

(19) DANMARK



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 143705 B

- (21) Ansøgning nr. 138/77 (51) Int.Cl.³ C 07 D 499/12
(22) Indleveringsdag 14. jan. 1977
(24) Løbedag 14. jan. 1977
(41) Alm. tilgængelig 16. jul. 1977
(44) Fremlagt 28. sep. 1981
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet 15. jan. 1976, 47642/76, IT

(71) Ansøger GLAXO LABORATORIES LIMITED, Greenford, GB.

(72) Opfinder Marco Croci, IT: Gino Cotti, IT.

(74) Fuldmægtig Kontor for Industriel Eneret v. Svend Schønning.

(54) Fremgangsmåde til fremstilling
af et 6-acylaminopenicillansy-
reantibiotikum.

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til fremstilling af visse halvsyntetiske penicilliner.

Der har været foreslået talrige processer til fremstilling af den halvsyntetiske gruppe penicillinantibiotika, navnlig ampicillin. Disse forslag har som regel indebåret acylering af 6-aminopenicillansyre (6-APA) eller et beskyttet derivat deraf, fx under anvendelse af et syrehalogenid til indførelse af den ønskede acylgruppe. Særligt foretrukne beskyttede derivater har været sådanne der let kan spaltes in situ når først acyleringen er blevet udført.

En hyppigt anvendt type beskyttet derivat af 6-APA har været det mono- eller bis-silylerede mellemprodukt. Silylerede mellemprodukter har været anvendt i mange år fordi de har ikke blot den fordel at silylgruppen kan bidrage til at opløseliggøre penicillinforbindelsen så at reaktionen kan gennemføres i aprotiske

DK 143705 B

opløsningsmidler og derved forhindre en vis grad af β -laktam-hydrolyse, men også den fordel at de let kan spaltes in situ efter acyleringen. Fx beskriver de britiske patentskrifter nr. 959853, 964449 og 1008468 både fremstilling og den påfølgende anvendelse af silylerede 6-APA-mellemprodukter ved fremstilling af penicillin-antibiotika.

Det faktiske acyleringstrin med anvendelse af det silylerede mellemprodukt udføres hyppigt ved hjælp af et syrehalogenid af den karboxylsyre, hvis acylgruppe det ønskes at indføre, i nærværelse af en organisk base som hydrogenhalogenidacceptor. Det store flertal af baser, der hidtil har været anvendt eller foreslået til anvendelse til dette formål har været aminer, navnlig sekundære eller tertiære aminer såsom trialkylaminer, dialkylaniliner, piperidiner eller pyridiner. Desuden har det somme tider været foreslået at udføre sådanne acyleringer i tertiære amid-opløsningsmidler som fx anført i britisk patentskrift nr. 959853.

Det har været en ulempe ved sådanne kendte processer, at de vundne acylerede antibiotiske produkter har tendens til selv efter rensning af være forurenede med små mængder af den base eller det opløsningsmiddel der har været anvendt ved fremstillingen deraf, stoffer som det er yderst vanskeligt at fjerne fra antibiotiket og som hyppigt har væsentlig toxicitet. Det er naturligvis ønskeligt at ethvert farmaceutisk produkt fremstilles og sælges med den højest mulige renhedsgrad, og det er et faktum at selv meget små mængder base hvormed det antibiotiske produkt er forurenede, kan frembringe ubehagelige bivirkninger efter indgiften af antibiotiket. Sådanne bivirkninger er bl.a. hovedpine, kvalme og dødsighed, og det er derfor meget betydningsfuldt at man enten nedbringer mængden af sådanne forureninger i antibiotiket til et minimum eller at forureningerne har mindre toxicitet.

De ulemper der er anført har navnlig været gældende for dialkylanilinerne når disse har været anvendt som baser. Dialkylaniliner og navnlig dimetylanilin har været udstrakt anvendt kommercielt som hydrogenhalogenidacceptor ved acyleringsreaktioner, fordi deres pK_b -værdier falder inden for det kritiske snævre område der giver maksimalt udbytte af antibiotisk produkt og undgåelse af bireaktioner. Uheldigvis har det vist sig at disse stoffer occluderes i mindre grad i det antibiotiske produkt, og de har også udtalt toxicitet. De små mængder af fx dimetylanilin, der

occluderes i det antibiotiske produkt, er tilstrækkelige til at give ubehagelige bivirkninger, herunder de ovennævnte.

