



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(11) 803862

(61) Дополнительный к патенту -

(22) Заявлено 12.08.77 (21) 2388518/2511695/
/23-04

(23) Приоритет 18.08.76 (32) 20.08.75

(31) 10822/75 (33) Швейцария

(51) М. Кл.³

C 07 D 501/06
C 07 D 501/59//
A 61 K 31/545

Опубликовано 07.02.81. Бюллетень № 5

(53) УДК 547.869.
.1.07(088.8)

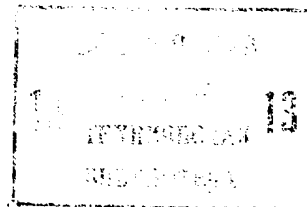
Дата опубликования описания 07.02.81

(72) Авторы
изобретения

Иностранцы
Рене Видеркер и Ханс Биккель
(Швейцария)

(71) Заявитель

Иностранная фирма
"Циба-Гейги АГ"
(Швейцария)



(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 7β-[D-2-АМИНО-2-(НИЗШИЙ
АЛКИЛСУЛЬФОНИЛАМИНОФЕНИЛ)-АЦЕТИЛАМИНО]-3-
-МЕТОКСИ(ИЛИ ХЛОР)-3-ЦЕФЕМ-4-КАРБОНОВЫХ
КИСЛОТ ИЛИ ИХ СОЛЕЙ

1

Изобретение относится к способу получения новых химических соединений: 7β [-D-2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси(или хлор)-3-цефем-4-карбоновых кислот, где низший алкил содержит до 4 атомов углерода, или их солей, обладающих физиологически активными свойствами.

Известен способ получения 3-замещенных 7-ациламино-3-цефем-4-карбоновых кислот ацилированием соответствующей 3-замещенной 7-амино-3-цефем-4-карбонсвой кислоты, обладающих физиологически активными свойствами [1].

Целью изобретения является получение новых цефалоспориновых соединений, расширяющих арсенал средств воздействия на живой организм.

Эта цель достигается способом получения 7β-[D-2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси(или хлор)-3-цефем-4-карбоновых кислот, где низший алкил содержит до 4 атомов углерода, или их солей, который заключается в том, что 7β-амино-3-метокси(или хлор)-3-цефем-4-карбоновую кислоту, где 4-карбоксильная группа может

2

быть защищена эфирной группой, такой, как триметилсилильная или дифенилметильная, и 7β-аминогруппа может быть защищена в виде силиламиногруппы, подвергают ацилированию соответствующей D-2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, где 2-аминогруппа может быть защищена такой группой, как трет.-бутоксикарбонильная или алкоксикарбонилзамещенная изопропилиденная, или ее смешанным ангидридом, или соответствующей 2-азидо-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, или ее смешанным ангидридом в среде органического растворителя в присутствии основания при температуре от -20 до +40°C или энзиматическому ацилированию соответствующей 2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, или ее низшим алкиловым эфиром в водной среде при температуре от 20 до 50°C и pH среды 5-9 и в полученном соединении удаляют защитные группы путем обработки трифторуксусной или муравьиной кислотой, и/или азидогруппу восстанавливают в аминогруппу путем каталитического гидрирования и выделяют

5
10
15
20
25
30

целевой продукт в виде свободной кислоты или ее соли.

Энзиматическое ацилирование преимущественно ведут под действием микроорганизмов рода *Pseudomonas melanogenum* ATCC 17808.

Пример 1. а) К суспензии 0,764 г тонкоизмельченного гидрохлорида 7β-амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, содержащего 1 моль диоксана, в 10 мл абсолютно хлористого метилена прибавляют в атмосфере аргона и при комнатной температуре 1,04 мл бис-(триметилсилил)ацетамида (прибавляют в течение приблизительно 10 мин) и перемешивают в течение 45 мин.

К охлажденному до -15°C раствору 0,896 г D-2-трет.-бутилоксикарбонил-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты и 0,29 мл 4-метилморфолина в 10 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют в атмосфере аргона 0,34 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и оставляют реагировать еще 15 мин. К полученному смешанному ангидриду прибавляют по каплям при -10°C вышеуказанный силилированный исходный продукт и реакционную смесь перемешивают по 15 мин при -10,0°C и комнатной температуре. Затем разбавляют 100 мл этилового эфира уксусной кислоты и промывают три раза насыщенным водным раствором хлорида натрия. Водные фазы экстрагируют еще раз этиловым эфиром уксусной кислоты, а объединенные органические растворы высушивают при помощи сульфата магния и освобождают при пониженном давлении от растворителя. Остаток очищают на силикагеле смесью хлористого метилена и этилового эфира уксусной кислоты (1:1) в качестве элюента.

