



(19) **DANMARK**



(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **146538 B**

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: 6113/74

(51) Int.Cl.³: **C 07 D 501/57**

(22) Indleveringsdag: 25 nov 1974

(41) Alm. tilgængelig: 27 maj 1975

(44) Fremlagt: 31 okt 1983

(86) International ansøgning nr.: —

(30) Prioritet: 26 nov 1973 JP 132441/73 26 nov 1973 JP 132442/73 18 dec 1973 JP 142097/73
12 aug 1974 JP 92129/74 12 aug 1974 JP 92131/74

(71) Ansøger: *SANKYO COMPANY LIMITED; Tokyo, JP.

(72) Opfinder: Hideo *Nakao; JP, Hiroaki *Yanagisawa; JP, Mitsuo *Nagano; JP, Bunji *Shimizu; JP, Masakatsu *Kaneko; JP, Shinichi *Sugawara; JP.

(74) Fuldmægtig: Patentbureauet Hofman-Bang & Boutard

(54) **Analogifremgangsmåde til fremstilling af 7α-methoxycephalosporinderivater eller farmaceutisk acceptable salte deraf**

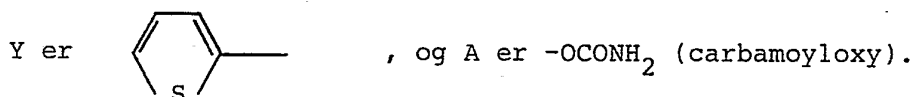
Opfindelsen angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte 7α-methoxycephalosporinderivater med den i krav 1's indledning angivne almene formel I eller farmaceutisk acceptable salte deraf, der er nyttige som antibakterielle midler til behandling af infektionssygdomme forårsaget af både Gram-positive og Gram-negative bakterier hos fjerkræ og dyr, herunder mennesket.

Visse 7α-methoxycephalosporinderivater er blevet angivet i de japanske fremlæggelsesskrifter nr. 3286/71 og 931/72 og i the Journal of the American Chemical Society, 94, 1408 (1972), ibid, 94, 1410 (1972) og ibid, 95, 2401 (1973). Imidlertid er ingen af de forbindelser, som er angivet i disse dokumenter, blevet anvendt

DK 146538 B

i praksis, da de ikke har tilstrækkelig god antibakteriel aktivitet over for både Gram-positive og Gram-negative bakterier.

Fra dansk patentansøgning nr. 2918/71 kendes cephalosporinderivater med en almen formel svarende til formel I i den foreliggende ansøgning, men med andre substituenten for A og Y, undtagen at de også kan have A = acetoxy eller carbamoyloxy. Den bedste af forbindelserne i den ovennævnte ansøgning er den, som er kendt under det internationale farmaceutiske frinavn cefoxitin og nu forhandles kommercielt. Cefoxitin har en formel svarende til formel I i den foreliggende ansøgning, undtagen at



Det ses af den efterfølgende tabel, at de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser har væsentlig bedre antibakteriel aktivitet, især over for Gram-negative bakterier, såsom E. coli, end cefoxitin. Selv om der er et eller to tilfælde, hvor forbindelser, fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, udviser samme minimale inhiberende koncentration som cefoxitin eller lidt højere, er de minimale inhiberende koncentrationer af de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser over for E. coli i det store og hele væsentlig lavere end de minimale inhiberende koncentrationer af cefoxitin over for den samme bakterie.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af de omhandlede 7 α -methoxycephalosporinderivater med formlen I er ejendommelig ved det i krav 1's kendetegnende del anførte.

De farmaceutisk acceptable salte af forbindelserne med formlen (I) er f.eks. alkalimetals- og jordalkalimetalsaltene, såsom natrium-, kalium- og calciumsaltene, andre ikke-toxiske metallsalte, såsom aluminiumsaltene, ammoniumsaltene og saltene med nitrogenholdige organiske baser, såsom triethylamin, dicyclohexylamin, procain, dibenzylamin eller N-ethylpiperidin.

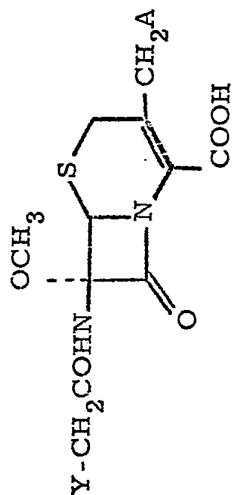
Af forbindelserne med formlen I foretrækkes især sådanne, hvori

A er (1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio, og Y er som defineret under formel I i krav 1's indledning, samt sådanne, hvori A er acetoxy eller carbamoyloxy, og Y er cyanmethylthio.

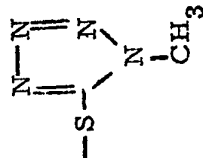
De omhandlede forbindelser udviser både in vitro og in vivo aktivitet over for Gram-positive og Gram-negative bakterier og er derfor værdifulde antibakterielle midler.

De minimale inhiberende koncentrationer blev bestemt for visse af de omhandlede forbindelser, og resultaterne er anført i den følgende tabel. Til sammenligningsformål blev tilsvarende værdier bestemt for 3-carbamoyloxymethyl-7 α -methoxy-7 β -phenylacetamido-3-cephem-4-carboxylsyre og cefalotin.

