



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 153405 B

(21) Patentansøgning nr.: 4380/79

(51) Int.Cl.⁴ C 07 D 501/59

(22) Indleveringsdag: 17 okt 1979

(24) Løbedag: 22 feb 1974

(41) Alm. tilgængelig: 17 okt 1979

(44) Fremlagt: 11 jul 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(62) Stamansøgning nr.: 0952/74

(30) Prioritet: 23 feb 1973 US 335381

(71) Ansøger: ELI *LILLY AND COMPANY; 307 East McCarty Street; Indianapolis; Indiana 46204, US

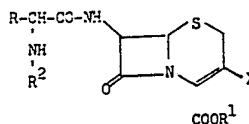
(72) Opfinder: Robert Raymond *Chauvette; US

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) **Beskyttede 3-halogen-7alfa-aminoacyl-cephalosporin-derivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 3-halogen-7alfa-aminoacyl-cephalosporiner**

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:



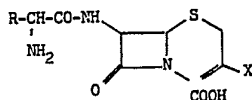
hvor R og X har den ovenstående betydning, R¹ betyder hydrogen, benzyl, p-methoxybenzyl, p-nitrobenzyl, diphenylmethyl, 2,2,2-trichlorethyl, trimethylsilyl eller t-butyl, og

R² betyder hydrogen, t-butyloxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, p-nitrobenzyloxycarbonyl, trichlorethoxycarbonyl-trityl, eller en enamingruppe dannet med methylacetoacetat eller acetylacetone, idet

R¹ og R² ikke samtidig kan være hydrogen.

4380-79

Beskyttede 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporin-derivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporiner med den almene formel



hvor R betyder phenyl, hydroxyphenyl, halogenphenyl, methylphenyl, methoxyphenyl, 2-thienyl, 3-thienyl eller 2-furyl, og X betyder chlor eller brom, k e n d e t e g n e t ved, at de har den almene formel

DK 153405 B

Opfindelsen angår hidtil ukendte beskyttede 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporinderivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporiner med den i kravets indledning angivne formel I. Disse cephalosporiner og ikke-toxiske farmaceutisk acceptable salte deraf er værdifulde, oralt effektive antibiotica. Mellemprodukterne ifølge opfindelsen er ejendommelige ved, at de har den i kravets kendetegnende del angivne formel.

Der kendes adskillige 7 α -aminoacyl-cephalosporin-antibiotica med forskellige substituentter i 3-stilling i molekylet. F.eks. kan nævnes det velkendte antibioticum cephalixin, 7-(D- α -phenyl-glycyl-

amido)-3-methyl-3-cephem-4-carboxylsyre, der er en desacetoxyccephalosporansyre med en methylgruppe i 3-stilling; antibioticumet cephaloglycin, 7-(D- α -phenylglycylamido)-3-acetoxymethyl-3-cephem-4-carboxylsyre, der er en cephalosporansyre med en acetoxymethylgruppe i 3-stilling; og endelig α -aminoacylcephalosporiner, hvori 3-stillingen er substitueret ved en thiadiazol-thiomethyl eller tetrazolthiomethyl, og de er alle værdifulde terapeutiske midler.

Ligeledes er der beskrevet et antal cephalosporinforbindelser, hvori molekylet er substitueret i 3-stilling med en 3-halogenmethylgruppe, f.eks. 3-brom-methyl-3-cephem-4-carboxylsyreestre. 3-halogenmethylcephalosporinestre, der er beskrevet, er nyttige mellemprodukter til fremstilling af cephalosporinantibiotica.

Halogencephalosporinforbindelserne ifølge opfindelsen er strukturelt enestående forbindelser inden for cephalosporinerne, idet halogenatomet er knyttet direkte til carbonatomet i 3-stilling i dihydrothiazinringen. I modsætning hertil har de kendte halogenderivater af cephalosporiner, såsom de, der er beskrevet ovenfor, et halogenatom på en methylengruppe knyttet til carbonatomet i 3-stilling i dihydrothiazinringen. De omhandlede forbindelser har en kombination af karakteristika, der omfatter en 7- α -aminoacyldel knyttet til en cephalosporinkerne, der er substitueret i 3-stilling med et chlor- eller bromatom.

De omhandlede halogensubstituerede cephalosporinforbindelser har den i kravets kendetegnende del anførte almene formel II.

I nævnte formel refererer hydroxyphenyl til mono- og dihydroxyphenylgrupper, såsom 4-hydroxyphenyl, 3-hydroxyphenyl, 2-hydroxyphenyl, 3,4-dihydroxyphenyl og 2,4-dihydroxyphenyl. Halogenphenyl refererer til mono- og di-halogen-substituerede phenylgrupper, hvori halogen refererer til fluor, chlor og brom, såsom 4-fluorphenyl, 4-chlorphenyl, 3,4-dichlorphenyl, 3-chlorphenyl, 2-chlorphenyl, 3-bromphenyl og 4-bromphenyl. Methylphenyl refererer til mono- og dimethylerede phenylgrupper, såsom isomere 2-, 3- og 4-methylphenylgrupper og dimethylphenylgrupper, såsom 3,4-dimethylphenyl og 2,4-dimethylphenyl. Betegnelsen methoxyphenyl refererer til mono- og di-methoxylerede phenylgrupper, såsom 4-methoxyphenyl, 3-methoxyphenyl, 2-methoxyphenyl, 3,4-dimethoxyphenyl og 2,6-dimethoxyphenyl.

Estergrupperne repræsenteret af R^1 i ovennævnte formel er alle kendte esterdele, der sædvanligvis anvendes i cephalosporiner for at beskytte C_4 -carboxylsyregruppen i cephalosporinmolekylet, medens andre reaktioner, der omfatter andre reaktive steder i molekylet, udføres. Fremstillingen af estre med formel I ($R^1 =$ andet end hydrogen) udføres ved hjælp af følgende metode, ved hvilken der anvendes samme estergrupper til at beskytte carboxylsyregruppen som i andre cephalosporinforbindelser.

Betegnelsen pharmaceutisk acceptable, ikke-toxiske salte refererer både til salte af C_4 -carboxylsyrefunktionen og syreadditionssalte af α -amino-gruppen af 7-glycylamido-sidekæden. Pharmaceutisk acceptable salte, der omfatter C_4 -carboxylsyrefunktionen, omfatter salte dannet med uorganiske baser, såsom natrium-, kalium og calciumsalte, der kan fremstilles med natriumbicarbonat, kaliumcarbonat, calciumhydroxid eller natriumhydroxid. Pharmaceutisk acceptable aminsalte kan også fremstilles, f.eks. med organiske aminer, såsom dicyclohexylamin, benzylamin, 2-aminoethanol, diethanolamin eller diisopropylamin. Syreadditionssalte af α -aminogruppen omfatter salte dannet med mineralsyrer, såsom hydrogenchloridsyre, hydrogenbromidsyre og sulfater og salte dannet med organiske sulfonsyrer, såsom p-toluensulfonat.

Det ses nemt, at når R^1 er hydrogen, kan den amfotere form af forbindelsen eksistere, idet denne form fremkommer via intramolekylær saltdannelse.

På grund af nærværelsen af det asymetriske carbonatom i α -aminoacylgruppen omfatter de ovennævnte 3-halogen-cephalosporiner D-, L- og DL-formerne. D-formen er den foretrukne isomere form i den foreliggende opfindelse.

Eksempler på de omhandlede beskyttede 3-halogen-7 α -aminoacylcephalosporin-derivater er følgende:

7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
7-(D-phenylglycylamido)-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre,
7-(D-3-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
7-[D-2-(2-thienyl)glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
7-[D-2-(2-furyl)glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
7-(D-4-chlorphenylglycylamido)-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre,

7-(D-3-methylphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
 7-(D-2,6-dimethoxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre,
 7-[D-2-(3-thienyl)glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

som amfotere ioner og pharmaceutisk acceptable salte deraf.

Forbindelser med ovennævnte formel I, hvor R¹ er hydrogen eller pharmaceutisk acceptable ikke-toxiske salte deraf, er værdifulde antibiotika, der er anvendelige til at bekæmpe infektioner i varmblodede pattedyr, infektioner, der er forårsaget af gram-positive og gram-negative mikroorganismer. De er også effektive, når de indgives parenteralt, f.eks. subcutant eller intramuskulært, samt når de indgives oralt.

7- α -aminoacyl-3-halogen-cephalosporiner har et bredt spektrum af antibakteriel virkning som illustreret af in vitro spektret for 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, der ses af følgende tabel:

Tabel I nedenfor angiver den minimale hæmningskoncentration (MIC) i μg pr. ml, der er opnået med denne forbindelse i standard-agar-fortyndingsforsøget.

Tabel I

7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre in vitro spektrum.

Organisme*	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Staphylococcus aureus 3055	1
Staphylococcus aureus 3074	1
Streptococcus faecalis X66	16
Proteus morganii PR15	>128
Salmonella typhosa SA12	<0,5
Klebsiella pneumoniae KL14	0,2
Enterobacter aerogenes EB17	8
Serratia marcescens SE3	>128
Escherichia coli EC14	2
Citrobacter freundii CF17	>128
Pseudomonas aeruginosa X239	>128
Bordetella bronchiseptica 16	64

Tabel I (forts.)

Organisme*	MIC (µg/ml)
Salmonella typhimurium	1
Pseudomonas solanacearum X185	>128
Erwinia amylovora	1

* Tal og/eller bogstaver efter navnet på organismen refererer til stammen.

Tabel II nedenfor angiver diameter i millimeter af hæmningszonen gældende for den angivne mikroorganisme i standardpladeforsøget opnået med 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

Tabel II

Mikroorganisme	Hæmningszone* (mm-diameter)		
	Koncentration (mg/ml)		
	1,0	0,1	0,01
Staphylococcus aureus	35	28	20
Bacillus subtilis	44	32	21
Sarcina lutea	48	27	27
Mycobacterium avium	24	Tr	--
Proteus vulgaris	23	Tr	--
Salmonella gallinarum	35	25	13
Escherichia coli	30	20	11
Klebsiella pneumoniae	28	20	12
Pseudomonas solanacearum	32	23	--

* Tr indikerer spor af en zone

En strek (--) angiver, at der ikke er observeret nogen zone.

I tabel III nedenfor er vist den minimale hæmningskoncentration opnået med 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre over for et spektrum af gram-positive og gram-negative mikroorganismer i agar-fortyndingsforsøget.

Tabel III

In vitro antibiotisk spektrum af 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

Testorganisme*	Minimal hæmnings- koncentration MIC µg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> 3055	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 3123	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 3074	2,0
<i>Streptococcus</i> (gruppe D) 9901	64
<i>Enterobacter cloacae</i> EB9	>128
<i>Enterobacter aerogenes</i> EB17	64
<i>Escherichia coli</i> EC14	1,0
<i>Escherichia coli</i> EC35	2,0
<i>Escherichia coli</i> EC38	1,0
<i>Klebsiella</i> sp. KL3	<0,5
<i>Klebsiella</i> sp. KL14	2,0
<i>Klebsiella</i> sp. KL25	2,0
<i>Proteus mirabilis</i> PR6	1,0
<i>Proteus morganii</i> PR1	128
<i>Proteus rettgeri</i> PR9	>128
<i>Proteus rettgeri</i> PR2	>128
<i>Salmonella</i> SA12	<0,5
<i>Shigella</i> sp. SH3	2,0

* Tal og/eller bogstaver efter organismens navn henfører til stammen.

I standard-agar-fortyndingsforsøget viste 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre aktivitet over for *Hemophilus influenzae* med en MIC-værdi på 1 - 4 mg/ml over for et antal stammer.

