

(11) Patent numeris: **3870**

(51) Int.Cl.⁵: **C07D 501/02,
C07D 501/12,
C07D 501/34,
A61K 31/545**

(21) Paraiškos numeris: **IP1502**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 11 30**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 06 26**

(45) Patent paskelbimo data: **1996 04 25**

(72) Išradėjas:
**Gerd Fischer, DE
Elisabeth Defossa, DE
Uwe Gerlach, DE
Rolf Hoerlein, DE
Norbert Krass, DE
Rudolf Lattrell, DE
Ulrich Stache, DE
Theodor Wollmann, DE
Dieter Isert, DE**

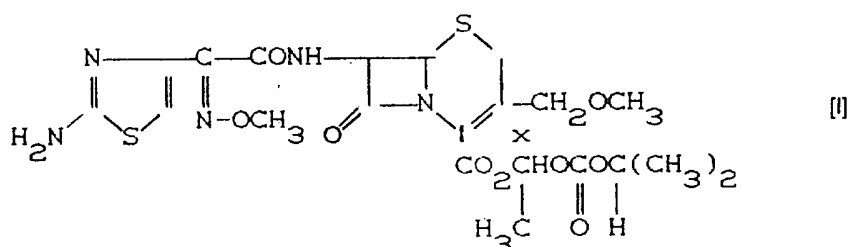
(73) Patent savininkas:
HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT, D-65926 Frankfurt am Main, DE

(74) Patentinis patikėtinis:
Reda Žabalienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

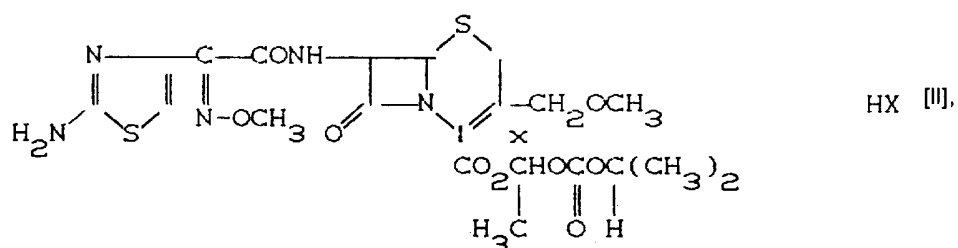
(54) Pavadinimas:
**3-Cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)estrio diastereomerai ir jų
gavimo būdai, antibakteriniai preparatai šių junginių pagrindu ir jų gavimo būdas**

(57) Referatas:

Aprašyti žarnyne rezorbuojami I formulės (6R, 7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)- metoksiimino)acetamido]-3-(metoksimetil)-3-cefem-4-karboksirūgšties diastereoizomerai

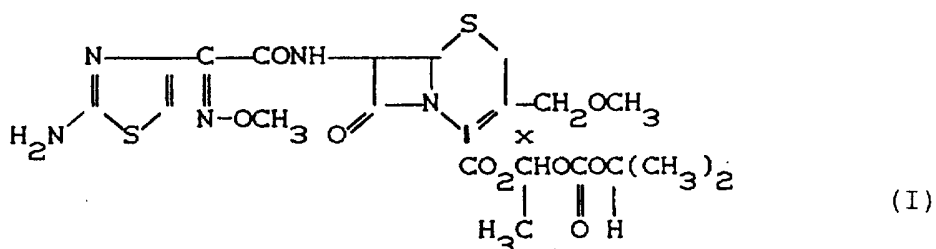


ir jų fiziologiškai tinkamos druskos bei II formulės junginių diastereomeriškai grynos druskos



kur HX yra vienbazė arba daugiabazė rūgštis, o X - neorganinis arba organinis fiziologiškai tinkamas anijonas, šių junginių gavimo būdas, besiskiriantis tuo, kad supilant I formulės diastereoizomerų mišinio 1 ekvivalento tirpalą su 0,2-2 ekvivalentais HY rūgštis, pradžioje nusodinamas ir nufiltruojamas mažiau tirpus IV formulės diastereoizomeras, o paskui iš filtrato nusodinamas labiau tirpus IV formulės diastereoizomeras, be to, nurodytose nuoseklioje stadijose HY rūgštis gali būti vienoda arba skirtinga, o įvairios HY rūgštys gali būti pridedamos bet kokia tvarka, gautos druskos esant reikalui papildomai valomos, jas kristalinant.

Išradimas skirtas žarnyne rezorbuojamų (6R,7R)-7-[2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino)acetamido]-3-(metoksimetil)-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksi-karbonilhidroksi)etilo esterio diastereomerams (I formulė)



jų fiziologiškai aktyvioms druskoms ir jų gavimo būdai.

JAV patente Nr. 4 486 425 aprašyti (6R,7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino)acetamido]-3-(metoksimetil)-3-cefem-4-karboksirūgšties esteriai. Ypač išdomus I formulės esteris, nes ji gerai rezorbuoja įvairių gyvūnų ir žmogaus žarnynas, o po rezorbcijos organizmo fermentai ją vėl greitai ir pilnai suskaldo.

Kartu susidaro antibiotiškai aktyvus cefalosporinas su laisvomis karboksilo grupėmis. Šis junginys žinomas cefpodoksiproksetilo pavadinimu (Drugs of the Future 14, 73 (1989)).

I formulės esteris turi 2 asimetrinius (R)-konfigūracijos anglies atomus 6-je ir 7-je cefemo konfigūracijos padėtyje bei asimetrinį anglies atomą 1-oje etiloksi-esterio grupės -O-CH-(CH₃)-O- padėtyje.

