



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 0353/84

(51) Int.Cl.⁵

C 07 D 501/22

A 61 K 31/545

(22) Indleveringsdag: 26 jan 1984

(41) Alm. tilgængelig: 29 jul 1984

(44) Fremlagt: 09 sep 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 28 jan 1983 US 461833 28 dec 1983 US 564604

(71) Ansøger: *BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY; 345 Park Avenue; New York; N.Y. 10154, US

(72) Opfinder: Hideaki *Hoshi; JP, Yoshio *Abe; JP, Jun *Okumura; JP, Shimpei *Aburaki; JP, Takayuki *Naito; JP

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

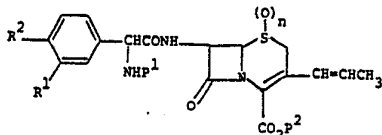
(54) D-2-aminoacyl-3-(Z)-propenylcephalosporiner, fremgangsmåde til fremstilling deraf samt farmaceutiske præparater indeholdende disse

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammen drag:

353-84

3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-acylamidocephalosporinderivater med den almene formel



førnævnte forbindelser, hvori n er 0, P¹, P² og P³ er hydrogen, og de farmaceutisk acceptable metalsalte af de førnævnte forbindelser, hvori n er 0, og P¹, P² og P³ er hydrogen, er oralt aktive antibiotika overfor gram-positive og gram-negative bakterier.

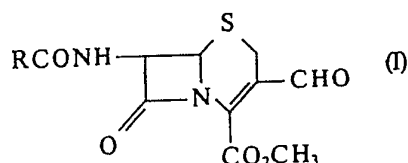
og med Z-konfiguration omkring den eksocykliske dobbeltbinding, hvori n er 0 eller heltallet 1, R¹ er hydrogen, OP³, lavere alkoxy eller halogen, P¹, P² og P³ er hydrogenatomer eller konventionelle beskyttelsesgrupper benyttet i cephalosporinkemien på henholdsvis amino-, carboxy- og hydroxygrupperne, R² er hydrogen, OP³ eller lavere alkoxy, de farmaceutisk acceptable syreadditionssalte af de

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte D-2-aminoacyl-3-(Z)-propenylcephalosporiner, en fremgangsmåde til fremstilling deraf samt farmaceutiske præparater indeholdende disse cephalosporiner.

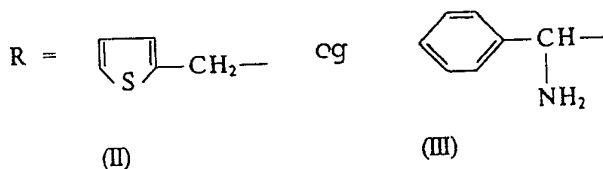
Cephalosporinerne er nyttige midler til bekæmpelse af bakterielle
5 infektioner.

3-formylceph-3-em-forbindelser, der benyttes som mellemprodukter ved en fremgangsmåde til fremstilling af de 3-substituerede vinylcephalosporiner ifølge den foreliggende opfindelse, kan fremstilles ved oxidation af de tilsvarende 3-hydroxymethylceph-3-emer, der fås ved
10 enzymatisk hydrolyse af de tilsvarende cephalosporiner. Denne fremgangsmåde er kendt fra Chamberlin, USA patentskrift nr. 3.351.596 (7. november 1967), der blandt andet omhandler forbindelserne (II) og (III).

15



20



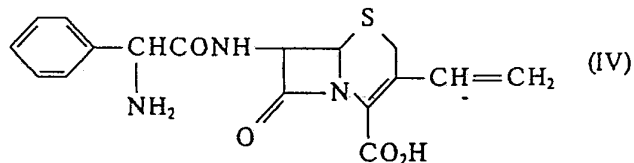
25

Chamberlin (loc. cit.) beskrev derivater på 3-CHO-gruppen med carbonylreagenser, såsom semicarbazid og hydroxylamin, men der var ingen omtale af nogen carbonalkylering på 3-CHO-gruppen.

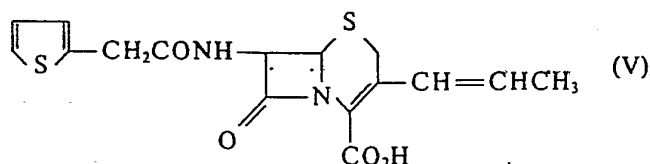
30 De tilsvarende sulfoxider er mere stabile og kan fremstilles i bedre udbytte (Webber, GB patentskrift nr. 1.341.712, publiceret 23. december 1973).

Den første omtale af 3-alkenyl-substituerede cephalosporiner var af Clark et al. i GB patentskrift nr. 1.342.241, publiceret 3. januar 1974
35 (svarende til USA patentskrifter nr. 3.769.277 og 3.994.884, udstedt henholdsvis 30. oktober 1973 og 30. november 1976). Forbindelserne (IV) og (V) er omtalt på side 25 og 29 i GB patentbeskrivelsen.

2



5

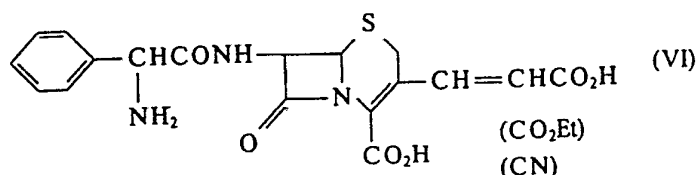


Disse forbindelser blev fremstillet ved omsætning af den tilsvarende

- 10 3-triphenylphosphoniummethyl-cephalosporin med formaldehyd eller
acetaldehyd. Den omvendte proces bestående af omsætning af et
phosphoranyliden-derivat med formelen $R_3P=CR^3R^4$ med en 3-CHO-cepha-
losporin er også omtalt i nævnte patentbeskrivelse på side 5. I USA
patentskrift nr. 4.107.431 anføres det, at forbindelsen (IV) absorberes
15 ved oral administrering.

En anden tidligere omtale af forbindelser af denne type var af
Webber et al., J. Med. Chem. 18 (10) 986-992 (1975) og i USA patent-
skrift nr. 4.065.620, udstedt 27. december 1977, der i spalte 3, 4 og 5
omtaler stofgruppen, som de foreliggende forbindelser tilhører.

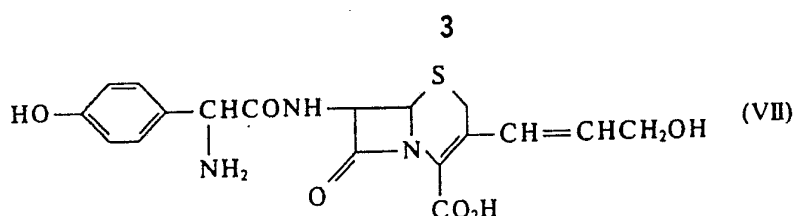
- 20 Specifikt omtalte forbindelser er vist i formel (VI).



25

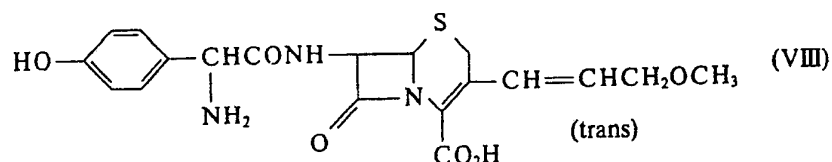
- 30 Andre variationer af denne type omtales i USA patentskrifterne
nr. 4.094.978 (13. juni 1978) og nr. 4.112.087 (5. september 1978),
hvor forbindelserne (VII) og (VIII) er omtalt.

35



5

US-PS 40 94 978, Spalte 44



10

US-PS 41 12 087, Spalte 31

Andre substituerede 3-alkenyl-cephalosporiner er omtalt i følgende patentpublikationer.

15

USA nr. 3.830.700, O'Callaghan et al. (20. april 1974)

3-(nitrostyryl)cephalexin-analoger,

USA nr. 3.983.113, Beeby (28. september 1976),

USA nr. 4.049.806, Beeby (20. september 1977) og

USA nr. 4.139.618, Beeby (13. februar 1979)

3-(heterocyclothio)propenyl-cephalosporiner,

20

USA nr. 4.147.863, Miyadera et al. (3. april 1979)

3-(1-methyl-5-tetrazolyl)vinyl-cephalosporiner,

DE-OS nr. 3.019.445 (december 1980)

3-(sulfonyloxy)vinyl-cephalosporiner,

Fr. nr. 2.460.302 (23. januar 1981)

25

3-(dimethylamino)vinyl-cephalexin-analoger,

Eu nr. 30.630 (24. juni 1981)

7-[(3-methansulfonamidophenyl)- α -aminoacetamido]-3-vinylceph-3-em-4-carboxylsyre,

USA nr. 4.255.423, Beattie et al. (10. marts 1981)

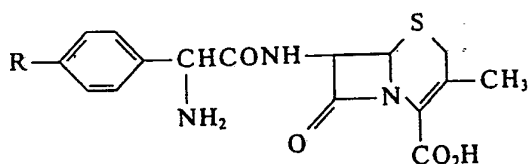
30

USA nr. 4.390.693, Beattie et al. (28. juni 1983)

7-(2-thienyl)acetamido-3-(3-acetoxy-1-propenyl) og
-3-(heterocyclovinyl)ceph-3-em-4-carboxylsyre, og
7 α -methoxy-analoge.

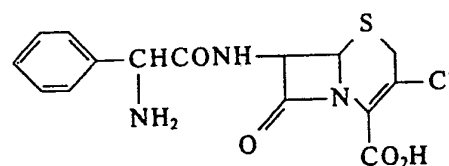
De vigtigste kommercielt tilgængelige, oralt aktive cephalosporiner, der har den samme anvendelse, som forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse er beregnet til, er cephalalexin, cefadroxil, cephradine og cefaclor. Disse forbindelser har formlerne (IX), (X), (XI) og (XII).

5



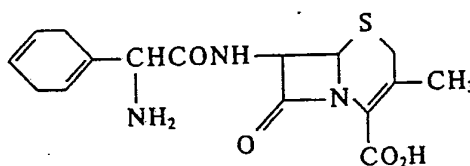
R = H Cephalexin (IX)

R = OH Cefadroxil (X)



Cefaclor (XI)

10



Cephadrin (XII)

15

Disse forbindelser er genstand for følgende patenter.

Cephalexin: USA patentskrift nr. 3.507.861 (21. april 1970)

20

Cefadroxil: USA patentskrift nr. 3.489.752 (13. januar 1970)
(Re 29.164)

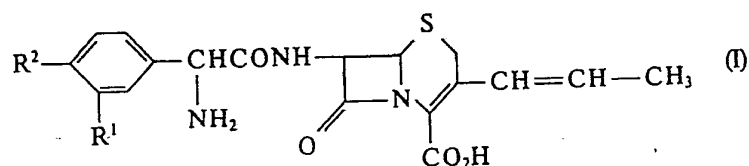
Cefachlor: USA patentskrift nr. 3.925.372 (9. dec. 1975)

Cephadrin : USA patentskrift nr. 3.485.819 (23. dec. 1969).

Beslægtede forbindelser, som er blevet beskrevet, er 3-chlor-
25 cefadroxil og 3-hydroxycefadroxil, henholdsvis i USA patentskrift
nr. 3.489.751 (13. januar 1970) og GB patentbeskrivelse nr. 1.472.174
(publiceret 4. maj 1977).

Genstand for opfindelsen er D-2-aminoacyl-3-(Z)-propenylcepha-
losporiner med den almene formel (I)

30



35

hvor

R^1 er hydrogen, OH, C_{1-4} -alkoxy eller chlor,

R^2 er hydrogen eller hydroxy,

såvel som derivaterne deraf, hvor amino, carboxy og/eller hydroxy er

- 5 beskyttet med konventionelle beskyttelsesgrupper og de farmaceutisk acceptable salte deraf.

Forbindelserne ifølge opfindelsen er interessante som oralt effektive cephalosporin-antibiotika med en stærk aktivitet over for gram-positive bakterier og et forbedret aktivitetsspektrum over for gram-
10 -negative bakterier, forskellige "kræsn" bakterier og anaerobere i forhold til cephalexin, cefadroxil, cefachlor og cephradine. De giver en højere antibiotikum-koncentration i blodbanen ved oral administration og er egnede til administration til mennesker én eller to gange dagligt. Som sådan administreres de i doser på 100-5.000 mg
15 pr. dag afhængigt af patientens størrelse og sygdomstilstanden. De kan administreres parenteralt i tilsvarende doseringsmængder.

Forbindelserne ifølge opfindelsen er nyttige i behandlingen af bakterieinfektioner, der skyldes følsomme organismer i pattedyr, herunder mennesket. Til dette formål administreres de oralt eller
20 parenteralt i antibakterielt effektive, non-toxiske doser eller i form af deres farmaceutisk acceptable syreadditionssalte, farmaceutisk acceptable metal- eller aminsalte eller som en farmaceutisk acceptabel ester.

De farmaceutisk acceptable syreadditionssalte er sådanne, hvor
25 anionen ikke bidrager signifikant til saltets toxicitet, og som er forenelige med de sædvanlige farmaceutiske bærere og tilpasset til oral eller parenteral administration. De omfatter saltene af de omhandlede forbindelser med den almene formel (I) med mineralsyrer, såsom saltsyre, brombrintesyre, phosphorsyre og svovlsyre, med organiske carboxylsyrer
30 eller organiske sulfonsyrer, såsom eddikesyre, citronsyre, maleinsyre, ravsyre, benzoesyre, vinsyre, fumarsyre, mandelsyre, ascorbinsyre, æblesyre, methansulfonsyre, p-toluensulfonsyre, og andre syrer der er kendte og benyttede i penicillin- og cephalosporin-kemien. Fremstillingen af disse salte sker i overensstemmelse med den konventionelle
35 teknik ved omsætning af en af forbindelserne med den almene formel (I) med en i alt væsentlig ækvivalent mængde af syren.