Получают согласно тонкослойной хроматографии однородную 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде аморфного продукта. Тонкослойная хроматограмма (силикагель; идентификация при помощи нингидрина): R_f ~ 0,63 (система: втор.-бутанол-уксусная кислота-вода, 67:10:23). УФ-спектр (в 95%-ном водном этаноле): λ_{макс} 273 нм (ε = 7100).

*ИК-спектр (в хлористом метилене): характерные полосы при 3380, 2930, 1765, 1685, 1605, 1485 и 1160 см⁻¹.

То же самое соединение можно получить и следующим образом. а₁) К суспензии 6,22 г (27 моль) тонкоизмельченной 7β-амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 120 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют в атмосфере аргона и при комнатной температуре 7,52 мл бис-(триметилсилил)-ацетамида (прибавля-

ют в течение приблизительно 10 мин) и перемешивают в течение 45 мин.

К охлажденному до -15°C раствору 10,33 г (30 моль) D-2-трет.-бутилксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты и 3,33 мл 4-метилморфолина в 180 мл абсолютного ацетонитрила прибавляют в атмосфере аргона 3,93 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и оставляют реагировать еще 25 мин. К полученному смешанному ангидриду прибавляют по каплям при -15°C вышеуказанный силилированный исходный продукт и реакционную смесь перемешивают 2 ч при 0°C, а 30 мин при комнатной температуре. Затем удаляют в ротационном выпарном аппарате растворитель, а остаток растворяют в 400 мл этилового эфира уксусной кислоты и промывают три раза насыщенным водным раствором хлорида натрия. Водные фазы экстрагируют еще раз этиловым эфиром уксусной кислоты. Объединенные органические растворы высушивают при помощи сульфата магния и освобождают при пониженном давлении от растворителя. Остаток очищают на силикагеле смесью хлористого метилена и этилового эфира уксусной кислоты (1:1) в качестве элюента.

Получают согласно тонкослойной хроматографии однородную 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде аморфного продукта, который кристаллизуют из смеси хлористый метилен - простой диэтиловый эфир (1:3), т. пл. 140°C (с разл.). Физико-химические данные продукта идентичны с данными продукта из примера 1а).

а₂) К суспензии 891 мг 7-амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 10 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют 1,23 мл 0-бис-(триметилсилил)-ацетамида и перемешивают 1 ч при 23°C (раствор А).

К раствору 1,58 г D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты и 0,52 мл N-метилморфолина в 20 мл ацетонитрила прибавляют при температуре от -10 до -15°C 0,58 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и перемешивают 30 мин при этой температуре (раствор Б).

К охлажденному до -25°C раствору Б прибавляют при пропускании азота быстро раствор А, а затем смесь перемешивают 1,5 ч при 0°C. Приготовленную смесь перемешивают со 100 мл 1/3 M фосфатного буфера (рН 7) и из смеси удаляют в вакууме органический растворитель. Для удаления нейтральной части оставшийся водный раствор промывают уксусным эфиром. Слой водной фазы покрывают слоем уксусного

эфира, подкисляют 85%-ной фосфорной кислотой до pH 2, охлаждают и насыщают хлоридом натрия. После разделения фаз и дополнительного экстрагирования уксусным эфиром получают экстракт, который после высушивания при помощи сульфата натрия и выпаривания дает в тонкослойной хроматограмме однородную γ -[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде светло-бежевой пены. Соединение можно кристаллизовать согласно примеру 1а.

Исходный продукт можно получить следующим образом.

