



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl. 3: C 07 D 501/04  
C 07 D 501/36



Erfolgspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT A5

(11)

623 055

(21) Gesuchsnummer: 13453/76

(73) Inhaber:  
Bayer Aktiengesellschaft, Leverkusen (DE)

(22) Anmeldungsdatum: 25.10.1976

(72) Erfinder:  
Dr. Hans-Bodo König, Wuppertal 1 (DE)  
Dr. Karl Georg Metzger, Wuppertal 1 (DE)  
Dr. Wilfried Schröck, Wuppertal 1 (DE)

(24) Patent erteilt: 15.05.1981

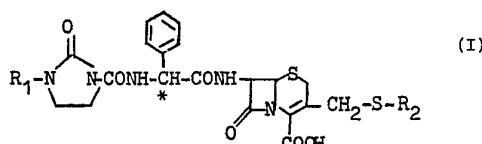
(74) Vertreter:  
E. Blum & Co., Zürich

(45) Patentschrift  
veröffentlicht: 15.05.1981

(54) Verfahren zur Herstellung neuer Cephalosporine.

(57) Es werden neue Cephalosporine der Formel

Die neuen Cephalosporine werden als Arzneimittel verwendet, insbesondere als antibakterielle Mittel.



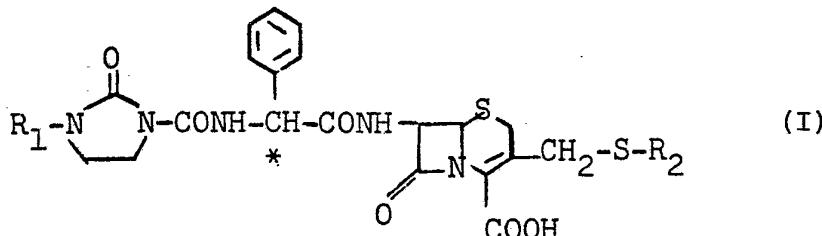
worin

$\text{R}_1$  für Methyl oder Methylsulfonyl und  
 $\text{R}_2$  für 2-Methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl oder 1-Methyl-1,2,  
3,4-tetrazol-5-yl steht und die bezüglich des Chirali-  
tätszentrums  $\text{C}^*$  in den beiden möglichen Konfigura-  
tionen R und S und als Gemische der daraus resultie-  
renden Diastereomeren vorliegen können und deren  
nichttoxische, pharmazeutisch verträgliche Salze her-  
gestellt.

Diese Verbindungen werden erhalten, indem man in eine  
entsprechende Cephalosporinverbindung, die in 3-Stel-  
lung den Acetoxyethylrest aufweist, durch Umsetzung  
mit 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol oder 1-Methyl-  
5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol in Wasser oder in Lösungs-  
mitteln bei einem pH-Wert von 2-9 und bei einer Tempe-  
ratur von 20-100°C umsetzt. Erhaltene Cephalosporine  
werden gegebenenfalls in die freien Säuren oder in nicht-  
toxische, pharmazeutisch verträglichen Salze überführt.

## PATENTANSPRÜCHE

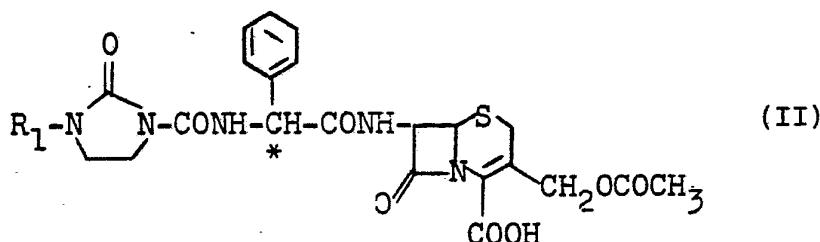
1. Verfahren zur Herstellung von neuen Cephalosporinen der Formel



in welcher

 $R_1$  für Methyl oder Methylsulfonyl und $R_2$  für 2-Methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl oder 1-Methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylstehen und die bezüglich des Chiralitätszentrums  $C^*$  in den

beiden möglichen Konfigurationen R und S als Gemische der  
 daraus resultierenden Diastereomeren vorliegen können und  
 von deren nichttoxischen, pharmazeutisch verträglichen Sal-  
 zen, dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der  
 Formel

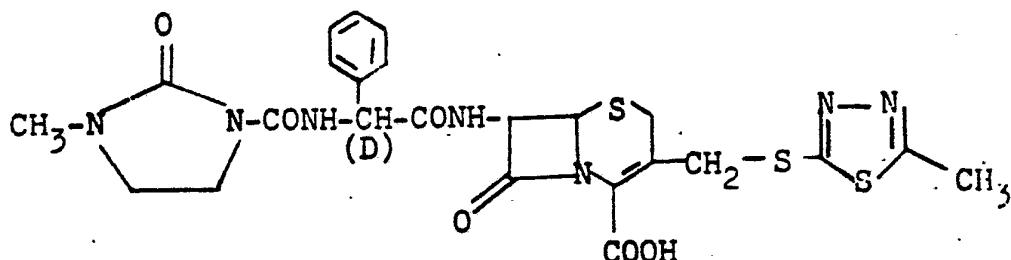


worin

$R_1$  und  $C^*$  die oben angegebene Bedeutung haben, mit 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol oder 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol in Wasser oder in Lösungsmitteln bei einem pH-Wert von 2-9 und bei einer Temperatur von 20-100°C umgesetzt und die erhaltenen Cephalosporine gegebenenfalls in die freien Säuren oder in nichttoxische, pharmazeutisch verträgliche Salze überführt.

30 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
 dass die verwendeten Lösungsmittel wasserfrei oder wasserhal-  
 tig sind.

35 3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
 net, dass man 7-{(D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-methyl-imidazolidin-  
 1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(2-methyl-  
 1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbon-  
 säure der Formel



und ihre pharmazeutisch verträglichen Salze herstellt.