Farmaceutisk acceptable metal- og aminsalte er tilsvarende de salte af forbindelserne med den almene formel (I), som er stabile i det

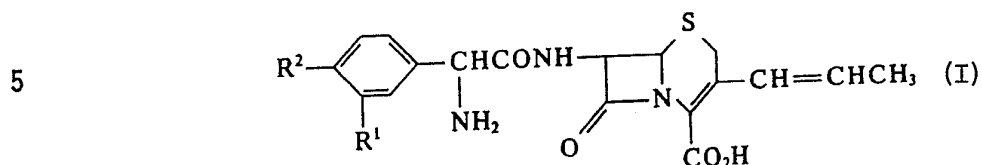
omgivende miljø, og i hvilke kationen ikke bidrager signifikant til saltets toxicitet eller biologiske aktivitet. Egnede metalsalte omfatter natrium-, kalium-, barium-, zink- og aluminiumsaltene. Natrium- og kaliumsaltene foretrækkes. Aminsalte fremstillet ud fra aminer, der for eksempel bruges sammen med benzylpenicillin, som er i stand til at danne stabile salte med den sure carboxylgruppe, omfatter trial kylaminer, såsom triethylamin, prokain, dibenzylamin, N-benzyl- β -phenethylamin, 1-epehenamin, N,N'-dibenzylethylendiamin, dehydroabiethylamin, N-ethylpiperidin, benzylamin og dicyclohexylamin.

10 Farmaceutisk acceptable estere omfatter de estere, som er aktive i sig selv, eller tjener som præ-lægemidler ved at blive hydrolyseret i kroppen, og herved giver de antibiotika i sig selv. Egnede estere af den sidstnævnte type er phenacyl, acetoxymethyl, pivaloyloxymethyl, α -acetoxymethyl, α -acetoxymethyl, α -pivaloyloxyethyl, 3-phthalidyl, 5-indanyl, 15 methoxymethyl, benzoyloxymethyl, α -ethylbutyryloxymethyl, propionyloxymethyl, valeryloxymethyl, isobutyryloxymethyl, glycyloxymethyl og andre, der kendes fra penicillin- og cephalosporinkemien.

Forbindelserne med den almene formel (I) og deres salte, som er defineret ovenfor, kan formuleres til oral eller parenteral brug på 20 almen vis, idet man benytter farmaceutiske bærere og excipienter, og de kan fremstilles som enhedsdoser eller i pakker med flere doser. Præparaterne kan være i form af tabletter, kapsler, opløsninger, suspensioner eller emulsioner. Disse præparater kan også formuleres som suppositorier, idet man benytter en konventionel suppositoriebasis, 25 såsom cacaosmør eller andre fedtholdige materialer. Disse forbindelser kan, om ønsket, administreres i kombination med andre antibiotika, inklusive cephalosporiner, penicilliner og aminoglycosider.

Tabel I indeholder en oversigt over strukturerne af de forbindelser, som omtales i eksemplerne.

TABEL I
Forbindelser omtalt i eksemplerne



Forbindelse nr.	R ¹	R ²	R ³ (konfiguration)
10 8 (BMY-28100)	H	OH	-CH ₃ (Z)
12 (BBS-1065)	H	H	-CH ₃ (Z)
17 (BMY-28060)	Cl	OH	-CH ₃ (Z)
22 (BMY-28068)	HO	OH	-CH ₃ (Z)
27 (BMY-28097)	CH ₃ O	OH	-CH ₃ (Z)

15

Tabel II giver en oversigt over den in vitro antibakterielle aktivitet af de omhandlede forbindelser. De minimale inhibitoriske koncentrationer bestemt ved agar-fortyndingsteknikken for tre grupper af organismer betegnet ved Gp-Ia, Gp-Ib og Gn-Ia er anført. Hver af disse grupper af organismer består af fem individuelle stammer af mikroorganismer, der er beskrevet i en fodnote til tabellen. Gp-Ia-organismerne er gram-positive staphylococcer, der er følsomme over for penicillin. Gp-Ib-organismerne er gram-positive staphylococcer, der er resistente over for penicillin og producerer penicillinase. Gn-Ia-organismerne er gram-negative bakterier, der er følsomme over for ampicillin og cephalothin. De foreliggende forbindelser har generelt lav aktivitet over for ampicillin- og cephalothin-resistente gram-negative bakterier. De følgende konklusioner kan drages ud fra tabel II om disses forbindelsers in vitro antibakterielle aktivitet.

Alle forbindelserne har god aktivitet over for penicillin-følsomme staphylococcer (Gp-Ia). De er generelt mindre aktive over for de penicillin-resistente staphylococcer (Gp-Ib) med en faktor tre eller mere. I hvert tilfælde er forbindelserne imidlertid flere gange mere aktive end cephalixin og cefadroxil.

Forbindelserne har en god aktivitet over for de gram-negative bakterier (Gn-Ia). Ringsubstitution er på ingen måde ugunstig for den antibakterielle aktivitet. Se forbindelserne nr. 8, 12, 17 og 24. Forbindelse nr. 22 ser ud til at være en undtagelse til alle de ovenstående

konklusioner, men faktisk er det en stærkt aktiv forbindelse over for både gram-positive og gram-negative bakterier, som det vil kunne ses i tabel III.

5

TABEL II

Agar-fortyndingsteknik (Mueller-Hinton agar)

Minimal inhibitorisk koncentration ($\mu\text{g/ml}$)

	Gp	Ia ³	Gp	Ib ³	Gn	Ia ³	
10	Forbindelse nr.	1	2	1	2	1	2
	8 (BMY-28100)	0,23	0,35	0,92	0,8	0,8	0,7
	12 (BBS-1065)	0,23	0,3	0,92	0,92	0,8	0,8
	17 (BMY-28060)		0,13		0,53		1,1
15	22 (BMY-28068)		6,30		7,2		6,3
	27 (BMY-28097)	0,35 ⁴		1,2 ⁴		0,53 ⁴	
	Cephalexin	1,2	0,70	4,1	3,6	6,2	4,1
	Cefadroxil	1,2	1,10	3,6	4,1	8,3	8,3

20

1. Kolonne 1 og 2 angiver separate testforsøg.

2. " " " " "

3. Gennemsnit af fem organismer hver gruppe -

Gp Ia gram-positive staphylococci; penicillin-følsom;
intet penicillinase fremstillet.

25

S. aureus Smith A9537

S. aureus A9497

S. aureus Terajima

S. aureus A9534

S. aureus A9601

30

Gp Ib gram-positive staphylococci; penicillin-resistent;
penicillinase-producenter.

S. aureus 193

S. aureus BX-1633-2 A9606

35

S. aureus A15092

S. aureus Russell

S. aureus A9602

Gn Ia gram-negative bakterier; ampicillin- og cephalothin-følsom.

E. coli Juhl A15119

E. coli A9660

5

K. pneumoniae D11

P. mirabilis A9554

P. mirabilis A9900

4. Ikke del af forsøg 1; separat forsøg.

10

Tabel III indeholder sammenlignende data for den in vitro antibakterielle aktivitet over for samme organismer som i tabel II, idet man har benyttet to forskellige bakteriologiske dyrkningsmedier. Mueller-Hinton agar er det standardmedium, der benyttedes i forsøgene
15 refereret i tabel II. Tabel III indeholder en sammenligning af de minimale inhibitoriske koncentrationer af tre af testforbindelserne bestemt først i Mueller-Hinton medium og så i en næringsagar. Forbindelse nr. 8, der indeholder en 4-hydroxy-substitution i phenylringen, og forbindelse nr. 27, der indeholder 3-methoxy-4-hydroxy-substitution i
20 phenylringen, reflekterer kun moderat mediumeffekt. Med dette menes, at forskellen i minimal inhibitorisk koncentration er mindre end en faktor tre. Forbindelse nr. 22, den 3,4-dihydroxyphenyl-substituerede forbindelse, reflekterer forskelle i aktiviteten mellem de to medier på fra 6-12 gange, idet de minimale inhibitoriske koncentrationer i næringsagar
25 er meget lavere end dem, der er bestemt på Mueller-Hinton agar. I overensstemmelse hermed konkluderes det, at forbindelse 22 var sammenlignelig i antibakteriel effekt med de andre cephalosporiner, der har cis-propenyl-gruppen i 3-stillingen, hvilket der er vist i tabel II. Dette fænomen, hvorved et antibiotikum viser større aktivitet i én slags
30 næringsmedium end i et andet, er blevet rapporteret og studeret tidligere. Se T.A. Pursiano et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 3, nr. 1, pp. 33-39 (1973).

TABEL III

Testmedium sammenligning
 Agar fortyndingsteknik
 Minimal inhibitorisk koncentration ($\mu\text{g/ml}$)

5

Forbindelse nr.		Gp Ia ²	Gp Ib ²	Gn Ia ²
10	8 (BMY-28100) A ₁	0,23	0,92	0,70
	B	0,17	0,35	0,70
	22 (BMY-28068) A	4,8	6,3	5,5
	B	0,40	0,61	0,92
15	27 (BMY-28097) A	0,35	1,2	0,53
	B	0,23	0,40	0,40

¹A Mueller-Hinton agar
 B Næringsagar

20

²Gennemsnitlige værdier for de samme grupper af organismer som i tabel II.

25 Strukturaktivitets-korrelationerne, som kan udledes af de ovenstående in vitro studier, genfindes i in vivo studier på mus. Tabel IV er en tabellering af den beskyttende dosis for mus inficeret med letalt inoculum af en bakterie. To forskellige bakterier benyttedes i studierne, en gram-positiv organisme og en gram-negativ organisme. Den beskyttende dosis (PD₅₀) er den dosis, der, når den administreres til en gruppe inficerede mus, resulterer i en 50% overlevelse efter fem dage. 30 Normalt dør ubehandlede mus inden for tre dage efter injektionen af det letale inoculum.

TABEL IV

Beskyttende dosis¹⁾ for mus inficeret med letalt inoculum
Oral behandling

5

	<u>Forbindelse nr.</u>	<u>S. aureus Smith</u>	<u>E. coli Juhl</u>
	8 (BMY-28100)	0,14 (0,31) ²	1,2 (8,4) ²
	12 (BBS-1065)	0,18 (0,27)	1,5 (8,2)
	17 (BMY-28060)	0,17 (0,22)	3,04 (8,4)
10	22 (BMY-28068)	0,13 (0,27)	0,44 (8,2)
	27 (BMY-28097)	0,09 ³	

¹Dosis i mg/kg, der forhindrer dødens indtræffen i 5 dage i 50% af
15 dyrene i grupper på 5 mus, der er behandlet med forskellige doser
af testforbindelsen på infektionsdagen; bestemt ved interpolation
fra dosen/responskurven; ubehandlede dyr dør inden for 3 dage.

²Værdier i parenteser er angivet for cephalixin i det samme
20 forsøg.

³I dette forsøg opnåedes en værdi på 0,16 mg/kg for BMY-28100;
kontrolværdier for cephalixin eller cefadroxil forefindes ikke.

25 Dataene i tabel IV er uddraget fra mange forskellige eksperimenter.
I disse eksperimenter blev cephalixin brugt til kontrolbehandling. PD₅₀-
værdierne bestemt for cephalixin i det samme eksperiment står i paren-
teser ved siden af PD₅₀-værdierne for testforbindelserne. Det er klart,
at hver af cephalosporinerne besidder god aktivitet over for den gram-
30 positive Staphylococcus aureus-infektion, og at forbindelserne med cis-
propenylgruppen i 3-stillingen er mere aktiv over for den gram-negative
infektion, jfr. forbindelserne 9, 24 og 37.

Tabel V indeholder sammenlignende blodspejls-data for mus behandlet
oralt eller intramuskulært med testforbindelserne anført i tabel I. Det
35 fremgår at alle forbindelserne udviser ensartet god oral absorption.
Forbindelse nr. 22 viser exceptionelt høje koncentrationer i blodet på
musene ved oral administrering. Det er blevet vist, at denne forbindelse
metaboliseres til forbindelse nr. 27 i rotter. Se eksempel 28. Forbin-

delse nr. 22 er 3,4-dihydroxyphenyl-derivatet, og forbindelse nr. 27 er det tilsvarende 3-methoxy-4-hydroxyphenyl-derivat. Det er blevet vist, at det sidstnævnte derivat har en høj in vitro og in vivo aktivitet.

TABEL V: Blodspejlsværdier hos mus

Forbindelse nr.	Dosis: 100 mg/kg, p.o.				Dosis: 20 mg/kg, p.o.				Dosis: 20 mg/kg, i.m.			
	C _{max}	T _{1/2}	AUC	($\mu\text{g}\cdot\text{t}/\text{ml}$)	C _{max}	T _{1/2}	AUC*	($\mu\text{g}\cdot\text{t}/\text{ml}$)	C _{max}	T _{1/2}	AUC*	($\mu\text{g}\cdot\text{t}/\text{ml}$)
Forsøg 1												
8 (BMY-28100)	56	1.9	106		15	1.9			28	0.88		32
(lot 2)												
12 (BBS-1065)	40	1.1	84		7.8	1.3			31	0.50		22
Cephalexin*	47	1.4	57		11	1.3			26	0.40		16
Cefadroxil	56	2.3	103		12	1.2			21	0.33		14
Forsøg 2												
8 (BMY-28100)	61	1.3	86		15	1.7			21	0.48		13
12 (BBS-1065)	33	1.1	46		9.5	0.69			16	0.58		13
17 (BMY-28060)	25	1.7	37		7.9	1.7			21	0.48		13
22 (BMY-28068)	180	2.5	666		58	5.1			86	1.2		233
Cefadroxil	51	1.5	67		18	1.6			30	0.37		21

* Middelværdi af 3 forsøg

Tabel VI indeholder yderligere in vivo data for forbindelse nr. 8 over for fire andre organismer sammenlignet med cephalalexin, cefachlor og cefadroxil. Tabel VII og VIII indeholder sammenlignende in vitro data for forbindelse nr. 8 versus cephalalexin, cefadroxil og cefachlor med hensyn til et antal Streptococcer, Neisseria, Haemophilis og forskellige anaerobere.