JAV patente 4 486 425 aprašyti junginiai gauti diastereomerų mišinių pavidalu 1-etiloksiesterio grupės -O-CH-(CH₃)-O- asimetrinio anglies atomo atžvilgiu. Analogiškai diastereomerų mišiniai susidaro, pavyzdžiui, cefotiam-heksetilo (Drugs of the Future 13, 230

(1988)), cefuroksim-aksetilo (Drugs of the Future 10, 112 (1985)), bakcefuzonamo (N. A. Kuck ir kt. Proc 14th Int. Congr. Chemother 2, 1137 (1985)) ir BMU 28271 (The Journal of Antibiotics 43, 1564 (1990)) atvejais.

5

Pagal tokio pobūdžio cefemo darinių šiuolaikinių rezorbcijos mechanizmo supratimą esančios 1-oje padėtyje etilesterio $-OCH(CH_3)O-$ grupės konfigūracija neturi įtakos žarnyne rezorbuojamo junginio kiekiui. Tai eksperimentiškai įrodyta esant cefotiam-heksetilo diastereomerų atveju (T. Nighimura ir kt., The Journal of Antibiotics 40, 81-90 (1987)).

Cefotiam-heksetilo atveju abu stereoizomerai atskiriami chromatografijos pagalba. Tačiau naudojant šį būdą didelį nuostolį, todėl jis ne visada priimtinas, nes abu diastereomerai, pvz., cefpodoksiproksetilo atveju savo fizikinėmis savybėmis yra labai artimi ir chromatografuojant sunkiai atskiriami. Be to, abu stereoizomerai arba jų mišinys gali suskilti chromatografuojant per kolonėlę.

Todėl cefpodoksiproksetilo individualūs diastereomerai iki šiol nėra aprašyti. Nėra ir preparatyvinių būdų, kurių pagalba būtų galima kryptingai gauti atskirus cefalosporino esterių profarmacinių preparatų klasės diastereomerus, esančius 1-etiloksiesterinės $-O-CH/CH_3-O-$ liekanos dariniais, pvz., cefpodoksiproksetilas.

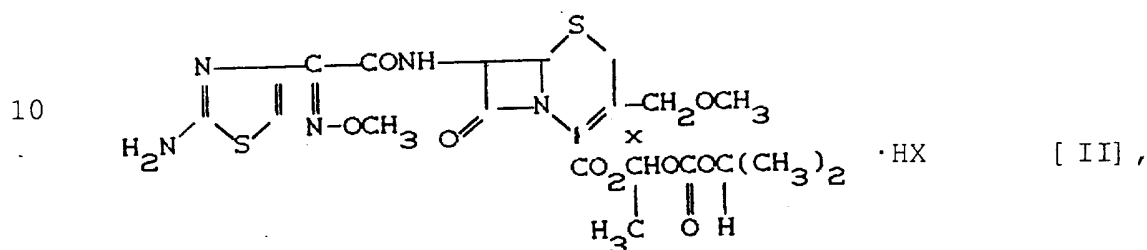
Todėl visiškai netikėtai paaiškėjo, kad individualūs 1 formulės diastereomerai ryškiai skiriasi savo rezorbcija žarnyne - geriau besirezorbuojantys diastereomerai yra biologiškai aktyvesni, negu cefpodoksiproksetilas, esantis diastereomerų mišiniu.

35

Tokiu būdu, šio išradimo objektas yra I formulės diastereomeriškai grynai junginiai, kurių $=N-OCH_3$ grupė yra

sin-padėtyje. Iš dviejų diastereomerų pirmenybė teiktina labiau poliariniam, biologiškai aktyvesniam diastereomerui.

- 5 Šio išradimo objektas taip pat yra II bendros formulės diastereomeriškai grynų druskos



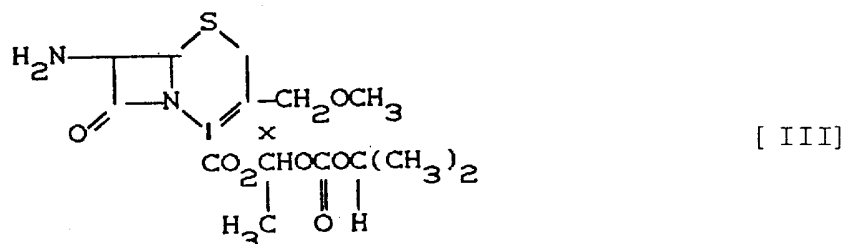
15

kur HX yra vienbazė arba daugiabazė rūgštis, o X - neorganinis arba organinis fiziologiškai tinkamas anijonas.

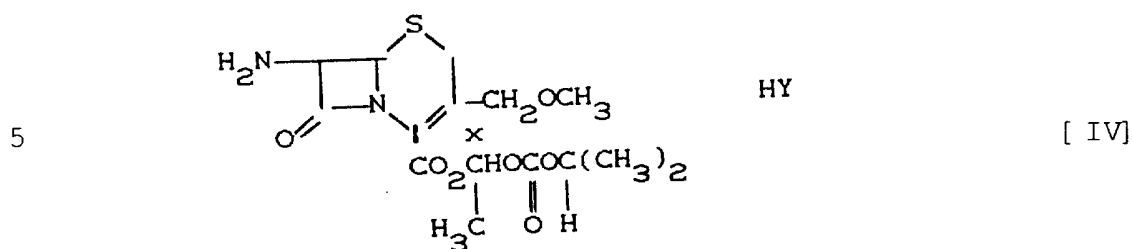
- 20 Neorganinės rūgšties atveju HX yra, pvz., HCl, HBr, HJ, HBF₄, HNO₃, HCl₄, H₂SO₄ arba H₃PO₄ stochiometrinis kiekis. Organinės rūgšties atveju HX yra alifatinės arba aromatinės rūgštys. Tinkamiausios yra neorganinės rūgštys HCl, HBr, ir H₂SO₄, taip pat organinės:
- 25 metansulfo-, etansulfo-, benzensulfo-, p-toluensulfo ir 4-etilenbensensulforūgštis.