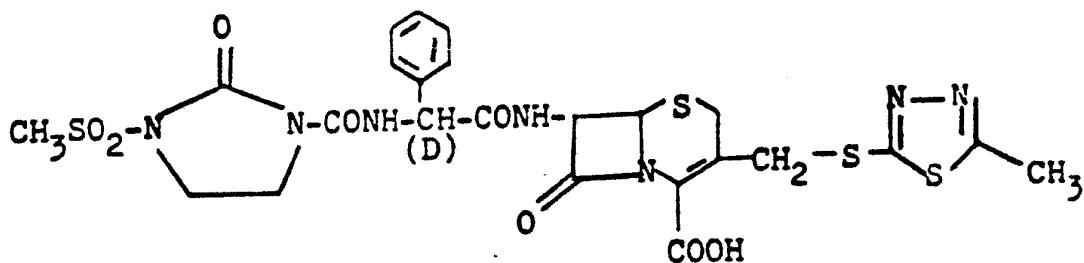
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
 net, dass man 7-{(D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-methyl-imidazolidin-

50 1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(1-methyl-  
 1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbon-  
 säure der Formel

und ihre pharmazeutisch verträglichen Salze herstellt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
 net, dass man 7-{(D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-

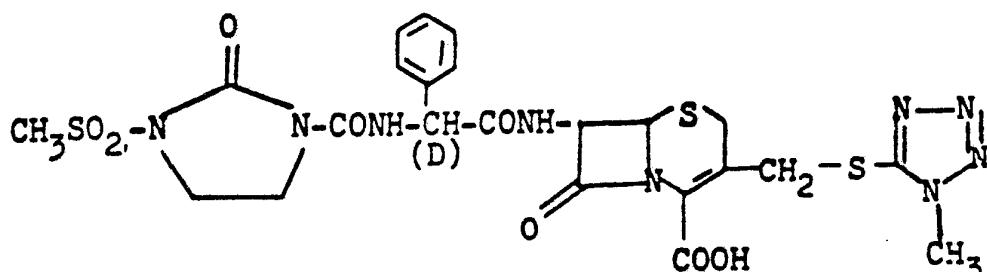
yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(2-methyl-  
 1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbon-  
 säure der Formel



und ihre pharmazeutisch verträglichen Salze herstellt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 7-{(D- $\alpha$ [(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-

yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure der Formel



und ihre pharmazeutisch verträglichen Salze herstellt.

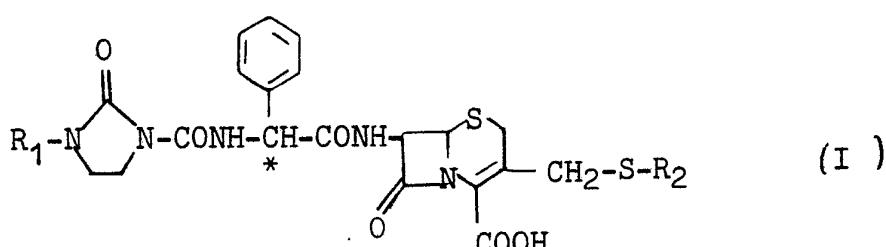
Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer Cephalosporine, die als Arzneimittel in der Human- und Tiermedizin, als therapeutische Mittel bei Geflügel, Säugetieren und Fischen, als Futtermittelzusätze und als wachstumsfördernde Mittel bei Tieren verwendet werden können. Sie können insbesondere oral und parenteral als antibakterielle Mittel bei durch Gram-positive und Gram-negative Bakterien hervorgerufenen Infektionskrankheiten verabreicht werden.

25 Es ist bekannt, dass bestimmte Acetamidocephalosporinsäuren, z.B. Cephaloglycin, die in der  $\alpha$ -Stellung der Acetamidoegruppe einen Arylrest und eine Aminogruppe tragen, synthetisch zugänglich sind und als antibakterielle Mittel verwendet werden können. Sie sind in den deutschen Offenlegungsschriften Nr. 1 670 625, 1 795 188 und 1 795 292, den US-

30 Patenten Nr. 3 303 193, 3 352 858, 3 485 819 und 3 624 416, der japanischen Anmeldung Nr. 16 871/66 sowie dem britischen Patent Nr. 1 073 530 beschrieben. Sie vermögen jedoch nicht Infektionen, die z.B. durch Bakterien aus der Gruppe der Pseudomonaden verursacht werden, zu bekämpfen.

Weitere in bestimmter Weise substituierte Acetamidocephalosporinsäuren werden in der DOS 2 428 139 beschrieben.

Gefunden wurden die neuen Cephalosporine der allgemeinen Formel



worin

R<sub>1</sub> für Methyl oder Methylsulfonyl und

R<sub>2</sub> für 2-Methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl oder 1-Methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl

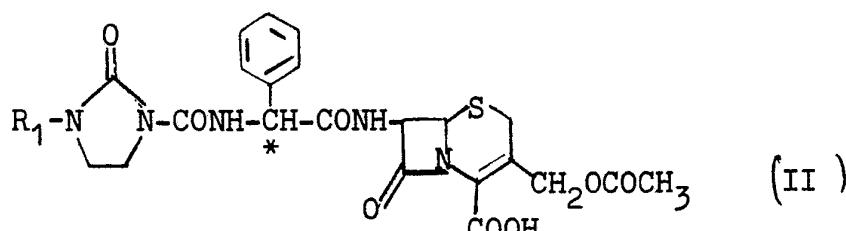
steht und die bezüglich des Chiralitätszentrums C\* in den beiden möglichen Konfigurationen R und S und als Gemische der daraus resultierenden Diastereomeren vorliegen können und deren nichttoxische, pharmazeutisch verträgliche Salze.

Überraschenderweise zeigen die erfindungsgemäß herstell-

baren Verbindungen eine erheblich höhere antibakterielle Wirkung insbesondere gegen Bakterien aus den Familien der Enterobacteriaceae und Pseudomonadaceae als z.B. die aus dem Stand der Technik bekannten Cephalosporine Cephalexin und Cephalothin.

Die erfindungsgemäß erhältlichen Stoffe stellen somit eine Bereicherung der Pharmazie dar.

Die neuen Cephalosporine der Formel I werden erfindungsgemäß erhalten, wenn man Verbindungen der Formel