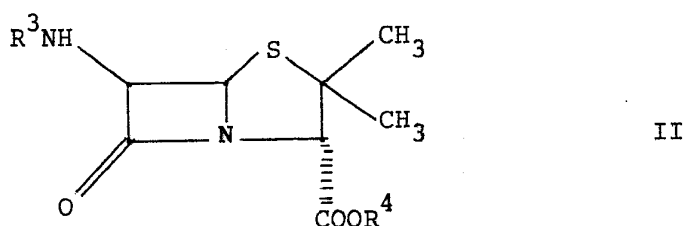
Det har nu vist sig at hvis acyleringen af det silylerede 6-APA-mellemprodukt ved hjælp af syrehalogenid udføres i nærværelse af en primær eller sekundær karboxamidbase som hydrogenhalogenidacceptor, kan man opretholde de gode udbytter af produktet, der tidligere er opnået ved denne type acylering, selv i kommerciel målestok, og tillige opnår man at det vundne antibiotiske produkt er væsentligt mindre forurenset med base end det tidligere har været tilfældet, specielt hvor man har anvendt dimetylanilin. Den her foreslåede fremgangsmåde har den yderligere fordel at de basiske forureninger, der kan være til stede i det antibiotiske produkt, er væsentligt mindre toksiske end dem der tidligere har været brugt, hvorved forekomsten af bivirkninger efter indgift af antibiotikumet kan reduceres eller endog praktisk talt elimineres.

Opfindelsen angår altså en fremgangsmåde til fremstilling af et 6-acylaminopenicillansyre-antibiotikum ved acylering af et mono- eller bis-silyleret derivat af 6-aminopenicillansyre med et syreklorid eller beskyttet syreklorid svarende til den ønskede 6-acylaminogruppe i et inaktivt organisk opløsningsmiddel i nærværelse af en hydrogenhalogenidacceptor, fraspaltning af silylgrupper og andre beskyttelsesgrupper i det resulterende produkt og udvinding af det ønskede penicillin-antibiotikum, og fremgangsmåden er ifølge opfindelsen ejendommelig ved at hydrogenhalogenidacceptoren er en forbindelse med den almene formel



hvor R^1 er en C_{1-6} -alkylgruppe eller aralkylgruppe eller en aminogruppe substitueret med en eller to C_{1-6} -alkylgrupper, og hvor R^2 er et hydrogenatom eller en C_{1-6} -alkylgruppe eller aralkylgruppe.

Det mono- eller bis-silylerede derivat af 6-APA kan have den almene formel



hvor R^3 er et hydrogenatom eller en silylgruppe $-\text{SiR}^5\text{R}^6\text{R}^7$ og R^4 er en silylgruppe $-\text{SiR}^5\text{R}^6\text{R}^7$, hvor grupperne R^5 , R^6 og R^7 er ens eller forskellige og er udvalgt blandt alkylgrupper (fx med 1-6 kulstofatomer), arylgrupper (fx med 5-12 kulstofatomer) og aralkylgrupper (fx med 7-20 kulstofatomer).

Det syreklorid der bruges ved acyleringen vælges under hensyn til arten af den ønskede 6-acylaminogruppe. Når denne indeholder følsomme grupper kan det være nødvendigt at beskytte disse under fremgangsmåden ifølge opfindelsen. Således kan man fremstille ampicillin ved ifølge opfindelsen at beskytte α -aminogruppen i D(-)- α -fenylglycylchloridet som hydrokloridet deraf. Fremgangsmåden er generelt anvendelig til fremstilling af kendte halvsyntetiske penicillin-antibiotika, fx ampicillin, cloxacillin og dicloxacillin, hvis nærmere art er vel defineret i eksisterende litteratur.

Foretrukne forbindelser med den almene formel I til anvendelse ved reaktionen er sådanne hvor R^1 er en C_{1-4} -alkylgruppe, fx metyl, ætyl, propyl eller butyl, fx N-metylacetamid. Det foretrækkes imidlertid også at R^2 er et hydrogenatom. Som forbindelse I foretrækkes det ifølge opfindelsen at bruge acetamid, dels fordi det er det simpleste og billigste, dels fordi det giver højest udbytte og dels fordi det er ugiftigt.

Forbindelsen med formel I kan ifølge opfindelsen bruges i en mængde på 1,0 til 4,0 gange den støkiometriske mængde af 6-APA, da der herved opnås bedst udbytte. Den foretrukne mængde er 1,5 til 2,5 gange den støkiometriske mængde og fortrinsvis ca. 2 gange så meget som den støkiometriske mængde.