I tabel IV nedenfor er vist den orale absorption af 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre ved hjælp af de blod-

og urinkoncentrationer, der opnåedes i mus. Ved udførelsen af forsøget blev McAllister Swiss-mus, der vejede fra 11 til 13 gram, fastet natten over og blev indgivet oralt 20 mg/kg af 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre. Blod- og urinprøver blev udtaget ved de anførte intervaller, og koncentrationen af antibiotikum i hver prøve bestemtes ved et mikrobiologisk forsøg under anvendelse af *Sarcina lutea* i en agar med pH 6,0 ved et pladeforsøg.

Tabel IV

7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre
Koncentration i blod og urin

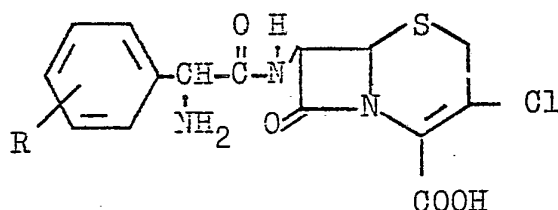
Mus nr.	Koncentration (µg/ml) efter følgende tider (min.)						
	5	15	30	60	90	120	240
1	29,1	16,2	11,6	3,5	1,2	0,5	0,2
2	23,7	19,2	11,0	5,2	3,2	2,0	0,6
3	17,6	10,1	9,1	5,7	2,1	1,3	0,7
4	23,3	13,6	10,1	4,0	1,6	1,6	1,0
Gennemsnit i blod	23,4	14,8	10,5	4,6	2,0	1,4	0,6
Gennemsnit i gennemsnitsprøve af urinen	--	1474	1764	843	305	308	226

Den effektive dosis (ED_{50}) for 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, der er illustrativ for den effektive dosis af forbindelserne ifølge opfindelsen, er 0,74 mg/kg x 2 indgivet oralt og 0,48 mg/kg x 2 s.c. over for *Streptococcus pyogenes* og 5,5 mg/kg x 2 oralt over for *Escherichia coli* og 17,6 mg/kg x 2 oralt over for *Diplococcus pneumoniae* bestemt i mus.

Tabel V nedenfor angiver den minimale hæmningskoncentration for illustrative 3-halogen-3-cephem-forbindelser ifølge opfindelsen over for repræsentative gram-negative bakterier. Hæmningskoncentrationerne bestemtes ved gradient plade-metoden udført i det væsentlige som beskrevet i Science 116, 45 (1952). I tabel V refererer betegnelsen R til strukturformlen.

Tabel V

Antibiotisk virkning af substitueret 7-(phenylglycyl-amido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre over for gram-negative bakterier.

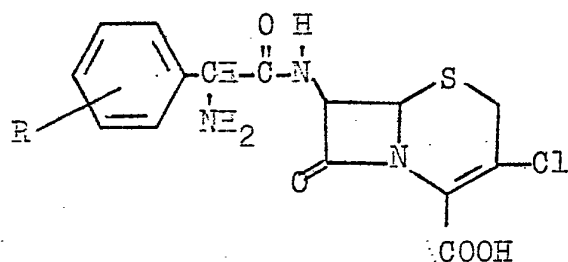


Testorganisme	Minimal hæmningskoncentration ($\mu\text{g/ml}$)				
	R	3-OH	4-OH	4-Cl	H
<i>Shigella</i> sp.	1,0	2,0	13,3	6,7	
<i>Escherichia coli</i>	1,0	2,0	17,2	5,7	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,9	1,5	8,0	0,9	
<i>Aerobacter aerogenes</i>	0,8	1,0	5,0	0,8	
<i>Salmonella heidelberg</i>	0,5	0,8	10,7	0,2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>200	>200	> 200	>200	

I følgende tabel VI er anført aktiviteten af repræsentative 3-halogen-3-cephem-forbindelser over for adskillige kliniske isolater af penicillin-resistente staphylococci. Aktiviteten er angivet i minimal hæmningskoncentrationer af den omhandlede forbindelse. Den minimale koncentration bestemtes ved gradient-plade-metoden.

Tabel VI

Antibiotisk virkning af substitueret 7-(phenylglycyl-amido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre over for penicillin-resistent Staphylococcus

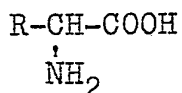


Staphylococcus ¹ stamme	Minimal hæmningskoncentration (µg/ml)				
	R	3-OH	4-OH	4-Cl	H
741		3,0/	5,0/	10,5/>20	11,5/>20
732		3,5/	7,0/	18 />20	17 />20
X400		>20	>20	>20 />20	>20 />20
784		0,5/	0,6/	3,0/>20	2,7/ 15
X1.1		0,4/	0,6/	0,4/0,7	0,4/1,0

1/ Bogstav-tal-betegnelsen refererer til stammer af kliniske isolater af penicillin-resistent staphylococcus.

2/ I kolonnerne er værdien ovenfor skråstregen den minimale hæmningskoncentration i fravær af humant serum. Værdien under stregen er, når den er til stede, den minimale hæmningskoncentration i nærværelse af humant serum.

Forbindelserne ifølge opfindelsen er ejendommelig ved det i den kendetegnende del af kravet anførte. De kan fremstilles ved N-acylering af en 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyre eller en ester deraf, f.eks. benzyl, p-methoxybenzyl, p-nitrobenzyl, diphenylmethyl, 2,2,2-trichlorethyl, trimethylsilyl eller tert.-butylester, med et aktivt derivat af en phenyl, thienyl eller furyl substitueret glycin med formelen:



hvor R har samme betydning som i formel I. Ved acyleringen beskyttes aminogruppen i glycinen, f.eks. som et salt, såsom hydrogenchlorid, eller med en af de sædvanligt anvendte aminobeskyttende grupper, som f.eks. tert.-butyloxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, p-nitrobenzyloxycarbonyl, trichlorethoxycarbonyl eller tritylgruppen, eller enaminer dannet med methylacetoacetat og acetylacetone og lignende grupper. Aktiverede derivater af carboxylsyregruppen i den substituerede glycin kan være syrehalogenider, såsom syrechlorider, aktiverede estre, såsom de, der dannes med pentachlorphenol, azid eller et blandet anhydrid dannet med glycin og methylchlorformat og isobutylchlorformat. Ligeledes kan den aminobeskyttede glycin anvendes direkte i acyleringen af den ønskede 3-halogenkerneester ved at anvende et kondenseringsmiddel, såsom N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ). For eksempel omsættes p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat med N-(tert.-butyloxycarbonyl)-D-phenylglycin i et tørt inert opløsningsmiddel, f.eks. tetrahydrofuran, til dannelselse af p-nitrobenzyl-7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat.

Generelt kan man anvende enhver af de kendte amid-koblingsmetoder ved acyleringen af 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyre eller -estre. Når det aktiverede derivat er et syrehalogenid, udføres acyleringen i nærværelse af et hydrogenhalogenidbindende middel, såsom natriumbicarbonat, pyridin, natriumbisulfit eller en alkylenoxid, såsom propylenoxid. Når et blandet anhydrid anvendes ved acyleringen, kan det dannede anhydrid dannes ved hjælp af N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ). Når en N-beskyttet phenyl, thienyl eller furylglycin anvendes, kan acyleringen udføres i nærværelse af et kondenseringsmiddel, såsom N,N'-dicyclohexylcarbodiimid.

Illustrativ for substituerede glyciner, der kan anvendes til fremstilling af de omhandlede forbindelser, er D-phenylglycyl-chlorid, -hydrochlorid, D-4-hydroxyphenylglycyl-chlorid, -hydrochlorid, pentachlorphenyl-D-phenyl-N-(tert.-butyloxycarbonyl)glycinat, pentachlorphenyl-D-2-thienyl-N-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl)-

glycinat, N-(tert.-butyloxycarbonyl)-D-phenylglycin, N-(1-carbomethoxy-2-propenyl)-D-phenylglycin, 3-thienylglycylchlorid, hydrochlorid, N-(tert.-butyloxycarbonyl)-2-thienylglycin eller N-(tert.-butyloxycarbonyl)-2-furylglycin.

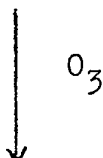
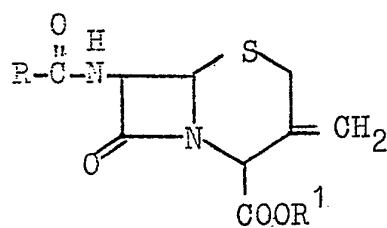
Acyleringen udføres i et inert opløsningsmiddel, f.eks. i acetone, acetonitril, dimethylformamid eller methylenchlorid og fortrinsvis ved en temperatur på $-20 - +20^{\circ}$ C. For eksempel fremstilles 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre ved at omsætte D-phenylglycylchlorid, hydrochlorid med p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat i acetonitril i nærværelse af propylenoxid. Estergruppen fjernes dernæst ved hydrogenering.

Typiske forbindelser, der kan benyttes som udgangsmaterialer ved fremstillingen af de omhandlede forbindelser, er 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat, diphenylmethyl-7-amino-3-brom-3-cephem-4-carboxylat eller diphenylmethyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat.

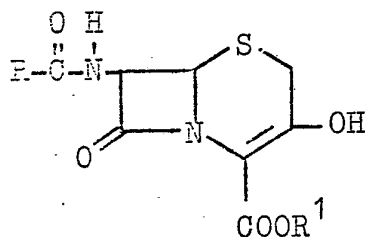
7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyre og -estre fremstilles på følgende måde: En 7-acylamido-cephalosporansyre eller en ester deraf omdannes til en 7-acylamido-3-exomethylencepham-4-carboxylsyre eller ester. Esteren af 3-exomethylencepham-forbindelsen oxideres med ozon til dannelsen af et mellemprodukt i form af et ozonid, der dekomponeres til opnåelse af 7-acylamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylsyreester. Denne chloreres eller bromeres til frembringelse af den tilsvarende 3-halogen-3-cephem-forbindelse. 7-acylgruppen i denne forbindelse fjernes ved velkendt sidekæde-spaltningssreaktion, idet der anvendes phosphor-pentachlorid i pyridin til opnåelse af iminokloridderivatet af sidekæden, der dernæst omsættes med en alkohol, såsom methanol, til opnåelse af iminoetheren, der herefter nemt hydrolyseres til opnåelse af 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyreesteren.