К суспензии 1,17 г 7-феноксикарбониламино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты и 1,45 мл N,N-диметиламина в 5,5 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют в атмосфере азота при 20°C 35 мл диметилдихлорсилана, а затем перемешивают 30 мин при этой температуре. Прозрачный раствор охлаждают до -20°C, прибавляют к нему 0,8 г пентахлорида фосфора и перемешивают 30 мин. При этой температуре прибавляют в течение 2-3 мин предварительно охлажденную до -20°C смесь 0,45 мл N,N-диметиламина и 0,45 мл н-бутанола, а затем прибавляют быстро 10 мл предварительно охлажденного до -20°C н-бутанола, после чего перемешивают 20 мин при -20°C, а 10 мин без охлаждения. При приблизительно -10°C приливают 0,2 мл воды, перемешивают сначала ~10 мин в ледяной бане (приблизительно 0°C), затем прибавляют 5,5 мл диоксана, а после перемешивания в течение 10 мин при 0°C прибавляют по порциям приблизительно 2,25 мл три-н-бутиламина до тех пор, пока pH разбавленных водой проб не достигнет постоянной величины 3,5. После перемешивания в течение 1 ч при 0°C осадок отфильтровывают, промывают диоксаном и перекристаллизовывают из смеси вода-диоксан. Полученный гидрохлорид γ -амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты содержит 1 моль диоксана и имеет т. пл. выше 300°C. Тонкослойная хроматограмма: Rf 0,17 (силикагель; система: н-бутанол-тетрахлорметан-метанол-муравьиная кислота-вода, 30:40:20:5:5).

Пример 2. а) Аналогично примеру 1а получают γ -[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновую кислоту путем обработки смешанного ангидрида, полученного из 0,448 г D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-уксусной кислоты и 0,17 мл изобутилового эфира

хлормуравьиной кислоты в присутствии 0,14 мл 4-метилморфолина и 5 мл хлористого метилена при -15°C, три-метилсилиловым эфиром γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, который получен из 0,24 г γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты и 0,5 мл бис-(триметилсилил)-ацетамида в 10 мл хлористого метилена.

а₂) Аналогично примеру 1а, из смешанного ангидрида, полученного из 1,55 г (4,5 моля) D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-уксусной кислоты и 0,6 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты в присутствии 0,5 мл 4-метилморфолина и 25 мл ацетонитрила при -15°C, путем обработки его триметилсилиловым эфиром γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, который получен из 0,88 г (3,75 моля) γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты и 1,05 мл бис-(триметилсилил)-ацетамида в 20 мл хлористого метилена, получают γ -[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновую кислоту.

Тонкослойная хроматограмма (силикагель; идентификация при помощи нингидрида); Rf 0,68 (система: н-бутанол-уксусная кислота - вода, 67:10:23). ИК-спектр (в хлористом метилене): характерные полосы при 3390, 2930, 1775, 1685, 1485 и 1160 см⁻¹.

Исходный продукт можно получить следующим образом.

б) 1,59 г (4 моля) дифенилметилового эфира γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты растворяют при 0°C в 5 мл трифторуксусной кислоты и перемешивают в течение 15 мин. Прозрачный светло-желтый раствор разбавляют 20 мл толуола, а затем из него удаляют при пониженном давлении избыток трифторуксусной кислоты и толуола. Остаток растворяют в приблизительно 20 мл смеси вода - этилацетата (1:1), отделяют от органической фазы, а кислую водную фазу доводят 20%-ным триэтиламином в метаноле до pH 3,0. Светло-желтый осадок отфильтровывают, промывают этилацетатом и простым диэтиловым эфиром и высушивают в высоком вакууме. При этом получают 320 мг γ -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты в виде светло-желтого аморфного порошка. Тонкослойная хроматограмма: Rf 0,08 (силикагель, н-бутанол-уксусная кислота-вода, 67:10:23).

Пример 3. К охлажденному до -15°C раствору 3,1 г (9 моля) D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-уксусной кислоты и 1,0 мл 4-метилморфо-

лина в 50 мл абсолютного ацетонитрила прибавляют в атмосфере аргона в безводных условиях 1,18 мл (9 моль) изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты. Через 30 мин к полученному смешанному ангидриду прибавляют при -15°C 3,0 г (7,5 моль) дифенилметилового эфира 7 β -амино-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, растворенного в 50 мл абсолютного хлористого метилена. Реакционную смесь перемешивают по 1,5 ч при 0°C или при комнатной температуре. Затем в ротационном выпарном аппарате удаляют растворитель. Остаток растворяют в 500 мл этилацетата и промывают три раза насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу высушивают при помощи сульфата магния и удаляют из нее при пониженном давлении растворитель. Сырой продукт очищают на 40-кратном количестве силикагеля смесью хлористый метилена-этилацетат (1:1) в качестве элюента.