Forbindelsen med formel I tilsættes hensigtsmæssigt i den ønskede mængden til den opløsning, hvori det mono- eller bis-silylerede derivat af 6-APA er blevet fremstillet. Hvor der bruges et silyleringsmiddel som ved reaktionen udvikler en base med formel I, kan den mængde base der tilsættes med henblik på acyleringsreaktionen nedsættes passende. Opløsningen kan afkøles til en temperatur mellem $+10$ og -30°C , fx mellem $+5$ og -25°C , specielt til en temperatur på mellem $+5$ og -5°C før man tilsætter forbindelsen med formel I, og når den er blevet tilsat kan acyleringsmidlet tilsættes. Acyleringsmidlet kan også tilsættes før tilsætningen af forbindelsen med formel I. Acyleringsmidlet kan tilsættes på en gang eller over en periode.

Det inaktive opløsningsmiddel, hvori acyleringsreaktionen

udføres, kan fx være en halogeneret kulbrinte eller en aromatisk kulbrinte som fx metylenklorid, ætylenklorid, kloroform, benzen eller toluen. Metylenklorid foretrækkes.

Der opretholdes hensigtsmæssigt en temperaturkontrol under acyleringsreaktionen, der forløber forholdsvis hurtigt og i almindelighed vil være fuldført på fra 30 minutter til 3 timer, fx på omkring 1 1/2 time. Acyleringsgraden kan overvåges fx ved at man bestemmer mængden af tilbageværende udgangsmateriale ved tyndtlagskromatografi. Det foretrækkes i almindelighed til acyleringsstrinet at bruge en støkiometrisk mængde af acylkloridet, fx op til 1 ækvivalent, med fordel 1,0 ækvivalent, i forhold til mængden af silyleret 6-APA.

Efter fuldførelse af acyleringsreaktionen, fx som det viser sig ved forbrug af alt udgangsmaterialet, kan den resulterende blanding eller suspension også behandles med en forbindelse indeholdende aktivt hydrogen, fx vand, syret vand eller basegjort vand, en alkohol eller fenol, for at fjerne alle silylgrupper der måtte være til stede i penicillin-reaktionsproduktet. Vand er det foretrukne desilyleringsmiddel til dette formål. Uopløselige materialer som måtte være til stede i reaktionsblandingen, fx uopløselige salte stammende fra en hydrogenkloridbinder anvendt under silyleringen, kan også hensigtsmæssigt fraskilles før desilyleringen, fx ved filtrering eller centrifugering.

Penicillinantibiotiket kan derefter udfældes, fx i tilfælde af ampicillin ved regulering af den fortyndede reaktionsopløsnings pH-værdi til det isoelektriske punkt med en base, eller i tilfælde af cloxacillin eller dicloxacillin til dannelse af et salt deraf i et organisk opløsningsmiddel, hvorpå bundfaldet kan opsamles og tørres på konventionel måde. Hvis der ønskes dannet et salt af penicillinantibiotiket, kan man gøre det ved tilsætning af en passende base som fx et alkalimetallalkanoat såsom natrium-2-ætylhexanoat.

Der kan bruges mange forskellige silylerede derivater med den almene formel II i acyleringstrinet, og de kan fremstilles ud fra 6-APA på en hvilken som helst hensigtsmæssig silyleringsmåde. Fordelagtigt er silyleringsmidlet en halogensilan eller en silazan, fx en forbindelse med en af formlerne $R^5R^6R^7SiX$, $R^5R^6R^7Si.NR^5R^6$, $R^5R^6R^7Si.NH.SiR^5R^6R^7$, $R^5R^6R^7Si.NH.COR$, $R^5R^6R^7Si.NH.CO.NH.SiR^5R^6R^7$, $R^5R^6R^7Si.NH.CO.NR.SiR^5R^6R^7$ eller $RC(OSiR^5R^6R^7):NSiR^5R^6R^7$, hvor X

er et halogenatom som fx et kloratom og de forskellige grupper R, R⁵, R⁶ og R⁷, der kan være ens eller forskellige, er som nævnt alkylgrupper, arylgrupper, fx fenyl; eller aralkylgrupper, fx benzyl. Foretrukne grupper R, R⁵, R⁶ og R⁷ er metyl og fenyl som i hexametyldisilazan [(Me₃Si)₂NH]. Særlig glat forløber reaktionen hvis der ifølge opfindelsen bruges et tri-(C₁₋₆-alkyl)-silylderivat af APA. Der kan bruges blandinger af silyleringsmidler til at silylere 6-APA, fx hexametyldisilazan og trimetylklorosilan.