TABEL

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

Forbindelse		S. aureus		E. coli		Sh. flexneri		Klebsiella		Prot. vulgaris	Salm. ent. Gaertner
Y	A	209P	R	NIHJ	609 (R)	flexneri	2a	806	846		
NCCH ₂ S-	A	0,2	0,8	0,8	0,8	0,8		0,8	>200	1,5	0,2
		0,8	1,5	1,5	1,5	1,5		1,5	>200	6,2	0,8
NCCHS- CH ₃	"	0,4	0,8	1,5	3,1	1,5		1,5	400	0,8	0,4
CH ₃ SO ₂ -	"	0,8	3,1	1,5	1,5	1,5		0,8	400	12,5	0,4
HOCH ₂ CH ₂ S-	"	0,8	1,5	1,5	1,5	3,1		1,5	400	6,2	1,5

Forbindelse		S. aureus		E. coli		Sh. flexneri 2a	Klebsiella		Prot. vulgaris	Salm. ent. Gaertner
Y	A	209P	R	NIHJ	609 (R)		806	846		
$C_2H_5SO_2-$ $NCCH_2CH_2SO_2-$ $NCCH_2S-$ $NCCH_2S-$	A	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	>400	6,2	0,8
		1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	200	6,2	0,8
	"	0,8	3,1	1,5	1,5	3,1	3,1	>200	6,2	1,5
	$-OCONH_2$ $-OCOCH_3$	0,2	0,8	1,5	1,5	3,1	1,5	>400	6,2	0,8
C_6H_5- Cefalotin Cefoxitin	$-OCONH_2$	0,8	3,1	25	25	12,5	25	>400	25	12,5
		≤0,1	≤0,1	6,2	25	12,5	6,2	>200	6,2	6,2
		0,8	1,5	3,1	3,1	3,1	3,1	>200	3,1	1,5

Det er klart ud fra de i tabellen anførte data, at de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser er mere aktive over for Gram-positive og Gram-negative bakterier end de kendte cephalosporinderivater, og at aktiviteten over for Gram-negative bakterier er særlig betydelig. Til behandling af en infektion indgives de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser fortrinsvis oralt eller parenteralt, som det er konventionelt ved indgivelsen af antibiotica. Foretrukne sammensætninger er tabletter, kapsler, injicerbare væsker og suspensioner, idet injicerbare væsker normalt foretrækkes. Den daglige dosis af forbindelserne vil naturligvis variere afhængigt af patientens alder, tilstand og legemsvægt. Imidlertid vil forbindelserne normalt blive indgivet i opdelt doser på fra 250 til 3000 mg pr. dag for voksne, normalt 3 eller 4 gange om dagen.

I forbindelse med carboxylsyren med formlen (III) skal betegnelsen "funktionelt derivat" betyde enhver forbindelse, som under betingelserne for reaktionen med forbindelsen med formlen (II) vil reagere som eller reagere under dannelse af carboxylsyren med formlen (III). Eksempler på sådanne funktionelle derivater inkluderer syrehalogenider af carboxylsyren (III), f.eks. syrechloridet eller syrebromidet; blandede anhydrider af carboxylsyren (III) med et alkylphosphat, såsom methylphosphat eller ethylphosphat, med et alkylcarbonat, såsom methylcarbonat eller ethylcarbonat, eller med en alifatisk carboxylsyre, såsom pivalinsyre eller pentansyre; anhydrider af carboxylsyren (III); eller amider af carboxylsyren (III) med en amin, især en cyklisk amin, såsom imidazol eller triazol. Af disse funktionelle derivater foretrækkes syrehalogeniderne.

I formlen (III) kan gruppen Y' være den samme som den ønskede gruppe Y i slutproduktet. Men hvis gruppen Y indeholder radikaler, som kan undergå reaktion, f.eks. hvis Y er en 2-hydroxyethylthiogruppe, beskyttes sådanne radikaler fortrinsvis med en egnet beskyttende gruppe. I tilfælde af det reaktive hydroxyradikal på 2-hydroxyethylthiogruppen inkluderer egnede beskyttende grupper: 2-tetrahydropyranylgupper og alkoxyalkylgrupper, såsom methoxymethyl eller ethoxymethyl. Efter reaktionen af carboxylsyren (III) med forbindelsen (II) kan denne beskyttende gruppe fjernes ved konventionelle midler.

Forbindelsen (II) indeholder en beskyttende gruppe R for carboxyl-funktionen. Eksempler på egnede beskyttende grupper inkluderer: benzyl, p-methoxybenzyl, benzhydryl, tertiær alkyl, f.eks. t-butyl eller t-pentyl, alkoxymethyl (hvis alkoxydel eventuelt kan være substitueret), f.eks. benzyloxymethyl eller methoxymethyl, phenacyl eller substitueret phenacyl, f.eks. p-bromphenacyl, eller poly-halogeneret ethyl, f.eks. 2,2,2-trichlorethyl. Af disse foretrækkes benzhydryl.

Reaktionen af forbindelsen (II) med carboxylsyren (III) eller dens funktionelle derivat udføres hensigtsmæssigt i et inert organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis ved en temperatur fra -10 til 30°C , mest foretrukket omkring 0°C . Egnede inerte organiske opløsningsmidler inkluderer chloroform, methylenchlorid, ethylenchlorid, acetone, acetonitril, ethylacetat, ethylformiat, tetrahydrofuran, ether og dioxan.

Hvis den frie carboxylsyre med formlen (III) anvendes ved reaktionen, udføres reaktionen fortrinsvis i nærvær af et carbodiimidreagens, såsom N,N'-dicyclohexylcarbodiimid eller N,N'-diethylcarbodiimid. Hvis på den anden side syrehalogenidet, f.eks. chloridet af carboxylsyren (III) anvendes, udføres reaktionen fortrinsvis ved en temperatur under stuetemperatur og i nærvær af en base. Egnede baser inkluderer alkalimetahydrogencarbonater, f.eks. natrium- eller kaliumhydrogencarbonat, alkalimetahydrogencarbonater, f.eks. natrium- eller kaliumcarbonat, trialkylaminer, f.eks. trimethylamin eller triethylamin, dialkylaminer, f.eks. dimethylanilin eller diethylanilin, eller pyridin.