- Išradimo objektas taip pat yra I formulės diastereomeriškai grynų junginių gavimo būdas, besiskiriantis tuo, kad gauna III formulės tarpinį junginį
- 30

35



arba IV formulės tarpinį junginį



10 grynų diastereomerų pavidalu, paverčiant juos grynais I arba II formulės diastereomerais.

15 Tokiu būdu gauti I formulės grynai diastereomerai paverčiami II formulės druskomis žinomais analogiškais junginiams gauti metodais.

I formulės junginys arba jo IV formulės druskos gaunamos žinomais būdais, aprašytais, pvz., Japonijos paraiškoje 60 004 190A. Pagal šioje paraiškoje aprašytą metodą gaunamas diastereoizomerų mišinys.

20 Gauti diastereoizomerai atskiriami, kristalinant IV formulės druskas frakcinės kristalizacijos pagalba. IV formulėje HY reiškia vienbazę arba daugiabazę rūgštį, kur Y yra neorganinis arba organinis anijonas.

25 Neorganinės rūgšties atveju HY yra, pvz., HCl, HBr, HJ, HF, HNO₃, HClO₄, HSCN, H₂SO₄ arba H₃PO₄. Organinės rūgšties atveju HY yra alifatinės arba aromatinės sulforūgštys, karboksi ir fosfonio rūgštys. Pavyzdžiui, galima naudoti šias organines rūgštis: benzensulfo-, p-toluensulfo-, 4-etilbensulfo-, 4-chlorbensulfo-, 4-brombensulfo-, 2-mėzitolensulfo-, 4-difenilsulfo-naftalen-1,5-disulfo-, metansulfo-, etansulfo-, dodecilsulfo-, kamforsulforūgštį ir oksalo rūgštį.

35 Tinkamiausios yra HCl, HBr, benzensulfo-, p-toluensulfo-, 4-etilbensulfo- ir 4-difenilsulforūgštis.

IV formulės druskos gaunamos sumaišant III formulės diastereoizomerų ir HY rūgšties tirpalus. Organiniais tirpikliais naudojami esteriai ir eteriai, alkoholiai, ketonai, nitrilai, chlorinti angliavandeniliai, angliavandeniliai ir jų mišiniai. Tinkamiausi tirpikliai yra benzenas, toluenas, etilacetatas, butilacetatas, metanolis, etanolis, n-propanolis, izopropanolis, tretbutanolis, diizopropilo eteris, acetonas acetonitrilas ir dichlormetanas bei jų mišiniai.

Neorganinių rūgščių atveju, jeigu organinis tirpiklis tirpsta vandenyje, tirpikliu naudojamas ir vanduo. HCl ir HBr tirpalai organiniuose tirpikliuose gaunami, leidžiant per juos dujinį vandenilio chloridą arba vandenilio bromidą. HCl ir HBr tirpalai organiniuose tirpikliuose taip pat gaunami iš acetilhalogenidų, fosforhalogenidų bei fosforoksihalogenidų ir alkoholio (halogenas = Cl, Br).

Diastereoizomerų atskyrimui labai svarbu I formulės bazės ir rūgštinio komponento santykis. Pageidautina, kad III formulės diastereoizomerų mišinio vienam ekvivalentui tektų 0,2-2,0, tikslingiausia 0,4-1,5 rūgštinio komponento ekvivalento.

Siūlomame metode svarbu tai, kad IV formulės grynį diastereoizomerai nusodinami dviem viena po kitos einančiomis stadijomis. Pavyzdžiui, sumaišant I formulės diastereoizomerų mišinio tirpalą su rūgštinio HY komponento tirpalu, iš pradžių nusodinamas ir filtruojant atskiriamas mažiau tirpus IV formulės diastereoizomeras, o iš filtrato nusodinamas daugiau tirpus IV formulės diastereoizomeras. Vykdamas paeiliui dalines stadijas, rūgštinis komponentas HY gali būti vienodas arba skirtingas, be to, skirtingi rūgštiniai HY komponentai gali būti pridedami bet kokia tvarka. Pvz., kai teisingai pasirenkamas rūgštinis HY komponentas, iš pra-

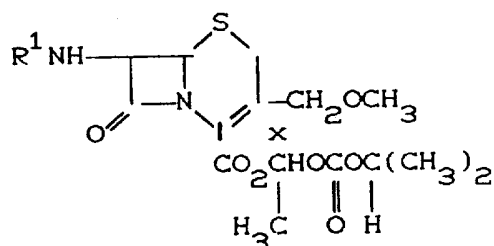
džių nusodinamas labiau poliarinis mažiau tirpus IV formulės diastereoizomeras arba priešingai, - iš pradžių mažiau poliarinis diastereoizomeras.

- 5 Parinkus rūgštinį komponentą, abu IV formulės diastereoizomerai gaunami grynu pavidalu. Pvz., naudojant vandenilio chloridą arba vandenilio bromidą, pradžioje gaunamas labiau poliarinis diastereoizomeras, o panaudojus benzensulfo-, 4-etilbenszensulfo-, difenilsulfo-
10 arba p-toluensulforūgštį, gali būti gaunami būtent mažiau poliariniai diastereoizomerai.

- Nufiltravus gautas druskas, esant reikalui jos kristalinamos, panaudojant aukščiau išvardintus tirpiklius
15 bei jų mišinius. Optimalus tirpiklis pasirenkamas priklausomai nuo panaudoto rūgštinio komponento. Pavyzdžiui, p-toluensulforūgšties bei hidrochlorido druskai tinkamiausi tirpikliai yra metanolis, etanolis, n-propanolis, izopropanolis, acetonitrilas, etilacetatas ir
20 dichlormetanas.