I rotteurin-genvindingseksperimenter er 24 timers genvindelsesraten af forbindelse nr. 8 i urin for rotter behandlet oralt, sammenligneligt med cephalalexin og cefadroxil og større end cefachlor-genvindelsesraten. Stabilitetsstudier, der sammenligner forbindelse nr. 8 med cephalalexin og cefachlor i opløsning i phosphatbuffer med pH 6,5 og pH 7,0, humant serum (pH 6,8), hesteserum (pH 7,6) og kalveserum (pH 8,2) som bæremidler, har afsløret, at forbindelse nr. 8 er bemærkelsesværdigt mere stabil end cefachlor og sammenlignelig med cephalalexin.

TABEL VI.

Beskyttende dosis PD₅₀ for mus inficeret med letalt inoculum

Oral behandling

Organisme	8 (BMY-28100)	Cephalalexin	Cefachlor	Cefadroxil
S. aureus BX-1633	2,2	17	2,2	7,2
S. pyogenes A20201	0,11	0,74	0,14	0,25
H. influenza A9729	1,8	18	1,6	25
P. mirabilis A9554	1,8	12,5	1,8	14

TABEL VII: In vitro aktivitet overfor Streptococci, Neisseria og Haemophilis

Organisme	MIC (µg/ml)			
	8 (DMY-20100) (parti 2)	Cephalexin	Cefadroxil	Cefaclor
<i>S. pyogenes</i> S-23	0.05	0.0	0.0	0.2
" Dick	0.05	0.0	0.0	0.2
" A9604	0.05	0.0	0.0	0.2
" A20065	0.05	0.0	0.0	0.2
" A15040	0.05	0.0	0.0	0.2
Geometrisk middelværdi	0.050	0.00	0.00	0.2
<i>S. pneumoniae</i> Type II	0.2	3.1	1.6	1.6
" Type I	0.2	3.1	1.6	1.6
" Type III	0.2	3.1	1.6	--
" A9505	0.2	3.1	1.6	1.6
" A15069	0.2	3.1	1.6	0.0
Geometrisk middelværdi	0.20	3.1	1.6	1.3
<i>N. gonorrhoeae</i> A15112	0.0	6.3	6.3	0.0
" A20142	0.0	6.3	6.3	--
" A20143	0.0	6.3	6.3	0.0
" A20154	0.0	6.3	6.3	0.0
" A20155	0.0	6.3	6.3	0.0
Geometrisk middelværdi	0.00	6.3	6.3	0.0

TABEL VII (fortsat)

<u>Organisme</u>		8-(DMY- 28100) (parti 2)	<u>Cephalexin</u>		<u>Cefadroxil</u>		<u>Cefaclor</u>	
N. meningitidis	A20048	0.8	6.3		6.3		0.8	
	"	---	---		---		0.8	
	A20049		6.3		6.3		0.8	
	A21487	0.8	6.3		6.3		0.8	
	A21496	0.8	6.3		6.3		0.8	
"	A21497	0.8	6.3		6.3		0.8	
	Geometrisk middelværdi	0.80						
H. influenzae	A9729	0.8	6.3		6.3		0.8	
	A20177	0.8	6.3		6.3		0.8	
	A20193	0.8	6.3		6.3		0.8	
	A21523	0.8	6.3		6.3		0.8	
	A9833	0.8	6.3		6.3		0.4	
	A22483	0.8	6.3		6.3		0.4	
	A22482	0.8	6.3		6.3		0.66	
Geometrisk middelværdi		0.80						
H. influenzae	A22157	1.6	3.1		6.3		---	
	A22481	1.6	3.1		6.3		---	
	A22491	1.6	3.1		6.3		---	
S. pyogenes	A20201	0.1	0.8		0.4		---	
	A20759	0.2	3.1		3.1		---	
S. pneumoniae								

TABEL VIII

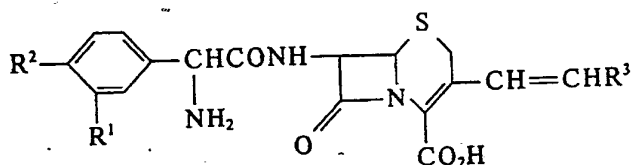
In vitro aktivitet over for anaerober

		MIK ($\mu\text{g/ml}$)				
	Organisme		β -lac tamase	8 (BMY- 28100)	Cepha- lexin	Cefa- chlor
10	Gn, stave	B. fragilis A20928-1	(-)	0,8	12,5	3,1
	" "	A21900	(-)*	50	12,5	6,3
	" "	A20935	(-)	0,8	6,3	3,1
	Geometrisk middel			3,2	9,9	3,9
15	Gn, stave	B. fragilis A22053	(+)	50	25	100
	" "	A22021	(+)	>100	100	>100
	" "	A22693	(+)	>100	>100	>100
	Geometrisk middel			>100	>75	>100
20		B. fragilis A22695	(+)	>100	100	100
	" "	A22533	(+)	>100	>100	>100
	Geometrisk middel			>100	>100	>100
25	Gp, stave	C. difficile A21675	*	6,3	100	25
		C. perfringens A9645		0,4	12,5	1,6
	Gp, cocci	P. acnes A21933		0,4	1,6	0,8
		P. anaerobius A21905		0,8	6,3	0,4
30	Geometrisk middel			0,95	11	

* Clindamycin-resistent

I følgende tabel IX og X er de minimale inhibitoriske koncentrationer for de nedenfor anførte forbindelser sammenstillet.

5



10

Undersøgte cephalosporiner		R ¹	R ²	R ³

Forbindelser ifølge opfindelsen				
	(1) 1065 (eksempel 12)	H	H	CH ₃ (Z)
15	(2) 28060 (eksempel 17)	Cl	OH	CH ₃ (Z)
	(3) 28097 (eksempel 27)	OCH ₃	OH	CH ₃ (Z)
	(4) 28100 (eksempel 8)	H	OH	CH ₃ (Z)

Teknikkens stade (GB-PS 1.342.241):

20	(5) 28086	H	H	H
----	-----------	---	---	---

Alle forbindelserne besad D-konfiguration

Tabel IXGram-negative bakterierGeometrisk middelværdi af minimale inhibitoriske koncentrationer ($\mu\text{g/ml}$)

5

Mueller-Hinton-agar

	Organismer	Forb. iflg. opfindelsen					Forb. tilh. tekn. stade		
		(1)	(2)	(3)	(4)	(5/4)*	(5)	(6)	(7)
		1065	28060	28097	28100		28086	Cepha- lexin	Cefa- droxil
10		-----							
	E	1,1	1,6	1,6	1,1	5,7	6,3	3,1	6,3
	F	0,8	0,8	0,8	0,8	3,9	3,1	3,1	6,3
	G	1,6	1,1	1,6	0,8	3,9	3,1	12,5	12,5
15	H	0,53	0,61	0,35	0,61	4,4	2,7	3,4	5,3
	I	0,8	1,6	0,35	0,8	3,9	3,1	3,7	6,1
	J	0,8	1,6	0,4	0,8	3,9	3,1	3,7	6,4

- *) Virkningforhold mellem forbindelsen 28100 og forbindelsen 28086
- 20 tilhørende teknikkens stade
- E: Escherichia coli, 2 stammer sensitive over for ampicillin og cephalothin
- F: Klebsiella pneumonia, D11, enkelt stamme
- G: Proteus mirabilis, 2 stammer sensitive over for ampicillin og
- 25 cephalothin
- H: Neisseria gonorrhoeae, 5 stammer (Ng-1,3,4,5 og 17)
- I: Neisseria meningitidis, 5 stammer (Nm-1,2,3,4 og 5)
- J: Hemophilus influenzae, 7 stammer (Hi-2,5,8,13,16,27 og 28).

Tabel X

Gram-positive bakterierGeometrisk middelværdi af minimale inhibitoriske koncentrationer ($\mu\text{g/ml}$)

5

Mueller-Hinton-agar

	Organismer	Forb. iflg. opfindelsen					Forb. tilh. tekn. stade		
		(1)	(2)	(3)	(4)	(5/4)*	(5)	(6)	(7)
		1065	28060	28097	28100		28086	Cepha- lexin	Cefa- droxil
10		-----							
	A	0,4	0,1	0,5	0,3	2	0,6	1,2	1,2
	B	1,2	0,4	1,6	0,7	3	2,1	4,1	4,1
	C	0,16	0,025	<0,0063	0,05	4	0,2	0,61	0,25
15	D	0,28	0,18	0,012	0,14	4,5	0,63	2,4	1,2

*) Virkningforhold mellem forbindelsen 28100 og forbindelsen 28086 tilhørende teknikkens stade

A: Staphylococcus aureus, Penicillinase neg., 5 stammer

20 B: Staphylococcus aureus, Penicillinase-producerende, 5 stammer

C: Streptococcus pyogenes, 6 stammer (Sp-1,2,3,4,5 og 7)

D: Streptococcus pneumonia, 6 stammer (Dp-1,2,3,4,5 og 7).

Tabel XI

25 Geometrisk middelværdi af minimale inhibitoriske koncentrationer ($\mu\text{g/ml}$)

	Organismer*)	Forbindelser ifølge opfindelsen		Forbindelse tilhørende teknikkens stade
		1058	1076	28086
30		-----		
	Gram+			
	A	0,3	0,2	0,6
	B	0,8	0,7	2,1
	C	0,1	0,2	0,2
35	D	0,8	0,23	0,63

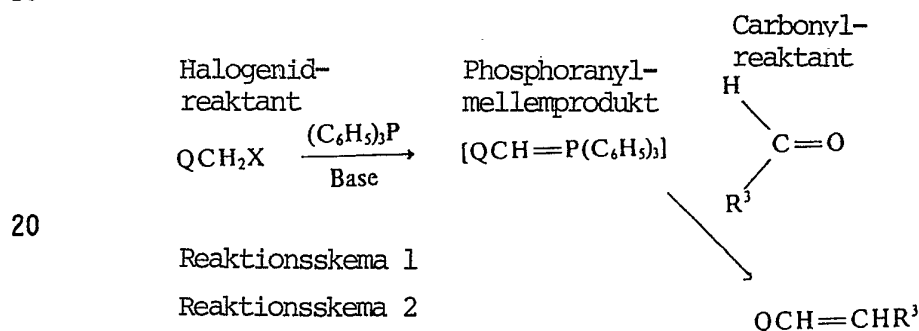
*) De anvendte organismer er identificeret i tabel X.

Forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse fremstilles ved anvendelsen af den syntetiske vej, der er omtalt i GB patentbeskrivelse nr. 1.342.241, USA patentskrift nr. 3.994.884 og USA patentskrift nr. 4.107.431, der er citeret ovenfor, med hensigtsmæssigt udvalgte udgangs-

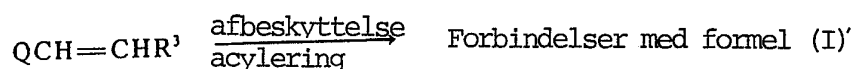
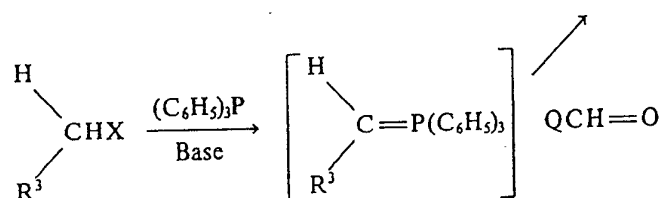
5 materialer. Essentielt involverer indføringen af propenylgruppen i 3-stillingen i forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse en omsætning af en halogenidreaktant med et triarylphosphin, hvilket giver et phosphoniumsalt, der ved behandling med base giver et phosphoranyl-

10 mellemprodukt. Sidstnævnte behandles så med en carbonylreaktant, hvilket giver en forbindelse ifølge opfindelsen. Enten indeholder halogenidreaktanten eller carbonylreaktanten cephalosporinkernen. Dette illustreres i de følgende reaktionsskemaer.

15



25



30

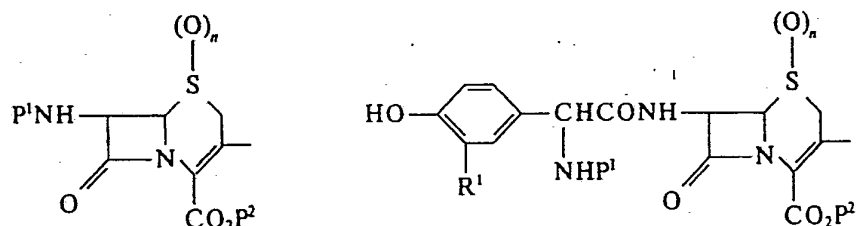
I de ovenstående reaktionsskemaer er R^3 en methylgruppe. Symbolet Q betegner 7-amino-3-cephem-3-yl-4-carboxylsyrekernen, hvori amino- og

35 carboxylsyregrupperne kan bære beskyttelsesgrupper, såsom silylgrupper eller andre grupper, der er velkendte for fagmanden i beta-lactam-antibiotika-kemien, eller Q kan være 7-acylamino-3-cephem-3-yl-4-carboxylsyrekernen, hvor 7-acylaminogruppen kan være én, der almindeligvis

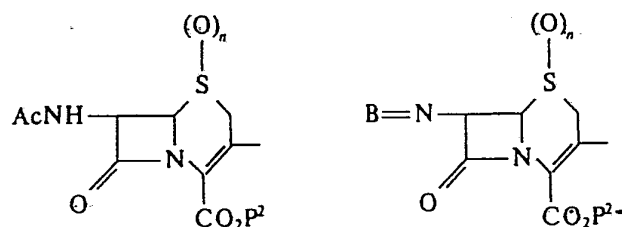
optræder i cephalosporin-antibiotika inklusive den α -amino- α -substituerede phenylacetamidogruppe ifølge den foreliggende opfindelse, som defineret i den almene formel (I). Specifikt kan Q have én af de følgende formler:

5

10



15



20 hvori

R^1 har samme betydning som tidligere,

n er 0 eller det hele tal 1, refererende til det antal oxygenatomer, der er bundet til svovl,

Ac betyder en acylgruppe af den type, der normalt findes i 7-acyl-amino-cephalosporiner, såsom phenylacetyl, phenoxyacetyl, og

B er en alkyliden- eller aralkyliden-beskyttende gruppe afledt af en aldehyd eller keton, såsom benzylidengruppen, der let fjernes på et senere trin ved for eksempel en hydrolyse med Girard's Reagent T.