Efter fuldførelse af reaktionen kan forbindelsen (IV) udvindes ved konventionelle metoder, f.eks. kan reaktionsblandingen vaskes med vand og tørres med et egnet tørringsmiddel (f.eks. vandfrit natriumsulfat), hvorefter reaktionsopløsningsmidlet afdestilleres, og reanensen om ønsket renses ved kromatografi.

Efter dette fjernes den beskyttende gruppe for 4-carboxylfunktionen og den eventuelle beskyttende gruppe i gruppen Y'. Dette kan udføres ved konventionelle metoder, som er velkendte for fagfolk indenfor

fremstillingen af cephalosporin-antibiotica. Hvis f.eks. den beskyttende gruppe R er benzhydryl, tertiær alkyl, p-methoxybenzyl eller alkoxyethyl, kan den fjernes ved at bringe forbindelsen (IV) i kontakt med en stærk syre, såsom trihalogeneddikesyre (f.eks. trifluoreddikesyre eller trichloreddikesyre) eller en mineralsyre (f.eks. saltsyre eller hydrogenbromidsyre). Denne reaktion udføres hensigtsmæssig i nærvær af et inert organisk opløsningsmiddel, såsom chloroform, dichlormethan, dichlorethan, benzen, toluen, chlorbenzen eller anisol, fortrinsvis anisol eller dichlorethan, og fortrinsvis ved en temperatur på 0-30°C. Hvis den beskyttende gruppe R er benzyl, p-methoxybenzyl, phenacyl eller 2,2,2-trichlorethyl, kan den fjernes ved katalytisk reduktion eller reduktion med et egnet reduktionsmiddel, f.eks. zink eller tin i eddikesyre.

Hvis gruppen Y' indeholder en beskyttende gruppe, kan denne også fjernes efter reaktionen af carboxylsyren (III) eller det funktionelle derivat deraf med forbindelsen (II). Denne beskyttende gruppe kan også fjernes ved konventionelle metoder, og det er normalt hensigtsmæssigt, hvis den beskyttende gruppe R og den beskyttende gruppe i gruppen Y' er valgt således, at de kan fjernes samtidigt i et enkelt trin.

Når den eller de beskyttende grupper er blevet fjernet, kan det ønskede produkt, forbindelsen (I), udvindes ved konventionelle midler. F.eks. ekstraheres reaktionsblandingen med en svag basisk vandig opløsning, f.eks. dikaliumhydrogenphosphat eller natriumhydrogencarbonat. Ekstrakten gøres derpå sur, og ekstraheres med et egnet opløsningsmiddel, hvorefter opløsningsmidlet afdestilleres til opnåelse af det ønskede produkt.

Hvis gruppen A i formlen (I) er en (1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiogruppe, kan forbindelsen som nævnt også fremstilles ved omsætning af en dannet forbindelse med formlen (I), hvori A er en acetoxygruppe eller en carbamoyloxygruppe, med 5-mercapto-1-methyl-1H-tetrazol eller med et alkalimetalsalt deraf.

Denne reaktion kan hensigtsmæssigt udføres under i det væsentlige neutrale betingelser, d.v.s. inden for et pH-område på 6,5-7,5,

og i nærvær af vand eller et vandigt organisk opløsningsmiddel, såsom vandigt methanol, vandigt ethanol, vandig acetone eller vandigt dioxan. Mest hensigtsmæssigt udføres reaktionen i en pufferopløsning, hvis pH-værdi holdes mellem 6,5 og 7,5. Reaktions-temperaturen er fortrinsvis fra 50 til 100 °C. Når reaktionen er fuldført, kan den ønskede forbindelse med formlen (V) udvindes ved konventionelle metoder, f.eks. ved syring af reaktionsblandingen, ekstraktion af reaktionsblandingen med et egnet opløsningsmiddel og rensning af ekstrakten ved kromatografi. De således opnåede forbindelser med formlen (I) kan overføres i deres ikke-toxiske farmaceutisk acceptable salte ved konventionelle neutraliseringsprocedurer.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere ved de følgende eksempler. Fremstillingen af visse hidtil ukendte carboxylsyrer (III) eller funktionelle derivater deraf er vist i de efterfølgende præparationer 1-4, og fremstillingen af udgangsforbindelsen i eksempel 2 og 4-9 er vist i præparation 5.

EKSEMPEL 1

3-Acetoxymethyl-7β-cyanmethylthioacetamido-7α-methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre

a) 500 mg benzhydryl-3-acetoxymethyl-7β-amino-7α-methoxy-3-cephem-4-carboxylat blev opløst i 4 ml dichlormethan, og opløsningen blev afkølet med en fryseblanding. Til denne opløsning sættes under omrøring 160 mg N,N'-diethylanilin og 2 ml af en dichlorethanopløsning indeholdende 160 mg cyanmethylthioacetylchlorid; blandingen blev derpå omrørt i 1 time. Efter dette tidsrum blev reaktionsblandingen fortyndet med ethylacetat, vasket først med en vandig opløsning af kaliumhydrogensulfat, derpå med en vandig opløsning af natriumhydrogencarbonat og til sidst med vand og derpå tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet blev der opnået benzhydryl-3-acetoxymethyl-7β-cyanmethylthioacetamido-7α-methoxy-3-cephem-4-carboxylat som en olie. Olien blev renset ved præparativ silicagelkromatografi (20x20x0,2 cm; 2 plader; elueringsmiddel, ethylacetat/benzen, volumenforhold 1:4), hvorved der blev opnået 400 mg af et bleggult pulver.