Получают согласно тонкослойной хроматографии однородный дифенилметилэтиловый эфир 7 β -[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, т.пл. $184-187^{\circ}\text{C}$ (из смеси ацетон - простой эфир - простой петролейный эфир, 1:2:2). Тонкослойная хроматограмма (силикагель, идентификация при помощи нингидрина): $R_f \sim 0,52$ (система: толуол - этилацетат, 1:1). ИК-спектр (в хлористом метилена): характерные полосы при 3420, 1790, 1725, 1700, 1620, 1158 cm^{-1} .

Пример 4. Аналогично примеру 3 из смешанного ангидрида, полученного из 1,05 г (4,5 моль) D-2-трет.бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-уксусной кислоты и 0,6 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты в присутствии 0,5 мл N-метилморфолина в 25 мл ацетонитрила при -15°C путем его обработки 1,49 г (3,75 моль) дифенилметилового эфира 7 β -амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, растворенного в 25 мл хлористого метилена, получают дифенилметилэтиловый эфир 7 β -[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, т.пл. $127-130^{\circ}\text{C}$. Тонкослойная хроматограмма: $R_f \sim 0,21$ (силикагель; толуол-ацетон, 3:1). ИК-спектр (в хлористом метилена): характерные полосы при 3440, 1787, 1725, 1705, 1342 и 1162 cm^{-1} .

Пример 5. а) 482 мг (1 моль) 7 β -[D-2-азидо-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, растворенной в 32 мл смеси метанол - хлороформ (3:1), гидрируют в присут-

ствии 120 мг окиси платины при комнатной температуре и нормальном давлении (время реакции 2 ч). Раствор разбавляют 5 мл воды и доводят 1 мл 1 н соляной кислоты до pH 2. После 5 фильтрования pH водной фазы доводят 20%-ным раствором триэтиламина в метаноле до 5,2. Раствор концентрируют до приблизительно половины объема, затем прибавляют 12 мл ацетона и 10 смесь выдерживают в течение 16 ч при приблизительно -18°C . Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают ацетоном и простым диэтиловым эфиром и высушивают. Таким образом, 15 получают 7 β -[D-2-амино-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде внутренней соли моногидрата, которая разлагается при температуре 20 выше 170°C . Тонкослойная хроматограмма (силикагель; идентификация при помощи нингидрина): $R_f \sim 0,20$ (система: втор.-бутанолуксусная кислота - вода 67:10:23). УФ-спектр (в 0,1 н водной соляной кислоте): $\lambda_{\text{макс}} 272 \text{ нм}$ ($\epsilon 7200$). Исходный продукт можно 25 получить следующим образом.

К суспензии 0,622 г (2,7 моль) тонкоизмельченной 7 β -амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 12 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют в атмосфере аргона и при 30 комнатной температуре 0,75 мл бис-(триметилсилил)-ацетамида (прибавляют в течение приблизительно 10 мин) и перемешивают в течение 45 мин.

К охлажденному до -15°C раствору 0,81 г (3,0 моль) D-2-азидо-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-уксусной кислоты и 0,35 мл 4-метилморфолина в 18 мл абсолютного ацетонитрила приливают в атмосфере аргона 0,4 мл изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и оставляют реагировать еще 25 мин. К полученному смешанному ангидриду прибавляют по каплям при -15°C 45 вышеуказанный силилированный исходный продукт и реакционную смесь перемешивают 2 ч при 0°C и 30 мин при комнатной температуре. Затем удаляют в ротационном выпарном аппарате 50 растворитель, а остаток растворяют в 400 мл этилового эфира уксусной кислоты и промывают три раза насыщенным водным раствором хлорида натрия. Водные фазы экстрагируют еще раз этиловым эфиром уксусной кислоты. Объединенные органические растворы высушивают при помощи сульфата магния и затем из них при пониженном давлении удаляют растворитель. Остаток очищают на силикагеле смесью 55 хлористый метилена - этиловый эфир уксусной кислоты (1:1) в качестве элюента. Получают согласно тонкослойной хроматографии однородную 7 β -[D-2-азидо-2-(3-метилсульфонил-аминофенил)-ацетиламино-3-метокси-3-це-

фем-4-карбоновую кислоту в виде аморфного продукта, который применяют непосредственно в следующей стадии синтеза аналогично примеру 5.