For eksempel omsættes en 7-acylamido-cephalosporansyre, såsom 7-phenoxyacetamidocephalosporansyre, med en svovlholdig nucleophil forbindelse ifølge velkendte metoder til udøvelse af en nucleophil substitution af acetoxygruppen i cephalosporansyren og

til frembringelse af en 7-acylamido-3-thiosubstitueret-methyl-3-cephem-4-carboxylsyre. Denne reduceres dernæst med zink/myresyre i nærværelse af dimethylformamid eller med Raney-nikkel i nærværelse af hydrogen til opnåelse af en 7-acylamido-3-exomethylencephem-4-carboxylsyre. For eksempel omsættes 7-phenoxyacetamido-3-acetoxymethyl-3-cephem-4-carboxylsyre med kaliummethylxanthat til opnåelse af 7-phenoxyacetamido-3-ethoxythionocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre. Reduktion af sidstnævnte forbindelse med zink og myresyre i nærværelse af dimethylformamid giver 7-phenoxyacetamido-3-exomethylencephem-4-carboxylsyre. På lignende vis kan en lang række 7-acylamido-cephalosporansyrer omsættes med en lang række svovlholdige nucleophile forbindelser til opnåelse af 3-thio-substitueret-methyl-3-cephem-forbindelser. For eksempel kan 7-acylamidogruppen være en heterocyclisk kæde, f.eks. 2-thienylacetamido eller 2-furylacetamido, eller det kan være en alkanoylsidekæde som eksemplificeret af acetamido eller en lang række andre sidekæder. Ligeledes kan den svovlholdige nucleophil være en lang række forbindelser, såsom thicurstof og substituerede thiourinstoffer, der reagerer med cephalosporansyrer til opnåelse af isothiouroniumsalte, thiobenzoater, mercaptopyridin-N-oxid, 1-methyl-tetrazol-5-thiol, 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-thiol og andre svovlholdige nucleophile forbindelser. Efter den reductive substitutionsreaktion beskrevet ovenfor kan den således fremstillede 3-exomethylencephem-4-carboxylsyre esterificeres for eksempel med p-nitrobenzylbromid, p-methoxybenzylbromid, diphenyldiazomethan eller 2,2,2-trichlorethylchlorformat eller en anden esterdannende forbindelse, og 3-exomethylencephemesteren omsættes med ozon til opnåelse af 3-hydroxy-3-cephem-esteren. Ozonolysereaktionen af en 3-exomethylencephemester udføres i et inert opløsningsmiddel ved en temperatur på $-80 - 0^{\circ}\text{C}$ og fortrinsvis mellem -80 og -50°C til dannelsen af det mellemliggende ozonid. Dette dekomponeres in situ i kulden til opnåelse af den tilsvarende 3-hydroxy-3-cephem-ester som illustreret i følgende reaktionsskema:



[ozonid]



I ovennævnte formel er R hydrogen eller resten af acylamido-gruppen som beskrevet ovenfor. For eksempel kan R være benzyl, phenoxymethyl, methyl, 2-thienylmethyl eller 2-furylmethyl, og R¹ har samme betydning som defineret i formel I.

Ozonolysen af 3-exomethylencephamesteren udføres ved at lede ozon gennem en opløsning af esteren i et inert opløsningsmiddel, indtil ozoniddannelsen er tilendebragt. Inerte opløsningsmidler, der kan anvendes, er de opløsningsmidler, hvori 3-exomethylencephamestere i det mindste delvis er opløselige, og som ikke reagerer med ozon under de beskrevne betingelser. Sædvanligvis anvendte opløsningsmidler er methanol, ethanol, ethylacetat, methylacetat, isoamylacetat og methylenchlorid.

Ozongassen fremstilles ved hjælp af en ozongenerator af den type, der sædvanligvis anvendes ved syntese og analytisk arbejde. Sådanne generatore fremstiller ozon ved indvirkning af en elektrisk spænding på oxygen. En sådan ozongenerator sælges af Wells-

Koncentrationen af 3-exomethylencephamester-udgangsmaterialet i det inerte opløsningsmiddel er ikke kritisk, og det foretrakkes at anvende et opløsningsmiddel-volumen, der er tilstrækkeligt til at danne en fuldstændig opløsning.

3-hydroxy-3-cephem-estre udvindes fra reaktionsblandingen ved at afdampe de flygtige opløsningsmidler fra blandingen, hvorved der opnås en reaktionsproduktblanding som remanens, hvorefter der omkrystalliseres. Den således dannede 7-acetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylsyreester halogeneres dernæst til opnåelse af 7-acylamido-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyreesteren.

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 - \text{N} = \text{C} - \text{X} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} + \begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{X}^- \end{array}$$

hvor X og X^- repræsenterer henholdsvis chlor eller brom, og chlo-

rid eller bromid. Det reaktive halogeniminiumhalogenid med ovennævnte formel dannes in situ og er et meget reaktivt chlorerings- eller bromeringsmiddel. Chlor- og bromforbindelser, der danner ovennævnte iminiumhalogenid, indbefatter sædvanligvis anvendte chloreringsmidler, såsom phosgen (carbonylchlorid), oxalylchlorid, thionylchlorid og phosphorchlorider, såsom f.eks. phosphortrichlorid og phosphoroxychlorid (phosphorylchlorid). Bromeringsmidler, der kan anvendes i nærværende opfindelse, omfatter carbonyldibromid, oxalylbromid, thionylbromid (svovloxybromid) og phosphorbromider, phosphoroxybromid og phosphortribromid. Phosphor-pentachlorid kan anvendes ved fremstilling af 3-chlor-3-cephem-forbindelser ifølge opfindelsen. Imidlertid reagerer dette middel samtidigt med 7-acylamido-sidekæden i udgangsmaterialet til dannelselse af iminoklorid, der er det reaktive mellemprodukt i den velkendte cephalosporinsidekædespaltningsreaktion. Derfor foretrækkes det at anvende et af de andre chloreringsmidler.

Chloreringen og bromeringen udføres ved at sætte halogeneringsmidlet til en opløsning af 3-hydroxy-3-cephem-esteren i tør dimethylformamid ved en temperatur på 5 - 15° C og at lade reaktionsblandingen stå ved stuetemperatur i 4 - 8 timer eller længere. Reaktionen er til at begynde med exotherm, og derfor køles reaktionsbeholderen først i et is-vandbad og holdes dernæst ved 25° C under resten af reaktionen. Dimethylformamid tørres fortrinsvis før anvendelse over en molekylsigte. Selv om reaktionen kan udføres i dimethylformamid som opløsningsmiddel, kan der sammen med dimethylformamid anvendes et andet opløsningsmiddel. For eksempel kan der anvendes tetrahydrofuran, dioxan, methylenchlorid, dimethylacetamid eller dimethylsulfoxid som co-opløsningsmiddel.

3-chlor- eller 3-brom-3-cephem-estre udvindes fra reaktionsproduktblandingen ved at hælde denne i en vand-ethylacetatblanding og at separere den organiske fase indeholdende produktet. Den organiske fase vaskes, tørres og inddampes til opnåelse af 3-halogen-3-cephem-esteren som en amorf remanens. Dette produkt opnås i mange tilfælde krystallinsk ved at behandle remanensen med ether eller med n-hexan. Ved at følge fremstillingen af 7-acylamido-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyreestre som beskrevet ovenfor opnås de respektive 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carb-

oxylatsyreestre ved at udføre den velkendte N-deacylering af 7-acylamido-sidekæden. For eksempel omsættes 7-acylamido-3-halogen-cephalosporinesteren med phosphorpentachlorid i methylenchlorid i nærværelse af pyridin til dannelselse af iminochloridet. Dette omsættes med et alkoholisk opløsningsmiddel, såsom methanol eller isobutanol til opnåelse af den tilsvarende iminoether. Denne hydrolyseres til opnåelse af 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyre som et hydrogenchloridsalt.

Som tidligere nævnt kan 7-amino-3-halogen-udgangsmaterialet acyleres enten som frie syrer eller som estre deraf. Acyleringen af 7-amino-3-halogen-kernen udføres som tidligere beskrevet.

En ændret fremstillingsmetode for de omhandlede forbindelser går ud på at omsætte 7-phenoxyacetamido-cephalosporansyre med thiourinstof til opnåelse af isothiuroniums salt ved substitution af acetoxygruppen i 3-stilling i cephalosporansyrens dihydrothiazinring. Isothiuroniums saltet omsættes dernæst med zink og overskud af 90% myresyre i nærværelse af dimethylformamid ved en temperatur på 25° C til opnåelse af 7-phenoxyacetamido-3-exomethylencepham-4-carboxylsyre. Denne esterificeres med p-nitrobenzylbromid i nærværelse af et hydrogenhalogenidbindende middel til opnåelse af 3-exomethylencepham-4-carboxylsyre-p-nitrobenzylester. Denne ozoniseres i methylenchlorid ved en temperatur på -70° C, og ozonolyseblandingen behandles med svovldioxid for at dekomponere ozonidet til opnåelse af p-nitrobenzyl-7-phenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat. 3-hydroxy-esteren omsættes dernæst med phosphortrichlorid i tør dimethylformamid til opnåelse af p-nitrobenzyl-7-phenoxyacetamido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat. 3-chlor-esteren omsættes dernæst i methylenchlorid med phosphorpentachlorid i nærværelse af pyridin til opnåelse af iminochlorid-mellemproduktet in situ, der dernæst omsættes med methanol til opnåelse af den tilsvarende iminoether. Ved tilsætning af vand til reaktionsblandingen dekomponeres iminoetheren, hvorved der opnås p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat. 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyreesteren kan dernæst acyleres som tidligere beskrevet med D-phenylglycylchlorid, hydrochlorid eller med et aminobeskyttet D-phenylglycylderivat til opnåelse af 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, p-nitrobenzylester eller et N-beskyttet derivat deraf. Efter

fjernelse af den α -amino-beskyttende gruppe og C₄-carboxylsyre-estergruppen opnås der 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre. Det er klart fra den foregående beskrivelse af fremstilling af udgangsmaterialerne, at der kan anvendes en lang række kendte 7-acylamidocephalosporansyrer ved fremstilling af 7-amino-3-halogen-3-cephem-4-carboxylsyrer.

Særlig foretrukne forbindelser med formel I er sådanne, hvor X betegner chlor, R¹ er hydrogen, og R er phenyl og pharmaceutisk acceptable, og ikke-toxiske salte deraf. For eksempel er 7-(D- α -phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre en foretrukken forbindelse.

En anden foretrukken gruppe af forbindelser ifølge opfindelsen er de, der er repræsenteret ved formel I, hvor R er hydroxyphenyl, R¹ er hydrogen, og X er chlor, samt pharmaceutisk acceptable, ikke-toxiske salte deraf. Illustrativt for sådanne forbindelser er

7-(D- α -4-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre
 og
 7-(D- α -3-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

Et særligt foretrukket antibiotika ifølge opfindelsen er 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

Følgende eksempler illustrerer nærmere fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Eksempel 1

p-nitrobenzyl-7-amino-3-methylencepham-4-carboxylat, hydrochlorid

Til en opløsning af 965 mg (2 mmol) p-nitrobenzyl-7-phenoxyacetamido-3-methylencepham-4-carboxylat i 10 ml methylenchlorid sættes 175 mg tør pyridin og 460 mg phosphorpentachlorid, og blandingen omrøres ved stuetemperatur i 6 timer. 1 ml isobutanol sættes til blandingen, der henstod ved 0°C natten over. Reaktionsproduktet, p-nitrobenzyl-7-amino-3-methylencepham-4-carboxylat, hydrochlorid, der dannedes som et krystallinsk bundfald,

filtreredes til opnåelse af 430 mg (58 % udbytte).

Grundstof-analyse for $C_{15}H_{16}N_3O_5SCl$:

teoretisk: C 46,69 - H 4,18 - N 10,89.

fundet: C 46,40 - H 4,20 - N 10,62.

I.R. (Nujol Mull):

Carbonylabsorption ved

5,65 (β -lactam) og

5,75 (ester) μ .

N.M.R. (DMSO d_6):

Signaler ved

6,34 (2d, 2H, C_2-H_2),

4,98 (d, 1H, C_6-H),

4,7 - 4,4 (m, 6H, C_4-H , ester CH_2 , C_4-CH_2 og C_7-H) og

2,4 - 1,6 (m, 4H, aromatisk H) tau.

Eksempel 2

p-nitrobenzyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat,hydrochlorid

En opløsning af 4 g p-nitrobenzyl-7-amino-3-methylencepham-4-carboxylat, hydrochlorid i 620 ml methanol afkøledes i et tørre-acetone-bad, og ozon bobledes igennem den kolde opløsning i 20 minutter. Reaktionsblandingen befriedes for den tiloversblevne ozon ved at lede nitrogen igennem opløsningen, og 10 g natriumbisulfit tilsattes.

Reaktionsblandingen omrørtes en time ved $0^\circ C$, hvorefter blandingen gav en negativ kaliumiodid-stivelsesprøve.

Blandingen inddampedes i vakuum til opnåelse af et reaktionsprodukt som et amorf gult fast stof. Remanensen omkrystalliseredes i acetone til opnåelse af 3,4 g p-nitrobenzyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat,hydrochlorid som et krystallinsk acetonesolvat.