P^1 , P^2 og P^3 er hydrogenatomer eller beskyttelsesgrupper af den slags, der almindeligvis benyttes i cephalosporin-kemien på aminogrupper, hydroxygrupper og carboxylgruppen.

Egnede carbonylbegyttende grupper (P^2) omfatter aralkylgrupper, såsom benzyl, p-methoxybenzyl, p-nitrobenzyl og diphenylmethyl-(benzhydryl)-alkylgrupper, såsom tertiær butyl; halogenalkylgrupper, såsom 2,2,2-trichlorethyl, og andre carboxylbeskyttende grupper, der er beskrevet i litteraturen, for eksempel i GB patentskrift nr. 1.399.086. Det foretrækkes at benytte carboxylbeskyttende grupper, der let kan fjernes ved behandling med syre, særligt benzhydryl eller tertiær butyl.

Amino- og hydroxybeskyttende grupper (P^1 og P^3) er velkendte inden for faget og omfatter trityl- og acylgrupper, såsom chloracetyl, formyl, trichlorethoxycarbonyl, t-butoxycarbonyl, carbobenzyloxy, etc. Igen foretrækkes aminobeskyttende grupper, der let kan fjernes ved behandling med syre, specielt t-butoxycarbonyl-gruppen.

I reaktionsskemaerne 1 og 2, hvor cephalosporinkernen Q benyttes i form af dens 1-oxid ($n=1$), fremstilles oxiderne ved kendte fremgangsmåder, såsom ved oxidation af den tilsvarende cephalosporin ($n=0$) med m-chlorperbenzoesyre eller pereddikesyre. På et senere trin i syntesen reduceres 1-oxidet ved kendte fremgangsmåder, f.eks. ved reduktion med iodidioner i et vandigt medium.

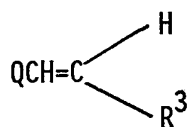
Omdannelse af halogenidreaktanten med formlen QCH_2X ifølge skema 1 til phosphoranyl-mellemproduktet sker fortrinsvis ved at benytte en halogenidreaktant, hvori X er iodid. Hvis en chlor eller brom-halogenidreaktant benyttes, skal den først omdannes til iodidet ved behandling med natriumiodid i dimethylformamid eller acetoneopløsning. Iodreaktanten reagerer let med en triarylphosphin, såsom triphenylphosphin i organisk flydende medium, der er inert over for reaktanterne ved reaktionsbetingelserne. Stuetemperatur i en kort periode op til mange timer udgør passende betingelser. Egnede triarylphosphiner omfatter, ud over triphenylphosphin, let tilgængelige arylforbindelser, der er forenelige ved reaktionen, såsom substituerede phenyler, f.eks. tolyl, naphthyl, substitueret naphthyl og heteroaromatiske eller substituerede heteroaromatiske grupper. Det første trin i reaktionen involverer dannelsen af det triarylphosphoniumsalt, der normalt bundfælder i opløsningen og opsamles på et filter. Triarylphosphoniumsaltet opløses så i et passende flydende organisk opløsningsmiddel, der er ikke-blandbart med vand og inert ved reaktionsbetingelserne, såsom chloroform, trichlorethylen eller andre polychlorerede eller bromerede metaner eller ethaner. Phosphoranyl-mellemproduktet fremstilles så in situ ved behandling af opløsningen med vandigt alkalimetallcarbonat, -bicarbonat eller -hydroxid ved stuetemperatur. Den organiske fase, der indeholder phosphoranyl-mellemproduktet, fraskilles, vaskes med vand og tørres på den sædvanlige måde. Carbonylreaktanten, der er vist i reaktionsskemaet, sættes herefter til den tørre opløsning af phosphoranyl-mellemproduktet, og det sidste trin af reaktionen sker dernæst igen ved stuetemperatur inden for en relativt kort reaktionstid på ca. 2-20 timer. Det ønskede produkt, beskrevet af formlen $QCH=CHR^3$, udvindes ved metoder kendt for

fagmanden i organisk-kemiske laboratorieprocedurer, såsom kromatografi på en silicagelkolonne.

Halogenidreaktanterne med formlen QCH_2X i skema 1 fremstilles ud fra det tilsvarende 7-amino- eller 7-acylamino-3-hydroxymethyl-ceph-3-
5 em-4-carboxylsyre-derivater ved fremgangsmåder, der i princippet er kendt.

Omdannelse af halogenidreaktanten med formlen R^3CH_2X ifølge skema 2 til phosphoranyl-mellemproduktet kan ske med enten chlorid, bromid eller iodid ($X=Cl, Br$ eller I). Hvis det ønskes, kan chlorid eller bromid
10 ombyttes med iodid, som ovenfor nævnt, men dette er ikke nødvendigt. Reaktionen med triarylphosphin, såsom triphenylphosphin, sker enten uden opløsningsmiddel eller i et organisk flydende medium, der er inert ved reaktionsbetingelserne. Stuetemperatur eller øget temperatur ($20-150^{\circ}C$) i fra 1 til 24 timer kan benyttes. Triarylphosphoniumsaltet bundfælder
15 normalt og opsamles på et filter. Det opløses derefter i et egnet flydende organisk opløsningsmiddel, såsom dimethylsulfoxid, eller i ét, der ikke er blandbart med vand, såsom ether eller tetrahydrofuran, og behandles med en base, såsom lithiumbutyl, lithiumphenyl, natrium-methoxid eller natriumhydrid i en periode på fra flere minutter til
20 flere timer ved en temperatur i området mellem $-40^{\circ}C$ og $+50^{\circ}C$. Carbonyl-reaktanten sættes herefter til den tørre reaktionsopløsning, og reaktionen sker ved mellem $-40^{\circ}C$ og $+50^{\circ}C$ i løbet af én til flere timer. Det ønskede produkt betegnet med formlen

25



udvindes som før.

30 Skema 1 er bekvemt ved fremstilling af forbindelserne ifølge opfindelsen. Ifølge en variation af skema 1, som der herefter refereres til som metode A, benyttes 7β -[α -(N-t-butoxy-carbonylamino)- α -(p-hydroxyphenyl)acetamido]-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylsyre-benzhydrylester som halogenidreaktant. Dette illustreres i eksempel 4, 5 og 6 senere.

35 En yderligere variation af skema 1 kaldes metode B. I denne variant fremstilles 7-amino-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylsyre-benzhydrylesteren som før, og 7-aminogruppen beskyttes ved en reaktion med benzaldehyd, hvilket giver benzyliden-beskyttelsesgruppen.

Den sidstnævnte behandles herefter med triphenylphosphin, hvilket giver phosphoniumsaltet, der så omdannes ved hjælp af base til phosphoranyl-mellemproduktet, og sidstnævnte behandles med en aldehyd, hvilket giver den 3-substituerede vinyl-7-aminocephalosporansyre, der herefter kan acyleres for at indføre den ønskede acylgruppe i 7-stillingen.

To variationer af skema 2 foreslås. I den første, metode C, fremstilles 3-hydroxymethyl-7-phenylacetamido-3-cephem-4-carboxylsyre, som beskrevet ovenfor, i hvilken carboxylsyren er beskyttet som benzhydryl-esteren, og den omdannes til den tilsvarende 3-formyl-forbindelse. Den sidstnævnte tillades så at reagere med phosphoranyl-mellemproduktet af halogenidet med formlen R^3CH_2X , som vist i skema 2, og den ønskede 7-acylaminogruppe indføres ved acylombytning.

Metode D er en yderligere variation af reaktionsskema 2, i hvilken beskyttet 7-p-hydroxyphenylglycylamido-3-formyl-3-cephem-4-carboxylsyre benyttes som carbonylreaktant.

7-phenylacetamidocephalosporansyre er et bekvemt udgangsstof i betragtning af dets nemme tilgængelighed. Acetoxygruppen heri kan let hydrolyseres enzymatisk ved at benytte hvedeklid som enzymkilde, og det giver 7-phenylacetamido-3-hydroxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylsyre. Carboxylsyregruppen kan beskyttes ved omdannelse til benzhydrylesteren ved behandling af syren med diphenyldiazomethan. Esteren behandles herefter med phosphorpentachlorid ved kendte betingelser, hvilket resulterer i fraspaltning af 7-phenylacetyl-gruppen og omdannelse af 3-hydroxymethylgruppen til en 3-chlormethylgruppe. Fremstilling af 7-amino-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylsyre-benzhydrylester ved disse fremgangsmåder illustreres i eksempel 1 og 2.

Alternativt kan 7-phenylacetamido-3-hydroxymethylceph-3-em-4-carboxylsyre omdannes til 3-halogenmethyl-forbindelsen og derfra til phosphoranyl-mellemproduktet, efterfulgt af reaktion med en aldehyd til fremstilling af den substituerede 3-vinyl-cephalosporin ifølge én af variationerne af reaktionsskema 1.

Cephalosporin-3-carboxaldehyd betegnet ved formlen $QCH=O$ i de ovenstående reaktionsskemaer, der tjener som carbonylreaktant i reaktionsskema 2, fremstilles ved oxidation af en 7-acylamino-3-hydroxymethyl-ceph-3-em-4-carboxylsyreester, som beskrevet i USA patentskrift nr. 3.351.596 citeret ovenfor. Reaktionsskema 2 er den mindst foretrukne af de to viste veje.

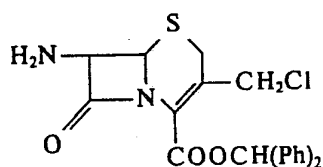
Eksempel 1Benzhydryl-3-hydroxymethyl-7 β -phenylacetamido-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 1)

- Til en suspension af phosphatbuffer (pH 7, 162,5 ml) og hvedeklid
- 5 (20 g, tør) ved stuetemperatur sættes 7-phenylacetamidocephalosporin-syre-natriumsalt (5 g, 12,1 mmol) ad én gang. Reaktionens fremskriden kontrolleredes ved HPLC, indtil hydrolysen var tilendebragt (5 timer). Suspensionen filtreredes til fjernelse af hvedeklidet og afkøledes til 5 til 10°C til ekstraktionsforestring. Til den afkølede opløsning sættes
- 10 methylenchlorid (32 ml) efterfulgt af en 0,5M opløsning af diphenyldiazomethan i methylenchlorid (24 ml). Herefter justeredes pH til 3,0 med 28% phosphorsyre. Efter 1 time fik reaktionsblandingsens temperatur lov til at stige til 20°C. Heptan (56 ml) tilsattes langsomt, og det resulterende krystallinske titelprodukt udvandt ved filtrering.
- 15 Udbytte af produktet var 3,0 g (50%).

Eksempel 2Benzhydryl-7 β -amino-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 2)

20

25



- 30 Til en opslæmning af PCl_5 (8,3 g, 40 mmol) i CH_2Cl_2 (1000 ml) sættes pyridin (3,2 g, 40 mmol), og blandingen omrørtes i 20 minutter ved 20°C. Til blandingen sættes benzhydryl-3-hydroxymethyl-7-phenylacetamido-3-cephem-4-carboxylat (1), (5,1 g, 10 mmol) ad én gang under omrøring ved -40°C. Blandingen omrørtes i 15 minutter ved -10°C og
- 35 henstod ved -10°C til -15°C i 7 timer. Til den afkølede opløsning (1 til 20°C) sættes propan-1,3-diol (10 ml), og blandingen henstod i 16 timer ved -20°C og derefter i 20 minutter ved stuetemperatur under omrøring. Den resulterende opløsning vaskedes med isvand (2 x 20 ml) og mættet

vandig NaCl (10 ml) , tørredes over MgSO_4 og koncentreredes i vakuum. Den gummiagtige remanens (12 g) opløstes i en blanding af CHCl_3 og n-hexan (2:1), og underkastedes kromatografi under anvendelse af en silicagelkolonne (200 g) og det samme opløsningsmiddel som eluant. Fraktioner, der indeholdt titelforbindelsen, inddampedes i vakuum, og remanensen tritureredes med n-hexan til dannelse af 2 (2,1 g, 51%), smeltepunkt 110°C (dek.).

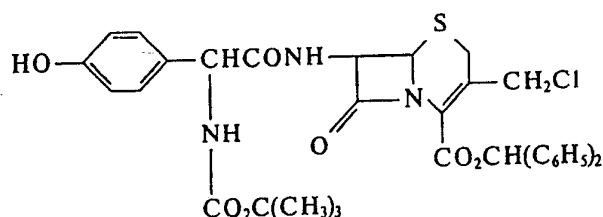
IR: ν_{KBr} : 3400, 2800, 1785, 1725 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{1\%}}$: 265 nm ($E_{1\text{cm}}^{160}$)

NMR: $\delta_{\text{DMSO-d}_6 + \text{CDCl}_3}$ ppm: 3,69 (2H, s), 4,43 (2H, s), 5,09 (1H, d, $J = 4,5\text{Hz}$), 5,24 (1H, d, $J = 4,5\text{Hz}$), 6,87 (1H, s), 7,3 (10H, m).

Eksempel 3

Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-hydroxyphenyl)-acetamido]-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 3)



Til en blanding af 20,7 g (0,05 mol) benzhydryl-7-amino-3-chlor-methyl-3-cephem-4-carboxylat (2) og 20 g (0,075 mol) D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-hydroxyphenyl)-eddikesyre i 500 ml tør tetrahydrofuran (THF) sættes 15,45 g (0,075 mol) N,N'-dicyclohexylcarbodiimid (DCC), og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer og inddampedes til tørhed. Remanensen opløstes i 1 l ethylacetat (AcOEt), og det uopløselige dicyclohexylurinstof fjernedes ved filtrering. Filtratet vaskedes med en vandig natriumbicarbonatopløsning, vand og mættet vandig NaCl opløsning, tørredes over vandfri natriumsulfat og inddampedes til tørhed. Den olieagtige remanens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Wakogel C-100, 500 g) ved eluering med 4 l chloroform og 6 l 1% chloroform-methanol. De ønskede fraktioner kombineredes og inddampedes til tørhed. Den olieagtige remanens tritureredes med ether-isopropylether til dannelse af 30,6 g (92%) af 3.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$: 1790, 1710, 1670, 1500, 1360, 1230, 1150.