IR spektrum (Nujol - trade mark) $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$;
3270, 2250, 1775, 1730, 1720 (skulder), 1685.

UV spektrum (ethanol) $\lambda_{\max} \text{ nm}$:
247, 265 (skulder).

NMR spektrum (CDCl_3) $\delta \text{ ppm} =$
2,00 (3H, singlet, OCOCH_3);
3,3 - 3,5 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
3,41 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
3,50 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
3,55 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
4,80 - 5,09 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{OC:O}-$ ved 3-stilling);
5,10 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
6,99 (1H, singlet, $-\text{COOCH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$);
7,39 (10H, singlet, to C_6H_5).

b) 337 mg af den ovenfor fremstillede forbindelse blev opløst i 3,5 ml anisol. Til denne opløsning sattes under omrøring og isafkøling 1,8 ml trifluoreddikesyre, hvorefter blandingen blev omrørt i 30 minutter. Blandingen fik derpå lov at opvarmes til stuetemperatur. En stor del af opløsningsmidlet blev afdestilleret, og remanensen opløstes i ethylacetat. Denne opløsning blev ekstraheret successivt med en 10 ml portion og to 5 ml portioner af en 10% vandig dikaliumhydrogenphosphat-opløsning. Ekstrakten blev vasket med ethylacetat, og pH-værdien indstillet til 2 ved tilsætning af 10% saltsyre. Den således udfældede carboxylsyre blev ekstraheret med ethylacetat, og denne ekstrakt blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet blev der opnået 186 mg 3-acetoxymethyl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorft pulver.

IR spektrum (Nujol - trade mark) $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$
3280, 2250, 1775, 1735, 1690.

UV spektrum (pufferopløsning, pH 6,8) $\lambda_{\max} \text{ nm}$
247 ($\epsilon = 8000$), 267 ($\epsilon = 8400$).

NMR spektrum (CD_3CN) δ ppm =

2,02 (3H, singlet, OCOCH_3);
 3,32 - 3,55 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
 3,47 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
 3,52 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,60 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
 4,79 - 5,06 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{OC:O}-$ ved 3-stilling);
 5,06 (1H, singlet, H ved 6-stilling).

Elementanalyse:

beregnet for $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}_3\text{S}_2$: C. 43,36%; H. 4,13%; N. 10,11%.

fundet: C. 43,08%; H. 4,33%; N. 10,21%.

EKSEMPEL 2

7 β -Cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) Til en opløsning af 500 mg benzhydryl-7 β -amino-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat i 10 ml chloroform sættes ved -10°C 150 mg N,N-diethylanilin, efterfulgt af en opløsning af 150 mg cyanmethylthioacetylchlorid i 2 ml chloroform. Den resulterende blanding blev omrørt i 30 minutter ved 0°C , vasket med en 2% vandig kaliumhydrogensulfatopløsning, derpå med en 2% vandig natriumhydrogencarbonatopløsning og til slut med vand, og derefter tørret over vandfrit magneisumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet blev der opnået benzhydryl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat som et bleggult pulver, Produktet blev rensset ved hjælp af præparativ silicagelkromatografi (20 x 20 x 0,2 cm; 3 plader; elueringsmiddel: ethylacetat/benzen, volumenforhold 1:2). Udbytte 500 mg.

NMR spektrum (CDCl_3) δ ppm =

3,44 (2H, singlet, H_2 ved 2-stilling);
 3,49 (2H, singlet, $-\text{SCH}_2\text{CO}$);
 3,55 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,60 (2H, singlet, $\text{NCCH}_2\text{S}-$);
 3,82 (3H, singlet, NCH_3);
 4,1-4,5 (2H, kvartet - CH_2S ved 3-stilling);
 5,06 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 6,93 (1H, singlet, $-\text{COOCH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$);
 7,38 (10H, singlet, to C_6H_5);

b) 500 mg af den ovenfor fremstillede forbindelse blev opløst i 8 ml dichlorethan. Til denne opløsning sættes under omrøring og isafkøling 2 ml trifluoreddikesyre, og blandingen blev omrørt i 30 minutter ved 5 - 10°C. Efter fjernelse af opløsningsmidlet og trifluoreddikesyren ved inddampning ved stuetemperatur under formindsket tryk blev remanensen opløst i 20 ml ethylacetat. Denne opløsning blev ekstraheret med en 10% vandig dikaliumhydrogenphosphatopløsning. Ekstrakten blev vasket med ethylacetat og gjort sur til pH 2 ved tilsætning af 10% saltsyre. Carboxylsyren, som skilte ud, blev ekstraheret med ethylacetat, og ekstrakten blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet blev der opnået 220 mg 7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorft pulver.

UV spektrum ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) λ max nm 274

NMR spektrum (tung acetone) δ ppm =

3,50 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,5 - 3,7 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
 3,60 (2H, singlet, $-\text{SCH}_2\text{CO}$);
 3,70 (2H, singlet, $\text{NCCH}_2\text{S}-$);
 3,98 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,3 - 4,6 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{S}$ ved 3-stilling);
 5,10 (1H, singlet, H ved 6-stilling).

Elementanalyse:

Beregnet for $C_{15}H_{17}O_5N_7S_3$: C 38,20%; H 3,63%; N 20,80%.

