

(12) PATENTCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 228/92
(22) Anmeldetag: 11. 2.1992
(42) Beginn der Patentedauer: 15.10.1993
(45) Ausgabetag: 27. 6.1994

(51) Int.Cl.⁵ : C07C 233/47

(56) Entgegenhaltungen:

CHEM. ABSTRACT 109, 73 862M

(73) Patentinhaber:

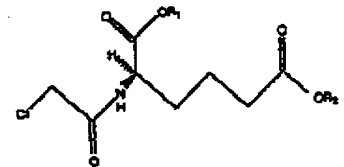
BIOCHEMIE GESELLSCHAFT M.B.H.
A-6250 KUNDL, TIROL (AT).

(72) Erfinder:

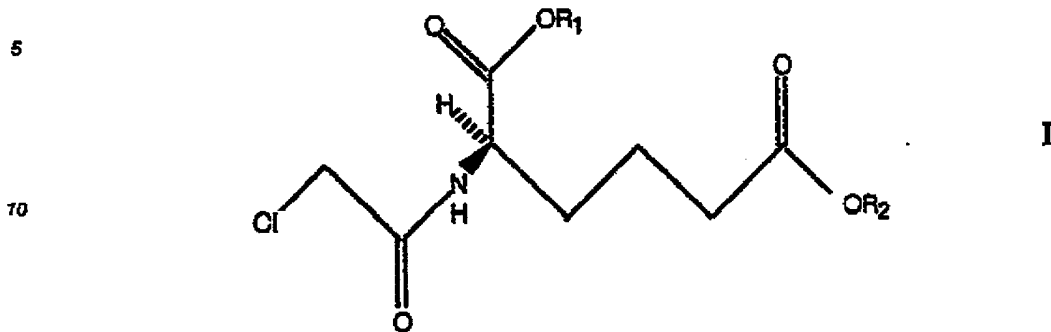
ASCHER GERD DR.
KUNDL, TIROL (AT).
DANKLMAIER JOHANN DR.
VOMP, TIROL (AT).

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG UND ISOLIERUNG VON D-ALPHA-AMINOADIPINSÄURE-OMEGA-ESTERN AUS CEPHALOSPORIN C-SPALTLÖSUNGEN

(57) Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Isolierung von D-alpha-Amino adipinsäure-omega-estern aus Cephalosporin C-Spaltlösungen in Form des N-Chloracetylderivates I, worin R₁ für Wasserstoff, einen Stickstoffrest der Formel HN⁺(R₃)₂, wobei die Substituenten R₃ gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, eine gegebenenfalls substituierte niedere Alkyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppe stehen oder zwei der Substituenten R₃ gemeinsam mit dem Stickstoffatom einen Ring bilden, für ein Amidinium- oder Guanidiniumsalz und R₂ für eine niedere Alkylgruppe stehen, dadurch gekennzeichnet, daß man die nach der Spaltung von Cephalosporin C erhaltene 7-Aminocephalosporansäure isoliert, das dabei erhaltene Filtrat, welches den D-alpha-Amino adipinsäure-omega-R₂-ester enthält, weitgehend vom Alkohol befreit, mit Chloracetylchlorid umsetzt.



Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Isolierung von D- α -Aminoadipinsäure- ω -estern aus Cephalosporin C-Spaltlösungen in Form des N-Chloracetylderivates der Formel



20

25

worin R_1 für Wasserstoff, einen Stickstoffrest der Formel $\text{HN}^+(\text{R}_3)_2$, wobei die Substituenten R_3 gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, eine gegebenenfalls substituierte niedere Alkyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppe stehen oder zwei der Substituenten R_3 gemeinsam mit dem Stickstoffatom einen Ring bilden, für ein Amidinium- oder ein Guanidiniumsalz und R_2 für eine niedere Alkylgruppe stehen. Die

30 Alkylgruppen können linear oder verzweigt sein und besitzen vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome, insbesondere bedeuten sie Methyl oder Ethyl, die gegebenenfalls substituiert sein können, beispielsweise durch Cycloalkyl oder Aryl. Cycloalkyl- und Arylgruppen können unsubstituiert oder substituiert sein, beispielsweise durch Alkyl oder Alkoxy. Cycloalkylgruppen besitzen vorzugsweise 5 oder 6 Ringglieder und bedeuten insbesondere Cyclohexyl, das gegebenenfalls substituiert sein kann, beispielsweise durch niederes

35 Alkyl oder Alkoxy. Arylgruppen bedeuten vorzugsweise Phenyl oder Pyridin, die gegebenenfalls substituiert sein können, beispielsweise durch niederes Alkyl oder Alkoxy. R_1 kann beispielsweise N-Cyclohexylmethylammonium, durch Alkylgruppe(n) substituiertes Pyridinium oder ein annelliertes Pyridinium bedeuten. Wenn R_1 ein Amidiniumsalz bedeutet, so kann es beispielsweise für 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en, wenn R_1 ein Guanidiniumsalz bedeutet, für Tetramethylguanidinium stehen.