NMR: δ_{CDCl_3} ppm: 1,45 (9H, s, C-CH₃), 3,4 (2H, br-s, 2-H), 4,28 (2H, s, CH₂Cl), 4,86 (1H, d, 4,5 Hz, 6-H), 5,12 (1H, d, 6Hz, CH-CO),
 5 5,68 (1H, dd, 8 & 4,5 Hz, 7-H), 6,63 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 6,93 (1H, s, CH-Ph₂), 7,08 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 7,0-7,5 (10H, m, phenyl-H).

Den olieagtige remanens kan benyttes i eksempel 4 uden kromatografisk oprensning.

10

Eksempel 4

Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-hydroxyphenyl)acetamido]-3-iodomethyl-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 4)

En blanding af 26,6 g (0,04 mol) af 3 og 18 g (0,12 mol) natrium-
 15 iodid i 400 ml acetone omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer og indampedes til tørhed. Remanensen ekstraheredes med 400 ml ethylacetat, og ekstraktet vaskedes med en vandig Na₂S₂O₃ opløsning, vand, og en mættet vandig NaCl opløsning. Efter indampning af opløsningsmidlet tritureredes med ether-isopropylether til dannelse af 27 g (89%) af
 20 titelproduktet. Ethylacetatopløsnignen kan om ønsket anvendes direkte i næste trin (forbindelse 5) uden isolering af forbindelse 4.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$: 1790, 1710, 1670, 1500, 1360, 1220, 1150.

NMR: δ_{CDCl_3} ppm: 1,47 (9H, s, C-CH₃), 3,3-3,6 (2H, m, 2-H),
 25 4,20 (2H, s, CH₂), 4,89 (1H, d, 4,5 Hz, 6-H), 5,12 (1H, d, 6Hz, CH-CO), 5,68 (1H, dd, 8 & 4,5 Hz, 7-H), 6,62 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 6,92 (1H, s, CHPh₂), 7,08 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 7-7,5 (10H, m, phenyl-H).

30

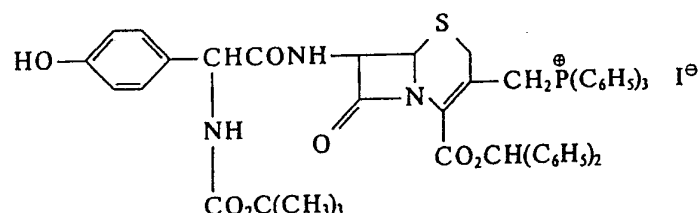
35

Eksempel 5

Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-hydroxyphenyl)acet-
amido]-3-(triphenylphosphonio)methyl-3-cephem-4-carboxylatiodid
(forbindelse 5)

5

10



15 En blanding af 15,1 g (0,02 mol) af 4 og 15,7 g (0,06 mol) tri-
phenylphosphin i 200 ml ethylacetat omrørtes ved stuetemperatur i 1
time. Det resulterende udfældningsprodukt opsamledes ved filtrering til
dannelse af 17,4 g (85,5%) af 5, som smelter ved 170 til 180°C. Filtra-
tet koncentreredes til 100 ml, og koncentratet fortyndedes med 500 ml
20 ether til dannelse af den anden høst (1,1 g) af 5. Det samlede udbytte
var 18,5 g (91%). Det totale udbytte af 5 fra 2 er 74,5%. Dette kan
forøges til 87,5% ved udeladelse af oprensningen og isolationstrinnene
angivet ovenfor.

IR ν ^{KBr} cm⁻¹: 1780, 1670, 1490, 1420, 1350, 1240, 1150, 1090.
25 max

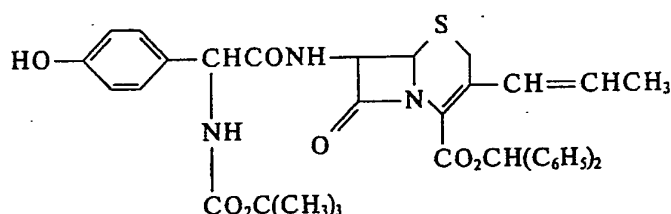
NMR: δ CDCl₃ ppm: 1,42 (9H, s, C-CH₃), 3,45 (2H, br-s, 2-H), 5-
5,4 (3H, m, 3-H & 6-H), 5,7 (1H, m, 7-H), 6,63 (2H, d, 9Hz, phenyl-H),
7,1-7,45 (12H, m, phenyl-H), 7,5-7,9 (15H, m, phenyl-H).

Analyse. Beregnet for C₅₂H₄₉N₃O₇SPi: C, 61,36; H, 4,85;
30 N, 4,13; S, 3,15, Fundet: C, 61,26; H, 4,82; N, 4,11; S, 3,92.

35

Eksempel 6

Benzhydryl-7β-[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]ceph-3-em-4-carboxylat (forbindelse 6)



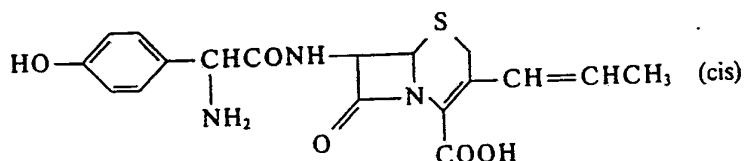
Til en opløsning af 1,8 g (1,77 mmol) af 5 i 100 ml chloroform
sattes 100 ml vand indeholdende 2 ml (2 mmol) 1N natriumhydroxid, og
blandingen rystedes i 5 minutter. Den organiske fase adskiltes, vaskedes
med vand og tørredes over vandfri natriumsulfat. Idet chloroformopløs-
ningen filtreredes, koncentreredes filtratet til 50 ml under reduceret
tryk. Til koncentratet sattes 1 g acetaldehyd, og blandingen omrørtes
ved stuetemperatur i 2 timer og indampedes til tørhed. Den olieagtige
remanens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Wakogel C-200, 50 g)
ved eluering med chloroform og chloroform-methanol (99:1) De ønskede
fraktioner opsamledes og indampedes til dannelse af 318 mg (28%) af
produktet 6, smeltepunkt 120 til 130°C (dek.).

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{cm}^{-1}}$: 1780, 1670, 1710, 1490, 1360, 1210, 1150.
max

NMR: δ CDCl_3 ppm: 1,3-1,5 (12H, m, C-CH₃), 3,22 (2H, br-s, 2-H),
4,90 (1H, d, 4,5Hz, 6-H), 5,15 (1H, br-d, CH-CO), 5,5-6,1 (3H, m, CH=CH
& 7-H), 6,63 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 6,91 (1H, s, CH-Ph), 7,09 (2H, d,
9Hz, phenyl-H), 7,2-7,5 (10H, m, phenyl-H).

Eksempel 7

Natrium-7β-[D-2-amino-2-(p-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-ceph-em-4-carboxylat (forbindelse 7, BMY-28100 natriumsalt)



En blanding af 318 mg (0,48 mmol) af 6 og 2,5 ml trifluoreddikesyre (TFA) omrørtes ved stuetemperatur i 1 time og fortyndedes dernæst med 50 ml ether og 50 ml isopropylether. Det udskilte bundfald opsamledes ved hjælp af filtrering og vaskedes med ether til dannelse af 188 mg (77%) af trifluoracetatet af 7, der opløstes i 2 ml methanol (MeOH). Til opløsningen sættes 2 ml (2 mmol) natrium-2-ethylhexanoat (SEH) opløst i ethylacetat, og blandingen fortyndedes med 30 ml ethylacetat til udskillelse af bundfaldet, som opsamledes ved filtrering, vaskedes med ether og tørredes i vakuum over P_2O_5 til dannelse af 144 mg (73% fra 6) rå 7. Det rå produkt (135 mg) opløstes i 10 ml vand og opløsningen kromatograferedes på en kolonne (25 mm x 100 mm) under anvendelse af ca. 20 ml af pakningen i PrepPak-500/ C_{18} (Waters). Kolonnen elueredes med vand, og eluatet, der indeholdt det ønskede produkt, koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 93 mg (69%) af 7. Smeltepunkt 200°C (gradvis dek.). Skønnet renhed 60% (ved HPLC).

IR: $\nu^{KBr} \text{ cm}^{-1}$: 1760, 1660, 1590, 1400, 1360, 1250.
max

UV: $\lambda^{phosphatbuffer \text{ (pH 7)}} \text{ nm}(\epsilon)$: 227 (11300), 280 (8200).
max

NMR: δ_{D_2O} ppm: 1,65 (3H, d, 6Hz, -C-CH₃), 3,21 (1H, d, 18Hz, 2-H), 3,52 (1H, d, 18Hz, 2-H), 5,12 (1H, d, 4,5Hz, 6-H), 5,68 (1H, d, 4,5Hz, 7-H), 5,5-5,9 (1H, m, vinyl-H), 5,95 (1H, d, 11,5Hz, vinyl-H), 6,94 (2H, d, 8Hz, phenyl-H), 7,36 (2H, d, 8Hz, phenyl-H).

Det rå produkt fremstillet i eksempel 7, rå 7 før kromatografisk oprensning (11,9 g), opløstes i 50 ml 0,01M phosphatbuffer (pH 7,2) - methanol (85:15), og opløsningens pH justeredes til 6 med 6N saltsyre. Denne opløsning underkastedes preparativ højeffektiv væskrokromatografi (HPLC) (PrepPAK-500/ C_{18} , system 500, Waters) ved eluering med 0,01M phosphatbuffer (pH 7,2) indeholdende 15% methanol. Eluatet undersøgte ved hjælp af analytisk HPLC og det konstateredes, at den første 4 liters fraktion indeholdt cis-isomer (BMV-28100). Den anden 1 liters fraktion, som indeholdt trans-isomeren, opsamledes og koncentreredes til 500 ml. Koncentratet justeredes til en pH på 3 med fortyndet saltsyre og kromatograferedes på en HP-20 kolonne (100 ml) ved eluering med 1 l af henholdsvis vand og 30% methanol. Det sidstnævnte eluat, med et volumen på ca. 300 ml, koncentreredes til 10 ml og lyofiliseredes til dannelse af 290 mg af den rå trans-isomer (55% rent). Dette materiale opløstes i 100 ml 50% methanol og behandledes med aktivt kul. Filtratet koncentreredes

til et volumen på 20 ml og henstod natten over ved 5°C. Produktet krystalliseredes som farveløse prismen, som opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum, 129 mg, smeltepunkt 230°C (dek.). Det drejede sig om E-propenylforbindelsen.

5

Eksempel 8

Krystallinsk 7β-[D-2-amino-(p-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse 9, BMY-28100)

Den første 4 liters fraktion, som opnåedes ved den ovenfor

- 10 beskrevne preparative HPLC-fremgangsmåde, og som indeholdt cis-isomeren (BMY-28100), koncentreredes til et volumen på 2 l, og koncentratet justeredes til pH 3 med fortyndet saltsyre. Opløsningen overførtes til en kolonne indeholdende HP-20 (1 l), og kolonnen vaskedes med 6 l vand, indtil effluentets pH var 7. Kolonnen elueredes dernæst med 4 l 30%
- 15 vandig methanol. Eluatopløsningen undersøgtes ved HPLC, og de passende fraktioner kombineredes (ca. 2,5 l) og koncentreredes til 50 ml ved en temperatur på mindre end 40°C ved reduceret tryk. Et krystallinsk udfældningsprodukt dannedes. Koncentratet afkøledes ved 0°C i 2 timer, og det krystallinske bundfald opsamledes ved filtrering, vaskedes med
- 20 80% vandig acetone, derefter med 100% acetone, og tørredes dernæst i vakuum over P₂O₅, hvilket gav et udbytte på 4,09 g af det ønskede rå krystallinske produkt, smeltepunkt 218 til 220°C (dek.), farveløse prismen med en renhed på 95% som bestemt ved HPLC analyse.

IR: ν^{KBr} cm⁻¹: 1750, 1680, 1560, 1520, 1460, 1390, 1350, 1270, 1235

25

UV: $\lambda^{\text{phosphatpuffer (pH 7)}}$ nm(ε): 228 (12300), 279 (9800).

NMR: δD₂O+NaHCO₃ ppm: 1,71 (3H, d, 6Hz, C-CH₃), 3,27 (1H, d, 18Hz, 2-H), 3,59 (1H, d, 18Hz, 2-H), 5,18 (1H, d, 4,5Hz, 6-H), 5,22 (1H, s, CHCO), 5,73 (1H, d, 4,5Hz, 7-H), 5,5-6,0 (1H, m, CH=C), 6,02 (1H, d, 11Hz, CH=C), 6,98 (2H, d, 9Hz, phenyl-H), 7,41 (2H, d, 9Hz, phenyl-H).

Analyse. Beregnet for C₁₈H₁₉N₃O₅S·1/2H₂O: C, 54,26; H, 5,06; N, 10,55; S, 8,05. Fundet: C, 54,15, 54,19; H, 5,13, 5,08;

35 N, 10,30, 10,42; S, 8,38, 8,04.

Moderluden fra den foregående krystallisering koncentreredes til et volumen på 10 ml og behandledes med 20 ml acetone. Efter henstand af

opløsningen i køleskab natten over havde der dannet sig et krystallinsk bundfald, som opsamledes ved filtrering og tørredes i vakuum over P_2O_5 , vægt 670 mg (90% rent ifølge HPLC). En del af dette materiale (560 mg) opløstes i 200 ml 50% vandig methanol, og opløsningen behand-

5 ledes med 0,5 g aktivt kul og filtreredes. Filtratet koncentreredes ved reduceret tryk og 40°C til et volumen på 20 ml og henstod derefter i 5 timer ved 5°C. Produktet udkrystalliserede og opsamledes ved filtrering, vaskedes med acetone og tørredes i vakuum over P_2O_5 , hvilket gav et udbytte på 227 mg krystallinsk BMY-28100 (98% rent ifølge HPLC). Lyofi-

10 lisering af moderluden gav et udbytte på 181 mg BMY-28100, som havde en renhed på 95% (HPLC).