П р и м е р 6. К раствору 10 моль дифенилметилового эфира 7β-(2-феноксиацетиламино)-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты и 25 моль N, N-диметиланилина в 50 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют при -20°C 12,5 моль твердого пентахлорида фосфора и перемешивают 30 мин при -20°C. Затем прибавляют при этой температуре холодную смесь 0,2 моль метанола и 12 моль N, N-диметиланилина, после чего перемешивают 2 ч при 0°C. При 0°C прибавляют 60 моль N-метилморфолина и раствор смешанного ангидрида, полученного путем перемешивания в течение 30 мин при 0°C смеси 15 моль D-2-(трет.-бутилоксикарбониламино)-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты, 14 моль изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и 16 моль N-метилморфолина в 50 мл хлористого метилена, и перемешивают 1 ч при 0°C. Далее приливают 100 мл воды, встряхивают, разделяют фазы и органическую фазу промывают фосфатным буфером с pH 2 и фосфатным буфером с pH 6. После высушивания экстракта при помощи сульфата натрия и выпаривания получают дифенилметилевый эфир 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, который растворяют в 20 мл трифторуксусной кислоты и 1 мл анизола. Выдержав раствор при комнатной температуре, его выпаривают, остаток растворяют в метаноле и 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту выделяют осторожным прибавлением диэтиламина (до изоэлектрической точки).

П р и м е р 7. а) В среде, содержащей 0,7% ацетона, 0,5% мясного экстракта, 0,5% дрожжевого экстракта, 0,5% натриевой соли L-глутаминовой кислоты и 0,3% хлорида натрия, культивируют *Pseudomonas melanogenum* ATCC 17808 под водой в течение 55 ч при 28°C. Клетки отделяют центрифугированием, промывают их 0,8%-ным раствором хлорида натрия и суспендируют в 0,1 н. ацетатном буфере (pH 6,5). К 100 мл этой суспензии (содержащей приблизительно 6 г влажных клеток) прибавляют 1 г 7β-амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты и 3 г гидрохлорида D-2-(3-метилсульфониламинофенил)-глицинметилового эфира и перемешивают 2 ч при 35°C. Смесь центрифугируют, а очищенный фильтрат помещают на колонку амберлита XAD-2. После промывания колонки водой элюируется 7β-[D-2-амино-2-

-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновая кислота с возрастающими долями метанола в воде.

б) Гидрохлорид D-2-(3-метилсульфониламинофенил)-глицинметилового эфира получают из D-2-(3-метилсульфониламинофенил)-глицина путем этерификации в сложный эфир метанолом в присутствии сухого хлористого водорода.

От полученных соединений можно отщеплять защитные группы следующим образом.

П р и м е р 8. а) Смесь 0,557 г 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино]-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, 2,5 мл предварительно охлажденной трифторуксусной кислоты и 2,5 мл хлористого метилена перемешивают в течение 30 мин при 0°C в атмосфере аргона, а затем прибавляют 25 мл смеси простого петролейного эфира и простого диэтилового эфира (1:1) при 0°C. Бежевый осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством простого диэтилового эфира и высушивают при пониженном давлении. Полученную соль трифторуксусной кислоты 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты растворяют в 5 мл воды, экстрагируют два раза, применяя по 3 мл этилового эфира уксусной кислоты, а кислую водную фазу (pH 1,8) доводят путем прибавления по каплям 2 н. водного раствора гидроокиси натрия до pH 5,2. Раствор концентрируют до приблизительно половины объема, приливают 12 мл ацетона и смесь выдерживают 16 ч при приблизительно -18°C. Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают ацетоном и простым диэтиловым эфиром и высушивают. Получают 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде внутренней соли в качестве моногидрата, которая разлагается при температуре выше 170°C. Тонкослойная хроматограмма (силикагель; идентификация при помощи нингидрина): Rf ~ 0,22 (система: втор.-бутанолуксусная кислота - вода, 67:10:23). УФ-спектр (в 0,1 н. водной соляной кислоте): λ_{max} 272 нм (ε 7000).

То же самое соединение можно получить и следующим образом.