Eksempler på passende silyleringsmidler er trimetylklorosilan, hexametyldisilazan, triætylklorosilan, triætylbromsilan, tri-n-propylklorosilan, brommetyl-dimetylklorosilan, tri-n-butyklorosilan, metyldiætylklorosilan, dimetylætylklorosilan, fenyldimetyl-bromsilan, benzylmetylætylklorosilan, fenylætylmetylklorosilan, tri-fenylklorosilan, tri-o-tolyklorosilan, tri-p-dimetylaminofenylklorosilan, N-ætyltriætylsilylamin, hexaætyldisilazan, trifenylsilylamin, tri-n-propylsilylamin, tetraætyldimetyldisilazan, tetrametyldiætyldisilazan, tetrametyldifenylidisilazan, hexafenylidisilazan, hexa-p-tolyldisilazan, N,O-bis-trimetylsilylacetamid, N-trimetylsilylacetamid, N-(trifenylsilyl)-ætylkarbamat, N-(triætylsilyl)-urinstof, N,N'-bis-(trimetylsilyl)-urinstof og N-metyl-N-trimetylsilylacetamid.

Hvor der bruges et silylhalogenid som silyleringsmiddel vil silyleringen i almindelighed blive gennemført i et inaktivt organisk opløsningsmiddel. Halogenerede kulbrinter og aromatiske kulbrinter er meget velegnede. Eksempler på sådanne opløsningsmidler er benzen, toluen, metylenklorid, ætylenklorid og kloroform. Silyleringen udføres i nærværelse af en nitrogenbase som fx triætylamin, dimetylamin eller trimetylamin, idet basen tjener som hydrogenhalogenidacceptor. Den anvendte mængde nitrogenbase er fortrinsvis i det væsentlige ækvivalent med den anvendte mængde silylhalogenid. Hvis der bruges en silazan som silyleringsmiddel udføres silyleringen hensigtsmæssigt ved opvarmning af silazanen og 6-APA med eller uden et inert opløsningsmiddel, så at ammoniak eller aminderivater dannet som biprodukter ved reaktionen afdestilleres. Hvis der bruges et silylamid eller silylurinstof som silyleringsmiddel, kan silyleringen udføres simpelt hen ved opvarmning af 6-APA og silyleringsmidlet i et inaktivt organisk opløsningsmiddel indtil der indtræder opløsning af 6-APA. Derefter kan

det resulterende silylerede derivat om ønsket isoleres, fx ved afdampning af opløsningsmidlet.

Ved en foretrukken udførelsesform for fremgangsmåden acyleres det silylerede 6-APA-derivat direkte i den opløsning, der er resultatet af silyleringen, uden nogen mellem-liggende fraskillelse. Silylering og acylering på denne måde gør den samlede proces særlig simpel og praktisk, da fx det at man undgår at udskifte opløsningsmidlet efter silyleringen væsentligt ned-sætter anlægskrav og driftomkostninger. Ved en sådan proces er det således simpelt hen nødvendigt efter silyleringen at regulere tem-peraturen og at tilsætte forbindelsen $R^1 \cdot \text{CONHR}^2$ (hvor R^1 og R^2 har de foran angivne betydninger) til opløsningen, regulere tempe-raturen og tilsætte acylkloridet. Det foretrækkes at omrøre reak-tionssystemet i det mindste under denne sidste tilsætning, og der kan bruges portionsvis tilsætning af acylkloridet.

Hvis der bruges overskud af en stærk base såsom triætylamin som hydrogenhalogenid-bindingsmiddel ved silyleringsreaktionen, er det muligt at neutralisere al tilbageværende stærk base før acyleringen af det silylerede 6-APA-derivat, da en sådan tilbage-værende stærk base ellers ville kunne blive skadelig. Al tilstede-værende stærk base kan neutraliseres ved tilsætning af et mineral-syresalt af en svag base (fx med en pKa på ikke over 7,0) til reak-tionssystemet før tilsætning af acylkloridet, fx acetamidhydro-klorid.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er særlig anvendelig ved fremstilling af ampicillin, 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre, enten som et hydrat såsom trihydratet eller i vandfri form, eller som et salt. Andre halvsyntetiske pe-nicillinantibiotika der kan fremstilles ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse er amoxycillin, cloxacillin, dicloxa-cillin, α -karboxybenzylpenicillinestere, oxacillin, fluorcloxacil-lin og metacillin.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen skal i det følgende for-klares nærmere under henvisning til nogle eksempler. I disse be-stemtes arten og renheden af slutprodukterne ved standardteknik, herunder polarimetri, spektrofotometri, jodometri, acidimetri og biologisk bestemmelse.