Die Verbindungen der Formel I sind unnatürliche, synthetisch schwer zugängliche Aminosäuren (siehe z.B. D.H.R. Barton et al. Tetrahedron 43, 4297 (1987)), wobei zwei der drei funktionellen Gruppen selektiv geschützt sind und die so als chirales Synthon für organische Synthesen vielfältig eingesetzt werden können. So wurde D- α -Aminoadipinsäure, wie in DE-OS 34 21 614 beschrieben, als Baustein biologisch aktiver Peptide verwendet. Die Verbindungen der Formel I können auch als Ausgangsmaterial von

40 pharmakologisch interessanten Verbindungen, wie chiralen Piperidin(on)-Derivaten eingesetzt werden, die bisher nur über mühevollen Razemattrennung erhalten werden konnten (vgl. z.B. DE-OS 26 40 674).

Wie in der Literatur schon länger bekannt (z.B. DE-PS 17 70 980), gelingt es auf einfache Weise, die D- α -Aminoadipoylseitenkette von Cephalosporin C durch vorherige Bildung des Silylesters des Cephalosporin C, Behandlung mit Phosphorpentachlorid, Umsetzung mit einem Alkohol und nachfolgende Hydrolyse

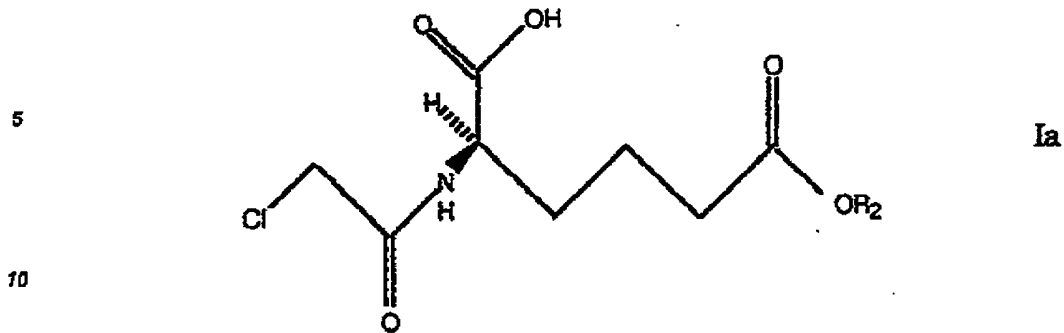
45 abzuspalten. Man erhält dadurch die 7-Aminocephalosporansäure (7-ACA) und den D- α -Aminoadipinsäure- ω - R_2 -ester, wobei R_2 von der Art des bei der Spaltung verwendeten Alkohols abhängt. Nach Kristallisation und Isolierung der 7-ACA bleibt der D- α -Aminoadipinsäure- ω - R_2 -ester im Filtrat und wird in technischen Prozessen meist verworfen. Durch das hier beschriebene neue Verfahren kann die D- α -Aminoadipoylseitenkette in guter Ausbeute und Reinheit einfach und kostengünstig aus dem Filtrat der Cephalosporin C-

50 Spaltlösung gewonnen werden.

In der Literatur (C. Sklavounos, Organic Preparations and Procedures, 16 (3-4), 165-169 (1984)) ist ein Verfahren beschrieben, bei dem der nach der Cephalosporin C-Spaltung freigesetzte D- α -Aminoadipinsäure- ω -methylester zum entsprechenden Lactam zyklisiert und in Form der D-6-Oxo-piperidin-2-carbonsäure (OPC) isoliert wird. Dabei sind jedoch lange Reaktionszeiten zur Zyklisierung notwendig. Auch ist die

55 Gewinnung von OPC aufgrund der noch immer guten Wasserlöslichkeit beschwerlich und für eine Durchführung im technischen Maßstab nicht geeignet. Durch saure Hydrolyse von OPC wird daraus D- α -Aminoadipinsäure hergestellt, die für einen weiteren sinnvollen synthetischen Einsatz zuerst partiell geschützt werden muß. Dies erfordert wiederum mehrere Reaktionsstufen und ist bei Aminodicarbonsäuren oft mit Schwierigkeiten verbunden.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren werden die D- α -Aminoadipinsäure- ω - R_2 -ester in der wäßrigen Mutterlauge nach Isolierung der 7-ACA auf einfache Weise mit Chloracetylchlorid zu den Verbindungen der Formel

