



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 139862

(51) Int. Cl.² C 07 D 499/72

(21) Patentsøknad nr. 28/69
(22) Inngitt 03.01.69
(23) Løpedag 03.01.69

(41) Alment tilgjengelig fra 07.07.69
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 12.02.79

(30) Prioritet begjært 05.01.68, USA, nr. 695851, 695889, 695894, 695869,
695886, 695885, 695884

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte for fremstilling av nye,
terapeutisk aktive estere av α -karboksyfenyl-
acetylderivatet av 6-aminopenicillansyre.

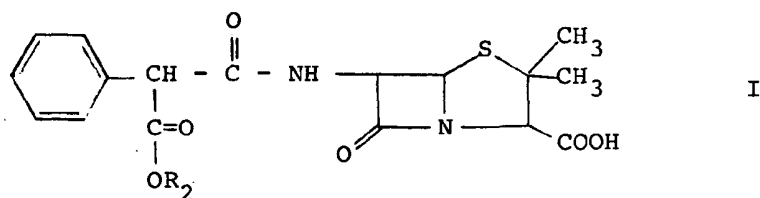
(71)(73) Søker/Patenthaver PFIZER INC.,
235 East 42nd Street,
New York 17, NY,
USA.

(72) Oppfinner KENNETH BUTLER, Waterford, New London, CT,
USA.

(74) Fullmektig Cand. mag. Johan H. Gørbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.
(56) Anførte publikasjoner Norsk (NO) alment tilgjengelig søknad
nr. 170322, 1443/68
Britisk (GB) patent nr. 1034874
Chem. Abstr. 64, 3547e (1966)

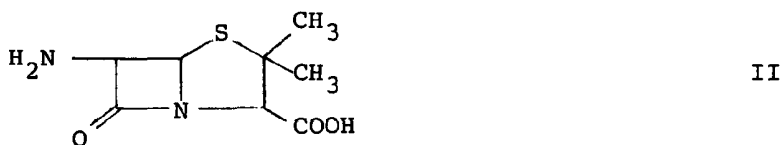
Denne oppfinnelse angår en analogifremgangsmåte for fremstilling av visse nye estere av α -karboksyfenylacetyl-derivatet av 6-aminopenicillansyre med særlig gode antibiotiske egenskaper, ved hvilken nye fenyلكarboksy-ketenestere anvendes som acyleringsmidler for acylering av 6-aminopenicillansyren.

I henhold til oppfinnelsen fremstilles således forbindelser med formelen

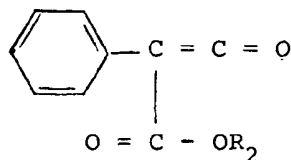


hvor R_2 er 2-isopropylfenyl, 4-indanyl eller 5-indanyl, eller farmasøytisk akseptable salter derav.

Fremgangsmåten karakteriseres ved at en forbindelse med formelen:



omsettes med en forbindelse med formelen:



III

hvor R_2 er som ovenfor angitt,
og eventuelt omdannes den fremstilte forbindelse til et salt derav.

De nye penicillinesterforbindelser har forbedret absorpsjon ved oral administrering sammenlignet med den absorpsjon man får for de tilsvarende frie syrer eller alkalimetallsalter. De representerer derfor en hensiktsmessig og effektiv doseringsform for α -karboksybenzylpenicillin.

Anvendelse av estere av α -karboksyfenylacetylderivatet av 6-aminopenicillansyre som antibiotikum er beskrevet i norsk patent 131.135. Forbindelsene som fremstilles ifølge foreliggende oppfinnelse, har imidlertid bedre egenskaper enn de der beskrevne forbindelser. Blant disse kjente forbindelser er fenyl- og substituerte fenylestere.

Forbindelsene med formel I kan omdannes til farmasøytisk akseptable salter. Salter så som natrium-, kalium-, kalsium-, magnesium-, ammonium- og substituerte ammoniumsalter, f.eks. salter med prokain, dibenzylamin, N,N'-dibenzyletylendiamin, N,N'-bis-(dehydroabietyl)etylendiamin, 1-efenamin, N-etylperidin, N-benzyl- β -fenetylamin, trialkylaminer, innbefattet trietylamin, så vel som salter med andre aminer som er anvendt til å danne salter med benzylpenicillin, er nyttige for fremstilling av farmasøytisk egnede preparater av disse verdifulle antibiotika.