- Rūgštinis komponentas pridedamas esant $-10 - +50^{\circ}\text{C}$, geriausia $+10^{\circ}\text{C} - +30^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Priklausomai nuo panaudoto rūgštinio komponento ir tirpiklio rūšies, mišinys papildomai maišomas 10 val, kol pilnai išsiskirs medžiaga. Kai kuriais atvejais pilnam nusodinimui pasiekti mišinys šaldomas iki -70°C temperatūros.

- Pagal kitą variantą I formulės diastereoizomerų mišinius galima gauti iš V formulės junginių



[V]

Šioje formulėje R^1 grupė yra peptidų chemijoje įprasta amino grupės apsauginė grupė, pvz., formilo, tret-butoksikarbonilo, chloracetilo, fenoksiacetilo, fenilacetilo, aliloksikarbonilo, benziloksikarbonilo ir 4-nitrobenziloksikarbonilo grupė.

Apsauginės grupės atskėlimas vykdomas žinomais būdais. Pavyzdžiui, formilo ir tretbutoksikarbonilo grupės atskeliamos rūgšties pagalba. Fenoksiacetilo ir fenilacetilo grupės atskeliamos fosforo pentachlorido arba fermento penicilinazės pagalba. Aliloksikarbonilo grupė gali būti atskeliama $Pd[P(C_6H_5)_3]_4$ pagalba. Benziloksikarbonilo ir 4-nitrobenziloksikarbonilo grupės pašalinamos hidrolitiškai.

Atskeliant fenoksiacetilo arba fenilacetilo grupės fosforo pentachlorido pagalba, nepridedant vandenilio chlorido, gaunami labiau poliariniai diastereoizomerai. Vandenilio chlorido šaltinis yra lėtai jį išskiriantys perdirbimo metu nepašalinti fosforo rūgšties esteriai - chloranhidridai.

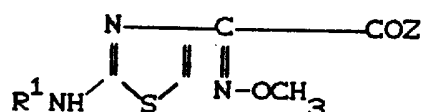
Naudojant išeigine medžiaga V formulės junginius, I arba IV formulių diastereoizomeriškai grynus junginius galima gauti iš pradžių atskiriant diastereoizomerus, po to atskeliant apsauginę grupę ir HY rūgštinio komponento pertekliumi, nusodinant IV formulės diastereoizomerų mišinį. V formulės diastereoizomerus galima atskirti kristalinant arba chromatografiškai, be to, sąlygos pasirenkamos priklausomai nuo apsauginės R^1 grupės. Pavyzdžiui, jeigu R^1 yra fenoksiacetilo grupė, tai diastereoizomerai atskiriami chromatografuojant per silikagelį, eliuentais naudojant organinių tirpiklių mišinį.

Iš IV formulės diastereoizomeriškai grynų druskų žinomais būdais gaunamos II formulės diastereoizomeriškai gry-

nos bazės, kurios paverčiamos I formulės grynais diastereoizomerais, kaip tai parašyta, pvz., Japonijos paraiškoje 60 004 189A.

- 5 Šiam tikslui I formulės diastereoizomeriškai grynai junginiai gali būti veikiami, pavyzdžiui, VI formulės junginiais

10



[VI] ,

- 15 kur R^1 yra vandenilio atomas arba atitinka V formulės junginių apibrėžimą, o Z yra beta-kaltanų chemijoje įprastinė aktyvinanti grupė, pvz., chloridas, p-toluensulfonilas, 1-benzotriazoliloksi- arba merkaptobenzotiazolilo grupė.

20

Netikėtas teigiamas šio išradimo efektas yra padidinta labiau poliarinio I formulės diastereoizomero rezorbcija žarnyne, ką iliustruoja 1 lentelės duomenys.

- 25 I lentelė

Diastereoizomero rūšis	Analizuojant rasto diastereoizomero kiekis
Diastereoizomeras A (7 pavyzdys)	25 %
Diastereoizomeras B (8 pavyzdys)	45 %

- 30 1 lentelėje pateiktas (6R,7R)-7-[2-aminotiazol-4-il]-2-(Z)-(metoksiimino)acetamido]-3-(metoksimetil)-3-cefem-4-karboksirūgšties kiekis, rastas 0-24 val laikotarpiu šunų šlapime, peroraliai įvedus diastereoizomerinį pro-

farmacini preparatą (dozė: 10 mg/kg perskaičiavus biologiškai aktyviai medžiagai).

- 5 Šiame išradime siūlomi I formulės junginiai įvedami peroraliai įprastų farmacinių preparatų forma, pvz., kapsulėmis, tabletėmis, milteliais, sirupais arba suspensijomis. Dozė priklauso nuo paciento amžiaus, simptomų ir kūno svorio, taip pat nuo gydymo trukmės. Tačiau kaip taisyklė, ji sudaro maždaug nuo 0,2 g iki
- 10 5 g, tikslinga maždaug 0,5-3 g per dieną. Geriausia junginius įvesti paskirstytomis dozėmis, pvz., 2-4 kartus per dieną, tad vienkartinė dozė gali sudaryti, pvz., 50-500 mg biologiškai aktyvios medžiagos.
- 15 Peroralinės kompozicijos gali turėti įprastus nešiklius ir (arba) skiediklius. Pavyzdžiui, kapsulėms arba tabletėms galima naudoti rišiklius, pvz., želatiną, sorbitolį, polivinilpirolidoną arba karboksimetilceliuliozę, skiediklius, pvz., laktozę, cukrų, krakmolą, kalcio
- 20 fosfatą, arba polietilenglikolį, sutepančias medžiagas, pvz., talką arba natrio stearatą. Skystoms kompozicijoms, pvz., vandeninėms arba aliejinėms suspensijoms, tinka sirupai arba kitos analogiškos formos.
- 25 Pateikti pavyzdžiai iliustruoja I ir II formulės diastereomeriškai gryną junginių gavimą pagal šį išradimą, plačiau jį paaiškina, tačiau neapriboja jo apimties.