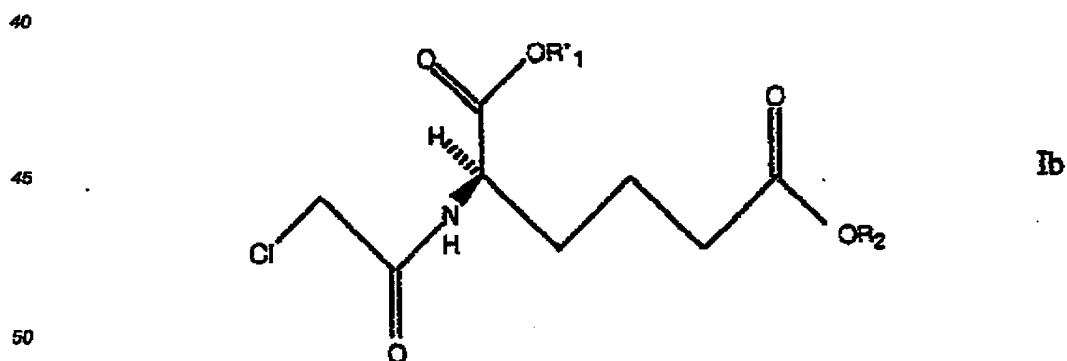


umgesetzt, die durch Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel fast vollständig aus der wässrigen Phase isoliert und durch Kristallisation in Form eines geeigneten Salzes gereinigt werden können. Dadurch werden partiell geschützte Aminosäuren erhalten, wobei zwei der drei funktionellen Gruppen selektiv blockiert sind und die so für weitere synthetische Umsetzungen sehr geeignet sind. Die Chloracetylgruppe kann bei Bedarf unmittelbar nach dieser Isolierung oder bei der Synthese einer der Folgeprodukte nach bekannten Methoden, beispielsweise mit Thioharnstoff oder mit einem N,N-disubstituierten Thioharnstoff, z.B. mit 2-Aminothiophenol, abgespalten werden. Durch Erhitzen von Verbindungen der Formel Ia in verdünnter Salzsäure gelangt man zur D- α -Aminoadipinsäure, die in den physikalischen Eigenschaften mit den in der Literatur angegebenen Werten übereinstimmt.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann ausgeführt werden, indem man das nach der Fällung und Isolierung der 7-ACA anfallende Filtrat, welches den D- α -Aminoadipinsäure- ω -R₂-ester enthält, bei einem pH = 4 weitgehend von dem bei der Spaltung verwendeten Alkohol befreit. Die bei der Spaltung verwendete und nach der Entfernung des Alkohols noch vorhandene Base kann durch Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel bei pH = 7 bis 8 entfernt werden. Die weiteren Umsetzungen können aber auch ohne vorherige Entfernung der Base durchgeführt werden. Im allgemeinen wird aber bei vorheriger Extraktion der Base ein reineres Produkt isoliert.

Die erhaltene Lösung wird mit Chloracetylchlorid in Gegenwart einer Base, vorzugsweise Natriumhydroxid, bei einer Temperatur von -15 bis +15 °C umgesetzt, wobei vorteilhafterweise die Base gleichzeitig mit dem Chloracetylchlorid zuzugeben und so ein für die Umsetzung günstiger pH-Wert von 7 bis 9 gehalten wird. Nach Beendigung der Umsetzung wird die Reaktionslösung angesäuert und die Verbindungen der Formel Ia durch Verteilung zwischen der wässrigen und einer organischen Phase extrahiert. Als Extraktionsmittel können chlorierte Kohlenwasserstoffe, wie Dichlormethan, Ester, wie Essigsäureethylester oder Essigsäurebutylester, oder Ketone, wie Methylisobutylketon, Cyclohexanon oder Diethylketon, verwendet werden.

Zur Herstellung von Verbindungen der Formel



worin R'₁ die gleiche Bedeutung wie R₁, außer Wasserstoff besitzt, werden die erhaltenen Verbindungen der Formel Ia in einem geeigneten Lösungsmittel (gemischt) gelöst und durch Zugabe einer Base gefällt, wobei die Verbindungen der Formel Ib in kristalliner Form erhalten werden. Dazu können gängige organische Basen, wie sie eingangs definiert wurden, oder Ammoniak verwendet werden.

