granicy obydwu warstw powstaje osad, który oddziela się przez odsączenie lub odwirowanie. Następnie nastawia się pH warstwy wodnej na 2, nasycy ją solą kuchenną i oddziela warstwę organiczną. Warstwę wodną ekstrahuje się ponownie, kolejno dwoma porcjami po 600 i 400 ml octanu etylu. Warstwy organiczne przemycywa się nasyconym roztworem soli kuchennej, suszy siarczanem sodowym i kolejno sączy przez kolumnę zawierającą 100 mg silikażelu. Przesącze odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem do sucha, pozostałość zadaje 30 ml etanolu i poddaje krystalizacji

w temperaturze -20° . Otrzymuje się 7,8 g kwasu 3-(dezaacetoksymetylo)-3-benzozilotiometylo-7-bromoacetyloamino-cefalosporanowego o temperaturze topnienia $137-138^{\circ}$.
 $R_F^{(52)} = 0,55$. Sól sodowa wykazuje w widmie ultrafioletu w wodzie:

λ maks. 243 nm ($\epsilon = 16\,800$) i
 275 nm ($\epsilon = 20\,600$)

$D = -47 \pm 1^{\circ}$ ($c = 1$; w mieszaninie: 0,1 mol roztwór kwaśnego węgla sodowego-aceton (1:1).

Przykład VII. 4,73 g soli sodowej kwasu 3-(dezaacetoksymetylo)-3-benzozilotiometylo-7-[tiazolidylo-(2)-merkaptocetyloamino]-cefalospo-
 ranowego rozpuszcza się w 35 ml pirydyny, a następnie dodaje się 35 ml dioksanu. Później dodaje się 20,9 ml 40% roztworu nadchloranu rtęciowego i pozostawia do przereagowania przy silnym mieszaniu w temperaturze 45° w ciągu 45 minut (w atmosferze azotu). Następnie całość chłodzi się, dodaje 11,1 ml kwasu tiobenzoesowego i wytrząsa w ciągu 5 minut. Rozpuszczalniki odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość rozpuszcza się w 140 ml wody i sączy przez „Celit”. Przesąc
 przemawia się kolejno 90 ml toluenu, dwukrotnie porcjami po 55 ml „Ambrelitu” IA-2 w 115 ml toluenu i jeszcze raz dwukrotnie porcjami po 90 ml toluenu. Następnie sączy się warstwę wodną przez kolumnę zawierającą od dołu do góry kolejno: 8,5 ml „Sephadexu” CM C-25 (forma H^{+}), 34 ml „Aloxu”, 8,5 ml „Zeo-Karb” 226 (forma H^{+}), 34 ml „Aloxu”, 8,5 ml „Dcwex-1” (forma octanowa) oraz 8,5 ml „Sephadexu” CM C-25 (forma H^{+}). „Celit”, warstwy organiczne i kolumnę ekstrahuje
 się dwukrotnie porcjami po 30 ml wody, a kolumnę przemawia się dodatkowo 200 ml wody. Wszystkie ekstrakty i przemywki łączy się, zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem, odsącza osad wydzielony w małej ilości i odparowuje do suchości. Pozostałość ekstrahuje się na ciepło 10 ml alkoholu i otrzymuje się czysty kwas 3-(dezaacetoksymetylo)-3-pirydyniometylo-7-[tiazolidylo-(2)-merkaptocetyloamino]-cefalospo-
 ranowy.

$[\alpha]_D^{20} = +41^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 1$; w wodzie); widmo ultrafioletu w wodzie:

$\lambda_{\max} 257$ nm ($\epsilon = 13\,000$). $R_F^{(110A)} = 0,18$.

Przykład VIII. 2,95 g soli sodowej kwasu 7-[tiazolidylo-(2)-merkaptocetylo-amino]-cefalospo-
 ranowego (porównaj przykład III) rozpuszcza się w 150 ml wody. Roztwór ogrzewa się do temperatury 37° i przez dodanie 0,7 ml 0,1 n ługu sodowego nastawia pH na 7,5. Następnie dodaje się zawiesinę 60 mg acetyloestery (z *Bacillus subtilis* ATCC 6633, porównaj brytyjski opis patentowy nr 1 080 904) w 2 ml wody i zobojętnia wydzielony kwas octowy 0,1 n ługiem sodowym dodawanym stopniowo za pomocą automatycznego przyrządu do miareczkowania (pH roztworu nastawia się na 7,3). Po upływie 4 godzin reakcja jest skończona. Następnie nastawia się pH roztworu na 6,5, sączy roztwór przez płytkę ze szkła spiekanego G4 i liofilizuje otrzymane osady. Otrzymuje się 3,18 g żółtawo zabarwionej żywicy stanowiącej sól sodową

kwasu 7-p [tiazolidylo-(2)-merkaptocetyloamino]-0-dezaacetylo-cefalosporanowego.