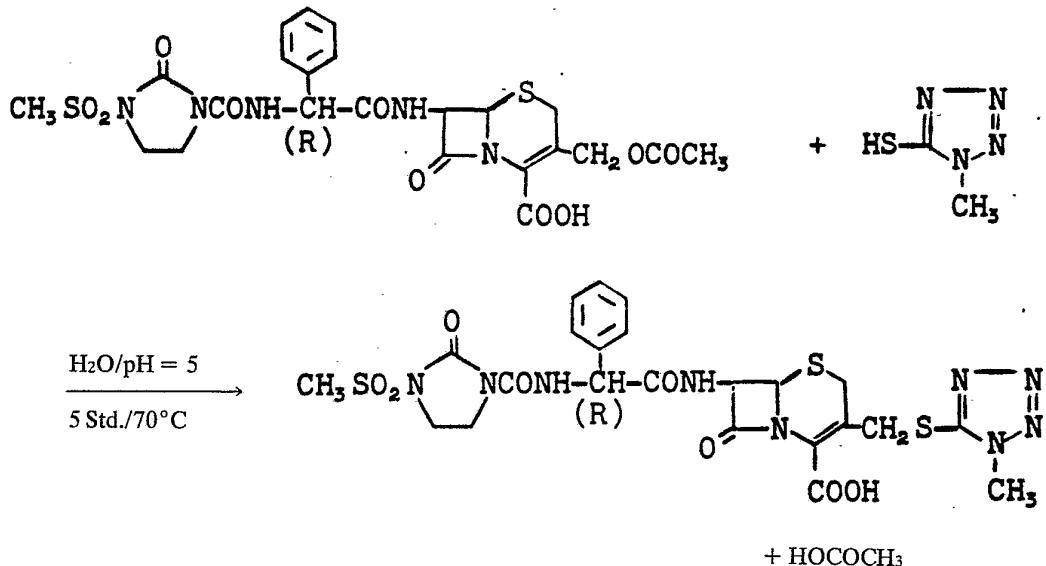


worin

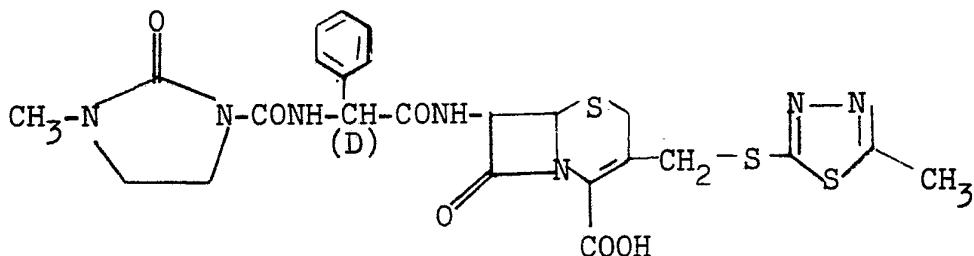
R<sub>1</sub> und C\* die oben angegebene Bedeutung haben, mit 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol oder 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol in Wasser oder in Lösungsmitteln bei einem pH von 2–9 und bei einer Temperatur von 20–100°C umgesetzt und die erhaltenen Cephalosporine gegebenenfalls in die freie Säure oder in nichttoxische, pharmazeutisch verträg-

liche Salze überführt.

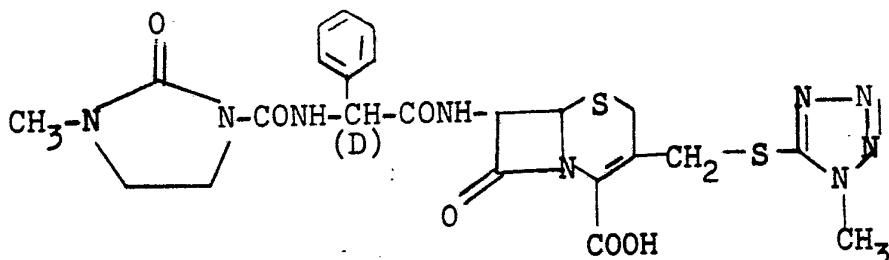
Verwendet man beispielsweise 7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-acetoxyethyl-ceph-3-em-4-carbonsäure und 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol als Ausgangsstoffe, so kann der Reaktionsablauf durch das folgende Formelschema wiedergegeben werden:



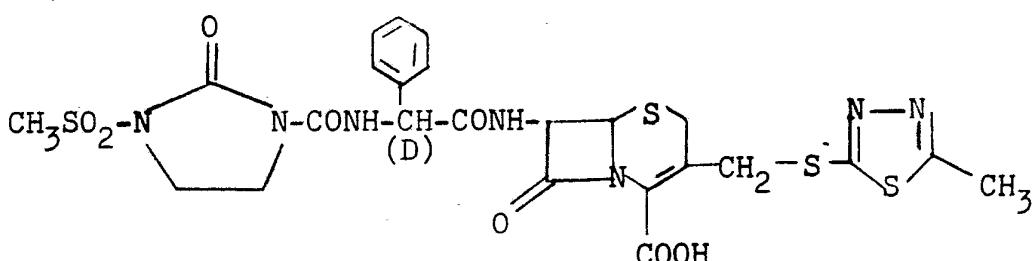
Als bevorzugte Verbindungen der Formel I seien im einzelnen genannt:  
7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-methyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[{(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure}



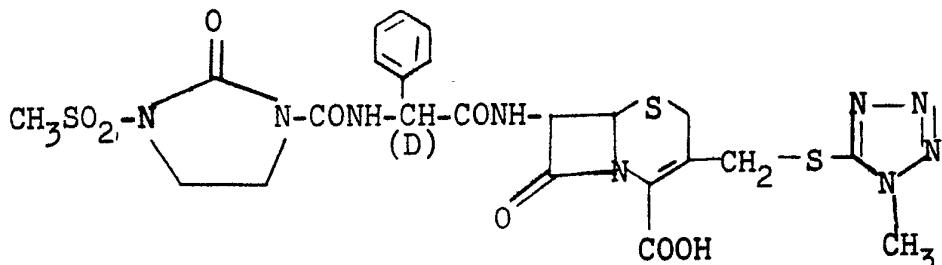
7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-methyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[{(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure}



7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure



7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure



Besonders bevorzugte Verbindungen sind dabei 7-{D- $\alpha$ -[(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure und 7-{D- $\alpha$ [(2-Oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carbonsäure.

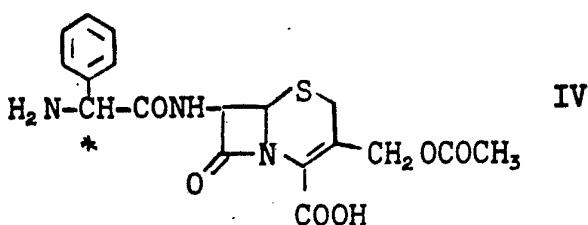
Zu den oben erwähnten nichttoxischen, pharmazeutisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formel I gehören insbesondere die Salze der sauren Carboxylgruppe, z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium-, Calcium-, Aluminium- und Ammoniumsalze, und nichttoxische substituierte Ammoniumsalze mit Aminen, wie Di- und Trialkylaminen (vorzugsweise C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> Alkyl), Procain, Dibenzylamin, N,N'-Dibenzyläthylen-diamin, N-Benzyl- $\beta$ -phenyläthylamin, N-Methyl- und N-Äthylmorpholin, 1-Ephenamin, Dehydroabietylamin, N,N'-Bis-dehydroabietyläthylen-diamin, N-Niedrigalkylpiperidin und anderen üblicherweise in der pharmazeutischen Chemie verwendeten Aminen, z.B. solchen, die auch zur Bildung von Salzen von Penicillinen verwendet worden sind.

Bevorzugte Salze der Verbindungen der Formel I sind die Natriumsalze.

Alle Kristallformen, Salze und Hydratformen der Verbindungen der Formel I sind in gleicher Weise als antibakterielle Mittel geeignet. So sind beispielsweise die freien Säuren und die Natriumsalze sowohl in amorpher wie in kristalliner Form und sowohl wasserfrei wie in verschiedenen Hydratformen, beispielsweise als Monohydrat in gleicher Weise als antibakterielle Mittel verwendbar.

