



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

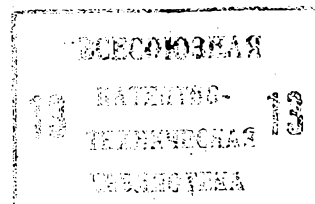
(59) **SU** (11) **1119607** **A**

3(59) С 07 D 501/06, С 07 D 501/36//
// А 61 К 31/545

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

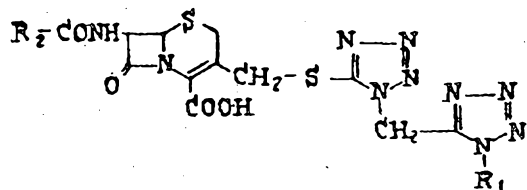
ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

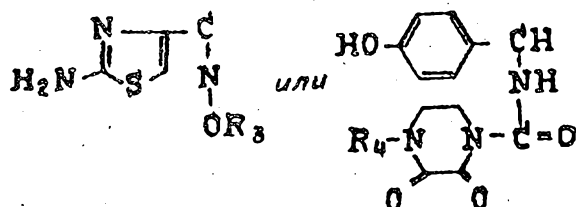


- (62) 3336819/23-04
(21) 3480177/23-04
(22) 20.08.82
(23) 16.09.81
(31) 187859
(32) 17.09.80
(33) США
(46) 15.10.84. Бюл. № 38
(72) Аллен Самуэль Катнер (Велико-британия)
(71) Эли Лилли энд Компани (США)
(53) 547.869.07 (088.8)
(56) 1. Патент США № 3641021, кл. 260-243, опублик. 1972.
2. Патент СССР № 566525, кл. С 07 D 501/06, 1973.

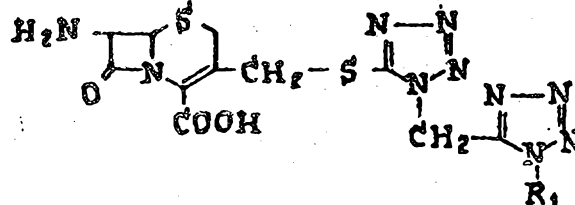
(54)(57) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ЦЕФАЛОСПОРИНА общей формулы I



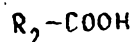
где R_1 - атом водорода или метил,
 R_2 - радикал общей формулы



где R_3 и R_4 - C_1 - C_4 -алкил, отличающийся тем, что соединение общей формулы II



где R_1 имеет указанные значения, подвергают взаимодействию с реакционно-способным производным кислоты общей формулы III



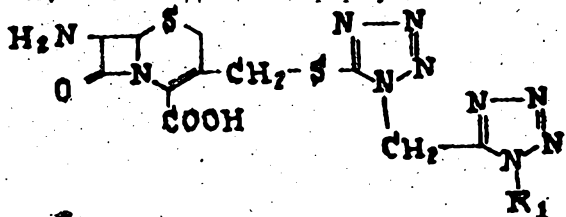
где R_2 имеет указанные значения, в среде водного органического растворителя в присутствии органического основания при комнатной температуре.

(59) **SU** (11) **1119607** **A**

R_FCONH1C(=O)NC2=C(C(=O)O)C=C(CS2)C3=NC4=NC(=N3)N(C4)CS5C6=NC7=NC(=N6)N(C7)R_1
$$\begin{array}{c} \text{N} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}=\text{S} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \parallel \\ \text{N}-\text{OR}_3 \end{array} \quad \text{and} \quad \begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH} \\ | \\ \text{NH} \\ | \\ \text{R}_4-\text{N} \quad \text{N}-\text{C}=\text{O} \\ | \quad \quad | \\ \text{O} \quad \quad \text{O} \end{array}$$

Известен способ получения биологически активной 7-(2-окси-2-фенил-ацетамидо)-3-(1-метил-1Н-тетразол-5-ил)тиометил-3-цефем-4-карбоновой кислоты (цефамандола), заключающийся в том, что 7-амино-3-(1-метил-1Н-тетразол-5-ил)тиометил-3-цефем-4-карбоновую кислоту подвергают ацилированию реакционноспособным производным миндальной (α -оксифенилуксусной) кислоты [1].