I.R. (Nujol Mull):

Carbonyl-absorptionsbånd ved
5,60 (β-lactam) og
6,04 (estercarbonylhydrogen bundet til 3-hydroxy) μ .

N.M.R. (DMSO d_6):

Signaler ved
7,92 (s, 3H, 1/2 mol acetone),
6,22 (2d, 2H, C_2-H_2),
5,07 (d, 1H, C_6H),
4,8 - 4,5 (m, 3H, ester CH_2 og C_7H),
2,4 - 1,6 (m, 4H, aromatisk H) tau.

Eksempel 3

p-methoxybenzyl-7-phenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat

En opløsning af 2,5 g p-methoxybenzyl-7-phenoxyacetamido-3-methylencephem-4-carboxylat i 350 ml ethylacetat afkølede i et acetone-iznrisbad. Ozon bobledes igennem den kolde opløsning i 8 minutter, og dernæst ledtes oxygen igennem den ozoniserede reaktionsblandning for at fjerne overskud af ozon. Mellemproduktet dekomponeredes ved at sætte 25 g natriumbisulfit til reaktionsblandingen under omrøring ved en temperatur på 0° C. Reaktionsopløsningen dekanteredes og vaskedes successivt med vand, 5 % hydrogenchloridsyre og en mættet opløsning af natriumchlorid. Vaskeblandingen tørredes og afdampedes til opnåelse af et reaktionsprodukt, nemlig p-methoxybenzyl-7-phenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat som et amorf fast stof.

N.M.R. ($CDCl_3$):

Signaler ved
6,73 (s, 2H, C_2-H_2),
6,23 (s, 3H, p-methoxy),
5,53 (d, 1H, C_6H),
5,03 (d, 1H, C_6H),
4,87 (s, 2H, ester CH_2),
4,47 (q, 1H, C_7H),
3,40 - 2,50 (m, 9H, aromatisk H),
2,33 (d, 1H, amid NH) og
1,53 (bred s, 1H, 3 OH) tau.

Eksempel 4

p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-
carboxylat

Til en opløsning af 1,55 g p-nitrobenzyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat, hydrochlorid i 30 ml acetone indeholdende 364 mg (0,5 ml, 3,6 mmol) triethylamin sættes 962 mg urinstof. Under omrøring ved stuetemperatur tildryppedes en opløsning af 730 mg (4,4 mmol) 2-thiophenacetylchlorid i 20 ml acetone. Efter 2,5 timer filtreredes reaktionsblandingen og ind-dampedes. Remanensen opløstes i ethylacetat, og opløsningen vaskedes successivt med vand, en 5 % opløsning af natriumbicarbonat, 5 % hydrogenchloridsyre og en mættet opløsning af natriumchlorid. Den vaskede opløsning tørredes og koncentreredes dernæst ved inddampning i vakuum til opnåelse af 1,2 g af reaktionsproduktet som et krystallinsk fast stof. Produktet omkrystalliseredes fra ethylacetat til opnåelse af rent p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat, der har følgende spektrale egenskaber:

I.R. (Nujol Mull):

Absorptionstoppe ved
 3,0 (amid NH),
 5,68 (3-lactam-carbonyl) og
 6,1 (amid og esterhydrogen bundet til 3 OH) μ .

N.M.R. (CDCl_3 /DMSO d_6):

Signaler ved
 6,54 (2d, 2H, C_2H_2),
 6,16 (s, 2H, sidekæde CH_2),
 4,90 (d, 1H, C_6H),
 4,60 (d, 2H, ester CH_2),
 4,43 (q, 1H, C_7H),
 3,1 - 1,6 (m, 7H, aromatisk H) og
 1,30 (d, 1H, amid NH) tau.

Eksempel 5p-nitrobenzyl-7-acetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat

En opløsning af 10 mmol p-nitrobenzyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat, hydrochlorid i en blanding af 325 ml acetone og 125 ml vand afkøledes i et is-vandbad. Under omrøring ledtes en strøm af ketengas igennem opløsningen i 30 minutter. Herefter indampedes reaktionsblandingen for at fjerne acetone, og den vandige remanens opslæmmedes i ethylacetat. Ethylacetatfasen frasepareredes og vaskedes med 5 % hydrogenchloridsyre og en mættet opløsning af natriumchlorid. Den vaskede ekstrakt tørredes og indampedes i vakuum til opnåelse af et reaktionsprodukt som et krystallinsk fast stof. Dette behandledes med diethylether og vakuuntørredes til opnåelse af 3,55 g p-nitrobenzyl-7-acetamido-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat, der smeltede ved 146 - 152° C under dekomponering.

Grundstof-analyse for $C_{16}H_{15}N_3O_7S$:

teoretisk: C 48,85 - H 3,84 - N 10,68.
 fundet: C 48,97 - H 3,96 - N 10,42.

I.R. ($CHCl_3$):

Absorptionsbånd ved
 2,9 og 3,0 (amid NH og OH),
 5,63 (β -lactam-carbonyl) og
 5,95 (bredt amid og estercarbonylhydrogen bundet
 til 3 OH) μ .

N.M.R. ($CDCl_3$):

Signaler ved
 7,90 (s, 3H, 7-acetamido- CH_3),
 6,55 (s, 2H, C_2H_2),
 4,92 (d, 1H, C_6H),
 4,63 (m, 2H, ester CH_2),
 4,30 (q, 1H, C_7H),
 2,81 (d, 1H, amid NH),
 2,5 - 1,8 (m, 4H, aromatisk H) og
 2,8 (s, 1H, C_3 OH) tau.

Elektrometrisk titrering (66 % vandig DMF)
pKa 5,9.

Eksempel 6

Diphenyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat

(a) Til en opløsning af 34 g (100 mmol) 7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-methylencepham-4-carboxylsyre i 500 ml methylenchlorid sættes 21,4 g (110 mmol) diphenyldiazomethan, og den fremkomne blanding omrørtes i 2 timer ved stuetemperatur. Opløsningsmidlet inddampedes under reduceret tryk, og remanensen opløstes i ethylacetat. Ethylacetatopløsningen vaskedes med en 5 % opløsning af natriumbicarbonat, dernæst med vand og tørredes over magnesiumsulfat. Den tørrede opløsning koncentreredes til et lille volumen. Ved henstand udfældedes 40 g diphenylmethyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-methylencepham-4-carboxylat som et krystallinsk fast stof, der smeltede ved 132 - 133° C.

I.R. (chloroform):

Absorptionstoppe ved

2,9 (amid N-H),

5,65, 5,75 og 5,93 (β-lactam, ester og amidcarbonyl) og

6,62 (amid II) μ.

N.M.R. (CDCl₃):

Signaler ved

6,72 (AB₂, 2H, C₂-H₂),

6,21 (s, 2H, α-CH₂),

4,83 - 4,65 (m, 4H, C₄-H, C₆-H og C₃-CH₂),

4,39 (q, 1H, C₇-H),

3,4 - 2,65 (m, 15H, C₇-NH, ester CH og aromatisk H) tau.

(b) Til en opløsning af 8,1 g (16 mmol) af ovennævnte ester i 80 ml methylenchlorid sættes 1,57 g (1,6 ml, 19,6 mmol) tør pyridin og 3,8 g (18,1 mmol) phosphorpentachlorid. Reaktionsblandingen omrørtes i 2 timer ved stuetemperatur og afkøledes derefter i et is-vandbad. Den kolde blanding behandledes med 8 ml isobutanol under omrøring. Omrøring fortsattes i 2 timer, hvorunder 3 g diphenylmethyl-7-amino-3-methylencepham-4-carboxylat, hydrochlorid

dannedes som et krystallinsk bundfald. Produktet filtreredes fra og vaskedes med methylenchlorid og vakuumtørredes.

Grundstof-analyse (%) for $C_{21}H_{21}N_2O_3SCl$:

teoretisk: C 60,50 - H 5,08 - N 6,72 - Cl 8,50.
fundet: C 60,70 - H 5,02 - N 6,71 - Cl 8,80.

N.M.R. (DMSO d_6):

Signaler ved

6,45 (ABq, 2H, C_2-H_2),
5,00 (d, 1H, C_6-H),
4,68 (d, 1H, C_7-H),
4,60 (s, 2H, 3- CH_2),
4,44 (s, 1H, C_4-H),
3,10 (s, 1H, ester CH) og
2,61 (s, 10H, aromatisk H) tau.

(c) 7-amino-3-oxomethylencephamester, hydrochloridsaltet, i alt 2,1 g (5 mmol) opløstes i 200 ml methanol, og opløsningen afkøledes i et acetone-tørribad. Ozon bobledes igennem den kolde opløsning i 7 minutter til dannelse af ozonidet. Dette dekomponeredes ved at lede en strøm af svovldioxidgas igennem reaktionsblandingen i 2 minutter. Herefter indampedes reaktionsblandingen, og reanensen behandledes med diethylether til opnåelse af 1,6 g diphenylmethyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat, hydrochlorid som et krystallinsk fast stof.

N.M.R. ($CDCl_3$):

Signaler ved

6,4 (ABq, 2H, C_2-H_2),
5,0 - 4,5 (m, 2H, C_6-H og C_7-H),
3,2 - 2,4 (m, 11H, ester CH og aromatisk H) tau.

I.R. (chloroform):

Carbonylabsorptionstoppe ved

5,57 og 5,70 (henholdsvis β -lactam og estercarbonyl) μ .

U.V. (pH 7 buffer):

λ_{max} 275 μ , ϵ = 7550.

Elektrometrisk titrering (60 % aq. DMF):

titrerbare grupper ved 4,5 og 6,5.

(d) Til en opløsning af 840 mg diphenylmethyl-7-amino-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 10 ml vand og 10 ml acetone sættes 1 g natriumbisulfit. Blandingen omrørtes, og 800 mg thiophen-2-acetylchlorid i 10 ml acetone tilsattes dråbevis. Blandingen omrørtes i 4,5 timer ved stuetemperatur og inddampedes dernæst under reduceret tryk. Remanensen opløstes i en blanding af ethylacetat og en vandig 5 % opløsning af natriumbicarbonat. Ethylacetatfasen frasepareredes, vaskedes med vand og tørredes. Den tørrede opløsning inddampedes, og remanensen behandledes med ether til opnåelse af 500 mg diphenylmethyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat.

N.M.R. (CDCl_3):

Signaler ved

6,79 (s, 2H, $\text{C}_2\text{-H}_2$),

6,16 (s, 2H, $\alpha\text{-CH}_2$),

5,0 (d, 1H, $\text{C}_6\text{-H}$),

4,32 (q, 1H, $\text{C}_7\text{-H}$),

3,05 - 2,46 (m, 15H, $\text{C}_7\text{-NH}$, ester CH og aromatisk H) tau.

I.R. (chloroform):

Absorptionstoppe ved

2,9 (amid NH),

5,6, 5,73 og 5,95 (henholdsvis β -lactam, ester og amidcarbonyler) og

6,65 (amid II) μ .

(e) Til en opløsning af 4,2 g diphenylmethyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 44 ml tør dimethylformamid sættes 865 mg phosphortrichlorid. Blandingen omrørtes 1,5 timer ved stuetemperatur og udhældtes i en blanding af ethylacetat og 5 % vandig hydrogenchloridsyre. Ethylacetatfasen inddampedes, vaskedes med 5 % hydrogenchloridsyre, vand og tørredes dernæst. Den tørrede opløsning koncentreredes i vakuum, og produktet krystalliseredes. β -chloresteren filtreredes fra, vaskedes med kold ethylacetat og tørredes til opnåelse af 2,2 g.