Ketenestrene med formel III kan fåes fra fenylklor- (og -brom-) karbonylketener som kan fremstilles ved omsetning av en fenylmalonsyre med et halogeneringsmiddel valgt fra gruppen bestående av $P(X)_5$, $P(X)_3$, $PO(X)_3$ og $SO(X)_2$, hvor X er klor eller brom, ved temperaturer varierende fra ca. 0 til ca. 50°C i en tid varierende fra ca. 1 time til ca. 10 timer. Omsetningen utføres i nærvær av et oppløsningsmiddelsystem, fortrinnsvis et reaksjonsinert oppløsningsmiddel-system. Egnede oppløsningsmidler er dialkyletere, f.eks. dietyleter, dipropyleter, mono- og dimetyleter av etylenglykol og propylenglykol, metylenklorid og kloroform.

Reaksjonstiden er selvsagt avhengig av reaksjons-temperaturen og arten av de reagerende forbindelser. For en gitt kombinasjon av reagerende forbindelser krever imidlertid lavere temperaturer lengre reaksjonstid enn høyere temperaturer gjør.

Molforholdet mellom de reagerende forbindelser, dvs. fenylmalonsyre og halogeneringsmiddel, kan variere i stor utstrekning, f.eks. opptil 1:10 eller høyere, men bør for tilfredsstillende utbytter være minst støkiometrisk. Ved praktisk utførelse av fremgangsmåten foretrekkes støkiometrisk forhold mellom de reagerende forbindelser.

De reagerende forbindelser kan tilsettes alle på en gang eller separat. Hvis de tilsettes separat, er tilsetningsrekkefølgen ikke kritisk. Det ser imidlertid ut til at reaksjonen går glattere og er utsatt for færre bireaksjoner, som vises ved reaksjonsblandingens farve, særlig ved destillasjon, når fenylmalonsyren settes til halogeneringsmidlet. Reaksjonsblandingens farve skifter under slike betingelser vanligvis fra gul til rød. Ved den motsatte tilsetningsrekkefølge, dvs. tilsetning av halogeneringsmiddel til fenylmalonsyren, forandrer reaksjonsblandingens farve fra gul til sort.

Fenylhalogenkarbonylketen-produktene isoleres fra reaksjonsblandingens ved destillasjon i vakuum. På grunn av sin store reaktivitet lagres de generelt under en nitrogenatmosfære ved lave temperaturer og uten tilgang av lys.

Omsetningen av fenylhalogenkarbonylketener med alkoholer med formel R_2OH utføres med et molforhold på 1:1 ved en temperatur fra ca. -70 til ca. $30^{\circ}C$ når man ønsker omdannelse av fenylhalogenkarbonylketenet til en ketenester. Et reaksjonsinert oppløsningsmiddel, så som etyleter, metyleter, dioksan, metylenklorid eller kloroform, anvendes hensiktsmessig for å oppnå en bedre sammenblanding og kontroll av reaksjonsblandingens. Anvendelse av et høyere molforhold enn 1:1 av fenylhalogenkarbonylketen til alkohol, eller temperaturer over $30^{\circ}C$ gir malonsyrediestere. Et tertiært amin kan anvendes som syreakseptor for å fjerne hydrogenhalogenidet som dannes under dannelsen av esteren.

Acyleringen av 6-aminopenicillansyre utføres ved en temperatur på fra ca. -70 til ca. $50^{\circ}C$ og fortrinnsvis ved en temperatur på fra ca. 0 til ca. $30^{\circ}C$. Reaksjonstiden er generelt fra noen få minutter opp til ca. 5 timer. Et reaksjonsinert opp-

løsningsmiddel så som etylacetat, dioksan, tetrahydrofuran, metylisobutylketon, kloroform eller metylenklorid anvendes i almindelighet for å lette omrøringen og temperatur-reguleringen. Det er funnet særlig hensiktsmessig å først danne fenyلكarboksyketenesteren som ovenfor beskrevet og å anvende reaksjonsblandingen, uten isolering av ketenesteren direkte ved amin-acyleringsreaksjonen. I slike tilfeller benyttes en organisk base, dvs. et tertiært amin så som trietylamin eller annet trialkylamin, fortrinnsvis et tri(lavere alkyl)amin, for å fjerne hydrogenhalogenidet som dannes ved fremstillingen av ketenesteren. I praksis anvendes hensiktsmessig 6-amino-penicillansyren som sitt trietylaminsalt. Av denne grunn er metylenklorid et foretrukket oppløsningsmiddel ettersom trietylaminsaltet er lett oppløselig deri. Natrium- eller kalsiumsaltene av 6-amino-penicillansyre kan også anvendes, men det foretrukne salt er trietylaminsaltet på grunn av dets høyere oppløselighet i de anvendte oppløsningsmiddelsystemer. Et overskudd av aminet som acyleres, kan selvsagt anvendes som syreakseptor, men dette unngås i almindelighet, ikke bare av økonomiske grunner, men også for å hindre eventuell ammonolyse av estergruppen. Omsetningen utføres hensiktsmessig under en atmosfære av nitrogen.