Fundet: C 37,86% H 3,78%; N 20,56%.

EKSEMPEL 3

3-Carbamoyloxymethyl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre

250 mg benzhydryl-7 β -amino-3-carbamoyloxymethyl-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylat blev opløst i 8 ml methylenchlorid. Opløsningen blev afkølet til under 0°C med en fryseblanding, hvorefter der tilsattes 80 mg N,N-diethylanilin efterfulgt af en opløsning af 90 mg cyanmethylthioacetylchlorid i 1 ml methylenchlorid. Blandingen blev derpå omrørt i 30 minutter. Reaktionsblandingen blev vasket med en vandig opløsning af natriumhydrogencarbonat og derpå med vand, hvorefter den blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat, og opløsningsmidlet blev fjernet. Der blev opnået 200 mg benzhydryl-3-carbamoyloxymethyl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -3-cephem-4-carboxylat.

Denne ester blev opløst i 2 ml anisol, og under afkøling med is sættes 1 ml trifluoreddikesyre til opløsningen. Opløsningen blev derpå omrørt ved stuetemperatur i 15 minutter. Overskud af trifluoreddikesyre og en del af anisolen blev derpå fjernet fra opløsningen ved inddampning under formindsket tryk. Den resterende opløsning blev fortyndet med ethylacetat og blev derpå ekstraheret med 5 ml af en 10% vandig opløsning af dikaliumhydrogenphosphat og derefter med 3 ml af den samme opløsning.

Efter vaskning af ekstrakten med ethylacetat blev dens pH-værdi indstillet til 2 med 10% saltsyre, og den resulterende carboxylsyre blev ekstraheret med ethylacetat. Efter tørring af ekstrakten med vandfrit magnesiumsulfat blev opløsningsmidlet fjernet. Der blev opnået 80 mg 3-carbamoyloxymethyl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorft pulver.

IR spektrum (KBr) $\nu_{\max}$ cm^{-1} :
3450, 2250, 1775, 1720, 1690.

UV spektrum (pufferopløsning, pH 6,8) $\lambda_{\max}$ nm
245 ($\epsilon = 8000$), 267 ($\epsilon = 8200$).

NMR (CD_3CN) δ ppm =

5,05 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
4,81 (2H, singlet, $\text{CH}_2\text{OCO-}$ ved 3-stilling);
3,58 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
3,50 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
3,49 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
3,47 - 3,50 (2H, kvartet, H ved 2-stilling).

Elementanalyse:

Beregnet for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{N}_4\text{S}_2$: C 40,38%; H 3,87%; N 13,45%

Fundet: C 40,11%; H 3,68%; N 13,55%

EKSEMPEL 4

7 α -Methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) 525 mg benzhydryl-7 β -amino-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat blev opløst i 5 ml dichlor-ethan, og opløsningen blev afkølet til under 0°C med en fryse-blanding. Til opløsningen sættes 160 mg N,N-diethylanilin og en opløsning af 165 mg methylsulfonylacetylchlorid i 2 ml dichlor-ethan, og blandingen blev omrørt i 1 time. Reaktionsblandingen blev derpå fortyndet med ethylacetat, vasket først med en vandig kaliumhydrogensulfatopløsning, derpå med en natriumhydrogencarbonatopløsning og til slut med vand og tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet blev afdestilleret til opnåelse af benzhydryl-7 α -methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat som en olie. Denne olie blev underkastet præparativ tyndtlagschromatografi (20 x 20 x

0,2 cm; 2 plader) under anvendelse af en blanding af ethylacetat og benzen (volumenforhold 1:1) som elueringsmiddel. Der blev opnået 200 mg af den rensede ester som et gult pulver.

NMR spektrum (CDCl_3) δ ppm =

3,03 (3H, singlet, CH_3SO_2 -);
 3,50 (5H, dublet, OCH_3 ved 7-stilling og H_2 ved 2-stilling);
 3,75 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,02 (2H, singlet, $-\text{SO}_2\text{CH}_2\text{-CO-}$);
 4,25 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{S-}$ ved 3-stilling);
 5,02 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 6,86 (1H, singlet, $-\text{COOCH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$);
 7,35 (10H, singlet, to C_6H_5).

b) 200 mg af den ovenfor fremstillede benzhydrylester blev opløst i 2 ml anisol, og der sattes 1 ml trifluoreddikesyre til opløsningen under afkøling og omrøring. Omrøringen fortsattes med afkøling i 30 minutter, og opløsningen fik derpå lov at stå ved stuetemperatur i yderligere 10 minutter. Opløsningsmidlet blev afdestilleret, og remanensen opløst i ethylacetat. Denne opløsning blev ekstraheret med en 10% vandig kaliumhydrogenphosphat-opløsning. Ekstrakten blev vasket med ethylacetat og indstillet til pH 2 med 10% saltsyre. Den således fremstillede carboxylsyre blev ekstraheret med ethylacetat. Ekstrakten blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat, og opløsningsmidlet afdestilleret, hvorved der blev opnået 110 mg 7 α -methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorft pulver.

TLC (silicagel)

eluent: n-butanol/eddikesyre/vand (volumenforhold 4:1:1)-

$R_f = 0,26$

NMR spektrum (d_6 -acetone) δ ppm =

3,07 (3H, singlet, CH_3SO_2 -);
 3,45 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,62 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
 3,92 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,18 (2H, singlet, $-\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CO-}$);

4,35 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{S}-$ ved 3-stilling);
 5,06 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 8,60, (1H, singlet, CONH ved 7-stilling).