Grundstof-analyse (%) for $C_{26}H_{21}N_2O_4S_2Cl$:

teoretisk: C 59,48 - H 4,03 - N 5,34 - Cl 6,75.
fundet: C 59,77 - H 4,25 - N 5,40 - Cl 6,91.

N.M.R. ($CDCl_3$):

Signaler ved

6,49 (ABq, 2H, C_2-H_2),

6,22 (s, 2H, $\alpha-CH_2$),

5,08 (d, 1H, C_6-H),

4,19 (q, 1H, C_7-H),

3,13 - 2,5 (m, 15H, C_7-NH , ester CH og aromatisk H) tau.

I.R. ($CHCl_3$):

Absorptionstoppe ved

2,9 (amid NE),

5,55, 5,72 og 5,90 (β -lactam, ester og amidcarbonyler) og

6,60 (amid II) μ .

U.V. (dioxan):

λ max 275 μ , ϵ =8700.

Eksempel 7

p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat (via thionylchlorid)

Til en opløsning af 1,9 g (4 mmol) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 10 ml dimethylformamid (tørret over en molekylesigte) sættes 950 mg (0,58 ml, 8 mmol) frisk destilleret thionylchlorid. Blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 6,5 timer og udhældtes i 100 ml ethylacetat. Blandingen ekstraheredes tre gange med 30 ml portioner 5 % hydrogenchloridsyre og med en mættet opløsning af natriumchlorid. Den vaskede ethylacetatopløsning filtreredes fra og inddampedes til tørhed i vakuum. Residualen behandledes med ether til opnåelse af 1,2 g p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat som et brunt krystallinsk fast stof med et smeltepunkt på 164 - 166° C.

Grundstof-analyse (%) for $C_{20}H_{16}N_3O_6S_2Cl$:

teoretisk: C 48,63 - H 3,27 - N 8,51 - Cl 7,18.
fundet: C 48,47 - H 3,29 - N 8,78 - Cl 6,96.

I.R. (chloroform):

Absorptionsbånd ved
2,9 (amid NH),
5,59 (β-lactamcarbonyl),
5,75 (estercarbonyl) og
5,92 μ (amidcarbonyl).

U.V. absorptionsspektrum (acetonitril)

viste maxima ved
 λ max 255 μ , ϵ 12.100 og
 λ max 268 μ , ϵ 15.800.

Massespektret af produktet viste en molekylærion på 493 m/e.

N.M.R. ($CDCl_3$) viste

signaler ved
6,39 (ABq, 2H, C_2-H_2),
6,17 (s, 2H, $\alpha-CH_2$),
4,99 (d, 1H, C_6-H),
4,64 (s, 2H, ester CH_2),
4,19 (q, 1H, C_7-H),
3,45 (d, 1H, C_7-NH),
3,1 - 1,67 (m, 7H, aromatisk H) tau.

Eksempel 8

p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat (via phosphortrichlorid)

Til en afkølet opløsning af 439 mg (0,93 mmol) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 4,4 ml dimethylformamid sættes langsomt 85 mg (0,05 ml, 0,63 mmol) phosphortrichlorid. Reaktionsblandingen henstod 4 timer ved stuetemperatur, og derefter bearbejdedes reaktionsproduktet ved at følge metoden beskrevet i eksempel 6 til opnåelse af 374 mg p-nitro-

benzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat. NMR-spektret af produktet stemte overens med det forventede produkt og med forbindelsen i eksempel 7.

Eksempel 9

7-phenoxyacetamido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

Ved at følge chloreringsmetoden i eksempel 6 fremstilledes p-nitrobenzyl-7-phenoxyacetamido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat med phosphortrichlorid. p-nitrobenzylestergruppen fjernedes ved hydrogenering med hydrogen og 5 % palladium-på-carbon til opnåelse af 3-chlorcephalosporansyreantibiotiket.

Eksempel 10

p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat (via oxalylchlorid)

Til en opløsning af 439 mg (0,93 mmol) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 4,4 ml dimethylformamid afkølet i et isbad sættes dråbevis 118 mg (0,07 ml, 0,93 mmol) oxalylchlorid. Reaktionsblandingen henstod i 4 timer ved stuetemperatur og udhældtes i en blanding af vandig 5 % hydrogenchloridsyre og ethylacetat. Den organiske fase separeredes fra og vaskedes dernæst sekventielt med 5 % hydrogenchloridsyre, vand og en mættet opløsning af natriumchlorid. Den vaskede fase tørredes og inddampedes til tørhed, hvorved der opnåedes p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat som et amorft fast stof. Produktet blev opnået krystallinsk ved behandling med ether. Udbytte 360 mg. Det infrarøde spektrum og NMR-spektret af det krystallinske produkt stemte med spektret for et autentisk materiale.

Eksempel 11

7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en opløsning af 19 g (40 mmol) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 300 ml tør dimethyl-

formamid sættes 15 g (56 mmol) phosphortribromid, og reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur natten over. Reaktionsblandingen udhældtes i en blanding af ethylacetat og vand, og den organiske fase frasepareredes og vaskedes derefter gentagne gange med vand og tørredes over magnesiumsulfat. Den tørrede organiske fase indampedes i vakuum til tørhed. Det rå reaktionsprodukt, der vejede ca. 9 g, oprensedes ved kromatografi over 500 g silica-gel under anvendelse af ethylacetat-hexan (55:45 v:v) som elueringsmiddel. Eluatet indampedes til tørhed under reduceret tryk, og produktet p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-brom-3-cephem-4-carboxylat opnåedes krystallinsk ved at behandle den tørre remanens med diethylether.

U.7. (ethanol):

λ max. 270 m μ (ϵ =13.300) og

λ max. 243 m μ (ϵ =12.700).

Grundstof-analyse beregnet for $C_{20}H_{16}BrN_3O_6S_2$:

teoretisk: C 44,61 - H 3,00 - N 7,81 - Br 14,84.

fundet: C 44,78 - H 3,03 - N 7,65 - Br 14,91.

NMR-spektrum (DMSO d_6):

Signaler ved

6,21 (2H, α -CH₂),

5,98 (AB₂, 2H, C₂-H₂),

4,72 (d, 1HC₆-H),

4,51 (s, 2H, ester-CH₂),

4,20 (q, 1H, C₇-H),

3,04 - 1,74 (m, 7H; aromatisk H) og

0,66 (d, 1H, C₇-CH) tau.

Ovennævnte 3-bromester deesterificeredes på følgende måde:

545 mg (1,0 mmol) af esteren hydrogeneredes ved stuetemperatur i ethanol i nærværelse af prereduceret 5 procent palladium-på-carbon katalysator. Katalysatoren filtreredes fra, og filtratet indampedes under reduceret tryk til tørhed. Remanensen behandles med diethylether til opnåelse af 180 mg (44 %) af det krystallinske produkt, 7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre.

Elektrometrisk titrering (66 % vandig dimethylformamid) viste en pKa på 4,4 og en tilsyneladende molekylvægt på 393.

Beregnet molekylvægt = 403.

Grundstof-analyse for $C_{13}H_{11}BrN_2O_4S_2 \cdot 1/2$ diethyletherat:

teoretisk: C 40,91 - H 3,66 - N 6,36 - Br 18,15.
fundet: C 41,29 - H 3,20 - N 6,29 - Br 18,50.

NMR ($CDCl_3$) viste

signaler ved

8,8 (t, diethylether- CH_3),
6,68 - 5,86 (m, C_2-H_2 , $\alpha-CH_2$ og diethylether- CH_2),
4,90 (d, 1H, C_6-H),
3,0 - 2,63 (m, 3H, aromatisk-H) og
1,9 (d, 1H, amid NH) tau.

Eksempel 12

(a) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-methylsulfonyl-
oxy-3-cephem-4-carboxylat

Til en opløsning af 4,75 g (10 mmol) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)-acetamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat i 50 ml tør dimethylacetamid sættes 2 ml propylenoxid. Til opløsningen sættes under omrøring en ækvivalent methansulfonylchlorid, og omrøringen fortsættes i 3 timer. Reaktionsblandingen opløstes i ethylacetat, og opløsningen vaskedes med en mættet opløsning af natriumchlorid. Den vaskede organiske fase inddampedes i vakuum til tørhed, hvorved der opnåedes en reaktionsproduktblanding som en remanens. Denne oprensedes ved preparativ tyndtlagskromatografi på silica-gel under anvendelse af 65 % ethylacetat/hexan som elueringsmiddel.

Det oprensede produkt gav følgende procentvise sammensætning ved mikroanalyse:

Beregnet for $C_{21}H_{19}N_3O_9S_3$:

teoretisk: C 45,56 - H 3,46 - N 7,59 - S 17,38.
fundet: C 45,74 - H 3,56 - N 7,30 - S 17,06.

NMR-spektret og det infrarøde absorptionsspektrum stemte med strukturen af det dannede produkt.

(b) p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-fluor-3-cephem-4-carboxylat-----

Til 93 mg dicyclohexyl-18-crown-6-ether i 15 ml acetonitril tørret over molekylesigte sættes 25 mg kaliumfluorid, der var tørret i vakuum ved 90° C. Blandingen omrørtes i 10 minutter, og 138 mg p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-methylsulfonyloxy-3-cephem-4-carboxylat i 4 ml acetonitril tilsættes. Blandingen omrørtes i 1 time. Blandingen blev gjort sur ved tilsætning af fortyndet (5 %) hydrogenchloridsyre, og den fremkomne sure blanding ekstraheredes med ethylacetat. Det rene produkt opnåedes fra ethylacetatekstrakten ved præparativ tyndtlagskromatografi på silica-gel, idet ethylacetat:benzen (1:1) anvendtes. 10 mg p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-fluor-3-cephem-4-carboxylat opnåedes.

I.R.:

Absorptionstoppe ved
1792, 1740 og 1685 cm⁻¹.

NMR (CDCl₃) viste

signaler ved
6,15 (s, 2H, α-CH₂),
4,97 (d, 1H, J = 4 Hz, C₆-H),
4,20 (q, 1H, C₇-H),
3,52 (d, 1H, C₇-NH),
2,32 - 1,7 (m, 2H, C₂-H₂) tau.
Fluor NMR -- (d, J = 10 Hz).

M.S.: Beregnet -- 477.0465

Fundet -- 477.0455.

Eksempel 13

p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat,hydrochlorid

Til en opløsning af 500 mg p-nitrobenzyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat i 6 ml methylenchlorid sættes 95 mg tør pyridin og 237 mg phosphorpentachlorid. Reak-

tionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1,5 timer og afkøledes derefter i et is-vandbad til ca. 5°C , og der tilsattes 0,6 ml isobutylalkohol. Ved fortsat køling og omrøring krystalliseredes reaktionsproduktet, p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat,hydrochlorid, ud fra reaktionsblandingen. Produktet filtreredes, vaskedes med kold methylenchlorid og tørredes til opnåelse af 200 mg af det krystallinske produkt, der smeltede under dekomponering ved ca. 168°C .

Grundstof-analyse for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}\cdot\text{HCl}$:

teoretisk:	C 41,39	-	H 3,20	-	N 10,34	-	Cl 17,45.
fundet:	C 41,14	-	H 3,34	-	N 10,44	-	Cl 17,29.

I.R. (Nujol Mull):

viste absorptionsbånd ved
5,55 (β -lactamcarbonyl) og
5,78 (estercarbonyl) μm .

U.V. (pH 7 buffer):

viste absorptionsmaximum
 λ_{max} 268 μm ($\epsilon=13.800$).

N.M.R. ($\text{DMSO } d_6$):

Signaler ved
5,97 (s, 2H, $\text{C}_2\text{-H}_2$),
4,8 - 4,5 (m, 4H, $\text{C}_6\text{-H}$, $\text{C}_7\text{-H}$ og ester- CH_2) og
2,35 - 1,6 (1, 4H, aromatisk H) tau.