N-acyleringsreaksjonen kan også utføres i nøytral eller alkalisk, vandig oppløsning ved å utnytte den lavere reaksjonshastighet for fenyلكarboksyketenestrene med vann ved nøytrale eller alkaliske pH-verdier, i forhold til reaksjonshastigheten med aminogruppen. Omsetningen utføres ved temperaturer som varierer fra like over frysepunktet for det vandige system til ca. 50°C og fortrinnsvis ved fra 0 til ca. 20°C. For å tillate anvendelse av lave temperaturer og for å lette omsetningen, er det hensiktsmessig å anvende et blandet oppløsningsmiddelsystem, dvs. vann pluss et vannblandbart, reaksjonsinert organisk oppløsningsmiddel så som dioksan eller tetrahydrofuran. Ketenesteren anvendes selvsagt hensiktsmessig som en oppløsning i det samme reaksjonsinerte oppløsningsmiddel og settes fortrinnsvis til den vandige oppløsning av 6-amino-penicillansyren.

De acylerte produkter isoleres på vanlig måte. En typisk metode omfatter f.eks. inndampning av reaksjonsblandingen til tørrhet under redusert trykk, oppløsning av residuet i citratbuffer (pH 5,5) og ekstrahering av produktet derfra med kloroform. Kloroformekstraktene vaskes med citratbuffer (pH 5,5), tørres med

vannfritt natriumsulfat og inndampes til tørrhet. Ved en annen metode som er verdifull for isolering av acyleringsprodukter som er lite oppløselige i metylenklorid eller kloroform, følges den ovennevnte metode, men under anvendelse av n-butanol som ekstraheringsmiddel i stedet for kloroform. Produktet som er tilbake etter fjernelse av n-butanol-oppløsningsmidlet ved inndampning, utgns med eter for å gi et amorft, fast stoff.

Ved en ytterligere metode, som hovedsakelig er en variasjon av de ovennevnte metoder, anvendes mettet natriumbikarbonat (eller kaliumbikarbonat) i stedet for citratbufferen. Ved denne metode dannes selvsagt natrium- (eller kalium-) saltet av acyleringsproduktet. For å oppnå et fast produkt utgns saltet eventuelt med eter.

Ved en ytterligere metode opptas residuet som er tilbake etter fjernelse av de flyktige stoffer fra reaksjonsblandingen, i vann ved pH fra ca. 2,3 til 2,9, vanligvis ca. pH 2,7, og den frie syreform av acyleringsproduktet ekstraheres fra syreoppløsningen med kloroform, eter, n-butanol eller et annet egnet oppløsningsmiddel. Kloroform-, eter- eller n-butanol-ekstrakten vaskes derefter med vandig syre (pH 2,3-2,9), og produktet utvinnes ved lyofilisering eller ved omdannelse til et oppløsningsmiddel-uoppløselig salt, f.eks. ved nøytralisering med en n-butanol-oppløsning av natrium- eller kalium-2-etyl-heksanoat.

De verdifulle produkter fremstilt i henhold til oppfinnelsen er bemerkelsesverdig effektive til behandling av en rekke følsomme grampositive og gramnegative infeksjoner hos dyr, innbefattet mennesker. For dette formål kan de rene materialer eller blandinger derav med andre antibiotika anvendes. De kan administreres alene eller sammen med en farmasøytisk bærer valgt på grunnlag av den ønskede administrasjonsvei og standard farmasøytisk praksis. F.eks. kan de administreres oralt i form av tabletter inneholdende slike eksipienser som stivelse, melkesukker, visse typer leire osv., eller i kapsler alene eller blandet med de samme eller likeverdige eksipienser. De kan også administreres oralt i form av eliksirer eller orale suspensjoner som inneholder smaks- eller farvemidler, eller de kan injiseres parenteralt, dvs. f.eks. intramuskulært eller subkutant. For parenteral administrering anvendes de best i form av en steril oppløsning som enten kan være vandig, så som vann, isotonisk saltvann, isotonisk dekstrose eller Ringers oppløsning, eller