En beskrivelse af den spektrofotometriske metode der bruges

til bestemmelse af ampicillin kan findes i British Pharmacopoeia (1973, H.M.S.O) på side 30; en beskrivelse af den anvendte jodometriske metode findes i "Cephalosporins and Penicillins - Chemistry and Biology" af Ed. Flynn (Academic Press, 1972) side 613-614; en beskrivelse af den anvendte biologiske bestemmelsesteknik findes i British Pharmacopoeia (1973, H.M.S.O) på side 102-104 i appendixet; og en redegørelse for den acidimetrisk bestemmelse der bruges til bestemmelse af cloxacillin og dicloxacillin findes i British Pharmacopoeia (1973, H.M.S.O) på side 81. Vandindholdet bestemtes ved Karl Fischer analyse for cloxacillin og dicloxacillin og ved samme metode eller ved måling af vægttabet ved opvarmning til dannelsen af den vandfri forbindelse i tilfælde af ampicillintrihydrat.

Renheden af ampicillinprodukterne er angivet efter at der er blevet taget hensyn til vandindholdet (hydrat) i det vundne ampicillinprodukt.

I eksemplerne er den specifikke rotation af ampicillintrihydrat bestemt ved $c = 0,25\%$ opløsninger i vand og den specifikke rotation af dicloxacillin og cloxacillin ved $c = 1,0\%$ i vand, og alle bestemmelserne er udført ved 20°C .

Den specifikke rotation af vandfrit ampicillin er angivet som $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +280^{\circ}$ til $+300^{\circ}$ ($c = 0,25$ i vand) og den for cloxacillin som natriumsaltmonohydrat er angivet som $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +156^{\circ}$ til $+164^{\circ}$ ($c = 1$ i vand) i British Pharmacopoeia (1973 H.M.S.O.). Rotationen for dicloxacillin som natriumsaltmonohydrat er i 8. udgave af Merck Index angivet som $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +134^{\circ}$ ($c = 0,4$ i vand).

Eksempel 1

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre med acetamid som base.

52,9 ml (0,380 mol) triætylamin sættes under omrøring til en suspension af 43,2 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid. Suspensionens temperatur reguleredes til +15°C og der tilsattes i løbet af 5 minutter 53,0 ml (0,420 mol) trimetylklorosilan; ved fuldførelse af tilsætningen viste temperaturen sig at være mellem +35 og +40°C. Omrøringen fortsattes i yderligere 60 minutter ved 40°C. Suspensionen afkøledes til -25°C og der tilsattes 23,6 g (0,400 mol) acetamid og derpå 43,3 g (0,200 mol; renhed 95,0%) D(-)- α -fenylglycyklorid-hydroklorid. Man lod temperaturen stige til -5°C og opretholdt denne temperatur ialt i 90 minutter regnet fra tilsætningen af hydrokloridet af syrekloridet. Der tilsattes 450 ml vand. Ampicillintrihydrat udfældedes ved regulering af pH til 4,5 med fortyndet NH_4OH . Efter omrøring i 60 minutter ved 10-15°C filtreredes produktet og vaskedes derefter med 2 x 75 ml vand og 3 x 125 ml acetone hvorpå der tørredes ved 35-40°C til frembringelse af et hvidt, krystallinsk, lugtfrit pulver.

Udbytte: 83,5 $\pm$ 1%.

Rotation: +296° $\pm$ 1° (fundet fra en værdi på +256° $\pm$ 1° for den hydratiserede forbindelse).

Jodometrisk bestemmelse: 98,6 $\pm$ 0,5% renhed (ud fra en ampicillinrenhed på 85,4 $\pm$ 0,5% for den hydratiserede forbindelse).

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,5 $\pm$ 0,5% (fundet ud fra en ampicillinrenhed på 85,3 $\pm$ 0,5% for den hydratiserede forbindelse).

Biologisk bestemmelse: 98,8 $\pm$ 1,0% renhed (fundet ud fra en renhed på 85,6 $\pm$ 1,0% for den hydratiserede forbindelse).

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 2

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

48,9 ml (0,200 mol) N,O-bis-trimetylsilylacetamid sættes til en suspension af 43,2 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid under omrøring. Blandingen opvarmedes til 40°C i 120 minutter og afkøledes derefter til -25°C, hvorpå der tilsattes

11,8 g (0,200 mol) acetamid. Derefter fulgtes samme fremgangsmåde som beskrevet i eksempel 1 til dannelse af ampicillin-trihydrat i et udbytte på 80,8%.