Eksempel 14

7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en opløsning af 750 mg (1,85 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat,hydrochlorid i 20 ml tetrahydrofuran og 40 ml methanol sættes en suspension af 750 mg præreduceret 5 % palladium-på-carbon katalysator i 20 ml ethanol, og suspensionen hydrogeneredes under et tryk på 50 psi ved stuetemperatur i 45 minutter. Katalysatoren filtreredes fra og vaskedes med tetrahydrofuran og vand. Filtratet og katalysatorvaskevandet

kombineredes og inddampedes til tørhed. Remanensen opløstes i en vand-ethylacetatblanding, og pH indstilledes til pH 3. Det uopløselige produkt filtreredes fra og behandledes med acetone. Produktet tørredes til opnåelse af 115 mg 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

I.R. (Mull):

Absorptionstoppe ved
5,61 (β -lactamcarbonyl) og
6,2 (carboxylsyre).

N.M.R. (D_2O - $NaHCO_3$):

Signaler ved
6,25 (ABq , 2H, C_2-H_2),
4,88 (d, 1H, C_6-H) og
4,54 (d, 1H, C_7-H) tau.

U.V. (pH 7 buffer):

Absorptionsmaximum ved
 λ max 265 m μ , ϵ =7550.

Eksempel 15

Diphenylmethyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat

Til en opløsning af 525 mg diphenylmethyl-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat i 20 ml methylenchlorid sættes 0,1 ml tør pyridin og 237 mg phosphorpentachlorid. Reaktionsblandingen omrørtes i 2 timer ved stuetemperatur og afkøledes dernæst i et is-vandbad. Den kolde blanding tilsattes 0,6 ml isobutanol, og efter 30 minutter inddampedes reaktionsblandingen. Remanensen opløstes i ethylacetat, og opløsningen vaskedes med 5 % natriumbicarbonat og med vand og tørredes dernæst. Den tørrede opløsning inddampedes til tørhed, og remanensen behandledes med ether til opnåelse af 190 mg 3-chlor-kerneesteren, diphenylmethyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat.

I.R. (Mull):

Absorptionstoppe ved
5,7 og 5,9 (β -lactam og estercarbonyl) μ .

N.M.R. (CDCl_3):

Signaler ved

6,35 (ABq, 2H, $\text{C}_2\text{-H}_2$),

4,78 (2d, 2H, $\text{C}_6\text{-H}$ og $\text{C}_7\text{-H}$),

3,05 (s, 1H, ester-CH) og

2,65 (s, 10H, aromatisk H).

Eksempel 16

Ved at følge 7-acylsidekædespaltningsreaktionen beskrevet i eksempel 13 fremstilledes diphenylmethyl-7-amino-3-brom-3-cephem-4-carboxylat ud fra diphenylmethyl-7-phenoxyacetamido-3-brom-3-cephem-4-carboxylat.

Eksempel 17

7-(D- α -phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en suspension af 280 mg (1,2 mmol) 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre i 14 ml acetonitril sættes under omrøring ved stuetemperatur 0,5 ml N,O-bis-(trimethylsilyl)acetamid til dannelse af det opløselige disilylmethylderivat. Opløsningen afkøledes til 0°C , og der tilsættes langsomt en opløsning af det blandede anhydrid dannet ved reaktion mellem 408 mg (1,5 mmol) methyl-3- α -carboxybenzylaminocrotonat, natriumsalt med 161 mg (1,7 mmol) methylchlorformat i nærværelse af 2 dråber dimethylbenzylamin i 7 ml acetonitril. Blandingen omrørtes i et isbad i 2 timer, og der tilsættes 1 ml methanol til blandingen, der dernæst filtreredes for at fjerne uopløselige urenheder. 2 ml vand sættes til filtratet, og pH indstilledes øjeblikkeligt til pH 1,5 for at udvirke fjernelse af enaminblokken og dernæst til pH 4,5 med triethylamin. Efter omrøring i yderligere 1 time ved isbadtemperatur udfældede reaktionsproduktet, 7-(D- α -phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre (anfoterion) fra reaktionsblandingen som et krystallinsk fast stof. Produktet filtreredes fra, vaskedes med acetonitril og tørredes i vakuum til opnåelse af 200 mg.

Produktet havde følgende fysiske egenskaber:

Grundstof-analyse for $C_{15}H_{14}N_3O_4SCl \cdot 1/2 H_2O$:

teoretisk: C 47,80 - H 4,01 - N 11,15 - Cl 9,40.

fundet: C 47,55 - H 4,12 - N 10,98 - Cl 9,21.

I.R.-spektrum (Mull):

Absorptionstoppe ved
2,9 (amid NH),
5,70 (β -lactamcarbonyl),
5,95 (amidcarbonyl) og
6,28 (carboxylat) μ .

NMR-spektrum (D_2O/DCI):

Signaler ved
6,5 - 6,7 (ABq, 2H, C_2-H_2).
4,84 (d, 1H, C_6-H),
4,26 (d, 1H, C_7-H) og
2,44 (s, 5H, aromatisk H) tau.

U.V.-spektrum (pH 7 buffer):

λ max 265 μ ($\epsilon=6.800$).

Eksempel 18

Til en opløsning af 500 mg (1,85 mmol) methyl-3- α -carboxybenzyl-aminocrotonat, natriumsalt (dannet med phenylglycin og methyl-acetoacetat) i 20 ml acetonitril sættes 4 dråber dimethylbenzylamin, og opløsningen afkøledes i et tøris-carbontetrachlorid-bad under omrøring. Til den kolde opløsning sættes langsomt 184 mg (1,95 mmol) methylchlorformat til dannelse af det blandede anhydrid. Efter 20 minutter tilsættes en på forhånd afkølet opløsning af 750 mg (1,85 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat og 188 mg (1,85 mmol) triethylamin i 40 ml acetone. Tilsætningen forløb over 3 minutter, hvorefter reaktionsblandingen omrørtes i kulden i 30 minutter og dernæst ved stuetemperatur i 2 timer. Reaktionsblandingen filtreredes for at fjerne uopløselige urenheder og inddampedes i vakuum. Reaktionsproduktet opløstes i en blanding af ethylacetat-vand, og pH af opløsningen indstilledes til pH 7. Den organiske fase separe-

redes fra og vaskedes med vand. Efter tørring over magnesiumsulfat koncentreredes den organiske fase under vakuum til et lille volumen. Efter tilsætning af n-hexan til koncentratet udfældede 620 mg p-nitrobenzyl-7-[N-(1-carbomethoxy-2-propenyl)-D- α -phenylglycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat fra reaktionsblandingen.

Produktet gav følgende grundstof-analyse og NMR-spektrum:

Grundstof-analyse for $C_{27}H_{26}N_4O_8SCl$:

teoretisk: C 53,87 - H 4,35 - N 9,31.

fundet: C 54,05 - H 4,13 - N 9,36.

NMR (DMSO d_6):

Signaler ved

8,20 (s, 3H, enamin CH_3),

6,60 (ABq, 2H, C_2-H_2),

6,45 (s, 3H, ester- CH_3),

5,48 (s, 1H, enamin-vinyl-H),

4,90 - 4,1 (m, 5H, C_6-H , C_7-H , α -CH og ester- CH_2) og

3,10 - 1,5 (m, 9H, aromatisk H) tau.

540 mg (0,9 mmol) af produktet opløstes i 40 ml acetonitril indeholdende 20 ml vand, og opløsningen afkøledes først i is-vandbad og dernæst gjort sur til pH 1,5, hvorefter pH indstilledes til 2,5. Blandingen inddampedes, og reanensen opløstes i 40 ml tetrahydrofuran og 80 ml methanol.

Til opløsningen sættes 540 mg 5 % palladium-på-carbon katalysator (præreduceret i 20 ml ethanol i 45 minutter under 50 psi hydrogentryk ved stuetemperatur), og opløsningen hydrogeneredes ved stuetemperatur i 2,5 timer under et hydrogentryk på 50 psi. Katalysatoren filtreredes fra og vaskedes på filteret med methanol, tetrahydrofuran og vand. Filtratet og vaskevandet kombineredes og inddampedes til tørhed i vakuum. Reaktionsproduktet opløstes i vand-ethylacetat, og pH af opløsningen indstilledes til pH 4,5. Den vandige fase separeredes fra og vaskedes med ethylacetat og inddampedes til et lille volumen på ca. 2 ml. Ved afkøling udfældede 65 mg af produktet, 7-(D- α -phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, som et krystallinsk fast stof fra det kolde

koncentrat.

Eksempel 19

Til en suspension af 3,0 g (8,1 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat i 200 ml tetrahydrofuran (tørret med molekylesigte) sættes 2,1 g (8,3 mmol) N-(t-butyloxycarbonyl)-D- α -phenylglycin og 2,0 g (8,3 mmol) N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ). Reaktionsblandingen omrørtes natten over ved stuetemperatur, og opløsningsmidlet afdampedes under reduceret tryk. Residualen opløstes i en blanding af ethylacetat og vand, og den organiske fase frasepareredes. Denne fase afkøledes og vaskedes successivt med en kold 5 % vandig opløsning af natriumbicarbonat, en kold opløsning af 5 % hydrogenchloridsyre og dernæst med vand. Den vaskede opløsning tørredes over magnesiumsulfat, filtreredes og koncentreredes ved inddampning under reduceret tryk til et volumen på ca. 50 ml. Fra koncentratet opnåedes 3,7 g (63 % udbytte) af reaktionsproduktet, p-nitrobenzyl-7-[D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-phenylacetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat som et krystallinsk produkt. Et andet udbytte af produktet på i alt 2 gram opnåedes ved yderligere at koncentrere filtratet.

Grundstof-analyse beregnet for $C_{27}H_{27}ClN_4O_8S$:

teoretisk: C 53,78 - H 4,51 - N 9,29.

fundet: C 52,66 - H 4,36 - N 8,88.

U.V. (acetonitril) viste et maximum ved 268 m μ (ϵ =17.100).

I.R.:

Amid NH absorptionstop ved
3,05 m μ og carbonylabsorptionstop ved
5,59, 5,75 og 6,0 m μ .

NMR ($CDCl_3$):

Signaler ved 8,60 (s, 9H, t-BOC),
6,45 (AB₂, 2H, C₂-H₂),
5,03 (d, 1H, C₆-H),
4,67 (s, 3H, α -CH og ester-CH₂),
4,12 (m, 3H, C₇-H og amid NH) og
2,72 - 1,74 (m, 10H, aromatisk H og amid NH) tau.

Til en opløsning af 3,0 g (5,0 mmol) af produktet i 15 ml tør tetrahydrofuran tørret med molekylesigte og 185 ml methanol sættes 3 g præreduceret 5 procent palladium-på-carbon. Katalysatoren præreduceredes i ethanol i 30 minutter ved stuetemperatur under et hydrogentryk på 50 psi. Efter tilsætning af den præreducerede katalysator hydrogeneredes produktet ved stuetemperatur 1 time under et hydrogentryk på 50 psi. Katalysatoren filtreredes fra og vaskedes på filteret med tetrahydrofuran og methanol. Filtratet og vaskevandet kombineredes og indampedes under reduceret tryk. Remanensen opløstes i ethylacetat, og vand tilsattes. pH af blandingen indstilledes til 7 ved tilsætning af 1N natriumhydroxid. Den vandige fase separeredes og vaskedes med ethylacetat. Den vandige fase behandledes dernæst med ethylacetat og filtreredes til pH 2,5 med 1 N hydrogenchloridsyre. Den organiske fase separeredes fra den vandige fase og vaskedes med vand og tørredes over magnesiumsulfat. Den tørrede organiske fase indampedes under reduceret tryk til tørhed, hvorved der opnåedes et reaktionsprodukt, 7-(D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre som et tørt fast stof. Produktet krystalliseredes fra 70 ml ether indeholdende 20 ml petroleumsether til opnåelse af 1,75 g (75 %) krystallinsk produkt.