ikke-vandig så som fete oljer av vegetabilsk opprinnelse (bomullsfrø, jordnøttolje, mais, sesam) og andre ikke-vandige bæremidler som ikke vil innvirke på den terapeutiske virkning av preparatet og som er ugiftig i det anvendte volum eller mengdeforhold (glycerol, propylenglykol, sorbitol). Dessuten kan man hensiktsmessig lage preparater som er egnet til fremstilling av oppløsninger umiddelbart før administrering. Slike preparater kan inneholde flytende fortynningsmidler, f.eks. propylenglykol, dietylkarbonat, glycerol, sorbitol osv.; buffermidler, så vel som lokalbedøvelsesmidler og uorganiske salter for å oppnå ønskede farmakologiske egenskaper.

De orale og parenterale doser for de her beskrevne forbindelser er generelt i størrelsesorden henholdsvis opptil 200 mg/kg og 100 mg/kg kroppsvekt pr. dag.

De antimikrobielle spektra for estrene fremstilt ifølge oppfinnelsen og kjente estere av α -karboksybenzyl-penicillin overfor *Staphylococcus aureus* og *Escherichia coli* 5 er angitt i det følgende. Forsøkene ble utført under standardbetingelser ved hvilke næringsbuljong inneholdende forskjellige konsentrasjoner av prøvematerialet ble podet med den angitte organisme, og minimum hemmende konsentrasjon ved hvilken vekst av hver organisme ikke fant sted, ble observert og nedtegnet. Prøvematerialene med de følgende formler ble undersøkt i form av sine natrium- eller kaliumsalter. Benzylpenicillin (K-salt) ga ved slik prøvning verdier på 0,156 og >100 overfor henholdsvis *S. aureus* og *Escherichia coli*.

Tabell I - In vitro spektra

<u>R₂</u>	<u>S. aureus</u>	<u>E. coli</u>
4-indanyl	0,39	6,25
5-indanyl	0,39	6,25
o-isopropylfenyl	0,39	12,5
Sammenligningsforbindelser kjent fra NP 131.135:		
fenyl	3,12	25
p-metylfenyl	0,39	6,25

Tabell II angir in vivo data for kjente estere og forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen i mus (PO = oral og SK = subkutan administrering). Verdiene er oppnådd under standardiserte betingelser. Fremgangsmåten omfatter at det frembringes en akutt eksperimentell E. coli 266 infeksjon hos mus ved intraperitoneal injisering i musene med en standardisert (10^{-6}) E. coli 266 kultur suspendert i 5% maveslim fra svin. Prøveforbindelsene, i form av sine natrium- eller kaliumsalter, administreres til de infiserte mus ved hjelp av en kur bestående av flere doser, hvor den første dose gis en halv time etter injiseringen og gjentas 4, 24 og 48 timer senere. Prosent overlevende mus bestemmes derefter.

LD₁₀₀ for E. coli 266 (den laveste konsentrasjon som er nødvendig for å gi 100% dødelighet hos mus) er 10^{-7} . Kontrolldyr ble injisert med mengder som ga konsentrasjoner på 10^{-5} , 10^{-6} og 10^{-7} som en kontroll på mulig variasjon i ondartethet som kan forekomme.

Tabell II. In vivo data overfor E. coli 266 hos mus

<u>R₂</u>	Prosent overlevende			
	<u>PO (mg/kg)</u>		<u>SK (mg/kg)</u>	
	<u>200</u>	<u>100</u>	<u>200</u>	<u>100</u>
5-indanyl	100	60	70	60
5-indanyl (TEA-salt)	100	70	100	100
5-indanyl (NEP-salt)	100	70	100	100
4-indanyl	80	50	80	40
o-isopropylfenyl	90	60	50	50
Sammenligningsforbindelser kjent fra NP 131.135:				
fenyl	0	0	10	0
p-tolyl	30	20	20	20

NEP = N-etylpiiperidin

TEA = trietylamin

Den følgende tabell angir sammenlignende PD₅₀-verdier (den dose som vil bevirke at ca. 50% av prøvedyrene overlever) for kjente forbindelser, og for forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen, i mus (PO = oral og SK = subkutan administrering).