Rotation: $+298^{\circ}$.

Spektrofotometrisk bestemmelse: 99,1%.

Vandindhold: 13,9%.

Eksempel 3

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med N-metylacetamid som base.

52,9 ml (0,380 mol) triætylamin sættes til en suspension af 43,2 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid under omrøring. Suspensionens temperatur reguleredes til $+15^{\circ}\text{C}$ og i løbet af en periode på 5 minutter tilsattes der 53,0 ml (0,420 mol) trimetylklorsilan. Efter tilsætningen var temperaturen mellem 35 og 40°C . Omrøringen fortsattes i yderligere 60 minutter ved 40°C . Suspensionen afkøledes til -25°C og der tilsattes 36,6 g (0,500 mol) N-metylacetamid, og derefter fulgtes samme fremgangsmåde som i eksempel 1. Der opnåedes et udbytte på 84,4%.

Rotation: 295° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,6%.

Vandindhold: 14,0%.

Eksempel 4

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med N-ætylacetamid som base.

52,9 ml (0,380 mol) triætylamin sættes til en suspension af 43,2 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid under omrøring. Suspensionens temperatur reguleredes til 15°C og der tilsattes 53,0 ml (0,420 mol) trimetylklorsilan i løbet af 5 minutter. Ved tilsætningens fuldførelse var blandingens temperatur mellem 35 og 40°C . Omrøringen fortsattes i yderligere 60 minutter ved 40°C . Derefter afkøledes suspensionen til -5°C og der tilsattes 34,8 g (0,400 mol) N-ætylacetamid hvorpå der fulgtes samme fremgangsmåde som beskrevet i eksempel 1, dog med den forskel at hydrokloridet af syrekloridet tilsattes ved -5°C og at reaktionstemperaturen var 0°C i 90 minutter.

Udbytte: 74,7%.

Spektrofotometrisk bestemmelse: 96,4%.

Rotation: $+293^{\circ}$.

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 5

Fremstilling af 6-[3-(2,6-diklorfenyl)-5-metyl-4-isoxazolkarboxamido]-2,2-dimetylpenam-3-karboxylat-natriummonohydrat (dicloxacillin-natriummonohydrat) med acetamid som base.

52,9 ml (0,380 mol) trietylamin sættes til en suspension af 43,3 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid under omrøring. Suspensionens temperatur reguleredes til $+15^{\circ}\text{C}$ og i løbet af 5 minutter tilsattes der 53,0 ml (0,420 mol) tri-metylklorosilan. Ved tilsætningens afslutning var temperaturen mellem 35 og 40°C . Omrøringen fortsattes i yderligere 60 minutter ved 40°C . Suspensionen afkøledes til -25°C og der tilsattes 23,6 g (0,400 mol) acetamid og derpå 58,1 g (0,200 mol) 3-(2,6-diklorfenyl)-5-metylisoxazolyl-4-karbonylklorid. Temperaturen fik lov til at stige til 0°C , og den holdtes på dette niveau i ialt 60 minutter regnet fra tilsætningen af syrekloridet. Derpå tilsattes der 175 ml metylisobutylketon og 300 ml vand; faserne adskiltes og den vandige fase kasseredes; den organiske fase vaskedes igen med 300 ml vand og den vandige fase kasseredes. Den organiske fase behandledes i 30 minutter med vandfrit natriumsulfat; tørremidlet frafiltreredes derpå og vaskedes med 175 ml metylisobutylketon, der efter fraskillelse forenedes med den organiske hovedfase. Monohydratet af natriumsaltet af dicloxacillin udfældedes derefter ved tilsætning til de forenede organiske faser af 200 ml 1 N opløsning af natrium-2-etylhexanoat i metylisobutylketon. Efter 30 minutters omrøring frafiltreredes det krystallinske hvide faste stof som derpå vaskedes med 3 x 150 ml acetone. Tørring skete i en vakuumovn ved $35-40^{\circ}\text{C}$.

Udbytte: 87,2%.

Acidimetrisk bestemmelse: 98,6% som natriumsalt-monohydrat.

Rotation: $+139^{\circ}$.

Vandindhold: 3,8%.

Eksempel 6

Fremstilling af 6-[3-(2-klorfenyl)-5-metyl-4-isoxazolkarboxamido]-2,2-dimetylpenam-3-karboxylat-natriummonohydrat med acetamid som base.