Grundstof-analyse beregnet for $C_{20}H_{22}ClN_3O_6S$:

teoretisk: C 51,34 - H 4,74 - N 8,98 - Cl 7,58.

fundet: C 51,02 - H 4,96 - N 8,75 - Cl 7,30.

U.V. (acetonitril) maximum ved 268 mμ ($\epsilon=7400$).

NMR ($CDCl_3$): Signaler ved

8,55 (s, 9H, t-BOC),

6,48 (ABq, 2H, C_2-H_2),

5,0 (d, 1H, C_6-H),

4,63 (d, 1H, $\alpha-CH$),

4,25 (q, 1H, C_7-H),

3,90 (d, 1H, amid NH),

2,59 (s, 5H, aromatisk H) tau.

Til en opløsning af 420 mg (2,2 mmol) p-toluensulfonsyre i 5 ml acetonitril sættes 465 mg (1 mmol) krystallinsk hydrogeneringsprodukt. Opløsningen henstod ved stuetemperatur i 16 timer og fortyndedes dernæst med 0,5 ml vand. pH af opløsningen indstilledes til

pH 4,8, hvorefter 320 mg (87 %) af det krystallinske produkt, 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, udfældede fra opløsningen. Produktet opsamledes ved filtrering og tørredes.

Grundstof-analyse beregnet for $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S \cdot 1/2 H_2O$:

teoretisk:	C 47,80	-	H 4,01	-	N 11,15	-	Cl 9,40.
fundet:	C 48,04	-	H 3,82	-	N 11,18	-	Cl 9,70.

Eksempel 20

Den antibiotiske forbindelse 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre fremstilledes ud fra p-nitrobenzyl-7-(D-2-(t-butylloxycarbamido)-2-phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat ved en deblokeringsmetode alternativ til den beskrevet i det foregående eksempel. Ved denne metode fjernes den tert.-butylloxycarbonylaminobeskyttende gruppe først, og derefter spaltedes p-nitrobenzylestergruppen med zink og hydrochloridsyre i dimethylformamid. Denne alternative fremstilling er beskrevet i de følgende afsnit.

Til en opløsning af 2,4 g (12,6 mmol) p-toluensulfonsyre i 60 ml acetonitril sættes 3,6 g (6 mmol) p-nitrobenzyl-7-(D-2-(t-butylloxycarbamido)-2-phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat. Reaktionsopløsningen omrørtes ved stuetemperatur i 15 timer, hvorunder det aminodeblokerede produkt, p-nitrobenzyl-7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat, dannedes som et krystallinsk bundfald i form af p-toluensulfonsyresaltet.

Produktet frafiltreredes, vaskedes med acetonitril og vakuumtørredes. Udbytte 3,1 g (81 %).

Grundstof-analyse for $C_{29}H_{27}ClN_4O_9S_2$:

teoretisk:	C 51,58	-	H 4,06	-	N 8,29	-	Cl 5,25.
fundet:	C 51,51	-	H 4,14	-	N 8,12	-	Cl 5,60.

IR-spektrum (chloroform):

Carbonylabsorptionstoppe ved 5,61, 5,80 og 5,95 μ m.
Tosylatsaltabsorptionstop ved 6,29 μ m.

NMR-spektrum (DMSO d_6):

Signaler ved

7,70 (s, 3H, p-toluensulfonsyre-salt- CH_3),
 6,61 (s, 3H, sidekæde NH_3),
 6,20 (ABq, 2H, C_2-H_2),
 4,51 (s, 2H, ester CH_2),
 4,94 (bred, enkelt 1H, $\alpha-CH$),
 4,80 (d, 1H, C_6-H),
 4,51 (s, 2H, ester CH_2),
 4,08 (q, 1H, C_7-H),
 2,95 - 1,62 (m, 14H, aromatisk hydrogen og amid NH),
 0,32 (d, 1H, amid NH).

Det aminodeblokerede p-toluensulfonsyresalt, der opnåedes som beskrevet ovenfor, deesterificeredes til opnåelse af følgende antibiotiske forbindelse: En opløsning af 1,5 g (2,2 mmol) af p-toluensulfonsyresaltet i 10 ml tør dimethylformamid (tørret med molekylsigte) afkøledes i et is-alkoholbad. Den kolde opløsning tilsættes 2 ml koncentreret hydrogenchloridsyre. 400 mg (6,1 mmol) zinkstøv sættes til den kolde opløsning i løbet af 15 minutter. Reaktionsblandingen omrørtes i kulden i 30 minutter og opvarmedes dernæst ved stuetemperatur under stadig omrøring.

Reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time og filtreredes dernæst. pH af filtratet indstilledes til 6,8 med triethylamin. Produktet, 7-(D-phenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre som bis-dimethylformamidsolvatet af den amfotere ion dannedes som et hvidt krystallinsk bundfald. Produktet frafiltreredes, vaskedes med 10 ml kold dimethylformamid og dernæst med 6 ml diethylether. Det vaskede produkt vakuuntørredes til opnåelse af 300 mg (71 %).

Grundstof-analyse for $C_{21}H_{28}ClN_5O_6S \cdot 2DMF$:

teoretisk:	C 49,07	-	H 5,49	-	N 14,63	-	Cl 6,90.
fundet:	C 48,84	-	H 5,53	-	N 13,48	-	Cl 7,18.

U.V. spektrum (acetonitril):

maximum ved 265 m μ ($\epsilon=6.000$).

Elektrometrisk titrering (66 % vandig DMF): pKa ved 4,55 og 7,2.

NMR-spektrum (D_2O/DCI):

Signaler ved

6,34 (2s, 6H, DMF- CH_3),
 6,33 (ABq, 2H, C_2-H_2),
 4,85 (d, 1H, C_5-H),
 4,64 (s, 1H, $\alpha-CH$),
 4,27 (d, 1H, C_7-H),
 2,41 (s, 5H, aromatisk H) og
 1,84 (s, 2H, DMF-CH) tau.

Eksempel 21

7-(D-3-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

2,9 g (11 mmol) N-(t-butyloxycarbonyl)-D-3-hydroxyphenylglycin omsattes med 3,7 g (10 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat og 2,6 g (10,5 mmol) af koblingsreagenset EEDQ. Reaktionen udførtes, og produktet isoleredes ved at følge metoden beskrevet i acyleringsmetoden i eksempel 18. Produktet opnåedes som et amorf fast stof efter behandling med ether i et udbytte 2,8 g (46 %).

Grunstof-analyse for $C_{27}H_{27}ClN_4O_9S$:

teoretisk: C 52,39 - H 4,40 - N 9,05.

fundet: C 52,16 - H 4,59 - N 8,79.

U.V. spektrum (acetonitril):

maximum ved 270 m μ . ($\epsilon=17.200$).

NMR-spektrum ($CDCl_3$):

Signaler ved

8,59 (s, 9H, t-BOC),
 6,50 (ABq, 2H, C_2-H_2)
 5,06 (d, 1H, C_6-H),
 4,66 (s, 1H, $\alpha-CH$),
 4,09 (m, 2H, C_7-H),
 3,34 - 1,70 (m, 9H, aromatisk H og amid NH) tau.

3,5 g (5,6 mmol) af produktet, p-nitrobenzyl-7-(D-2-(t-butyloxy-carbamido)-2-(3-hydroxy)phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat, hydrogeneredes i ethanol i nærværelse af præreduceret 5 % palladium-på-carbon ved at følge deesterificeringsmetoden beskrevet i eksempel 18. Produktet, 7-(D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-(3-hydroxy)phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, opnåedes krystallinsk ved behandling af det amorf stof med en opløsning af hexan i diethylether. Udbytte 1,5 g (55 %).

U.V. spektrum (acetonitril:

maximum ved 272 mμ (ϵ =8.280).

Elektrometrisk titrering (66 % vandig DMF): pKa på 4,5.

1,5 g (2,7 mmol) af ovennævnte produkt omsattes med 1,1 g (5,9 mmol) p-toluensulfonsyre i 28 ml acetonitril for at fjerne den tert.-butyloxycarbonylbeskyttende gruppe. Metoden udførtes som beskrevet i eksempel 18.

Produktet, 7-(D-3-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre krystalliseredes fra reaktionsblandingen, filtreredes fra og vakuumtørredes. Udbytte 700 mg (64 %).

Grundstof-analyse for $C_{15}H_{14}ClN_3O_5S \cdot 1H_2O$:

teoretisk: C 44,83 - H 4,01 - N 10,46.

fundet: C 45,12 - H 4,06 - N 10,31.

Ultraviolet absorptionsspektrum (pH 6 buffer):

maximum ved 268 mμ (ϵ =9.750).

NMR-spektrum (D_2O/DCI):

Signaler ved

6,31 (ABq, 2H, C_2-H_2),

4,81 (d, 1H, C_6-H),

4,52 (s, 1H, $\alpha-CH$),

4,26 (d, 1H, C_7-H) og

3,1 - 2,5 (m, 4H, aromatisk H)tau.

Eksempel 227-(D-4-chlorphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

Ved at følge metoden beskrevet i eksempel 18 acyleredes 850 mg (2,5 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat med 700 mg (2,5 mmol) N-t-butyloxycarbonyl-D-4-chlorphenylglycin og 567 mg (2,3 mmol) EEDQ til opnåelse af 1,2 g p-nitrobenzyl-7-(D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-(4-chlorphenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat.

1,2 g (1,9 mmol) af produktet hydrogeneredes ved stuetemperatur i nærværelse af prereduceret 5 % palladium-på-carbon for at fjerne p-nitrobenzylestergruppen og til frembringelse af 450 mg 7-(D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-(4-chlorphenylacetamido))-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre som et krystallinsk produkt. Produktet opnåedes krystallinsk ved at behandle den amorfte remanens med diethylether.

Grundstof-analyse for $C_{20}H_{21}Cl_2N_3O_6S$:

teoretisk: C 47,82 - H 4,21 - N 8,36 - Cl 14,11.

fundet: C 47,75 - H 4,43 - N 8,11 - Cl 14,15.

Elektrometrisk titrering (66 % vandig DMF):

pKa ved 4,4; tilsyneladende molekulvægt = 508;

beregnet MW = 502.

450 mg (0,9 mmol) af deesterificeringsproduktet omsattes med p-toluensulfonsyren i acetonitril ved at følge metoden beskrevet i de tidligere eksempler for at fjerne den tert.-butyloxycarbonyl-beskyttende gruppe og til opnåelse af 160 mg (44 %) af det krystallinske 7-(D-4-chlorphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre i form af den amfotere ion.

Grundstof-analyse for $C_{15}H_{13}Cl_2N_3O_4S \cdot 1H_2O$:

teoretisk: C 42,86 - H 3,59 - N 9,99 - Cl 16,87.

fundet: C 43,07 - H 3,63 - N 9,69 - Cl 16,75.

U.V. spektrum (pH 6 buffer):

maxima ved 265 mμ ($\epsilon=8.100$) og 2,25 mμ ($\epsilon=13.900$).

Elektrometrisk titrering (66 % vandig DMF):

pKa = 4,15 og 6,8; tilsyneladende molvægt = 407,
beregnet molvægt = 403.

Eksempel 23

7-(D-4-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

N-(t-butyloxycarbonyl)-D-4-hydroxyphenylglycin (2,9 g, 11 mmol) omsattes med 3,7 g (10 mmol) p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat og 2,6 g (10,5 mmol) af koblingsreagenset EEDQ i tør tetrahydrofuran. Reaktionen udførtes, og produktet isoleredes ved at følge metoden beskrevet i eksempel 18. Produktet, i alt 3,7 g (60 % udbytte) opnåedes krystallinsk fra kold diethylether.