Verdiene er oppnådd under standardiserte betingelser. Metoden omfatter frembringelse av en akutt eksperimentell *E. coli* 266 infeksjon i mus ved intraperitoneal innpodning i musene med en standardisert (10^{-6}) *E. coli* 266 kultur suspendert i 5% maveslimhinne fra svin. Prøveforbindelsene, i form av natrium- eller kaliumsaltene administreres til de infiserte mus ved flere gangers administrering, hvor den første dose gis en halv time etter innpodning og gjentas 4, 24 og 48 timer senere.

De mus som overlever etter den siste behandling, holdes i ytterligere fire dager, og % overlevende bestemmes så. De således oppnådde verdier overføres til såkalte "probits" (Se Dorland's "Illustrated Medical Dictionary", M.B. Saunders Co., London, 23. utgave, 1957, s. 1106 og 833), og PD_{50} -verdien beregnes. De følgende verdier oppnås således:

Sammenlignende PD_{50} -verdier for flere estere av α -karboksybenzylpenicillin overfor *E. coli*.

<u>R₂</u>	<u>PD₅₀ (mg/kg)</u>	
	<u>PO</u>	<u>SK</u>
Sammenligningsforbindelser fra N.P. 131.135:		
fenyl	66	20
4-metylfenyl	32	48
Ifølge oppfinnelsen:		
2-isopropylfenyl	20	17
4-indanyl	20	27
5-indanyl ^(a)	38	20

(a) kaliumsalt undersøkt

Toksisitetsdata er erholdt for 5-indanyl- og 2-isopropylfenyl-estrene av α -karboksybenzylpenicillin.

Toksisiteten av 5-indanyl-esteren er oppsummert nedenfor. Den akutte orale LD_{50} i voksne Albino-rotter er 4000 mg/kg. I nyfødte rotter er den 650 mg/kg. Det ble funnet at den tolereres godt av hann- og hunnrotter i doser på 1000, 500 og 250 mg/kg/dag i 90 dager. Ingen patologiske forandringer med tilknytning til legemidlet ble iaktatt hos rotter som ble avlivet etter 6, 12 og 18 måneder.

Indanyl-esteren ble godt tolerert og ga ingen skadelige virkninger i Beagle-hunder ved oral administrering i en dose på 100 mg/kg/dag i 7 dager. Etter 90 dagers administrering tolereres den godt av hann- og hunn-Beagle-hunder i mengder på 500 og 250 mg/kg/dag. Beagle-hunder, hanner og hunner, som daglig i et år ble gitt orale doser av indanylesteren i et citrat-tablett-preparat i doser svarende til 750, 500 og 250 mg/kg/dag av α -karboksybenzylpenicillin, oppviste ingen skadelige legemiddel-tilknyttede toksikologiske eller histopatologiske virkninger, bortsett fra en noe langsommere kroppsvekt-økning og sporadiske brekninger ved dosemengdene på 750 og 500 mg/kg/dag.

Ved en serie av formerings- og teratologiske undersøkelser kunne ingen legemiddel-tilknyttede teratogene virkninger under graviditet forbindes med tilførsel av indanylesteren i dose-mengder på 1000 eller 500 mg/kg hos rotter, 200 mg/kg hos mus eller 750 eller 500 mg/kg hos aper. Ingen virkning på den generelle formeringsevne eller melkedannelse hos rotter ble iaktatt.

På grunnlag av de foretatte undersøkelser er det klart at daglig oral administrering av 5-indanylesteren til hunder eller rotter i 12 til 18 måneder ikke frembringer noen betydelig systemisk toksisitet. Disse undersøkelser viser også at Rhesus-aper tolererer høye doser i 5 til 16 dager uten åpenbare toksisitetsreaksjoner. I tillegg viste katter, som er kjent for å ha begrenset evne til å konjugere fenoliske stoffer, ingen tegn på skade etter behandling daglig i 18 dager.

De tydelige funn som gjøres ved sikkerhetsundersøkelsene i samband med eventuelle kroniske virkninger på hunder og rotter, kan oppsummeres som følger:

Hos hunder gir daglig oral administrering av 5-indanyl-esteren i dosemengder på 250, 500 eller 750 mg/kg/dag i 12 måneder ingen toksiske virkninger. Det var ingen slående forskjeller eller dose-tilknyttede tendenser med hensyn til kroppsvektøkning, oppførsel eller utseende. Dessuten var det ingen vesentlige variasjoner i hematologiske eller klinisk kjemiske verdier eller urinsammensetning, og ingen legemiddel-tilknyttede, lett synlige eller histopatologiske funn.