Цель достигается основанным на известной реакции N-ацилирования 7-аминоцефалоспоринов [2] способом получения производных цефалоспорина формулы (I), который заключается в том, что соединение формулы


$$R_2 - COOH$$

Бис-тетразолилтиометилзамещенные цефалоспорины являются антибиотиками широкого спектра, ингибирующими рост как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, которые являются патогенными по отношению к людям и животным. Антибактериальная активность этих соединений была продемонстрирована на опытах, проведенных в пробирке, с использованием метода, использующего рост агара. В приводимой далее табл. 1 указана минимальная ингибирующая концентрация следующих испытанных соединений общей формулы (I):

Е. Син-7 β - [α-метоксиимино-
α-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)-
ацетиамидо]-3-[1-(1Н-тетразол-5-ил-
метил)-1Н-тетразил-5-илтиометил]-
3-цефем-4-карбоновая кислота.

Ф. Син-7 β-[α-метоксимино-
-α-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)-
-ацетида]-3-[1-(1-метил-1Н-тетра-
зол-5-илметил)-1Н-тетразол-5-илтио-
метил]-3-цефем-4-карбоновая кислота.

Г. Син- β -[альфа-метоксимино-
-альфа-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)-
-ацетиамидо-3-[2-(1Н-тетразол-5-ил-
метил)-2Н-тетразол-5-илтиометил]-
-3-цефем-4-карбоновая кислота.

В качестве эталона использовали цефамандол.

Данные представленные в табл. 1, получены с помощью метода испытаний Мюллера-Хинтона с использованием раствора агара, содержащего 2% Supplement C (Ditco). Серийные двукратные разбавления были использованы в опытах с максимальными концентрациями, равными 126 мкг/мл.

Предлагаемое соединение Е было введено мышам, зараженным различными патогенами с целью определения эффективной дозы соединения (ED_{50}). Ниже приведены значения ED_{50} , которые определены для указанных инфек-

ций (подкожные дозы спустя 1 ч и 5 ч после инфекции).

Bacteria (strain)	Ед ₅₀ мг/кг ³ , S с*
Escherihia coli (EC14)	0,16
Proteus vulgaris (PV2S)	0,12
Serratia marcescens (SE3)	1,0
Staphylococcus aereus (3055)	7,6
Streptococcus pyogenes (C203)	0,21

Соединение оказалось также эффективным при лечении устойчивого к ампициллину менингита вида *Haemophilus influenzae* у детенышей крыс. Соединение присутствует в эффективных количествах в спинномозговой жидкости крыс, которым было введено это соединение подкожно в количестве 20 мг/кг живого веса. Соединения формулы (I) оказываются эффективными при лечении инфекционных заболеваний у людей и животных в тех случаях, когда они вводились парентерально при эффективной дозе в диапазоне примерно от 50 мг/кг живого веса до примерно 500 мг/кг живого веса. Соединения также могут быть введены внутримышечно или внутривенно в пригодных приготовлениях. Для внутримышечного приготовления могут быть получены стерильные растворы пригодной солевой формы соединения, например натриевой соли в фармацевтическом растворителе, таком же как вода, физиологический соляной раствор либо в виде суспензии в соответствующем фармацевтически пригодном масляном основании, таком как сложный эфир длинноцепной кислоты жирного ряда, такой как этиолеат. При внутривенном вводе фармацевтически пригодная соляная форма соединения готовится в физиологической жидкости, такой как раствор Рингера, 5%-ная декстроза или другая пригодная физиологическая жидкость. Количество вводимого антибиотика в общем случае зависит от тяжести заболевания, восприимчивости отдельного пациента, типа микроорганизма или микроорганизмов, вызвавших заболевание. Обычно эти соединения вводятся 2-4 раз в день до тех

пор, пока инфекция не будет уничтожена.

В примерах, приведенных ниже, сокращение HPLC означает жидкостную хроматографию с высокой разрешающей способностью и, если нет другого указания, то используется силикагелевая колонка типа Waters and Associates, Model 500. Спектр ядерно-магнитного резонанса был определен с помощью спектрометра типа Varian Associates, Model T-60, спектрометр типа Ieon Model FX 90 был использован для спектра при чистоте 90 МГц и спектрометр типа Ieon Model PT-100 был использован при частоте 100 МГц. Триметилсилан (TMS) был использован в качестве стандарта при определении спектра ядерно-магнитного резонанса. Обозначения, использованные при идентификации спектра ядерно-магнитного резонанса, означают: S = синглет, g = квартет, m = мультиплет, d = дублет, t = триплет.

В этих примерах для обозначения определения типов растворителей были использованы следующие обозначения: THF = тетрагидрофуран, DMF = диметилформамид, DMAC = диметилацетамид, MSA = триметилсилилацетамид, BSA = бис-триметилсилилацетамид.