Der sættes 52,9 ml (0,380 mol) triætylamin til en suspension af 43,2 g (0,200 mol) 6-aminopenicillansyre i 350 ml metylenklorid under omrøring. Suspensionens temperatur reguleredes til +15°C og i løbet af 5 minutter tilsattes der 53,0 ml (0,420 mol) trimetylklorsilan. Ved tilsætningens slutning var temperaturen mellem 35 og 40°C. Omrøringen fortsattes i yderligere 60 minutter ved 40°C. Suspensionen afkøledes til -25°C, hvorpå der tilsattes 23,6 g (0,400 mol) acetamid og derefter 51,2 g (0,200 mol) 3-(2-klorfenyl)-5-metylisoxazolyl-4-karbonylchlorid. Temperaturen fik lov til at stige til 0°C og den holdtes på det niveau i en total periode på 60 minutter regnet fra tilsætningen af syrekloridet. Derefter tilsattes der 175 ml metylisobutylketon og 300 ml vand, og faserne adskiltes og den vandige fase kasseredes. Den organiske fase vaskedes atter med 300 ml vand og den vandige fase kasseredes. Den organiske fase tørredes i 30 minutter med vandfrit natriumsulfat. Sidstnævnte frafiltreredes derefter og vaskedes med 175 ml metylisobutylketon, der efter fraskillelse forenedes med den organiske hovedfase. Derpå udfældedes natriumcloxacillinmonohydrat ved tilsætning til de forenede organiske faser af 200 ml 1N opløsning af natrium-2-ætylhexanoat i metylisobutylketon. Efter 60 minutters omrøring filtreredes det krystallinske hvide fast stof, vaskedes med 3 x 150 ml acetone og tørredes i en vakuumovn ved 35-40°C.

Udbytte: 86,2%.

Acidimetrisk bestemmelse: 98,8% som natriumsalt-monohydrat.

Rotation: +163°.

Vandindhold: 3,9%.

Eksempel 7

Fremstilling af 6-[3-(2,6-diklorfenyl)-5-metyl-4-isoxazolkarboxamido]-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre (dicloxacillin) med acetamid som base.

53 ml (0,42 mol) trimetylklorsilan sættes langsomt i løbet

af 10 minutter ved $+10^{\circ}\text{C}$ til en blanding af 43,2 g (0,20 mol) 6-aminopenicillansyre, 350 ml metylenklorid og 53 ml (0,38 mol) triætylamin. Blandingen opvarmedes til omkring $35-40^{\circ}\text{C}$ i 1 time og afkøledes til -5°C , hvorpå der tilsattes 23,6 g (0,40 mol) acetamid. Efter 15 minutter afkøledes blandingen til -25°C og der tilsattes 58,0 g (0,20 mol) 3-(2,6-diklorfenyl)-5-metylisoxazolyl-4-karbonylklorid mens temperaturen holdtes under -10°C . Efter omrøring i 1 time ved 0°C tilsattes der 250 ml vand, blandingen adskiltes og den vaskedes på ny med 250 ml vand. Det organiske lag behandledes med tørremiddel og dicloxacillin udvandedes som natriumsalt-monohydratet ved tilsætning af en støkiometrisk mængde natrium-2-ætylhexanoat.

Udbytte: 80,6%.

Acidimetrisk bestemmelse: 96% som natriumsalt-monohydrat.

Rotation: $+134^{\circ}$.

Eksempel 8

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

53 ml (0,42 mol) trimetylklorosilan sættes langsomt i løbet af 10 minutter ved $+10^{\circ}\text{C}$ til en blanding af 43,2 g (0,20 mol) 6-aminopenicillansyre, 350 ml metylenklorid og 53 ml (0,38 mol) triætylamin. Blandingen opvarmedes til omkring $35-40^{\circ}\text{C}$ i 1 time og afkøledes derefter til -5°C , hvorpå der tilsattes 23,6 g (0,40 mol) acetamid. Efter 15 minutter tilsattes der 43,2 g (renhed 95%; 0,20 mol) D-(-)- α -fenylglycyklklorid-hydroklorid mens temperaturen holdtes under 0°C . Efter omrøring i 1,5 timer ved en temperatur mellem 0 og $+10^{\circ}\text{C}$ nedsattes temperaturen til 0°C og der tilsattes 450 ml vand. Ampicillin-trihydrat udfældedes ved regulering af pH til 4,5 med fortyndet NH_4OH ; det krystallinske produkt frafiltreredes, vaskedes med vand og acetone og tørredes derefter.