Hos rotter gir føring med forbindelsen i perioder opptil 18 måneder i doser på 250, 500 eller 750 mg/kg/dag ingen systemisk toksisitet. De nedtegnede kliniske parametre er innenfor de normale variasjonsgrensene for rotter ved alle doser. Ved slutten

av 18 måneder oppviste flere dyr ved hvert dosenivå histologisk celledeling i gallegangen, som med en enkelt unntagelse var av fokal natur. Det kunne ikke iakttas noen leverforandringer ved 6 eller 12 måneder, og heller ikke kunne det sees noen lett synlige eller histopatologiske forandringer på noe nivå. Som angitt ovenfor ga undersøkelser av hunder ikke tilsvarende funn, hvilket støtter den konklusjon at den påviste levervirkning kan være arts-spesifikk og/eller en funksjon av langvarig administrering av midlet. Uansett hva etiologien ved forandringen i gallegangen er, er det ingen grunn til å anta at leverforandringene som iakttas hos rotter, er tegn på en hepatotoksisk fare ved klinisk rutinebruk.

Det skal understrekes at undersøkelser av kroniske virkninger hos rotter og hunder viser at 5-indanylesteren ikke har noen skadelig virkning på formeringsorganene.

Ingen legemiddel-tilknyttede teratogene virkninger viste seg i avkommene etter rotter, aper, mus eller kaniner som ble behandlet under organogenesen.

Den akutte orale LD_{50} for 2-isopropylfenylesteren i mus er 2830 mg/kg, og hos rotter er den >2000 mg/kg og >500 mg/kg hos hunder. Intravenøs LD_{50} hos mus og rotter er henholdsvis 210 og 195 mg/kg.

En 90 dagers undersøkelse av Albino-rotter som via føret ble dosert med 2-isopropylfenylesteren i dosemengder på 1000, 500 og 250 mg/kg/dag, viste ingen legemiddel-tilknyttede forandringer i patologien. I hann- og hunn-Beagle hunder som ble gitt orale doser av denne ester i mengder på 500 og 250 mg/kg i 90 dager, ble alle parametere vurdert til å være innenfor de normale områder.

Eksempel 1

Følgende eksempel viser fremstilling av ketenestrene og acylering av 6-aminopenicillansyre

Til en oppløsning av fenyhalogenkarbonylketen (0,1 mol) i metylenklorid (tilstrekkelig til å gi en klar oppløsning og vanligvis fra ca. 5 til 10 ml pr. gram keten), settes den passende alkohol R_2OH (0,1 mol). Reaksjonsblandingen holdes under en atmosfære av nitrogen og omrøres i en periode på fra 20 minutter til 3 timer, idet man er omhyggelig med å holde fuktighet unna. Temperaturen kan variere fra ca. -70 til ca. $-20^{\circ}C$. Det infrarøde spektrum av blandingen blir derefter tatt for å bestemme og bekrefte

tilstedeværelsen av ketenesteren. En oppløsning av 6-amino-penicillansyre-trietylaminsalt (0,1 mol) i metylenklorid (50 ml) tilsettes, og blandingen omrøres ved -70 til -20°C i 10 minutter. Kjølebadet fjernes derefter, og reaksjonsblandingen omrøres kontinuerlig og blir oppvarmet til romtemperatur. Produktet isoleres ved en av de følgende metoder.

Metode A. Reaksjonsblandingen inndampes til tørrhet under redusert trykk, og residuet opptas i citratbuffer (pH 5,5). Produktet ekstraheres fra bufferoppløsningen med kloroform. Kloroform-ekstrakten vaskes med citratbuffer (pH 5,5), tørres derefter med vannfritt natriumsulfat og inndampes til tørrhet for å gi natriumsaltet.

Metode B. Fremgangsmåten ifølge metode A følges, men under anvendelse av n-butanol som ekstraherende oppløsningsmiddel i stedet for kloroform. Produktet erholdt etter avdampning av n-butanol-oppløsningsmidlet utgns med eter for å gi et amorft, fast stoff.

Metode C. Denne metode, en variasjon av metode A, benytter en mettett, vandig oppløsning av natrium- (eller kalium-) bikarbonat i stedet for citratbuffer for å danne natrium- (eller kalium-) saltet av penicillinproduktet. Den anvendes vanligvis for utvinning av de penicillinprodukter som er lite oppløselige i metylenklorid eller kloroform.