Die Verbindungen der Formel Ib können in die freien Säuren der Formel Ia überführt werden, indem man sie in Wasser löst, die Lösung auf einen pH = 2 bringt und die freie Säure der Formel Ia mit einem

organischen Lösungsmittel extrahiert. Die Kristallisation der freien Säuren der Formel Ia gelingt am besten aus einer konzentrierten Lösung in Methylisobutylketon.

In den folgenden Beispielen, die die Erfindung näher erläutern sollen ohne sie einzuschränken, erfolgen alle Temperaturangaben in Celsiusgraden.

5

Beispiel 1: N-Chloracetyl-D- α -aminoadipinsäure- ω -methylester.NH₄⁺

50 g Cephalosporin C Na-Salz werden, wie in der Literatur beschrieben (vgl. C. Sklavounos, Org. Prep. Proc. 18(3-4), 185-189 (1984)), unter Verwendung von Methanol zu 7-ACA und D- α -Aminoadipinsäure- ω -methylester gespalten. Nach Isolierung der 7-ACA durch Fällung wird das Filtrat auf einen pH = 4 gestellt und das Methanol bei einer Badtemperatur von 35° unter Vakuum weitgehend abgezogen. Zur Entfernung der im Filtrat noch vorhandenen Base wird der erhaltene Rückstand unter Kühlung auf einen pH = 7 gebracht und zweimal mit Diethylketon extrahiert. Die wäßrige Phase wird auf -10° gekühlt und mit 40 ml Chloracetylchlorid versetzt. Durch gleichzeitige Zugabe einer 20 %igen Natriumhydroxidlösung wird der pH-Wert während der Zugabe zwischen 7 und 8,5 gehalten. Nach Beendigung des Zutropfens wird 15 Minuten nachgerührt und anschließend mit 200 ml Diethylketon extrahiert, welches verworfen wird. Die wäßrige Phase wird mit halbkonzentrierter Salzsäure auf einen pH = 2 gebracht und dreimal mit je 300 ml Diethylketon extrahiert. Die vereinigten Diethylketonphasen werden unter Vakuum eingeengt und mit Aktivkohle behandelt. Nach dem Abfiltrieren der Aktivkohle wird mit Diethylketon nachgewaschen und zum erhaltenen gelben Filtrat 65 ml Methanol gegeben. Diese Lösung wird auf 0 bis +5° gekühlt. Bei dieser Temperatur wird unter guter Rührung soviel konz. Ammoniak zugetropft, bis ein pH-Wert zwischen 7 und 8 erreicht ist. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert, mit 50 ml Diethylketon gewaschen und im Vakuum bei 45° getrocknet. Auswaage an Produkt: 12,6 g.

¹H-NMR (d₆-DMSO): 1.4-1.75 (m, 4H, CH₂-3 und CH₂-4); 2.25 (t, 2H, CH₂-5); 2.5 (d₆-DMSO); 3.55 (s, 3H, OCH₃); 3.8-3.9 (m, 1H, CH-2); 4.1 (s, 2H, CH₂Cl); 7.1 (br.s, 4H, NH₄⁺); 7.95 (d, 1H, NH).

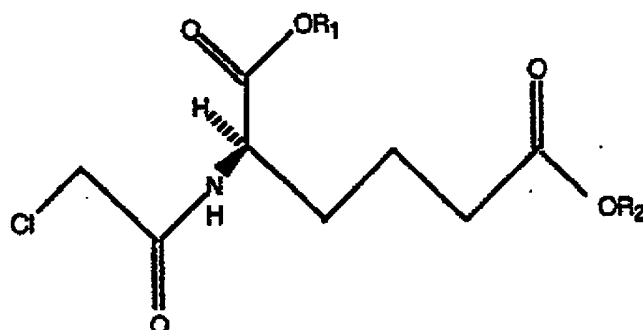
Beispiel 2: N-Chloracetyl-D- α -aminoadipinsäure- ω -methylester

N-Chloracetyl-D- α -aminoadipinsäure- ω -methylester.NH₄⁺ wird in Wasser gelöst. Die Lösung wird bei +5° mit halbkonzentrierter Salzsäure auf einen pH = 2 gestellt. Danach wird die freie Säure mit Methylisobutylketon aus der wäßrigen Lösung extrahiert und das Lösungsmittel soweit im Vakuum eingedampft, bis das Produkt auszukristallisieren beginnt. Die Lösung wird einige Stunden in den Kühlschrank gestellt, der ausgefallene Niederschlag abfiltriert, mit Methylisobutylketon gewaschen und im Vakuum bei 45° getrocknet. Auswaage 9 g.