Eksperimentinė dalis

1 Pavyzdys

5 (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esterio p-toluen-sulfonatas (diastereoizomerų mišinys)

1,23 g (5 mmol) (6R7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-
10 4-karboksirūgšties suspenduojama 15-oje ml dichlorme-
tano argono atmosferoje ir pilnai ištirpinama, pridedant 0,75 ml (5 mmol) DBU*. Į gautą tirpalą 0°C temperatūroje pridedama 1,3 g (5,5 mmol) 1-jodetoksi/izopropoksikarbonilo esterio (The Journal of Antibiotics, 15 40, 370, (1987)), mišinys maišomas 40 min 0°C temperatūroje bei 30 min 20°C temperatūroje ir tolesniam darbui praskiedžiamas 50 ml etilacetato. Mišinys plau-
20 namas sočiu vandeniniu NaHCO₃ ir NaCl tirpalu, džiovinamas MgSO₄, organinis tirpiklis nugarinamas vakuume.
Nevalytas produktas tirpinamas 5-se ml etilacetato, į gautą tirpalą prie 20°C temperatūros pridedama 1,6 g (5,3 mmol) p-toluensulfonirūgšties monohidrato tirpalo 5-se ml etilacetato. Pridėjus 10 ml diizopropilo eterio, mišinys atvėsina-
25 mas iki 0°C, produkto nuosėdos nufiltruojamos.

Išeiga: 1,23 g (71 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio).

30 ¹H-BMR (DMSO - d₆, 270 MHz): δ=1,25 (m, 6H, C(CH₃)₂), 1,50 (d., 3H, CH-CH₃), 2,30 (s., 3H, arilas-CH₃), 3,23 (s., 3H, CH₂OCH₃), 3,70 (2H, m. S-CH₂), 4,21 (m., CH₂OCH₃), 4,81 (m., 1H, O-CH(CH₃)₂), 5,25 (m., 2H, H-6, ir H-7), 6,81 ir 6,85 (2xkv., 1H, O-CH(CH₃)-O), 7,11 ir
35 7,48 (2xkv., 4H, arilas-H), 9,05 (pl. s., 2H, NH₂).

Plonasluoksnė chromatografija (toluenas:etilacetatas = 1:1).

5 $R_f = 0,34$ (A diastereomeras) ir $0,26$ (B diastereomeras).

10 Aukšto slėgio skystinė chromatografija, $7\ \mu\text{m}$ C18 nukleozilas, vanduo (+ $0,1\ \%$ NH_4OAc) + (metanolis : vanduo = 80:20) + $0,1\ \%$ NH_4OAc) (45:55, $1\ \text{ml/min} = 10,8\ \text{min}$ (A diastereoizomeras), $9,1\ \text{min}$ (B diastereoizomeras)).

* 1,5 - diazabiciklo [5.4.0 Jundek-5-enas.

2 Pavyzdys

15

(6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (diastereoizomerų mišinys).

20 Pagal 1 pavyzdyje aprašytą metodiką $2,53\ \text{g}$ ($4,8\ \text{mmol}$) diastereoizomerų mišinio ištirpinama etilacetato 5%-nio vandeninio NaHCO_3 mišinyje ir maišoma 5 min. Sluoksniai atskiriami, organinio tirpiklio sluoksnis plaunamas šiuo vandeniniu NaCl tirpalu, džiovinamas MgSO_4 ir nugarinamas vakuume.

25

Išeiga: $1,74\ \text{g}$ ($100\ \%$ nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio).

30 3 Pavyzdys

I. (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esterio p-toluen-sulfonatas (A diastereoizomeras)

35

Pagal 2 pavyzdyje aprašytą metodiką $1,74\ \text{g}$ ($4,63\ \text{mmol}$) diastereoizomerų mišinio ištirpinama 4-se ml etilace-

tato ir į gautą tirpalą pridedama 0,44 g (2,3 mmol) p-toluensulforūgšties monohidrato 3-se ml etilacetato. Į mišinį pridedama 3 ml diizopropilo eterio, išsikristalinęs produktas nufiltruojamas. Filtratas apdorojamas
5 pagal šiame pavyzdyje žemiau aprašytą II metodą.

Išeiga: 0,904 g (36 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio) A diastereoizomero p-toluensulfonato.

10 ^1H -BMR (DMSO - d_6 , 270 MHz): δ =1,25 (mm., 6H(C(CH₃)₂), 1,50 (d., 3H, CH-CH₃), 2,30 (s., 3H, arilas-CH₃), 3,23 (s., 3H, CH₂OCH₃), 3,69 (2H, AB kv., S-CH₂), 4,21 (m., CH₂OCH₃), 4,79 (m., 1H, O-CH(CH₃)₂), 5,25 (m., 2H, H-6, ir H-7), 6,81 (kv., 1H, O-CH(CH₃)-O), 7,11 ir 7,48
15 (2xd., 4H, arilas-H), 8,9 (pl. s., 2H, NH₂).

Plonasluoksnė chromatografija (toluenas : etilacetatas = 1:1).

20 R_f = 0,34.

Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm C18 nukleozilas, vanduo (+ 0,1 % NH₄OAc) + (metanolis : vanduo = 80:20) + 0,1 % NH₄OAc) (45:55, 1ml/min = 10,8 min
25 (A diastereoizomeras).