Elementanalyse for:

Beregnet for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{N}_6\text{S}_3$: C 35,14%; H 3,80%; N 17,56%.

Fundet: C 34,87%; H 4,01%; N 17,88%.

Kalium-7 α -methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat

500 mg 7 α -methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre blev opløst i en ækvimolær mængde af en 5% vandig opløsning af kaliumhydrogen-carbonat. Opløsningen blev frysetørret, hvorved der blev opnået 520 mg af det ønskede salt som et amorft pulver.

EKSEMPEL 5

7 β -Ethylsulfonylacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) 525 mg benzhydryl-7 β -amino-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat og 180 mg ethylsulfonyl-acetylchlorid blev omsat ved den metode, som er beskrevet i eksempel 4, hvorved der blev opnået 430 mg benzhydryl-7 β -ethylsulfonyl-acetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat som et bleggult pulver.

NMR spektrum (CDCl_3) δ ppm =

1,32 (3H, triplet, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SO}_2-$);
 3,27 (2H, kvartet, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SO}_2-$);
 3,50 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,55 (2H, kvartet H_2 ved 2-stilling);
 3,90 (3H, singlet, $\text{N}-\text{CH}_3$);
 4,03 (2H, singlet, $-\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CO}-$);
 4,25 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{S}-$ ved 3-stilling);
 5,03 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 6,88 (1H, singlet, $-\text{COOCH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$);
 7,35 (10H, singlet, to C_6H_5).

b) 300 mg af den ovenfor fremstillede benzhydrylester blev hydrolyseret på den måde, som er beskrevet i eksempel 4, under anvendelse af 1,5 ml trifluoreddikesyre i 3 ml anisol. Der blev opnået 140 mg 7β-ethylsulfonylacetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazo-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et farveløst pulver.

NMR spektrum (δ -acetone) δ ppm =

1,34 (3H, triplet, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SO}_2^-$);
 3,29 (2H, kvartet, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SO}_2^-$);
 3,51 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,69 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
 3,98 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,18 (2H, singlet, $-\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CO}-$);
 4,40 (2H, kvartet, $\text{CH}_2\text{S}-$ ved 3-stilling);
 5,07 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 8,66 (1H, singlet, $-\text{CONH}-$ ved 7-stilling).

EKSEMPEL 6

7β-(2-Cyanethylsulfonyl)acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) 525 mg benzhydryl 7β-amino-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat blev acyleret på den måde, som er beskrevet i eksempel 4, med 205 mg 2-cyanethylsulfonyl-acetylchlorid i nærvær af 160 mg N,N-diethylanilin, hvorved der blev opnået 380 mg benzhydryl-7β-(2-cyanethylsulfonyl)acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat som et gulligt pulver.

NMR spektrum (CDCl_3) δ ppm =

2,90 (2H, triplet, $\text{NCCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2^-$);
 3,55 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,50 - 3,70 (4H, multiplet, H_2 ved 2-stilling og $\text{NCCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2^-$);
 3,75 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,10 - 4,40 (4H, multiplet, $\text{CH}_2\text{S}-$ ved 3-stilling og $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CO}-$);
 5,05 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 6,88 (1H, singlet, $\text{COOCH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$);
 7,35 (10H, singlet, to C_6H_5).

b) 300 mg af den ovenfor fremstillede benzhydrylester blev hydrolyseret på den måde, som er beskrevet i eksempel 4, under anvendelse af 1,5 ml trifluoreddikesyre i 3 ml anisol, hvorved der blev opnået 130 mg 7β-(2-cyanethylsulfonyl)acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et farveløst pulver.

NMR spektrum (d_6 -acetone) δ ppm =

3,03 (2H, triplet, $NCCH_2CH_2SO_2-$);
 3,40 - 3,85 (4H, multiplet, H_2 ved 2-stilling og $NCCH_2CH_2SO_2-$);
 3,50 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,94 (3H, singlet, $N-CH_3$);
 4,10 - 4,50 (4H, multiplet, CH_2S- ved 3-stilling og $-SO_2CH_2CO-$);
 5,06 (1H, singlet, H ved 6-stilling).

EKSEMPEL 7

7β-(1-Cyanethylthio)acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) Til en opløsning af 600 mg benzhydryl-7β-amino-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat i 10 ml dichlorethan sættes 173 mg N,N-diethylanilin ved 0°C efterfulgt af en opløsning af 190 mg 1-cyanethylthioacetylchlorid i 1 ml dichlorethan. Reaktionsblandingen blev omrørt i 30 minutter ved 0°C og derpå vasket først med en 2% vandig kaliumhydrogensulfatopløsning, derpå med en 2% vandig natriumhydrogencarbonatopløsning og til slut med vand. Den blev derefter tørret over vandfrit natriumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet opnåedes benzhydryl-7β-(1-cyanethylthio)acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat som et lysebrunt amorft pulver, som blev rensat ved tør søjlechromatografi på silicagel under anvendelse af en blanding af ethylacetat og benzen (volumenforhold 1:2) som opløsningsmiddel. Udbyttet 600 mg. TLC (silicagel), opløsningsmiddel ethylacetat/benzen (volumenforhold 1:2), $R_f = 0,45$.

b) 600 mg af den ovenfor fremstillede forbindelse blev opløst i 6 ml anisol. Til opløsningen sættes under omrøring og isafkøling 1,2 ml trifluoreddikesyre, og blandingen blev omrørt i

40 minutter ved 5 - 10°C. Efter fjernelse af overskud af tri-fluoreddikesyre ved stuetemperatur sættes 20 ml ethylacetat til reaktionsblandingen. Den resulterende blanding blev ekstraheret med 5% vandigt natriumhydrogencarbonat. Ekstrakten blev vasket med ethylacetat og indstillet til pH 2 med 10% saltsyre. Carboxylsyren, som skilte ud, blev ekstraheret med ethylacetat, og ekstrakten blev tørret over natriumsulfat. Ved afdestillation af opløsningsmidlet blev der opnået 240 mg 7β-(1-cyanethylthio)-acetamido-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et bleggult pulver.