¹H-NMR (CDCl₃, Tetramethylsilan als interner Standard): 1.6-2.05 (m, 4H, CH₂-3 und CH₂-4); 2.4 (t, 2H, CH₂-5); 3.7 (s, 3H, OCH₃); 4.1 (s, CH₂Cl); 4.5-4.6 (m, 1H, CH-2); 7.4 (d, 1H, NH); 11.1 (br.s, 4H, COOH).

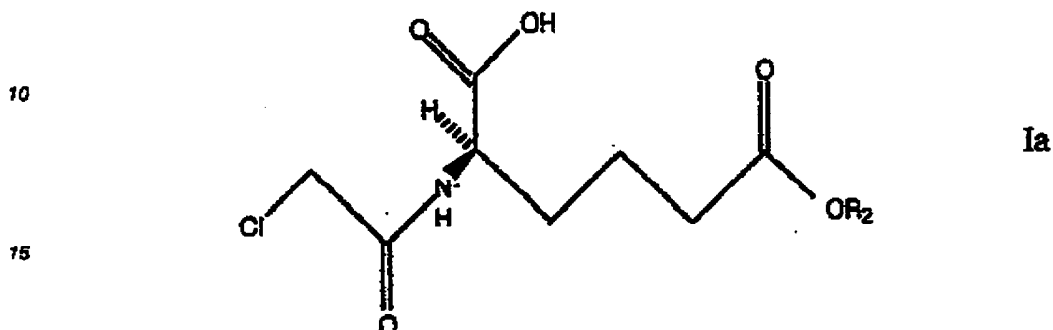
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung und Isolierung von Verbindungen der Formel

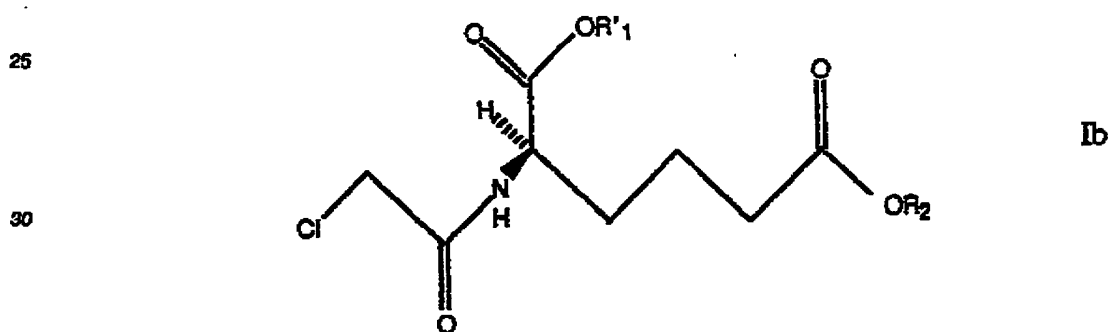


worin R₁ für Wasserstoff, einen Stickstoffrest der Formel HN⁺(R₂)₃, wobei die Substituenten R₂ gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, eine gegebenenfalls substituierte Alkyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppe stehen oder zwei der Substituenten R₂ gemeinsam mit dem Stickstoffatom einen Ring bilden, für ein Amidinium- oder ein Guanidiniumsalz und R₂ für eine niedere Alkylgruppe stehen, aus

Spaltlösungen von Cephalosporin C, die durch die Alkoholyse und nachfolgende Hydrolyse von Cephalosporin C-Imidoylchloridverbindungen erhalten werden, dadurch gekennzeichnet, daß man das nach Isolierung der 7-Aminocephalosporansäure erhaltene Filtrat, welches den D- α -Aminoadipinsäure- ω -R₂-ester enthält, weitgehend vom Alkohol der Formel R₂OH, wobei R₂ obige Bedeutung besitzt, befreit, mit Chloracetylchlorid umsetzt, die dabei gebildeten Verbindungen der Formel



20 mit einem organischen Lösungsmittel aus der wäßrigen Phase extrahiert und gewünschtenfalls zur Herstellung von Verbindungen der Formel



35 worin R₁ die gleiche Bedeutung wie R₂ außer Wasserstoff besitzt, durch Zugabe einer Stickstoffbase aus einem geeigneten Lösungsmittelgemisch fällt, wodurch die Verbindungen der Formel Ib in kristalliner und reiner Form erhalten, gegebenenfalls durch Freisetzen der Carbonsäure mit einer Säure in die Verbindungen der Formel Ia überführt und diese aus einem geeigneten Lösungsmittel kristallisiert werden können.

- 40
- 45
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Extraktion der Verbindungen der Formel Ia mit Wasser nicht mischbare Ketone, wie Diethylketon oder Methylisobutylketon, verwendet werden.
 3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Verbindungen der Formel Ib in Form des Ammoniumsalzes gefällt werden.

50

55