Otrzymany surowy produkt rozpuszcza się w mieszaninie 30 ml absolutnego dwumetyloformamidu i 8,4 ml trójetyloaminy, dodaje 5,05 ml izocyjanianu β -chloroetylu i miesza w ciągu 0,5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie odparowuje się rozpuszczalnik pod bardzo niskim ciśnieniem, a brązową pozostałość rozciera się trzykrotnie z eterem absolutnym użytym w porcjach po 150 ml. Do pozostałości nierozpuszczalnej w eterze dodaje się 75 ml 10% buforu fosforanowego o pH 6,7, a następnie 500 ml octanu etylu, po czym doprowadza się odczyn warstwy wodnej do wartości pH 2,5, za pomocą 30 ml 2 N kwasu solnego.

Po silnym wytrząśnięciu ciecz rozdziela się na warstwy, a warstwę wodną ekstrahuje się ponownie 200 i 300 ml octanu etylu. Warstwy organiczne przemawia się dwukrotnie porcjami po 50 ml nasyconego roztworu soli kuchennej, suszy siarczanem sodowym i odparowuje do suchości pod obniżonym ciśnieniem. Pozostałość otrzymana w formie żywicy krystalizuje po dodaniu niewielkiej ilości acetonu.

Kryształ odsącza się na nuczyci i przemawia mieszaniną rozpuszczalników zawierającą jednakową ilość acetonu i eteru. Surowy kryształ oczyszcza się. W tym celu sporządza się zawiesinę kryształu w 18 ml metanolu, dodaje 1,2 ml 3 m roztworu metanolowego α -etylopentanokarboksylanu sodowego, klaruje mieszaninę za pomocą niewielkiej ilości „Hyflo” (ziemi okrzemkowej), zagęszcza pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości około 8 ml i wykrysztalizowuje w temperaturze -15° czystą sól sodową kwasu 0-dezaacetylo-0-(β -chloroetylokarbamoi-
 lo)- [tiazolidylo-(2)-merkaptocetyloamino]-cefalospo-
 ranowego. Sól ta wykazuje w widmie ultrafioletu $\lambda_{\max}$ przy 255 nm oraz $\epsilon = 10\,850$ (w wodzie). Skrę-
 calność optyczna $[\alpha]_D^{20} = 99 \pm 1^{\circ}$. Na chromatogramie cienkowarstwowym otrzymuje się następujące wartości:

dla układu 101A = 0,55

a w układzie octan etylu-pirydyna-kwas octowy lodowaty-woda (62:21:6:11) $R_F = 0,34$.

Przykład IX. Do kolby Sulfiera, zaopatrzonej w chłodnicę i mieszało wprowadza się 7,57 g kwasu 1-metylo-imidazolilo(2)-tiooctowego i 50 ml czterowodorofuranu i do wytworzonej zawiesiny, w atmosferze azotu, w temperaturze od -50 do -70°C wprowadza się 5,96 ml trójetyloaminy i 4,76 ml chlorku trójchloroacetylu. Reakcję prowadzi się przy mieszaniu w ciągu 15 minut, w temperaturze -50°C do -70°C , po czym do mieszaniny reakcyjnej dodaje się oziębiony do temperatury -70°C roztwór 5,44 kwasu 7-aminocefalospo-
 ranowego i 10 ml trójetyloaminy w 65 ml chlorku metylenu i miesza dalej w atmosferze azotu, w ciągu 45 minut, w temperaturze od -50 do -70°C . Następnie do mieszaniny dodaje się 100 ml 10% roztworu wodnego dwuwodorofosforanu potasu i miesza aż do doprowadzenia mieszaniny reakcyjnej do wartości pH 5, po czym oddziela się warstwę organiczną i warstwę wodną ekstrahuje się

roztworem 50 ml chlorku metylenu w 100 ml octanu etylu.