NMR spektrum (d₆-acetone) δ ppm =

1,55 (3H, dublet, NCCHS-);



3,50 (3H, singlet, OCH₃ ved 7-stilling);

3,60 - 3,70 (4H, dublet, H₂ ved 2-stilling og -S-CH₂CO-);

3,98 (3H, singlet, N-CH₃);

4,15 (1H, kvartet, NCCHS-);

4,41 (2H, kvartet, -CH₂S- ved 3-stilling);

5,10 (1H, singlet, H ved 6-stilling);

7,92 (1H, singlet, -CINH- ved 7-stilling).

EKSEMPEL 8

7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-7β-(sydnon-3-yl-acetamido)-3-cephem-4-carboxylsyre

Den i eksempel 4 beskrevne procedure blev gentaget, undtagen at der anvendtes 173 mg sydnon-3-yl-acetylchlorid i stedet for methylsulfonylacetylchloridet. Der blev opnået 60 mg 7β-(sydnon-3-yl-acetamido)-7α-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre.

NMR spektrum (d₆-acetone) δ ppm=

3,54 (3H, singlet, OCH₃ ved 7-stilling);

3,70 (2H, kvartet, H₂ ved 2-stilling);

3,98 (3H, singlet, N-CH₃);

4,42 (2H, kvartet, CH₂S- ved 3-stilling);

5,12 (1H, singlet, H ved 6-stilling);

5,50 (2H, singlet, -CH₂CONH);

6,80 (1H, singlet, H af sydnonring);

TLC (silica gel):

Udviklingsmiddel: n-butanol/eddikesyre/vand (volumenforhold 4:1:1) -

$R_F = 0,31$.

EKSEMPEL 9

7 β -(2-hydroxyethyl)thioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

a) 262 mg benzhydryl-7 β -amino-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat og 80 mg N,N-diethylanilin blev opløst i 10 ml dichlorethan. Til opløsningen sættes 5 ml dichlorethan indeholdende 120 mg tetrahydropyranyl-2-oxyethylthioacetylchlorid under afkøling af opløsningen med en fryseblanding, og reaktionsblandingen blev omrørt i 30 minutter. Reaktionsblandingen blev derpå fortyndet med ethylacetat, vasket først med en vandig kaliumhydrogensulfatopløsning, derpå med en natriumhydrogencarbonatopløsning og til slut med vand og derefter tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet blev afdestilleret, og remanensen blev renset ved præparativ silicagelchromatografi (20 x 20 x 0,2 cm, 2 plader), hvorved der blev opnået 210 mg benzhydryl-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)-thiomethyl-7 β -(tetrahydropyranyl-2-oxyethyl)thioacetamido-3-cephem-4-carboxylat som et lysegult pulver.

b) 210 mg af den ovenfor fremstillede forbindelse blev opløst i 1 ml anisol. Til opløsningen sættes 1 ml trifluoreddikesyre under isafkøling, og opløsningen fik derpå lov at stå i 5 minutter ved stuetemperatur. En stor del af opløsningsmidlet blev afdestilleret under formindsket tryk, og remanensen blev opløst i en blanding af 20 ml ethylacetat og 10 ml af en 10% vandig dikaliumhydrogenphosphatopløsning. Det organiske lag blev ekstraheret med 5 ml af en 10% vandig dikaliumhydrogenphosphatopløsning, og ekstrakten blev kombineret med det ovenfor opnåede vandige lag. De kombinerede ekstrakter blev vasket med 20 ml ethylacetat. Den vandige fase blev ekstraheret med ethylacetat, og ekstrakten blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet blev afdestilleret, og den opnåede remanens blev renset ved præparativ silicagelchromatografi

[20 x 20 x 0,2 cm, elueringsmiddel n-butanol/eddikesyre/vand (volumenforhold 4:1:1)], hvorved der blev opnået 55 mg 7 β -(2-hydroxyethyl)thioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorft pulver.

IR spektrum (KBr) $\nu_{\max}$ cm⁻¹:

1740, 1675.

UV spektrum (phosphatpufferopløsning, pH 6,86) $\lambda_{\max}$ nm:

270 (ϵ = 9450).

NMR spektrum (CD₃CN + D₂O) δ ppm:

5,20 (1H, singlet, H ved 6-stilling);

4,15 - 4,25 (2H, quartet, CH₂S- ved 3-stilling);

3,90 (3H, singlet, N-CH₃);

3,44 (3H, singlet, -OCH₃ ved 7-stilling);

3,30 (2H, singlet, S-CH₂-CO ved 7-stilling);

3,68 og 2,74 (4H, triplet, HOCH₂CH₂S- ved 7-stilling).

EKSEMPEL 10

7 β -Cyanmethylthioacetyl-amido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

Til 7 ml af en phosphatpufferopløsning (pH 7,0) sættes 200 mg 3-acetoxymethyl-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre, 120 mg 5-mercapto-1-methyltetrazol og 50 mg natriumhydrogencarbonat, og denne blanding blev omrørt i 4,5 timer i et vandbad holdt ved 65 - 70°C. Efter afkøling blev opløsningen indstillet til pH 5,5 - 6,0 med 10% saltsyre, vasket to gange med ethylacetat, indstillet til pH 2,0 - 2,5 og ekstraheret med ethylacetat. Ekstrakten blev tørret og koncentreret, hvorved der blev opnået 45 mg 7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et farveløst pulver.