Eksempel 9

Benzhydryl-7β-[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-phenylacetamido]-3-(tri-

15 phenylphosphonio)methyl-3-cephem-4-carboxylatiodid (forbindelse 9)

En blanding af 14,5 g (0,0196 mmol) benzhydryl-7-[D-(-)-α-(t-butoxycarbonylamino)-α-phenylacetamido]-3-iodmethyl-3-cephem-4-carboxylat og 5,24 g (0,02 mol) triphenylphosphin i 300 ml ethylacetat omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer. Til reaktionsblandingen sættes

20 200 ml ether til dannelse af bundfald, som opsamledes ved filtrering og vaskedes med ether til dannelse af 14,3 g (73%) af titelforbindelsen. Filtratet koncentreredes til 50 ml, og koncentratet fortyndedes med ether til dannelse af 2,4 g af mere af produktet. Samlet udbytte 16,7 g (85%).

25 IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 1780, 1690, 1480, 1420, 1350, 1240, 1150.

Eksempel 10

Benzhydryl-7β-[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-phenylacetamido]-3-[(Z)-1-

30 propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 10)

Til en opløsning af 5 g (5 mmol) af 9 i 200 ml chloroform sættes en blanding af 100 ml vand og 5 ml (5 mmol) 1N natriumhydroxid, og blandingen rystedes i 3 minutter. Den fraskilte organiske fase vaskedes med vand og en mættet NaCl opløsning og tørredes over vandfri magnesium-

35 sulfat. Idet chloroformopløsningen filtreredes, koncentreredes filtratet til 100 ml under reduceret tryk. Til koncentratet sættes 3 ml acetaldehyd, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1½ time og indampedes til tørhed. Den olieagtige remanens kromatograferedes på en silica-

kolonne (kieselgel 60, 50 g) ved eluering med chloroform. De ønskede fraktioner opsamledes og indampedes til tørhed, og remanensen trituredes med n-hexan til dannelse af 990 mg (31%) af titelforbindelsen (10).

5 IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$ 1780, 1710, 1660, 1510, 1490, 1360, 1240, 1210, 1150.

NMR: δ_{CDCl_3} ppm: 1,3-1,5 (12H, m, -C-CH₃), 3,22 (2H, s, 2-H), 4,93 (1H, d, 4,5Hz, 6-H), 5,23 (1H, d, 8Hz, CH-CO), 5,5-6,2 (3H, m, 7-H & vinyl-H), 6,94 (1H, s, CHPh), 7,2-7,5 (15H, m, phenyl-H).

10

Eksempel 11

Natrium-7 β -[D-2-amino-2-phenylacetamido]-3-[(Z)-1-propenyl]-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 11, BB-S1065)

En blanding af 0,94 g (1,47 mmol) af 10 og 3 ml TFA omrørtes ved
15 stuetemperatur i 30 minutter og fortyndedes dernæst med 50 ml af en 1:1 blanding af ether-isopropylether til udskillelse af 800 mg bundfald, som opsamledes ved filtrering og opløstes i 3 ml methanol. Til opløsningen sættes 4,5 ml (4,5 mmol) 1M natrium-2-ethylhexanoat (SEH) i ethylacetat, og blandingen fortyndedes med 50 ml ether og dernæst med 50 ml iso-
20 propylether. Bundfaldet opsamledes ved filtrering til dannelse af 710 mg af det rå produkt 11, som opløstes i 20 ml vand og kromatograferedes på en kolonne under anvendelse af 50 ml af pakningen i en PrepPAK/C₁₈ patron (Waters). Kolonnen elueredes med vand og 10% methanol. De fraktioner, der indeholdt det ønskede produkt, opsamledes ved overvågning af
25 HPLC og koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 182 mg (31%) af det ønskede produkt, smeltepunkt ved 200°C. Skønnet renhed 50% ved HPLC.

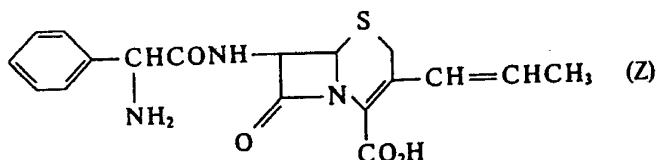
IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$: 1760, 1660, 1600, 1400, 1180, 1100.

30 UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{phosphatbuffer (pH 7) nm}(\epsilon)}$: 282 (5500).

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}}$ ppm: 1,60 (3H, d, 6Hz, -C-CH₃), 3,12 (1H, d, 18Hz, 2-H), 3,48 (1H, d, 18Hz, 2-H), 5,03 (1H, d, 4,5Hz, 6-H), 5,62 (1H, d, 4,5Hz, 7-H), 5,93 (1H, d, 10Hz, vinyl-H), 5,2-5,8 (1H, m, vinyl-H), 7,41
35 (5H, s, phenyl-H).

Eksempel 12

7 β -(D-(-)-2-Amino-2-phenylacetamido)-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse 24, BB-S1065 zwitterionform)



Diphenylmethyl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-phenylacetamido]-3-(1-propenyl)-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 10) 1,5 g, (2,34 mmol) behandles med 3 ml trifluoreddikesyre, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 20 minutter og fortyndedes med 100 ml ether til dannelse af 1,15 g (96%) af det rå trifluoracetat af BB-S1065.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1760, 1670, 1200, 1130.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{phosphatbuffer (pH 7)}}$ nm(ϵ): 283 (8300).

Trifluoracetatet (1,1 g, 2,25 mmol) opløstes i 20 ml vand, og opløsningen kromatograferedes på en kolonne under anvendelse af 100 ml af pakningen opnået fra PrepPAK/C₁₈ patron (Waters). Kolonnen elueredes med vand, 10% methanol og 30% methanol. Eluatet med 30% methanol koncentreredes til 10 ml. Det krystallinske produkt fraskiltes. Produktet opsamledes og vaskedes med acetone og tørredes i vakuum over P₂O₅ til dannelse af 505 mg (46%) rent BB-S1065 (zwitterionform), som smelter ved 180 til 183°C (dek.). Skønnet renhed 95%.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750, 1690, 1590, 1400, 1350.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{phosphatbuffer (pH 7)}}$ nm(ϵ): 282 (8800).

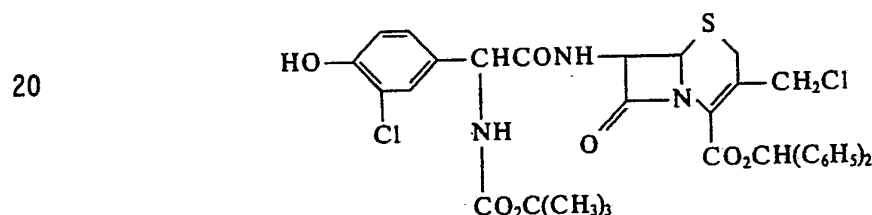
NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}+\text{NaHCO}_3}$ ppm: 1,58 (3H, d, J = 6Hz, C-CH₃), 3,3 (2H, d, 2-H), 5,03 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,20 (1H, s, CH-CO)p, 5,1-5,8 (1H, m, CH=C), 5,63 (1H, d, J = 4,5Hz, 7-H), 5,92 (1H, d, J = 12Hz, CH=C), 7,4 (5H, s, phenyl-H).

Eksempel 13D-(-)-2-(t-Butoxycarbonylamino)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-eddikesyre (forbindelse 13)

- En blanding af 6 g (0,03 mol) 3-chlor-4-hydroxyphenylglycin og
 5 9,8 g (0,045 mol) di-t-butyl-dicarbonat i 120 ml af en 50% vandig tetra-
 hydrofuran (THF) opløsning indeholdende 10 ml (0,071 mol) triethylamin
 omrørtes ved stuetemperatur i 3 timer. Blandingen koncentreredes til 60
 ml, og koncentratet vaskedes med ether. Den vandige fase gjordes sur med
 6N saltsyre og ekstraheredes med 200 ml ether. Ekstraktet vaskedes med
 10 vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes over MgSO_4 og inddampedes
 til tørhed til dannelse af 10 g af en olieagtig remanens, som ikke
 størknede ved forsøg på triturering med ether-n-hexan.

Eksempel 14

- 15 Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-
 acetamido]-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 14)



- 25 Til en opløsning af 6,2 g (0,015 mol) af forbindelse 2 og 5,4 g
 (0,018 mol) af forbindelse 13 i 150 ml tør THF sættes 3,7 g (0,018 mol)
 DCC, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Dicyclohexyl-
 urinstof, som udskiltes under omrøring, fjernedes ved filtrering, og
 filtratet indampedes til tørhed. Remanensen ekstraheredes med 200 ml
 30 ethylacetat, ekstraktet vaskedes med en vandig NaHCO_3 opløsning, vand
 og en mættet NaCl opløsning og tørredes med MgSO_4 . Filtratet indam-
 pedes til tørhed, og den olieagtige remanens kromatograferedes på en
 silicagelkolonne (Wakogel C-200, 140 g) ved eluering med toluen-ethyl-
 acetat (10:1). De ønskede fraktioner opsamledes og indampedes til
 35 tørhed til dannelse af produktet 14.

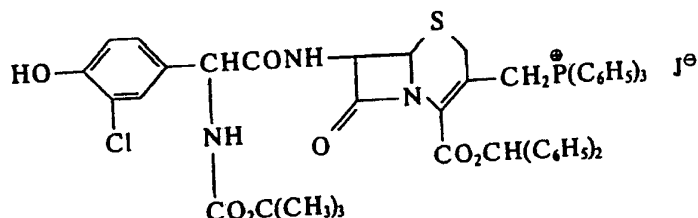
IR: ν^{KBr} cm^{-1} : 1790, 1720, 1680, 1500, 1370, 1240, 1160.
 max

Eksempel 15

Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-
acetamido]-3-(triphenylphosphonio)methyl-3-cephem-4-carboxylatiodid
(forbindelse 15)

5

10



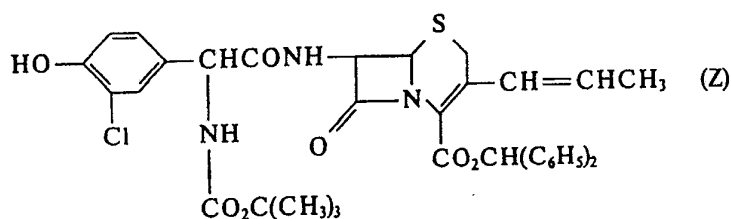
Til en opløsning af 10 g (0,0143 mol) af forbindelse 14 i 100 ml
 15 acetone sættes 11,2 g (0,075 mol) natriumiodid, og blandingen omrørtes
 ved stuetemperatur i 30 minutter. Blandingen koncentrerades til 30 ml.
 Til koncentratet sættes 200 ml ethylacetat, og blandingen vaskedes med
 en vandig Na₂S₂O₃ opløsning, vand og en mættet NaCl opløsning og
 tørredes med MgSO₄. Ethylacetatopløsningen filtreredes, og filtratet
 20 koncentrerades til det halve volumen. Til koncentratet sættes 3,9 g
 (0,015 mol) triphenylphosphin, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur
 i 2 timer. Til opløsningen sættes 300 ml ether til udskillelse af et
 bundfald, som opsamledes ved filtrering og tørredes til dannelse af 9,2
 g phosphoniumiodidet 15.

25 IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1780, 1680, 1490, 1350, 1240, 1150.

Eksempel 16

Benzhydryl-7 β -[D-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-
 30 acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 16)

35



En opløsning af 9,5 g (9 mmol) af forbindelse 15 i 200 ml chloroform sættes til en blanding af vand (100 ml) og 1N NaOH (10 ml), og blandingen rystedes i 3 minutter. Den organiske fase vaskedes med vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO₄ og koncentreredes til ca. det halve volumen. Til koncentratet sættes 20 ml 90% acetaldehyd, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i ca. 3 timer, behandledes med vandfri MgSO₄ og filtreredes. Filtratet indampedes til tørhed, og remanensen kromatograferedes på Kieselgel 60 (Merck, 120 g) ved eluering med toluen-ethylacetat (4:1). De ønskede fraktioner opsamledes og indampedes til tørhed, og remanensen tritureredes med en blanding af ether, isopropylether og n-hexan til dannelse af 1,33 g af det blokerede produkt 16.

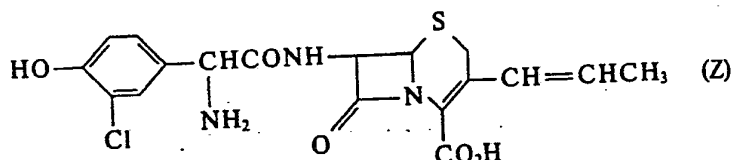
IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1700, 1660, 1480, 1350, 1210, 1150.

15

Eksempel 17

7 β -[D-2-amino-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse 17, BMY-28060)

20



25

En blanding af 1,33 g (1,93 mmol) af forbindelse 16 og 3 ml tri-fluoreddikesyre omrørtes ved stuetemperatur i 30 minutter, og blandingen fortyndedes med 50 ml ether-isopropylether (1:1) til dannelse af 1,072 g af det rå trifluoracetat af 17, som kromatograferedes på en kolonne pakket med pakningen af en PrepPAK/C₁₈ patron (Waters) (80 ml). Kolonnen elueredes med vand og 10% methanol. Eluatet med 10% methanol koncentreredes til 10 ml af volumenet til udskillelse af et krystallinsk bundfald, som opsamledes ved filtrering og vaskedes med acetone og tørredes i vakuum over P₂O₅ til dannelse af 238 mg af 17 (95% rent), som smelter ved 180 til 185°C (gradvis dek.). Filtratet koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 154 mg af en

anden fraktion, som havde en renhed på 80% ifølge HPLC.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$: 1760, 1680, 1570, 1410, 1390, 1350, 1290, 1270.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{phosphatbuffer (pH 7)}}$ nm(ϵ): 232 (10000), 280 (10500).

5

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}+\text{NaHCO}_3}$ ppm: 1,68 (3H, d, J = 6Hz, C=C-CH₃), 3,25 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 3,57 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 4,90 (1H, s, CH-CO), 5,18 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,72 (1H, d, J = 4,5Hz, 7-H), 5,5-5,9 (1H, m, CH=C), 5,97 (1H, d, J = 12Hz, CH=C), 7,02 (1H, d, J = 8Hz, phenyl-H), 7,30 (1H, d-d, J = 8 & 1,5 Hz, phenyl-H), 7,50 (1H, d, J = 1,5Hz, phenyl-H).