Fazę wodną przykrywa się 400 ml octanu etylu i zakwasza 2 N kwasem solnym do wartości pH 2,6, po czym wysyca chlorkiem sodu, poddaje ponownie ekstrakcji za pomocą dwóch 200 ml porcji octanu etylu. Otrzymane 3 ekstrakty octanowe przemycza się kolejno 60 ml nasyconego roztworu chlorku sodu, suszy siarczanem sodu i odparowuje do suchości pod obniżonym ciśnieniem. Otrzymany osad po zadaniu metanolem krystalizuje i stanowi praktycznie czysty kwas 7-[1-metyloimidazolilo-(2)-merkptoacetyloamino]-cefalosporynowy o temperaturze topnienia 177—179°C (rozkład) w zamkniętej pozbawionej powietrza kapilarze.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania pochodnych kwasu 7-aminocefalosporynowego o ogólnym wzorze 1, w którym R_1 oznacza pięcioczłonowy częściowo nienasycony pierścień heterocykliczny o co najmniej jednym atomie azotu i co najmniej jednym innym heteroatomie z grupy azotu lub siarki, związany z atomem siarki grupy acetylomerkaptanowej poprzez pierścieniowy atom węgla umiejscowiony między dwoma heteroatomami, ewentualnie podstawiony grupą merkptoacetylową w pozycji 5, jak i ewentualnie podstawiony rodnikami niskoalkilowymi w pozostałych pozycjach, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem karboksylowym, w której atomy tlenu grupy estrowej mogą być zastąpione atomami siarki, grupę karkamioiloksyłową ewentualnie N-podstawioną, w której atomy tlenu mogą być zastąpione atomami siarki, albo czwartorzędową grupę aminową, jak i ewentualnie wewnętrznych soli tych związków, **znamienny tym**, że związek o wzorze 4, w którym Z oznacza rodnik chlorowcoacetylowy, a R_2 ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji wymiany z merkaptanem o wzorze R_1SH , w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, albo związek o wzorze 4, w którym Z oznacza atom wodoru a R_2 ma wyżej podane znaczenie, acyluje się reaktywną pochodną grupy o wzorze R_1-S-CH_2-CO , w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, i w otrzymanym związku o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową ewentualnie zestryfikowaną kwasem karboksylowym, zawierającym atomy tlenu dające się zastępować

atomami siarki ewentualnie wymienia się tę grupę na ewentualnie N-podstawioną grupę karbamioilową, zawierającą atomy tlenu dające się zastępować atomami siarki, lub na czwartorzędową grupę aminową i ewentualnie przeprowadza się w sól z metalem, takim jak metal alkaliczny lub metal ziem alkalicznych, lub w sól z amoniakiem albo z organiczną zasadą albo wytworzone sole przeprowadza w wolne kwasy albo w ich wewnętrzne sole.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję wymiany z merkaptanem o wzorze R_1SH , w którym R_1 ma znaczenie jak w zastrz. 1, prowadzi się w obecności N,N-dwuwizopropylometylaminu.

3. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**, że reakcji wymiany poddaje się merkaptan o wzorze R_1-SH , w którym R_1 oznacza rodnik imidazolilowy, imidazolinilowy, tiazolilowy, tiazolinilowy lub triazolilowy.

4. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**, że związek o wzorze 1, w którym R_1 ma znaczenie jak w zastrz. 1, a R_2 oznacza wolną grupę wodorotlenową, acetyluje się w znany sposób i wytwarza związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza grupę acetyloksylową.

5. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**, że poddaje się reakcji sól sodową kwasu 3-(dezaacetoksymetylo)-3-benzotiotiometylo-7 [tiazolinilo(2)-merkptoacetyloamino]-cefalosporynowego ze związkiem pirydyniowym i wytwarza kwas 3-(dezaacetoksymetylo)-3-pirydyniometylo-7- [tiazolinilo(2)-merkptoacetyloamino]-cefalosporynowy.

6. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**, że sól sodową związku o wzorze 1, w którym R_1 ma znaczenie jak w zastrz. 1, a R_2 oznacza grupę wodorotlenową poddaje się reakcji z niskoalkiloizocyjanianem i otrzymuje związek o wzorze 1, w którym R_1 ma wyżej podane znaczenie, a R_2 oznacza niskoalkilowaną grupę karbamioiloksyłową.

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

8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że jako niskoalkiloizocyjanian podstawiony chlorowcem stosuje się β -chloroetyloizocyjanian.

ERRATA

- Łam 4, wiersz 22
jest: tiometylo-1
powinno być: tiometylo-7
Łam 6, wiersz 18
jest: 7-[metylo-
powinno być: 7-[1-metylo-
Łam 7, wiersz 11
jest: metanol-czerowodoro-
powinno być: metanol-czterowodoro-
Łam 9, wiersz 49 i 50
jest: warstwę etylu użytym w porcjach po dwukrotnie
powinno być: warstwę wodną ekstrahuje się jeszcze dwukrotnie
Łam 11, wiersz 26
jest: IA-2
powinno być: LA-2