а₁) К охлажденному до 0°C раствору 8,0 г (14,4 моль) 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 40 мл абсолютного хлористого метилена прибавляют 40 мл предварительно охлажденной трифторуксусной кислоты, перемешивают в течение 25 мин

при 0°C в атмосфере аргона и прибавляют 500 мл смеси простого петролейного эфира и простого диэтилового эфира (1:1) при 0°C. Бежевый осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством простого диэтилового эфира и высушивают при пониженном давлении. Полученную соль трифторуксусной кислоты 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты растворяют в 70 мл ледяной воды и экстрагируют три раза, применяя по 30 мл этилового эфира уксусной кислоты. Кислую водную фазу (pH ~ 2,0) доводят путем прибавления по каплям 20%-ного раствора триэтиламина в метаноле до pH 5,2. При 0°C приливают 160 мл изопропанола. Образовавшийся осадок перекристаллизуют из смеси изопропанол - вода (2:1), затем его отфильтровывают, промывают небольшим количеством изопропанола и высушивают. Так как кристаллизат содержит и после высушивания еще небольшое количество органического растворителя, его дигерируют еще 30 мин при 40°C в 50%-ном водном растворе, охлаждают до 0°C, фильтруют и высушивают еще раз в высоком вакууме при комнатной температуре. Таким образом получают 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде внутренней соли моногидрата; т. пл. выше 174°C (с разл.).

а₂) Раствор 300 мг (0,54 моль) 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 3 мл муравьиной кислоты перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре при пропускании аргона, охлаждают до 0°C и прибавляют к нему 30 мл смеси простой диэтилового эфира - простого петролейного эфира (1:1). Выпавшую соль муравьиной кислоты 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты растворяют в 3 мл ледяной воды, экстрагируют три раза 1,5 мл этилацетата и освобождают в ротационном выпарном аппарате от воды и избытка муравьиной кислоты. Остаток растворяют еще два раза, каждый раз в 3 мл воды, и концентрируют досуха, причем можно выделять непосредственно моногидрат 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-4-карбоновой кислоты в виде светло-желтых кристаллов, т. пл. 173-175°C (с разл.). Тонкослойная хроматограмма (силикагель; обработка нингидрином): R_f ~ 0,21 (система: втор.-бутанол - уксусная кислота - вода, 67:10:23). УФ-спектр

(в 0,1 н. водной соляной кислоте): λ_{макс} 272 нм (ε 7100).

- а₃) Раствор 2,2 г 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 22 мл 99%-ной муравьиной кислоты выдерживают в течение 1,5 ч при 23°C, а затем выпаривают в вакууме. Полученную смолу дигерируют последовательно простым эфиром, ацетонитрилом и смесью ацетонитрил - вода (95:5), применяя каждый раз 25 мл. Получают 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде светло-бежевого порошка. После перекристаллизации из смеси вода - изопропанол (1:2) моногидрат обладает следующими свойствами: [α]_D²⁰ = +143° ± 1°С 1, 0,1 н. HCl); поглощение в ультрафиолетовой области в 0,1 н. HCl: λ_{макс} 272 нм (ε 7300).

Пример 9. а) Аналогично примеру 8а) можно освобождать путем взаимодействия с трифторуксусной кислотой в 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоте аминогруппу и превращать полученную соль трифторуксусной кислоты 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты путем обработки водным раствором гидроокиси натрия до изоэлектрической точки во внутреннюю соль 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты.

а₁) Аналогично примеру 8а₁) можно освобождать путем взаимодействия с трифторуксусной кислотой в 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоте аминогруппу и превращать полученную соль трифторуксусной кислоты 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты путем обработки 20%-ным раствором триэтиламина в метаноле до изоэлектрической точки во внутреннюю соль 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, т. пл. выше 165°C (с разл.). Тонкослойная хроматограмма (силикагель; обработка нингидрином): R_f ~ 0,17 (система: втор.-бутанол - уксусная кислота - вода, 67:10:23). УФ-спектр (в 0,1 н. соляной кислоте): λ_{макс} 267 нм (ε 7600).

а₂) Аналогично примеру 8а₂) можно освобождать путем взаимодействия с муравьиной кислотой в 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-

-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоте аминокгруппу. Получают 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде мелкого кристаллизата с указанными в пункте а₄ свойствами.

