

(19) DANMARK



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 143344 B

(21) Ansøgning nr. 3126/77

(51) Int.Cl.³ C 07 D 519/00

(22) Indleveringsdag 11. jul. 1977

(24) Løbedag 11. jul. 1977

(41) Alm. tilgængelig 14. jan. 1978

(44) Fremlagt 10. aug. 1981

(86) International ansøgning nr. -

(86) International indleveringsdag -

(85) Videreførelsesdag -

(62) Stamansøgning nr. -

(30) Prioritet 13. jul. 1976, 705226, US 16. mar. 1977, 777986, US

24. feb. 1977, 771859, US 15. apr. 1977, 788056, US

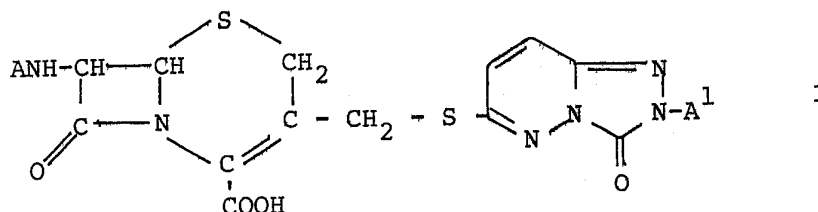
(71) Ansøger BRISTOL-MYERS COMPANY, New York, US.

(72) Opfinder Takayuki Naito, JP: Jun Okumura, JP: Hajime Kamachi,
JP: Seiji Iimura, JP.

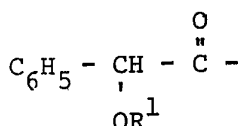
(74) Fuldmægtig Th. Ostenfeld Patentbureau A/S.

(54) Analogifremgangsmåde til frem=
stilling af cephalosporansyre=
derivater og estere og salte
deraf.

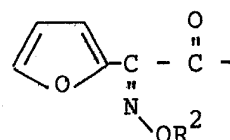
Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte cephalosporansyrederivater med den almene formel:



hvor A er



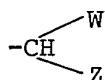
eller



DK 143344 B

hvor R^1 er hydrogen eller formyl,
 R^2 er alkyl med 1-4 carbonatomer, og
 hvori A^1 er methyl eller $-(CH_2)_nCOOH$ og n er 1 eller 2,
 eller en let hydrolyserbar ester eller et ikke-toxisk, farmaceutisk acceptabelt salt deraf.

De let hydrolyserbare estere af syrerne, som har formel I, omfatter de estere, som indeholder en gruppe med den almene formel:



hvor Z betegner (lavere)alkanoyl, benzoyl, naphthoyl, furoyl, thenoyl, nitrobenzoyl, methylbenzoyl, halogenbenzoyl, phenylbenzoyl, N-phthalimido, N-succinimido, N-saccharino, N-(lavere)alkylcarbamoyl, (lavere)-alkoxy, (lavere)alkylthio, phenoxy, carbalkoxy, carbobenzoxo, carbamoyl, benzyloxy, chlorbenzyloxy, carbophenoxy, carbo-tert.-butoxy eller (lavere)alkylsulfonyl, når W betegner hydrogen, Z betegner carbalkoxy, når W betegner carbalkoxy, og Z betegner benzoyl eller cyano, når W betegner phenyl, eller

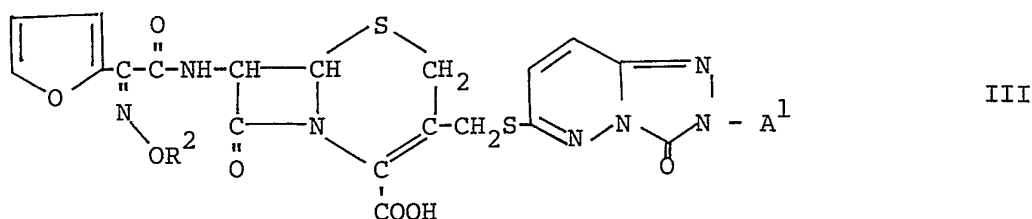
hvor W og Z tilsammen betegner 2-oxocycloalkyl indeholdende fra 4 til 8 carbonatomer. Blandt de let hydrolyserbare estere foretrækkes især pivaloyloxymethyl-, acetoxymethyl-, acetonyl-, phenacyl- og methoxymethylestre, samt silylestre, såsom trimethylsilylestere.

Saltene af de omhandlede forbindelser omfatter de ikke-toxiske carboxylsyresalte deraf, herunder ikke-toxiske metalsalte, såsom natrium-, kalium-, calcium- og aluminiumsaltene, ammoniumsaltet og substituerede ammonium-salte, f.eks. salte af ikke-toxiske aminer, såsom trialkylaminer, omfattende triethylamin, procain, dibenzylamin, N-benzyl-beta-phenethylamin, 1-ephedamin, N,N'-dibenzylethyldiamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis-dehydroabietyldiamin, og andre aminer, som har været anvendt til dannelse af salte med benzylpenicillin, samt L-lysin, arginin og histidin.

Den bicykliske kernes stereokemi er den, som findes i Cephalosporin C.

Blandt de omhandlede forbindelser foretrækkes især sådanne, som har D-konfiguration i 7-sidekæden.

Når de omhandlede forbindelser har den almene formel III

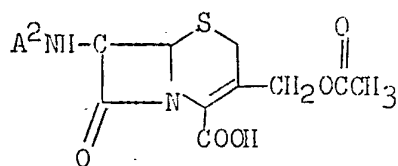


hvor A^1 , n og R^2 har de foran anførte betydninger, kan de være enten syn-isomere eller blandinger af syn- og anti-isomere indeholdende i det mindste 75% af den syn-isomere. Fortrinsvis indeholder sådanne blandinger af isomere i det mindste 90% af den syn-isomere og ikke mere end 10% af den anti-isomere. Især foretrækkes det, at forbindelserne med formel III er syn-isomere, som i det væsentlige er fri for den tilsvarende anti-isomere. Henvisning til den syn-(cis)-isomere form henviser til konfigurationen af gruppen OR^2 i forhold til carboxamidogruppen.

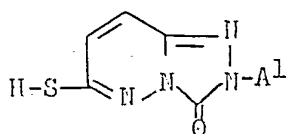
De omhandlede forbindelser med den almene formel I besidder bred-spektret antibakteriel aktivitet og er uventet mere aktive end Cefamandol, der er trivialnavnet for 7-(D-mandelamido)-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl-thiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, og Cefuroxim, der er trivialnavnet for natrium-6R,7R-3-carbamoyloxymethyl-7-(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamidoceph-3-em-4-carboxylat. Det har endvidere overraskende vist sig, at den mest aktive blandt de omhandlede forbindelser (BB-S510, se nedenfor), som har en 2-methylsubstituent på triazolopyridazinonen, udviser en in vitro antibakteriel styrke, som er betydeligt bedre end den tilsvarende styrke af den tilsvarende forbindelse, som mangler en sådan methylgruppe (BB-S515, se nedenfor). De omhandlede forbindelser kan derfor med fordel anvendes til bekæmpelse af bakterielle infektioner, herunder Shig. dysenteriae-infektioner, Sal. enteritidis-infektioner, Haemophilus-infektioner og Neisseria-infektioner.

Ved behandling af bakterielle infektioner i mennesker administreres de omhandlede forbindelser parenteralt i en fra ca. 5-200, især ca. 10-90 mg/kg/dag, og fortrinsvis ca. 5-20, især ca. 14-20 mg/kg/dag i opdelt dosering, fx. 2-4 gange pr. dag. De administreres i doseringsenheder, som fx. indeholder 125, 250 eller 500 mg aktiv bestanddel sammen med velegnede fysiologisk acceptable bærere eller excipients. Doseringseenhederne er i form af flydende præparater, såsom opløsninger eller suspensioner, og er fortrinsvis vandige opløsninger af et natriumsalt eller et kaliumsalt, som injiceres intravenøst eller intramuskulært eller ved kontinuert eller periodisk infusion i koncentrationer på ca. 125-500 mg/ml og fortrinsvis 250 mg/ml, således som det er sædvanligt i terapien med cephalosporin-antibiotika.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at man omsætter en forbindelse, som har den almene formel:



hvor A^2 er H eller har den for A ovenfor definerede betydning, eller et salt eller let hydrolyserbar ester deraf med en forbindelse, som har den almene formel:

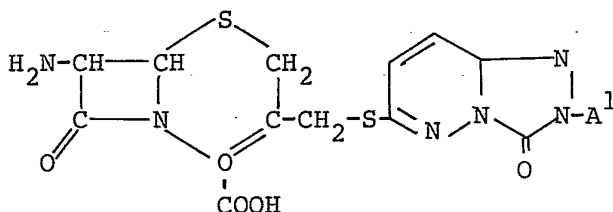


hvor A^1 har den ovenfor anførte betydning, og, når A^2 er H, behandler den resulterende forbindelse med et acyleringsmiddel, som har den almene formel:



hvor X er halogenid eller et funktionelt ækvivalent deraf, og A har den ovenfor anførte betydning, idet dog, når A -gruppen indeholder en fri hydroxylgruppe, denne gruppe på forhånd blokeres ved hjælp af en konventionel beskyttende gruppe, som bagefter fjernes til tilvejebringelse af en forbindelse med formel I, og om ønsket omdanner den resulterende forbindelse med formel I i form af fri syre, salt eller let hydrolyserbar ester til den tilsvarende ester eller ikke-toxiske, farmaceutisk acceptable salt deraf, og om ønsket omdanner en forbindelse med formel I i form af et resulterende salt eller let hydrolyserbar ester til den tilsvarende frie syre med formel I.

Ifølge en udførelsesform af denne fremgangsmåde omsætter man en forbindelse, som har den almene formel:



IV

hvori A¹ har den ovenfor anførte betydning, eller et salt eller let hydrolyserbar ester deraf eller en Schiff-base deraf, f.eks. med benzaldehyd eller salicylaldehyd, (omfattende men ikke begrænset til de salte, estere eller Schiff-baser, som er omhandlet af U.S.A. patentskrift nr. 3.284.451 og britisk patentskrift nr. 1.229.453, samt en hvilken som helst af de silylestre, som er beskrevet i U.S.A. patentskrift nr. 3.249.622 til anvendelse sammen med 7-aminopenicillansyre, og som beskrevet anvendt i britisk patentskrift nr. 1.073.530, og især omfattende pivaloyloxymethyl-, acetoxymethyl-, methoxymethyl-, acetyl-, phenacyl-, p-nitrobenzyl-, β,β,β -trichlorethyl-, 3-phthalidyl- og 5-indanylestrene) med et organisk monocarboxylsyrechlorid eller et funktionelt ækvivalent deraf som acyleringsmiddel.

Sådanne funktionelle ækvivalenter omfatter de tilsvarende syrer og anhydrider, omfattende blandede anhydrider, og især de blandede anhydrider fremstillet fra stærkere syrer, såsom de lavere alifatiske monoestre af carbonsyre eller alkyl- og arylsulfonsyrer eller af mere hæmmede syrer, såsom diphenyleddikesyre. Tillige kan et syreazid eller en aktiv ester eller thioester (f.eks. med p-nitrophenol, 2,4-dinitrophenol, thiophenol, thioeddikesyre) anvendes, eller den frie syre i sig selv kan kobles med forbindelse IV efter en første omsætning af denne frie syre med N,N'-dimethylchlorformiminiumchlorid [se britisk patentskrift nr. 1.008.170 og Novak og Weichet, Experientia XXI, 6, 360 (1965)] eller ved anvendelse af enzymer eller af en N,N'-carbonyl-diimidazol eller en N,N'-carbonylditriazol [se sydafrikansk patentskrift nr. 63/2684] eller et carbodiimid-reagens [især N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, N,N'-diisopropylcarbodiimid eller N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimid, se Sheehan og Hess, J. Amer. Chem. Soc., 77, 1967 (1955)] eller af et alkyllamin-reagens [se R. Buijle og H.G. Viehe, Angew. Chem. International Edition 3, 582, (1964)] eller af et isoxasoliumsolt-reagens [se R.B. Woodward, R.A. Olofson og H. Mayer, J. Amer. Chem. Soc., 83, 1010 (1961)] eller af et ketenimin-reagens [se C.L. Stevens og M.E. Munk, J. Amer. Chem. Soc., 80, 4065 (1958)] eller af hexachlorcyclotriphosphatriazin eller hexabromcyclotriphosphatriazin (se U.S.A. patentskrift nr. 3.651.050) eller af diphenylphosphorylazid [DPPA] [se J. Amer. Chem. Soc., 94, 6203-6205 (1972)] eller af diethylphosphorylcyanid [DEPC] [se Tetrahedron Letters No. 18, pp. 1595-1598 (1973)] eller diphenylphosphit [se Tetrahedron Letters No. 49, pp. 5047-5050 (1972)]. Et andet ækvivalent af syrechloridet er et tilsvarende azolid, d.v.s. et amid af den tilsvarende syre, hvis amid-nitrogen er et element af en kvasi-aromatisk fem-leddet ring,

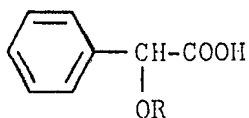
som i det mindste indeholder to nitrogenatomer, d.v.s. imidazol, pyrazol, triazolerne, benzimidazol, benzotriazol og deres substituerede derivater. Som et eksempel på den almene fremgangsmåde til fremstilling af et azolid omsættes N,N'-carbonyldiimidazol med en carboxylsyre i ækvimolære forhold ved stuetemperatur i tetrahydrofuran, chloroform, dimethylformamid eller et lignende inert opløsningsmiddel til dannelselse af carboxylsyre-imidazolidet i praktisk taget kvantitativt udbytte under frigørelse af carbondioxid og et mol imidazol. Dicarboxylsyrer giver dimidazolid. Biproduktet, imidazol, fælder ud og kan adskilles, og imidazolidet kan isoleres, men dette er ikke væsentligt. Fremgangsmåderne til udførelse af disse omsætninger til fremstilling af cephalosporiner og de til isolering af de således fremstillede cephalosporiner anvendte metoder er velkendte i teknikken.

Ovenfor omtaltes anvendelse af enzymer til kobling af den frie syre med forbindelse IV. Indenfor rammerne af sådanne processer er anvendelse af en ester, f.eks. methylesteren, af den frie syre sammen med enzymer tilvejebragt ved hjælp af forskellige mikroorganismer, f.eks. de, som er beskrevet af T. Takahashi et al., J. Amer. Chem. Soc., 94(11), 4035-4037 (1972) og af T. Nara et al., J. Antibiotics (Japan) 24(5), 321-323 (1971) samt i U.S.A. patentskrift nr. 3.682.777.

Med henblik på kobling af den organiske carboxylsyre som ovenfor beskrevet med forbindelse IV (eller et salt eller fortrinsvis en let hydrolyserbar ester eller Schiff-base, som f.eks. med benzaldehyd, deraf) er det også bekvemt og virkningsfuldt som koblingsmiddel at anvende trimer phosphonitrilchlorid (se J. Org. Chem., 33(7), 2979-81, 1968) eller N-ethoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ) som beskrevet i J. Amer. Chem. Soc., 90, 823-824 og 1652-1653 (1968) og i U.S.A. patentskrift nr. 3.455.929. Omsætningen udføres fortrinsvis ved 30-35°C i benzen, ethanol eller tetrahydrofuran under anvendelse af omtrent ækvimolære mængder af alle tre reagenser og efterfølges af konventionel isolering og fjernelse ved konventionelle metoder af eventuelt tilstedeværende blokerende grupper.

Et udførelseseksempel på fremstilling af de omhandlede forbindelser I, som har D-konfiguration i sidekæden og hvori A svarer til en mandelamido-gruppe og A¹ betegner $-(CH_2)_nCOOH$, hvori n har den ovenfor anførte betydning, består i, at man:

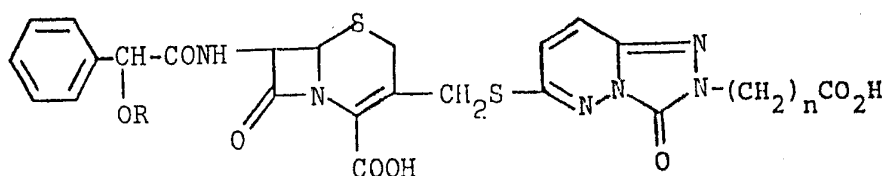
a) fremstiller et acylerende D-mandelsyrederivat, som har den almene formel:



hvor i den hydroxyl-blokerende gruppe R betegner dichloracetyl, silyl og fortrinsvis trimethylsilyl, tetrahydropyranyl eller fortrinsvis formyl,

i et vandfrit organisk opløsningsmiddel, såsom benzen, ethanol eller fortrinsvis tetrahydrofuran, ved stuetemperatur eller lavere og fortrinsvis ved ca. 5°C, og derefter

b) blander dermed, fortrinsvis langsomt, en opløsning ved omtrent samme temperatur i et opløsningsmiddel, fortrinsvis vandig tetrahydrofuran, indeholdende i det væsentlige samme antal mol af en tertiær amin, fortrinsvis en tertiær alkylamin, såsom triethylamin, og i det væsentlige samme antal mol 7-amino-3-(2-carboxymethyl eller 2-carboxyethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre eller et salt eller en let hydrolyserbar Schiff-base, som f.eks. med benzaldehyd, deraf til dannelsen som mellemprodukt af en syre, som har den almene formel:



hvor i n er 1 eller 2,

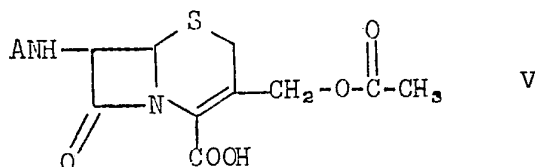
og R har den ovenfor anførte betydning, eller et salt deraf, og derefter

c) fjerner den hydroxyl-blokerende gruppe R ved konventionelle kemiske metoder til dannelsen af det ønskede produkt eller et salt deraf.

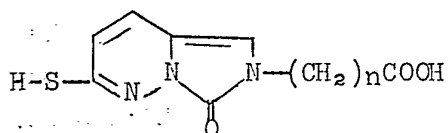
I foretrukne udførelsesseksempler betegner R formyl, som fjernes i trin c ved behandling med vandig base, såsom vandig natriumhydrogencarbonat, eller R betegner dichloracetyl, som fjernes i trin c ved basisk hydrolyse, fortrinsvis ved ca. pH-værdi 9-10, eller R betegner trimethylsilyl, som fjernes i trin c ved udsættelse for vandig syre.

Andre mandelamido-derivater fremstilles på lignende måde.

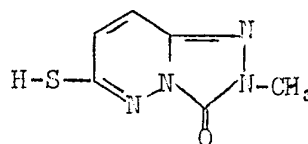
Et yderligere udførelseseksempel på fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse består i udskiftning af 3-acetoxysgruppen fra en cephalosporansyre, som har den almene formel:



hvor A har den ovenfor anførte betydning, hvilken cephalosporansyre kan fremstilles ved erstatning af de 3-thiolerede 7-aminocephalosporansyrer med 7-aminocephalosporansyre ved de heri beskrevne og andetsteds anførte acyleringsfremgangsmåder, med den passende thiol HSR^3 , som har den almene formel:



eller



hvor n er 1 eller 2,

og hvorefter man fjerner den eventuelt på carboxylgruppen tilstedeværende beskyttende gruppe,

Udskiftningen af en sådan 3-acetoxysgruppe med en sådan thiol kan udføres i opløsning, såsom i vand eller vandig acetone, ved en temperatur på i det mindste stuetemperatur og fortrinsvis indenfor intervallet på ca. $50 - 100^{\circ}\text{C}$ i nærværelse af en mild base, såsom natriumhydrogencarbonat, f.eks. fortrinsvis i nærheden af neutralitet, såsom ved pH-værdi ca. 6. Et overskud af thiolen anvendes fortrinsvis. Reaktionsproduktet isoleres ved omhyggelig forsyning af reaktionsblandingen efterfulgt af ekstraktion med et med vand ublandbart organisk opløsningsmiddel.

De foretrukne estre af de omhandlede cephalosporiner er som nævnt pivaloyloxymethyl-, acetoxymethyl-, methoxymethyl-, acetonyl- og phenacylestre, der hver for sig kan fremstilles ved kendte fremgangsmåder. En udmærket fremgangsmåde til fremstilling af estere af udgangsforbindelsen er den i USA patentskrift nr. 3.284.451 beskrevne, ved

hvilken natriumcephalothin esterificeres ved omsætning med den tilsvarende aktive chlor- eller bromforbindelse (f.eks. phenacylbromid, chloracetone, chlormethylether, pivaloyloxymethylchlorid [også benævnt chlormethylpivalat] og acetoxymethylchlorid), og derefter fjernes thienyl-eddikesyre-sidekæden enzymatisk som beskrevet i ovennævnte patentskrift eller kemisk som beskrevet i U.S.A. patentskrift nr. 3.575.970 og i Journal of Antibiotics, XXIV (11), 767-773 (1971). Ved en anden god fremgangsmåde omsættes triethylaminsaltet af 7-aminocephalosporansyre direkte med den aktive halogenforbindelse som beskrevet i britisk patentskrift nr. 1.229.453.

Disse estre af 7-aminocephalosporansyre omsættes derpå med den nukleofile HSR^3 på samme måde som heri tidligere belyst for 7-aminocephalosporansyre i sig selv. Den 3-thiolerede ester af 7-aminocephalosporansyre kobles derpå sammen med den organiske carboxylsyre som ovenfor anført.

Den således opnåede ester af cephalosporinen omdannes, hvis den ikke anvendes som sådan, til den frie syre, og om ønsket til et vilkårligt salt ved fjernelse af den esterificerende gruppe, såsom ved vandig eller enzymatisk hydrolyse (såsom med menneske- eller dyreserum) eller ved sur eller basisk hydrolyse eller ved behandling med natriumthiophenoxid som omhandlet i U.S.A. patentskrift nr. 3.284.451 og, hvad angår penicillinrækken, af Sheehan et al., J. Org. Chem. 29(7), 2006-2008 (1964).

I endnu en alternativ syntese fremstilles den 3-thiolerede 7-aminocephalosporansyre som heri beskrevet og acyleres derefter ved 7-aminogruppen og esterificeres til slut, f.eks. ved omsætning af den passende alkohol med det fremstillede syrechlorid, f.eks. ved omsætning af den slutteligt opnåede cephalosporin med thionylchlorid, eller ved andre i det væsentlige sure esterificeringsfremgangsmåder.

I det følgende belyses fremstilling af udgangsmaterialer.

2-furoylcyanid

Til en opslæmning af 26,1 g (0,4 mol) formalet kaliumcyanid i 300 ml acetonitril ved 5°C sættes 26,1 g (0,2 mol) α -furoylchlorid under opretholdelse af temperaturen under 8°C . Blandingen omrøres i kulden i 15 minutter og opvarmedes derefter under tilbagesvaling i 30 minutter. Reaktionsblandingen afkøledes og filtreredes, og acetonitrilet fjernedes ved 15 mm Hg (dampbad) til efterladelse af 24,5 g af en mørk olie, som anvendtes uden yderligere rensning. Et infrarødt spektrum viste et nitril-bånd ved 2265 cm^{-1} .

2-furanglyoxylsyre

De 24,5 g rå 2-furoylcyanid blandedes med 160 ml koncentreret saltsyre ved 25°C under periodisk omrøring. Reaktionsblandingen henstilledes i 24 timer ved 25°C og fortyndedes med 80 ml vand. Reaktionsblandingen omrørtes i 5 minutter og filtreredes. Filtratet mættedes med natriumchlorid og ekstraheredes med 5 x 120 ml 1:1 ether-ethylacetatopløsning. Ekstrakterne kombineredes, tørredes over vandfri magnesiumsulfat og inddampedes ved 30°C (15 mm Hg) til dannelse af et brunligt-orange faststof. Faststoffet opløstes i methanol, behandledes med trækul og inddampedes under formindsket tryk (15 kviksølv) til tørhed til dannelse af 17 g af syren.

Produktet omkrystalliseredes fra toluen til dannelse af 11,5 g (smeltepunkt 76°C). IR- og NMR-spektrene var konsistente for strukturen.

2-methoxyimino-2-furyleddikesyre

Til en opløsning af 4,5 g (0,032 mol) 2-furanglyoxylsyre i 40 ml 50% alkohol og 3,1 g (0,037 mol) methoxyamin,hydrochlorid i 6 ml vand ved 20°C sattes fortyndet natriumhydroxidopløsning indtil pH-værdi 4-5. Opløsningen omrøres ved pH-værdi 4-5 ved 25°C i 24 timer. Alkoholen fjernedes under formindsket tryk (15 mm Hg), og opløsningen indstilledes til pH-værdi 7-8 med 50% natriumhydroxidopløsning. Reaktionsblandingen ekstraheredes med 3 x 50 ml ether, og det vandige lag indstilledes til pH-værdi 1,9 under anvendelse af koncentreret saltsyre. Blandingen ekstraheredes med 5 x 50 ml ethylacetat. De organiske fraktioner kombineredes, udvaskedes med saltvand, tørredes over vandfri magnesiumsulfat og inddampedes under formindsket tryk (15 mm Hg) til en olie, som afkøledes i 1 time i et isbad. Produktet opslæmmedes med "Skellysolve B" og opsamledes til dannelse af 3,1 g gule krystaller, smeltepunkt 78°C. En analytisk prøve omkrystalliseredes fra toluen, tørredes i 16 timer i vakuum over P₂O₅ ved 25°C. IR- og NMR-spektrene var konsistente for strukturen.

Analyse beregnet for C₇H₇NO: C: 49,65; H: 4,17; N: 8,28.

Fundet: C: 49,30; H: 4,21; N: 8,37.

2-ethoxyiminofuryleddikesyre

7,85 g (0,056 mol) furyl-2-glyoxylsyre opløstes i 100 ml vand og indstilledes til pH-værdi 7 med 50% natriumhydroxid. 6,83 g (0,070 mol) ethoxyamin,hydrochlorid i 10 ml vand tilsattes under opretholdelse af pH-værdien ved 4-5. Reaktionsblandingen fortyndedes med 25 ml alkohol, omrørtes i 3 timer ved stuetemperatur og filtreredes derefter.

Alkoholen fjernedes ved 35°C (15 mm Hg), og den vandige portion indstilledes med fortyndet natriumhydroxidopløsning til pH-værdi 7-8, og udvaskedes derefter med ether, idet vaskevæskerne bortkastedes. Den vandige fraktion indstilledes med 6N saltsyre til pH-værdi 1,5 og ekstraheredes i 3 x 80 ml ethylacetat. Acetatfraktionerne kombineredes, udvaskedes med saltvand og formindskedes i volumen ved 35°C (15 mm Hg) til en olie. Olien afkøledes i isbad, tritureredes med "Skellysolve B", opsamledes og tørredes over P_2O_5 i vakuum ved 25°C. Udbytte: 4,8 g, smeltepunkt 83-85°C. IR- og NMR-spektrene var konsistente for strukturen.

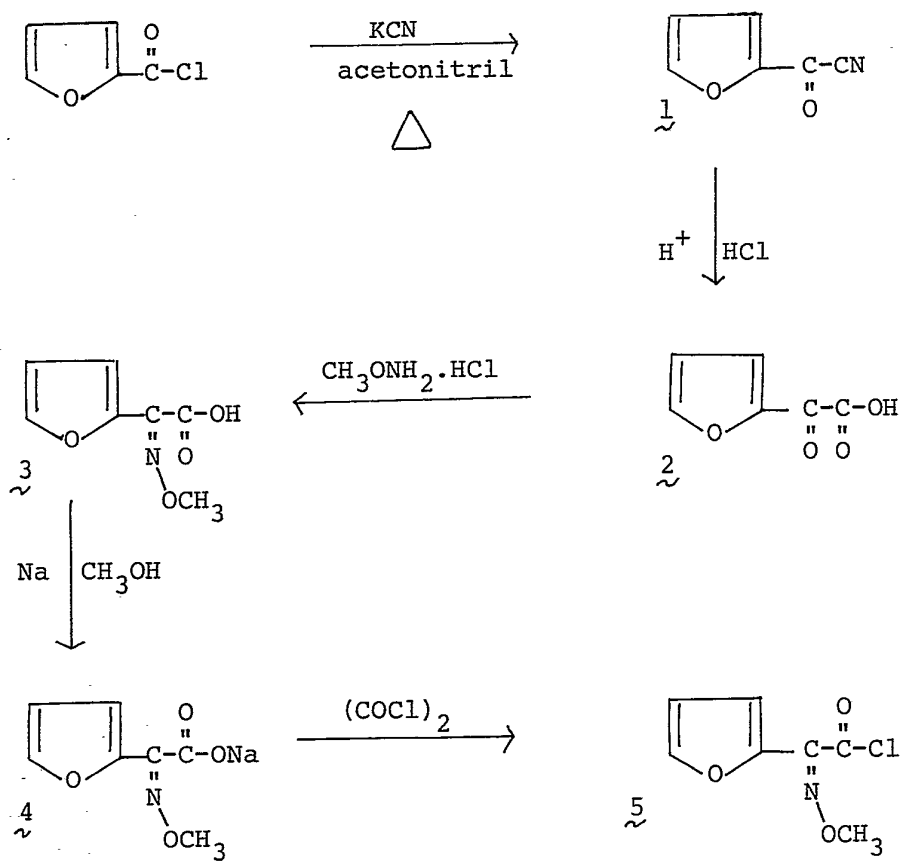
Analyse beregnet for $C_8H_9NO_4$: C: 52,46; H: 4,95; N: 7,65.

Fundet: C: 52,22; H: 4,94; N: 7,60.

Natrium- α -ethoxyimino- α -(2-furyl)acetat

Til 50 ml methanol sattes 250 mg (0,0109 mol) metallisk natrium, og der omrørtes, indtil alt natriumet var opløst. Denne natriummethoxidopløsning behandledes med 2,0 g (0,0109 mol) α -ethoxyimino- α -(2-furyl)-eddikesyre opløst i 10 ml methanol, og der omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Methanolen fjernedes ved 40°C (15 mm Hg), og produktet tørredes i vakuum over P_2O_5 ved 25°C til dannelse af 2,22 g hvidt faststof, smeltepunkt dekomponering >240°C. IR- og NMR-spektrene var konsistente for strukturen.

"Skellysolve B" er en petroleumsetherfraktion med kogepunkt 60-68°C og i det væsentlige bestående af n-hexan.



2-furoylcyanid (1)

Til en opslæmning af 78,3 g pulveriseret kaliumcyanid i 900 ml acetonitril ved 5°C sættes 59,25 ml (68,5 g) α -furoylchlorid under kraftig omrøring og under opretholdelse af temperaturen ved $4-8^\circ\text{C}$. Blandingen omrørtes ved $4-8^\circ\text{C}$ i 15 minutter, og opvarmedes derefter under tilbagesvaling i 30 minutter. Blandingen afkøledes til $23-25^\circ\text{C}$, filtreredes, udvaskedes med 50 ml acetonitril, som sættes til filtratet, og acetonitrilet fjernedes ved 60°C (15 mm Hg) til efterladelse af 51 g produkt 1 som en mørk olie. Et IR-spektrum viste et nitrilbånd ved 2265 cm^{-1} , og et NMR-spektrum viste et forhold på ca. 70/30 af produkt 1/furansyre. Det rå produkt 1 anvendtes uden yderligere rensning (49% udbytte af produkt).

Furyl-2-glyoxylsyre (2)

De 51 g rå 2-furoylcyanid 1 blandedes med 500 ml koncentreret saltsyre ved 25°C . Reaktionsblandingen omrørtes i 24 timer ved 25°C og fortyndedes derefter med 240 ml vand. Blandingen omrøres i 5 minutter og filtreredes. Det sorte filtrat mættedes med natriumchlorid og ekstraheredes med 6 x 500 ml 1:1 ether-ethylacetatopløsning. (Bemærk-

ning: I begyndelsen var ekstraktionerne vanskelige på grund af, at man ikke kunne se adskillelsen mellem to sorte faser. Efterhånden som yderligere ether-ethylacetat-ekstraktioner udførtes, forenkledes opgaven). Ekstrakterne kombineredes og inddampedes til tørhed ved 60°C (15 mm Hg). Det resulterende faststof opløstes i 600 ml ether, (Bemærkning: Anvendelse af alkohol bør undgås på dette punkt, da der kan dannes estre), behandledes med 10 g trækul ("Darko-KB"), filtreredes efter omrøring i 0,5 time og inddampedes til tørhed ved 50°C (15 mm Hg) til dannelse af 46,6 g produkt 2 som en lys gylden farvet syre. Dette produkt 2 viste sig at indeholde et forhold på ca. 56/44 af produkt 2/furansyre. Dette svarede til et 63% udbytte af produkt 2.

Rensning udførtes ved opløsning af det ovennævnte rå produkt 2 i H₂O (50 mg/ml), titrering til pH-værdi 2,8 med HCl og ekstraktion med 2 x 200 ml ethylacetat. Inddampning af ethylacetatekstrakterne gav 35% furansyre og 15% produkt 2. Den vandige fase med pH-værdi 2,8 indstilledes til pH-værdi 0,8 (HCl) og ekstraheredes med 2 x 200 ml ethylacetat. De organiske ekstrakter kombineredes og udvaskedes med 50 ml H₂O. Den organiske fase inddampedes ved 50°C (15 mm Hg) til dannelse af et faststof med forhold på ca. 86/14 af produkt 2/furansyre. Dette faststof omkrystalliseredes derefter ved opløsning af produktet 2 i toluen ved 50 mg/ml ved 80°C, dekantering og henstilling til udkrystallisering ved stuetemperatur i 18 timer til dannelse af 13,3 g ved NMR-spektrum påvist ren syre 2. Dette svarede til et 51% udbytte i rensnings- og omkrystallisationstrinet og et totaludbytte fra 2-furoylchlorid til den rene furyl-2-glyoxylsyre 2 på 16%.

Syn-α-methoxyiminofurylledikesyre (3)

En opløsning af 4,5 g furyl-2-glyoxylsyre 2 i 40 ml 50% ethanol titreredes til pH-værdi 6 med 1N natriumhydroxid, og derefter tilsattes 3,1 g methoxyamin, HCl i 6 ml vand ved 20°C. Opløsningen titreredes til en konstant pH-værdi på 4,9 og omrørtes ved pH-værdi 4,9 i 24 timer ved 20-23°C. Ethanolen fjernedes derefter ved 50°C (15 mm Hg) og den resterende vandige opløsning titreredes til pH-værdi 8 med 50% natriumhydroxid og udvaskedes med 3 x 50 ml ether (pH indstilledes til 8 efter hver udvaskning). Det vandige lag titreredes til pH-værdi 1,9 med koncentreret HCl og ekstraheredes med 5 x 50 ml ethylacetat, idet pH-værdien genindstilledes til 1,9 efter hver ekstraktion. Ethylacetatekstrakterne kombineredes og inddampedes til faststof 3 ved 50°C (15 mm Hg). Dette faststof opslæmmedes med 75 ml "Skellysolve B". Opslæmningen filtreredes, og faststofferne genopløstes i 16 ml toluen ved 80°C. Den varme opløsning dekanteredes og henstilledes til krystallisering

ved 20-23°C i 18 timer til dannelse af 1,17 g produkt 3 (22% udbytte af produkt). NMR-spektret var rent og konsistent for strukturen 3, med spor af anti-isomer til stede.

Natrium-syn- α -methoxyiminofurylacetat (4)

Til 40 ml methanol sættes 0,16 g natrium. Blandingen omrørtes, indtil alt natriumet var opløst og dekanteredes derefter. Den resulterende natriummethoxid-opløsning afkøledes til 3°C og 1,12 g syn- α -methoxyiminofurylledikesyre 3 i 7,8 ml methanol tilsættes. Opløsningen omrørtes i 10 minutter ved stuetemperatur. Opløsningsmidlet afdampedes ved 40°C (15 mm Hg). Remanensen 4 tørredes ved azeotropisk destillation med 3 x 20 ml benzen ved 40°C (15 mm Hg). Produktet 4 tørredes i 18 timer ved 23°C under højvakuum (0,7 mm Hg) over P₂O₅ til efterladelse af 1,25 g (99% udbytte af produktet). NMR-spektret viste, at dette produkt 4 var rent og konsistent for strukturen med 0,15 mol methanol og et spor af anti-isomer.

Til 0,63 g natrium-syn- α -methoxyiminofurylacetat 4 opslæmmet i 25 ml benzen sættes fire dråber tør dimethylformamid og 0,31 ml (1,1 ækvivalent) oxalylchlorid. Denne blanding omrørtes i 40 minutter ved 20-23°C. Benzenen fjernes ved 35°C (15 mm Hg) til tilvejebringelse af syrechloridet 5 som en gummiagtig remanens.

6-chlor-2,3-dihydro-2-ethoxycarbonylmethyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on [P. Francavilla og F. Lauria, J. Het. Chem., 8, 415 (1971)] (1,00 g, 5,9 mmol) i tør DMF (30 ml) sættes natriumhydrid (50% i paraffin, 0,3 g, 6,3 mmol) under omrøring med dannelse af gule krystaller til følge. Til denne blanding sættes ethylchloracetat (1,4 ml, 13 mmol), og blandingen opvarmedes ved 90°C i 8 timer under omrøring. Efter afkøling hældtes reaktionsblandingen i vand (50 ml) og ekstraheredes med toluen (5 x 40 ml). De organiske ekstrakter kombineredes, tørredes over vandfri natriumsulfat og indampedes ved formindsket tryk. Remanensen udkrystalliseredes fra benzen-n-hexan til dannelse af gule nåle (1,16 g, 77%), smeltepunkt 114-115°C (litteratur 110°C).

IR: ν ^{KBr}_{max} 1735, 1710 cm⁻¹.

UV: λ ^{EtOH}_{max} 231 nm (ϵ , 26000)

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 7,58 (1H, d, J=10 Hz, pyridazin-H), 6,98 (1H, d, J=10 Hz, pyridazin-H), 4,80 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{CO}$), 4,27 (2H, q, J=7,5 Hz, CH_2CH_3), 1,29 (3H, t, J=7,5 Hz, CH_2CH_3).

Analyse beregnet for $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}$:

C: 42,12; H: 3,53; N: 21,83; Cl: 13,81.

Fundet:

C: 41,54, H: 3,22, N: 21,51, Cl: 13,88,
41,46; 3,49; 21,53; 13,99.

2-carboxymethyl-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-2-ethoxycarbonylmethyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (30 g, 0,12 mol) i ethanol (900 ml) sættes $\text{NaSH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (70% ren, 45,9 g, 0,36 mol), og blandingen opvarmedes under tilbagesvaling i 0,5 time. Reaktionsblandingen indampedes ved formindsket tryk. Residualen opløstes i vand (200 ml), og koncentreret HCl sættes til opløsningen til indstilling af pH-værdi 2. Bundfaldet af 2-carboxymethyl-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on opsamledes ved filtrering og udvaskedes med vand. Udbytte 18,3 g (69%).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 2900, 2450, 1750, 1660 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{1\% \text{NaHCO}_3 \text{aq.}}$ 260 nm (ϵ , 19500), 313 nm (ϵ , 7000)

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{DMSO-d}_6}$ 7,88 (1H, d, J=10 Hz, pyridazin-H), 7,45 (1H, d,

J=10 Hz, pyridazin-H), 4,72 (2H, s, CH_2CO).

Analyse beregnet for $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$:

C: 37,17; H: 2,67; N: 24,77; S: 14,17.

Fundet:

C: 37,35, H: 2,26, N: 23,58, S: 14,32.
37,23; 2,28; 23,69;

7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en opløsning af 7-aminocephalosporansyre (8,79 g, 32,2 mmol) i 0,1 M Phosphatpuffer (pH-værdi 7, 149 ml) sættes NaHCO_3 (8,14 g, 97,0 mmol) og thiolen 2-carboxymethyl-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (7,30 g, 32,2 mmol) under omrøring. Blandingen opvarmedes ved 80°C i 0,5 time under N_2 -strøm. Blandingen behandledes med aktivt carbon og indstilledes til pH-værdi 3 med koncentreret HCl . Det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering

og udvaskedes med vand til dannelse af 7,59 g (54%) 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

IR: $\nu_{\text{KBr max}}$ 1800, 1720, 1600, 1540, 1470 cm^{-1} .

UV: λ_{max} puffer (pH 7) 252 nm (ϵ , 19500), 298 nm (ϵ , 8400).

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}+\text{K}_2\text{CO}_3 \text{ ppm}}$ 7,56 (1H, d, $J=9$ Hz, pyridazin-H), 7,05 (1H, d, $J=9$ Hz, pyridazin-H), 5,45 (1H, d, $J=5$ Hz, 6H), 5,05 (1H, d, 5 Hz, 7-H), 4,43 (1H, d, $J=14$ Hz, 3-CH₂), 4,04 (1H, d, $J=14$ Hz, 3-CH₂), 3,88 (1H, d, $J=18$ Hz, 2-H), 3,45 (1H, d, $J=18$ Hz, 2-H).

6-chlor-2-(2-cyanoethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on [P. Francabilla og F. Lauria, J. Het. Chem. **8**, 415 (1971)] (17 g, 0,1 mol) i tør DMF (300 ml) sættes kalium-tert.-butoxid (0,5 g, 4,5 mmol) under omrøring. Acrylonitril (6,6 g, 0,12 mol) i tør DMF (10 ml) sættes til blandingen. Blandingen omrørtes ved 100-110°C i 24 timer, hældtes derefter i vand (700 ml) og ekstraheredes med ethylacetat (5 x 400 ml). De organiske ekstrakter kombineredes, tørredes over Na₂SO₄ og inddampedes. Remanensen udkrystalliseredes fra ethylacetat til dannelse af lysegule nåle af 6-chlor-2-(2-cyanoethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on (2,5 g, 11%). Smeltepunkt 166 - 168°C.

IR: $\nu_{\text{KBr max}}$ 2230, 1720, 1550, 1500 cm^{-1} .

UV: λ_{max} dioxan 373 nm (ϵ , 2000).

NMR: $\delta_{\text{DMSO-d}_6 \text{ ppm}}$ 3,03 (2H, t, $J=6,0$ Hz, CH₂), 4,21 (2H, t, $J=6,0$ Hz, CH₂), 7,23 (1H, d, $J=10,0$ Hz, pyridazin-H), 7,93 (1H, d, $J=10,0$ Hz, pyridazin-H).

Analyse beregnet for C₈H₆N₅OCl: C: 42,97; H: 2,70; N: 31,32; Cl: 15,86.

Fundet: C: 42,73, H: 2,57, N: 31,36, Cl: 15,96,
42,56; 2,50; 31,68; 15,81.

2-(2-carboxyethyl)-6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on

En opløsning af 6-chlor-2-(2-cyanoethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (724 mg) i 6N-HCl (15 ml) opvarmedes under tilbagesvaling i 6 timer. Reaktionsblandingen ekstraheredes med ethyl-

acetat (10 x 20 ml). De kombinerede ekstrakter udvaskedes med mættet vandig natriumchlorid (50 ml), tørredes over Na_2SO_4 og indampedes til dannelse af lysegult, fast 2-(2-carboxyethyl)-6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (567 mg, 72%). Smeltepunkt 170°C (sublimation).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400-2400, 1730, 1710, 1540 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{dioxan}}$ 377 nm (ϵ , 1500).

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}+\text{NaHCO}_3}^{\text{ppm}}$ 2,70 (2H, t, $J=7,0\text{ Hz}$, CH_2), 4,24 (2H, t, $J=7,0\text{ Hz}$, CH_2), 7,17 (1H, d, $J=10,0\text{ Hz}$, pyridazin-H), 7,70 (1H, d, $J=10,0\text{ Hz}$, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}$: C: 39,60; H: 2,91; N: 23,09; Cl: 14,61.

Fundet: C: 39,62, H: 2,97, N: 23,05, Cl: 13,93, 39,48; 2,67; 22,70; 14,12.

2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on

En blanding af 2-(2-carboxyethyl)-6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (567 mg, 2,34 mmol) og 70% natriumhydrogensulfid, dihydrat (924 mg, 7,02 mmol) i vand (10 ml) omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer. Reaktionsblandingen indstillede i rækkefølge til pH-værdi 1 med koncentreret HCl, til pH-værdi 10 med NaOH og derefter til pH-værdi 1 med koncentreret HCl. Det resulterende bundfald af 2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on opsamledes ved filtrering og udvaskedes med vand. Udbytte: 418 mg (74%). Smeltepunkt $174-176^\circ\text{C}$.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-2600, 2440, 1730, 1720 (skulder) cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 262 nm (ϵ , 17000), 318 nm (ϵ , 6600).

NMR: $\delta_{\text{DMSO-d}_6}^{\text{ppm}}$ 2,73 (2H, t, $J=7,0\text{ Hz}$, CH_2), 4,07 (2H, t, $J=7,0\text{ Hz}$, CH_2), 7,30 (1H, d, $J=10,0\text{ Hz}$, pyridazin-H), 7,74 (1H, d, $J=10,0\text{ Hz}$, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: C: 40,00; H: 3,36; N: 23,32; S: 13,35.

Fundet: C: 39,08, H: 3,12, N: 22,65, S: 14,23, 39,06; 3,20; 22,70; 14,29.

7-amino-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

En blanding af 7-ACA (405 mg, 1,49 mmol), thiolen 2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (357 mg, 1,49 mmol) og NaHCO_3 (375 mg, 4,47 mmol) i 0,1 M phosphatpuffer (pH-værdi 7, 8 ml) omrørtes ved 80°C i 30 minutter. Reaktionsblandingen afkøledes og filtreredes til fjernelse af uopløselige stoffer. Filtratet indstilledes til pH-værdi 1-2 med koncentreret HCl. Det resulterende bundfald 7-amino-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylsyre opsamledes ved filtrering og udvaskedes med vand. Udbytte: 519 mg (77%).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-2200, 1800, 1725, 1620, 1550, 1480 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 253 nm (ϵ 20000), 298 nm (ϵ 10000).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}+\text{K}_2\text{CO}_3}$ 2,20 (2H, t, $J=7,0$ Hz, CH_2), 3,40 (1H, d, $J=17,5$ Hz, 2-H), 3,85 (1H, d, $J=17,5$ Hz, 2-H), 4,00-4,50 (4H, m, 3- CH_2 og N- CH_2 -), 5,01 (1H, d, $J=4,0$ Hz, 6-H), 5,40 (1H, d, $J=4,0$ Hz, 7-H), 6,94 (1H, d, $J=10,0$ Hz, pyridazin-H), 7,44 (1H, d, $J=10,0$ Hz, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}_2 \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$:

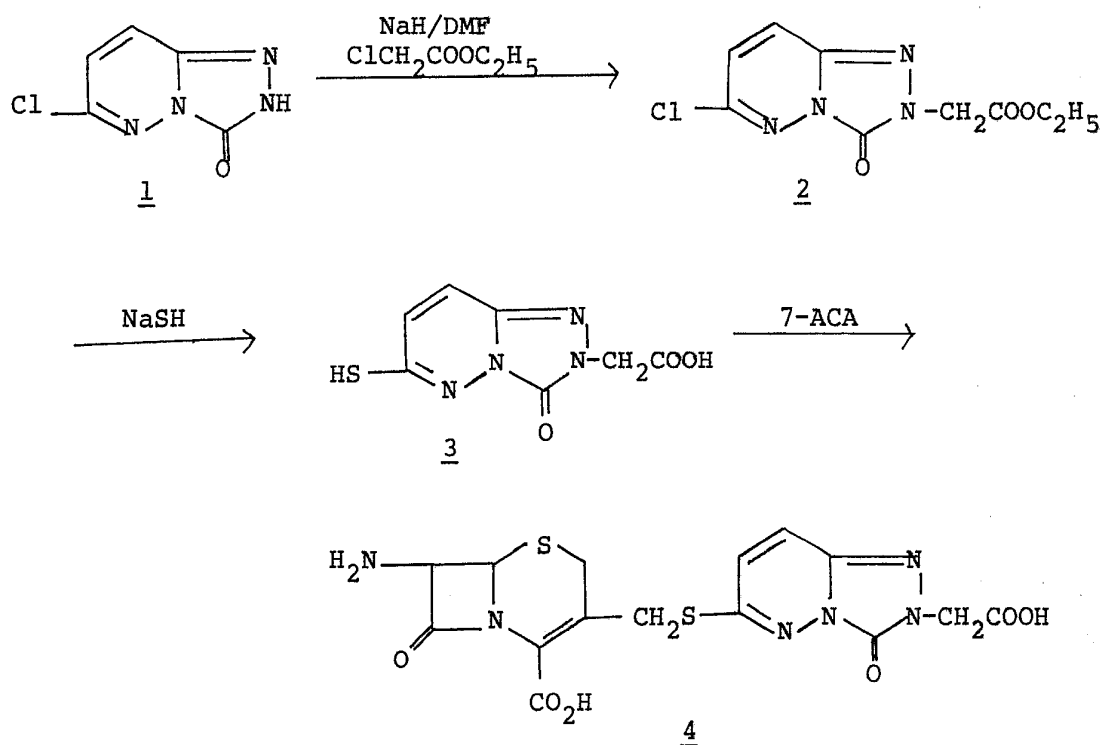
C: 40,09; H: 3,99; N: 17,52; S: 13,37.

Fundet:

C: 40,06, H: 3,33, N: 16,96, S: 13,87.
40,12; 3,34; 16,98; 13,98.

7-ACA henviser til 7-aminocephalosporansyre og DMF til dimethylformamid.

Skema 1: Fremstilling af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre



6-chlor-2,3-dihydro-2-ethoxycarbonylmethyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (2)

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on [P. Francavilla og F. Lauria, J. Het. Chem., 8, 415 (1971)] (**1**, 1,00 g, 5,9 mmol) i tør DMF (30 ml) sættes natriumhydrid (50% i paraffin, 0,3 g, 6,3 mmol) under omrøring med dannelse af gule krystaller til følge. Til denne blanding sættes ethylchloracetat (1,4 ml, 13 mmol), og blandingen opvarmedes ved 90°C i 8 timer under omrøring. Efter afkøling hældtes reaktionsblandingen i vand (50 ml) og ekstraheredes med toluen (5 x 40 ml). De organiske ekstrakter kombineredes, tørredes over vandfri natriumsulfat og indampedes ved formindsket tryk. Remanensen udkrystalliseredes fra benzen-n-hexan til dannelse af gule nåle af produkt **2** (1,16 g, 77%), smeltepunkt 114-115°C (litteratur 110°C).

IR: ν $\overset{\text{KBr}}{\text{max}}$ 1735, 1710 cm^{-1} .

UV: λ $\overset{\text{EtOH}}{\text{max}}$ 231 nm (ϵ , 26000).

NMR: δ $\overset{\text{CDCl}_3}{\text{ppm}}$ 7,58 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 6,98 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 4,80 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{CO}$), 4,27 (2H, q, $J=7,5$ Hz, CH_2CH_3), 1,29 (3H, t, $J=7,5$ Hz, CH_2CH_3).

Analyse beregnet for $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}$:

C: 42,12; H: 3,53; N: 21,83; Cl: 13,81.

Fundet:

C: 41,54, H: 3,22, N: 21,51, Cl: 13,88,
41,46; 3,49; 21,53; 13,99.

2-carboxymethyl-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (3)

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-2-ethoxycarbonylmethyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (2, 30 g, 0,12 mol) i ethanol (900 ml) sættes $\text{NaSH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (70% ren, 45,9 g, 0,36 mol), og blandingen opvarmedes under tilbagesvaling i 0,5 time. Reaktionsblandingen indampedes ved formindsket tryk. Resanen opløstes i vand (200 ml), og koncentreret HCl sættes til opløsningen til indstilling til pH-værdi 2. Bundfaldet (3) opsamledes ved filtrering og udvaskedes med vand. Udbytte 18,3 g (69%).

IR: ν $\overset{\text{KBr}}{\text{max}}$ 2900, 2450, 1750, 1660 cm^{-1} .

UV: λ $\overset{1\% \text{NaHCO}_3 \text{aq.}}{\text{max}}$ 260 nm (ϵ , 19500), 313 nm (ϵ , 7000).

NMR: δ $\overset{\text{DMSO-d}_6}{\text{ppm}}$ 7,88 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 7,45 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 4,72 (2H, s, CH_3CO).

Analyse beregnet for $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: C: 37,17; H: 2,67; N: 24,77; S: 14,17.

Fundet:

C: 37,35, H: 2,26, N: 23,58, S: 14,32.
37,23; 2,28; 23,69;

7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4)

Til en opløsning af 7-aminocephalosporansyre (8,79 g, 32,2 mmol) i 0,1 M fosfatpuffer (pH-værdi 7, 149 ml) sættes NaHCO_3 (8,14 g, 97,0 mmol), og thiolen 3 (7,30 g, 32,2 mmol) under omrøring. Blandingen opvarmedes ved 80°C i 0,5 time under N_2 -strøm. Blandingen behandlede

med aktivt carbon og indstillede til pH-værdi 3 med koncentreret HCl. Det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering og udvaskedes med vand til dannelse af 7,59 g (54%) af 4.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1800, 1720, 1600, 1540, 1470 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{puffer (pH 7)}}$ 252 nm (ϵ , 19500), 298 nm (ϵ , 8400).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}+\text{K}_2\text{CO}_3}$ 7,56 (1H, d, $J=9$ Hz, pyridazin-H), 7,05 (1H, d, $J=9$ Hz, pyridazin-H), 5,45 (1H, d, $J=5$ Hz, 6-H), 5,05 (1H, d, 5 Hz, 7-H), 4,43 (1H, d, $J=14$ Hz, 3- CH_2), 4,04 (1H, d, $J=14$ Hz, 3- CH_2), 3,88 (1H, d, $J=18$ Hz, 2-H), 3,45 (1H, d, $J=18$ Hz, 2-H).

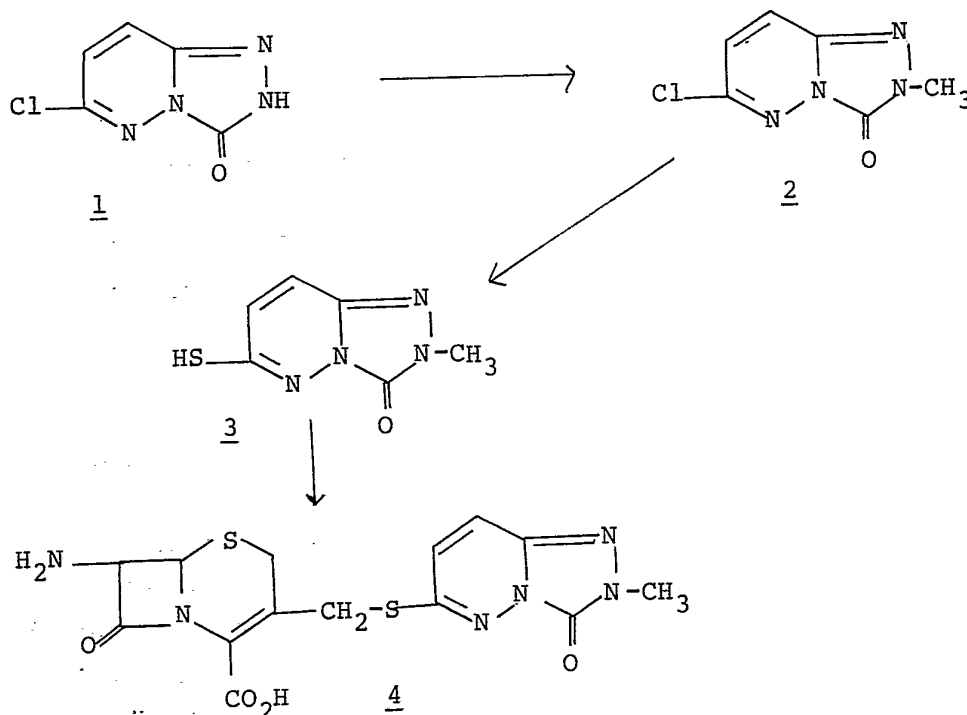
Pivaloyloxymethyl-7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat

Fremgangsmåde A. - Titelforbindelsen fremstilles ved erstatning af den ved den umiddelbart ovenfor belyste fremgangsmåde anvendte 7-aminocephalosporansyre med en ækvimolær vægtmængde pivaloyloxymethyl-7-aminocephalosporanat, hydrochlorid fremstillet ifølge eksempel 2 i britisk patentskrift nr. 1.229.453 ud fra 7-aminocephalosporansyre. Tysk patentskrift nr. 1.904.585 (Farmdoc 39.445) er ækvivalent med britisk patentskrift nr. 1.229.453.

Fremgangsmåde B. - Titelforbindelsen fremstilles ved erstatning af de i eksempel 2 af britisk patentskrift nr. 1.229.453 belyste fremgangsmåder anvendte 0,025 mol (6,8 g) 7-aminocephalosporansyre med en ækvimolær vægtmængde 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4).

De respektive acetoxymethyl-, methoxymethyl-, acetonyl- og phenacylestre af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre fremstillet ved erstatning af det i fremgangsmåde B ovenfor anvendte chlormethylpivalat med en ækvimolær vægtmængde af henholdsvis chlormethylacetat, chlormethyl-methylether, chloracetone og phenacylbromid.

Fremstilling af 7-amino-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre



6-chlor-2,3-dihydro-2-methyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (2)

Til en opløsning af 6-chlor-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on [P. Francavilla og F. Lauria, J. Het. Chem. 8, 415 (1971)] (1, 8,5 g, 50 mmol) i tør DMF (12 ml) sættes NaH (50% dispersion i paraffin, 2,64 g, 55 mmol), og blandingen omrørtes i 1 time ved stuetemperatur. Efter tilsætning af methyliodid (21,3 g, 150 mmol) omrørtes blandingen i 40 timer ved stuetemperatur, fortyndedes med vand (200 ml) og ekstraheredes med CHCl_3 (4 x 100 ml). De kombinerede ekstrakter udvaskedes med vand (3 x 50 ml), behandlede med en lille mængde carbon og tørredes over vandfri Na_2SO_4 . Afdampning af opløsningsmidlet under formindsket tryk tilvejebragte bleggul remanens, som udkrystalliserede fra chloroform-n-hexan. Udbytte: 7,23 g (79%). Smeltepunkt $180-181^\circ\text{C}$.

IR: ν_{KBr} 1720 cm^{-1} .
C=O

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 233 nm (, 25200), 363 nm (, 1600).

NMR: $\delta_{\text{CDCl}_3}^{\text{ppm}}$ 3,72 (3H, s, N-CH_3), 6,88 (1H, d, $J=10\text{Hz}$, pyridazin-H), 7,48 (1H, d, $J=10\text{ Hz}$, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $C_6H_5ClN_4O$: C: 39,04; H: 2,73; N: 30,35; Cl: 19,21.

Fundet: C: 39,24, H: 2,54, N: 30,63, Cl: 19,59,
39,28; 2,61; 30,80; 19,26.

6-mercapto-2,3-dihydro-2-methyl-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on (3)

En blanding af produkt 2 (6,50 g, 35,7 mmol) og $NaSH \cdot 2H_2O$ (70% ren, 9,4 g) i vand (100 ml) opvarmedes under tilbagesvaling i 15 minutter. Blandingen afkøledes og gjordes sur til pH-værdi 1 med koncentreret HCl til udfældning af thiolen 3, som opsamledes ved filtrering og opløstes i vandig mættet $NaHCO_3$ (100 ml). Opløsningen behandles med en lille mængde carbon og gjordes sur med fortyndet HCl til udfældning af forbindelsen 3 som bleggule prismer. Udbytte 5,72 g (89%). Smeltepunkt $>280^\circ C$.

IR: ν $\begin{matrix} KBr \\ max \end{matrix}$ 2450 (-SH), 1710 (C=O) cm^{-1} .

UV: λ $\begin{matrix} 1\%NaHCO_3 \\ max \end{matrix}$ 261 nm (ϵ , 16300), 315 nm (ϵ , 5800).

NMR: δ $\begin{matrix} D_2O+KOH \\ ppm \end{matrix}$ 3,60 (3H, s, $N-CH_3$), 7,08 (2H, s, pyridazin-H),

Analyse beregnet for $C_6H_6N_4OS$: C: 39,55; H: 3,32; N: 30,75; S: 17,60.

Fundet: C: 39,57, H: 3,14, N: 30,32, S: 17,80,
39,66; 3,22; 30,61; 17,89.

7-amino-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4)

En blanding af 7-aminocephalosporansyre (7-ACA, 5,44 g, 20 mmol), forbindelse 3 (3,64 g, 20 mmol) og $NaHCO_3$ (3,36 g, 40 mmol) i 0,1 M fosfatpuffer (pH-værdi 7, 100 ml) opvarmedes under omrøring ved $80^\circ C$ i 30 minutter. Den varme blanding behandledes med en lille mængde carbon og filtratet gjordes surt til pH-værdi 4 med fortyndet HCl til udfældning af produktet 4, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand (50 ml) og tørredes. Udbytte: 5,73 g (73%). Smeltepunkt $240-245^\circ C$ (dekomponering).

IR: ν $\begin{matrix} KBr \\ max \end{matrix}$ 1800 (β -lactam C=O), 1725 (C=O), 1610 og 1410 (COO^-) cm^{-1} .

UV: λ $\begin{matrix} 1\%NaHCO_3 \\ max \end{matrix}$ 253 nm (ϵ , 20000), 305 (ϵ , 8400).

NMR: δ $D_2O+NaHCO_3$ 3,69 (3H, s, N-CH₃), 5,08 (1H, d, J=4,5 Hz, 6-H), 5,48 (1H, d, J=4,5 Hz, 7-H), 7,00 (1H, d, J=10 Hz, pyridazin-H), 7,52 (1H, d, J=10 Hz, pyridazin-H).

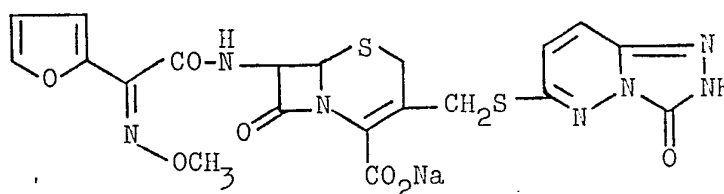
Analyse beregnet for C₁₄H₁₄N₆O₄S₂·H₂O:

C: 40,76; H: 3,91; N: 20,39; S: 15,55.

Fundet:

C: 40,84, H: 3,44, N: 20,50, S: 15,19,
40,63; 3,31; 20,36; 15,57.

Fremstilling af BB-S515 (Sammenligningsforbindelse)



BB-S515

BB-S515; 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-natriumsalt

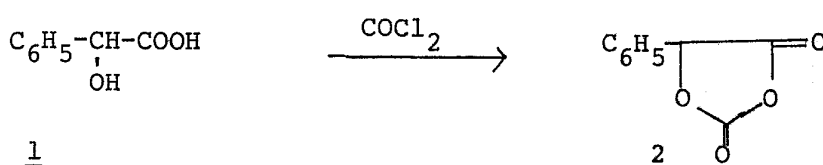
Til en opløsning af (2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)-eddikesyre (169 mg, 1 mmol) og triethylamin (0,14 ml, 1 mmol) i dichlormethan (2 ml) sattes oxalylchlorid (0,09 ml, 1 mmol) ved 0-5°C, og blandingen omrørtes i 30 minutter. Opløsningsmidlet afdampedes under formindsket tryk til tilvejebringelse af en olieagtig remanens. En opløsning af den olieagtige remanens i tør acetone (5 ml) sattes efter filtrering til en blanding af 7-amino-3-(2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (380 mg, 1 mmol) (se USA patentskrift nr. 3.907.786) og natriumhydrogencarbonat (336 mg, 4 mmol) i vand (10 ml) ved 0-5°C. Reaktionsblandingen omrørtes ved 0-5°C i 2 timer. Det meste af acetonen afdampedes ved formindsket tryk, hvorefter det vandige koncentrat udvaskedes med ether (2 x 30 ml) og indstilledes til pH-værdi 1-2 med koncentreret HCl. Det resulterende bundfald (338 mg) opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum. En opslæmning af den frie syre (303 mg) i vand (10 ml) indstilledes til pH-værdi 6,5 med vandig NaOH (1 N, 0,6 ml) og filtreredes til dannelse af en klar opløsning, som lyofiliseredes til dannelse af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-natrium-

salt som et lysebrunt pulver (222 mg, 46%), smeltepunkt $> 230^{\circ}\text{C}$ (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3410, 1760, 1720, 1600 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 256 nm (ϵ , 20600), 274 (ϵ , 18800).

Fremstilling af D-mandelsyre-carboxyanhydrid.



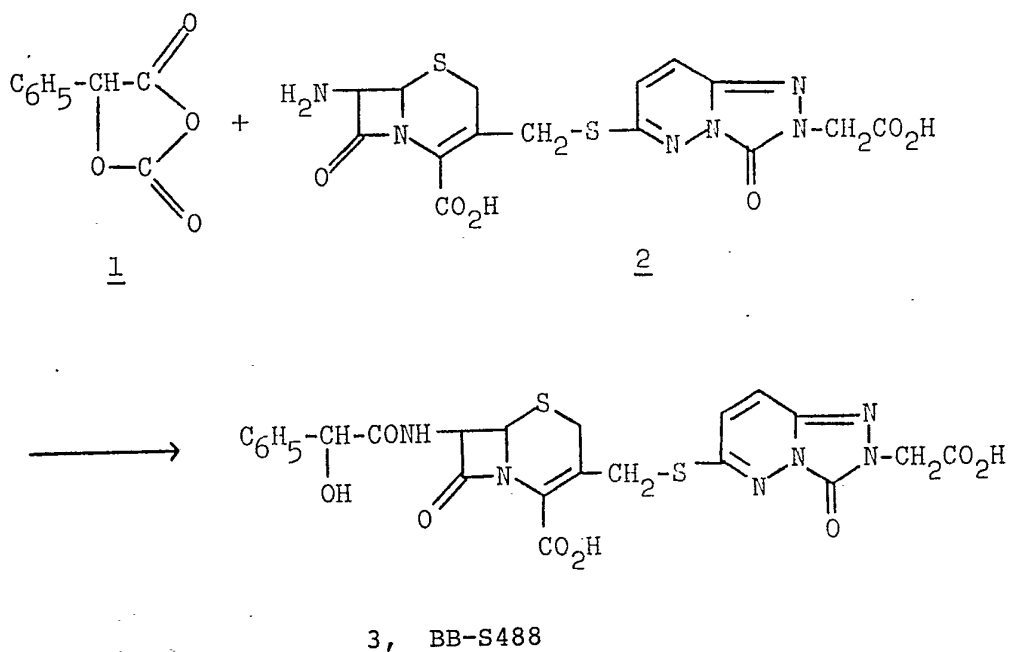
D-mandelsyre-carboxyanhydrid (2)

Phosgen bobledes gennem en opløsning af 2,0 g (0,013 mol) D(-)-mandelsyre (1) i tør tetrahydrofuran i 30 minutter. Opløsningen henstilledes natten over, hvorefter den opvarmedes under tilbagesvaling i 10 minutter. Afdampning af opløsningsmidlet under formindket tryk tilvejebragte en olieagtig remanens, som størknedes ved triturering med n-hexan (20 ml). Produktet opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum over KOH. Udbytte 2,3 g D-mandelsyre-carboxyanhydrid.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1895, 1875, 1780 cm^{-1} .

De foretrukne og mest aktive af de omhandlede forbindelser er de forbindelser, som har D-konfiguration ved α -carbonatomet i 7-sidekæden, d.v.s. de forbindelser, som er fremstillet ud fra D-mandelsyre eller en monosubstitueret D-mandelsyre, som belyst her. Tillige er konfigurationen i de to optisk aktive, asymmetriske positioner i β -lactamkernen den konfiguration, som findes i ved fermentering fremstillet cephalosporin C og i den derfra afledte 7-aminocephalosporansyre.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses i det følgende nærmere ved hjælp af eksempler.

Eksempel 1

BB-S488; 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (3)

D-(-)-mandelsyre-O-carboxyanhydrid (se USA patentskrifterne nr. 3.167.549, 3.840.531 og 3.910.900), (1, 400 mg, 2,3 mmol) sættes portionsvis til en opløsning af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (2, 657 mg, 1,5 mmol) og natriumhydrogencarbonat (445 mg, 5,3 mmol) i 50% vandig acetone (30 ml) ved ca. 0°C under kraftig omrøring. Blandingen omrørtes i 1 time ved stuetemperatur og inddampedes under formindsket tryk under 40°C til fjernelse af acetone. Den resulterende vandige opløsning udvaskedes med ether og gjordes sur til pH-værdi 1 med fortyndet HCl til tilvejebringelse af et gummiagtigt bundfald, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand og opløstes i tetrahydrofuran (THF) (100 ml). THF-opløsningen behandledes med en lille mængde aktiv carbon, tørredes over vandfri natriumsulfat og filtreredes. Filtratet inddampedes under formindsket tryk, og remanensen tritureredes med ether. Det bleggule bundfald opsamledes ved filtrering, og kromatograferedes på en silicagel-søjle ("Wako-gel C-200", 10 g), idet der elueredes med en opløsning af chloroform-methanol (20:1). Fraktionerne, som indeholdt det ønskede produkt, kombineredes og koncentreredes under formindsket tryk. Koncentratet fortyndedes med ether (100 ml) til udfældning af produktet (3), som opsamledes ved filtrering, udva-

skedes med ether (30 ml) og tørredes. Udbytte: 279 mg (34%), smeltepunkt 173-176°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{KBr max}}$ 3600-2400, 1770, 1720, 1520, 1495, 1365, 1245 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{EtOH max}}$ 254 nm (ϵ , 18000), 297 nm (ϵ , 9000, skulder).

NMR: $\delta_{\text{DMSO-d}_6 \text{ ppm}}$ 3,68 (2H, m, 2-H), 4,03 (1H, d, $J=13$ Hz, 3-H), 4,34 (1H, d, $J=13$ Hz, 3-H), 4,64 (2H, s, NCH_2CO), 5,00 (1H, d, $J=4$ Hz, 6-H), 5,02 (1H, s, PhCH), 5,63 (1H, d-d, $J=4$ & 9 Hz, en dublet med tilsætning af D_2O , $J=4$ Hz, 7-H), 6,97 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 7,1-7,4 (5H, m, phenyl-H), 7,60 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 8,60 (1H, d, $J=9$ Hz, forsvandt ved tilsætning af D_2O , CONH).

Analyse beregnet for $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$:

C: 47,50; H: 3,64; N: 14,45; S: 11,03.

Fundet:

C: 47,34; H: 3,48; N: 13,90; S: 11,01.

In vitro-aktivitet (Tabel I)

MIC-værdierne bestemtes ved Steers' agar-fortyndingsmetode ved anvendelse af Mueller-Hinton agar mod 4 gram-positive og 28 gram-negative bakterier, og resultaterne er vist i tabel I.

In vitro-aktivitet (Tabel II og III)

MIC-bestemmelser udførtes ved rækkevis dobbeltagar-fortyndingsmetode under anvendelse af Steers' apparat på Mueller-Hinton agarplade mod 51 gram-positive og 95 gram-negative bakterier. Resultaterne er vist i tabel II og III.

Mediers virkning på MIC

MIC-værdierne bestemtes under anvendelse af tre slags agarmedier [næringssubstrat-agar (NA), Mueller-Hinton agar (MHA) og hjerneinfusions-agar (HIA)]. Resultaterne opnået med BB-S488 og cefamandol er vist i tabel IV, som viser ringe virkning fra medier for disse cephalosporinernes vedkommende.

Blodniveauer i mus

Til grupper af mus administreredes subkutant gradierede doser på 40, 20 og 10 mg/kg. Blodprøver opsamlet fra orbitale sinuser testedes ved papirplade-agar-diffusionsmetoden på Sarcina lutea PCI

1001-plader. Resultaterne er vist i tabel V.

In vivo-aktivitet

Komparativ in vivo evaluering udførtes ved standard undersøgelsesinfektionen i mus mod de følgende pathogene bakterier:

S. aureus Smith

E. coli Juhl

K. pneumoniae A 9977

Resultaterne er vist i tabel VI.

Tabel I. In vitro-antibakteriel aktivitet af BB-S488 ved agarfortyndingsmetode (Mueller-Hinton agar)

<u>Testorganisme</u>		<u>MIC (,ug/ml)</u>	
		<u>BB-S488</u>	<u>Cefamandol</u>
S. aureus Smith	A9537	0,2	0,05
S. aureus	A9497	0,1	0,05
S. aureus BX-1633	A9606	0,4	0,1
St. faecalis	A9536	100	50
E. coli NIHJ		0,025	0,025
E. coli ATCC 8739		0,1	0,05
E. coli Juhl	A15119	0,2	0,4
E. coli BX-1373		0,2	0,8
E. coli	A15810	0,1	0,4
E. coli	A9660	0,05	0,1
E. coli	A15147	3,1	0,4
Kl. pneumoniae	A9678	3,1	3,1
Kl. pneumoniae	A9977	0,05	0,2
Kl. pneumoniae	A15130	0,2	0,8
Kl. pneumoniae	A9867	0,2	0,8
Pr. vulgaris	A9436	0,1	0,4
Pr. vulgaris	A9699	0,2	6,3
Pr. mirabilis	A9554	0,05	0,4
Pr. mirabilis	A9900	0,1	0,8
Pr. morganii	A9553	>100	>100
Pr. morganii	A20031	0,1	0,8
Pr. rettgeri	A15167	0,05	0,2
Ps. aeruginosa	A9930	>100	>100
Ps. aeruginosa	A9843	>100	>100
Shig. dysenteriae		0,025	0,1
Shig. flexneri	A9684	12,5	6,3
Shig. sonnei	A9516	0,025	0,05
Serr. marcescens	A20019	100	100
Enterob. cloacae	A9656	3,1	3,1
Sal. enteritidis	A9531	0,05	0,1
Sal. typhosa	A9498	0,05	0,1
B. anthracis	A9504	0,1	0,1

Tabel II. In vitro-antibakteriel aktivitet i Mueller-Hinton agar (gram-positive)

Kode nr.	Testorganisme	MIC (µg/ml)	
		BB-S488	Cefamandol
Sa-2	S. aureus Smith A9537	0,4	0,2
Sa-3	S. aureus nr. 193	0,8	0,2
Sa-8	S. aureus	0,4	0,2
Sa-9	S. aureus nr. 193	0,8	0,2
Sa-10	S. aureus A20239	1,6	0,4
Sa-11	S. aureus BX-1633 A9606	0,4	0,2
Sa-12	S. aureus A9497	0,2	0,1
Sa-29	S. aureus nr. 193	1,6	0,8
Sa-33	S. aureus Terajima	0,0125	0,0125
Sa-34	S. aureus A15092	0,8	0,2
Sa-35	S. aureus A15094	0,8	0,4
Sa-36	S. aureus Russell	0,8	0,4
Sa-37	S. aureus A9524	1,6	0,8
Sa-38	S. aureus A9534	0,4	0,2
Sa-39	S. aureus A9578	0,8	0,4
Sa-40	S. aureus A9601	0,8	0,4
Sa-41	S. aureus A9602	0,8	0,2
Sa-44	S. aureus A15097	25	25
Sa-56	S. aureus A9630	3,1	0,8
Sa-57	S. aureus A9748	25	3,1
Sa-58	S. aureus A15033	12,5	1,6
Sa-59	S. aureus A15096	100	6,3
Sa-60	S. aureus A20604	50	3,1
Sa-61	S. aureus A20605	100	6,3
Sa-62	S. aureus A20606	3,1	0,8
Sa-63	S. aureus A20607	>100	12,5
Sa-64	S. aureus A20608	100	6,3
Sa-65	S. aureus A20609	100	6,3
Sa-66	S. aureus A20610	100	6,3
Sa-67	S. aureus A20611	100	6,3
Sa-68	S. aureus A20612	1,6	0,4
Sa-69	S. aureus A20613	100	6,3
Sp-1	S. pyogenes S-23	0,4	0,1
Sp-2	S. pyogenes Dick	0,4	0,1
Sp-3	S. pyogenes A9604	0,4	0,1
Sp-4	S. pyogenes A20065	0,2	0,1
Sp-5	S. pyogenes A15040	0,4	0,1
Sp-6	S. pyogenes A20066	0,4	0,1
Sp-7	S. pyogenes Dig 7	0,4	0,1
Sp-8	S. pyogenes A15041	0,4	0,1
Sp-9	S. pyogenes A20201	0,4	0,1
Sp-10	S. pyogenes A20202	0,4	0,1
Dp-1	D. pneumoniae Type II	0,2	0,2
Dp-2	D. pneumoniae Type I Neufeld	0,2	0,2
Dp-3	D. pneumoniae Type III	0,2	0,2
Dp-4	D. pneumoniae A9585	0,2	0,2
Dp-5	D. pneumoniae A15069	0,2	0,2
Dp-6	D. pneumoniae A20167	0,2	0,2
Dp-7	D. pneumoniae A20759	0,2	0,2
Dp-8	D. pneumoniae A20769	0,2	0,2
Dp-9	D. pneumoniae A20770	0,2	0,2

Tabel III. In vitro-antibakteriell aktivitet i Mueller-Hinton
agar (gram-negative)

Kode nr.	Testorganisme	MIC (ug/ml)	
		BB-S488	Cefamandol
Ec-1	E. coli NIHJ	0,2	0,1
Ec-3	E. coli Juhl A15119	0,2	0,8
Ec-4	E. coli A15169	12,5	6,3
Ec-5	E. coli K-12, ML-1630 A20363	0,2	0,8
Ec-11	E. coli A20366	50	25
Ec-15	E. coli ATCC 8739	0,2	0,1
Ec-34	E. coli A9660	0,1	0,1
Ec-35	E. coli A9435	0,4	0,8
Ec-36	E. coli A15147	3,1	1,6
Ec-40	E. coli A20361	0,2	0,8
Ec-44	E. coli A9535	0,1	0,1
Ec-45	E. coli A15148	3,1	1,6
Ec-46	E. coli A15164	25	12,5
Ec-47	E. coli A15170	100	50
Ec-49	E. coli A20107	0,4	0,2
Ec-50	E. coli A20109	0,2	0,8
Ec-51	E. coli A20343	50	12,5
Ec-56	E. coli A20365	25	12,5
Ec-58	E. coli A9675	0,4	1,6
Ec-59	E. coli A20766	0,2	0,8
Ec-62	E. coli A20895	0,4	0,8
El-1	E. cloacae A9656	3,1	3,1
El-2	E. cloacae A20364	3,1	3,1
El-4	E. cloacae A20650	1,6	1,6
El-6	E. cloacae A9657	0,8	0,8
El-7	E. cloacae A9659	1,6	0,8
El-8	E. cloacae A9655	1,6	1,6
El-9	E. cloacae A20021	>100	100
El-11	E. cloacae A20344	>100	>100
El-12	E. cloacae A21006	1,6	3,1
El-14	E. cloacae A20953	0,8	3,1
Pm-1	P. mirabilis A9554	0,1	0,8
Pm-2	P. mirabilis A9900	0,2	1,6
Pm-3	P. mirabilis A20119	0,4	3,1
Pm-4	P. mirabilis A20454	0,2	1,6
Pm-5	P. mirabilis A9702	0,1	0,8
Pm-6	P. mirabilis A21222	1,6	1,6
Pg-1	P. morgani A9553	>100	>100
Pg-2	P. morgani A20031	0,2	1,6
Pg-3	P. morgani A9636	0,8	1,6
Pg-5	P. morgani A15166	0,1	0,2
Pg-6	P. morgani A20455	0,4	1,6
Pg-7	P. morgani A20457	0,2	0,8
Pg-8	P. morgani A15153	0,1	0,8
Pg-9	P. morgani A15149	0,8	3,1
Pv-1	P. vulgaris A9436	0,2	0,8
Pv-2	P. vulgaris A9526	6,3	1,6
Pv-3	P. vulgaris A9699	6,3	50
Pv-4	P. vulgaris ATCC 9920	0,1	0,2
Pv-5	P. vulgaris A9539	25	>100
Pv-6	P. vulgaris A9716	0,1	0,8
Pv-7	P. vulgaris A21240	25	>100

Tabel III (fortsat)

Kode nr.	Testorganisme	MIC (,ug/ml)	
		BB-S488	Cefamandol
Pr-1	P. rettgeri A15167	0,1	0,2
Pr-2	P. rettgeri A9637	0,1	0,1
Pr-4	P. rettgeri A20645	0,1	0,1
Pr-5	P. rettgeri A20915	0,2	0,8
Pr-6	P. rettgeri A20920	0,1	0,2
Pn-1	P. inconstans A20615	0,1	0,8
Ps-1	P. stuartii A20745	0,4	0,8
Ps-2	P. stuartii A20894	0,2	0,8
Ps-3	P. stuartii A20911	0,8	0,8
Ps-4	P. stuartii A21051	50	25
Ps-5	P. stuartii A21057	0,2	0,8
Kp-1	K. pneumoniae D11	0,1	0,8
Kp-2	K. pneumoniae A9678	3,1	1,6
Kp-3	K. pneumoniae A9977	0,1	0,8
Kp-4	K. pneumoniae A15130	0,2	0,8
Kp-7	K. pneumoniae A9867	0,4	0,8
Kp-8	K. pneumoniae A20680	25	12,5
Kp-9	K. pneumoniae A20636	12,5	12,5
Kp-10	K. pneumoniae A20328	6,3	3,1
Kp-11	K. pneumoniae A20330	1,6	12,5
Kp-12	K. pneumoniae A21228	6,3	6,3
Kx-2	Klebsiella sp. A9662	0,4	1,6
Kx-3	Klebsiella sp. A20346	0,2	0,8
Sm-1	S. marcescens A20019	25	25
Sm-2	S. marcescens A20335	3,1	12,5
Sm-3	S. marcescens A20336	6,3	12,5
Sm-4	S. marcescens A20442	6,3	12,5
Sm-5	S. marcescens A20222	3,1	12,5
Sm-6	S. marcescens A20460	6,3	12,5
Sm-9	S. marcescens A20333	6,3	50
Sm-10	S. marcescens A20334	6,3	50
Sm-11	S. marcescens A20459	6,3	25
Sm-12	S. marcescens A20461	6,3	50
Se-1	S. enteritidis A9531	0,1	0,2
St-1	S. typhosa	0,1	0,2
Sh-1	S. paratyphi	0,1	0,2
St-101	S. typhimurium	0,1	0,2
Sd-1	S. dysenteriae	0,1	0,2
Sr-1	S. flexneri A9684	12,5	3,1
Ss-1	S. sonnei Yale	0,1	0,1
Cx-1	Citrobacter sp. A20673	1,6	1,6
Cx-2	Citrobacter sp. A20694	1,6	1,6
Cx-3	Citrobacter sp. A20695	1,6	1,6

Tabel IV. Mediers virkning på MIC af BB-S488 og referenceforbindelser

Kode nr.	Testforbindelse	BB-S488		Cefamandol	
		NA	HIA	NA	HIA
Sa-2	S. aureus Smith A9537	0,8	0,8	0,2	0,2
Sa-11	S. aureus BX-1633 A9606*	3,1	1,6	0,4	0,4
Sa-44	S. aureus A15097	>100	>100	6,3	3,1
Sf-3	S. faecalis A9536	>100	>100	>100	100
Ec-1	E. coli NIHJ	0,1	0,05	0,1	0,05
Ec-3	E. coli Juhl A15119	0,2	0,4	0,2	0,4
Ec-11	E. coli A20366*	>100	>100	50	25
Ec-15	E. coli ATCC 8739	0,1	0,2	0,1	0,1
Ec-36	E. coli A15147*	6,3	6,3	1,6	3,1
Ec-46	E. coli A15164*	50	>100	25	12,5
Ec-51	E. coli A20343*	50	>100	12,5	25
El-1	E. cloacae A9656*	12,5	6,3	6,3	3,1
El-2	E. cloacae A20364*	12,5	6,3	6,3	100
El-11	E. cloacae A20344*	>100	>100	>100	>100
Kp-3	K. pneumoniae A9977	0,4	0,2	0,4	0,8
Kp-4	K. pneumoniae A15130	0,8	0,8	0,8	0,8
Kx-3	Klebsiella sp. A20346*	0,2	0,2	0,4	0,4
Pv-1	P. vulgaris A9436*	0,2	0,2	0,2	0,4
Pv-3	P. vulgaris A9699	0,8	100	6,3	100
Pm-1	P. mirabilis A9554	0,1	0,1	0,2	0,4
Pm-2	P. mirabilis A990Q	0,1	0,2	0,4	0,8
Pg-1	P. morganii A9553	>100	>100	>100	>100
Pg-2	P. morganii A20031*	0,2	0,2	0,4	0,8
Pg-6	P. morganii A20455	0,4	0,8	1,6	1,6
Pr-1	P. rettgeri A15167	0,4	0,1	0,2	0,2
Ps-1	P. stuartii A20745	50	50	6,3	1,6
Ps-2	P. stuartii A20894*	0,8	0,4	0,4	0,2
Ps-3	P. stuartii A20911*	50	25	6,3	3,1
Sm-1	S. marcescens A20019*	>100	>100	50	100
Sm-3	S. marcescens A20336	100	>100	50	100
Pa-3	P. aeruginosa A9930	100	>100	>100	>100
Ba-3	B. anthracis A9504	0,4	0,2	0,4	0,4

* β -lactamase +

Tabel V. Blodniveauer (ug/ml) i subkutant behandlede mus

<u>Dosis</u>	<u>Tid</u>	<u>BB-S488</u>	<u>Cefamandol</u>
40 mg/kg	15 min.	19	18
	30 min.	17	11
	60 min.	12	3,9
	120 min.	1,6	0,3
20 mg/kg	15 min.	7,4	9,5
	30 min.	6	4,1
	60 min.	4,3	1
	120 min.	0,7	0,1
10 mg/kg	15 min.	5	3,8
	30 min.	3	1,5
	60 min.	0,8	0,3
	120 min.	--	0,1

Tabel VI. In vivo-aktivitet

<u>Testorganisme</u>	<u>Dosis</u>	<u>BB-S488</u>	<u>Cefamandol</u>
<u>S. aureus</u> Smith	25 mg/kg	5/5 [*]	5/5
	6,3	5/5	5/5
	1,6	5/5	5/5
	0,4	5/5	1/5
	0,1	2/5	
	<u>PD₅₀</u>	<u>0,12 mg/kg</u>	<u>0,6 mg/kg</u>
<u>E. coli</u> Juhl	25 mg/kg	5/5	5/5
	6,3	5/5	5/5
	1,6	5/5	2/5
	0,4	5/5	0/5
	0,1	2/5	
	<u>PD₅₀</u>	<u>0,12 mg/kg</u>	<u>1,8 mg/kg</u>
<u>K. pneumoniae</u> A9977	25 mg/kg	5/5	5/5
	6,3	5/5	1/5
	1,6	5/5	0/5
	0,4	4/5	0/5
	0,1	0/5	
	<u>PD₅₀</u>	<u>0,26 mg/kg</u>	<u>6,25 mg/kg</u>

^{*} Antal overlevende / Antal testede

Yderligere PD₅₀-data (enkelt sc.-behandling)

Testorganisme	Forsøg nr.	Antal LD ₅₀	Dosis (mg/kg)	BB-S 488	Cefam- andol
K. pneumoniae A9977 (Kp-3)	C-805	3x10 ³	25	5/5	5/5
			6,3	5/5	1/5
			1,6	5/5	0/5
			0,4	4/5	0/5
			0,1	0/5	---
			PD ₅₀ (mg/kg)	0,26	9,4
P. vulgaris A9436 (Pv-1)	C-808	1x10	50	---	3/5
			25	5/5	---
			12,5	---	1/5
			6,3	5/5	---
			3,1	---	0/5
			1,6	3/5	---
			0,8	---	0/5
			0,4	1/5	---
P. mirabilis A9900 (Pm-2)	C-810	1x10 ³	PD ₅₀ (mg/kg)	1,1	36
			50	---	2/5
			25	5/5	---
			12,5	---	1/5
			6,3	5/5	---
			3,1	---	0/5
			1,6	4/5	---
			0,8	---	0/5
			0,4	0/5	---
			0,2	---	0/5
			0,1	0/5	---
			PD ₅₀ (mg/kg)	1,1	50

Testorganisme	Forsøg nr.	Antal LD ₅₀	Dosis (mg/kg)	BB-S 488	Cefamandol
<u>E. cloacae</u> A20464 (E1-19)	C-811	1 x 10	100	5/5	5/5
			25	5/5	5/5
			6,3	5/5	5/5
			1,6	4/5	4/5
			0,4	2/5	1/5
			PD ₅₀ (mg/kg)	0,54	0,8

Urinær genudvinding i rotter

<u>Dosis (sc.)</u>	<u>% genudvinding (0-24 timer)</u>	
	<u>BB-S488</u>	<u>Cefamandol</u>
10 mg/kg	38,8	58,3

Neprotoxicitetstest i kaniner

Intet neprotoxisk tegn observeredes i kaninerne, som var behandlet med 100 mg/kg (iv) BB-S488, mens cephaloridin viste alvorlig neprotoxicitet i den komparative test.

Stabilitet af BB-S488

Stabilitet af BB-S488 bestemtes i både en 10% og en 0,2% opløsning. Stabiliteten er angivet som den i testopløsningen tilbageblevne relative aktivitet ved givne tidspunkter i forhold til den oprindelige opløsning. Aktiviteten efterprøvedes ved anvendelse af papirplader på B. subtilis PCI 219-plade (pH-værdi 6).

(1) Stabilitet i en 10% vandig opløsning ved stuetemperatur

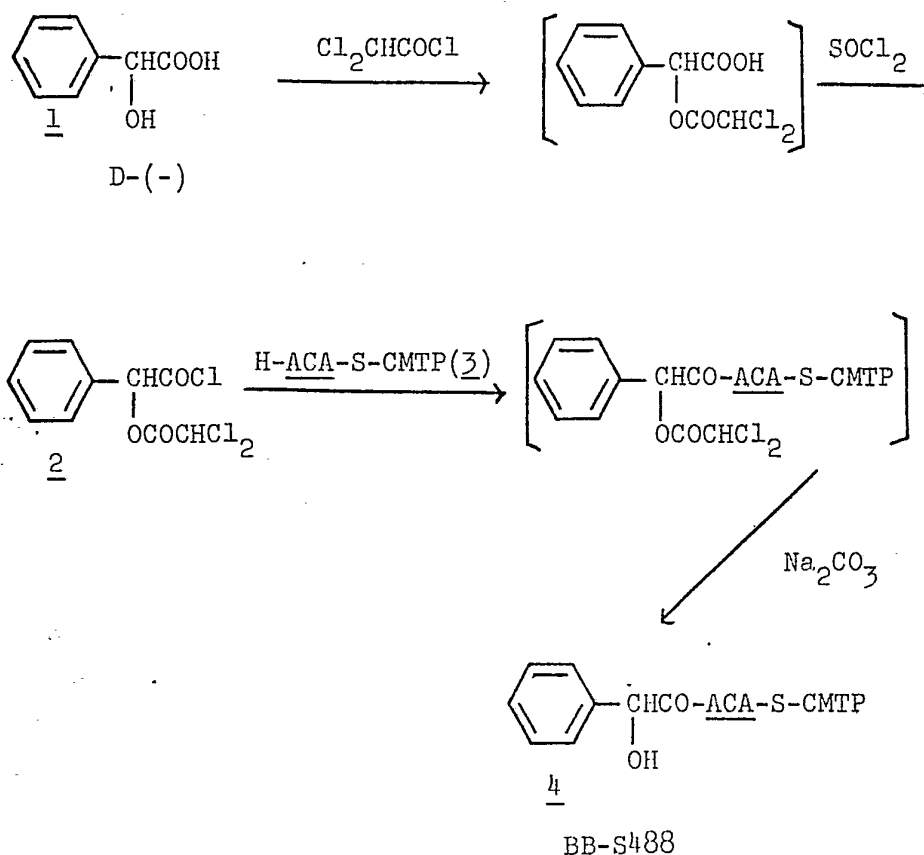
<u>Forbindelse</u>	<u>pH-værdi (1)</u>	<u>Tilbageblivende aktivitet (%)</u>			
		<u>0</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>7 dage</u>
BB-S488	6,1	100	128	90	116

(1) Uindstillet pH-værdi for 10% opløsningen.

<u>Forbindelse</u>	<u>pH-værdi (2)</u>	<u>Tilbageblivende aktivitet (%)</u>				
		<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>7 dage</u>
BB-S488	4	100		93	78	102
	7	100		87	64	56
	9	100	20	14	13	0

- (2) pH-værdi 4: 0,1 M AcOH - NaOAc-puffer.
 pH-værdi 7: 0,1 M phosphat-puffer.
 pH-værdi 9: 0,1 M $\text{NH}_4\text{OH-NH}_4\text{Cl}$ -puffer.

Eksempel 2



Dichloroacetylmandeloylchlorid (2)

En blanding af D(-)-mandelsyre (1, 1,52 g, 10 mmol) og dichloroacetylchlorid (4,41 g, 30 mmol) opvarmedes ved 80-85°C i 1,5 time, og det overskydende dichloroacetylchlorid fjernedes under formindsket tryk. Til remanensen sattes thionylchlorid (2,5 ml), og blandingen opvarmedes under tilbagesvaling i 1,5 time. Overskydende thionylchlorid fjernedes ved destillation, og tør benzen tilsattes. Inddampning gentoges. Den resterende olie henstilledes over KOH ved 1 mm Hg natten over ved stuetemperatur til fjernelse af dichloroacetylchlorid. Udbytte: 2,8 g (100%). Dette produkt anvendtes i det næste trin uden yderligere rensning.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{liq.}}$ 1780, 1160 cm^{-1} .

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CCl}_4}$ 5,91 (1H, s, PhCH eller COCHCl₂), 6,00 (1H, s, PhCH eller COCHCl₂), 7,32 (5H, s, phenyl-H).

BB-S488; 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4)

En opløsning af dichloracetylmandeloylchlorid opnået som ovenfor (2, 2,8 g, 10 mmol) i tør acetone (30 ml) sættes dråbevis til en omrørt opløsning af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (H-ACA-S-CMTP) (3, 3,94 g, 9 mmol) og triethylamin (3,54 g, 35 mmol) i 50% vandig acetone (120 ml) ved 0 - 5°C. Blandingen henstilledes til opnåelse af stuetemperatur i løbet af 1 time under omrøring og indstilledes til pH-værdi 11 med 5% vandig natriumcarbonat (ca. 12 ml krævedes). Blandingen henstilledes ved stuetemperatur i 30 minutter, gjordes sur til pH-værdi 1 med fortyndet HCl og inddampedes under formindsket tryk til fjernelse af acetone under 40°C. Bundfaldet opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand (20 ml) og lufttørredes. Det tørrede materiale opløstes i THF (150 ml), omrørtes i 5 minutter ved 40-50°C og filtreredes til fjernelse af uopløselig uomsat forbindelse 3 (0,54 g, 14% genudvinding). Filtratet kromatograferedes på en silicagel-søjle ("Wako-gel, C-200", 30 g), idet der elueredes med chloroform-methanol (100:5). Eluaterne opsamledes i 50 ml fraktioner under overvågning ved TLC (silicagel, opløsningsmiddel CH₃CN-vand = 4:1, påvist med I₂). Fraktionerne, som indeholdt det ønskede produkt, kombineredes, behandlede med en lille mængde carbon og inddampedes under formindsket tryk. Remanensen tritureredes med chloroform (50 ml) til opnåelse af 2,36 g (46%) 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4), smeltepunkt 165-170°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-2500, 1780, 1720, 1500, 1410, 1355, 1220, 1195 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 254 nm (ϵ , 18300), 297 nm (skulder, ϵ , 9300).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{DMSO-d}_6}$ 3,84 (2H, m, 2-H), 4,17 (2H, d, 13 Hz, 3-H), 4,50 (1H, d, 13 Hz, 3-H), 4,82 (2H, s, NCH₂COO), 5,20 (1H, d, 4,5 Hz, 6-H), 5,25 (1H, s, PhCH), 5,87 (1H, d-d, 4,5 & 9 Hz, 7-H, en dublet (J=4,5 Hz) ved tilsætning af D₂O), 7,25 (1H, d, 11 Hz, pyridazin-H), 7,4-7,7 (5H,

m, phenyl-H), 7,90 (1H, d, 11 Hz, pyridazin-H), 9,0 (1H, d, 9 Hz, 7-CONH, forsvandt ved tilsætning af D₂O).

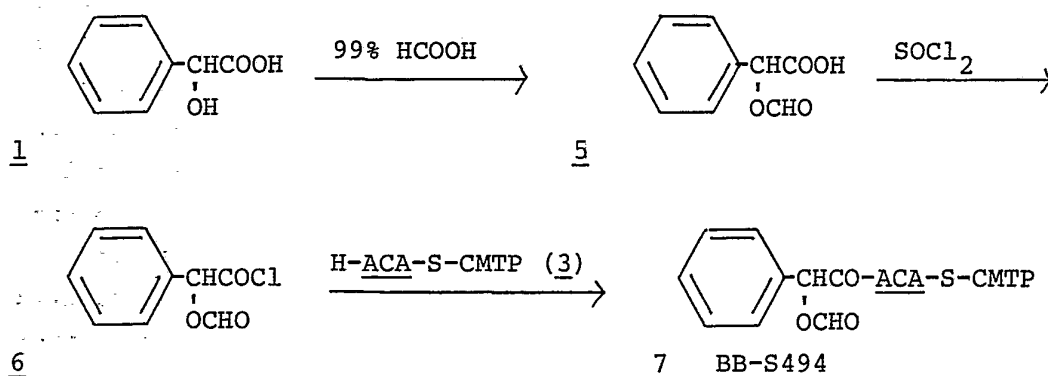
Analyse beregnet for C₂₃H₂₀N₆O₈S₂·3/4CHCl₃:

C: 43,08; H: 3,16; N: 12,69; S: 9,69.

Fundet:

C: 43,11, H: 2,97, N: 12,80, S: 9,64.
43,22; 3,06; 12,77;

Eksempel 3



O-formyl-D(-)-mandelsyre (5)

En blanding af D(-)-mandelsyre (1, 5,0 g, 33 mmol) og 99% myresyre (80 ml) opvarmedes ved 80-90°C i 12 timer. Blandingen indampedes, og toluen (100 ml) sættes til remanensen, hvorpå der indampedes under formindsket tryk til fjernelse af myresyre azeotropisk. Remanensen opløstes i benzen (200 ml), og opløsningen udvaskedes med vand (2 x 50 ml). Det organiske lag fraskiltes, tørredes med vandfri natriumsulfat og indampedes under formindsket tryk. Den resterende olie tritureredes med cyclohexan (50 ml) til udkrystallisering. Udbytte: 3,70 g (63%) O-formyl-D(-)-mandelsyre (5) som farveløse prismer, smeltepunkt 56-59°C (litteratur smeltepunkt 55-58°C).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400-2800, 1755, 1720, 1160, 990 cm⁻¹.

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ 5,98 (1H, s, PhCH), 7,31 (5H, m, phenyl-H), 8,05 (1H, s, OCHO), 10,05 (1H, s, COOH, forsvandt ved tilsætning af D₂O).

O-formyl-D(-)-mandeloylchlorid (6)

En blanding af forbindelse 5 (2,0 g, 11 mmol) og thionylchlorid (10 ml) opvarmedes under tilbagesvaling i 2 timer. Afdampning af det

overskydende thionylchlorid og destillation af remanensen under formindsket tryk tilvejebragte syrechloridet O-formyl-D(-)-mandeloylchlorid (6). Udbytte: 1,53 g (70%), kogepunkt 120-122°C / 15 mm Hg.

IR: ν _{liq.}
max 1805, 1740, 1160, 1140 cm⁻¹.

BB-S494; 7-(D-O-formylmandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (7)

En opløsning af O-formyl-D(-)-mandeloylchlorid (6) (1,0 g, 5,1 mmol) i tør acetone (10 ml) sættes dråbevis til en kold (0 - 5°C) opløsning af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (3, 1,75 g, 4 mmol) i 50% vandig acetone (70 ml) indeholdende natriumhydrogencarbonat (1,34 g, 16 mmol). Blandingen omrørtes i 30 minutter ved stuetemperatur og udvaskedes med ether. Det vandige lag gjordes surt til pH-værdi 1 med fortyndet HCl. Den fraskilte olieagtige gummi opsamledes og opløstes i THF (100 ml). Opløsningen behandledes med en lille mængde carbon og tørredes over vandfri natriumsulfat. Afdampning af opløsningsmidlet under formindsket tryk til 10 ml og fortynding med ether tilvejebragte titelforbindelsen (7) som et bleggult amorft pulver, 0,91 g (38%), smeltepunkt 172-176°C (dekomponering).

IR: ν _{KBr}
max 3600-2400, 1775, 1720, 1550, 1355, 1230, 1160 cm⁻¹.

UV: λ _{EtOH}
max 254 nm (ϵ , 20800), 297 nm (skulder, ϵ , 10500).

NMR: δ _{DMSO-d₆}
ppm 3,4-4,5 (4H, m, 2-H og 3-H), 4,67 (2H, s, NCH₂COO), 4,97 (1H, d, 4 Hz, 6-H), 5,66 (1H, d-d, 4 & 8 Hz, 7-H), 7,2-7,5 (5H, m, phenyl-H), 7,64 (1H, d, 10 Hz, pyridazin-H), 8,29 (1H, s, CHO), 9,29 (1H, d, 8 Hz, 7-CONH, forsvandt ved tilsætning af D₂O).

Analyse beregnet for C₂₄H₂₀N₆O₉S₂·1H₂O:

C: 46,60; H: 3,58; N: 13,59; S: 10,37.

Fundet:

C: 46,70; H: 3,25; N: 13,37; S: 10,84.
47,20; 3,34; 13,78;

Eksempel 4

BB-S488: 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4)

En blanding af 7-(D-O-formylmandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-

carboxylsyre (7), opnået ifølge eksempel 3, (484 mg, 0,81 mmol) og natriumhydrogencarbonat (748 mg, 8,9 mmol) i vand (4 ml) omrørtes i 4 timer ved stuetemperatur og gjordes sur til pH-værdi 1 med fortyndet HCL. Bundfaldet (500 mg) opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand (2ml) og kromatograferedes på silicagelsøjle ("Wako-gel, C-200", 5 g). Søjlen elueredes med chloroform indeholdende voksende mængder methanol (3-5%) som elueringsmiddel, og fraktionerne, som indeholde produktet, kombineredes, blandedes med en lille mængde carbon og indampedes under formindsket tryk. Resanen ttritureredes med ether til dannelse af 277 mg 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (BB-S488; 4). NMR-estimering af dette produkt viste, at 10% af forbindelse 7 stadig var til stede.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-2400, 1770, 1720, 1520, 1495, 1365, 1230 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 254 nm (ϵ , 20000), 297 nm (skulder, ϵ , 9600).

Eksempel 5

Natriumsalt af BB-S488

Natrium-2-ethylhexanoat (SEH) (4,0 ml, 1 M opløsning i ethylacetat) sættes til en opløsning af 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4), opnået ifølge eksempel 2, (2,25 g, 3,93 mmol) i THF (200 ml). Bundfaldet opsamledes ved filtrering, udvaskedes med THF (50 ml) og tørres ved 60°C / 1 mm Hg i 3 timer. Udbytte af natrium-7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, 1,96 g (boudbytte 97%), smeltepunkt 230-240°C (dekomponering). pH-værdien af den vandige 10% opløsning var 3,6.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-3000, 1765, 1710, 1605, 1390, 1360, 1190, 1080, 1065 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{vand}}$ nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 252 (357), 310 (skulder, 140).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}}$ 3,43 (1H, d, 19 Hz, 2-H), 3,87 (1H, d, 19 Hz, 2-H), 4,15 (1H, d, 14 Hz, 3-H), 4,53 (1H, d, 14 Hz, 3-H), 5,16 (1H, d, 4,5 Hz, 6-H), 5,36 (1H, s, PhCH), 5,73 (1H, d, 4,5 Hz, 7-H), 7,13 (1H, d, 10 Hz, pyridazin-H), 7,57 (5H, s, phenyl-H), 7,69 (1H, d, 10 Hz, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $C_{23}H_{19}N_6O_8S_2Na, 5/4H_2O$:

C: 44,77; H: 3,51; N: 13,62; S: 10,39.

Fundet:

C: 44,93, H: 3,31, N: 13,41, S: 10,19.
44,79; 3,15; 13,33;

Eksempel 6

Vandig 1N natriumhydroxidopløsning sættes dråbevis til en opslæmning af 7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (4), opnået ifølge eksempel 2, (3,51 g) i vand (20 ml) til indstilling af pH-værdien på 6,0. Opløsningen lyofiliseredes til dannelsen af 3,4 g (bioudbytte, 97%) dinatrium-7-(D-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, smeltepunkt $>240^{\circ}C$ (dekomponering). pH-værdien af den 5% vandige opløsning var 5,4.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-3000, 1760, 1710, 1605, 1390, 1360, 1190, 1080, 1060 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{vand}}$ nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 252 (320), 310 (124).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}}$ 3,43 (1H, d, 19 Hz, 2-H), 3,90 (1H, d, 19 Hz, 2-H), 4,15 (1H, d, 14 Hz, 3-H), 4,53 (1H, d, 14 Hz, 3-H), 4,75 (2H, s, NCH_2CO), 5,22 (1H, d, 4,5 Hz, 6-H), 5,42 (1H, s, PhCH), 5,73 (1H, d, 4,5 Hz, 7-H), 7,22 (1H, d, 10 Hz, pyridazin-H), 7,65 (5H, s, phenyl-H), 7,77 (1H, d, 10 Hz, pyridazin-H).

Analyse beregnet for $C_{23}H_{18}N_6O_8S_2Na_2, 3/2 H_2O$:

C: 42,92; H: 3,29; N: 13,06; S: 9,96.

Fundet:

C: 42,90, H: 3,06, N: 13,04, S: 9,97.
43,19; 3,01; 13,03;

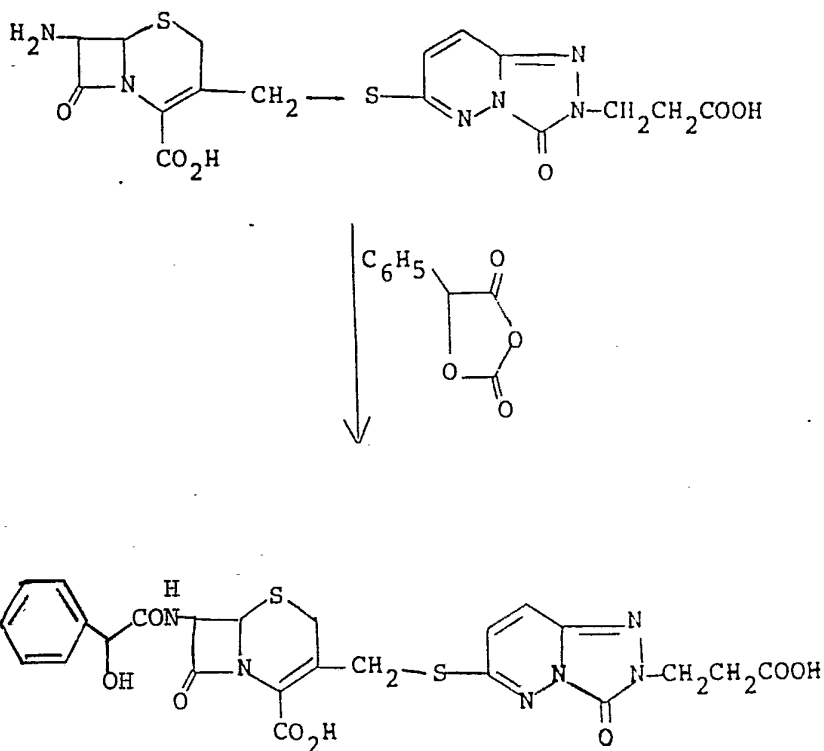
Eksempel 7

7-(D- α -hydroxy- α -phenylacetamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre fremstillet ud fra 7-D-mandelamidocephalosporansyre.

0,27 mol natrium-7-D-mandelamidocephalosporanat opslættes i 1000 ml 0,1 M fosfatpuffer med pH-værdi 6,4, og der tilsættes 0,31 mol 2-carboxymethyl-2,3-dihydro-6-mercapto-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on. Opløsningen opvarmes ved $55^{\circ}C$ under nitrogenatmosfære i 5 timer. Efter 1 times forløb indstilles pH-værdien til 6,4 ved tilsætning af en lille mængde 40% H_3PO_4 . Ved slutningen af den 5 timer lange opvarm-

ningsperiode afkøles opløsningen til 23°C, og pH-værdien indstilles til 2 ved tilsætning af 3 N HCl under et lag ethylacetat. Produktet ekstraheres over i ethylacetat, og der omrøres i 15 minutter ved 23°C med 2 g affarvende trækul ("Darco KB"). Blandingen filtreres derefter gennem et filterlag af diatoméjord ("Celite"), og ethylacetatet fjernes fra filtratet under vakuum. Remanensen tritureres til et faststof med diethylether, opsamles ved filtrering og tørres over P₂O₅ under vakuum til dannelse af fast 7-(D-α-hydroxy-α-phenylacetamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

Eksempel 8



BB-S527: 7-[D(-)-mandelamido]-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo-[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en blanding af 7-amino-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylsyre (679 mg, 1,5 mmol) og NaHCO₃ (445 mg, 5,3 mmol) i 50% vandig acetone sættes D-(-)-mandelsyre-O-carboxyanhydrid (400 mg, 2,3 mmol) ved 0°C. Blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time og inddampedes til fjernelse af det organiske opløsningsmiddel. Den vandige opløsning udvaskedes med ether (3 x 10 ml), indstilledes til pH-værdi 1 med fortyndet HCl og filtreredes til opsamling af det rå produkt, som opløstes

i THF (10 ml), filtreredes til fjernelse af uopløselige stoffer og inddampedes under formindsket tryk. Den olieagtige remanens tritureredes med ether. Faststoffet (476 mg) kromatograferedes på en søjle af silicagel ("Wako-gel C-200", 10 g) og elueredes med MeOH-CHCl₃ (MeOH: 0-3%). Fraktioner, som indeholdt det ønskede produkt, kombineredes og inddampedes til opnåelse af 287 mg (33%) BB-S527, smeltepunkt >155°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600 - 2400, 1780, 1720, 1550, 1520 cm⁻¹.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 253 nm (ϵ , 20000), 298 nm (ϵ , 9000).

Analyse beregnet for C₂₄H₂₂N₆O₈S₂·3/2H₂O:

C: 46,98; H: 4,11; N: 13,70; S: 10,45.

Fundet:

C: 47,25, H: 3,80, N: 12,87, S: 10,17.
47,39; 3,76; 12,77;

Natriumsaltet af BB-S 527

En opslæmning af den frie syre af BB-S 527 (240 mg, 0,4 m.mol) i vand (5 ml) indstilledes til pH-værdi 6,8 med 1 N-NaOH (0,7 ml) til dannelse af en klar opløsning, som frysetørredes til efterladelse af 234 mg (91% bioudbytte) af natriumsaltet af BB-S 527 som bleggult pulver. Smeltepunkt >210°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600 - 2800, 1770, 1710, 1600 cm⁻¹.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 253 nm (ϵ 21000) 298 nm (ϵ 9300).

Analyse beregnet for C₂₄H₂₀N₆O₈S₂Na₂·2H₂O:

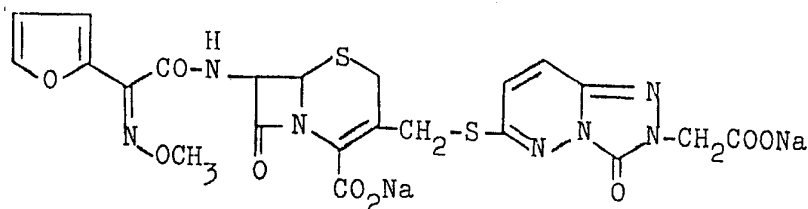
C: 43,24, H: 3,63, N: 12,61, S: 9,62

Fundet:

C: 43,39, H: 3,20, N: 12,63, S: 9,42
43,43, 3,36, 12,68, 9,22

In vitro-antibakteriel aktivitet af BB-S 527 sammenlignet med BB-S 488 og cefamandol (bestemt ved Steers' agar-fortyndingsmetode på Mueller-Hinton agar-plade).

Organisme	MIC (mcg/ml)		
	BB-S 527	BB-S 488	cefamandol
<i>S. aureus</i> Smith	1,6	0,8	0,2
<i>S. aureus</i>	0,4	0,4	0,1
<i>S. aureus</i> BX-1633	3,1	3,1	0,4
<i>St. faecalis</i>	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ	0,4	0,2	0,05
<i>E. coli</i> ATCC 8739	12,5	6,3	3,1
<i>E. coli</i> Juhl	0,4	0,2	0,8
<i>E. coli</i> BX-1373	6,3	3,1	3,1
<i>E. coli</i>	0,1	0,1	0,1
<i>E. coli</i>	0,1	0,05	0,1
<i>E. coli</i>	6,3	3,1	1,6
<i>Kl. pneumoniae</i>	6,3	3,1	3,1
<i>Kl. pneumoniae</i>	0,2	0,1	0,8
<i>Kl. pneumoniae</i>	0,8	0,4	0,8
<i>Kl. pneumoniae</i>	0,4	0,2	0,8
<i>Pr. vulgaris</i>	0,1	0,1	0,2
<i>Pr. vulgaris</i>	12,5	0,8	50
<i>Pr. mirabilis</i>	0,2	0,05	0,8
<i>Pr. mirabilis</i>	0,1	0,05	0,2
<i>Pr. morganii</i>	>100	>100	>100
<i>Pr. morganii</i>	0,4	0,2	0,8
<i>Pr. rettgeri</i>	0,2	0,2	0,4
<i>Ps. aeruginosa</i>	>100	>100	>100
<i>Ps. aeruginosa</i>	>100	>100	>100
<i>Shig. dysenteriae</i>	0,025	0,025	0,1
<i>Shig. flexneri</i>	50	25	6,3
<i>Shig. sonnei</i>	0,1	0,05	0,2
<i>Serr. marcescens</i>	>100	>100	>100
<i>Enterob. cloacae</i>	6,3	3,1	3,1
<i>Sal. enteritidis</i>	0,05	0,025	0,05
<i>Sal. typhosa</i>	0,1	0,05	0,1
<i>B. anthracis</i>	0,4	0,2	0,4

Eksempel 9

BB-S 511: 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-dinatriumsalt

Til en opløsning af (2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)eddikesyre (507 mg, 3 mmol) og triethylamin (0,42 ml, 3 mmol) i dichlormethan (6 ml) sættes oxalylchlorid (0,26 ml, 3 mmol) ved 0-5°C, og blandingen omrøres i 30 minutter. Blandingen indampedes ved formindsket tryk til dannelse af en olieagtig remanens af syrechloridet, som opløstes i tør acetone (10 ml). Efter filtrering sættes acetone-opløsningen til en blanding af 7-amino-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (1,31 g, 3 mmol) og NaHCO₃ (504 mg, 6 mmol) i vand (20 ml) ved 0-5°C. Blandingen omrøres ved 0-5°C i 2 timer, idet acetonen fjernes under formindsket tryk. Den vandige opløsning udvaskedes ether (2 x 50 ml) og indstillede til pH-værdi 1-2 med koncentreret HCl til tilvejebringelse af et bundfald, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand og tørredes i vakuum. Faststoffet opløstes i THF (tetrahydrofuran) (40 ml) og filtreredes. Til filtratet sættes 1 M-SEH (natriumethylhexanoat) i ethylacetat (3 ml), og det resulterede bundfald opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum. Udbytte af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-dinatriumsalt var 1,0 g (54%), smeltepunkt >210°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1710, 1680, 1610, 1550 cm⁻¹

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 257 nm (ϵ 25000), 277 nm (ϵ 24000)

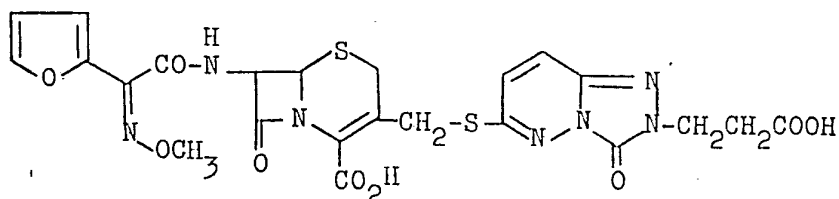
NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{DMSO-d}_6}$ 7,70 (1H, br, furan-H α), 7,52 (1H, d, J=9,5 Hz, pyridazin-H), 6,87 (1H, d, J=9,5 Hz, pyridazin-H), 6,5-6,6 (2H, m, furan-H β), 5,58 (1H, m, 7-H), 5,00 (1H, d, J=4,5 Hz, 6-H), 3,84 (3H, s, OCH₃).

Analyse beregnet for C₂₂H₁₇N₇O₉S₂Na₂·H₂O:

C: 40,55, H: 2,94, N: 15,05, S: 9,84

Fundet:

C: 40,81, H: 3,08, N: 14,69, S: 9,70
41,02 3,22 14,86 9,62.

Eksempel 10

BB-S526: 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre-natriumsalt

Syrechloridet, som fremstilledes ud fra (2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)eddikesyre (169 mg, 1 mmol), opløstes i tør acetone (5 ml) og filtreredes til fjernelse af de uopløselige stoffer. Filtratet sættes til en opløsning af 7-amino-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre (452 mg, 1 mmol) og NaHCO_3 (336 mg, 4 mmol) i vand (10 ml). Reaktionsblandingen omrørtes i 2 timer i et isvandbad. Acetone fjernedes ved formindsket tryk. Den vandige opløsning udvaskedes med ether (2 x 10 ml) og indstilledes til pH-værdi 1-2 med koncentreret HCl. Det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand og tørredes under formindsket tryk. En opløsning af bundfaldet i THF (10 ml) behandledes med aktivt carbon. En SEH-opløsning i ethylacetat (1 m, 0,8 ml) sættes til THF-opløsningen til dannelse af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre-natriumsalt, som opsamledes ved filtrering. Udbytte 410 mg (66% som mono-Na-salt). Smeltepunkt $>205^\circ\text{C}$ (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3600-2800, 1770, 1710, 1600, 1550 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 257 nm (ϵ 27000), 276 (ϵ 26100)

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{DMSO-d}_6+\text{D}_2\text{O}}$ 2,70 (2H, t, $J=6$ Hz, CH_2), 3,3-4,5 (9H, m, 2-H, 3- CH_2 , CH_2 og OCH_3), 4,96 (1H, d, $J=5,5$ Hz, 6-H), 5,53 (1H, d, $J=5,5$ Hz, 7-H), 6,55 (2H, m, furan-H), 6,92 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 7,53 (1H, d, $J=10$ Hz, pyridazin-H), 7,68 (1H, Br, furan-H).

Analyse beregnet for $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}_2\text{Na}\cdot\text{H}_2\text{O}$:

C: 42,92, H: 3,45, N: 15,23, S: 9,96

Fundet:

C: 43,08, H: 3,20, N: 14,96, S: 9,96
42,77, 3,03, 14,76

Tabel VII

In vitro aktivitet bestemt ved rækkefortyndings-
metoden under anvendelse af Mueller-Hinton agar

Organisme (antal stammer)	Geometrisk middelværdi af MIC (µg/ml)		
	BB-S511 (Eks. 9)	BB-S526 (Eks. 10)	Cefuroxim
<i>S. aureus</i> (3)	1,97	1,6	1,24
<i>E. coli</i> (7)	0,58	0,78	1,28
<i>Kl. pneumoniae</i> (4)	0,47	0,93	3,1
<i>Proteus</i> (6)	0,021	0,061	0,88
Shig. (3), Serr. (1) <i>Enterob.</i> (1), <i>Sal.</i> (2) <i>B- anthracis</i> (1)	1,11	2,41	4,06
<i>S. pyogenes</i> (5)	0,032	0,032	0,025
<i>S. viridans</i> (5)	0,15	0,4	0,1
<i>D. pneumoniae</i> (5)	0,037	0,056	0,0125
<i>N. meningitidis</i> (5)	2,37	3,60	1,6
<i>N. gonorrhoeae</i> (5)	1,36	1,6	0,4
<i>H. influenzae</i> (7)	0,64	0,71	1,16

Cefuroxim er natrium-6R,7R-3-carbamoyloxymethyl-7-(2Z)-2-methoxyimino-
(fur-2-yl)acetamidoceph-3-em-4-carboxylat.

Tabel VIII

Geometriske middelværdier af MIC-værdier mod 3
stammer af *S. aureus* og 27 stammer af gram-nega-
tive bakterier (µg/ml), Mueller-Hinton agar)

	Antal stammer	BB-S511	BL-S786
<i>S. aureus</i>	1	1,6	1,6
<i>S. aureus</i> , Penicillin-R	2	0,6	1,6
<i>E. coli</i>	6	0,2	0,2
<i>E. coli</i> , Cephalosporin-R	1	6,3	12,5
<i>K. pneumoniae</i>	4	0,7	0,3
Indole (-) <i>Proteus</i>	2	0,1	0,2
Indole (+) <i>Proteus</i>	3	0,05	0,3
Indole (+) <i>Proteus</i> , Cephalo- sporin-R	2	6,3	50,1
<i>S. marcescens</i>	1	25	>100
<i>E. cloacae</i>	1	3,1	1,6
<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i>	5	0,3	0,5
<i>P. aeruginosa</i>	2	>100	>100

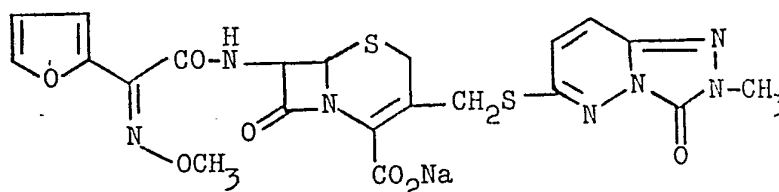
BL-S786 er 7-[α -(2-aminomethylphenyl)acetamido]-3-[(1-carboxymethyl-tetrazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre.

Tabel IX

Geometriske middelværdier af MIC-værdier mod 18
stammer af S. marcescens

<u>BB-S511</u>	<u>BL-S786</u>
5,4	85,9

Eksempel 11



BB-S510: 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-natriumsalt

Til en opløsning af (2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)eddikesyre (253 mg, 1,5 mmol) og triethylamin (0,2 ml, 1,5 mmol) i dichlormethan (3 ml) sættes oxalylchlorid (0,13 ml, 1,5 mmol) ved 0-5°C, og blandingen omrørtes i 30 minutter og inddampedes ved formindsket tryk til dannelse af syrechloridet som en olie, der opløstes i tør acetone (5 ml) og filtreredes til fjernelse af uopløselige stoffer. Acetoneopløsningen sættes til en blanding af 7-amino-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (591 mg, 1,5 mmol) og NaHCO₃ (504 mg, 6 mmol) i vand (10 ml) ved 0-5°C. Reaktionsblandingen omrørtes ved 0-5°C i 3 timer. Acetone fjernedes ved formindsket tryk, og den resterende vandige opløsning udvaskedes med ether (2 x 30 ml) og indstilledes til pH-værdi 1-2 med koncentreret HCl. Bundfaldet, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand og tørredes i vakuum, opløstes i THF (30 ml) og filtreredes til fjernelse af uopløselige stoffer. Til THFopløsningen sættes en opløsning af natrium-2-ethylhexanoat (SEH, 1 M, 1,5 ml) i ethylacetat, og det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum. Udbytte 492 mg 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-natriumsalt (58%). Smeltepunkt >180°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1720, 1670, 1600, 1550 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH 7 puffer}}$ 257 nm (ϵ 22600), 277 nm (ϵ 22300)

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}}$ 7,53 (1H, d, $J=1,5$ Hz, furan-H α), 7,35 (1H, d, $J=9,5$ Hz, pyridazin-H), 6,90 (1H, d, $J=9,5$ Hz, pyridazin-H), 6,72 (1H, d, $J=3,0$ Hz, furan-H β), 6,48 (1H, q, $J=1,5$ og 3,0 Hz, furan-H β), 5,72 (1H, d, $J=4,5$ Hz, 7-H), 5,14 (1H, d, $J=4,5$ Hz, 6-H), 2,94 (3H, s, O-CH $_3$), 3,61 (3H, s, N-CH $_3$).

Analyse beregnet for $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_7\text{S}_2\text{Na}, 1/2\text{THF}, \text{H}_2\text{O}$:

C: 44,44, H: 3,89, S: 10,32

Fundet:

C: 44,89, H: 3,92, S: 9,67.

Tabel X

In vitro aktivitet bestemt ved rækkefortyndings-
metoden under anvendelse af Mueller-Hinton agar

Organisme (antal stammer)	Geometrisk middelværdi af MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	BB-S510 (Eks. 11)	BB-S515	Cefuroxim
<i>S. aureus</i> (3)	0,62	2,48	1,24
<i>E. coli</i> (7)	2,11	2,33	1,28
<i>Kl. pneumoniae</i> (4)	6,3	3,1	3,1
<i>Proteus</i> (6)	1,39	1,11	0,88
Shig. (3), Serr. (1) <i>Enterob.</i> (1), <i>Sal.</i> (2) <i>B. anthracis</i> (1)	6,26	5,26	4,06
<i>S. pyogenes</i> (5)	0,0125	0,032	0,025
<i>S. viridans</i> (5)	0,13	0,59	0,1
<i>D. pneumoniae</i> (5)	0,021	0,1	0,0125
<i>N. meningitidis</i> (5)	1,03	5,45	1,6
<i>N. gonorrhoeae</i> (5)	0,26	2,07	0,4
<i>H. influenzae</i> (7)	0,35	2,11	1,16

Cefuroxim er natrium-6R,7R-3-carbamoyloxymethyl-7-(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamidoceph-3-em-4-carboxylat.

Tabel XI

Geometriske middelværdier af MIC-værdier mod 3
stammer af *S. aureus* og 27 stammer af gram-nega-
tive bakterier ($\mu\text{g/ml}$), Mueller-Hinton agar)

	<u>Antal stammer</u>	<u>BB-S510</u>	<u>BL-S786</u>
<i>S. aureus</i>	1	0,1	1,6
<i>S. aureus</i> , Penicillin-R	2	0,1	1,6
<i>E. coli</i>	6	0,1	0,2
<i>E. coli</i> , Cephalosporin-R	1	3,1	12,5
<i>K. pneumoniae</i>	4	2,6	0,3
Indole (-) <i>Proteus</i>	2	1,1	0,2
Indole (+) <i>Proteus</i>	3	0,2	0,3
Indole (+) <i>Proteus</i> , Cephalo- sporin-R	2	6,3	50,1
<i>S. marcescens</i>	1	6,3	>100
<i>E. cloacae</i>	1	3,1	1,6
<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i>	5	0,5	0,5
<i>P. aeruginosa</i>	2	>100	>100

BL-S786 er 7-[α -(2-aminomethylphenyl)acetamido]-3-[(1-carboxymethyl-tetrazol-5-ylthio)methyl]-3-cephem-4-carboxylsyre.

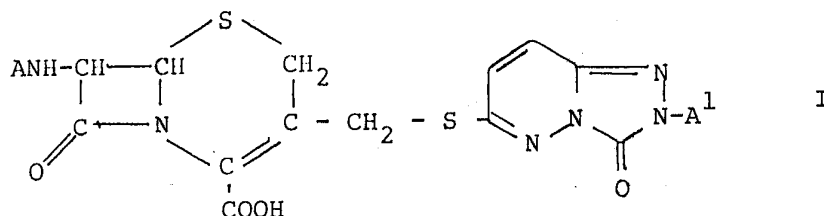
Tabel XII

Geometriske middelværdier af MIC-værdier mod 18
stammer af *S. marcescens*

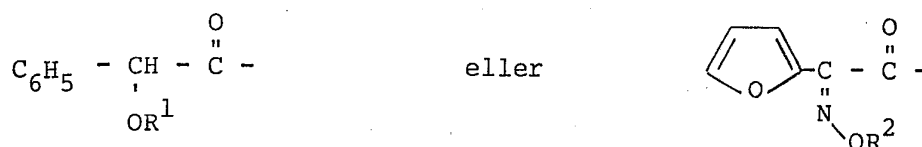
<u>BB-S510</u>	<u>BL-S786</u>
7,9	85,9

PATENTKRAV

1. Analogifremgangsnåde til fremstilling af cephalosporansyre-derivater med den almene formel:

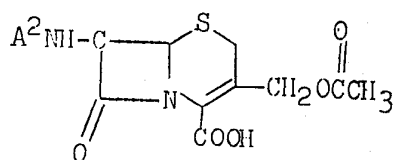


hvor A er

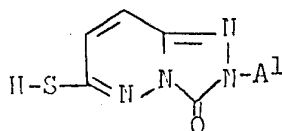


hvor R^1 er hydrogen eller formyl,

R^2 er alkyl med 1-4 carbonatomer, og
hvor A^1 er methyl eller $-(CH_2)_nCOOH$, og n er 1 eller 2,
eller en let hydrolyserbar ester eller et ikke-toxisk, farmaceutisk
acceptabelt salt deraf, k e n d e t e g n e t ved, at man omsætter
en forbindelse, som har den almene formel:



hvor A^2 er H eller har den for A ovenfor definerede betydning,
eller et salt eller let hydrolyserbar ester deraf med en forbindel-
se, som har den almene formel:



hvor A^1 har den ovenfor anførte betydning,
og, når A^2 er H, behandler den resulterende forbindelse med et
acyleringsmiddel, som har den almene formel:

A - X

hvor X er halogenid eller et funktionelt ækvivalent deraf, og A har den ovenfor anførte betydning, idet dog, når A -gruppen indeholder en fri hydroxylgruppe, denne gruppe på forhånd blokeres ved hjælp af en konventionel beskyttende gruppe, som bagefter fjernes til tilvejebringelse af en forbindelse med formel I, og om ønsket omdanner den resulterende forbindelse med formel I i form af fri syre, salt eller let hydrolyserbar ester til den tilsvarende ester eller ikke-toxiske, farmaceutisk acceptable salt deraf, og om ønsket omdanner en forbindelse med formel I i form af et resulterende salt eller let hydrolyserbar ester til den tilsvarende frie syre med formlen I.

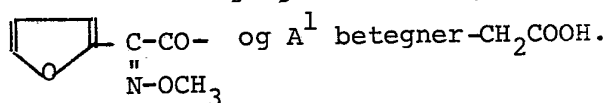
2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, $k e n d e t e g n e t$ ved, at man ud fra de passende udgangsforbindelser fremstiller en forbindelse med formlen 1, hvor A har D-konfiguration.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-(D-mandel-amido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo-[4,3-b]pyridazin-3-on-6-yl-thiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, $k e n d e t e g n e t$ ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvor A^2 betegner hydrogen eller $C_6H_5-CHOH-CO-$ og A^1 betegner $-CH_2COOH$.

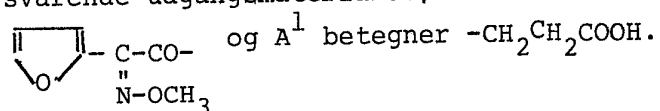
4. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-(D-O-formyl-mandelamido)-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, $k e n d e t e g n e t$ ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvor A^2 betegner hydrogen eller $C_6H_5-CH(OCHO)-CO-$ og A^1 betegner $-CH_2COOH$.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-[D(-)-mandelamido]-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo-[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylsyre, $k e n d e t e g n e t$ ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvor A^2 betegner hydrogen eller $C_6H_5-CHOH-CO-$ og A^1 betegner $-CH_2CH_2COOH$.

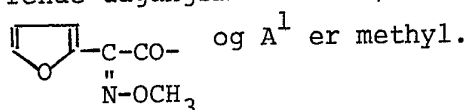
6. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-carboxymethyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre-dinatriumsalt, $k e n d e t e g n e t$ ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvor A^2 betegner hydrogen eller



7. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-[2-(2-carboxyethyl)-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]pyridazin-3-on-6-ylthio-methyl]-3-cephem-4-carboxylsyrenatriumsalt, k e n d e t e g n e t ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvori A^2 betegner hydrogen eller



8. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 7-[(2Z)-2-methoxyimino(fur-2-yl)acetamido]-3-(2-methyl-2,3-dihydro-s-triazolo[4,3-b]-pyridazin-3-on-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyrenatriumsalt, k e n d e t e g n e t ved, at man omsætter de tilsvarende udgangsmaterialer, hvori A^2 betegner hydrogen eller



Fremdragne publikationer:

Dansk patentansøgning nr. 2237/75.