10

Eksempel 18

D-(-)-2-(t-Butoxycarbonylamino)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-eddikesyre (18a)

15 blandet med dets 3-(og 4-)mono-O-butoxycarbonyl-derivater (18b)

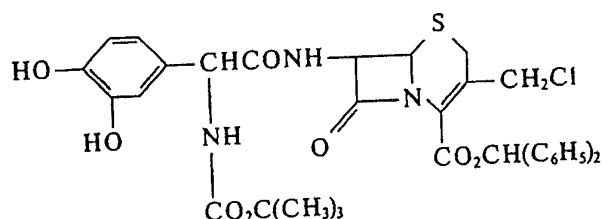
En blanding af 3,66 g (0,02 mol) af 3,4-dihydroxyphenylglycin og 9,24 g (0,04 mol) di-t-butyl-dicarbonat i 120 ml af en 50% vandig THF opløsning indeholdende 10 ml (0,071 mol) triethylamin omrørtes ved stuetemperatur i 16 timer, og blandingen koncentreredes til 60 ml.

20 Koncentratet vaskedes med 100 ml ether, gjordes sur med 1N saltsyre og ekstraheredes med ether (100 x 2 ml). De kombinerede ekstrakter vaskedes med vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO₄ og inddampedes til tørhed til dannelse af 8 g af en olieagtig remanens, som var en blanding af det ønskede 3,4-dihydroxyphenylderivat og de 3- og 4-
25 mono-O-BOC-beskyttede derivater (BOC betyder t-butoxy-carbonyl).

Eksempel 19

Benzhydryl-7 β -[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-acetamido]-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylat (19a) i blanding med dets

30 3-(og 4-)mono-O-butoxycarbonylderivater (19b)



35

En blanding af 8 g (0,0193 mol) af forbindelse 2, 8 g af det blandede produkt ifølge eksempel 18 og 4,12 g (0,02 mol) DCC i 200 ml tør THF omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Reaktionsblandingen indampedes til tørhed. Residualen opløstes i 200 ml ethylacetat, og uopløseligt materiale (dicyclohexylurinstof) fjernedes ved filtrering. Filtratet vaskedes med en vandig NaHCO_3 opløsning, vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO_4 og indampedes til tørhed under reduceret tryk. Den olieagtige residualens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Kieselgel 60, 130 g) ved eluering med toluen-ethylacetat (5:1) og toluen-ethylacetat (2:1). Eluatet med toluen-ethylacetat (5:1) opsamledes og indampedes til tørhed til dannelse af 9,5 g af en blanding af mono-O-BOC-N-BOC-afbeskyttede derivater (19b). Eluatet med toluen-ethylacetat (2:1) opsamledes og indampedes til tørhed til dannelse af 3 g af 3,4-dihydroxyphenylderivatet (19a).

Forbindelse 19a

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}}$ 1770, 1720, 1690, 1500, 1370, 1240, 1150.

NMR: δCDCl_3 ppm: 1,42 (9H, s, C- CH_3), 3,4 (2H, br-s, 2-H), 4,30 (2H, br-s, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 4,85 (1H, d, $J = 4,5\text{ Hz}$, 6-H), 5,07 (1H, d, $J = 6\text{ Hz}$, CH-NH), 5,74 (1H, d-d, $J = 9 \text{ \& } 4,5\text{ Hz}$, 7-H), 6,6-6,9 (3H, m, phenyl-H), 6,93 (1H, s, CHPh), 7,3 (10H, s, phenyl-H).

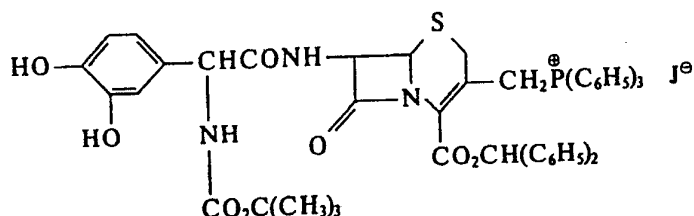
Blanding 19b

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}}$: 1770, 1720, 1690, 1500, 1370, 1240, 1150.

NMR: δCDCl_3 ppm: 1,42 (9H, s, C- CH_3), 1,55 (9H, s, C- CH_3), 3,4 (2H, br-s, 2-H), 4,35 (2H, br-s, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 6,9-7,1 (4H, m, CHPh & phenyl-H), 7,3 (10H, s, phenyl-H).

Eksempel 20

Benzhydryl-7β-[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-acetamido]-3-triphenylphosphoniomethyl-3-cephem-4-carboxylatiodid (20a)



En blanding af 3 g (4,4 mmol) af 19a og 3,3 g (22 mmol) natrium-
iodid i 50 ml acetone omrørtes ved stuetemperatur i 30 minutter, og
blandingens koncentrerendes til tørhed. Remanensen ekstraheredes med 100
ml ethylacetat, og ekstraktet vaskedes med en vandig $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
opløsning, vand og en mættet NaCl opløsning. Efter tørring med MgSO_4
koncentrerendes ekstraktet til 60 ml. Til koncentratet sættes 1,4 g (5,3
mmol) triphenylphosphin, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1
time. Til blandingen sættes 100 ml ether til udskillelse af bundfaldet,
som opsamledes ved filtrering og vaskedes med ether til dannelse af 3,2
g (70%) af fosphoniumiodidet (20a).

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}}$ 1780, 1680, 1480, 1430, 1360, 1240, 1150.

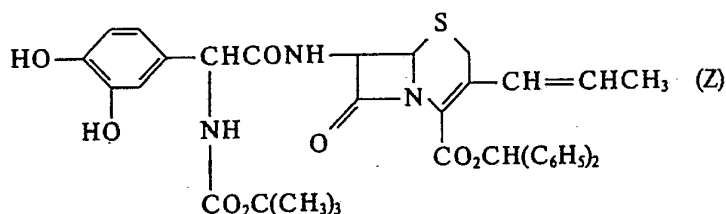
På lignende måde fik 9,5 g (12 mmol) af blandingen af mono-O-BOC-
beskyttede derivater (19b) lov til at reagere med natriumiodid og
derefter med triphenylphosphin til dannelse af 10,7 g (77%) af en
blanding af de tilsvarende mono-O-BOC-N-BOC-triphenylphosphoniomethyl-
derivater (20b).

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}}$ 1770, 1720, 1680, 1480, 1430, 1360, 1240, 1140.

Eksempel 21

Benzhydryl-7 β -[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 21a)

5



10

Til en omrørt opløsning af 3,15 g (3 mmol) af forbindelse 20a og 10 ml acetaldehyd i 50 ml chloroform sattes dråbevis 8 ml (4 mmol) 0,5N natriumhydroxid over et tidsrum på 10 minutter, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Reaktionsblandingen vaskedes med vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO₄ og indampedes under reduceret tryk. Den olieagtige remanens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Wakogel C-200, 60 g), som elueredes med chloroform (2 l) og 2% methanol i chloroform i forbindelse med undersøgelse ved TLC [chloroform-methanol (10:1)]. De ønskede fraktioner fra 2% methanol-eluatet opsamledes og indampedes til tørhed til dannelse af 0,8 g (40%) af propenylderivatet 21a.

NMR: δ CDCl₃ ppm: 1,28 (3H, d, J = 6Hz, C-CH₃), 1,42 (9H, s, C-CH₃), 3,25 (2H, s, 2-H), 4,92 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,08 (1H, d, J = 6Hz, CH-NH), 5,3-5,8 (1H, m, CH=C), 5,80 (1H, d, J = 4,5Hz, 7-H), 6,04 (1H, d, J = 11Hz, CH=C), 6,70 (2H, s, phenyl-H), 6,82 (1H, s, phenyl-H), 6,92 (1H, s, CHPh), 7,3 (10H, s, phenyl-H).

På lignende måde som beskrevet ovenfor fik 10,5 g (9,3 mmol) af blandingen af de 3- og 4-O-BOC-N-BOC-afbeskyttede derivater 20b lov at reagere med acetaldehyd til dannelse af 3,3 g (46%) af det tilsvarende 3-propenylderivat 21b.

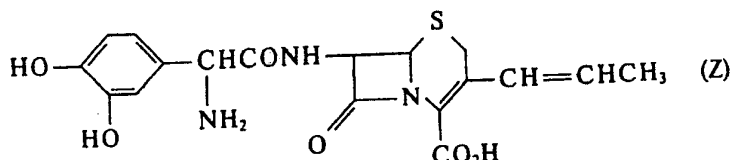
IR: ν ^{KBr} max 1770, 1700, 1500, 1370, 1240, 1150.

NMR: δ CDCl₃ ppm: 1,4 (9H, s, C-CH₃), 1,55 (9H, s, C-CH₃), 3,25 (2H, s, 2-H), 6,07 (1H, d, J = 11Hz, CH=C), 6,9-7,1 (4H, m, CH-Ph & phenyl-H), 7,3-7,5 (10H, m, phenyl-H).

Eksempel 22

7 β -[D-(-)-2-Amino-2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse 22, BMY-28068)

5



10

En blanding af 0,8 g (1,2 mmol) af forbindelse 21a, 0,8 ml anisol og 3 ml trifluoreddikesyre omrørtes ved stuetemperatur i 5 minutter og fortyndedes med 25 ml ether og 25 ml isopropylether. Det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering og vaskedes med isopropylether til dannelsen af 557 mg af det rå trifluoracetatsalt af forbindelse 22. En opløsning af det rå produkt i 10 ml vand rensedes ved kolonnekromatografi under anvendelse af 100 ml af pakningen af en PrepPAK-C₁₈ patron (Waters), og kolonnen elueredes med vand og dernæst med 5% methanol. 5% methanoleluatet indeholdende det ønskede produkt koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelsen af 231 mg (47%) af forbindelse 22 (zwitterionform, 90% rent). Smeltepunkt 200°C (gradvis dek.).

25

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1760, 1690, 1580, 1530, 1400, 1360, 1290, 1270.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{phosphatbuffer (pH 7)}}$ nm(ϵ): 233 (9200), 281 (11000).

30

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}}$ ppm: 1,68 (3H, d, J = 6Hz, C-CH₃), 3,26 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 3,58 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 5,18 (1H, s, CHNH), 5,22 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,5-5,9 (2H, m, CH=C & 7-H), 5,97 (1H, d, J = 11Hz, CH=C), 7,05 (3H, m, phenyl-H).

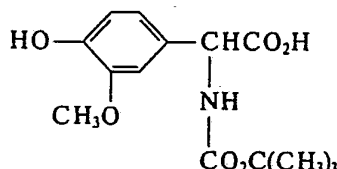
På lignende måde gav 3,3 g (4,3 mmol) af den N,O-di-t-BOC-beskyttede derivatblanding 21b 1,3 g (75%) af forbindelse 22 som zwitterionformen (90% rent), hvilket gav spektraldata, som var identiske med de ovenfor angivne.

35

Eksempel 23

D-(-)-2-(t-Butoxycarbonylamino)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)eddikesyre
(forbindelse 23)

5



10

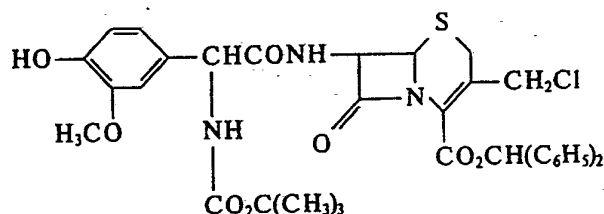
En blanding af 2,96 g (0,015 mol) D-(-)-2-amino-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)eddikesyre og 3,6 g (0,0165 mol) di-t-butyl-dicarbonat i 100 ml 50% vandig THF indeholdende 4,2 ml (0,03 mol) triethylamin omrørtes ved stuetemperatur i 16 timer, og reaktionsblandingen koncentreredes til 50 ml. Koncentratet vaskedes med 50 ml ether, gjordes sur med 1N saltsyre og ekstraheredes to gange med ether (2 x 100 ml). De kombinerede ekstrakter vaskedes med vand og en mættet NaCl opløsning. De tørrede ekstrakter indampedes til tørhed til dannelse af 4,38 g af forbindelse 23 som et skumagtigt fast stof.

20 NMR: δ CDCl₃ ppm: 1,4 (9H, s, -C-CH₃), 3,8 (3H, s, OCH₃), 5,15 (1H, d, J = 6Hz, CH-NH), 6,85 (3H, s, phenyl-H).

Eksempel 24

Benzhydryl-7 β -[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-acetamido]-3-chlormethyl-3-cephem-4-carboxylat (forbindelse 24)

30



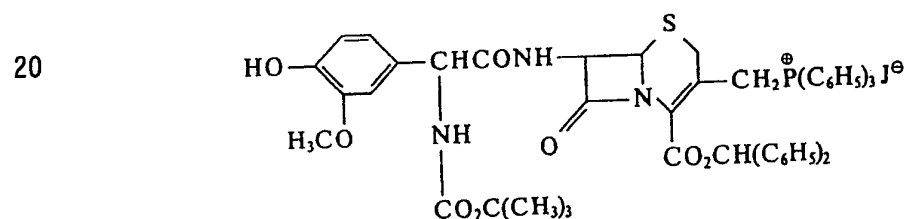
En blanding af 4,3 g af forbindelse 23, 5 g (0,012 mol) af forbindelse 2 og 3 g (0,015 mol) DCC i 150 ml tør THF omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer. Det udfældede urinstof fjernedes ved filtrering, og filtratet indampedes til tørhed. En opløsning af remanensen i 200 ml ethylacetat vaskedes med en vandig NaHCO₃ opløsning, vand og en mættet

NaCl opløsning, tørredes med MgSO_4 og indampedes til tørhed. Den olieagtige remanens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Kieselgel 60, 100 g), som elueredes med toluen-ethylacetat (4:1) under analyseringen med TLC [toluen-ethylacetat (1:1) eller chloroform-methanol (50:1)]. De ønskede fraktioner opsamledes og indampedes til tørhed til dannelse af 7 g af det ønskede 3-chlormethyl-cephem, forbindelse 24, som et skumagtigt fast stof.