Produktet, p-nitrobenzyl-7(D-2-(t-butyloxycarbamido)-2-(4-hydroxy)-phenylacetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat gav følgende procent-vise grundstof-analyse og NMR-spektrum:

Grundstof-analyse for $C_{27}H_{27}N_4O_9SCl$:

teoretisk:	C 52,39	-	H 4,40	-	N 9,05.
fundet:	C 52,12	-	H 4,26	-	N 8,91.

NMR-spektrum (DMSO d_6):

Signaler ved

8,62 (s, 9H, t-BOC-CH₃),
6,16 (ABq, 2H, C₂-H₂),
4,81 (d, 1H, C₆-H),
4,75 (d, 1H, α -CH),
4,53 (s, 2H, ester-CH₂),
4,18 (q, 1H, C₇-H),
7,04 og 2,0 (2q, 8H, aromatisk H),
0,76 (d, 1H, C₇-NH) og
0,58 (s, 1H, p-OH), tau.

2,2 g (3,5 mmol) af produktet hydrogeneredes i ethanol i nærværelse af præreduceret 5 % palladium-på-carbon katalysator for at udvirke fjernelse af p-nitrobenzylgruppen. Det deesterificerede produkt, 7-(D-2-(t-butyl-oxycarbamido)-2-(4-hydroxy)phenyl-acetamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre, opnåedes krystallinsk fra en blanding af

diethylether og hexan. Der opnåedes 1 gram af produktet svarende til et udbytte på 59 %.

Grundstof-analyse for $C_{20}H_{22}ClN_3O_7S$:

teoretisk: C 49,64 - H 4,58 - N 8,08.

fundet: C 48,92 - H 4,40 - N 8,24.

NMR-spektrum ($DMSO d_6$):

Signaler ved:

8,61 (s, 9H, t-BOC- CH_3),

6,26 (ABq, 2H, C_2H_2),

4,89 (d, 1H, C_6 -H),

4,78 (d, 1H, α -CH),

4,28 (q, 1H, C_7 -H),

3,06 (q, 4H, aromatisk-H) og

1,20 (d, 1H, C_7 -NH) tau.

Den tert-BOC-beskyttende gruppe fjernedes fra deesterificeringsproduktet ved at omsætte dette i acetonitril med p-toluensulfonsyre. Fra 1 g af produktet opnåedes 330 mg (40 %) af slutproduktet, 7-(D-4-hydroxyphenylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre med følgende grundstof-analyse og NMR-spektrum:

Grundstof-analyse beregnet for $C_{15}H_{14}ClN_3O_5S \cdot 1H_2O$:

teoretisk: C 44,83 - H 4,01 - N 10,46.

fundet: C 44,92 - H 3,45 - N 10,63.

Elektrometrisk titrering i 66 % vandig DMF gav værdier på 4,2, 7,7 og 12,4. Den tilsyneladende molvægt = 384; den beregnede molvægt = 383,3.

NMR-spektrum (D_2O/DCI) viste

signaler ved

6,32 (ABq, 2H, C_2 - H_2),

4,84 (d, 1H, C_6 -H),

4,27 (d, 1H, C_7 -H) og

2,79 (q, 4H, aromatisk-H) tau.

Eksempel 24

Ved at følge acyleringsmetoden og ved at anvende acyleringsmidlerne i eksempel 16 fremstilledes følgende forbindelser ved acylering af den anførte 3-halogenkerne: 7-(D- α -phenylglycylamido)-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre fremstilles ud fra 7-amino-3-brom-3-cephem-4-carboxylsyre; og 7-(D- α -(4-hydroxyphenyl)glycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre fremstilles ud fra enaminbeskyttet 4-hydroxyphenylglycin, blandet anhydrid, dannet ud fra methylchlorformat via acylering af 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

Eksempel 25

7-(D-2-thienylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre fremstilles ved N-acylering af 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre med 2-thienylglycylchlorid, hydrochlorid i acetonitril og i nærværelse af propylenoxid.

Eksempel 26

7-(D-3-thienylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre fremstilles med 7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre via N-acylering med D-3-thienylglycylchlorid, hydrochlorid.

Eksempel 27

A. p-Nitrobenzyl-7-[N-(t-butyloxycarbonyl)- α -D-(2-thienyl)-glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat.

N-t-butyloxycarbonyl-2-thienyl-D-glycin (3,2 g, 12,5 mM) opløstes i 300 ml tørt tetrahydrofuran. Der tilsættes p-nitrobenzyl-7-amino-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat (4,6 g, 12,5 mM) og EEDQ (3,4 g, 13,8 mM), og blandingen blev omrørt ved stuetemperatur natten over. Opløsningsmidlet blev fjernet i vacuum, og remanensen opløst i ethylacetat. Ethylacetatopløsningen blev vasket med syre og base og inddampet til tørhed. Produktet krystalliserede ved udrykning med ether.

Udbytte 5,7 g (78%)

I.R. (CHCl_3)

Carbonylbånd ved
5,59 μm (3-lactam),
5,72 μm (ester),
5,89 μm (bred) og
6,55 μm (amid)

U.V. (MeCN)

$\lambda_{\text{max}} = 269 \text{ nm}$,
 $\epsilon = 17\,769$

Analyse for $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2\text{Cl}$:

beregnet: C 50,63; - H 4,25 - N 9,45 - Cl 5,98

fundet : C 50,42 - H 4,39 - N 9,22 - Cl 6,10.

B. 7-[N-(t-butyloxycarbonyl)- α -D-(2-thienyl)-glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre.

p-Nitrobenzyl-7-[N-(t-butyloxycarbonyl)- α -D-(2-thienyl)-glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat (6,0 g, 10,2 mM) blev hydrogenolyseret ved konventionelle metoder under anvendelse af en lige så stor vægtmængde forreduceret palladium-på-kul. Produktet krystalliserede ved udvinding med en blanding af ether og hexan i volumenforholdet 1:1.

Udbytte 2,9 g (64%)

U.V. (MeCN)

$\lambda_{\text{max}} = 270 \text{ nm}$
 $= 7500$

Analyse for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_2\text{Cl} \cdot 1/2 \text{ mol ether}$

beregnet: C 47,01 - H 4,93 - N 8,22 - Cl 6,94

fundet : C 46,58 - H 4,85 - N 8,19 - Cl 7,13.

C. 7-D-2-thienylglycylamido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre

7-[N-(t-butyloxycarbonyl)- α -D-(2-thienyl)-glycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carboxylsyre (2,7 g, 5,3 mM) opløstes i 150 ml acetonitril og behandledes med p-toluensulfonsyre (2,2 g, 11,5 mM). Blandingen blev omrørt ved stuetemperatur natten over, fortyndet med 15 ml vand, og pH-værdien indstillet til 5,7 med koncentreret ammoniumhydrogencarbonatopløsning. Produktet udfældedes i krystalform.

Udbytte 1,7 g (86%).

I.R. (Nujol-suspension)

Carbonylbånd ved
5,65 μm (β -lactam) og
5,91 μm (amid)

U.V. (pH 6 puffer)

$\lambda_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$,
 $\epsilon = 9800$

Analyse for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{Cl}$:

beregnet: C 41,77 - H 3,24 - N 11,24 - Cl 9,48
fundet : C 42,01 - H 3,02 - N 11,24 - Cl 9,34.

Eksempel 28

p-Nitrobenzyl-7-phenylglycylamido-3-chlor-3-cephem-4-carboxylat

p-Nitrobenzyl-7-[N-(t-butyloxycarbonyl)-D- α -phenylglycylamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat (3,9 g, 6,7 mM) opløstes i 40 ml tørt dimethylformamid. Der tilsattes phosphortrichlorid (7 ml, 7 mM), og reaktionsblandingen blev omrørt i 3 timer ved stuetemperatur. Den hældtes derpå ud i en blanding af ethylacetat og vand. Ethylacetatlaget blev skilt fra, vasket flere gange med vand, tørret over magnesiumsulfat og indampet til tørhed i vacuum.

Udbytte 1,95 g (58%)

Analyse for $C_{22}H_{19}N_4O_6SCl$

beregnet: C 52,54 - H 3,81 - N 11,14 - Cl 7,05

fundet: C 52,52 - H 4,29 - N 10,73 - Cl 7,55.

Eksempel 29

p-Nitrobenzyl-7-(D- α -phenylglycylamido)-3-brom-3-cephem-4-carboxylat

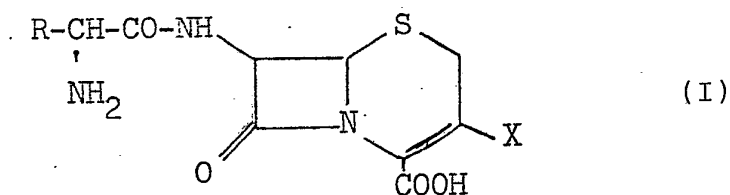
p-Nitrobenzyl-7-[N-(t-butyloxycarbonyl)-D- α -phenylglycylamido]-3-hydroxy-3-cephem-4-carboxylat (2,3 g, 4 mM) blev opløst i 25 ml dimethylformamid og behandlet med 3 ml phosphorpentabromid. Blandingen blev omrørt ved stuetemperatur natten over. Tyndtlagschromatografi over silicagel, udviklet med ethylacetat/benzen 7:3, viste næsten fuldstændig omsætning af udgangsmaterialet til produktet. Reaktionsblandingen blev dispergeret i vand/ethylacetat. Det organiske lag blev skilt fra, vasket med saltvand, tørret over magnesiumsulfat og inddampet til tørhed i vacuum. Den amorfe remanens blev chromatograferet over silicagel til opnåelse af det ovennævnte produkt.

N.M.R. ($CDCl_3$):

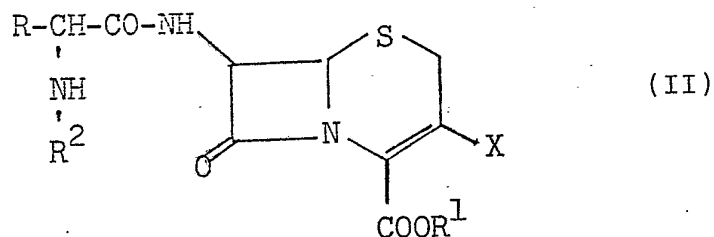
6,24 (Abq, 2H, C_2-H_2),
4,80 (d, 1H, C6-H),
4,60 (s, 2H, ester- CH_2),
4,50 (s, 1H, α -CH),
4,44 (q, 1H, C7-H),
2,66 (d, 1H, amid-NH),
2,59 (s, 5H, aromatisk H), og
2,50-1,70 (q, 4H, ester-aromatisk H) tau.

P a t e n t k r a v :

Beskyttede 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporin-derivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 3-halogen-7 α -aminoacyl-cephalosporiner med den almene formel



hvor R betyder phenyl, hydroxyphenyl, halogenphenyl, methylphenyl, methoxyphenyl, 2-thienyl, 3-thienyl eller 2-furyl, og X betyder chlor eller brom, k e n d e t e g n e t ved, at de har den almene formel



hvor R og X har den ovenstående betydning, R¹ betyder hydrogen, benzyl, p-methoxybenzyl, p-nitrobenzyl, diphenylmethyl, 2,2,2-trichlorethyl, trimethylsilyl eller t-butyl, og

R² betyder hydrogen, t-butyloxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, p-nitrobenzyloxycarbonyl, trichlorethoxycarbonyl eller -trityl, eller en enamingruppe dannet med methylacetoacetat eller acetylacetone, idet

R¹ og R² ikke samtidig kan være hydrogen.