Metode D. Reaksjonsblandingen ekstraheres to ganger med mettett, vandig natrium- eller kalium-bikarbonat, vaskes med vann, tørres og inndampes til tørrhet for å gi natrium- (eller kalium-) saltet. Hvis produktet ikke er et fast stoff, utgns det med eter.

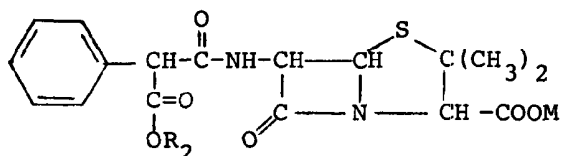
Metode E. Denne metode, en modifikasjon av metode D, anvendes for de penicilliner som er lite oppløselige i metylenklorid. Natrium- (eller kalium-) bikarbonatoppløsningen (metode D) ekstraheres med n-butanol, butanolekstrakten tørres og inndampes til tørrhet.

Metode F. Denne metode anvendes for isolering av den frie syreform av penicillinene. Residuet som er tilbake etter inndampning av reaksjonsblandingen til tørrhet, opptas i vandig syre, f.eks. HCl, ved pH 2,7, og produktet ekstraheres derfra ved hjelp av n-butanol. Butanolekstrakten vaskes med vandig syre (pH 2,7) og lyofiliseres derefter.

Metode F-1. Butanolekstrakten fra metode F nøytraliseres med en n-butanoloppløsning av kalium-2-etylheksanoat for å utfelle kaliumsaltet av penicillinet.

De frie syrer omdannes til sine kalsium-, magnesium-, ammonium-, prokain-, N,N'-dibenzyletylendiamin-, N-etylpiperidin-, dibenzylamin-, l-efenamin-, trietylamin-, N-benzyl- β -fenetylamin-, N,N'-bis(dehydroabietyl)etylendiamin- og benzhydrylamin-salter ved omsetning av vandige oppløsninger derav med en ekvivalent av den passende base. Saltene utvinnes ved frysetørring.

De erholdte 2-isopropylfenyl-, 4-indanyl- eller 5-indanyl-estere med formelen:



har følgende smeltepunkter for salter.

<u>R₂</u>	<u>M</u>	<u>Smp. (°C)</u>
5-indanyl	morfolin	116-117
5-indanyl	N-etylpiperidin	139-141
5-indanyl	trietylamin	141-143
o-isopropylfenyl	kalium	193 (spaltn.)
4-indanyl	N-etylpiperidin	136-139

Infrarøde og kromatografiske data

<u>R₂</u>	<u>I.R.</u>	<u>R_f</u>
5-indanyl ⁺ (kaliumsalt)	3,36, 3,51, 5,63, 5,97, 6,21 6,63, 6,71, 6,78, 7,14	
5-indanyl ⁺	2,95, 3,35, 5,55, 5,7, 5,9, 6,2, 6,7, 6,8, 6,9, 7,15	1,0 ^(c)
5-indanyl ⁺ (TEA-salt)	2,95, 3,35, 5,62, 5,95, 6,20 6,72, 6,85, 7,15	
5-indanyl (morfolinsalt)	2,95, 3,4, 3,45, 4,1 (sv), 5,6, 5,73, 5,9 (sk), 5,95, 6,2, 6,72, 6,85, 7,25	
5-indanyl ⁺ (NEP-salt)	2,95, 4,5, 5,6, 5,7, 5,92, 6,18	
o-isopropylfenyl ⁺	3,05, 5,65, 5,75, 5,97, 6,27, 6,65	0,8 ^(d)

<u>R₂</u>	<u>I.R.</u>	<u>R_f</u>
o-isopropylfenyl (kaliumsalt)	3,0, 5,65, 5,72, 5,93, 6,23	
4-indanyl ⁺	2,95, 3,35, 5,55, 5,70, 5,90 6,20, 6,27, 6,67, 6,80, 7,15	
4-indanyl (NEP-salt)	2,95, 3,10, 3,35, 5,60, 5,90 6,17, 6,45, 6,75, 7,15	0,9 ^(d)

⁺Infrarøde kurver kjørt i kloroform. Alle andre i KBr-pellets.