Пример 10. Раствор 2,18 г (3 моль) дифенилметилового эфира 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, 1,8 мл анизол и 0,6 мл трифторуксусной кислоты в 20 мл хлористого метилена перемешивают в течение 30 мин. при 0°C, а затем прибавляют 200 мл смеси простой эфир - простой петролейный эфир (1:1). Соль трифторуксусной кислоты растворяют в 10 мл ледяной воды и экстрагируют два раза, применяя по 4 мл этилацетата. Водную фазу доводят 20%-ным раствором триэтиламина в метаноле до pH 5,0, причем после прибавления 24 мл изопропанола образуется бесцветный осадок. После фильтрации, промывания небольшим количеством изопропанола и высушивания при пониженном давлении получают бесцветные кристаллы 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты, т. пл. выше 165°C (с разл.). Тонкослойная хроматограмма (силикагель; обработка нингидрином): R_f ~ 0,17 (система: втор.-бутанол - уксусная кислота - вода, 67:10:23). ИК-спектр (в нуджол): характерные полосы при 3500, 3220, 1780, 1685, 1340 и 1155 см⁻¹.

Пример 11. а) Аналогично примеру 10 путем обработки 1,08 г (1,5 моль) дифенилметилового эфира 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-хлор-3-цефем-4-карбоновой кислоты 4,5 мл трифторуксусной кислоты и 0,8 мл анизол в 10 мл хлористого метилена можно освободить аминокгруппу и защищенную 4-карбоксылную группу и превратить полученную соль трифторуксусной кислоты путем обработки 20%-ным раствором триэтиламина в метаноле до изоэлектрической точки во внутреннюю соль 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты; т. пл. выше 172°C (с разл.).

а₁) Смесь 10, 12 г (14 моль) дифенилметилового эфира 7β-[D-2-трет.-бутилоксикарбониламино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, 8,6 мл анизол и 145 мл трифторуксусной кислоты перемешивают в течение 15 мин при 0°C, затем прибавляют 400 мл предварительно охлажденного толуола и выпаривают при пониженном давлении. Остаток высушивают

в высоком вакууме, дигерируют простым диэтиловым эфиром и отфильтровывают. Таким образом получают в порошкообразном виде трифторацетат 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты, который растворяют в 70 мл воды. Затем промывают три раза, применяя по 25 мл этилового эфира уксусной кислоты, и доводят pH 20%-ным раствором триэтиламина в метаноле до приблизительно 5,6, причем образуется после прибавления 160 мл изопропанола бесцветный осадок. Перемешивают 1 ч на ледяной бане. Бесцветный осадок отфильтровывают, промывают изопропанолом и простым диэтиловым эфиром и высушивают при пониженном давлении. Так как кристаллизат содержит и после высушивания еще небольшое количество изопропанола или простого диэтилового эфира, его дигерируют еще 30 мин в 50%-ном водном растворе при 40°C, охлаждают до 0°C, фильтруют и еще раз высушивают. Таким образом получают в виде микрокристаллического порошка 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновую кислоту в виде внутренней соли моногидрата, т. пл. выше 175°C (с разл.), [d]_D²⁰ = +144°C (с 1,035, 0,1 н. соляная кислота).

Тонкослойная хроматограмма (силикагель; обработка нингидрином): R_f ~ 0,19 (система: втор.-бутанол - уксусная кислота - вода, 67:10:23). УФ-спектр (в 0,1 н. водной соляной кислоте): λ_{макс} 272 нм (ε 7300). ИК-спектр (в минеральном масле): характерные полосы при 3500, 3180, 1760, 1692, 1608, 1150 и 978 см⁻¹.

Пример 12. Суспензию 4,75 г 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 50 мл воды и 2 мл спирта растворяют медленно при перемешивании и контроле pH при величине pH ниже 7,6 в приблизительно 5 мл 2 н раствора едкого натра. Раствор, освобожденный путем фильтрации от остатка, дает после лиофилизации 4,9 г натриевой соли 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты.

Пример 13. К суспензии 1,151 г (5 моль) 7β-амино-3-метокси-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 50 мл метиленхлорида прибавляют 1,392 мл (5,75 моль) бис-(триметилсиллил)-ацетамида в атмосфере аргона и в течение 1 ч перемешивают при комнатной температуре.

