



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP



(21) Patentansøgning nr.: 3550/81

(51) Int.Cl.⁴ C 07 D 501/36

(22) Indleveringsdag: 10 aug 1981

(41) Alm. tilgængelig: 12 feb 1982

(44) Fremlagt: 05 jun 1989

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 11 aug 1980 US 176889 08 jul 1981 US 281438

(71) Ansøger: *AMERICAN CYANAMID COMPANY; Wayne; New Jersey, US

(72) Opfinder: William Vincent *Curran; US, Adma Schneller *Ross; US

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co.

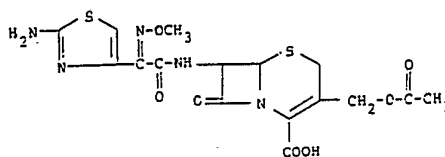
(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af 7-beta-(alfa-syn-methoxyimino-alfa-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido)-3-((1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt i thiadiazolringens 4-stilling substituerede C1-C6-alkylderivatet og fysiologisk acceptable salte deraf.

(56) Fremdragne publikationer

FR B1 2348218

(57) Sammendrag:

forbindelse med formlen

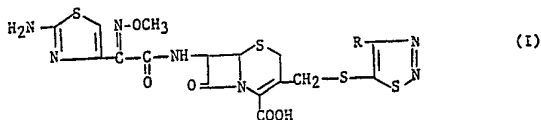


i et polart opløsningsmiddel ved en pH-værdi på ca. 6-7,5 ved ca. 40-70°C i ca. 4-12 timer, hvorpå der afkøles og syres til en pH-værdi på ca. 2,5-3,0, hvorpå forbindelsen med formlen (I) separerer, eller ved en reaktion til acylering af 7-aminogruppen.

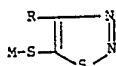
Forbindelserne med formlen (I) og deres salte er anvendelige som antibakterielle midler.

3550-81

7-β-[α-syn-methoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre med formlen



hvor R betyder hydrogen eller R₁, hvor R₁ betyder C₁-C₆-alkyl, kan fremstilles ved omsætning af en forbindelse med formlen



hvor M betyder hydrogen eller en alkalimetalkation, med en

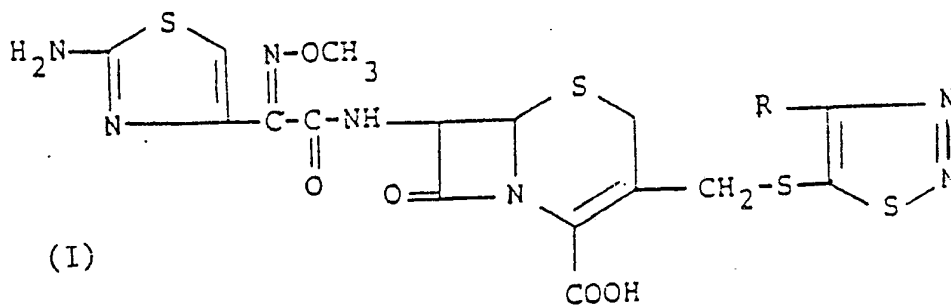
Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte cephalosporinforbindelser, nemlig 7- β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre samt i thiadiazolringens 4-stilling substituerede C₁-C₆-alkylderivater og fysiologisk acceptable salte heraf.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er karakteriseret ved det i kravets kendetegnende del anførte.

De sydafrikanske patentskrifter nr. 757892, 772030 og 781870 angår helt alment cephalosporinforbindelser, som i 7-stillingen kan udvise 2-aminothiazol-4-yl-syn-methoxyiminoacetamido og i 3-stillingen en 1,2,3-thiadiazol-5-ylthiomethylgruppe. Alle disse patentskrifter indeholder imidlertid brede generiske beskrivelser, og ingen af patentskrifterne nævner eller beskriver specifikt forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen, hvorved de ikke foregriber den selektive opfindelse, som er beskrevet i det følgende.

Endvidere beskrives 3-(1,2,3-thiadiazolyl-5-ylthiomethyl)-cephalosporinforbindelser af G. S. Lewis og P. H. Nelson i J. Med. Chem. 22 (1979), s. 1215. I forhold til disse kendte forbindelser udmærker forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen sig ved en væsentlig bedre antibakteriel virkning.

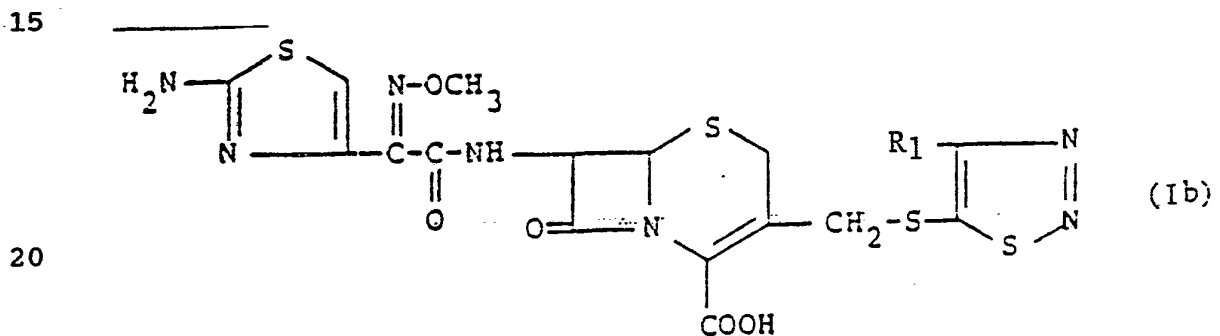
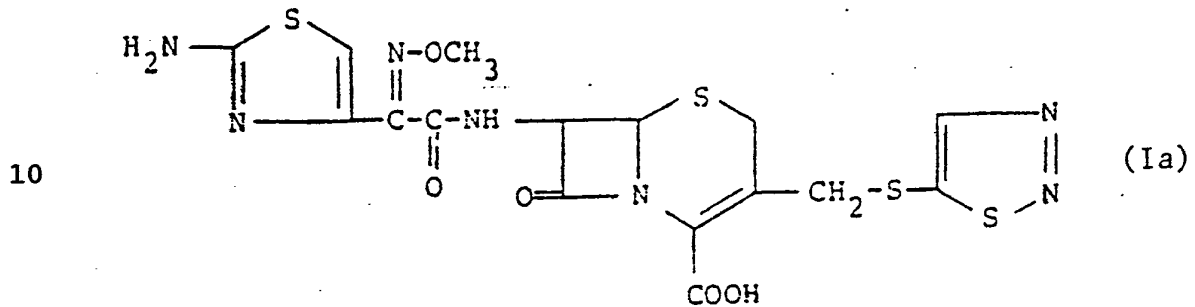
De ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede cephalosporinderivater har formelen



hvor R betyder hydrogen eller C₁-C₆-alkyl, eller er farmaceu-

tisk acceptable, ikke-toksiske salte deraf. Disse forbindelser er antibakterielle midler, som er virksomme både mod grampositive og gramnegative bakterier.

Forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen kan opdeles i to underslægter:



hvor R_1 betyder C_1 - C_6 -alkyl.

25 En foretrukken udførelsesform repræsenteres af formelen (Ib), hvor R_1 betyder C_1 - C_6 -alkyl.

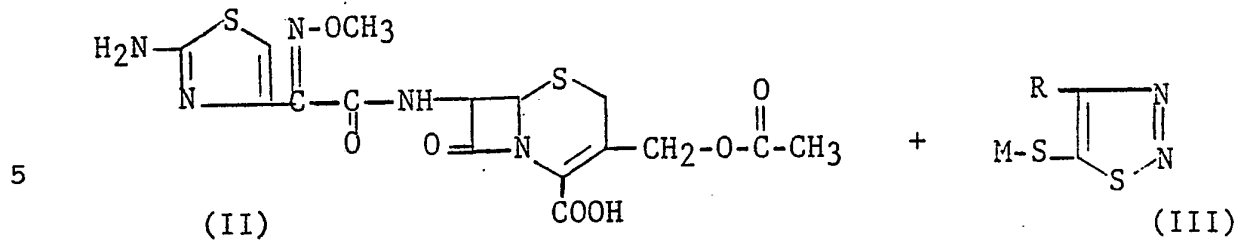
Især foretrækkes en udførelsesform, der repræsenteres af formelen (Ib), hvor R_1 betyder methyl.

Den mest foretrukne udførelsesform repræsenteres af formelen (Ia).

30

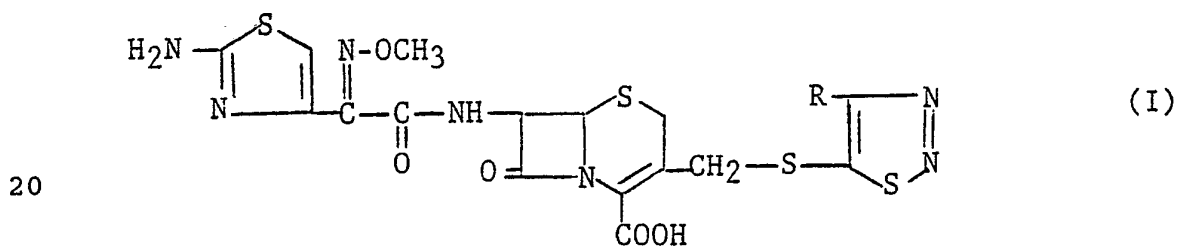
De hidtil ukendte forbindelser fremstillet ifølge opfindelsen kan fremstilles på fri syreform ifølge reaktionsskemaerne A, B eller C:

3

Reaktionsskema A

10

15



Forbindelsen (II), 7-β-[α-syn-methoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)-acetamido]-3-(acetoxymethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, også kaldet cefotaxim, fremstilles ifølge fremgangsmåden anført i sydafrikansk patentskrift nr. 781870.

Forbindelsen (III), 1,2,3-thiadiazol-5-thiol, hvor R betyder hydrogen eller R₁, og R₁ betyder C₁-C₆-alkyl, og M betyder hydrogen eller en alkalimetalkation, fremstilles ifølge fremgangsmåden beskrevet af P. Demaree, M. Doria og J. Muchowski, "Five-Membered Heterocyclic Thiones, Part VII (1,2): 1,2,3-Thiadiazole-5-thiolates", J. Hetero. Chem. 15: 1295 (1978). I det foreliggende sammenhæng udtrykket "C₁-C₆-alkyl" en ligekædet eller forgrenet, monovalent substituent kun bestående af carbon og hydrogen, og som ikke er umættet og indeholder 1-6 carbonatomer. Eksempler på sådanne grupper er methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-

butyl, tert.butyl, n-hexyl, 2-methylpentyl og lignende. Eksempler på hensigtsmæssige alkalimetalkationer for M er natrium og kalium.

5 Ifølge reaktionsskema A behandles cephalosporinforbindelsen med formlen (II) med thiadiazolforbindelsen med form-
10 len (III) i et polært opløsningsmiddel ved en pH-værdi på ca. 6-7,5, fortrinsvis ca. 7-7,5, ved ca. 40-70°C (fortrinsvis ca. 65°C) i ca. 4-12 timer, fortrinsvis ca. 6-12 timer. Derefter afkøles reaktionsblandingen og syrnes til ca. 2,5-3,0, og det fremkomne produkt opsamles på konventionel måde.

Der kan anvendes mange forskellige polære opløsningsmidler til reaktionsblandingen, såsom acetonitril, dimethylformamid, dimethylsulfoxid, tetrahydrofuran, lavere alkylalkoholer, ethoxylerede ethere, såsom diglym, lavere alkylphthalater, lavere alkylketoner etc. Der anvendes fortrinsvis diethylether, acetone, ethylalkohol eller blandinger deraf. Der foretrækkes især vandige blandinger af ethylalkohol og acetone. Specielt foretrækkes vand.

20 Reaktionen gennemføres ved enhver pH-værdi mellem 6 og 7,5, men ekstrem surhed eller basicitet ødelægger β -lactamringen og resulterer i uønskede produkter. Et foretrukket pH-interval er 7-7,5. Reaktionen forløber ved enhver temperatur mellem ca. 40 og 70°C, men der foretrækkes en temperatur på 25 65°C. Reaktionen gennemføres mest hensigtsmæssigt ved atmosfæretryk, men det er muligt at arbejde under tryk eller under vakuum. Reaktionsblandingen kan opvarmes i 4-12 timer, men det foretrækkes at anvende 6-12 timer.

30 Ved afslutningen af reaktionstiden afkøles reaktionsblandingen og syrnes, fortrinsvis til en pH-værdi på 2,5-3,0. Det kan ikke anbefales at anvende en lavere pH-værdi, idet den aminoheterocycliske forbindelse har tendens til at genopløses, og en højere pH-værdi er ikke effektiv med hensyn til udfældning af det ønskede slutprodukt. En hvilken som helst 35 fortyndet mineralsyre, såsom svovlsyre eller saltsyre, anvendes

0

des til syrning af reaktionsblandingen, men det foretrækkes at anvende 1 N saltsyre.

Slutproduktet opsamles på en hvilken som helst konventionel måde, såsom f.eks. filtrering, chromatografi etc.

5

Aminogruppen i thiazolgruppen kan eventuelt beskyttes under reaktionen med en let fjernelig amino-beskyttende gruppe valgt blandt de, som er velkendte for en fagmand inden for peptidkemien, f.eks. trityl, benzyl, benzhydryl, chloracetyl, trichloracetyl etc. Der henvises også til sydafrikansk patentskrift nr. 781870 og 757892. Såfremt aminogruppen skal beskyttes på denne måde, skal produktet isoleret som beskrevet ovenfor behandles med et egnet middel for at fjerne den beskyttende gruppe, hvorved man får det ønskede produkt med formlen (I).

10
15

20

25

30

35

0

Forbindelsen med formlen (IV), 2-(2-R₂-amino-4-thiazolyl)-2-syn-methoxyimino-eddikesyre, hvor R₂ er en let fjernelig aminobeskyttelsesgruppe, som er velkendt for enhver fagmand, fremstilles ifølge den metode, som er anført i belgisk patentskrift nr. 850.662 eller i de sydafrikanske patentskrifter nr. 773775 772030 og 757892. Som eksempler på hensigtsmæssige aminobeskyttelsesgrupper kan nævnes de, der almindeligvis anvendes inden for peptidkemien, såsom alkylcarbonyl, f.eks. formyl, acetyl, propionyl, alkoxycarbonyl, f.eks. tert.butoxycarbonyl, alkoxyalkylcarbonyl, f.eks. methoxyacetyl, methoxypropionyl, substitueret alkoxycarbonyl, f.eks. trichlorethoxycarbonyl, aralkoxycarbonyl, f.eks. benzyloxycarbonyl, substitueret aralkoxycarbonyl, f.eks. p-nitrobenzyloxycarbonyl, og trityl. Det foretrækkes at anvende trityl.

15 Forbindelsen (VII), 7-amino-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre, hvor R betyder hydrogen eller R₁, hvor R₁ betyder C₁-C₆-alkyl, fremstilles ifølge fremgangsmåden beskrevet af G.S. Lewis og P.H. Nelson, "3-[1,2,3-Thiadiazol-5-ylthio)-methyl]cephalosporins", J. Med. Chem
20 22(10): 1214 (1979).

Ifølge reaktionsskema B bringes forbindelsen med formlen (IV) til at reagere med dicyclohexylcarbodiimid (forbindelse V) i et opløsningsmiddel, såsom methylenchlorid, chloroform eller ethylacetat, under omrøring ved 0-5°C i 15-45 minutter og derefter ved stuetemperatur i 1-2 timer efterfulgt af filtrering. Filtratet indeholdende forbindelsen (VI) (hvor R₂ har den ovenfor anførte betydning) afkøles i et is/methanolbad og bringes til at reagere med en kold opløsning af forbindelsen (VII) (hvor R har den ovenfor anførte betydning) og
30 triethylamin i samme opløsningsmiddel som ovenfor. Denne blanding omrøres ved 0-5°C i 15-45 minutter og derefter ved stuetemperatur natten over. Reaktionsblandingen ekstraheres i den nævnte rækkefølge med kold fortyndet mineralsyre, koldt vand, kold saltopløsning samt tørres. Bortdampning af opløsningsmid-
35 let giver en olie, som opløses 1:1-blanding af dioxan og ether,

0

diethylamin tilsættes, og opløsningen afkøles og filtreres til dannelse af diethylammoniumsaltet af 2-(2-R₂-amino-4-thiazolyl)-2-syn-methoxyiminoeddikesyre som biprodukt. Filtratet fortyndes med ether, afkøles og filtreres til dannelse af 7-[2-(2-5 -R₂-amino-4-thiazolyl)-2-syn-methoxyiminoacetamido]-3-(1,2,3--thiadiazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse VIII, hvor R og R₂ har de ovenfor anførte betydninger) i form af diethylammoniumsaltet.

Dette salt bringes til at reagere med et egnet middel 10 valgt til at fjerne den specielt anvendte R₂-beskyttelsesgruppe. Dette middel er velkendt af enhver fagmand. Når R₂ betyder trityl, foretrækkes behandling med 80% myresyre ved stuetemperatur i 1-4 timer. Reaktionsblandingen fortyndes derefter med vand og filtreres. Filtratet inddampes ved 25-35°C, og produktet ud- 15 fældes fra etheren, hvorved der fås det ønskede produkt med formlen (I).

20

25

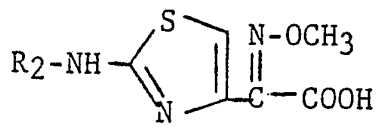
30

35

0

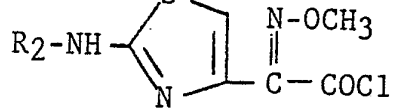
Reaktionsskema C

5



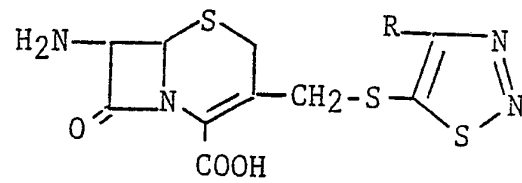
(IV)

10



(IX)

+

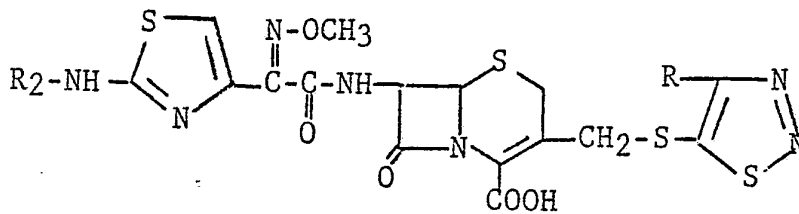


(VII)

15



20

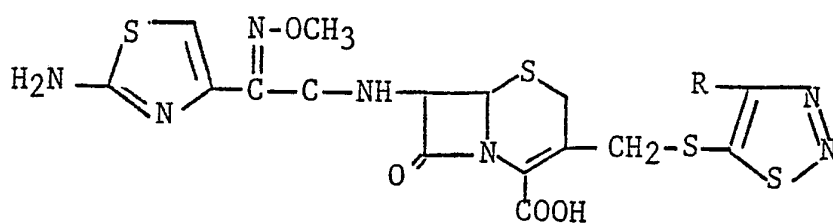


(VIII)

25



30



(I)

35

0

Ifølge reaktionsskema C omdannes forbindelsen med form-
len (IV) ifølge definitionen ovenfor til 2-(2-R₂-amino-4-thia-
zoly1)-2-syn-methoxyimino-carbonylchlorid (forbindelsen IX) på
følgende måde: Forbindelsen med formlen (IV) og et molækviva-
5 lent af en tertiær organisk amin (fortrinsvis triethylamin) op-
løses i et ikke-hydroxylisk organisk opløsningsmiddel (f.eks.
methylenchlorid, chloroform eller carbontetrachlorid; methylenchlo-
rid eller chloroform foretrækkes) og afkøles. Til denne kolde
omrørte blanding sættes phosphorpentachlorid i flere portioner
10 i løbet af 15-30 minutter, og reaktionsblandingen omrøres ved
0-5°C i yderligere 15-45 minutter efterfulgt af omrøring i ca.
1 time ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen inddampes der-
efter ved formindsket tryk, genopløses i chloroform eller me-
thylenchlorid, hvorpå den igen inddampes. Remanensen optages i
15 acetone og filtreres til dannelselse af det krystallinske tri-
ethylammoniumhydrochlorid-biproduct, som bortkastes.

Acetonefiltratet indeholdende forbindelsen med form-
len (IX) (hvor R₂ har den ovenfor anførte betydning) sættes i
løbet af ca. 30 minutter til en omrørt iskold opløsning af
20 7-amino-cephalosporansyre-thioheterocyclo (forbindelse VII
ifølge definitionen ovenfor) i vand/acetone (3:2 v/v) indehol-
dende 1 molækvivalent af en svag base, såsom natriumbicar-
bonat, og 2 molækvivalenter af en organisk tertiær amin, for-
trinsvis triethylamin. Denne reaktionsblanding omrøres ved
25 stuetemperatur i ca. 1 time, syrnes til en pH-værdi på 2 med
fortyndet vandig syre (f.eks. 4 N saltsyre), fortyndes med
vand, ekstraheres flere gange med et organisk opløsningsmid-
del, såsom methylenchlorid, chloroform, ethylacetat, benzen
etc. (ethylacetat foretrækkes), vaskes flere gange med vand,
30 tørres og inddampes til dannelselse af slutproduktet med form-
len (VIII) (ifølge definitionen ovenfor).

Behandling med et hensigtsmæssigt middel for at fjer-
ne den specielt anvendte R₂-beskyttelsesgruppe giver det øn-
skede produkt med formlen (I).

35

Produktet med formlen (I) fremstillet ifølge reaktions-
skema A, B eller C kan omdannes til et farmaceutisk acceptabelt

salt ved behandling med en egnet base. Udtrykket "farmaceutisk acceptable ikke-toksiske salte" betyder salte af stamforbindelsen, som ikke signifikant alvorligt påvirker de farmaceutiske egenskaber (f.eks. toksicitet, effektivitet etc.) af stamforbindelsen, som er konventionelt anvendt inden for den farmaceutiske teknik. Salte fremstillet ifølge opfindelsen er farmaceutisk acceptable kationsalte med hensyn til syredelen. Alkalimetalkationer, f.eks. natrium og kalium, foretrækkes. Især foretrækkes natriumsaltet. For formålet med opfindelsen bør det forstås, at forbindelserne med formelen (I) er ækvivalente med deres farmaceutisk acceptable ikke-toksiske kationsalte.

Det foretrækkes almindeligvis, at de respektive produkter fra hvert procestrin, beskrevet ovenfor i reaktionsskema A, B eller C, adskilles og/eller isoleres, før de anvendes som udgangsmateriale til de følgende trin. Adskillelse og isolering kan gennemføres ved en hvilken som helst hensigtsmæssig rensningsprocedure, såsom bortedampning, krystallisering, søjlechromatografi, tyndtlagschromatografi, destillering etc. Specifikke eksempler på typiske adskillelses- og isoleringsfremgangsmåder kan gives med henvisning til de i det følgende beskrevne eksempler. Imidlertid kan man givetvis også anvende andre ækvivalente adskillelsesmetoder. Det bør også forstås, at når der anføres typiske reaktionsbetingelser (f.eks. temperaturer, molforhold, reaktionstider), kan betingelser både over og under disse intervaller også anvendes, selv om de i almindelighed er mindre hensigtsmæssige.

Forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen er biologisk aktive og udviser kraftig antibakteriel virkning ved afprøvning ifølge Mueller-Hintons agarfortyndingsmetode. Resultaterne er anført i tabellerne I, II, III, IV og V.

I tabel I er forbindelserne anført med koder på følgende måde:

Forbindelse Ia = 7β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

Forbindelse II = cephalothin (Lilly)

5 (7-(2-thienylacetamido)cephalosporansyre)

10

15

20

25

30

35

0

Tabel I

			Mindste inhiberende koncentration $\mu\text{g/ml}$	
			Forbindelse	
5	Organisme		Ia	II
	<u>Gramnegativ</u>			
	Klebsiella pneumoniae	STFD-79-16	0,015	1
	" "	SSC-78-1	0,015	1
	" oxytoca	K-81-6	0,03	2
10	Enterobacter aerogenes	STFD-79-14	0,03	128
	" cloacae	K-79-16	0,25	>128
	" "	K-81-46	0,12	64
	Serratia marcescens	TUL-78-15	1	>128
	" "	QHC-77-2	1	>128
	" "	K-81-39	0,12	>128
15	Proteus morganii	K-79-25	0,015	>128
	" "	K-77-3	4	>128
	" rettgeri	N-76-1	0,015	>128
	Providencia stuartti	K-81-29	0,06	>128
	Escherichia coli	STFD-79-20	0,015	4
20	" "	#311	0,03	4
	" "	K-81-14	0,06	64
	Salmonella sp.	SSC-79-57	0,25	64
	" (arizona)	QHC-77-3	0,03	2
	Citrobacter sp.	K-81-27	0,03	1
25	Acinetobacter sp.	STFD-79-17	16	>128
	" "	K-77-1	4	>128
	" "	K-77-6	16	>128
	Pseudomonas aeruginosa	SSC-78-13	64	>128
	" "	12-4-4	32	>128
30	" "	TUL-78-2	128	>128
	<u>Grampositiv</u>			
	Enterococcus sp.	OSU-75-1	32	32
	" "	SM-77-15	32	32
35	Staphylococcus aureus	SSC-79-18	0,25	0,25
	" "	FU-79-19-2	0,5	0,5
	" "	SSC-80-15	0,5	0,5
	" "	Smith	0,25	0,12

I tabel II er forbindelserne anført med koder som følger:

- 5 Forbindelse Ia = 7β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre
- Forbindelse III = cephotaxim (Hoechst)
7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]cephalosporansyre
- 10 Forbindelse IV = cephmenoxim (Takeda)
(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)glyoxylamido]-3-[[1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio]-methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylsyre-7²-(Z)-(O-methyloxim)
- 15 Forbindelse V = ceftizoxim (Fujisawa)
(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-glyoxylamido]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylsyre-7²-(Z)-(O-methyloxim)
- 20 Forbindelse VI = moxalactam (Lilly)
 7β -[2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7 α -methoxy-3-[[1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio]methyl]-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylsyre
- 25 Forbindelse VII = cefoxitin (Merck)
3-carbamoyloxymethyl-7 α -methoxy-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-cephem-4-carboxylsyre
- 30 Forbindelse VIII = cefoperazon (Pfizer)
7-[D-(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazin-carboxamido)- α -(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[[1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio]methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

Tabel II

Organisme	Mindste inhiberende koncentration, µg/ml							
	Ia	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<u>Staphylococcus aureus</u> , β-lactamasenegativ								
SSC 79-3	0,12	0,5	1	1	2	2	0,5	
" 79-5	0,5	1	4	1	8	2	2	2
" 79-7	0,12	0,5	1	0,5	2	1	0,5	0,5
" 79-9	0,12	0,5	2	1	2	1	0,5	0,5
" 79-10	0,12	0,5	1	1	2	1	0,5	0,5
" 79-11	0,12	0,5	1	0,5	2	1	0,25	0,25
" 79-17	0,25	1	2	1	4	2	1	1
" 79-14	0,5	2	4	4	4	2	2	2
" 79-15	0,5	2	4	1	8	4	2	2
<u>Staphylococcus aureus</u> , β-lactamasepositiv								
SSC 79-27	0,25	1	2	0,5	4	2	1	1
" 79-28	0,25	1	2	0,5	4	2	2	2
" 79-36	0,25	1	2	1	4	2	2	2
" 79-38	0,25	1	2	0,5	2	2	1	1
" 79-39	0,25	1	4	4	4	4	2	2
" 79-41	0,5	2	4	1	4	4	2	2
" 79-44	0,12	1	2	0,5	2	2	1	1
" 79-47	0,25	1	2	1	4	2	2	2
" 79-24	4	16	32	>128	32	16	128	128

I tabel III er forbindelserne anført med koder som følger:

Forbindelse Ib(i) = 7- β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

Forbindelse II = cephalothin (Lilly)
(7-(2-thienylacetamido)cephalosporansyre)

5
10

15

20

25

30

35

0

Tabel III

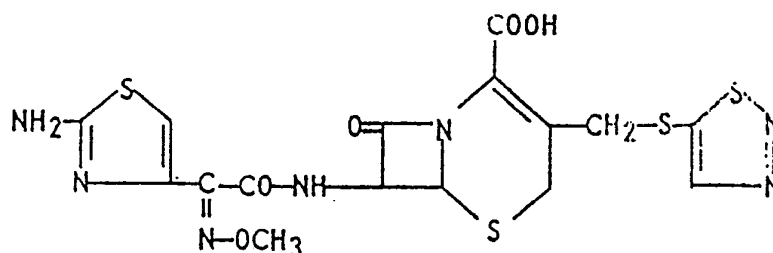
Organisme		Mindste inhiberende koncentration	
		µg/ml	
		Forbindelse	
		Ib (i)	II
Klebsiella pneumoniae	STFD-79-6	<0,03	0,5
"	"	SSC-78-1	1
"	"	AD	0,03
10	Enterobacter aerogenes	STFD-79-14	0,12
"	cloacae	K-79-16	0,25
	Serratia marcescens	TUL-78-15	2
"	"	QHC-77-2	2
15	Proteus morgani	K-79-25	<0,03
"	rettgeri	N-76-1	<0,03
	Escherichia coli	STFD-79-20	<0,03
"	"	#311	0,06
"	"	ESS 22-31	<0,03
"	"	ATCC 25922	<0,03
20	Salmonella sp.	SSC-79-57	1
"	" (arizona)	QHC-77-3	0,06
	Acinetobacter sp.	STFD-79-17	32
"	"	K-77-1	4
	Pseudomonas aeruginosa	SSC-78-13	64
"	"	12-4-4	64
25	"	ATCC 27853	64
	Enterococcus sp.	OSU-75-1	8
"	"	SM-77-15	8
	Staphylococcus aureus	SSC-79-18	0,25
"	"	FU-79-19-2	0,5
"	"	Smith	0,25
30	"	SSC-80-15	1
	Micrococcus luteus	PCI 1001	<0,03

35

I tabel IV er forbindelserne betegnet ved følgende koder:

Forbindelse I

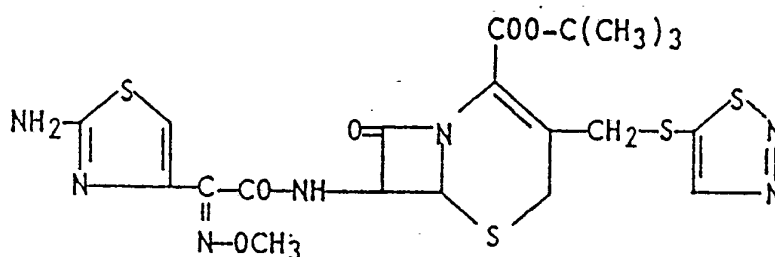
5



10

7 β [α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)-acetamido]-
3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre
Forbindelse IX

15



20

7 β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-
-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxyl-
25 syre-tert.butylester

30

35

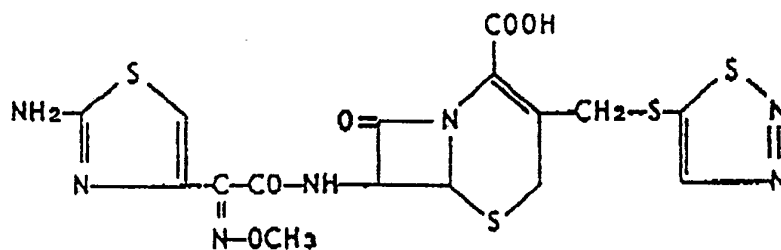
Tabel IV

5	10	Organisme		Mindste inhiberende koncentration ($\mu\text{g/ml}$)	
				Forbindelse	
				I	IX
		Staphylococcus aureus	SSC 79-18	0,5	4
		" "	FU 79-19-2	1	16
		" "	Smith	0,5	4
	15	" "	ATCC 25923	1	16
		Enterococcus	OSU 75-1	16	>128
		"	SM 77-15	16	>128
	20	Escherichia coli	STFD 79-20	0,3	0,5
		" "	311	0,3	0,5
		" "	ESS 22-31	<0,015	<0,015
		" "	ATCC 25922	<0,015	0,06
		Klebsiella sp.	STFD 79-6	0,3	1
	25	" "	SSC 78-1	0,3	1
		" pneumoniae	AD	<0,015	0,25
		Enterobacter aerogenes	STFD 79-14	0,12	2
		" cloacae	K 79-16	0,5	4
	30	Serratia sp.	TUL 78-15	1	16
		" "	QHC 77-2	4	16
		Proteus morgani	K 79-25	<0,015	0,5
	35	" rettgeri	N 76-1	<0,015	<0,015
		Salmonella sp.	SSC 79-57	0,5	4
		" " arizona	QHC 77-3	0,06	1
	40	Acinetobacter sp.	STFD 79-17	32	>128
		" "	K 77-1	4	32
		Pseudomonas aeruginosa	SSC 78-13	64	>128
		" "	12-4-4	64	>128
	45	" "	ATCC 27853	64	>128

I tabel V er forbindelserne betegnet ved følgende koder:

5

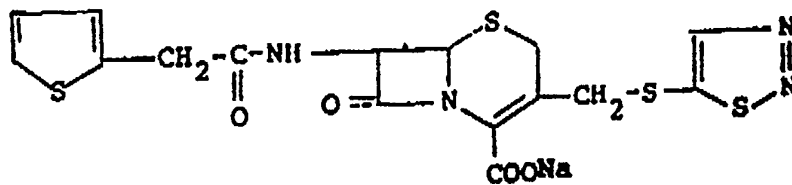
I



10 (fremstillet ifølge opfindelsen)

15

X



(forbindelse nr. 11 i tabel I på side 215 i Journ. Med. Chem., 1979, Vol. 22)

Tabel V

	Organisme		Mindste inhiberende koncentration ($\mu\text{g/ml}$)	
			Forbindelse	
			I	X
5				
10	Staphylococcus Aureus	SSC 79-18	0,5	0,015
	" "	FU 79-19-2	1	1
	" "	Smith	0,5	0,015
	" "	ATCC 25923	1	0,03
15	Enterococcus	OSU 75-1	16	16
	"	SM 77-15	16	16
20	Escherichia coli	STFD 79-20	0,03	4
	" "	311	0,03	4
	Klebsiella sp.	STFD 79-6	0,03	2
	" "	SSC 78-1	0,03	8
25	Enterob. aerog.	STFD 79-14	0,12	64
	" cloacae	K 79-16	0,5	64
	Serratia sp.	TUL 78-15	1	>256
	" "	QHC	4	>256
30	Salmonella sp.	SSC 79-57	0,5	128
	" " arizona	QHC 77-3	0,06	2
35	Acinetob. sp.	STFD 79-17	32	128
	" "	K 77-1	4	256
	Pseudomonas aerug.	ATCC 27853	64	>256
40				
45				
50				

0

De her omhandlede forbindelsers anvendelighed demonstreres yderligere ved deres evne til at regulere systemiske letale infektioner hos mus. Til afprøvningen anvendes der hunmus af stammen "Charles River Laboratories CD-1" hver vejende 20 ± 2 g.

5 Musene inficeres ved intraperitoneal injektion af tilstrækkeligt med bakterier (jfr. tabel II) i enten 0,5 ml 5% mucin (S. aureus-stammer) eller bouillon (S. pyogenes eller E. coli) til dræbning af 95-100% af ubehandlede mus i løbet af 48 timer.

Musene behandles ved subcutan injektion 30 minutter efter inficeringen med testlægemidlet i varierende doser i 0,5 ml 0,2% vandholdig agar. Overlevelsestallene 7 dage efter injiceringen registreres. Resultaterne af tre separate afprøvninger med forbindelsen (Ia) er samlet og anført i tabel VI som medianeffektive doser (ED_{50}), som blev bestemt ved probitanalyse.

15 Forbindelserne i tabel VI er anført med koder på følgende måde:

Forbindelse Ia = 7β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)-acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

20

Tabel VI

Inficerende bakterier	Medianeffektiv dosis (ED_{50})
	mg/kg (95% konfidensgrænse)
	Forbindelse Ia
Staphylococcus aureus Smith	2,9 (2,4-3,6)
Staphylococcus aureus Fu-79-2	6,1 (4,4-8,4)
30 Staphylococcus pyogenes C203	0,1 (0,08-0,13)
Escherichia coli 311	0,35 (0,28-0,44)

35

0

De aktive forbindelser ifølge opfindelsen er effektive til behandling af bakterieinfektioner hos varmblodede dyr ved parenteral indgivelse i mængder varierende fra ca. 15 mg til ca. 200 mg pr. kg legemsvægt pr. dag. Et foretrukket doserings-
5 interval ligger fra ca. 20 mg til ca. 60 mg pr. kg legemsvægt pr. dag. En foretrukken doseringsenhed indeholder ca. 15 mg til ca. 2 g af den aktive forbindelse. Især foretrækkes doseringsenheder indeholdende ca. 50 mg til ca. 1 g aktiv forbindelse. Doseringsenhederne reguleres således, at der i alt ind-
10 gives ca. 4-12 g af den aktive forbindelse i løbet af en periode på 24 timer, når det drejer sig om en patient med en legemsvægt på ca. 70 kg. Denne dosering kan tilpasses til opnåelse af en optimal terapeutisk reaktion. En foretrukken dosering til ikke-livstruende infektioner er eksempelvis ca. 15-200 mg
15 pr. kg legemsvægt pr. dag. Til alvorlige eller livstruende infektioner kan doseringen øges op til 350 mg pr. kg legemsvægt pr. dag. Mange delte doser kan indgives dagligt, eller doseringen kan også mindskes proportionalt efter forholdene ved den terapeutiske situation.

20 Disse aktive forbindelser kan indgives ifølge mange forskellige hensigtsmæssige metoder, eksempelvis intravenøst, intramuskulært, subcutant eller intraperitonealt.

Opløsninger eller suspensioner af disse aktive forbindelser, såsom en fri base eller farmakologisk acceptable salte, kan
25 fremstilles i vand som hensigtsmæssigt er blandet med et overfladeaktivt middel, såsom hydroxypropylcellulose. Dispersioner kan også fremstilles i glycerol, flydende polyethylenglycoler samt blandinger heraf i olier. Under almindelige opbevarings- og anvendelsesbetingelser indeholder disse præparater et kon-
30 serveringsmiddel for at forhindre vækst af mikroorganismer.

De farmaceutiske former, der er hensigtsmæssige til injektion, omfatter sterile vandopløsninger eller dispersioner. i vand samt sterile injicerbare opløsninger eller dispersioner. Under alle omstændigheder skal formerne være sterile og til-
35 strækkeligt flydende til at muliggøre anvendelse af en injek-

0

tions sprøjte. De skal være stabile under betingelserne ved til-
virkningen og opbevaringen og skal bevares mod forurening mod
mikroorganismer, såsom bakterier og svampe. Bærere kan være et
opløsningsmiddel eller et dispersionsmedium, der eksempelvis in-
5 deholder vand, ethanol, polyol (f.eks. glycerol, propylenglycol
og flydende polyethylenglycol), hensigtsmæssige blandinger heraf
samt vegetabiliske olier.

En yderligere forståelse af opfindelsen kan fås fra
følgende præparationer og eksempler. Såfremt intet andet
10 er anført betyder alle de ovenfor anførte og de i
det følgende anførte temperaturer og temperaturintervaller $^{\circ}\text{C}$
og stuetemperatur betyder ca. 20°C . Udtrykket procent (%) refe-
rerer til vægtprocent, og udtrykket "mol" og lignende refererer
til g/mol. Udtrykket "ækvivalent" refererer til en mængde rea-
15 gens, der i mol svarer til molene af den foregående eller efter-
følgende reaktant i præparationen eller eksemplet i form af mol
med bestemt vægt eller rumfang.

Eksempel 1

20 7β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-
-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

En opløsning af 245 mg af natriumsaltet af 7β -[α -syn-
-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-cephalosporan-
syre og 78 mg af kaliumsaltet af 1,2,3-thiadiazol-5-thiol i
25 5 ml vand opvarmes ved 65°C ved pH 7,3 i 6 timer. Opløsningen
ekstraheres med ethylacetat og indstilles på pH 2,5 med
1 N saltsyre. Det dannede bundfald udvindes ved filtrering til
dannelse af 70 mg af det ønskede produkt i form af en gulbrun
fast masse. $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 5,62 (β -lactamcarbonyl).

30

Eksempel 2

7β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-
-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

3,17 g dicyclohexylcarbodiimid sættes til en opløsning
35 af 13,0 g 2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-syn-methoxyimino-
eddikesyre i 60 ml methylenchlorid. Blandingen omrøres i kulde

0

i 30 minutter og derefter ved stuetemperatur i 1,5 timer. Urinstoffet fjernes ved filtrering, filtratet afkøles i et is/methanol-bad, og der tilsættes en kold opløsning af 4,4 g 7-amino-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre og 3,72 ml triethylamin i 60 ml methylenchlorid. Blandingen omrøres i kulde i 30 minutter og derefter ved stuetemperatur natten over. Reaktionsblandingen ekstraheres i den nævnte rækkefølge med kold 0,5 N saltsyre, vand og saltopløsning, tørres derefter over magnesiumsulfat. Bortdampning af opløsningsmidlet giver en olie, som opløses i en opløsning af 30 ml dioxan og 30 ml ether. 2,92 ml diethylamin tilsættes, og opløsningen afkøles og filtreres til dannelse af 6,2 g diethylammoniums salt af 2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-syn-methoxyiminoeddikesyre som biprodukt. Filtratet fortyndes til 500 ml med ether, afkøles og filtreres til dannelse af 8,5 g 7-[2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-syn-(methoxyimino)acetamido]-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)-thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre i form af diethylammoniums saltet.

En blanding af 2,4 g af det ovenfor anførte diethylammoniums salt og 20 ml 80% 's myresyre omrøres ved stuetemperatur i 2 timer og fortyndes derefter med 20 ml vand og filtreres. Filtratet inddampes til tørhed ved 35°C, og remanensen tritureres med ether, filtreres og tørres til dannelse af 1,4 g af det ønskede produkt.

25

Eksempel 3

Natrium-7β-[α-syn-methoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylat

3,5 g 7β-[α-syn-methoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)-acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre opløses i 100 ml vand ved dråbevis tilsætning af 6,6 ml 1 N natriumhydroxid. Denne opløsning filtreres, og filtratet lyofiliseres til dannelse af 3,3 g af det ønskede produkt.

35

0

Eksempel 47-Amino-3-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

En blanding af 4,04 g 7-aminocephalosporansyre, 2,30 g natrium-4-methyl-1,2,3-thiadiazol-5-thiolat og 1,24 g natriumbicarbonat i 60 ml vand og 30 ml acetone omrøres og tilbagesvales i 2,5 timer. Reaktionsblandingen afkøles til stuetemperatur, syrnes til pH 3,5, og bundfaldet opsamles, vaskes med vand og tørres til dannelselse af 3,7 g af det ønskede produkt.

10

Eksempel 57 β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-tritylamino-thiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

2,08 g phosphorpentachlorid sættes i flere portioner til en kold opløsning af 4,44 g 2-(2-tritylamino-4-thiazolyl-2-syn-methoxyiminoeddikesyre og 1,41 ml triethylamin i 70 ml methylenchlorid. Blandingen omrøres i kulde i 30 minutter og derefter ved stuetemperatur 30 minutter. Opløsningsmidlet fjernes ved formindsket tryk. Remanensen opløses i 70 ml methylenchlorid og inddampes igen til tørhed. Denne remanens opslættes i 50 ml acetone, filtreres, og filtratet sættes derefter dråbevis under omrøring til en kold opløsning af 2,53 g 7-amino-3-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre, 0,84 g natriumbicarbonat og 2,82 ml triethylamin i 75 ml vand indeholdende 50 ml acetone. Denne blanding omrøres i kulde i 30 minutter, derefter ved stuetemperatur i 1 time og syrnes til en pH-værdi på 2. Der tilsættes 100 ml vand, og blandingen ekstraheres med tre 150 ml portioner ethylacetat. De forenede ethylacetatekstrakter vaskes med vand og saltopløsning og tørres derefter over magnesiumsulfat og inddampes til dannelselse af 6,3 g af det ønskede produkt.

35

0

Eksempel 6

7 β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)-acetamido]-3-
-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)-methyl]-3-cephem-4-
-carboxylsyre

5 4,0 g 7 β -[α -syn-methoxyimino- α -(2-tritylaminothiazol-
 -4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-thiadiazol-4-methyl-5-ylthio)methyl]-
 -3-cephem-4-carboxylsyre sættes til 40 ml 80%'s myresyre, og
 blandingen omrøres ved stuetemperatur i 2,5 timer. En 40 ml an-
 del vand tilsættes, og blandingen filtreres, og filtratet ind-
 10 dampes til tørhed ved 35°C. Remanensen tritureres med vand,
 filtreres og tørres til dannelselse af 1,7 g af det ønskede pro-
 dukt.

Eksempel 715 Fremstilling af en topisk cremeKomponenter

	<u>% w/w</u>
Aktiv forbindelse	0,05-5
Natriumlaurylsulfat	1
Propylenglycol	12
20 Stearylalkohol	25
Petrolatum, hvidt USP	25
Methylparaben, USP	0,18
Propylparaben, USP	0,02
Renset vand qs.	100

25

Eksempel 8Fremstilling af topisk linimentKomponenter

	<u>% w/w</u>
Aktiv forbindelse	0,05-5
30 Cholesterol	3
Stearylalkohol	3
Hvid voks	8
Petrolatum, hvidt USP qs.	100

35

0

Eksempel 9Fremstilling af et intramuskulært produkt

268 liter sterilt vand til injektion USP føres til en
blandingstank og afkøles til $6^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$. 70.219 g 7β -[α -syn-
5 -methoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,2,3-
-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre suspen-
deres i vandet, og der tilsættes 11.016 g natriumbicarbonat
i omtrent ti lige store portioner. Opløsningen ved $6^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$
10 blandes i 3-5 timer og fortyndes derefter til 535 liter med
sterilvand til injektion USP ved samme temperatur. Opløsning-
gen sterilfiltreres derefter, fyldes i sterile glasampuller,
der kan indeholde 50,56 ml, og lyofiliseres. Gendannelse med
11,6 ml af et hensigtsmæssigt fortyndingsmiddel, såsom ste-
rilvand til injektion USP, giver 15,8 ml produkt med en kon-
15 centration på 400 mg/ml i form af natriumsaltet.

Eksempel 10Fremstilling af intravenøst produkt

Fremgangsmåden anført i eksemplet til intramuskulære
20 produkter gentages. Ampullen fyldes med 48,0 ml og lyofili-
seres. Gendannelsen sker med 5 ml hensigtsmæssigt fortyn-
dingsmiddel, som derefter yderligere fortyndes til 50 ml
(eller ønsket rumfang) til dannelse af 6 g infusion.

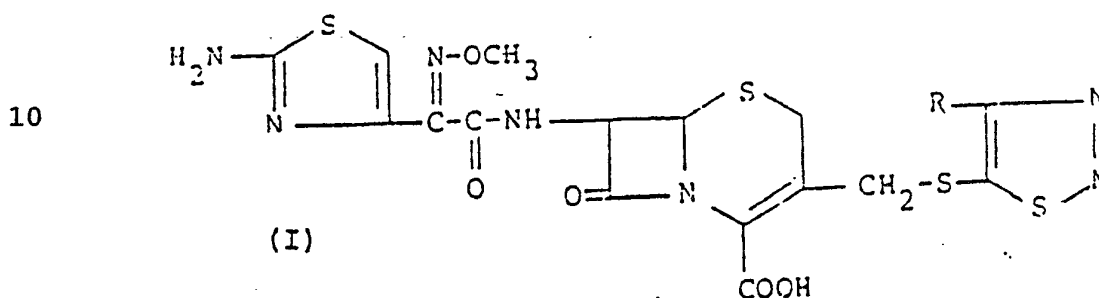
25

30

35

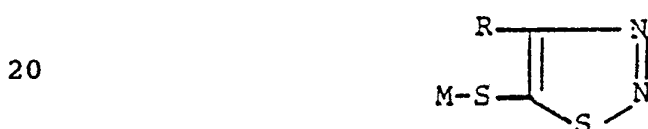
P a t e n t k r a v .

Analogifremgangsmåde til fremstilling af 7-β-[α- -
syn-methoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[(1,-
2,3-thiadiazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre
5 samt i thiadiazolringens 4-stilling substituerede C₁-C₆-
-alkylderivater og fysiologisk acceptable salte heraf med
den almene formel

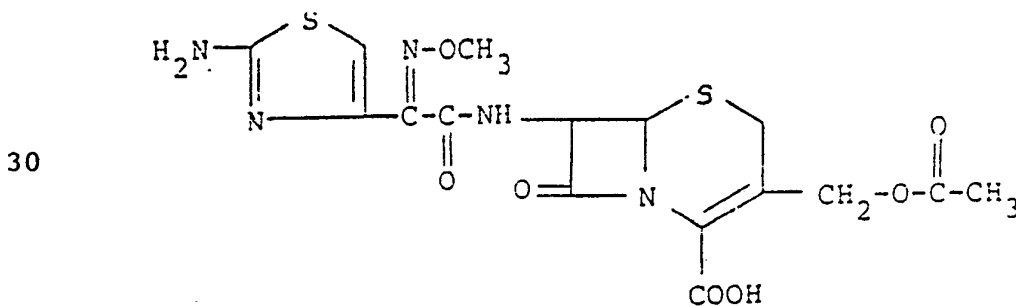


15 hvor R betyder hydrogen eller C₁-C₆-alkyl, k e n d e t e g -
n e t v e d , a t

a) en forbindelse med formlen



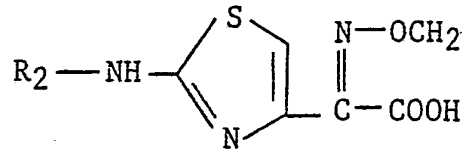
hvor R har den ovenfor anførte betydning, og M betyder hy-
drogen eller en alkalimetalkation, bringes til at reagere
25 med forbindelsen med formlen



35

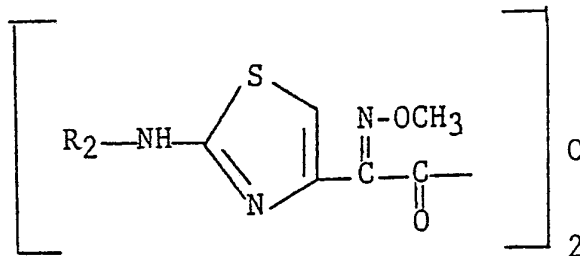
b) en forbindelse med formlen

5



hvor R_2 er en let fjernelig aminobeskyttelsesgruppe, bringes til at reagere med dicyclohexylcarbodiimid til dannelselse af en forbindelse med formlen

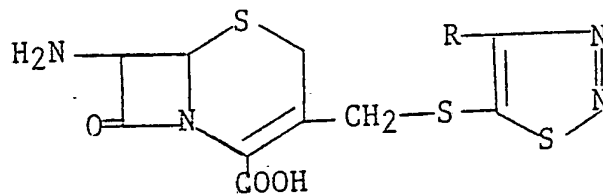
15



20

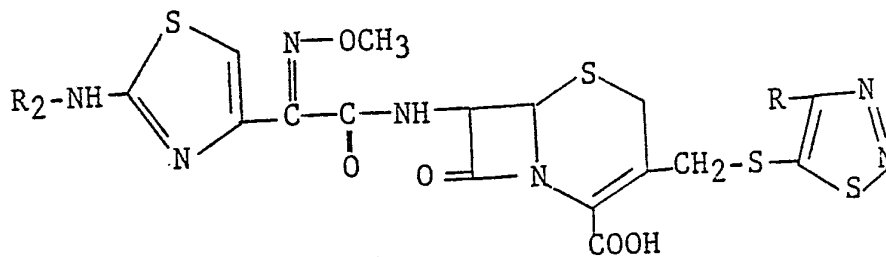
hvor R_2 har den ovenfor anførte betydning, samt omsætning af den anførte forbindelse med en forbindelse med formlen

25



hvor R har den ovenfor anførte betydning, til dannelselse af en forbindelse med formlen

30

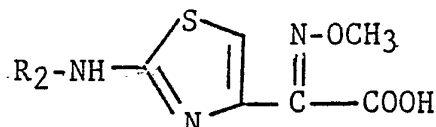


35

hvor R og R₂ har den ovenfor anførte betydning, og R₂-delen fjernes til dannelselse af en forbindelse med formlen (I), eller

c) en forbindelse med formlen

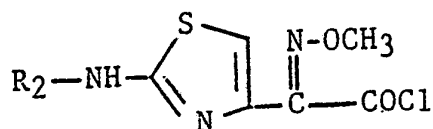
5



10

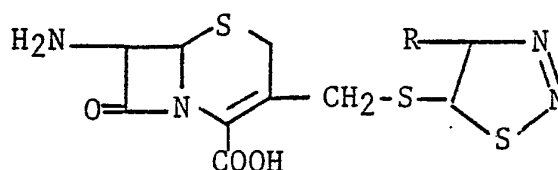
hvor R₂ er en let fjernelig aminobeskyttelsesgruppe, bringes til at reagere med phosphorpentachlorid til dannelselse af en forbindelse med formlen

15



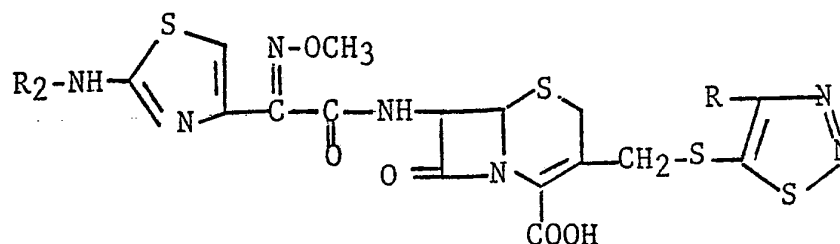
20 hvor R₂ har den ovenfor anførte betydning, samt omsætning af denne forbindelse med en forbindelse med formlen

25



hvor R har den ovenfor anførte betydning, til dannelselse af en forbindelse med formlen

35



hvor R og R_2 har den ovenfor anførte betydning, samt fjernelse af R_2 -delen til dannelse af en forbindelse med formlen (I), hvorefter de således fremstillede forbindelser med formlen I om ønsket omdannes til fysiologisk acceptable

5 salte deraf.