II. (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esterio p-toluensulfonatas (B diastereoizomeras).

30

Pagal šio pavyzdžio I metodą gautas filtratas sumaišomas su 0,44 g (2,32 mmol) p-toluensulforūgšties monohidrato tirpalo 3-se ml etilacetato ir išsiskyrusios produkto nuosėdos nufiltruojamos.

35

Išeiga: 0,534 g (21 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio) B diastereoizomero p-toluensulfonato.

¹H-BMR (DMSO - d₆, 270 MHz): d=1,25 (m., 6H, C(CH₃)₂), 1,50 (d., 3H, CH-CH₃), 2,30 (s., 3H, arilas-CH₃), 3,23 (s., 3H, CH₂OCH₃), 3,69 (2H, m. S-CH₂), 4,21 (m., CH₂OCH₃), 4,79 (m., 1H, O-CH(CH₃)₂), 5,25 (m., 2H, H-6, ir H-7), 6,84 (kv., 1H, O-CH(CH₃)-O), 7,11 ir 7,48 (2 zd., 4H, arilas-H), 8,9 (pl. s., 2H, NH₂).

Plonasluoksni chromatografija (toluenas : etilacetatas - 1:1).

10

R_f = 0,26.

Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm vanduo + (0,1 % NH₄OAc) + (metanolis : vanduo = 80:20) + 0,1 % NH₄OAc) (45:55, 1 ml/min = 9,1 min (B diastereoizomer-
ras).

15

4 Pavyzdys

(6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarbonil)etilo esterio hidrochloridas (B diastereoizomeras)

20

Pagal 2 pavyzdyje aprašytą metodą 1,71 g (4,57 mmol) diastereoizomerų mišinio ištirpinama 4-se ml etilacetato ir į gautą tirpalą pridedama 0,914 ml (2,28 mmol) 2,45 ml izopropanolinio druskos rūgšties tirpalo. Išsiskyrusios nuosėdos nufiltruojamos, o filtratas panaudojamas tolesniam darbui pagal šio pavyzdžio II metodą.

25

30

Išeiga: 0,628 g (41 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio) B diastereoizomero hidrochlorido.

¹H-BMR (DMSO - d₆, 270 MHz): d=1,25 (m., 6H, C(CH₃)₂), 1,48 (d., 3H, CH-CH₃), 3,23 (s., 3H, CH₂OCH₃), 3,68 (2H, m. S-CH₂), 4,21 (s., CH₂OCH₃), 4,81 (m., 1H, O-CH(CH₃)₂),

35

5,21 (kv., 2H, H-6 ir H-7), 6,85 (kv., 1H, O-CH(CH₃)-O),
9,2 (pl. s., 2H, NH₂).

Plonasluoksnė chromatografija (toluenas : etilacetatas =
5 1:1).

R_f = 0,26.

Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm C18 nukle-
10 ozilas, vanduo (+ 0,1 % NH₄OAc) + (metanolis:vanduo =
80:20) + 0,1 %NH₄OAc) (45:55, 1 ml/min = 9,1 min
(B diastereoizomeras).

II. (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksi
15 rūgšties 1-(izopropoksikarbonil)etilo esterio p-to-
luensulfonatas (A diastereoizomeras)

4 Pavyzdyje pagal I metodą gautas filtratas sumaišomas
su 0,573 g (3,0 mmol) p-toluensulfonirūgšties monohidrato
20 tirpalo 3-se ml etilacetato ir išsiskyrusios produkto
nuosėdos nufiltruojamos.

Išeiga: 0,902 (36 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio)
A diastereoizomero p-toluensulfonato, identiško 3 pa-
25 vyzdžio I metodo produktui.

5 Pavyzdys

(6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgš-
30 ties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (A dia-
stereoizomeras)

Pagal 4 pavyzdžio II metodą 4,33 g (8,8 mmol) dia-
stereoizomero ištirpinama 80-je ml etilacetato bei 155 ml
35 vandens, pridedama 0,96 g (11,45 mmol) NaHCO₃ ir mai-
šoma 5 min. Sluoksniai atskiriami, organinis tirpiklis

plaunamas sočiu NaCl tirpalu, džiovinamas $MgSO_4$ ir sukoncentruojamas vakuume.

5 Išeiga: 3,29 g (100 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio).

6 Pavyzdys

10 (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (B diastereoizomeras).

15 Pagal 4 pavyzdžio I metodą 4,99 g (12,0 mmol) B diastereoizomero ištirpinama 110 ml etilacetato bei 219 ml vandens, pridedant 1,36 g (16,28 mmol) $NaCO_3$, ir tirpalas maišomas 5 min. Sluoksniai atskiriami, organinis tirpiklis plaunamas sočiu NaCl tirpalu, džiovinamas $MgSO_4$ ir koncentruojamas vakuume.

20 Išeiga: 4,49 g (100 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio).

7 Pavyzdys

25 (6R,7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino)acetamido]-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (A diastereoizomeras)

30 Pagal 5 pavyzdį 3,29 g (8,8 mmol) A diastereoizomero ištirpinama 22 ml sauso dichlormetano argono atmosferoje ir į gautą tirpalą pridedama 3,19 g (9,11 mmol) 2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-(metoksiimino)-merkaptobenzotiazolilacetato. Suspensija maišoma 1 val $20^{\circ}C$ temperatūroje, praskiedžiama 200 ml etilacetato, du kartus ekstrahuojama vandeniu, džiovinama $MgSO_4$, tirpiklis nu-
35 garinamas vakuume. Gauta liekana valoma chromatogra-

fuojant per SiO₂ kolonėlę, eliuentas toluenas/etilacetatas.

Išeiga: 1,1 g (22 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio)
5 A diastereoizmero.