Пример 1. 7-β-[альфа-метоксимино-альфа-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)ацетамидо(-3)1-(1-метил-1H-тиазол-5-илметил)-1H-тетразол-5-илтиометил]-3-цефем-4-карбоновая кислота.

К раствору, состоящему из 5,9 г (15,6 моль) 7-амино-3-1-(1-метил-1H-тетразол-5-илметил)-1H-тетразол-5-илтиометил-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 60 мл ацетата и 60 мл воды добавляют 6,2 г (17 ммоль) альфа-метоксимино-альфа-(2-амино-1,3-тиазол-5-ил)уксусной кислоты оксибензотриазолового сложного эфира и величину pH поддерживают равной 7,5 с помощью 45%-ного раствора фосфата калия. Полученную таким образом реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение примерно 12 ч, после чего выпаривают в вакууме с целью удаления растворителя-ацетона. Водный остаток с pH, равным 7, экстрагируют 2 раза порциями по 100 мл этилацетата, затем фильтруют. Водный слой охлаждают до 0°C и величину водородного показателя

теля доводят до 2,5 с помощью 20%-ной хлористоводородной кислоты. Продукт ацилирования, который образуется в виде остатка, отфильтровывают и промывают повторно водой. Полученный продукт подвергают вакуумной сушке при комнатной температуре.

Полученный продукт очищают с помощью жидкостной хроматографии с высокой разрешающей способностью следующим образом. Раствор, состоящий из 7 г соединения в 200 мл 0,05 М ацетата аммония, содержащего 0,3 мл гидроокиси аммония, помещают в хроматограф типа Waters and Associates модель 500, предназначенный для жидкостного хроматографирования и обеспечивающий высокую разрешающую способность, и хроматограмму получают на C_{18} обратимом фазном силикагеле первоначально с помощью смеси, состоящей из 12% ацетонитрила, 2% уксусной кислоты и 86% воды, а затем с помощью смеси, состоящей из 15% ацетонитрила, 2% уксусной кислоты и 83% воды. Собирают 32 фракции объемом 250 мл каждая, хроматограмму обрабатывают с помощью аналитического жидкостного хроматографа с высокой разрешающей способностью. Фракции 15-22 соединяют и концентрируют в вакууме. Продукт, осажденный из концентрата, фильтруют и промывают водой. После сушки получают 1,4 г целевого продукта.

Для очищенного продукта получен следующий спектр ЯМР: (100 МГц, DMSO = d_6) δ^H 3,65 (м, 2H, C-2 метилен), 3,85 (с, 3H, оксиметил), 4,15 (с, 3H, N-метил(тетразол)), 4,34 (м, 2H, C-3 метилен), 5,13 (д, 1H, C-6H), 5,76 (с, 1H, C-7H), 6,1 (с, 2H, метилен), 6,74 (с, 1H, тиазол Н), 7,20 (широкий с, 2H, тиазол аминокс Н), и 9,58 (д, 1H, амид Н) ppm. 45

Пример 2. 7-β-[альфа-метоксимино-альфа-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)-ацетамидо(-3-)-1-(1H-тетразол-5-илметил)-1H-тетразол-5-илтиометил]-3-цефем-4-карбоновая кислота.

К раствору, состоящему из 7,5 г (20,6 ммоль) 7-амино-3-[1-(1H-тетразол-5-илтиометил)-1H-тетразол-5-илтиометил]-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 75 мл воды и 75 мл ацетона добавляют 8,6 г (23,5 ммоль) альфа-метоксимино-альфа-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил уксусной кислоты

оксидбензотриазолового сложного эфира. Ацилируемую смесь выдерживают при величине pH, равной 7,5, с помощью 45%-ного раствора фосфата калия. Эту реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение примерно 12 ч и выпаривают в вакууме с целью удаления растворителя - ацетона. Водный остаток фильтруют и охлаждают в ледяной ванне. Величину pH водной фазы доводят до 2,4 с помощью 20%-ной хлористоводородной кислоты. Продукт осаждают в виде вязкого желтого осадка, затем фильтруют, промывают повторно водой и сушат воздухом. В результате получают 6,5 г продукта в виде твердого вещества светло-бежевого цвета.

Полученный продукт очищают с помощью жидкостного хроматографирования с высокой разрешающей способностью следующим образом. Примерно 12 г продукта - сырья, полученного, как описано, растворяют в 100 мл воды при добавлении 45%-ного водного раствора фосфата калия до тех пор, пока pH не достигают 5,4. Этот раствор прокачивают через хроматографическую колонку, заполненную силикагелем, через набивку с обратимой фазой при использовании жидкостного хроматографа с высокой разрешающей способностью типа Waters and Associates модель 500, с использованием следующих систем:

А. 8% ацетонитрила, 2% уксусной кислоты, 90% воды (4 л).

В. 10% ацетонитрила, 2% уксусной кислоты, 88% воды (6 л).

40 фракций, объемом 250 мл каждая, собирают и исследуют на ультрафиолетовое поглощение. Фракции 11-22 соединяют и лиофилизируют до получения 2,5 г аморфного твердого продукта.

Данные спектра ЯМР: 360 МГц, DMSO- d_6 : δ^H (ppm): 3,65 (м, 2H, C-2 метилен), 3,85 (с, 3H, оксиметил, син), 4,35 (с, 2H, C-3 метилен), 5,13 (д, 1H, C-6H), 5,80 (с, 1H, C-7H), 6,02 (м, 2H, метилен между тетразол кольцами), 6,75 (с, 1H, тиазоловое кольцо Н), 7,24 (широкий с, 2H, тиазоламино) и 9,60 (д, 1H, 7-амид Н).

Пример 3. 7-[альфа-(4-этилпиперазин-2,3-диокс-1-илкарбо-

ниламино)-альфа-(4-оксифенил)ацет-
амидо]-3- 1-(1Н-тетразол-5-ил-метил)-
-1Н-тетразол-5-илтиометил -3-цефем-
-4-карбоновая кислота.

К суспензии, состоящей из 8,3 г (50 ммоль) 4-оксифенилглицина в 75 мл тетрагидрофурана, добавляют 25 мл бис-триметилсилилацетамида и полученную таким образом суспензию перемешивают при комнатной температуре в течение 15 мин, а затем при 75°C в течение 2,5 ч с образованием раствора. Этот раствор охлаждают до 0°C и к нему добавляют 25 мл окиси пропилена. Затем добавляют раствор, состоящий из 11 г 4-этилпиперазин-2,3-дион-1-илкарбонилхлорида в 100 мл тетрагидрофурана и полученную таким образом реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при 0°C, затем при комнатной температуре в течение 4 ч. К полученной таким образом реакционной смеси добавляют 40 мл метилового спирта и после перемешивания в течение 15 мин реакционную смесь выпаривают досуха. Образовавшийся смолообразный остаток растворяют в смеси, состоящей из этилацетата и водного раствора бикарбоната натрия, водный слой отделяют, промывают этилацетатом, фильтруют и охлаждают до 0°C. Холодный раствор расслаивают с помощью 200 мл свежего этилацетата, величину pH доводят до 1,9 с помощью концентрированной хлористоводородной кислоты. Полученную органическую фазу отделяют, соединяют с этилацетатом, промывают от окисленной водной фазы и сушат с помощью сульфата натрия. В результате выпаривания сухой органической фазы получают 6,7 г (40% от теоретического выхода альфа-(4-этилпиперазин-2,3-дион-1-илкарбониламино)-4-оксифенилуксусной кислоты.

Раствор, содержащий 670 мг (2 ммоль) этой кислоты и 306 мг оксибензотриазола в 10 мл тетрагидрофурана и содержащий 0,5 г молекулярного сита перемешивают при комнатной температуре в течение 1 ч, полученный раствор охлаждают до 0°C и 450 мг дициклогексилкарбодиимида добавляют при непрерывном перемешивании в течение 20 мин. Реакционную смесь фильтруют для удаления молекулярного сита и дициклогексилмоче-

вины, а полученный фильтрат добавляют к охлажденному до 0°C раствору, содержащему 750 мг (2 ммоль) 7-амино-3-(1-(1Н-тетразол-5-илметил)-1Н-тетразол-5-илтиометил)-3-цефем-4-карбоновой кислоты в 5 мл тетрагидрофурана и 5 мл воды, содержащей 0,52 мл триэтиламина. Полученную таким образом реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение примерно 16 ч и затем выпаривают в вакууме с целью удаления тетрагидрофурана. Концентрат разбавляют 20 мл воды и величину pH доводят с помощью 45%-ного водного раствора фосфата калия. Окисленный раствор промывают 20 мл этилацетата, фильтруют, охлаждают до 0°C и подкисляют до pH 1,9 с помощью 20%-ной хлористоводородной кислоты. Продукт выпадает в осадок в виде смолы. Верхний слой сливают. Чистую воду в количестве 25 мл добавляют к смоле и полученную смесь подвергают ультразвуковым колебаниям в течение 15 мин до тех пор, пока не происходит образование продукта в виде твердого вещества светло-коричневого цвета. Продукт отфильтровывают, промывают водой и сушат в вакууме при комнатной температуре. В результате получают 750 мг продукта, указанного в заголовке.

Этот продукт очищают следующим образом. Суспензию, состоящую из 700 мг продукта и 6 мл 0,05 М ацетата аммония, обрабатывают 2 каплями концентрированной гидроокиси аммония с образованием раствора. Этот раствор наносят на силикагель (С-18) с обратной фазой и хроматографируют на жидкостном хроматографе с высокой разрешающей способностью при давлении 16,87 кг/см² с использованием в качестве элюента смеси, состоящей из ацетонитрила, уксусной кислоты и воды в объемном соотношении 12:22:86. Собирают множество фракций объемом 20 мл. Фракции 104-120 соединяют и выпаривают с целью удаления ацетонитрила. Водный остаток лиофилизируют с получением 87 мг очищенного продукта, содержащего незначительное количество уксусной кислоты.

Спектр ЯМР: 90 МГц, DMSO-d₆:

δ 1,25 (t протоны, метилового осколка 4-этил группы), 3,4-4,2 (m, метиленовые протоны пиперазина и C-2

метилена), 4,46 (м, С-3 метилен),
5,14 (д, С-6Н), 5,62 (д, метин Н 4-
-оксифенилацетил группы, 5,88 (ф,

С-7Н), 6,08 (з, тетразол метилен),
7,10 (м, 4-оксифенил Н), 9,50 (д,
альфа-амид Н) и 9,91 (,6-7 амил Н) ppm.

Т а б л и ц а 1

Антибактериальная активность in vitro соединений формулы (I)
и цефамандола. Минимальная ингибирующая концентрация (мкг/мл)

Микроорганизм	Штамм	D	E	F	G	Цефамандол
1	2	3	4	5	6	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	X1.1	4	4	2	4	5
"	V41	16	8	4	8	2
	X400	>128	>128	>128	>128	32
	S13E	32	16	8	32	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	EP11	8	16	8	32	2
"	EP12	32	64	32	64	4
<i>Streptococcus Group A</i>	C203	5	06	03	03	125
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PARK	25	03	015	03	125
<i>Streptococcus Group D</i>	X66	128	>128	>128	>128	128
"	9960	64	16	16	>128	32
<i>Haemophilus influenzae</i>	Brun*	015	125	125	06	--
"	251**	015	125	125	06	--
"	C.L.*	--	--	--	--	--
"	76**	--	--	--	--	--
<i>Shigella sonnei</i>	N9	25	125	125	2	1
<i>Escherichia coli</i>	N10	2	25	25	25	2
"	EC14	125	06	06	125	5
"	TEM	16	125	125	125	4
<i>Klebsiella sp.</i>	X26	1	06	06	125	25
"	KAE	>128	16	4	8	>128
<i>Enterobacter aerogenes</i>	X68	25	06	125	06	1
"	C 32	2	25	125	25	1
"	EB17	.5	.25	.25	.25	.2

1	2	3	4	5	6	7
" cloacae	EB5	2	2	1	2	8
" -"	265F	128	64	32	64	>128
Salmonella sp.	X514	2	125	25	125	5
" -"	1335	4	25	5	5	2
Pseudomonas aeruginosa	X528	8	8	32	16	>128
" -"	X239	4	16	32	16	>128
" -"	Ps18	8	8	32	32	>128
Serratia marcescens	X93	1	25	125	25	4
" -"	SE3	4	1	5	2	64
Proteus morganii	PR15	1	06	125	5	1
" inconstans	PR33	2	125	5	1	1
" rettgeri	PR7	4	125	03	03	5
" "	C24	8	125	25	2	2
Citrobacter freundii	CF17	32	32	16	64	64
Bordetella bronchoseptica	16	32	32	128	64	32

*) Штамм, чувствительный к гриппу

**) Штамм, устойчивый к гриппу

Составитель З.Латышова
 Редактор А.Долинич Техред Л.Коцюбняк Корректор А.Ильин
 Заказ 7479/46 Тираж 409 Подписное
 ВНИИПИ Государственного комитета СССР
 по делам изобретений и открытий
 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

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