Die Herstellung der Ausgangsstoffe der allgemeinen Formel II ist in den Beispielen beschrieben; sie werden gemäß einem eigenen Vorschlag z.B. wie folgt erhalten:

Verbindungen der Formel



IV

in welcher C\* die oben angegebene Bedeutung hat oder deren Salze, z.B. Natriumsalze, werden mit etwa äquimolaren Mengen von Verbindungen der Formel V



V

in welcher R<sub>1</sub> die oben angegebene Bedeutung hat und

W für Halogen, insbesondere Chlor steht, bei Temperaturen zwischen vorzugsweise 0 und 25°C, z.B. unter Kühlung mit Eis/Wasser umgesetzt. Hierbei wird durch Basenzusatz, z.B. Triäthylamin der pH-Wertbereich von etwa 7,0 bis 7,5 beibehalten. Als Lösungsmittel kann z.B. 20% (Volumenteile) wässriges Tetrahydrofuran (THF) verwendet werden. Man röhrt so lange nach, bis zur Aufrechterhaltung dieses pH-

20 Wertes kein Triäthylamin mehr zugegeben werden muss. Dann wird mit Wasser verdünnt, der pH-Wert gegebenenfalls auf 7,0 gebracht, das Tetrahydrofuran weitgehend am Rotationsverdampfer entfernt, die verbleibende Lösung einmal mit Essigester gewaschen, dann mit frischem Essigester überschichtet, unter Rühren und Kühlung mit verdünnter Salzsäure bis auf pH 2,0 angesäuert, die organische Phase abgetrennt, die wässrige Phase nochmal mit Essigester ausgeschüttelt und dann die vereinigten Essigester-Extrakte nach Waschen mit gesättigter Kochsalz-Lösung über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen des Trockenmittels wird mit dem gleichen Volumen Äther verdünnt und dann durch Zugabe einer etwa 1-molaren Lösung von Natrium-2-äthylhexanoat in Äther (der ca. 10% Methanol enthält) das Natriumsalz der Verbindung der Formel II gefällt, abfiltriert und getrocknet.

Die Verbindungen der Formel IV sind bereits bekannt oder nach bekannten Methoden erhältlich (vgl. z.B. E. H. Flynn, Cephalosporins and Penicillins, Academic Press, New York and London, 1972).

40 Die Verbindungen der Formel V sind bekannt bzw. nach bekannten Methoden erhältlich. Sie können z.B. in üblicher Weise durch die Umsetzung der heterocyclischen Verbindungen der allgemeinen Formel VI:



VI

50 in welcher

R<sub>1</sub> die oben angegebene Bedeutung hat, mit z.B. molaren Mengen Phosgen in inerten organischen Lösungsmitteln wie z.B. Tetrahydrofuran oder in Gemischen aus Wasser und inerten organischen Lösungsmitteln wie z.B. Chloroform bei Temperaturen von 0 bis 25°C in Abwesenheit oder in Gegenwart der molaren Menge einer Base wie z.B. Triäthylamin und übliche Aufarbeitung und Reinigung hergestellt werden.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel II können in 60 Form aller Kristallformen, Hydratformen, Salze und der leicht spaltbaren Derivate der sauren Carboxylgruppe, wie z.B. der leicht spaltbaren Ester, Amide oder Hydrazide, als Ausgangsmaterialien für die vorliegende Erfindung verwendet werden. 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol und 1-Methyl-

65 5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol sind an sich bekannt. Ihre Herstellung wird beispielsweise in J. prakt. Chem. 124, 275, (1930) bzw. belg. Patent 804 264 beschrieben.

Als Lösungsmittel bei der erfindungsgemäßen Reaktion der

Verbindungen der allgemeinen Formel II mit 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol oder 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol eignet sich in erster Linie Wasser; es sind jedoch auch Mischungen aus Wasser mit Aceton, Tetrahydrofuran, Dioxan, Acetonitril, Dimethylformamid, Isopropanol, Äthanol, Dimethylsulfoxid und anderen mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln oder die hier aufgeführten Lösungsmittel (einzelnen oder als Gemische) ohne Zusatz von Wasser als Reaktionsmedium geeignet.

Der pH-Wert der erfundungsgemäßen Reaktion kann in weiten Grenzen durch den Zusatz von Säuren oder Basen oder Puffergemischen zwischen 2 und 9 variiert werden, bevorzugt ist ein pH-Wert von 5.

Die Reaktionstemperaturen können in einem grösseren Bereich variiert werden. Erfundungsgemäss arbeitet man zwischen +20 und 100°C, vorzugsweise zwischen 50 und 80°C.

Wie bei den meisten chemischen Reaktionen können höhere oder niedrigere Temperaturen als die in den Beispielen angegebenen verwendet werden. Geht man jedoch beträchtlich über die dort angegebenen Werte hinaus, werden in zunehmendem Massse Nebenreaktionen stattfinden, die die Ausbeute vermindern oder die Reinheit der Produkte nachteilig beeinflussen. Andererseits vermindern übermässig erniedrigte Reaktionstemperaturen die Reaktionsgeschwindigkeit so stark, dass Ausbeuteminderungen auftreten können.

Die Umsetzung kann bei Normaldruck, aber auch bei verminderter oder erhöhtem Druck ausgeführt werden. Im allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Bei der Durchführung der erfundungsgemässen Verfahren können die Reaktionspartner in äquimolekularen Mengen miteinander zur Reaktion gebracht werden. Es ist jedoch häufig zweckmässig, dass 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol oder das 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol in einem Überschuss von 0,5–2,5 Moläquivalenten einzusetzen, um einen vollständigen Umsatz mit den Reaktionspartnern der allgemeinen Formel II zu erreichen.

Die Aufarbeitung der Reaktionsansätze zur Herstellung der neuen Cephalosporine und ihrer Salze kann durchweg in der aus der Cephalosporinchemie allgemein bekannten Art und Weise erfolgen.

Die erfundungsgemäss erhaltenen Verbindungen weisen bei geringer Toxizität eine starke antimikrobielle Wirksamkeit auf. Diese Eigenschaften ermöglichen ihre Verwendung als chemotherapeutische Wirkstoffe in der Medizin sowie als Stoffe zur Konservierung von anorganischen und organischen Materialien, insbesondere von organischen Materialien aller Art, z.B. Polymeren, Schmiermitteln, Farben, Fasern, Leder, Papier und Holz, von Lebensmitteln und von Wasser.

Die neuen Wirkstoffe sind gegen ein sehr breites Spektrum von Mikroorganismen wirksam. Mit ihrer Hilfe können z.B. Gram-negative und Gram-positive Bakterien und bakterienähnliche Mikroorganismen bekämpft sowie die durch diese Erreger hervorgerufenen Erkrankungen verhindert, gebessert und/oder geheilt werden.

Besonders wirksam sind die erfundungsgemäss hergestellten Wirkstoffe gegen Bakterien und bakterienähnliche Mikroorganismen. Sie sind daher besonders gut zur Prophylaxe und Chemotherapie von lokalen und systemischen Infektionen in der Human- und Tiermedizin geeignet, die durch diese Erreger hervorgerufen werden.

Beispielsweise können lokale und/oder systemische Erkrankungen behandelt und/oder verhindert werden, die durch die folgenden Erreger oder durch Mischungen der folgenden Erreger verursacht werden:

Micrococcaceae, wie Staphylokokken, z.B. *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. aerogenes* und *Gaffkya tetragena* (*Staph.* = *Staphylococcus*);

Lactobacteriaceae, wie Streptokokken, z.B. *Streptococcus*

*pyogenes*,  $\alpha$ -bzw.  $\beta$ -hämolisierende Streptokokken, nicht ( $\gamma$ )-hämolisierende Streptokokken, *Str. viridans*, *Str. faecalis* (Enterokokken), *Str. agalactiae*, *Str. lactis*, *Str. equi*, *Str. anaerobius* und *Diplococcus pneumoniae* (Pneumokokken) (*Str.* = *Streptococcus*);

Neisseriaceae, wie Neisserien, z.B. *Neisseria gonorrhoeae* (Gonokokken), *N.meningitidis* (Meningokokken), *N.catarrhalis* und *N.flava* (*N.* = *Neisseria*);

Corynebacteriaceae, wie Corynebakterien, z.B. *Corynebacterium diphtheriae*, *C.pyogenes*, *C.diphtheroides*, *C.acnes*, *C.parvum*, *C.bovis*, *C.renale*, *C.ovis*, *C.murisepticum*.

Enterobacteriaceae, wie *Escherichiae*-Baktieren der Coli-Gruppe, *Escherichia*-Bakterien, z.B. *Escherichia coli*, Enterobacter-Bakterien, z.B. *aerogenes*, *E.cloacae*, *Klebsiella*-

Bakterien, z. B. *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *Erwiniae*, z. B. *Erwinia spec.*, *Serratia*, z. B. *Serratia marcescens* (*E.* = *Enterobacter*) (*K.* = *Klebsiella*), *Proteae*-Bakterien der *Proteus*-Gruppe, *Proteus*, z.B. *Proteus vulgaris*, *Pr.morganii*, *Pr.rettgeri*, *Pr.mirabilis* (*Pr.* = *Proteus*), *Providencia* z.B. *Providencia* sp., *Salmonelleae*, *Salmonella*-Bakterien, z. B. *salmonella paratyphi A* und *B*, *S. typhi*, *S.enteritidis*, *S.cholerae suis*, *S.typhimurium* (*S.* = *Salmonella*), *Shegella*-Bakterien, z.B. *Shigella dysenteriae*, *Sh.ambigua*, *Sh.flexneri*, *Sh.boydii*, *Sh.sonnei* (*Sh.* = *Shigella*);

*Pseudomonadaceae*, wie *Pseudomonas*-Bakterien, z.B. *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps.pseudomallei* (*Ps.* = *Pseudomonas*), *Aeromonas*-Bakterien, z.B. *Aeromonas liquefaciens*, *A.hydrophila* (*A.* = *Aeromonas*);

*Spirillaceae*, wie *Vibrio*-Bakterien, z.B. *Vibrio cholerae*, *V.proteus*, *V.fetus* (*V.* = *Vibrio*), *Spirillum*-Bakterien, z.B. *Spirillum minus*;

*Parvobacteriaceae* oder *Brucellaceae*, wie *Pasteurelle*-Bakterien, z.B. *Pasturella multocida*, *Past.pestis* (*Yersinia*), *Past.-pseudotuberculosis*, *Past.tularensis* (*Past.* = *Pasteurella*),

*Brucella*-Bakterien, z.B. *Brucella abortus*, *Br.melitensis*, *Br.suis* (*Br.* = *Brucella*), *Haemophilus*-Bakterien, z.B. *Haemophilus influenzae*, *H.ducreyi*, *H.suis*, *H.canis*, *H.aegyptius* (*H.* = *Haemophilus*).

*Bacteroidaceae*, wie *Bacteroides*-Bakterien, z.B. *Bacteroides fragilis*, *B.serps* (*B.* = *Bacteroides*).

*Bacillaceae*, wie *Aerobe Sporenbildner*, z.B. *Bacillus anthracis*, *B.subtilis*, *B.cereus* (*B.* = *Bacillus*), *Anaerobe Sporenbildner*-*Clostridien*, z. B. *Clostridium perfringens*, *Cleptobacillus*, *Clo.oeedematiens*, *Cle.histolyticum*, *Cle.tetani*, *Cle.botulinum* (*Cle.* = *Clostridium*).

Die obige Aufzählung von Erregern ist lediglich beispielhaft und keineswegs beschränkend aufzufassen.

Als Krankheiten, die durch die erfundungsgemäss erhältlichen Wirkstoffe verhindert, gebessert und/oder geheilt werden können, seien beispielsweise genannt:

Erkrankungen der Atmungswege und des Rachenraumes; Otitis; Pharyngitis; Pneumonie; Peritonitis; Pyelonephritis; Cystitis; Endocarditis; Systeminfektionen; Bronchitis; Arthritis.

Pharmazeutische Zubereitungen enthalten gewöhnlich neben nichttoxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen einen oder mehrere neue Wirkstoffe oder sie können aus einem oder mehreren der neuen Wirkstoffe bestehen.

Dosierungseinheiten sind Zubereitungen in Form einzelner Teile, wie z. B. als Tabletten, Dragées, Kapseln, Pillen, Suppositorien und Ampullen vorliegen und deren Wirkstoffgehalt einem Bruchteil oder einem Vielfachen einer Einzeldosis entspricht. Die Dosierungseinheiten können z. B. 1, 2, 3 oder 4 Einzeldosen oder  $1/2$ ,  $1/3$  oder  $1/4$  einer Einzeldosis enthalten. Eine Einzeldosis enthält vorzugsweise die Menge Wirkstoff, die bei einer Applikation verabreicht wird und die gewöhnlich

einer ganzen, einer halben oder einem Drittel oder einem Viertel einer Tagesdosis entspricht.

Unter nichttoxischen, inerten, pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen sind feste, halbfeste oder flüssige Verdünnungsmittel, Füllstoffe und Formulierungshilfsmittel jeder Art zu verstehen.

Als bevorzugte pharmazeutische Zubereitungen seien Tabletten, Dragées, Kapseln, Pillen, Granulate, Suppositorien, Lösungen, Suspensionen und Emulsionen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotions, Puder und Sprays genannt.

Tabletten, Dragées, Kapseln, Pillen und Granulate können den oder die Wirkstoffe neben den üblichen Trägerstoffen enthalten, wie (a) Füll- und Streckmittel, z.B. Stärken, Milchzucker, Rohrzucker, Glukose, Mannit und Kieselsäure, (b) Bindemittel, z.B. Carboxymethylcellulose, Alginate, Gelatine, Polyvinylpyrrolidon, (c) Feuchthaltemittel, z.B. Glycerin, (d) Sprengmittel, z.B. Agar-Agar, Calciumcarbonat und Natriumbicarbonat, (e) Lösungsverzögerer, z.B. Paraffin und (f) Resorptionsbeschleuniger, z.B. quarternäre Ammoniumverbindungen, (g) Netzmittel, z.B. Cetylalkohol, Glycerinmonostearat, (h) Adsorptionsmittel, z.B. Kaolin und Bentonit und (i) Gleitmittel, z.B. Talcum, Calcium- und Magnesiumstearat und feste Polyäthylenglykole oder Gemische der unter (a) bis (i) aufgeführten Stoffe.

Die Tabletten, Dragées, Kapseln, Pillen und Granulate können mit den üblichen gegebenenfalls Opakisierungsmittel enthaltenden Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt sein, dass sie den oder die Wirkstoffe nur oder bevorzugt in einem bestimmten Teil des Intestinaltraktes, gegebenenfalls verzögert abgeben, wobei als Einbettungsmassen z.B. Polymersubstanzen und Wachse verwendet werden können.

Der oder die Wirkstoffe können gegebenenfalls mit einem oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Suppositorien können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen wasserlöslichen oder wasserunlöslichen Trägerstoffe enthalten, z.B. Polyäthylenglykole, Fette, z.B. Kakaofett und höhere Ester (z.B. C<sub>14</sub>-Alkohol mit C<sub>16</sub>-Fettsäure) und Gemische dieser Stoffe.

Salben, Pasten, Cremes und Gele können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, z.B. tierische und pflanzliche Fette, Wachse, Paraffine, Stärke, Tragant, Cellulosederivate, Polyäthylenglykole, Silicone, Bentonite, Kieselsäure, Talcum und Zinkoxid oder Gemische dieser Stoffe.

Puder und Sprays können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, z.B. Milchzucker, Talcum, Kieselsäure, Aluminiumhydroxid, Calciumsilikat und Polyamidpulver oder Gemische dieser Stoffe. Sprays können zusätzlich die üblichen Treibmittel z.B. Chlorfluorkohlenwasserstoffe enthalten.

Lösungen und Emulsionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie Lösungsmittel, Lösungsvermittler und Emulgatoren, z.B. Wasser, Äthylalkohol, Isopropylalkohol, Äthylcarbonat, Äthylacetat, Benzylalkohol, Benzylbenzoat, Propylenglykol, 1,3-Butylenglykol, Dimethylformamid, Öle, insbesondere Baumwollsaatöl, Erdnussöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Ricinusöl und Sesamöl, Glycerin, Glycerinformal, Tetrahydrofurfurylalkohol, Polyäthylenglykole und Fettsäureester des Sorbitans oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Zur parenteralen Applikation können die Lösungen und Emulsionen auch in steriler und blutisotonischer Form vorliegen.

Suspensionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie flüssige Verdünnungsmittel, z.B. Wasser, Äthylalkohol, Propylenglykol, Suspendiermittel, z.B.

äthoxylierte Isostearylalkohole, Polyoxyäthylensorbit- und Sorbitanester, mikrokristalline Cellulose, Aluminiummetahydroxid, Bentonit, Agar-Agar und Tragant oder Gemische oder Stoffe enthalten.

s Die genannten Formulierungsformen können auch Färbemittel, Konservierungsstoffe sowie geruchs- und geschmacksverbessernde Zusätze, z.B. Pfefferminzöl und Eukalyptusöl und Süßmittel z.B. Saccharin enthalten.

Die therapeutisch wirksamen Verbindungen sollen in den 10 oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1, bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gewichtsprozent der Gesamtmission vorhanden sein.

Die oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen 15 können ausser den erfundungsgemäss erhaltenen Wirkstoffen auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten.

Die Herstellung der oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen kann in üblicher Weise nach bekannten Methoden, z.B. durch Mischen des oder der Wirkstoffe nach dem 20 oder den Trägerstoffen, erfolgen.

Die Wirkstoffe oder die pharmazeutischen Zubereitungen können lokal, oral, parenteral, intraperitoneal und/oder rectal, vorzugsweise parenteral, insbesondere intravenös und intramuskulös appliziert werden.

25 Im allgemeinen hat es sich sowohl in der Human- als auch der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen, den oder die neuen Wirkstoffe in Gesamtmengen von etwa 6 bis etwa 800, vorzugsweise 15 bis 300 mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, gegebenenfalls in Form mehrerer, z. B. von 3 Einzelgaben zur

30 Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu verabreichen. Eine Einzelgabe enthält den oder die neuen Wirkstoffe, vorzugsweise in Mengen von etwa 2 bis etwa 300, insbesondere 5 bis 100 mg/kg Körpergewicht. Es kann jedoch erforderlich sein, von den genannten Dosierungen abzuweichen und zwar in

35 Abhängigkeit von der Art und dem Körpergewicht des zu behandelnden Objekts, der Art und der Schwere der Erkrankung, der Art der Zubereitung und der Applikation des Arzneimittels sowie dem Zeitraum bzw. Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen

40 ausreichend sein, mit weniger als der oben genannten Menge Wirkstoff auszukommen, während in anderen Fällen die oben angeführte Wirkstoffmenge überschritten werden muss. Die Festlegung der jeweils erforderlichen optimalen Dosierung und Applikationsart der Wirkstoffe kann durch jeden Fachmann 45 aufgrund seines Fachwissens leicht erfolgen.

Im Falle der Anwendung als Futterzusatzmittel können die neuen Verbindungen in üblicher Weise zusammen mit dem Futter bzw. mit Futterzubereitungen oder mit dem Trinkwasser gegeben werden. Dadurch kann eine Infektion durch Gram-negative oder Gram-positive Bakterien verhindert und ebenso eine bessere Verwertung des Futters erreicht werden.

Die neuen Cephalosporine zeichnen sich durch starke antibakterielle Wirkungen, die in vivo und in vitro geprüft wurden, und durch orale Resorbierbarkeit aus.

55 Die erfundungsgemäss erhaltenen Cephalosporine können zum Zwecke der Erweiterung des Wirkungsspektrums oder zur Wirkungssteigerung mit Aminoglykosidantibiotika wie Gentamicin, Kanamycin, Sisomicin, Amikacin oder Tobramycin kombiniert werden.

60 Die Wirksamkeit der erfundungsgemäss herstellbaren Cephalosporine kann beispielhaft durch die folgenden in vitro- und in vivo-Versuche demonstriert werden:

a) In vitro-Versuch

65 Die Cephalosporine der Beispiele 1, 2 und 3, welche als typische Vertreter der erfundungsgemäss erhältlichen Verbindungen betrachtet werden können, wurden mit Müller-Hinton-Nährbrühe unter Zusatz von 0,1 Gew.-% Glucose auf einen

Gehalt von 100 µg/ml verdünnt. In der Nährlösung befanden sich jeweils  $1 \times 10^5$  bis  $2 \times 10^5$  Bakterien pro Millimeter. Die Röhrchen mit diesem Ansatz wurden jeweils 24 Stunden bebrütet und anschliessend wurde der Trübunggrad bestimmt. Trübungsfreiheit gibt Wirkung an. Bei der Dosierung von 100 µg/ml waren die folgenden Bakterienkulturen trübungsfrei (sp. = species):

Klebsiella pneumoniae; Enterobacter aerogenes sp.; Providencia; Serratia marcescens; Escherichia coli BE; Salmonella sp.; Shigella sp.; Proteus, indolnegativ und indolpositiv sp.; Pasteurella pseudotuberculosis; Brucella sp.; Haemophilus influenzae; Staphylococcus aureus 133; Neisseria catarrhalis sp.; Diplococcus pneumoniae sp.; Streptococcus pyogenes W.;

Enterococcus sp.;

Lactobacillus sp.; Corynebacterium diphtheriae gravis; Corynebacterium pyogenes M; Clostridium botulinum; Clostridium tetani;

5

#### b) In vivo-Versuch

Aus der Tabelle 1 geht die Wirkung eines der erfundungs-gemässen Cephalosporine, welches als typisch für die erfundungs-gemässen Verbindungen betrachtet werden kann, gegen eine Reihe von Bakterien im Tierversuch mit der weissen Maus hervor. Die weissen Mäuse vom Stamm CF<sub>1</sub> wurden intraperitoneal mit der jeweils angegebenen Bakterienart infiziert.

Tabelle 1  
Tierversuch mit der weissen Maus:  
Bestimmung der ED<sub>50</sub> nach 24 Stunden

Keim	Dosis in mg des Cephalosporins von Beispiel 1 und 2 pro kg Körpergewicht (subcutan)
E. coli Neumann	1 × 200
Ps. aerug. W	4 × 150 } Beispiel 1
E. coli Neumann	1 × 100
Klebsiella 63	2 × 50

#### Therapie:

1 malig: 30 Minuten nach Infektion

2 malig: 30 Min. und 90 Min. nach Infektion

4 malig: 30 Min. nach Infektion und 2,4 und 6 Std. p.i.

Die ED<sub>50</sub> ist die Dosis, bei der 50 % der infizierten Tiere nach 24 Stunden noch überleben.

Die Herstellung der neuen Verbindungen der Formel I sei anhand der folgenden Beispiele erläutert:

Erläuterung der verwendeten Abkürzungen:

Gew.Tle. = Gewichtsteile

Gew.Thn. = Gewichtsteilen

Vol.Tle. = Volumenteile

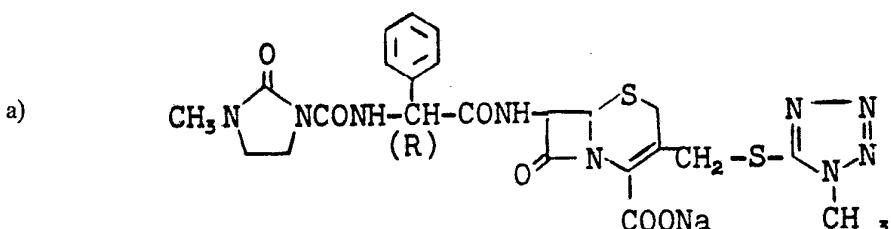
Vol.Thn. = Volumenteilen

Min. = Minuten  
Std. = Stunde  
Fp. = Schmelzpunkt  
Stdn. = Stunden  
Zers.-p. = Zersetzungspunkt

i. V. = im Vakuum  
Essigester = Essigsäureäthylester  
DMSO = Dimethylsulfoxid  
Äther = Diäthyläther  
Mesyl = Methylsulfonyl

Alle Ausbeuteangaben in % beziehen sich auf % der Theorie.  
Alle Temperaturen sind in °C angegeben.

#### Beispiel 1



Das Gemisch aus 2,0 Gew.-Teilen Natrium-7-[D-α-[(2-oxo-3-methyl-imidazolin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido]-3-acetoxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylat, 0,67 Gew.-Teilen 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol und 20 Vol.-Teilen 1-molarem Phosphatpuffer (pH = 7) wurde bei pH = 5 unter Stickstoffatmosphäre 5 Std. lang auf 70 °C erhitzt, dann auf Raumtemperatur abgekühlt auf pH = 7 eingestellt, einmal mit 20 Vol.-Teilen Essigester extrahiert, der verworfen wurde, und anschliessend auf pH = 2 gebracht, nachdem mit 150 Vol.-Teilen Essigester überschichtet worden war. Man saugte vom vorhandenen Niederschlag der Cephalosporinsäure ab und wusch mit 50 Vol.-Teilen Essigester nach. Die Säure wurde in wenig Dimethylacetamid gelöst, mit 0,5 Vol.-Teilen einer 1-molaren Lösung von Natrium-2-äthylhexanoat in methanolhaltigem Äther und mit Äther bis zur vollständigen Fällung des Cephalosporin-Natriumsalzes versetzt.

Ausbeute 1. Fraktion: 13,5 %.

Die oben gewonnene Essigesterphase wurde abgetrennt, einmal mit 50 Vol.-Teilen Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und mit 2,5 Vol.-Teilen einer 1-molaren Lösung von Natrium-2-äthylhexanoat in methanolhaltigem Äther versetzt. Man dampfte am Rotationsverdampfer bis zur ölichen Konsistenz ein, löste in der doppelten Vol.-Menge Methanol und tropfte unter heftigem Rühren in eiskalten 10% Methanol enthaltenden Äther ein. Es wurde abgesaugt, mit Äther gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Exsiccator getrocknet.

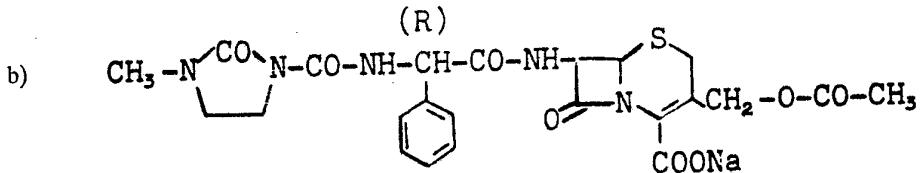
2. Fraktion: Ausbeute an Cephalosporin-Natriumsalz 59 %.

Gesamtausbeute 1. + 2. Fraktion Natrium-7-[D-α-[(2-oxo-3-methyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carboxylat]: 72,5 %.

β-Lactamgehalt nach IR- und NMR-Spektrum: 75 %.

IR-Banden bei 3270, 1780, 1765, 1660, 1612, 1554, 1540, 1412, 1296 und 1263 cm<sup>-1</sup> (in Nujol).  
NMR-Signale bei  $\tau$  = 2,3–2,8 (5H); 4,25 (1H); 4,45 (1H);

4,95 (1H); 5,8 (2H); 6,0 (3H); 6–6,8 (6H) und 7,15 ppm (3H) (in CD<sub>3</sub>OD).



2,2 Gew.-Teile Cephaloglycin wurden in 30 Vol.-Teilen 80%igem wässrigem Tetrahydrofuran mittels der gerade eben nötigen Menge Triäthylamin gelöst. Bei 20°C wurden dann 0,85 Gew.-Teile 1-Chlorocarbonyl-2-oxo-3-methyl-imidazolidin unter Rühren eingetragen. Durch entsprechendes Zugeben von Triäthylamin hielt man dabei und anschliessend den pH auf 7,0. Es wurde so lange nachgerührt, bis zur Aufrechterhaltung des pH 7,0 kein Triäthylamin mehr zugegeben werden musste (ca. 1 Std.).

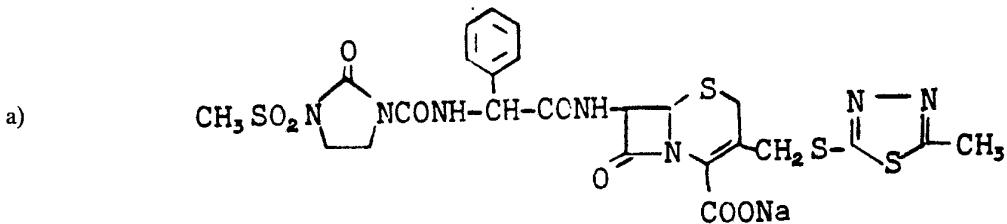
Dann wurde mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, der pH auf 6,5 eingestellt, das Tetrahydrofuran im Vakuum entfernt, die verbleibende wässrige Lösung mit einem Gemisch aus Äther und Essigsäureäthylester (1:1) überschichtet, unter Rühren und gelinder Kühlung bis auf pH 2 angesäuert, die

15 organische Phase abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und mittels einer etwa 1-molaren Natrium-2-äthylhexanoat-Lösung in methanolhaltigem Äther das Natriumsalz des Cephalosporins ausgefällt. Das Natriumsalz fiel als gelartiger aber absaugbarer Niederschlag aus. Nach 20 dem Waschen mit Äther wurde es im Exsiccator getrocknet. Ausbeute: 2,1 Gew.-Teile 7-[D- $\alpha$ -[(3-Methyl-2-oxo-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido]-3-acetoxymethyl-ceph-3-em-4-carbonsaures-Natrium.

$\beta$ -Lactamgehalt: etwa 75%.

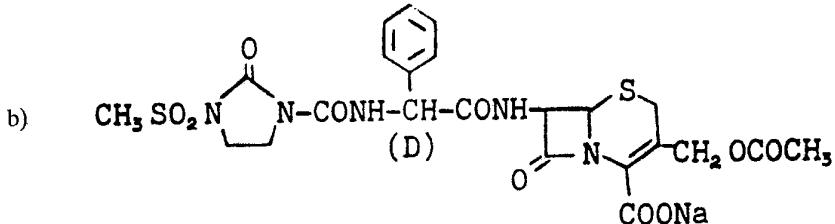
25 IR-Banden im Carbonylbereich 1780, 1720, 1650, 1610 und 1540 cm<sup>-1</sup> (in Nujol).  
NMR-Signale bei  $\tau$  = 2,4–2,8 (5H); 4,15–4,35 (1H); 4,9–5,2 (4H); 6,2–6,8 (6H); 7,2 (3H) und 7,95 ppm (3H).

### Beispiel 2



Dieses Cephalosporin wurde aus 1,23 Gew.-Teilen Natrium-7-[D- $\alpha$ -[(2-oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido]-3-acetoxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylat und 0,66 Gew.-Teilen 2-Methyl-5-mercaptop-1,3,4-thiadiazol in der im Beispiel 1a) beschriebenen Weise hergestellt.  
Ausbeute an Natrium-7-[D- $\alpha$ -[(2-oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido]-3-[[(2-

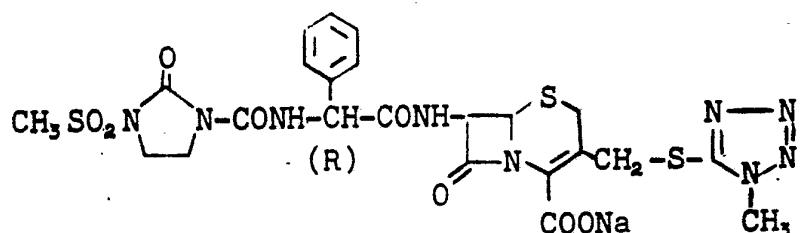
methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carboxylat: 64%.  
45  $\beta$ -Lactamgehalt nach IR- und NMR-Spektrum: 85%.  
IR-Banden bei 3350, 3270, 1780, 1745, 1655, 1595, 1520, 1342 und 1155 cm<sup>-1</sup> (in Nujol).  
NMR-Signale bei  $\tau$  = 0,7 (1H); 1,15 (1H); 2,3–3,0 (5H); 4,1–4,6 (2H); 5,1 (1H); 5,5 (2H); 6,1 (4H); 6,6 (3H); 6,3–6,9 (2H) und 7,34 ppm (3H) (in DMF-d<sub>7</sub>).



Natrium-7-[D- $\alpha$ -[(2-oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido]-3-acetoxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylat wurde in der im Beispiel 1b) beschriebenen Weise aus 1,3 Gew.-Teilen Cephaloglycin-Dihydrat und 0,77 Gew.-Teilen 1-Chlorcarbonyl-2-oxo-3-mesyl-imidazolidin in 71% Ausbeute hergestellt.

IR-Banden bei 3230, 1760, 1727, 1654, 1598, 1518, 1250, 1230, 1157, 1120 und 973 cm<sup>-1</sup>.  
65 NMR-Signale bei  $\tau$  = 2,3–2,7 (m, 5H); 4,25 + 4,95 (AX, 1H + 1H); 4,4 (s, 1H); 5,1 (d, 2H); 6,05 (s, 4H); 6,6 (m, 5H) und 7,9 ppm (3H).

## Beispiel 3



Dieses Cephalosporin wurde in der im Beispiel 1a) beschriebenen Weise aus 2,0 Gew.-Teilen Natrium-7-{D- $\alpha$ [(2-oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-acetoxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylat und 0,4 Gew.-Teilen 1-Methyl-5-mercaptop-1,2,3,4-tetrazol in 50% Ausbeute hergestellt.

Gehalt an Natrium-7-{D- $\alpha$ -[(2-oxo-3-mesyl-imidazolidin-1-yl)-carbonylamino]-phenylacetamido}-3-[{(1-

methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-ceph-3-em-4-carboxylat:

93 % aufgrund von IR- und NMR-Spektrum.  
15 IR-Banden bei 3270, 1770, 1740, 1715, 1655, 1598, 1512, 1348, 1245, 1160, 1120, 967, 753 und 696 cm<sup>-1</sup> (in Nujol). NMR-Signale bei  $\tau$  = 0,75 (1H); 1,15 (1H); 2,3–2,9 (5H); 4,15–4,5 (2H); 5,1 (1H); 5,6 (2H); 6,07 (3H); 6,15 (4H); 6,55 (2H) und 6,6 ppm (3H).