Udbytte: 80,3%.

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,9%.

Rotation: $+293^{\circ}$.

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 9

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-
3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

En blanding af 43,2 g (0,20 mol) 6-aminopenicillansyre, 350 ml metylenklorid og 25,0 g (0,155 mol) hexametyldisilazan opvarmedes under tilbagesvaling i 4 timer. Den uklare blanding afkøledes til -5°C hvorpå der tilsattes 23,6 g (0,40 mol) acetamid. Derefter fulgtes fremgangsmåden i eksempel 8 til fremstilling af ampicillin-trihydrat.

Udbytte 77,2%.

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,3%.

Rotation: $+292^{\circ}$.

Vandindhold: 13,5%.

Eksempel 10

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-
3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

Der blev gået frem som beskrevet i eksempel 8 med den forskel at der brugtes kloroform som opløsningsmiddel i stedet for metylenklorid.

Udbytte 76,0%.

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,0%.

Rotation: $+291^{\circ}$.

Vandindhold: 13,2%.

Eksempel 11

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-
3-karboxylsyre-trihydrat med N-metylurinstof som base.

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev gentaget med den forskel at der brugtes 22,2 g (0,300 mol) N-metylurinstof i stedet for acetamid. Der opnåedes et udbytte på 81,9%.

Rotation: 296° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,7%.

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 12

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med 1,3-dimetylurinstof som base.

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev fulgt med den forskel at der brugtes 52,9 g (0,600 mol) 1,3-dimetylurinstof i stedet for acetamid. Der opnåedes et udbytte på 84,1%.

Rotation: 296° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,3%.

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 13

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med 1,1-dimetylurinstof som base.

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev gentaget med den forskel at der brugtes 35,2 g (0,40 mol) 1,1-dimetylurinstof i stedet for acetamid, og at temperaturen efter at silyleringen var blevet gennemført kun nedsattes til -5°C , samt at hydrokloridet af syrekloridet tilsattes ved -5°C i stedet for -25°C . Acyleringen gennemførtes ved 0°C i 90 minutter. Der opnåedes et udbytte på 80,2%.

Rotation: 291° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 97,3%.

Vandindhold: 13,4%.

Eksempel 14

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev fulgt med den forskel at der brugtes frisk omkrystalliseret 6-aminopenicillansyre (renhed 98,1%). Der opnåedes et udbytte på 86,2%.

Rotation: 296° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,3%.

Vandindhold: 13,3%.

Eksempel 15

Fremstilling af 6-(D-2-amino-2-fenylacetamido)-2,2-dimetylpenam-
3-karboxylsyre-trihydrat med acetamid som base.

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev fulgt med den forskel at
der brugtes 6-aminopenicillansyre vundet ved enzymatisk spaltning
af penicillin G og med en renhed på 99,4%.

Rotation: 295° .

Spektrofotometrisk bestemmelse: 98,3%.

Vandindhold: 13,3%.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåde til fremstilling af et 6-acylaminopenicillansyreantibiotikum ved acylering af et mono- eller bis-silyleret derivat af 6-aminopenicillansyre med et syreklorid eller beskyttet syreklorid svarende til den ønskede 6-acylaminogruppe i et inaktivt organisk opløsningsmiddel i nærværelse af en hydrogenhalogenidacceptor, fraspaltning af silylgrupper og andre beskyttelsesgrupper i det resulterende produkt og udvinding af det ønskede penicillin-antibiotikum, k e n d e t e g n e t ved at der som hydrogenhalogenidacceptor bruges en forbindelse med den almene formel



I

hvor R^1 er en C_{1-6} -alkylgruppe eller aralkylgruppe eller en amino-gruppe substitueret med en eller to C_{1-6} -alkylgrupper og R^2 er et hydrogenatom eller en C_{1-6} -alkylgruppe eller aralkylgruppe.

2. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved at forbindelsen med formlen I er acetamid.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved at forbindelsen med formlen I bruges i en mængde på 1,0 til 4,0 gange den støkiometriske mængde i forhold til 6-APA.

4. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved at det anvendte silylerede 6-APA er et tri- $(C_{1-6}$ -alkyl)-silylderivat af 6-APA.

5. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved at det beskyttede syreklorid er D(-)- α -fenylglycylchlorid-hydroklorid og det udvundne penicillin-antibiotikum ampicillin eller et hydrat deraf.

Fremdragne publikationer: