

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 801517 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 801517

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC¹)
C07D501/36

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 09.05.1980

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 09.05.1980

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 12.11.1980

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

11.05.1979 GB 7916376

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Farnitalia Carlo Erba S.p.A., via Carlo Imbonati 24 20159 Milano, Italia, ITALIA, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Nannini, Giuliano, Italia, ITALIA, (IT)

2 • Perrone, Ettore, Italia, ITALIA, (IT)

3 • Casabuona, F., Italia, ITALIA, (IT)

4 • Grasso, Silvio, Italia, ITALIA, (IT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Munsterhielm Ky Kb, Päivärinnankatu 3 A 1, 00250 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Menetelmä oksi-imino-substituoitujen kefalosporiinien heterosyklyljohdannaisten valmistamiseksi.

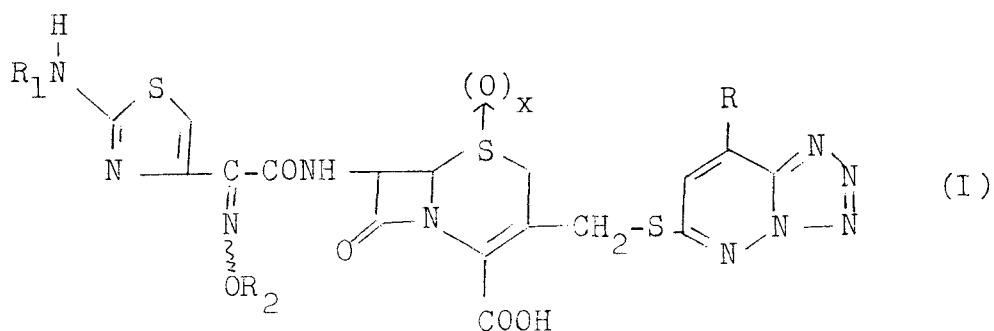
Förfarande för framställning av heterocyklylderivat av oxi-imino-substituerade kefalosporiner.

Farmitalia Carlo Erba S.p.A., via Carlo Imbonati 24, 20159 MILANO,
Italia

Menetelmä oksi-imino-substituoitujen kefalosporiinien heterosyklyyli-
johdannaisien valmistamiseksi - Förfarande för framställning av hetero-
cyklylderivat av oxi-imino-substituerade kefalosporiner

Tämä keksintö koskee menetelmää valmistaa oksi-imino-sub-
stituoitujen kefalosporiinien heterosyklyylijohdannaisia.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on seuraava yleinen kaava (I)



jossa R tarkoittaa ryhmää $-(CH_2)_n-COOR'$, jossa n on nolla, 1 tai 2 ja
R' tarkoittaa vetyatomia tai C_1-C_6 -alkyyli-ryhmää; tai R tarkoittaa ryh-

mää $-N \begin{matrix} R' \\ R'' \end{matrix}$ tai ryhmää $-CON \begin{matrix} R' \\ R'' \end{matrix}$, jossa kumpikin ryhmistä R' ja R'', jotka

voivat olla samanlaiset tai erilaiset, tarkoittaa vetyatomia tai C_1-C_6 -alkyyli-ryhmää; R_1 tarkoittaa vetyatomia tai amino-suojaryhmää; R_2 tarkoittaa vetyatomia, hydroksi-suojaryhmää tai haarautunutta tai suora-ketjuista, tyydytettyä tai tyydyttämätöntä alifaattista C_1-C_6 -hiili-vetyryhmää, joka voi olla substituimaton tai substituoitu substituentilla, joka on (a) hydroksi; (b) syano; (c) $-COOR'$, jossa R' tarkoittaa samaa kuin edellä, tai (d) $-\text{CON} \begin{smallmatrix} \nearrow R' \\ \searrow R'' \end{smallmatrix}$, jossa R' ja R'' tarkoittavat

samaa kuin edellä; ja x on nolla, 1 tai 2.

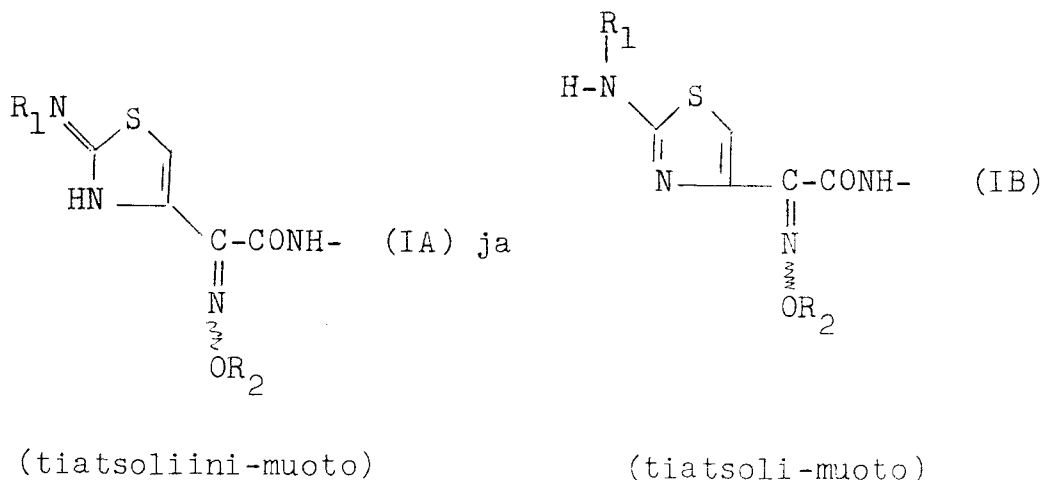
Tämän keksinnön piiriin kuuluvat myös kaavan (I) mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti ja eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat sekä myös mahdolliset isomeerit, esim. syn- ja anti-isomeerit, cis- ja trans-isomeerit ja optiset isomeerit ja näiden seokset, metabolit, joilla on antibakteerinen aktiviteetti, ja kaavan (I) mukaisten yhdisteiden metaboliset prekursorit.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden kaavassa aaltoviiva ($\sim$) tarkoittaa, että oksi-imino-ryhmä voi olla sekä syn- että anti-konfiguraatiossa.

Kuten jo edellä mainittiin kaavan (I) mukaisten yhdisteiden sekä syn- että anti-isomeerit ja näiden seokset kuuluvat tämän keksinnön piiriin.

Ketju, joka on sitoutunut hiiliatomiin 7-asemassa, on aina 7β -ketju.

Kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä 7β -ketju voi olla jommasakummassa tai molemmissa tautomeeririssa muodoissa



Tämän keksinnön piiriin kuuluvat sekä kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa γ -ketju on tiatsoliini-muodossa (IA), että ne kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa γ -ketju on tiatsoli-muodossa (IB), sekä myös näiden seokset.

Kun x on 1, muodostuvat yhdisteet ovat sulfoksideja ja ne voivat olla R- tai S-konfiguraatiossa. Kun x on 2, yhdisteet ovat sulfo-neja.

Kun R_1 on amino-suojaryhmä se on esimerkiksi jokin peptidikemiassa tavallisesti käytetty suojaryhmä, esim. formyyl, mahdollisesti halogeeni-substituoitu alifaattinen C_1 - C_6 -asyyli, mieluummin klooriasetyyli- tai diklooriasetyyli-, tert.-butoksikarbonyyli-, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli- tai trityyliryhmä.

Kun R_2 on hydroksi-suojaryhmä, se voi olla esimerkiksi formyyl-, asetyyli-, klooriasetyyli-, diklooriasetyyli-, trifluoriasetyyli-, tetra-hydropyranyyli-, trityyli- tai silyyliryhmä, erityisesti trimetyylisilyyli tai dimetyyli-tert.-butyylisilyyli.

Kun R_2 on alifaattinen C_1 - C_6 -hiilivetyryhmä, se on mieluummin C_1 - C_6 -alkyyli, erityisesti C_1 - C_3 -alkyyli tai C_2 - tai C_3 -alkenyli.

Edullisia keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerit, joissa:

R on $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-COOH$, $-CONH_2$ tai $-CH_2COOH$;

R_1 on vety;

R_2 on vety, metyyli, etyyli, $-CH_2COOH$, $\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ -C-COOH \\ | \\ CH_3 \end{array}$, $-CH_2CN$, $-CH_2CONH_2$ tai $-CH=CH-COOH$;

x on nolla, 1 tai 2;

ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat.

Erityisen edullisia keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerit, joissa:

R on $-NH_2$, $-COOH$ tai $-CH_2COOH$;

R_1 on vety;

R_2 on vety, metyyli tai etyyli;

x on nolla;

ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat.

Aivan erityisen edullisia keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerit, joissa

R on $-NH_2$ tai $-COOH$;

R_1 on vety;

R_2 on metyyli tai etyyli;

x on nolla;

ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti ja eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat käsittävät epäorgaanisten happojen, esim. kloorivety- ja rikkihapon kanssa saadut suolat, orgaanisten happojen, esim. sitruuna-, viini-, omena-, maleiini-, manteli-, fumaari- ja metaanisulfonihapon kanssa saadut suolat, epäorgaanisten emästen, esim. alkalimetallin, erityisesti natriumin ja kaliumin, maa-alkalimetallin, erityisesti kalsiumin ja alumiinin ja alkalimetallin tai maa-alkalimetallikarbonaattien kanssa saadut suolat (nämä alkali- ja maa-alkalimetallisuolat muodostuvat reaktiolla hydroksidien, karbonaattien tai bikarbonaattien kanssa ja aluminiumsuolet reaktiolla aluminiumhydroksidin kanssa) tai orgaanisten emästen, esim. orgaanisten amiinien, erityisesti lysiinin, trietyyliamiinin, prokaiinin, dibentsyyliamiinin, N-bentsyyli- β -fenetyyliamiinin, (N,N'-dibentsyyli)-etyleenidiamiinin, dehydroabietyyliamiinin, N-etyylipiperidiinin, dietanoliamiinin, N-metyyliglukamiinin, tris(hydroksimetyyliamino)metaamin ja vastaavien kanssa saadut suolat. Myös sisäiset suolat (t.s. amfoteriset ionit) kuuluvat keksinnön piiriin.

Erityisiä esimerkkejä keksinnön mukaisista yhdisteistä ovat seuraavat:

- (1) 3-[(8-amino-6-tetrasolo [1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (2) 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (3) 3-[(8-amino-6-tetrasolo [1,5-b]pyriatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-syanometoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (4) 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-aminokarbonyylimetoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (5) 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-karboksimetoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

- (6) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1(R)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (7) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (8) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(R)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (9) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (10) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1-sulfonyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (11) 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1-sulfonyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (12) 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (13) 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (14) 3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (15) 3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (16) 3-[(8-metyyliamino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- (17) 3-[(8-metyyliamino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);

- (18) 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-
-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-etoksi-iminoasetamido]-3-kefem-
-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (19) 3-[(2-karboksimetyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tio-
metyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-
-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);
- (20) 3-[(8-~~5~~-karboksietyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tio-
metyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-
-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävät suolat.

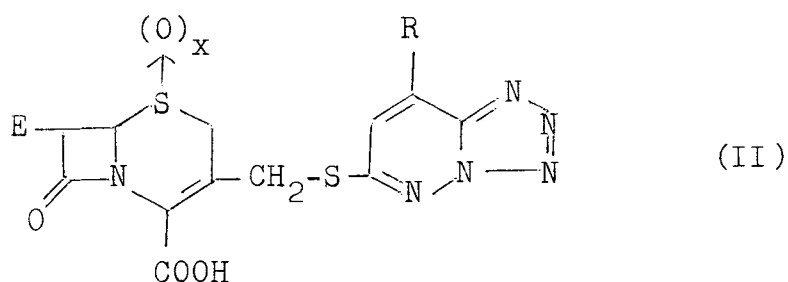
Edellä numeroitujen yhdisteiden rakennekaavat on esitetty seuraavassa taulukossa kaavan (I) termeinä.

TAULUKKO

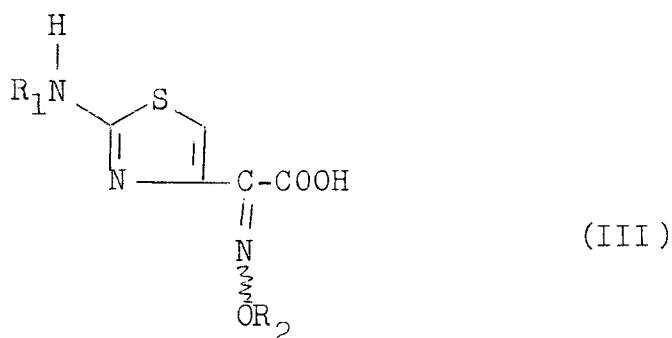
Yhdiste	R	R ₁	R ₂	x
1	-NH ₂	H	H	nolla
2	-NH ₂	H	-CH ₃	nolla
3	-NH ₂	H	-CH ₂ CN	nolla
4	-NH ₂	H	-CH ₂ CONH ₂	nolla
5	-NH ₂	H	-CH ₂ -COOH	nolla
6	-NH ₂	H	H	1(<u>R</u>)
7	-NH ₂	H	H	1(<u>S</u>)
8	-NH ₂	H	-CH ₃	1(<u>R</u>)
9	-NH ₂	H	-CH ₃	1(<u>S</u>)
10	-NH ₂	H	H	2
11	-NH ₂	H	-CH ₃	2
12	-COOH	H	H	nolla
13	-COOH	H	-CH ₃	nolla
14	-CONH ₂	H	H	nolla
15	-CONH ₂	H	-CH ₃	nolla
16	-NHCH ₃	H	H	nolla
17	-NHCH ₃	H	-CH ₃	nolla
18	-COOH	H	-C ₂ H ₅	nolla
19	-CH ₂ COOH	H	-CH ₃	nolla
20	-(CH ₂) ₂ COOH	H	-CH ₃	nolla

Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa menetelmällä, jossa:

(A) yhdiste, jonka kaava (II) on

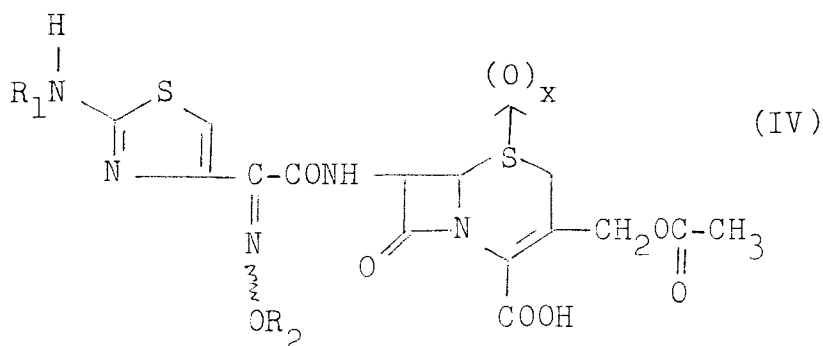


jossa x ja R tarkoittavat samaa kuin edellä ja E tarkoittaa aminoryhmää tai ryhmää, jonka kaava on $-N=C=Y$, jossa Y on happi tai rikki, tai sen reaktiivinen johdannainen saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jonka kaava (III) on

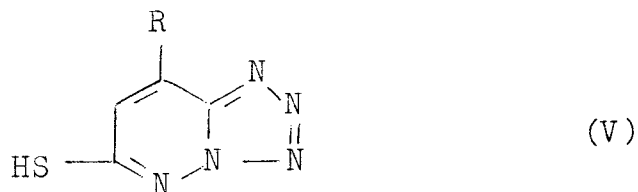


jossa R_1 ja R_2 tarkoittaa samaa kuin edellä, paitsi vetyä, tai tällaisen kaavan (III) mukaisen yhdisteen reaktiivisen johdannaisen kanssa ja haluttaessa poistetaan esiintyvät suojaryhmät; tai

(B) yhdiste, jonka kaava (IV) on

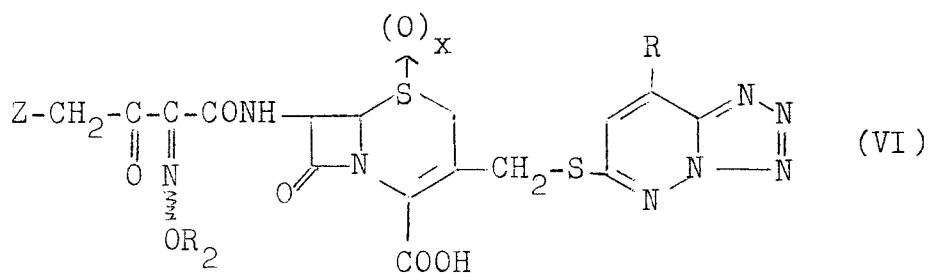


jossa R_1 , R_2 ja x tarkoittavat samaa kuin edellä, tai sen suola saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jonka kaava (V) on



jossa R tarkoittaa samaa kuin edellä, tai tällaisen kaavan (V) mukaisen yhdisteen reaktiivisen johdannaisen kanssa ja haluttaessa poistetaan esiintyvät suojaryhmät; tai

(C) yhdiste, jonka kaava (VI) on



jossa R, R_2 ja x tarkoittavat samaa kuin edellä ja Z tarkoittaa halogeeniatomia, tai sen suola tai esteri saatetaan reagoimaan tioureaan kanssa, kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R_1 on vety ja haluttaessa poistetaan suojaryhmä, joka mahdollisesti esiintyy R_2 :ssa; ja/tai haluttaessa kaavan (I) mukainen yhdiste muutetaan sen suolaksi tai saadaan vapaa yhdiste suolasta, ja/tai haluttaessa erotetaan isomeerien seos yksittäisiin isomeereihin, ja/tai haluttaessa muutetaan kaavan (I) mukainen yhdiste toiseksi kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi.

Kaavojen (II), (IV) ja (VI) mukaisissa yhdisteissä vapaat karboksiryhmät voidaan suojata tarvittaessa tavanomaiseen tapaan ennen reaktiota. Esimerkkejä suojaryhmistä ovat tavallisesti peptidisynteesissä käytetyt suojaryhmät, esim. tert.-butyyli, bentshydryyli, p-metoksibentsyyli, p-nitrobentsyyli, trityyli ja trialkyyilisilyyli. Suojaryhmät voidaan sitten poistaa reaktion lopussa tunnetulla tavalla, esim. lievästi happamalla hydrolyysillä tai katalyyttisesti hydraamalla, esim. Pd/C:llä ympäröivässä paineessa. Koska kuitenkin kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka sisältävät mainittuja suojaryhmiä, kuuluvat tämän keksinnön piiriin, suojaryhmien poistaminen ei ole välttämätön vaihe.

Lähtöaineet, joita käytetään kussakin edellä mainitussa

menetelmässä A) - C), voivat olla joko optisesti aktiivisia tai raseemisia yhdisteitä, kun yksi tai useampi asymmetrinen hiiliatomi on läsnä. Edelleen lähtöaineet voivat olla syn- tai anti-isomeereja ja näiden seoksia, sekä myös cis- tai trans-isomeereja ja näiden seoksia.

Kaavan (II) mukaisen yhdisteen reaktiivinen johdannainen voi olla esimerkiksi amiinisuola, silyyliesteri tai metallisuola. Kaavan (III) mukaisen yhdisteen reaktiivinen johdannainen on esimerkiksi asyylihalogenidi, anhydridi, seka-anhydridi, atsidi, reaktiivinen esteri tai suola, esim. alkalimetallien tai maa-alkalimetallien, ammoniakkin tai orgaanisen emäksen kanssa muodostunut suola. Reaktiivinen esteri voi olla esim. p-nitrofenyyliesteri, 2,4-dinitrofenyyliesteri, pentakloorifenyyliesteri, N-hydroksisukkinimidiesteri tai N-hydroksiftaali-imidiesteri.

Kaavan (VI) mukaisessa yhdisteessä Z on mieluummin kloori tai bromi.

Kaavan (VI) mukaisen yhdisteen suola on esimerkiksi yhdisteen -COOH-ryhmän alkalimetalli- tai maa-alkalimetallisuola. Myös vapaat karboksi-, karboksimetyyli- tai karboksietyyliryhmät, jotka mahdollisesti esiintyvät substituenttina R, voivat vastaavalla tavalla muodostaa suolan.

Kaavan (II) mukaisen yhdisteen tai sen reaktiivisen johdannaisen reaktio kaavan (III) mukaisen yhdisteen tai tämän reaktiivisen johdannaisen välillä voidaan suorittaa joko huoneen lämpötilassa tai jäädyttämällä, mieluummin noin -50°C - $+40^{\circ}\text{C}$:ssa, sopivassa liuottimessa, esim. asetonissa, dioksaanissa, tetrahydrofuraanissa, asetonitriilissä, kloroformissa, metyleenikloridissa, N,N-dimetyyliformamidissa, 1,2-dikloorietaanissa tai veden ja veteen sekoittuvan liuottimen seoksessa, tarvittaessa emäksen, esimerkiksi natriumbikarbonaatin, kaliumbikarbonaatin tai trialkyyliamiinin, läsnäollessa tai jonkin muun happo-akseptorin, kuten alkyleenioksidin, esim. propyleenioksidin, läsnäollessa.

Kun kaavan (III) mukainen yhdiste reagoi, vapaana happona tai suolana, kaavan (II) mukaisen yhdisteen kanssa, jossa E on amino, suoritetaan reaktio mieluummin kondensointiaineen, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodiimidin, läsnäollessa.

Suojaryhmien mahdollinen poistaminen reaktion lopussa voidaan suorittaa tunnetulla tavalla. Esimerkiksi tert.-butoksikarbonyyli-ryhmä voidaan poistaa käsittelemällä hapon (esim. HCl:n tai $\text{H}_2\text{SO}_4\text{:n}$) vesipitoisella liuoksella, ja monoklooriasetyyliryhmä voidaan poistaa

käsittelemällä tiourealla. Formyyli- ja trifluoriasetyyliryhmät voidaan poistaa käsittelemällä kaliumbikarbonaatilla vesipitoisessa metanolissa; tetrahydropyranyyliryhmä voidaan poistaa käsittelemällä laimealla kloorivetyhapolla; ja trityyliryhmä käsittelemällä muurahais- tai trifluorietikkahapolla.

Kaavan (IV) mukaisen yhdisteen reaktio kaavan (V) mukaisen, heterosyklisen tiolin kanssa voidaan suorittaa vedessä tai veden ja orgaanisen liuottimen, esim. asetonin, etanolin, dioksaanin tai tetrahydrofuraanin seoksessa, noin 2 ekvivalentin emästä, esim. natriumbikarbonaattia, läsnäollessa. Reaktiolämpötila on mieluummin noin 5°C - 90°C ja pH pidetään mieluummin noin 5 - 7,5:ssä. Haluttaessa voidaan käyttää puskuria, esim. natriumfosfaattia tai -asetaattia. Sama reaktio voidaan suorittaa toisella tavalla ilman emästä ja täysin vedettömässä liuottimessa, lämpötila-alueella noin 50°C - 120°C , reaktioajat vaihtelevat muutamasta tunnista muutamaan päivään. Paras liuotin on asetonitriili ja inerttiatmosfääri (esim. typpi-atmosfääri) voi olla edullinen kaavan (V) mukaisen, heterosyklisen tiolin hapettumisen estämiseksi. Suojaryhmien myöhemmin tapahtuva mahdollinen poistaminen voidaan suorittaa tunnetuilla menetelmillä, esim. edellä esitetyillä.

Kaavan (VI) mukaisen yhdisteen tai sen suolan tai esterin reaktio tioureaan kanssa suoritetaan mieluummin aproottisessa liuottimessa, esim. N,N-dimetyyli-formamidissa, N,N-dimetyyliasetamidissa, dimetyylisulfoksidissa, asetonitriilissä, heksametyylifosforitriamidissa tai näiden liuottimien seoksessa. Reaktiolämpötila on mieluummin noin 0° - 90°C . Mahdollisesti R_2 :ssa esiintyvän suojaryhmän myöhemmin tapahtuva mahdollinen poistaminen voidaan suorittaa kuten edellä esitettiin.

Sekä kaavan (I) mukaisen yhdisteen mahdollinen muuttaminen sen suolaksi että vapaan yhdisteen valmistaminen suolasta tai esteristä sekä myös isomeerien seoksen mahdollinen erottaminen yksittäisiin isomeereihin ja kaavan (I) mukaisen yhdisteen mahdollinen muuttaminen toiseksi kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi voidaan suorittaa tunnetuilla menetelmillä. Täten, esimerkiksi kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa x on 1 ja joissa sulfoksidi on S-konfiguraatiossa, voidaan edullisesti saada vastaavista kaavan (I) mukaisista yhdisteistä, joissa x on nolla, käsittelemällä hapetusaineella, erityisesti perhapolla, esim. perbentsoehapolla, permaleiinihapolla, natriumperjodaatilla, vetyperoksidilla tai näiden seoksella, epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla, esim. muurahaishapolla, etikkahapolla tai trifluorietikkahapolla. Reaktio voidaan suorittaa liuottimessa, esim. dioksaanissa, tetrahydro-

furaanissa, kloroformissa, metyleenikloridissa, muurahaishapossa, etikkahapossa, bentseenissä, N,N-dimetyyliformamidissa, N,N-dimetyyliasetamidissa tai vastaavassa. Reaktiolämpötila on mieluummin noin -30°C - $+90^{\circ}\text{C}$.

Jotta saataisiin sulfoksidi, jolla on R-konfiguraatio, suoritetaan sama hapetusreaktio välituotteille, mieluummin kaavan (II) mukaisille yhdisteille, joissa E on amino, sen jälkeen kun tämä aminoryhmä on suojattu muodostamalla Schiff'in emäs. Schiff'in emäs voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä, esim. käsittelemällä kaavan (II) mukaista amiinia aldehydillä, kuten bentsaldehydillä salisyylialdehydillä tai p-nitrobentsaldehydillä; hapetusreaktion lopussa vapaa aminoryhmä voidaan saada esimerkiksi käsittelemällä hydratsiinijohdannaisella, esim. fenyylihydratsiinilla, 2,4-dinitrofenyylihydratsiinilla tai Girard-reagensilla. Karboksyyliryhmä suojataan mieluummin hapetusreaktion ajaksi käyttämällä esim. edellä mainittuja suojaryhmiä.

Sulfidin muuttaminen sulfoksidiksi, t.s. kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa x on nolla, muuttaminen vastaavaksi yhdisteeksi, jossa x on 1, voidaan suorittaa käyttämällä 1-1,2 molaarista ekvivalenttia hapetusainetta jokaista hapetettavan yhdisteen moolia kohti.

Sulfidin muuttaminen sulfoniksi, t.s. kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa x on nolla, muuttaminen vastaavaksi kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa x on 2, voidaan suorittaa samoilla hapetusaineilla, joita käytetään sulfoksidien saamiseksi, käyttäen tässä tapauksessa ainakin kahta molaarista ekvivalenttia hapetusainetta jokaisesta hapetettavan yhdisteen moolia kohti.

Kaavan (II) mukainen yhdiste, jossa E on amino ja x on nolla, voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla 7-amino-kefalosporaanihappo tai sen suola reagoimaan kaavan (V) mukaisen yhdisteen kanssa, käyttäen reaktio-olosuhteita, jotka ovat tunnettuja kirjallisuudesta.

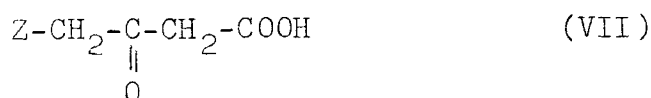
Kaavan (II) mukainen yhdiste, jossa E on $-\text{N}=\text{C}=\text{Y}$, ja x on nolla, voidaan valmistaa saattamalla kaavan (II) mukainen yhdiste, jossa E on amino ja x on nolla, reagoimaan fosgeenin tai tiofosgeenin kanssa, kloorivetyhappo-akseptorin läsnäollessa, käyttäen tunnettuja menetelmiä.

Kaavan (III) mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja yhdisteitä tai niitä voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä.

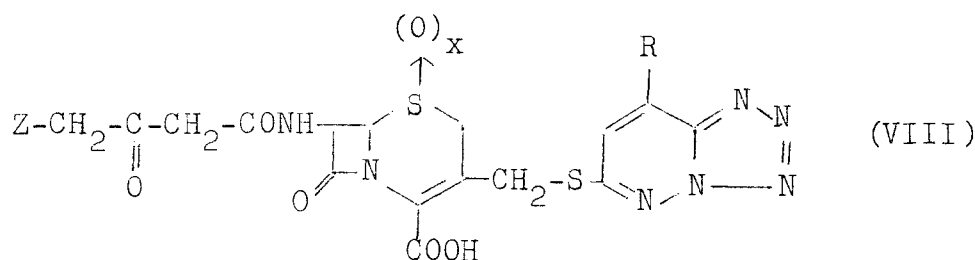
Kaavan (IV) mukaiset yhdisteet, joissa x on nolla, voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla 7-amino-kefalosporaanihappo tai sen suola reagoimaan kaavan (III) mukaisen yhdisteen tai sen reaktiivisen

johdannaisen kanssa, käyttäen reaktio-olosuhteita, jotka ovat vastaavat kuin edellä kuvatussa kaavan (II) mukaisen yhdisteen ja kaavan (III) mukaisen yhdisteen välisessä reaktiossa.

Kaavan (VI) mukaiset yhdisteet, joiss x on nolla, voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla kaavan (II) mukainen yhdiste, jossa E on amino ja x on nolla, reagoimaan yhdisteen kanssa, jonka kaava (VII) on



jossa Z tarkoittaa samaa kuin edellä, tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, joka esim. on jokin edellä kaavan (III) mukaiselle yhdisteelle esitetty reaktiivinen johdannainen, käyttäen reaktio-olosuhteita, jotka ovat vastaavat kuin edellä esitettiin kaavan (II) mukaisen yhdisteen ja kaavan (III) mukaisen yhdisteen väliselle reaktiolle. Tällöin saadaan yhdiste, jonka kaava (VIII) on



jossa Z ja R tarkoittavat samaa kuin edellä ja x on nolla, tämä yhdiste voidaan muuttaa kaavan (VI) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa R₂ on vety, nitraamalla, esim. käyttäen nitrausaineena nitrosyylidikloridia tai orgaanista tai epäorgaanista nitriittiä, esim. amyylinitriittiä, natriumnitriittiä tai kaliumnitriittiä, hapon, esim. kloorivetyhapon tai etikkahapon läsnäollessa. Nitrausreaktio voidaan suorittaa huoneen lämpötilassa tai jäähdyttäen, mieluummin lämpötila-alueella noin -20° - 40°C, sopivassa liuottimessa, esim. dioksaanissa, asetonitrilissä, tetrahydrofuraanissa, etikkahapossa tai seoksessa, jossa on jostain näistä liuottimista ja vettä. Ennen nitrausta, karboksyyli-ryhmät, joita voi olla läsnä, tarvittaessa muutetaan suolan muotoon, esim. käsittelemällä alkalimetallihydroksidilla, tai ne suojataan, esim. edellä mainituilla suojaryhmillä; suojaryhmät voidaan sitten poistaa tunnetuilla menetelmillä reaktion lopussa.

Kaavan (VI) mukaiset yhdisteet, joissa R_2 on muu kuin vety, voidaan saada lähtemällä vastaavista yhdisteistä, joissa R_2 on vety, tavallisella eetteröinti- tai esteröintireaktiolla.

Kaavojen (II), (IV) ja (VI) mukaiset yhdisteet, joissa x on 1 tai 2, voidaan saada hapettamalla vastaavat yhdisteet, joissa x on nolla, kuten edellä esitettiin vastaaville, kaavan (I) mukaisten yhdisteiden muuttamisille.

Kun kaavojen (III), (IV) ja (VI) mukaiset lähtöaineet ovat syn-isomeereja, reaktiotuotteet ovat myös syn-isomeereja ja päinvastoin. Joissakin tapauksissa voidaan saada pieni määrä anti-isomeeria yhdessä syn-isomeerin kanssa. Isomeerien erottaminen voidaan suorittaa tunnetuilla menetelmillä, esim. fraktioivasti kiteyttämällä tai kromatografisesti.

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on korkea antibakteerinen aktiviteetti joko eläimissä tai ihmisissä ei ainoastaan gram-positiivisia ja gram-negatiivisia bakteereita vastaan, jotka tavallisesti ovat herkkiä kefalosporiineille, kuten stafylokokki, streptokokki, diplokokki, Klebsiella, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Salmonella, Shigella, Haemophilus ja Neisseria, vaan niillä on myös korkea antibakteerinen aktiviteetti vahvoja beta-laktamaasia tuottavia gram-negatiivisia mikro-organismeja vastaan, jollaisia ovat esim. Klebsiella aerogenes 1082 E, Escherichia coli Tem, Enterobacter cloacae P 99, indoli-positiivinen Proteus ja vastaavat, sekä myös Pseudomonas aeruginosa-kantoja vastaan, jotka ovat tavallisesti resistenttejä useimmille kefalosporiineille. Nämä yhdisteet ovat tämän vuoksi erityisen sopivia hoidettaessa tulehduksia, joita aiheuttavat gram-negatiiviset bakteerit, esim. virtsatietulehduksia ja hengitystietulehduksia.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden aktiviteetti, sekä bakteereita vastaan, jotka tavallisesti ovat herkkiä kefalosporiineille että beta-laktamaasi-tuottajia vastaan, on korkeampi kuin kefatsoliinin ja kefuroksiimin aktiviteetti.

Esimerkiksi yhdiste 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridat-sinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoaset-amido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri) (merkitty FCE 20127:nä) on noin 2^4 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini streptokokkia vastaan ja noin 30 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini ja kefuroksiimi useimpia gram-negatiivisia bakteereita vastaan. Lisäksi yhdiste FCE 20127 on noin 20-60 kertaa aktiivisempi kuin kefuroksiimi eräitä beta-laktamaasi-tuottajia vastaan, kuten kantoja Klebsiella

aerogenes 1082 E, Enterobacter cloacae P 99, Escherichia coli Tem.

Yhdiste FCE 20127 testattiin myös sarjalla, jossa oli 10 Pseudomonas aeruginosa-kantaa, 4 Proteus vulgaris-kantaa ja 4 Proteus morganii-kantaa, sen havaittiin olevan monin kerroin aktiivisempi kuin kefatsoliini ja kefuroksiimi.

Yhdiste 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri) (merkitty FCE 20485:nä) on noin 5 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini streptokokkia vastaan ja noin 32 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini ja 40 kertaa aktiivisempi kuin kefuroksiimi useimpia gram-negatiivisia bakteereita vastaan. Kantoja Enterobacter aerogenes ATCC 8308, Enterobacter cloacae 1321 E, Salmonella typhi Watson ja Shigella sonnei ATCC 11060 vastaan yhdiste FCE 20485 on 15-50 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini ja 50-100 kertaa aktiivisempi kuin kefuroksiimi.

Lisäksi yhdiste FCE 20485 on ainakin 100 -500 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini ja kefuroksiimi Proteus vulgaris X 20:tä ja Proteus mirabilis ATCC 9921:tä vastaan. Yhdiste FCE 20485 osoitti myös merkittävää aktiviteettia in vitro kantoja Pseudomonas aeruginosa G ja Bacteroides fragilis VPI 9032 vastaan.

Yhdisteen FCE 20485 toinen tärkeä ominaisuus on hyvin pitkä plasman puoliintumisaika hiiressä (noin 90 minuuttia) ja rotassa (noin 100 minuuttia) suonensisäisen injektion jälkeen, kun taas kefatsoliinin plasman puoliintumisaika on vastaavasti 16 ja 20 minuuttia. Tästä johtuen yhdisteellä FCE 20485 on korkea aktiviteetti in vivo kokeissa; esim. hiirissä, jotka on infektoitu kannoilla Escherichia coli G, Klebsiella pneumoniae ATCC 10031, Proteus mirabilis ATCC 9921, Escherichia coli Tem, Haemophilus influenzae, Salmonella typhi Watson ja Proteus vulgaris X 20, yhdiste oli 20 - 200 kertaa aktiivisempi kuin kefatsoliini.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden myrkyllisyys on melko vähäinen ja sen tähden niitä voidaan turvallisesti käyttää hoidossa. Esimerkiksi yhdisteiden FCE 10127 ja FCE 20485 likimääräinen akuutti myrkyllisyys (LD_{50}) hiiressä määritettiin yksinkertaisilla suonensisäisillä annostuksilla lisääntyvin annoksin, käsittelyn seitsemäntenä päivänä mitattu LD_{50} -arvo oli suurempi kuin 2000 mg/kg. Vastaavat aktiviteetti- ja myrkyllisyysarvot on saatu muille keksinnön mukaisille yhdisteille.

Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat tämän vuoksi hyödyllisiä

hoidettaessa tulehduksia, jotka ovat joko gram-positiivisten tai gram-negatiivisten mikro-organismien aiheuttamia, kuten hengitystietulehduksia, esim. keuhkoputkentulehdusta, katarrikuhkokuumetta, keuhkopussintulehdusta; sappiperäisiä tai vatsatulehduksia, esim. sappirakontulehdusta, vatsakalvontulehdusta; veri- ja sydänverisuonitulehduksia, esim. verenmyrkytystä; virtsatietulehduksia, esim. munuaistulehdusta, rakkotulehdusta; synnytyselinten ja gynekologisia tulehduksia, esim. kohdunkaulantulehdusta, kohdun limakalvontulehdusta; korva-, nenä- ja kurkkutulehduksia, esim. korvatulehdusta, sivuontelon tulehdusta, korvasylkirauhastulehdusta. Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan annostaa sekä ihmisille että eläimille erilaisissa annosmuodoissa, esim. oraalisesti tabletteina, kapseleina, tippoina tai siirappeina, rektaalisesti suppositoreina, parenteraalisesti, esim. suonensisäisesti tai lihaksensisäisesti (liuoksina tai suspensioina), hätätapauksessa mieluummin suonensisäisesti; inhaloimalla aerosoleina tai liuoksina sumuttamista, intravaginaalisesti esim. puikkoina, tai topikaalisesti lotioneinea, voiteina tai salvoina.

Keksintöön kuuluu farmaseuttinen tai eläinlääketieteellinen koostumus, joka sisältää keksinnön mukaista yhdistettä yhdistettynä farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävään täyteaineeseen. Tällaisia koostumuksia voidaan valmistaa tavanomaiseen tapaan käyttämällä tavallisia täyteaineita, tavallisia kantaja- ja/tai laimennusaineta, joita käytetään muihin kefalosporiineihin. Tavallisia kantaja- tai laimennusaineita ovat esim. vesi, liivate, laktoosi, tärkkelykset, magnesiumstearaatti, talkki, kasviöljyt, selluloosa, ja vastaavat. Päivittäisiä annoksia, jotka ovat noin 1-100 mg/kg kehon painoa, voidaan käyttää useilla eläinlajeilla, tarkka annos riippuu hoidettavan iästä, painosta ja kunnosta sekä lääkkeenantoaajuudesta ja tavasta. Keksinnön mukaisia yhdisteitä annostetaan mieluummin parenteraalisesti; tässä tapauksessa yhdisteitä voidaan antaa täysikasvuisille ihmisille noin 100-200 mg/annos, mieluummin noin 150 mg/annos, 1-4 kertaa päivässä, liuotettuna sopivaan liuottimeen, esim. steriiliin veteen tai lidokaiini-kloorivety-liuokseen lihaksensisäisesti injektoitaessa, ja steriiliin veteen, fysiologisiin suolaliuoksiin, dekstroosiliuokseen tai tavallisiin suonensisäisiin nesteisiin tai elektrolyytteihin suonensisäisesti injektoitaessa.

Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan lisäksi käyttää ennakolta suojaavina antibakteerisina aineina, esim. siivouksessa tai pintoja desinfektoivina koostumuksina, esim. konsentraatiossa noin

0,2 - 1 p-% sellaisista yhdisteistä, joihin se on sekoitettu, suspendoituna tai liuotettuna tavallisiin inertteihin kuiviin tai vesipitoisiin kantajiin käytetäväksi pestäessä tai suihkutettaessa. Yhdisteet ovat myös hyödyllisiä ravintolisäaineina eläinten ravinnossa.

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä. Joissakin tapauksissa sulamispisteiden määrittäminen oli vaikeaa, koska yhdisteet pyrkivät pidättämään liuotinta.

IR-spektrit määritettiin kiinteässä faasissa (KBr) tai Nujol[®]:ssa Perkin-Elmer 125 spektrofotometrillä, UV-spektrit puolestaan kehitettiin fosfaattipuskuri-liuoksessa pH-arvossa 7,4 tai 1 %:ssa NaHCO₃:ssa Bausch-Lomb-laitteella.

Lopputuotteiden NMR-spektrit määritettiin laitteella Bruker HX-90 (90 MHz) ja välituotteiden NMR-spektrit määritettiin laitteella Perkin-Elmer R-24B (60 MHz) DMSO:ssa (dimetyylisulfoksidi) tai CDCl₃:ssa sisäisenä standardina (CH₃)₄Si.

Esimerkki 1

3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylimahappo (syn-isomeeri)

Hämmennetty liuos, jossa oli vedetöntä metyleenikloridia (70 ml), 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahappoa (syn-isomeeri) (4,43 g; 0,01 moolia) ja trietyyliamiinia (1,41 ml; 0,01 moolia), jäähdytettiin 0°C:seen ja siihen lisättiin annoksittain fosforipentakloridia (2,08 g; 0,01 moolia). Seosta hämmennettiin 10 minuuttia 0°C:ssä ja 1 tunti huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen se haihdutettiin alennetussa paineessa, liuotettiin asetoni/bentseeniin, haihdutettiin uudelleen fosforioksikloridijäännösten poistamiseksi ja liuotettiin 50 ml:aan vedetöntä asetonia. Sen jälkeen trietyyliamiinihydrokloridi poistettiin suodattamalla. Näin saatu 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetyylikloridin asetoniliuos lisättiin tipoitain voimakkaasti hämmennettyyn, jäällä jäähdytettyyn liuokseen, jossa oli 7-amino-3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylimahappoa (3,8 g; 0,01 moolia), NaHCO₃:a (0,84 g) ja trietyyliamiinia (2,82 ml) veden ja asetonin (75 ml:50 ml) seoksessa. Lietettä hämmennettiin ½ tuntia 0-5°C:ssä ja sen jälkeen 1½ tuntia huoneen lämpötilassa, seos liuotettiin etyyliasetaattiin (500 ml), pestiin laimealla kloorivetyhapolla (50 ml), sen jälkeen vesipitoisella natriumkloridilla (100 ml), kuivattiin natriumsulfaatilla ja haihdutettiin kuiviin. Jäännöstä hämmennettiin metyleeniklo-

ridissa (5 ml); sen jälkeen lisättiin etyyliasetaattia (50 ml) ja dietyylieetteriä (50 ml). Muodostunut saostuma kerättiin, liuotettiin lämpimään metyleenikloridiin (30 ml), jäähdytettiin ja käsiteltiin, samalla hämmentäen, dietyylieetterillä (100 ml). 20 minuutin hämmentämisen jälkeen, valkea, kiinteä aine suodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin, jolloin saatiin 4,3 g 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]-pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) valkeana jauheena.

Edellä mainittu yhdiste (2,0 g) lisättiin annoksittain hämmentettyyn, kuumaan (55°C) muurahaishappoon (13 ml) liuokseen vedessä (13 ml). Hämmentämistä ja kuumentamista, samassa lämpötilassa, jatkettiin 25 minuuttia ja sen jälkeen kiinteä aine suodatettiin jäähtyneestä seoksesta. Kiinteä aine hierottiin 99 %:seen muurahaishappoon (10 ml), sen jälkeen lisättiin vettä (2 ml) ja puhdas trifenyylimetanoli suodatettiin pois.

Happamet emäliuokset yhdistettiin ja haihdutettiin, jäljelle jäi jäännös. Kun vesi ja muurahaishappo oli täydellisesti poistettu jäännös hierottiin vedettömän etanolin kanssa jolloin saatiin kiintää ainetta (1,225 g). Raakatuote suspendoitiin veteen (70 ml) ja lisättiin niin paljon NaHCO_3 :a, että saatiin liuos. Liuoksen pH säädettiin arvoon 2,0 lisäämällä 2N HCl:ää ja 20 minuutin kuluttua kerättiin sakka, joka pestiin perusteellisesti vedellä ja jota kuivattiin 18 tuntia 75°C:ssa. Näin saatiin 1,13 g otsikossa mainittua yhdistettä, joka hajoaa sulamatta yli 225°C:ssa.

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 37,90; H 3,14; N 26,78; S 16,83

laskettu yhdisteelle $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_{11}\text{O}_5\text{S}_3$: C 38,35; H 3,04; N 27,33; S 17,07

IR (KBr) : 3320-3180 NH

[cm^{-1}]	1760	> C=O	(β -laktaami)
	1520	-CONH-	(sek.amidi)
	1030	=N-O-CH ₃	

NMR, 100 MHz (DMSO-d₆) :

[δ , p.p.m.]	3,74	(2H, d.d., 2-CH ₂)	$J \approx 17 \text{ Hz}$
	3,88	(3H, s., -OCH ₃)	
	4,36	(2H, d.d., 3-CH ₂ S)	$J \approx 13 \text{ Hz}$
	5,20	(1H, d., 6-H)	$J \approx 5 \text{ Hz}$

5,83 (1H, d.d., 7-H) $J \approx 5 \text{ H}_Z + 8 \text{ H}_Z$
 6,41 (1H, s., 7-H pyridatsiinirenkaassa)
 6,82 (1H, s., 5-H tiatsolirenkaassa)
 6,80-7,80 (2H, leveä s., -NH₂ tiatsolirenkaassa)
 8,02 (2H, leveä s., -NH₂ pyridatsiinirenkaassa)
 9,69 (1H, d., -CONH-) $J \approx 8 \text{ H}_Z$

Esimerkki 2

3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-
 -tiometyyli]-7-[2-(2-amino-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-
 -kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) valmistettiin saattamalla
 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahappo reagoi-
 maan 7-amino-3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-
 -tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihapon kanssa käyttäen menetelmää,
 joka on esitetty esimerkissä 1, sul.p. 220°C (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 38,71; H 2,96; N 25,81; S 16,01;

laskettu yhdisteelle C₁₉H₁₇N₁₁O₆S₃: C 38,57; H 2,89; N 26,04; S 16,26

TLC (CHCl₃:MeOH:HCOOH:H₂O = 140:75:20:20)

R_f = 0,42

IR (KBr) >C=O β-laktaami

Lähtöaineena käytettyä 7-amino-3-[(8-aminokarbonyyli-6-tet-
 ratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappoa
 valmistettiin seuraavalla tavalla:

6-kloori-8-aminokarbonyyli-tetratsolo [1,5-b]pyridatsiini

Jääkylmään liuokseen, jossa oli 3-hydratsino-4-aminokarbonyy-
 li-6-kloori-pyridatsiinia (4,2 g; 0,0244 moolia) [valmistettu tavalla,
 joka on esitetty julkaisussa J. Het. Chemistry, 2, 465 (1970)] 15%:ssa
 etikkahapossa, lisättiin tiipoittain liuos, jossa oli natriumnitriittiä
 (1,55 g) vedessä (10 ml). Hämmennettiin tunnin ajan 5-10°C:ssa, jonka
 jälkeen erottunut sakka suodatettiin, kiteytettiin vedestä ja suoda-
 tettiin uudelleen ja kuivattiin tyhjiössä 50°C:ssa, jolloin saatiin
 3,44 g (77,5 %) otsikossa mainittua yhdistettä, sul.p. 226°C (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 30,11; H 1,44; N 42,00; Cl 17,69

laskettu yhdisteelle C₅H₃ClN₆O : C 30,24; H 1,52; N 42,32; Cl 17,85

6-merkaptto-8-aminokarbonyyli-tetratsolo [1,5-b]pyridatsiini

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli NaSH.H₂O:ta (10 g, 0,135
 moolia) 150 ml:ssa vettä, lisättiin 6-kloori-8-aminokarbonyyli-tetrat-

solo [1,5-b]pyridatsiinia (10 g; 0,05 moolia) ja seosta hämmennettiin voimakkaasti 90 minuuttia. Reaktioseos jäähdytettiin 0°C:seen, jonka jälkeen se hapotettiin 23 %:sella HCl:llä. Seosta jäähdytettiin tunnin ajan 0°C:ssa, jonka jälkeen kiinteä aine kerättiin ja pestiin pienellä määrällä kylmää vettä, jolloin saatiin kvantitatiivinen saanto otsikossa mainittua yhdistettä, sul.p. 185-187°C (haj.).

IR (Nujol): -SH 2480 cm⁻¹

>C=O 1675 cm⁻¹

TLC : CHCl₃:CH₃OH:HCOOH = 160:70:30 puhdas tuote

UV (fosfaattipuskuri pH 7,4): $\lambda_{\text{maks}} = 262$ $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 818$

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 30,65; H 2,00; N 42,53; S 16,16

laskettu yhdisteelle C₅H₄N₆OS: C 30,60; H 2,05; N 42,84; S 16,34

7-amino-3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappo

Kuumaan liuokseen (50-55°C), jossa oli 6-merkpto-8-aminokarbonyyli-tetratsolo [1,5-b]pyridatsiinia (2 g; 0,010 moolia) ja 2,8 g natriumbikarbonaattia 90 ml:ssa fosfaattipuskuria (pH 6,4), lisättiin annoksittain 7-ACA:ta (4,6 g; 0,017 moolia) ja seosta kuumennettiin 60°C:ssa 4 tuntia. Seos jäähdytettiin 10°C:seen, jonka jälkeen saostunut 7-amino-3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappo kerättiin talteen suodattamalla. Kiinteä aine suspendoitiin 150 ml:aan Me₂CO:H₂O:ta (1:2), hämmennettiin 30 minuuttia ja suodatettiin uudestaan. Kerätty sakka pestiin Me₂CO:lla ja kuivattiin tyhjiössä 60°C:ssa, jolloin saatiin otsikossa mainittua yhdistettä (80 %), sul.p. 228-230°C (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 37,93; H 2,93; N 27,13; S 15,45

laskettu yhdisteelle C₁₃H₁₂N₈O₄S₂: C 38,22; H 2,96; N 27,43; S 15,70

IR (Nujol) >C=O /3-laktaami 1780 cm⁻¹

UV (1% NaHCO₃) $\lambda_{\text{maks}} = 249$; $\lambda_{\text{maks}} = 332$.

Esimerkki 3

Käyttäen samaa menetelmää saatiin seuraavat yhdisteet:

3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(R)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3- [(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3- [(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1-sulfonyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3- [(8-metyyliamino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri).

Esimerkki 4

3- [(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Hämmennetty liuos, jossa oli vedetöntä metyleenikloridia (200 ml), 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahappoa (syn-isomeeri) (11,35 g; 0,0256 moolia) ja trietyyliamiinia (3,61 ml; 0,0256 moolia), jäädytettiin 0°C:seen ja siihen lisättiin annokssittain fosforipentakloridia (5,6 g; 0,027 moolia). Seosta hämmennettiin 15 minuuttia 0°C:ssa ja tunti huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen seos haihdutettiin alennetussa paineessa, liuotettiin vedettömään bentseeniin ja haihdutettiin uudestaan fosforioksikloridijäännösten poistamiseksi. Tämä käsittely toistettiin kaksi kertaa (2x50 ml). Jäännös suspendoitiin 50 ml:aan vedetöntä asetonia, sen jälkeen trietyyliamiinihydrokloridi poistettiin suodattamalla. Näin saatu 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetyylikloridin asetoniliuos lisättiin tipoittain voimakkaasti hämmennettyyn, jääkylmään liuokseen, jossa oli 7-amino-3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (10 g; 0,0232 moolia), NaHCO₃:a (15 g) veden ja asetonin (500 ml:250 ml) seoksessa. Seosta hämmennettiin 30 minuuttia 0-5°C:ssa ja sen jälkeen 90 minuuttia huoneen lämpötilassa, liukenematon aine suodatettiin pois, asetoni poistettiin haihduttamalla tyhjässä. Vesipitoisen faasin pH säädettiin arvoon 2-8 %:sella HCl:llä ja uutettiin etyyliasetaatilla (3x400 ml), pestiin vesipitoisella natriumkloridilla, kuivattiin (Na₂SO₄) ja haihdutettiin kuiviin. Jäännöstä hämmennettiin dietyyli-eetterin kanssa, 20 minuutin hämmennyksen jälkeen valkea, kiinteä aine suodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin, jolloin saatiin 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa. Edellä mainittu yhdiste lisättiin annok-

sittain hämmennettyyn kuumaan (55°C) liuokseen, jossa oli 50 %:sta muurahaishappoa (140 ml). Hämmmentämistä ja kuumentamista, samassa lämpötilassa, jatkettiin 30 minuutin ajan ja sen jälkeen kiinteä aine suodatettiin jäähtyneestä seoksesta. Suodos haihdutettiin kuiviin tyhjössä, jäljelle jäi jäännös. Kun vesi ja muurahaishappo oli täydellisesti poistettu, hierottiin jäännöstä veden kanssa, jolloin saatiin kiinteä aine. Raakatuote kiteytettiin 50 %:sta etanolista, saatiin 9,1 g (60 %) otsikossa mainittua yhdistettä, joka hajoaa 255°C:ssa.

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 38,10; H 2,91; N 23,34; S 15,93

laskettu yhdisteelle $C_{19}H_{16}N_{10}S_3O_7$: C 38,40; H 2,72; N 23,63; S 16,23

TLC ($CHCl_3$:MeOH:HCOOH:H₂O = 140:75:20:20)

$R_f = 0,25$

IR (KBr) $\checkmark$ 3500-2300 cm^{-1} sitoutunut -COOH

$\checkmark$ 1765 cm^{-1} $>C=O$ β -laktaami

$\checkmark$ 1710 cm^{-1} C=O happo

1650 cm^{-1} sek.amidi

1620-1580 cm^{-1} ($\checkmark$ (C=N) oksiimi
($\checkmark$ (C-N) + δ (N-H)

1540 cm^{-1} $\checkmark$ (C-N) + δ (N-H) amidi

NMR, 100 MHz (DMSO- d_6) δ p.p.m.

3,68 (1H, d, 2-CH₂)

3,86 (1H, d, 2-CH₂)

3,92 (3H, s, =N-OCH₃)

4,36 (1H, d, 3-CH₂-S)

4,69 (1H, d, 3-CH₂-S)

5,21 (1H, d, 6-H)

5,85 (1H, d-d, 7-H)

6,83 (1H, s, 5-H tiatsolirenkaassa)

7,30 (2H, br-s, -NH₂ tiatsolirenkaassa)

8,02 (1H, s, 7-H pyridatsiinirenkaassa)

9,38 (1H, d, -CONH).

Lähtöaineena käytetty 7-amino-3-[(8-karboksi-6-tetratsolo-[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappo valmistettiin seuraavalla tavalla:

3-hydratsino-4-karboksi-6-kloori-pyridatsiini

Seosta, jossa oli 3,6-dikloori-4-karboksi-pyridatsiinia (20 g; 0,103 moolia) ja 22 ml 98 %:sta hydratsiinihydraattia 200 ml:ssa 50 %:sta etanolia, kuumennettiin palautusjäähdyttäen, samalla hämmennetään, tunnin ajan. Seos jäähdytettiin 5°C:seen, jonka jälkeen kiinteä saostuma kerättiin ja pestiin 20 ml:lla vedetöntä etanolia. Kiinteä aine suspendoitiin 100 ml:aan vettä, seoksen pH säädettiin arvoon 1-2 23 %:sella HCl:llä, jäähdytettiin 5°C:seen, jonka jälkeen kiinteä aine suodatettiin ja kuivattiin tyhjässä 80°C:ssa, jolloin saatiin 18,29 g (93,4 %) otsikossa mainittua yhdistettä, sul.p. 198-201°C.

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 31,64; H 2,64; N 29,32; Cl 18,53

laskettu yhdisteelle $C_5H_5ClN_4O_2$: C 31,84; H 2,67; N 29,71; Cl 18,80

NMR (DMSO- d_6) : 7,8 (1H, s, 5-H pyridatsiinirenkaassa)

9,2 (4H, br-s, -COOH, -NHNH₂)

6-kloori-8-karboksi-tetratsolo[1,5-b]pyridatsiini

Jääkylmään suspensioon, jossa oli 3-hydratsino-4-karboksi-6-kloori-pyridatsiinia (1,88 g; 0,01 moolia) 15 %:ssa etikkahapossa, lisättiin tipoittain liuos, jossa oli natriumnitriittiä (0,70 g) vedessä (5 ml). Hämmennettiin tunnin ajan 5-10°C:ssa, jonka jälkeen erotunut saostuma suodatettiin ja pestiin vedettömällä etanolilla. Kiinteä aine suspendoitiin 2N HCl:ään, seosta hämmennettiin 30 minuuttia, kiinteä aine suodatettiin pois, pestiin kylmällä vedellä ja kuivattiin tyhjässä 70°C:ssa, jolloin saatiin 1,73 g (87 %) otsikossa mainittua yhdistettä, sul.p. 225°C.

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 29,95; H 0,98; N 35,15; Cl 17,58

laskettu yhdisteelle $C_5H_2ClN_5O_2$: C 30,09; H 1,00; N 35,09; Cl 17,76

IR (Nujol): $\nu_{C=O}$ 1730 cm^{-1}

NMR (DMSO- d_6) : 8,33 (1H, s, 7-H pyridatsiinirenkaassa)

6-merkpto-8-karboksi-tetratsolo[1,5-b]pyridatsiini

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli NaSH.H₂O:ta (10 g; 0,135 moolia) 150 ml:ssa vettä, lisättiin 6-kloori-8-karboksi-tetratsolo[1,5-b]pyridatsiinia (10 g; 0,05 moolia), ja seosta hämmennettiin voimakkaasti 2 tuntia. Jäähdytettiin 0°C:seen, jonka jälkeen reaktioseos hapotettiin 23 %:sella HCl:llä. Seosta jäähdytettiin tunnin ajan 0°C:ssa, jonka jälkeen kiinteä aine kerättiin ja pestiin pienellä määrällä kylmää vettä, jolloin saatiin 9 g (91,5 %) otsikossa mainittua

yhdistettä, sul.p. 210°C (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 30,41; H 1,52; N 35,61; S 16,19

laskettu yhdisteelle $C_5H_3N_5O_2S$: C 30,45; H 1,53; N 35,52; S 16,26

IR (KBr) (S-H) 2540 cm^{-1}
 $>C=O$ 1725 cm^{-1}

UV (fosfaattipuskuri pH 7,4) $\lambda_{maks} = 258$

$E_{1cm}^{1\%} = 962$

7-amino-3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-
 -tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappo

Kuumaan liuokseen (40°C)), jossa oli 6-merkaptio-8-karboksi-
 -tetratsolo [1,5-b]pyridatsiinia (8,2 g; 0,0415 moolia) ja 11,6 g natriumbikarbonaattia 265 ml:ssa fosfaattipuskuria (pH 6,4), lisättiin annoksittain 7-ACA:ta (18,5 g; 0,068 moolia) ja seosta kuumennettiin, samalla hämmentäen, 60°C:ssa 5 tuntia. Seos jäähdytettiin 20°C:seen, jonka jälkeen liukenematon aine suodatettiin pois ja liuoksen pH säädettiin arvoon 4,4 23 %:sella HCl:llä. Sakka suodatettiin, pestiin seoksella $Me_2CO:H_2O$ (3:1) ja sen jälkeen Me_2CO :lla, jolloin saatiin otsikossa mainitun yhdisteen natriumsuolaa (75 %), sul.p. $> 270^\circ C$ (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 35,80; H 2,66; N 22,43; S 14,66; Na 5,10

laskettu yhdisteelle $C_{13}H_{10}N_7O_5S_2Na$:

C 36,19; H 2,33; N 22,72; S 14,86; Na 5,32

IR (Nujol) $>C=O$ β -laktaami 1770 cm^{-1}

UV (1% $NaHCO_3$): $\lambda_{maks} = 246$; $E_{1cm}^{1\%} = 432$

Natriumsuola suspendoitiin veteen ja liuos hapotettiin 8 %:sella HCl:llä, saatiin kiinteä aine, joka suodatettiin ja pestiin vedellä, jolloin saatiin otsikossa mainittua yhdistettä, sul.p. 245°C (haj.).

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 38,45; H 2,90; N 23,55; S 15,10

laskettu yhdisteelle $C_{13}H_{11}N_7O_5S_2$: C 38,13; H 2,70; N 23,94; S 15,66

Esimerkki 5

3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-
 -7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-
 -kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä (0,9 g; 0,00438 moolia) lisättiin jäädytettyyn (0-5°C) liuokseen, jossa oli 2-(2-trityyli-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahappoa (3,675 g; 0,0828 moolia) vedettömässä metyleenikloridissa (13 ml). Hämmennettiin 40 minuuttia 5°C:ssa ja 30 minuuttia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen saatu liete laimennettiin vedettömällä metyleenikloridilla. Erottunut kiinteä aine, nimittäin disykloheksyyliurea (0,98 g; kvantitatiivinen saanto), suodatettiin pois ja pestiin uudella metyleenikloridilla. Yhdistetyt metyleenikloridiliuokset haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin lähtöaineena käytetyn hapon symmetrinen anhydridi, joka välittömästi liuotettiin vedettömään asetoniin (30cc.). Edellä saatu liuos lisättiin tipoitain, samalla hämmentäen, jäähauteessa jäädytettyyn liuokseen, jossa oli 7-amino-3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (1,65 g; 0,00436 moolia), trietyyliamiinia (1,22 ml; 0,00872 moolia) ja NaHCO₃:a (0,347 g; 0,00414 moolia) vesipitoisessa asetonissa 1:1 (120 ml). Seosta hämmennettiin 1 tunnin ajan 0-5°C:ssa, jonka jälkeen jäähaude poistettiin ja hämmentämistä jatkettiin 2 tuntia, sen jälkeen seos liuotettiin etyyliasetaattiin (500 ml) ja ravisteltiin vesipitoisella 1N HCl:llä (100 ml). Liukenematon aine (pieni määrä reagoimatonta 7-amino-kefemiä) suodatettiin pois, orgaaninen kerros pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, kuivattiin Na₂SO₄:llä, suodatettiin ja haihdutettiin. Suurin osa lähtöaineena käytetystä 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahaposta, joka sisältyi raakaan reaktioseokseen, saostettiin dioksaaniliuoksesta (30 ml) lisäämällä hitaasti disykloheksyyliamiinia (1,4 ml). 20 minuutin kuluttua 12°C:ssa tämä disykloheksyyliamiinisuolet suodatettiin pois, liuos laimennettiin etyyliasetaatilla (200 ml), hapotettiin 1N HCl:llä ja vesipitoinen kerros hylättiin. Orgaaninen faasi pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, kuivattiin Na₂SO₄:llä ja konsentroitiin pieneen tilavuuteen ja lisättiin dietyylieetteriin, jolloin saatiin 3,1 g 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri). Tätä ainetta käsiteltiin 50 %:sella vesipitoisella muurahaishapolla, kuten esimerkissä 1 on esitetty, jolloin saatiin otsikossa mainittua yhdistettä, jolla oli TLC-, IR- ja NMR-arvot identtisiä esimerkissä 1 valmistetun tuotteen kanssa.

Käyttäen samaa menetelmää valmistettiin seuraavat yhdisteet:

- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-syanometoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeti);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-aminokarbonyylimetoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeti);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-karboksimetoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeti);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(R)-sylyfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1-sylyfonyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-metyyliamino-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri).

Esimerkki 6

3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b] pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri)

N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä (0,9 g; 0,00438 moolia) lisättiin jäähdytettyyn (0-5°C) liuokseen, jossa oli 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahappoa (3,675 g; 0,0828 moolia) vedettömässä metyleenikloridissa (13 ml). Seosta hämmennettiin 40 minuuttia 5°C:ssa ja 30 minuuttia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen saatu liete laimennettiin vedettömällä metyleenikloridilla. Erottunut kiinteä aine, nimittäin disykloheksyyliurea (0,98 g; kvantitatiivinen saanto), suodatettiin pois ja pestiin uudella metyleenikloridilla.

Yhdistetyt metyleenikloridiliuokset haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin lähtöaineena käytetyn hapon symmetrinen anhydridi, joka välittömästi liuotettiin vedettömään asetoniin (30 cc.). Edellä saatu liuos lisättiin tipoittain, samalla hämmentäen, jäähauteella jäähdytettävään liuokseen, jossa oli 7-amino-3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (1,78 g; 0,00436 moolia), trietyyliamiinia (1,22 ml; 0,00872 moolia) ja NaHCO_3 :a (0,347 g; 0,00414 moolia) vesipitoisessa asetonissa 1:1 (120 ml). Seosta hämmennettiin 1 tunti $0-5^\circ\text{C}$:ssa, jonka jälkeen jäähaude poistettiin ja hämmentämistä jatkettiin 2 tuntia, sen jälkeen seos liuotettiin etyyliasetaatettiin (500 ml) ja ravisteltiin vesipitoisella 1N HCl :llä (100 ml). Liukenematon aine (pieni määrä reagoimatonta 7-amino-kefemiä) suodatettiin pois, orgaaninen kerros pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, kuivattiin Na_2SO_4 :llä, suodatettiin ja haihdutettiin. Suurin osa lähtöaineena käytetystä 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoetikkahaposta, joka sisältyi raakaan reaktioseokseen, saostettiin dioksaaniliuoksesta (30 ml) lisäämällä hitaasti disykloheksyyliamiinia (1,4 ml). 20 minuutin kuluttua 12°C :ssa disykloheksyyliamiinisuola suodatettiin pois, liuos laimennettiin etyyliasetaatilla (200 ml), hapotettiin 1N HCl :llä, ja vesipitoisen kerros hylättiin. Orgaaninen faasi pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, kuivattiin Na_2SO_4 :llä ja konsentroitiin pieneen tilavuuteen ja lisättiin dietyylieetteriin, jolloin saatiin 3,3 g 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri). Tätä ainetta käsiteltiin 50 %:sella vesipitoisella muurahaishapolla, kuten on esitetty esimerkissä 4, jolloin saatiin otsikossa mainittua yhdistettä, jonka TLC-, IR- ja NMR-arvot ovat identtiset esimerkissä 4 valmistetun tuotteen kanssa.

Esimerkki 7

3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-mino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Liuokseen, jossa oli 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoetikkahappoa (2,25 g; 0,00335 moolia) ja trietyyliamiinia (0,47 ml; 0,00335 moolia) vedettömässä metyleenikloridissa jäähdytettynä -5°C :een, lisättiin yhdellä kertaa fosforipentakloridia (0,697 g; 0,00335 moolia). Hämmennettiin 20 minuuttia -5°C :ssa ja tunti huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen reaktioseosta haihdutettiin

alennetussa paineessa, ilman ulkoista lämmitystä, kunnes kaikki POCl_3 oli poistettu. Jäännös liuotettiin vedettömään asetoniin (50 ml) ja trietyyliamiinihydrokloridi suodatettiin pois. Näin saatu 2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoasetyylikloridin asetoniliuos lisättiin tipoittain liuokseen, jossa oli 7-amino-3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (0,76 g; 0,002 moolia), trietyyliamiinia (0,562 ml; 0,004 moolia) ja NaHCO_3 :a (0,281 g; 0,00335 moolia) vedessä (35 ml) ja asetonissa (25 ml) jäähdytettynä 0°C :een.

Lisäyksen jälkeen lietettä hämmennettiin 0°C :ssa 30 minuuttia ja sen jälkeen 25°C :ssa 90 minuuttia. Reaktioseos kaadettiin etyyliasetaatettiin (350 ml), samalla voimakkaasti hämmentäen; lisättiin vettä (50 ml) ja sen jälkeen niin paljon 2N HCl:ää, että vesipitoisen faasin pH saatiin arvoon 2. Orgaaninen faasi erotettiin, pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, kuivattiin Na_2SO_4 :llä ja haihdutettiin kuiviin. Saatua vaahtoa hierottiin dietyylieetterin kanssa, jolloin saatiin 1,98 g raakatuotetta, joka sisälsi huomattavan määrän lähtöainena käytettyä happoa. Suurin osa tästä epäpuhtaudesta poistettiin liuottamalla raakatuote dioksaaniin (10 ml) ja lisäämällä näin saatu liuos tipoittain dietylieetteriin (70 ml). Hämmennettiin 10 minuuttia, jonka jälkeen valkoinen sakka kerättiin suodattamalla, jolloin saatiin 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) (1,02 g).

Edellä valmistettu yhdiste (1 g) lisättiin, samalla hämmentäen, 50 %:seen vesipitoiseen muurahaishappoliuokseen (40 ml), jota pidettiin 55°C :ssa (öljyhaude). 35 minuutin kuluttua seos jäähdytettiin 25°C :seen ja imusuodatettiin; kiinteä aine pestiin uudella 50 %:sella muurahaishapolla (20 ml) ja sen jälkeen tislattulla vedellä ja hylättiin. Happamet liuokset yhdistettiin ja haihdutettiin alennetussa paineessa. Jäännös liuotettiin 99 %:seen etanoliin, ja haihdutettiin uudestaan, liuotettiin 99 %:seen etanoliin ja haihdutettiin pieneen tilavuuteen (5 ml) ja suodatettiin. Näin saatu beigenvärinen jauhe liuotettiin 2 %:seen vesipitoiseen NaHCO_3 -liuokseen (20 ml) ja siihen lisättiin aktiivihieletä. Suodatetun liuoksen pH säädettiin 2N HCl:llä arvoon 2 ja sitä hämmennettiin 5 minuuttia. Sakka kerättiin suodattamalla, pestiin perusteellisesti vedellä ja sen jälkeen pienellä määrällä etanolia ja kuivattiin 65°C :ssa 16 tuntia, jolloin saatiin 0,25 g

3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) melkein valkoisena jauheena, joka hajoaa noin 205°C:ssa sulamatta.

Alkuaineanalyysi:

Saatu: C 36,81; H 2,88; N 27,73; S 16,92

laskettu yhdisteelle $C_{17}H_{15}N_{11}O_5S_3$: C 37,15; H 2,75; N 28,03; S 17,20

IR (KBr) cm^{-1} : 3400 -NH
3000 -OH
1760 $>C=O$ (β -laktaami)

NMR, 100 MHz (DMSO- d_6)

[δ , p.p.m.] : 3,61 (1H, d., 2-CH₂)
3,89 (1H, d., 2-CH₂) $J \approx 17$ Hz
4,16 (1H, d., 3-CH₂S)
4,60 (1H, d., 3-CH₂S) $J \approx 13$ Hz
5,21 (1H, d., 6-H)
5,86 (1H, d.d., 7-H)
6,42 (1H, s., 7-H pyridatsiinirenkaassa)
6,76 (1H, s., 5-H tiatsolirenkaassa)
7,20 (2H, leveä s., -NH₂ tiatsolirenkaassa)
8,02 (2H, leveä s., -NH₂ pyridatsiinirenkaassa)
9,56 (1H, d., -CONH-)
11,66 (1H, leveä s., =N-OH)

Käyttäen samaa menetelmää valmistettiin sivulla 7 olevan taulukon yhdisteet (6), (7), (10), (12), (14) ja (16).

Esimerkki 8

3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli 3-asetoksimetyyli-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) (0,456 g; 0,001 moolia) ja NaHCO₃:a (0,143 g; 0,0017 moolia) vedessä (10 ml), lisättiin 8-amino-6-merkaptotetratsolo[1,5-b]pyridatsiinia (0,118 g; 0,0007 moolia). Liuoksen läpi

johdettiin hidas typpivirta ja seosta kuumennettiin 50°C:ssa 12 tuntia, pitäen samalla pH-arvossa 6,8. Jäähdyttämisen jälkeen liuos hapotettiin 10 %:sella HCl:llä, sakka kerättiin suodattamalla, pestiin vedellä ja sen jälkeen etanolilla. Näin saatiin 0,215 g yhdistettä (2), jonka NMR-, TLC- ja IR-arvot olivat identtiset esimerkissä 1 esitetyn tuotteen kanssa, lukuunottamatta anti-isomeerin pientä epäpuhtautta. Käyttäen samaa menetelmää valmistettiin seuraavat yhdisteet:

- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(R)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-1-sulfonyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-metyyliamino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-etoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-karboksimetyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8- β -karboksietyyli-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri).

Esimerkki 9

3-[(8-amino-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri)

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli 3-asetoksimetyyli-7-[2-

-[2-trityyliamino-4-tiatsolyyli]-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (0,697 g; 0,001 moolia) vedettömässä asetonitriilissä (50 ml), lisättiin 8-amino-6-merkaptotetratsolo[1,5-b]pyridatsiinia (0,336 g; 0,002 moolia) ja näin saatua lietettä keitettiin palautusjäähdyttäen 24 tuntia hitaan typpivirran alaisena. Toinen annos merkaptoyhdistettä (0,168 g; 0,001 moolia) lisättiin ja seosta hämmennettiin edelleen 16 tuntia palautuslämpötilassa, jonka jälkeen seos jäähdytettiin, liukenematon aine (reagoimaton merkaptoyhdiste) suodattettiin pois, asetonitriililiuos haihdutettiin kuiviin, näin saatu vahto liuotettiin lämpimään metyleenikloridiin (5 ml) ja lisättiin dietyylieetteriä (25 ml). Näin saatu valkea sakka kerättiin suodattamalla ja pestiin pienellä määrällä etyyliasetaattia ja sen jälkeen dietyylieetterillä, jolloin saatiin 0,650 g 3-[8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri). Tämä aine saatettiin reagoimaan 50 %:sen vesipitoisen muurahaishapon kanssa, kuten on esitetty esimerkissä 1, jolloin saatiin otsikossa mainittua tuotetta, jonka TLC-, IR- ja NMR-arvot olivat identtiset esimerkissä 1 esitetyn tuotteen kanssa.

Käyttäen samaa menetelmää valmistettiin seuraavat yhdisteet:

3-[8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[8-metyyliamino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[8-metyyliamino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-
-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-etoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-kar-
boksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[(8-karboksimetyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-
-7-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-
-karboksyylihappo (syn-isomeeri);

3-[(8- β -karboksietyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-
-7-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-kar-
boksyylihappo (syn-isomeeri).

Esimerkki 10

3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyy-
li]-7-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-
-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli 3-asetoksimetyyli-7-2-
-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboks-
yylihappoa (syn-isomeeri) (0,456 g; 0,001 moolia) ja NaHCO_3 :a (0,143 g;
0,0017 moolia) vedessä (10 ml), lisättiin 8-karboksi-6-merkaptotet-
ratsolo[1,5-b]pyridatsiinia (0,138 g; 0,0007 moolia). Liuoksen läpi
johdettiin hidas typpivirta ja seosta kuumennettiin 50°C :ssa 12 tun-
tia, samanaikaisesti pidettiin seoksen pH arvossa 6,8. Jäähdyttämisen
jälkeen seos hapotettiin 10 %:sella HCl :llä, sakka kerättiin suodatta-
malla, pestiin vedellä ja sen jälkeen etanolilla. Näin saatiin 0,245 g
otsikossa mainittua yhdistettä, jonka NMR-, TLC- ja IR-arvot olivat
identtiset esimerkissä 4 esitetyn tuotteen kanssa, lukuunottamatta
anti-isomeerin pientä epäpuhtautta.

Esimerkki 11

3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyy-
li]-7-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-
-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Hämmennettyyn liuokseen, jossa oli 3-asetoksi-7-2-(2-tri-
tyyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-kar-
boksyylihappoa (0,697 g; 0,001 moolia) vedettömässä asetonitriilissä
(50 ml), lisättiin 8-karboksi-6-merkaptotetratsolo[1,5-b]pyridatsii-
nia (0,394 g; 0,002 moolia) ja näin saatua lietettä keitettiin palau-
tusjäähdyttäen 24 tuntia hitaan typpivirran alaisena.

Toinen annos merkaptoyhdistettä (0,168 g; 0,001 moolia) li-
sättiin ja seosta hämmennettiin edelleen 16 tuntia palautuslämpötilas-
sa, jonka jälkeen seos jäähdytettiin, liukenematon aine (reagoimaton

merkaptoyhdiste) suodatettiin pois, asetonitriililiuos haihdutettiin kuiviin, saatu vaahto liuotettiin lämpimään metyleenikloridiin (5 ml) ja lisättiin dietyylieetteriä (25 ml). Muodostunut valkea sakka kerättiin suodattamalla ja pestiin pienellä määrällä etyyliasetaattia ja sen jälkeen dietyylieetterillä, jolloin saatiin 0,730 g 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-trityyliamino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri). Tämä aine saatettiin reagoimaan 50 %:sen vesipitoisen muurahaishapon kanssa, kuten on esitetty esimerkissä 4, jolloin saatiin otsikossa mainittua yhdistettä, jonka TLC-, IR- ja NMR-arvot olivat identtiset esimerkissä 4 valmistetun yhdisteen kanssa.

Esimerkki 12

3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Vaihe A: 4-klooriasetoetikkahappo

Etyyli-4-klooriasetoasetaattia (30 g; 0,182 moolia) hämmennettiin 37 %:sen vesipitoisen HCl:n kanssa (200 ml) huoneen lämpötilassa 15 tuntia, jonka jälkeen reaktioseos kaadettiin jää/veteen, uutettiin etyyliasetaatilla, kuivattiin Na₂SO₄:llä ja haihdutettiin kuiviin, ilman ulkoista lämmitystä, jolloin saatiin 17,4 g (70 %:n saanto) 4-klooriasetoetikkahappoa. Raakatuotetta käytettiin seuraavassa vaiheessa, ilman enempää puhdistamista.

NMR 60 MHz (CDCl₃) : 3,71 (2H, s., COCH₂COOH)

4,20 (2H, s., ClCH₂CO)

9,98 (1H, leveä s., COOH)

Vaihe B: 4-klooriasetoasetyylikloridi

Oksalylikloridia (1,71 ml; 0,02 moolia) lisättiin liuokseen, jossa oli 4-klooriasetoetikkahappoa (2,4 g; 0,017 moolia) vedettömässä bentseenissä, jonka jälkeen lisättiin tippa N,N-dimetyyliformamidia. Hämmennettiin 15 tuntia 25°C:ssa, jonka jälkeen liuos haihdutettiin kuiviin, liuotettiin vedettömään bentseeniin ja haihdutettiin uudestaan, saatiin 2,7 g tummaa, öljymäistä tuotetta, jota käytettiin sellaisenaan seuraavassa asylointivaiheessa (vaihe C). Vaihtoehtoisesti 4-klooriasetoasetyylikloridi voidaan valmistaa saattamalla dikeeni, joka on liuotettu sopivaan inerttiin liuottimeen, esim. metyleenikloridiin, reagoimaan kloorin kanssa menetelmän mukaisesti, joka on esitetty julkaisussa Helv. Chim. Acta, 60, 1256 (1977).

Vaihe C: 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-(4-kloori-3-oksobutyryamido)-3-kefem-4-karboksyylihappo 7-amino-3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-3-kefem-4-karboksyylihappo (3,8 g; 0,01 moolia) suspendoitiin vedettömään N,N-dimetyyliformamidiin (50 ml) ja tähän lisättiin N,O-bis(trimetyylisilyyli)-asetamidia (8,13 g; 0,04 moolia). Hämennettiin 2 tuntia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen melkein kaikki lähtöaine oli liuennut. Liuos, jossa oli 4-klooriasetoasetyylikloridia (2,35 g; noin 0,015 moolia) vedettömässä metyleenikloridissa (20cc), lisättiin tipoittain jäädytettyyn seokseen (-30°C:ssa). Seosta hämennettiin -30°C:ssa 2 tuntia ja annettiin sen jälkeen lämmitä huoneen lämpötilaan tunnin kuluessa, jonka jälkeen lisättiin isopropanolia (40 ml), silyloituneiden yhdisteiden hajottamiseksi. Liuottimet haihduutettiin alennetussa paineessa ja öljymäinen jäännös jaettiin veteen ja etyyliasetaattiin. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin vesipitoisella natriumkloridiliuoksella, konsentroitiin pieneen tilavuuteen alennetussa paineessa ja lisättiin dietyylieetteriä, jotta saostuminen tapahtuisi täydellisesti. Kiinteä aine kerättiin suodattamalla, pestiin uudella etyylieetterillä ja kuivatettiin tyhjiössä, jolloin saatiin 4,6 g otsikossa mainittua yhdistettä, jota käytetään seuraavassa vaiheessa ilman enempää puhdistamista.

NMR 60 MHz (DMSO-d₆)

[δ , p.p.m.] :	3,6-3,7	(4H, s+d.d., 2-CH ₂ + COCH ₂ CO)
	4,35	(2H, d.d., 3-CH ₂ S)
	4,57	(2H, s., Cl-CH ₂ CO)
	5,08	(1H, d., 6-H)
	5,69	(1H, d.d., 7-H)
	6,38	(1H, s., 7-H pyridatsiinirenkaassa)
	7,95	(2H, leveä s., -NH ₂ pyridatsiinirenkaassa)
	9,02	(1H, s., CONH)

Vaihe D: 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-(4-kloori-2-hydroksi-imino-3-oksobutyryamido)-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri)

Hämennettyyn liuokseen, jossa oli 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-(4-kloori-3-oksobutyryamido)-

-3-kefem-4-karboksyylihappoa (6,72 g; 0,0171 moolia) etikkahapossa (60 ml), lisättiin liuos, jossa oli natriumnitriittiä (1,65 g; 0,0239 moolia) vedessä (6 ml), 5-10°C:ssa. Hämmennettiin 3,5 tuntia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen reaktioseos sammutettiin kyllästetyllä suolaliuoksella ja uutettiin etyyliasetaatilla (4 x 200 ml). Yhdistetyt uuttees pestiin vedellä, kuivattiin Na₂SO₄:llä ja haihdutettiin vaahdoksi. Hieromalla tätä tuotetta dietyylieetterin kanssa saatiin otsikossa mainittua yhdistettä beigenvärisenä jauheena 6,3 g.

TLC:llä (piihappogeeli-levyt, CHCl₃/MeOH/HCOOH 160:40:20) saadaan yksi ainoa täplä, jonka R_F-arvo on hiukan pienempi kuin lähtöaineen.

NMR 60 MHz (DMSO-d₆)

[δ, p.p.m.]	:	3,60	(2H, d.d., 2-CH ₂)
		4,35	(2H, d.d., 3-CH ₂ S)
		4,74	(2H, s., ClCH ₂ CO)
		5,08	(1H, d., 6-H)
		5,70	(1H, d.d., 7-H)
		6,38	(1H, s., 7-H pyridatsiinirenkaassa)
		7,96	(2H leveä s, -NH ₂ pyridatsiinirenkaassa)
		9,21	(1H, d., -CONH-)
		13,00	(1H, s., =N-OH)

Vaihe E: 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappo (syn-isomeeri) yhdiste (1)

3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-(4-kloori-2-hydroksi-imino-3-oksobutyryamido)-3-kefem-4-karboksyylihappoa (5,12 g; 0,01 moolia) liuotettiin vedettömään N,N-dimetyyliasetamidiin (25 ml). Lisättiin tioureaa (0,76 g; 0,01 moolia) ja seosta hämmennettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia. Näin saatu liuos lisättiin tipoittain, samalla hämmentäen, etyyliasetaattiin (250 ml). Kumimainen aine saostui; pinnalla olevat emäliuokset hylättiin ja jäännöstä hierottiin varovasti uuden etyyliasetaatin kanssa kunnes saatiin jauhetta. Jauhe kerättiin suodattamalla ja kuivattiin. Näin saatiin toivotun tuotteen hydrokloridisuolan N,N-dimetyyliasetamidisolvaatti. Tämä aine liuotettiin vesipitoiseen NaHCO₃:een ja pestiin viisi kertaa etyyliasetaatilla ja sen jälkeen dietyylieetterillä. Seokseen johdet-

tiin tyyppä 15 minuutin ajan, lisättiin aktiivihieletä, aktiivihieletä suodatettiin pois ja liuos hapotettiin 2N HCl:llä. Kiteinen saostuma kerättiin ja pestiin perusteellisesti vedellä ja sen jälkeen etyyli-alkoholilla, jolloin saatiin 3,8 g otsikossa mainittua yhdistettä, jonka TLC-, IR- ja NMR-arvot olivat identtiset esimerkissä 7 valmistetun tuotteen kanssa.

Käyttäen samaa menetelmää valmistettiin seuraavat yhdisteet:

- 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1(R)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1(S)-sulfinyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-1-sulfonyyli-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-aminokarbonyyli-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri);
- 3-[(8-metyyliamino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappo (syn-isomeeri).

Esimerkki 13

Vesipitoiseen suspensioon, jossa oli 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihappoa (syn-isomeeri) (5,63 g) vedessä (80 ml), lisättiin stökiömetrinen määrä NaHCO₃:a, jolloin saatiin aikaan yhdisteen täydellinen liukeneminen. Sen jälkeen tämä liuos lyofilisoitiin, jolloin saatiin 3-[(8-amino-6-tetratsolo[1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksylihapon (syn-isomeeri) natriumsuolaa, sul.p. 240°C (haj.).

Alkuaineanalyysi: saatu Na 3,80; laskettu Na 3,90

IR (KBr) 1760 cm⁻¹ >C=O (β-laktaami).

Esimerkki 14

Vesipitoiseen suspensioon, jossa oli 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) (5,92 g) vedessä (80 ml), lisättiin kaksi ekvivalenttia NaHCO_3 :a, jolloin saatiin aikaan yhdisteen täydellinen liukeneminen. Sen jälkeen tämä liuos lyofilisoitiin, jolloin saatiin 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihapon (syn-isomeeri) dinatriumsuolaa, sul.p. 270°C (haj.).

Alkuaineanalyysi: saatu Na 6,91 ; laskettu Na 7,19

IR (KBr) 1765 cm^{-1} $> \text{C}=\text{O}$ (β -laktaami).

Esimerkki 15

Liuokseen, jossa oli 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihappoa (syn-isomeeri) (5,92 g) asetonissa (400 ml), lisättiin kaksi ekvivalenttia natrium-2-etyyli-heksanoaatin 30 %:sta liuosta isopropyylialkoholissa. Hämmennettiin 30 minuuttia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen seos laimennettiin petrolieetterillä ja näin saatu sakka suodatettiin, jolloin saatiin 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihapon (syn-isomeeri) dinatriumsuolaa, sul.p. 270°C (haj.)

Alkuaineanalyysi: saatu Na 6,91 ; laskettu Na 7,19

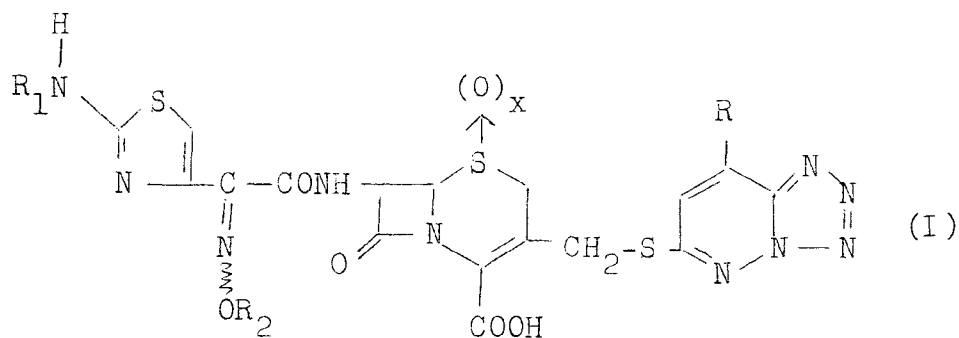
IR (KBr) 1765 cm^{-1} $> \text{C}=\text{O}$ (β -laktaami).

Esimerkki 16

Injektoitava, farmaseuttinen koostumus valmistettiin liuottamalla 100-500 mg 3-[(8-karboksi-6-tetratsolo [1,5-b]pyridatsinyyli)-tiometyyli]-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-metoksi-iminoasetamido]-3-kefem-4-karboksyylihapon (syn-isomeeri) dinatriumsuolaa steriiliin veteen tai steriiliin normaalisuolaliuokseen (1-2 ml).

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä valmistaa yhdisteitä, joiden kaava (I) on



jossa R tarkoittaa ryhmää $-(CH_2)_n-COOR'$, jossa n on nolla, 1 tai 2 ja R' tarkoittaa vetyatomia tai C_1-C_6 -alkyyli ryhmää; tai R tarkoittaa

ryhmää $-N \begin{smallmatrix} R' \\ R'' \end{smallmatrix}$ tai ryhmää $-CON \begin{smallmatrix} R' \\ R'' \end{smallmatrix}$, jossa kumpikin ryhmistä R' ja R'',

jotka voivat olla samanlaiset tai erilaiset, tarkoittaa vetyatomia tai C_1-C_6 -alkyyli ryhmää;

R₁ tarkoittaa vetyatomia tai aminosuojaryhmää;

R₂ tarkoittaa vetyatomia, hydroksi-suojaryhmää tai haarautunutta tai suoraketjuista, tyydytettyä tai tyydyttämätöntä, alifaattista C_1-C_6 -hiilivetyryhmää, joka voi olla substituoimaton tai substituoitu substituentilla, joka on (a) hydroksi; (b) syano; (c) $-COOR'$, jossa R' tar-

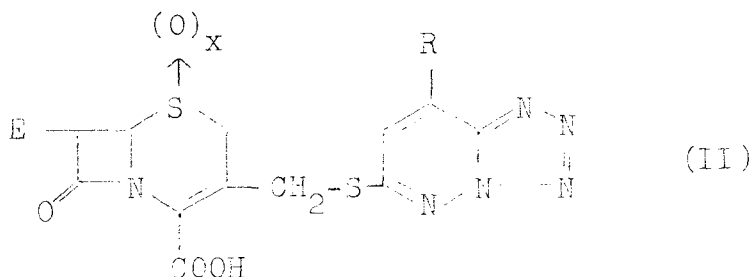
koittaa samaa kuin edellä, tai (d) $-CON \begin{smallmatrix} R' \\ R'' \end{smallmatrix}$, jossa R' ja R'' tarkoitta-

vat samaa kuin edellä; ja

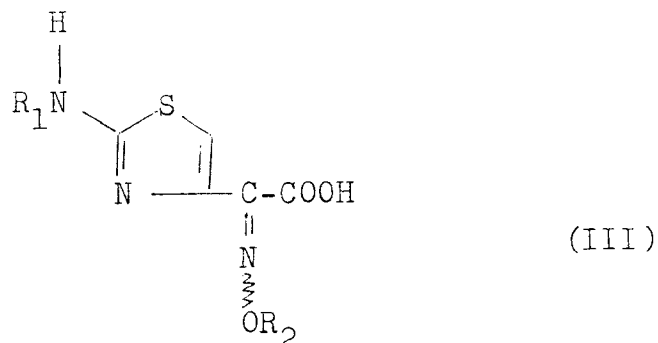
x on nolla, 1 tai 2,

ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti ja eläinlääketieteellisesti hyväksyttäviä suoloja, t u n n e t t u siitä, että

(A) yhdiste, jonka kaava (II) on

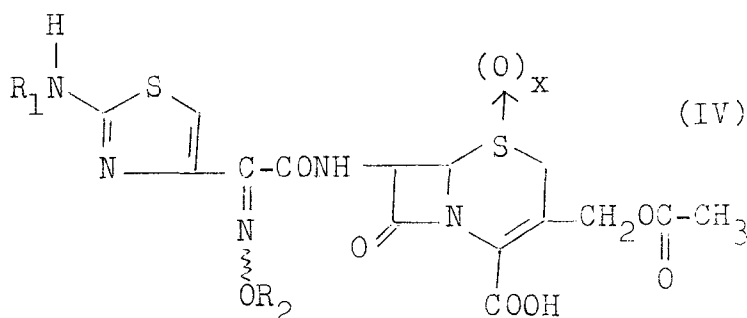


jossa x ja R tarkoittavat samaa kuin edellä ja E tarkoittaa aminoryhmää tai ryhmää, jonka kaava on $-N=C=Y$, jossa Y on happi tai rikki, tai sen reaktiivinen johdannainen saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jonka kaava (III) on

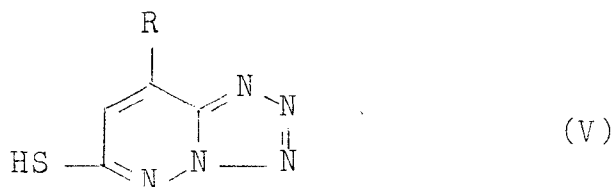


jossa R_1 ja R_2 tarkoittavat samaa kuin edellä, paitsi vetyä, tai tällaisen kaavan (III) mukaisen yhdisteen, reaktiivisen johdannaisen kanssa ja haluttaessa poistetaan esiintyvät suojaryhmät; tai

(B) yhdiste, jonka kaava (IV) on

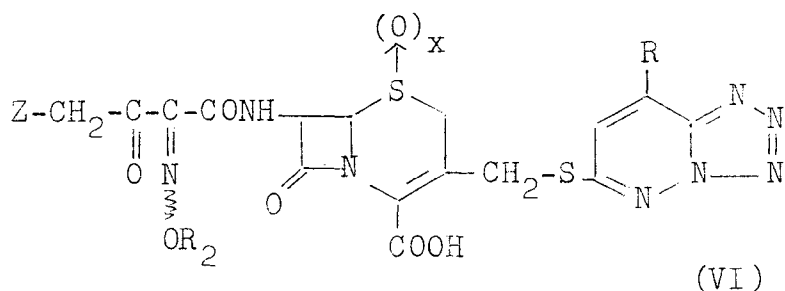


jossa R_1 , R_2 ja x tarkoittavat samaa kuin edellä, tai sen suola saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jonka kaava (V) on



jossa R tarkoittaa samaa kuin edellä, tai tällaisen kaavan (V) mukaisen yhdisteen, reaktiivisen johdannaisen kanssa ja haluttaessa poistetaan esiintyvät suojaryhmät; tai

(C) yhdiste, jonka kaava (VI) on



jossa R , R_2 ja x tarkoittavat samaa kuin edellä ja Z tarkoittaa halogeeniatomia, tai sen suola tai esteri saatetaan reagoimaan tioureaan kanssa, kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R_1 on vety, ja haluttaessa poistetaan mahdollisesti R_2 :ssa esiintyvä suojar ryhmä; ja/tai haluttaessa muutetaan kaavan (I) mukainen yhdiste sen suolaksi tai saadaan vapaa yhdiste suolasta, ja/tai haluttaessa erotetaan isomeerien seos yksittäisiin isomeereihin, ja/tai haluttaessa muutetaan kaavan (I) mukainen yhdiste toiseksi kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerien, joissa

R on $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-COOH$, $-CONH_2$ tai $-CH_2COOH$;

R_1 on vety;

R_2 on vety, metyyli, etyyli, $-CH_2COOH$, $\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ -C-COOH \\ | \\ CH_3 \end{array}$, $-CH_2CN$, $-CH_2CONH_2$

tai $-CH=CH-COOH$;

x on nolla, 1 tai 2;

ja niiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerien, joissa

R on $-NH_2$, $-COOH$ tai $-CH_2COOH$;

R_1 on vety;

R_2 on vety, metyyli tai etyyli;

x on nolla;

ja niiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden syn-isomeerien, joissa

R on $-\text{NH}_2$ tai $-\text{COOH}$;

R_1 on vety;

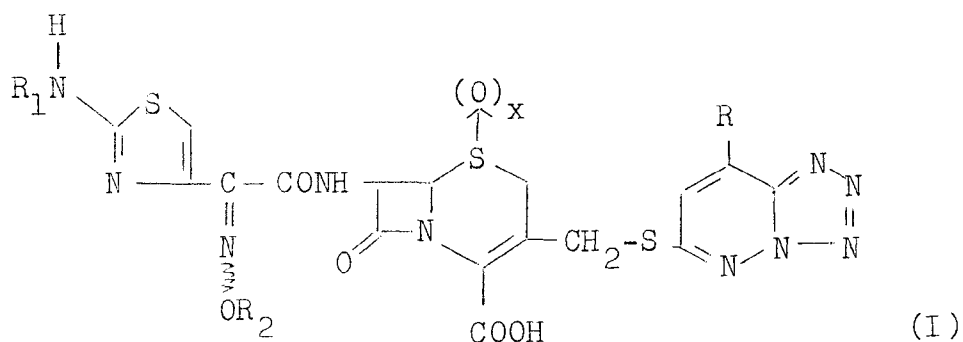
R_2 on metyyli tai etyyli;

x on nolla;

ja niiden farmaseuttisesti tai eläinlääketieteellisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av föreningar med formeln (I)



i vilken R betecknar en grupp $-(\text{CH}_2)_n-\text{COOR}'$, i vilken n är noll, 1 eller 2 och R' betecknar en väteatom eller en C_1 - C_6 -alkylgrupp; eller

R betecknar en grupp $-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{R}' \\ \text{R}'' \end{smallmatrix}$ eller en grupp $-\text{CON} \begin{smallmatrix} \text{R}' \\ \text{R}'' \end{smallmatrix}$, i vilken vardera

av grupperna R' och R'' , vilka kan vara lika eller olika, betecknar en väteatom eller en C_1 - C_6 -alkylgrupp;

R_1 betecknar en väteatom eller en amino-skyddsgrupp;

R_2 betecknar en väteatom, en hydroxi-skyddsgrupp eller en förgrenad eller oförgrenad, mättad eller omättad, alifatisk C_1 - C_6 -kolvätegrupp, vilken kan vara osubstituerad eller substituerad med en substituent, vilken är (a) hydroxi; (b) syano; (c) $-\text{COOR}'$, i vilken R' betecknar

detsamma som ovan, eller (d) $-\text{CON} \begin{smallmatrix} \text{R}' \\ \text{R}'' \end{smallmatrix}$, i vilken R' och R'' betecknar

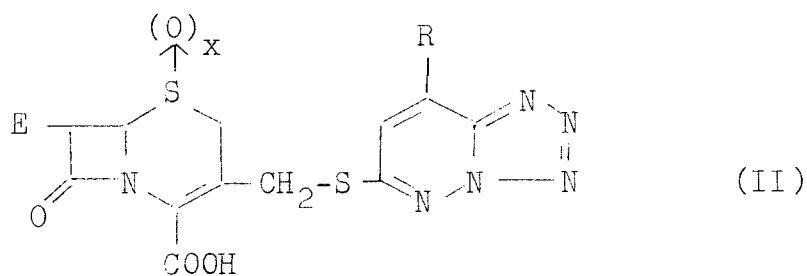
detsamma som ovan; och

x är noll, 1 eller 2;

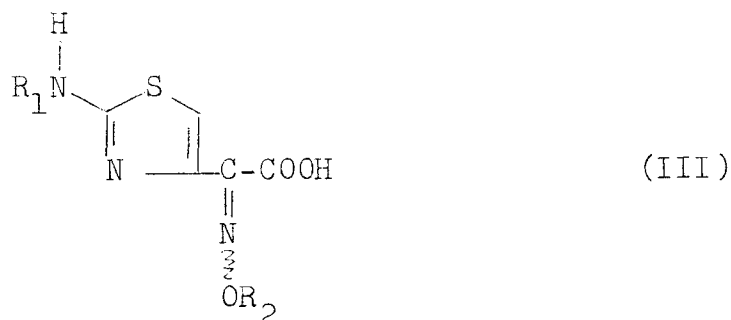
och farmaceutiskt och veterinärmedicinskt acceptabla salter därav,

k ä n n e t e c k n a t därav, att

(A) en förening med formeln (II)

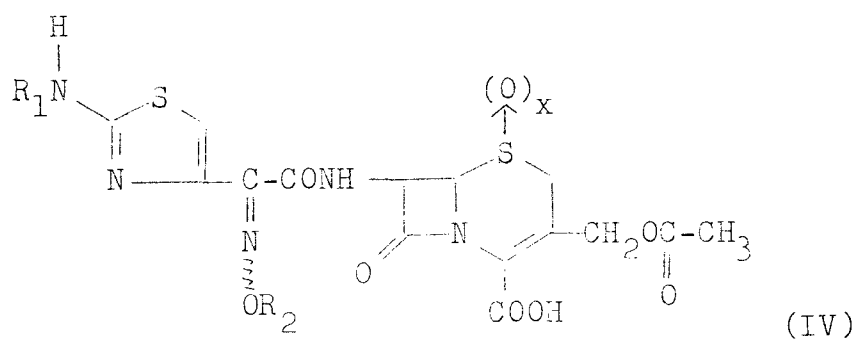


i vilken x och R betecknar detsamma som ovan och E betecknar en amino-grupp eller en grupp med formeln $-N=C=Y$, i vilken Y är syre eller svavel, eller ett reaktivt derivat därav omsättes med en förening med formeln (III)

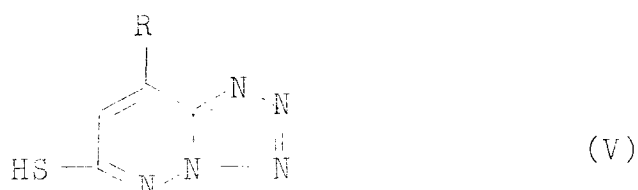


i vilken R_1 och R_2 betecknar detsamma som ovan, förutom väte, eller med ett reaktivt derivat av en sådan förening med formeln (III), och om så önskas avlägnas de förekommande skyddsgrupperna; eller

(B) en förening med formeln (IV)

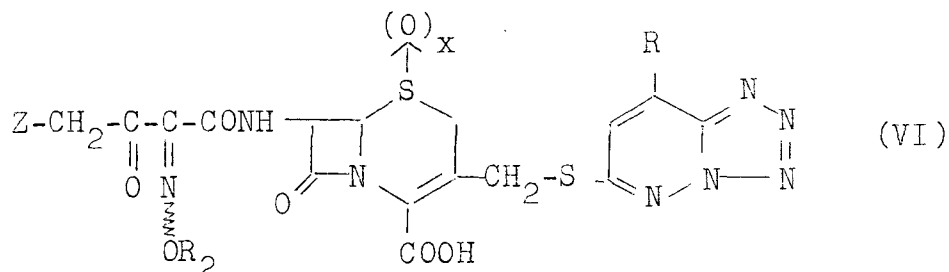


i vilken R_1 , R_2 och x betecknar detsamma som ovan, eller ett salt därav omsättes med en förening med formeln (V)



i vilken R betecknar detsamma som ovan, eller med ett reaktivt derivat av en sådan förening med formeln (IV), och om så önskas avlägnas de förekommande skyddsgrupperna; eller

(C) en förening med formeln (VI)



i vilken R, R₂ och x betecknar detsamma som ovan och Z betecknar en halogenatom, eller ett salt eller en ester därav omsättes med tiourea, för framställning av en förening med formeln (I), i vilken R₁ är väte, och om så önskas avlägsnas den i R₂ eventuellt förekommande skyddsgruppen; och/eller, om så önskas, överföres en förening med formeln (I) i ett salt därav eller erhålles en fri förening från ett salt, och/eller, om så önskas, uppdelas en blandning av isomerer i de enskilda isomererna, och/eller, om så önskas, överföres en förening med formeln (I) i en annan förening med formeln (I).

2. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av syn-isomerer av föreningar med formeln (I), i vilken:

R är -NH₂, -NHCH₃, -COOH, -CONH₂ eller -CH₂COOH;

R₁ är väte;

R₂ är väte, metyl, etyl, -CH₂-COOH, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{C}-\text{COOH} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$, -CH₂CN, -CH₂-CONH₂ eller

-CH=CH-COOH;

x är noll, 1 eller 2;

och farmaceutiskt eller veterinärmedicinskt acceptabla salter därav.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av syn-isomerer av föreningar med formeln (I), i vilken:

R är -NH₂, -COOH eller -CH₂COOH;

R₁ är väte;

R₂ är väte, metyl eller etyl;

x är noll;

och farmaceutiskt eller veterinärmedicinskt acceptabla salter därav.

4. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av syn-isomerer av föreningar med formeln (I), i vilken:

R är $-\text{NH}_2$ eller $-\text{COOH}$;

R_1 är väte;

R_2 är metyl eller etyl;

x är noll;

och farmaceutiskt eller veterinärmedicinskt acceptabla salter därav.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE P 434 268 (CO7 D 501/36)

US _____

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. suomal. Offenlegungsschrift) numeron
eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

18.3 1986
Ossi-Ch. Värelson-Sjöblom
Allekirjoitus