Kromatografiske systemer:

(c) butanol:vann:eddiksyre (5:4:1)

(d) isoamylacetat:natriumacetat (0,1M, pH 4,5).

Eksempel 2

Fremstilling av 2-isopropylfenyl-esteren av fenylkarboksyketen: En oppløsning av fenylklorkarbonylketen i tørr metylenklorid (90 ml) avkjøles til -60°C, og 2-isopropylfenol (1,51 g) i 10 ml metylenklorid (tørr) tilsettes. Blandingen omrøres ved -60°C i 15 minutter, og derefter tilsettes trietylamin (1,54 ml) i 10 ml metylenklorid. Blandingen omrøres i ytterligere 20 minutter ved -60°C. Tilstedeværelsen av 2-isopropylfenylesteren bekreftes av det infrarøde spektrum.

Acylering av 6-APA: Til den ovenfor angitte reaksjonsblanding settes en oppløsning av trietylaminsaltet av 6-APA (fremstilt fra 2,4 g 6-APA og 3,08 ml trietylamin) i 100 ml tørr metylenklorid. Reaksjonsblandingen omrøres ved -60°C i 15 minutter, og derefter fjernes kjølebadet, og blandingen får nå romtemperatur. Metylenklorid (50 ml) tilsettes, og den resulterende blanding vaskes to ganger med pH 5,5 buffer og en gang med vann. Den tørres derefter over magnesiumsulfat og inndampes til tørrhet under redusert trykk. Residuet oppslemmes tre ganger med eter og inndampes til tørrhet for å gi 1,45 g av 2-isopropylfenyl-esteren av α-karboksybenzylpenicillin.

Eksempel 3

Fremstilling av 4-indanyl-esteren av fenylkarboksyketen: En oppløsning av fenylklorkarbonylketen i tørr metylenklorid (40 ml) avkjøles til -60°C og 4-indanol (1,49 g) i 10 ml metylenklorid (tørr) tilsettes. Blandingen omrøres ved -60°C i 15 minutter, og derefter tilsettes trietylamin (1,54 ml) i 10 ml metylenklorid. Blandingen omrøres i ytterligere 20 minutter ved

139862

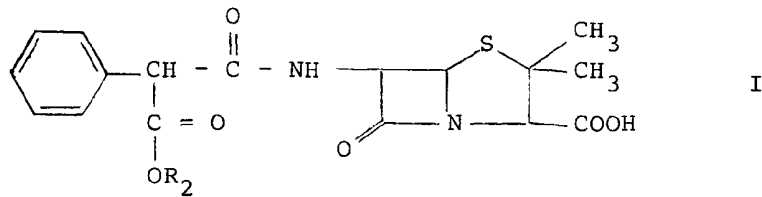
14

-60°C. Tilstedeværelsen av 4-indanyl-esteren bekreftes av det infrarøde spektrum.

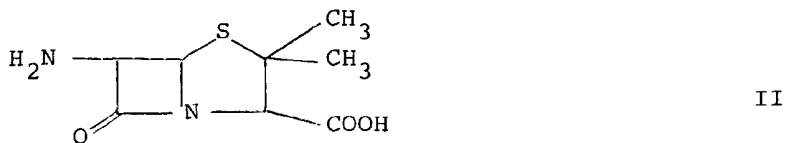
Acylering av 6-APA: Til den ovenfor angitte reaksjonsblanding settes en oppløsning av trietylaminsaltet av 6-APA (fremstilt fra 2,4 g 6-APA og 3,08 ml trietylamin) i 100 ml tørr metylenklorid. Reaksjonsblandingen omrøres ved -60°C i 15 minutter, og derefter fjernes kjølebadet, og blandingen får nå romtemperatur. Metylenklorid (50 ml) tilsettes, og den resulterende blanding vaskes to ganger med pH 5,5 buffer og en gang med vann. Den tørres derefter over magnesiumsulfat og inndampes til tørrhet under redusert trykk. Residuet oppslemmes tre ganger med eter og inndampes til tørrhet for å gi 1,70 g av 4-indanyl-esteren av α -karboksybenzylpenicillin.

P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk aktive penicilliner med formelen:



hvor R_2 er 2-isopropylfenyl, 4-indanyl eller 5-indanyl, eller farmasøytisk akseptable salter derav, karakterisert ved at en forbindelse med formelen:



omsettes med en forbindelse med formelen:



hvor R_2 er som ovenfor angitt, og eventuelt omdannes den fremstilte forbindelse til et salt derav.