К охлажденному до внутренней температуры от -10 до -15°C раствору 2,186 г (6 моль) натриевой соли D-2-(1-метоксикарбонил-2-пропилиден-

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

имино)-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты и 2 капель N,N-диметилбензиламина в 40 мл ацетонитрила прибавляют в атмосфере аргона 0,784 мл (6 моль) изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты и в течение нескольких минут дают прореагировать. К полученному таким образом смешанному ангидриду прибавляют по каплям вышеописанный силилированный исходный продукт при той же температуре и реакционную смесь перемешивают 2 ч при температуре от 0 до -5°C. Растворитель удаляют в ротационном испарителе в вакууме, остаток растворяют в 15 мл дистиллированной воды и 30 мл ацетонитрила и холодный желтый раствор при помощи 2 н. соляной кислоты доводят до pH 1. После перемешивания в течение 2 ч желтый раствор при помощи 2 н. раствора едкого натра доводят до pH 3,5 и затем сгущают в вакууме при комнатной температуре. Маслянистый желтый осадок хорошо взбалтывают с 15 мл воды и 10 мл этилового сложного эфира уксусной кислоты, водную фазу еще экстрагируют 10 мл этилового сложного эфира уксусной кислоты и соединенные органические фазы промывают 5 мл ледяной воды. Водные фазы соединяют и при низкой температуре доводят значенье pH до 5 при помощи 2 н. раствора едкого натра. После прибавления 40 мл изопропанола осаждается 7β-[D-2-амино-2-(3-метилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси-3-цефем-4-карбоновая кислота, которую промывают этиловым сложным эфиром уксусной кислоты и высушивают в вакууме при комнатной температуре. Путем перекристаллизации из смеси вода-изопропанол можно получить чистый моногидрат, т. пл. 173-175°C (с разл.).

Исходный продукт можно получить следующим образом.

К раствору 7,329 г (30 моль) 2-(3-метилсульфониламинофенил)глицина в 60 мл 0,5 М раствора метилата натрия в абсолютном метаноле прибавляют 3,9 мл (36 моль) метилового сложного эфира ацетоуксусной кислоты и кипятят в течение 1 ч с обратным холодильником. Метанол удаляют в вакууме, к осадку три-четыре раза примешивают абсолютный толуол и каждый раз отгоняют приблизительно при 40°C. Осадок растирают с метиленхлоридом и отфильтровывают. Сильнотруемый продукт еще несколько раз промыва-

ют метиленхлоридом и полученную натриевую соль D-2-(1-метоксикарбонил-2-пропилиденимино)-2-(3-метилсульфониламинофенил)-уксусной кислоты сушат в течение 16 ч при комнатной температуре и давлении 0,01 мм рт.ст.

Формула изобретения

10 1. Способ получения 7β-[D-2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-ацетиламино]-3-метокси (или хлор)-3-цефем-4-карбоновых кислот, где низший алкил содержит до 4 атомов углерода, или их солей, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что 7β-амино-3-метокси-(или хлор)-3-цефем-4-карбоновую кислоту, где 4-карбоксильная группа может быть защищена эфирной группой, такой, как триметилсилильная или дифенилметильная, и 7β-аминогруппа может быть защищена в виде силиламиногруппы, подвергают ацилированию соответствующей D-2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, где 2-аминогруппа может быть защищена такой группой, как трет.-бутоксикарбонильная или алкоксикарбонилзамещенная изопропилиденовая, или ее смешанным ангидридом, или соответствующей 2-ази-

20 до-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, или ее смешанным ангидридом в среде органического растворителя в присутствии основания при температуре от -20 до +40°C или энзиматическому ацилированию соответствующей 2-амино-2-(низший алкилсульфониламинофенил)-уксусной кислотой, или ее низшим алкиловым эфиром в водной среде при температуре от 20 до 50°C и pH среды 5-9 и в полученном соединении удаляют защитные группы путем обработки трифторуксусной или муравьиной кислотой, и/или азидогруппу восстанавливают в аминогруппу путем каталитического гидрирования и выделяют целевой продукт в виде свободной кислоты или ее соли.

2. Способ по п. 1, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что энзиматическое ацилирование ведут под действием *Pseudomonas melanogenum* ATCC 17808.

Источники информации,

принятые во внимание при экспертизе

1. Патент СССР № 566525, М. изв. С 07 D 501/06, 1973.

ВНИИПИ Заказ 10657/72 Тираж 454 Подписное

Филиал ВНИИПИ "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4