NMR: δ ppm: 1,4 (9H, s, C-CH_3), 3,45 (2H, br-s, 2-H), 3,83 (3H, s, OCH_3), 4,32 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{Cl}$), 4,92 (1H, d, $J = 4,5\text{ Hz}$, 6-H), 5,13 (1H, d, $J = 6\text{ Hz}$, CH-NH), 5,65 (1H, d, $J = 6\text{ Hz}$, NH), 5,80 (1H, d-d, $J = 8$ & 4,5 Hz, 7-H), 6,85 (3H, s, phenyl-H), 6,95 (1H, s, CH-Ph), 7,2-7,5 (10-H, m, phenyl-H).

Eksempel 25

15 Benzhydryl-7 β -[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)acetamido]-3-triphenylphosphoniomethyl-3-cephem-4-carboxylatiodid (forbindelse 25)

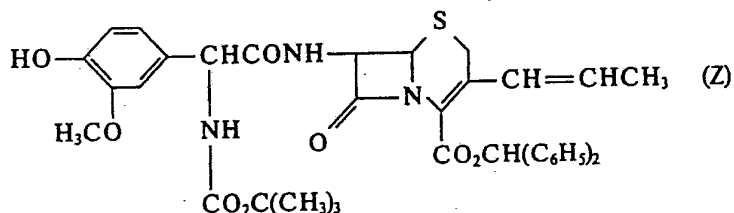


25

En blanding af 7 g (0,01 mol) af forbindelse 24 og 7,5 g (0,05 mol) natriumiodid i 100 ml acetone omrørtes ved stuetemperatur i 30 minutter og indampedes til tørhed. En opløsning af remanensen i 200 ml ethylacetat vaskedes med en vandig $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ opløsning, vand og en mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO_4 og koncentreredes til 100 ml. Til koncentratet sattes 3,1 g (0,012 mol) triphenylphosphin, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Til reaktionsblandingen sattes 100 ml ether, og det udskilte faste stof opsamledes ved filtrering, vaskedes med ether og tørredes til dannelse af 5,8 g af triphenylphosphoniumderivatet, forbindelse 25. Det etheriske filtrat koncentreredes til 10 ml og til koncentratet sattes 300 ml ether til dannelse af 0,9 g af produktet som en anden høst. Det samlede udbytte var 6,7 g.

Eksempel 26

Benzhydryl-7 β -[D-(-)-2-(t-butoxycarbonylamino)-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylat
(forbindelse 26)

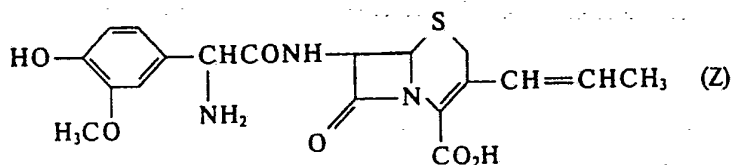


Til en omrørt blanding af 5,8 g (5,5 mmol) af forbindelse 25 og 10 ml 90% acetaldehyd i 100 ml chloroform sættes dråbevis 11 ml (5,5 mmol) 0,5N natriumhydroxid i løbet af 25 minutter, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 2 timer. Reaktionsblandingen vaskedes med vand, derefter med mættet NaCl opløsning, tørredes med MgSO₄ og indampedes til tørhed. Den olieagtige remanens kromatograferedes på en silicagelkolonne (Kieselgel 60, 130 g) ved eluering med en blanding af toluen og ethylacetat [forholdet ændredes trinvis: 4:1 (1,3 l), 3:1 (1,1 l), 2:1 (1,0 l)], og eluatet opsamledes i 20 ml fraktioner. Fraktion nr. 26 til 59 kombineredes og indampedes til tørhed til dannelse af 830 mg af det ønskede 3-propenylderivat, forbindelse 26, som et skumagtigt fast stof.

NMR: δ CDCl₃ ppm: 1,35 (3H, d, =CH-CH₃), 1,4 (9H, s, C-CH₃), 3,85 (3H, s, O-CH₃), 6,07 (1H, d, J = 11Hz, -CH=C).

Eksempel 27

7 β -[D-(-)-2-Amino-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre (forbindelse 27, BMY-28097)



En blanding af 830 mg (1,2 mmol) af forbindelse 26, 0,5 ml anisol og 2 ml trifluoreddikesyre omrørtes ved stuetemperatur i 5 minutter, og

blandingen fortyndedes med 30 ml ether og 30 ml isopropylether. Det resulterende bundfald opsamledes ved filtrering, vaskedes med isopropylether og tørredes til dannelse af 437 mg af det rå trifluoracetat af forbindelse 27. Det rå produkt kromatograferedes på en kolonne pakket med 100 ml af pakningen af en PrepPAK-C₁₈ patron kolonne (Waters), som elueredes med vand og 5% methanol. Eluatet med 5% methanol koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 225 mg af forbindelse 27 (zwitterion, 90% rent). Smeltepunkt 176 til 180°C (dek.).

IR: $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 1760, 1690, 1590, 1530, 1400, 1360, 1280.

UV: $\lambda_{\max}$ phosphatbuffer (pH 7) nm(ϵ): 235 (10000), 280 (11000).

NMR: δ_{D_2O} ppm: 1,68 (3H, d, J = 6Hz, C-CH₃), 3,25 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 3,57 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 4,01 (3H, s, OCH₃), 5,10 (1H, s, CH-CO), 5,19 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,78 (1H, d, J = 4,5Hz, 7-H), 5,5-5,9 (1H, m, CH=C), 5,98 (1H, d, J = 11Hz, CH=C), 7,07 (2H, s, phenyl-H), 7,17 (1H, br-s, phenyl-H).

HPLC: retentionstid 9,3 minutter (0,02M acetatbuffer (pH 4) indeholdende 15% acetonitril).

Eksempel 28

Isolering af forbindelse 27 fra urinen fra rotter behandlet med forbindelse 22

6 Wister rotter af hankøn (400 til 600 g) anbragtes i metaboliske bure i stål efter oral administrering af forbindelse 22 i en dosis på 100 mg/kg, og urin opsamledes i løbet af 24 timer. Rotterne blev fodret med deres sædvanlige kost og fik vand under forsøget. Den følgende tabel viser volumen af urin opsamlet i intervaller.

	<u>0-2 t</u>	<u>2-4 t</u>	<u>4-6 t</u>	<u>6-24 t</u>	<u>I alt</u>
30 Urinvolumen (ml)	18	19,5	13	42	92,5

Urinen (ca. 90 ml) justeredes til pH 3 med 1N saltsyre og filtreredes for at fjerne bundfaldet. Filtratet kromatograferedes på en kolonne pakket med 300 ml HP-20 ved eluering med 2 l vand og 2 l 30% methanol under analysering med HPLC. De fraktioner, som indeholdt de bioaktive komponenter, af 30% methanol-eluatet, opsamledes, koncentreredes til 10 ml og lyofiliseredes til dannelse af 390 mg brunt fast stof. En opløsning af det faste stof i 20 ml vand kromatograferedes på

en kolonne pakket med 200 ml af pakningen af en PrepPAK/C₁₈ patron (Waters) ved eluering med vand, 5% methanol og derefter med 10% methanol. Den første halvdel af 5% methanoleluatet koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 44 mg af forbindelse 22 (70% rent) indeholdende urenheder, der stammede fra urin. Den anden halvdel af 5% methanoleluatet koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 36 mg produkt, som var en blanding af forbindelse 22, forbindelse 27 og urenheder, der stammede fra urin. Eluatet med 10% methanol (ca. 600 ml) koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 38 mg af forbindelse 27 (70% rent ifølge HPLC), som rekromatograferedes på en kolonne af den samme pakning som ovenfor (40 ml) ved eluering med vand, 5% methanol og 10% methanol. De ønskede fraktioner, som var elueret med 10% methanol, kombineredes og koncentreredes til 5 ml og lyofiliseredes til dannelse af 16 mg af forbindelse 27, som havde en renhed på 90% ved HPLC [0,02M acetatbuffer (pH 4) -acetonitril (85:15)]. Smeltepunkt 180°C (gradvis dek.).

IR: $\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}}$ 1760, 1690, 1590, 1530, 1400, 1360, 1280.

UV: $\lambda_{\text{phosphatbuffer (pH 7)}}^{\text{max}}$ nm(ϵ): 233 (8200), 280 (8800).

20

NMR: $\delta_{\text{D}_2\text{O}}$ ppm: 1,68 (3H, d, J = 6Hz, -C-CH₃), 3,26 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 3,58 (1H, d, J = 18Hz, 2-H), 4,01 (3H, s, OCH₃), 5,12 (1H, s, CH-CO), 5,21 (1H, d, J = 4,5Hz, 6-H), 5,78 (1H, d, J = 4,5Hz, 7-H), 5,5-5,9 (1H, m, CH=C-), 5,98 (1H, d, J = 11Hz, CH=C-), 7,07 (2H, s, phenyl-H), 7,17 (1H, br-s, phenyl-H).

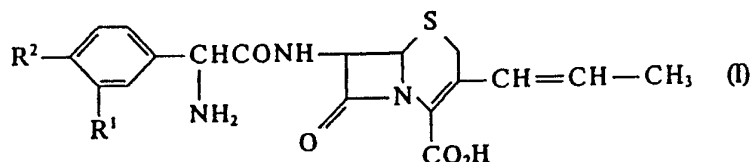
25

Metabolittens struktur blev bestemt til at være 7 β -[D-(-)-2-amino-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre ved sammenligning (NMR, IR, UV, HPLC) med forbindelse 27 fremstillet efter eksempel 23 til 27.

30

Patentkrav

1. D-2-aminoacyl-3-(Z)-propenylcephalosporin med den almene formel



hvor

R^1 er hydrogen, OH, C_{1-4} -alkoxy eller chlor,

R^2 er hydrogen eller hydroxy,

såvel som derivaterne deraf, hvori amino, carboxy og/eller hydroxy er beskyttet med konventionelle beskyttelsesgrupper og de farmaceutisk acceptable salte deraf.

2. Forbindelse ifølge krav 1, **KENDETEGNET** ved, at den er

7 β -[D-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-

3-cephem-4-carboxylsyre,

7 β -[D-2-amino-2-phenylacetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre,

7 β -[D-2-amino-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre,

7 β -[D-2-amino-2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre, eller

7 β -[D-2-amino-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)acetamido]-3-[(Z)-1-propen-1-yl]-3-cephem-4-carboxylsyre,

eller et salt deraf.

3. Fremgangsmåde til fremstilling af en forbindelse ifølge krav 1 eller 2, **KENDETEGNET** ved, at man på i og for sig kendt måde

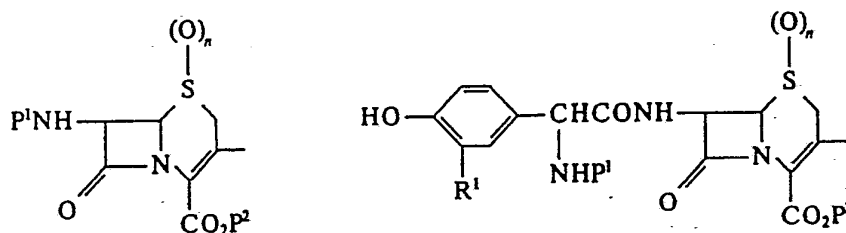
A) i et reaktions-inert organisk, flydende vehikel ved 20-150°C omsætter en halogenidreaktant med formelen QCH_2X eller $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{X}$, hvor X er Cl, Br eller I, med en triarylphosphin til dannelse af et phosphonium-

salt,

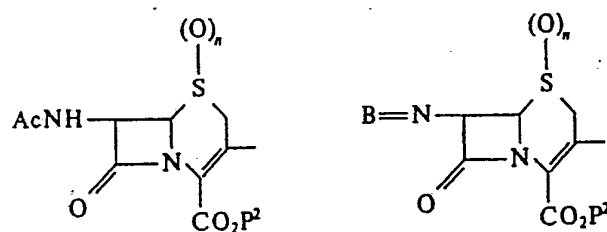
B) omdanner sidstnævnte i et med vand ublandbart flydende organisk opløsningsmiddel med en vandig base til et phosphoranylmellemprodukt med formelen $\text{QCH}=\text{PAR}_3$ eller $\text{CH}_3\text{CH}=\text{PAR}_3$,

- C) omsætter en forbindelse med den almene formel $QCH=PAR_3$ under vandfrie betingelser ved $-40^{\circ}C$ til $+50^{\circ}C$ i det med vand ublandbare flydende, organiske opløsningsmiddel med acetaldehyd eller under samme reaktionsbetingelser omsætter en forbindelse med den almene formel
- 5 $CH_3CH=PAR_3$ med en carbonylforbindelse med den almene formel $QCHO$, hvor Q er udvalgt blandt

10



15



20

25 hvori

R^1 har den i krav 1 angivne betydning,

P^1 , P^2 og P^3 betegner konventionelle beskyttelsesgrupper,

n er 1,

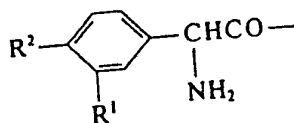
Ac betegner en inden for cephalosporinkemien konventionelt anvendt

30 acylgruppe, og

B er en alkyliden- eller aralkyliden-beskyttelsesgruppe, og

D) i den således opnåede 3-substituerede 7-aminoceph-3-em-forbindelse, om ønsket efter fjernelse af én eller flere af beskyttelsesgrupperne P^1 , P^2 , P^3 , Ac og B eller efter reduktion af S-oxidet, indfører 7-

35 acylgruppen med den almene formel



5

hvor

R^1 og R^2 har den ovenfor anførte betydning, og

E) eventuelt omdanner den således opnåede forbindelse til et syre-
10 additions- eller metalsalt deraf.

4. Farmaceutisk præparat, **KENDETEGNET** ved, at det mindst indeholder
én forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eventuelt sammen med farmaceutisk
acceptable bærere og diluenter.

15

20

25