¹H BMR (DMSO - d₆, 270 MHz): d=1,23 (dv.d., 6H(C(CH₃)₂),
1,49 (d., 3H, CH-CH₃), 3,21 (s., 3H, CH₂OCH₃), 3,48 (2H,
AB kv., S-CH₂), 3,83 (s., 3H, N-OCH₃), 4,14 (s.,
10 CH₂OCH₃), 4,80 (m., O-CH(CH₃)₂), 5,21 (d., 1H, H-6), 5,82
(dv. d., 1H, H-7), 6,72 (s., 1H, tiazolas-H), 6,80
(kv., 1H, O-CH(CH₃)-O), 7,2 (pl. s., 2H, NH₂), 9,59 (d.,
1H, CONH.

15 Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm C18 nukleozilas, vanduo + 1,2 dimetoksietanas (+EDTA 10 mg/l, +0,2 % n-metilmorfolinas, + HClO₄, pH=3,34) 68 : 32, 1,5 ml/min, 12,6 min (A diastereoizomeras).

20 8 Pavyzdys

(6R,7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino)acetamido]-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (B diastereoizomeras)
25 meras)

Pagal 6 pavyzdį 4,59 g (12,0 mmol) diastereoizomero ištirpinama 30 ml sauso dichlormetano argono atmosferoje ir į gautą tirpalą pridedama 4,39 g (12,42 mmol)
30 2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-(metoksiimino)merkaptobenzotiazolilacetato. Suspensija maišoma 1 val. 20°C temperatūroje, praskiedžiama 200 ml etilacetato, dukart ekstrahuojama vandeniu, džiovinama MgSO₄, tirpiklis nugarinamas vakuume. Liekana valoma chromatografuojant
35 per SiO₂ kolonėlę, eliuentas toluenas/etilo acetatas.

Išeiga: 4,6 g (69 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio)
B diastereoizomero.

¹H-BMR (DMSO - d₆, 270 MHz): d=1,25 (dv.d., 6H,
5 C(CH₃)₂), 1,50 (d., 3H, CH-CH₃), 3,21 (s., 3H, CH₂OCH₃),
3,53 (2H, AB kv., S-CH₂), 3,85 (s., 3H, N-OCH₃), 4,14
(s., CH₂OCH₃), 4,81 (m., 1H, O-CH(CH₃)₂), 5,19 (d., 1H,
H-6), 5,81 (dv. d., 1H, H-7), 6,72 (s., 1H, tiazolas-
H), 6,83 (kv., 1H, O-CH(CH₃)-O), 7,2 (pl. s., 2H, NH₂),
10 9,59 (d., 1H, CONH).

Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm C18 nu-
kleozilas, vanduo + 1,2 dimetoksietanas (+ EDTA 10 mg/l,
+0,2 % n-metilmorfolinas, + HClO₄, pH=3,34) 68:32,
15 1,5 ml/min, 9,7 min (B diastereoizomeras).

9 Pavyzdys

(6R,7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino]
20 acetamido]-3-metoksimetil-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-
(izopropoksikarboniloksi)etilo esteris (diastereoizome-
rų mišinys, cefpodoksiproksetilas)

4,26 g (17,5 mmol) (6R,7R)-7-amino-3-metoksimetil-3-ce-
25 fem-4-karboksirūgšties suspenduojama 40-je ml dichlor-
metano argono atmosferoje ir pilnai ištirpinama, pridedant
2,65 g (17,5 mmol) DBU. Į gautą tirpalą 0°C tem-
peratūroje pridedama 4,96 g (19,2 mmol) 1-jodetiloksi-
izopropoksikarbonilo esterio (The Journal of Antibiotics
30 40, 370 (1987)) ir mišinys maišomas 60 min 0°C tem-
peratūroje, bei 20 min 20°C temperatūroje. Pridedama 6,4 g
(18,3 mmol) 2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-(metoksiimino)
merkaptobenzolilacetato, suspensija maišoma dar 2 val
20°C temperatūroje, praskiedžiama 200 ml etilacetato,
35 du kartus ekstrahuojama vandeniu, išdžiovinama, tir-
piklis nugarinamas vakuume. Liekana valoma chromato-

grafuojant per kolonėlę, eliuentas toluenas/etilo acetatas.

Išeiga: 3,42 g (35 % nuo teoriškai apskaičiuoto kiekio)
5 A + BC diastereoizomerų mišinių.

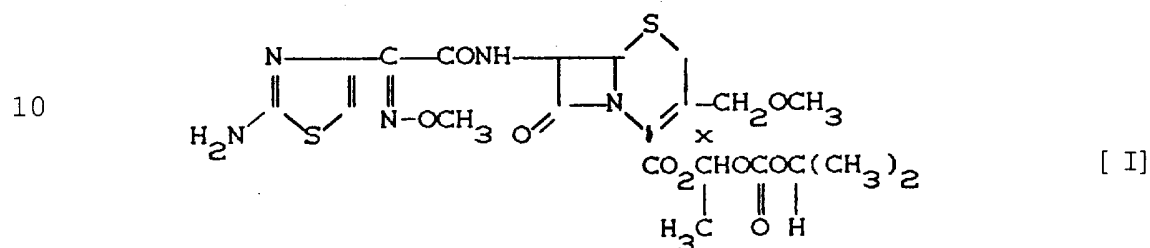
^1H -BMR (DMSO - d_6 , 270 MHz): δ =1,25 (m., 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$),
1,49 (m., 3H, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 3,21 (s., 3H, CH_2OCH_3), 3,54 (2H,
AB kv., $\text{S}-\text{CH}_2$), 3,85 (s., 3H, $\text{N}-\text{OCH}_3$), 4,14 (s.,
10 CH_2OCH_3), 4,80 (m., 1H, $\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5,21 (m., 1H, H-6),
5,82 (m., 1H, H-7), 6,72 (s., 1H, tiazolas-H), 6,80 ir
6,83 (dv. kv., 1H, $\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}$), 7,2 (pl. s., 2H NH_2),
9,60 (m., 1H, CONH).

15 Aukšto slėgio skystinė chromatografija, 7 μm C18 nukleozilas, vanduo + 1,2 dimetoksietanas (+ EDTA 10 mg/l, +0,2 % n-metilmorfolinas, + HClO_4 , pH=3,34) 68:32, 1,5 ml/min, 12,6 min (A diastereoizimeras), 9,7 min (B diastereoizimeras).

20

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. (6R,7R)-7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(Z)-metoksiimino)acetamido]-3-(metoksimetil)-3-cefem-4-karboksirūgšties 1-(izopropoksikarboniloksi)etilo esterio I formulės diastereoizomerai

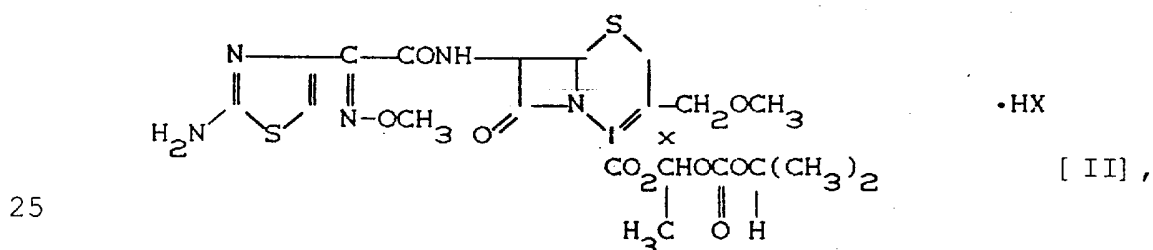


15

ir jų fiziologiškai tinkamos druskos.

2. Diastereomeriškai grynos II formulės junginių druskos

20

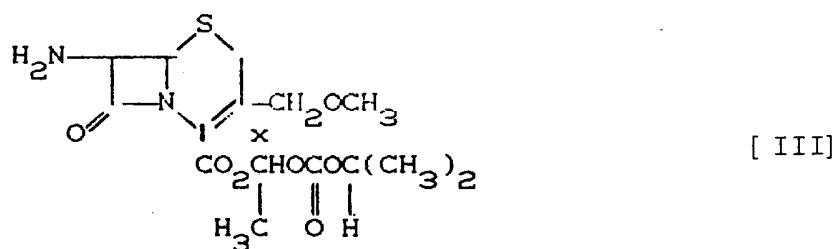


kur HX yra vienbazė arba daugiabazė rūgštis, o X - neorganinis arba organinis fiziologiškai tinkamas anijonas.

3. Diastereomeriškai grynos II formulės junginių druskos pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n č i o s tuo, kad HX yra HCl, HBr, H₂SO₄, metansulfo-, etansulfo-, benzensulfo-, p-toluensulfo- ir 4-etilbensulsulforūgštis.

4. Diastereomeriškai grynų I arba II formulės junginių pagal 1-3 punktus gavimo būdas, b e s i s k i r i a n - t i s tuo, kad diastereomeriškai gryna forma gaunama III formulės tarpinį produktą

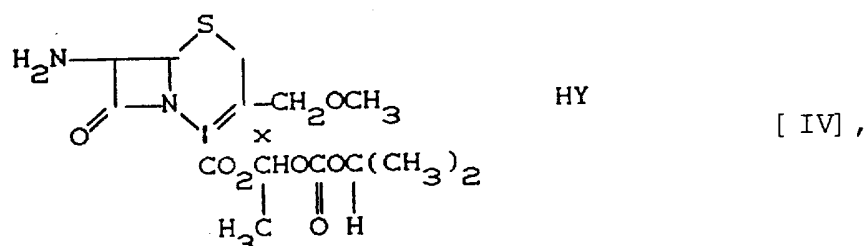
5



10

arba IV formulės tarpinį produktą

15



20

(kur HY yra vienbazė arba daugiabazė rūgštis, o Y - neorganinis arba organinis anijonas) paverčia I arba II formulės grynais diastereoizomerais.

25

5. I arba II formulės diastereomeriškai grynų junginių gavimo būdas pagal 4 punktą, b e s i s k i r i a n - t i s tuo, kad supilant I formulės diastereoizomerų mišinio 1 ekvivalento tirpalą su 0,2-2 ekvivalentais HY rūgšties tirpalo, pradžioje nusodina ir nufiltruoja mažiau tirpų IV formulės diastereoizomerą, o po to iš filtrato nusodina labiau tirpų IV formulės diastereoizomerą, be to minėtose nuosekliose atskyrimo stadijose HY rūgštis gali būti vienoda arba skirtinga, o įvairiose HY rūgštys gali būti pridedamos bet kokia eile,

30

35

ir gautas druskas, esant reikalui, papildomai valomo kristalinant.

- 5 6. Antibakteriniai farmaciniai preparatai, turintys inertinį nešiklį ir aktyvų ingredientą, b e s i s k i r i a n t y s tuo, kad aktyviu ingredientu naudojamas I arba II formulės diastereomeriškai gryno junginio pagal 1-3 punktus efektyvus kiekis.
- 10 7. Antibakterinių farmacinių preparatų gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad diastereomeriškai gryną I arba II formulės pagal 1-3 punktus junginį deriniuose su farmacijoje naudojamais nešikliais ir (arba) skiedikliais paverčia tinkama naudoti vaisto forma.
- 15 8. I ir II formulės diastereomeriškai gryni junginiai pagal 1-3 punktus, skirti panaudoti kovai su bakterinėmis infekcijomis.