UV spektrum (C₂H₅OH) $\lambda_{\max}$ nm:

274 (ϵ = 9000).

NMR spektrum (tung acetone) δ ppm =

3,50 (3H, singlet, OCH₃ ved 7-stilling);

3,60 (2H, singlet, NCCH₂S eller -SCH₂CO);

omkring 3,5 - 3,7 (2H, kvartet, H₂ ved 2-stilling);

3,70 (2H, singlet, NCCH_2S eller SCH_2CO);
 3,98 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,3 - 4,6 (2H, kvartet, $-\text{CH}_2\text{S}-$ ved 3-stilling);
 5,10 (1H, singlet, H ved 6-stilling).

Natrium-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat

Til 500 mg 7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre i 4 ml acetone sættes 1 ml af en butanolopløsning indeholdende en 1,1 gange ækvimolær mængde natrium-2-ethylhexanoat. Til opløsningen sættes 7 ml ether, og det således dannede bundfald blev frafiltreret og vasket med ether til opnåelse af 500 mg af det ønskede salt.

NMR spektrum (tungt vand) δ ppm =

3,55 (2H, kvartet, H_2 ved 2-stilling);
 3,60 (3H, singlet, OCH_3 ved 7-stilling);
 3,68 (2H, singlet, SCH_2CO);
 3,73 (2H, singlet, NCCH_2S);
 4,06 (3H, singlet, N-CH_3);
 4,22 (2H, kvartet, CH_2S ved 3-stilling);
 5,20 (1H, singlet, H ved 6-stilling).

Dicyclohexylamin-7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat

Til 90 mg 7 β -cyanmethylthioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre i 0,5 ml acetone sættes 0,3 ml af en acetoneopløsning indeholdende 40 mg dicyclohexylamin. Til denne opløsning sættes derpå 5 ml ether, og det dannede bundfald blev frafiltreret og omkrystalliseret fra ethanol, hvorved der blev opnået 70 mg af det ønskede salt, som smeltede ved 155°C (dekomp.).

Elementanalyse:

Beregnet for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{N}_8\text{S}_3$: C 49,67%; H 6,18%; N 17,16%.

Fundet: C 49,42%; H 6,31%; N 17,35%.

EKSEMPEL 117 α -Methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

Til 7 ml af en fosfatpufferopløsning med pH 7,0 sættes 220 mg 3-acetoxymethyl-7 β -methylsulfonylacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre, 120 mg 5-mercapto-1-methyltetrazol og 50 mg natriumhydrogencarbonat. Blandingen blev omrørt ved en badtemperatur på 65 - 70°C i 4,5 timer. Efter fuldførelse af reaktionen blev reaktionsopløsningen indstillet til pH 5,5 - 6,0 ved tilsætning af 10% saltsyre, vasket to gange med ethylacetat, derpå indstillet til pH 2,0 - 2,5 og ekstraheret med ethylacetat. Ekstrakten blev tørret og destilleret, hvorved der blev opnået 45 mg 7 α -methoxy-7 β -methylsulfonylacetamido-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et amorf pulver.

NMR spektrum (DMSO-d₆) δ ppm =
 3,07 (3H, singlet CH₃SO₂-);
 omkring 3,45 (3H, singlet, OCH₃ ved 7-stilling);
 3,62 (2H, kvartet, H₂ ved 2-stilling);
 4,92 (3H, singlet, N-CH₃);
 4,18 (2H, singlet, -SO₂CH₂CO-);
 4,35 (2H, kvartet, -CH₂S ved 3-stilling);
 5,06 (1H, singlet, H ved 6-stilling);
 8,60 (1H, singlet, -CONH ved 7-stilling).

EKSEMPEL 127 β -(2-Hydroxyethyl)thioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre

Til 14 ml af en fosfatpufferopløsning med pH 7,0 sættes 420 mg 3-acetoxymethyl-7 β -(2-hydroxyethyl)thioacetamido-7 α -methoxy-3-cephem-4-carboxylsyre, 232 mg 5-mercapto-1-methyl-tetrazol og 168 mg natriumhydrogencarbonat. Blandingen blev omrørt ved en badtemperatur på 65 - 70°C i 4,5 timer. Efter fuldførelse af reaktionen blev reaktionsblandingen indstillet til pH 5,5 - 6,0 med 10% saltsyre, vasket to gange med ethylacetat, indstillet

til pH 2,0 - 2,5 og extraheret med ethylacetat. Opløsningsmidlet blev afdestilleret, hvorved der blev opnået 110 mg 7 β -(2-hydroxy-ethyl)thioacetamido-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylsyre som et farveløst pulver.

Præparation 1

Cyanmethylthioeddikesyre

a) Til 90 ml absolut ethanol indeholdende 13,6 g natriumethoxid sættes dråbevis 24 g ethylmercaptoacetat under omrøring og isafkøling. Efter henstand af blandingen i 10 minutter tilsættes dråbevis 15,1 g chloracetonitril, medens den indre temperatur holdtes mellem 10 og 20°C. Efter omrøring af blandingen i 3 timer ved stuetemperatur tilsættes omkring 200 mg ether. Blandingen blev derpå vasket med en vandig opløsning af kaliumhydrogensulfat og derpå med vand, hvorefter den blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat, og opløsningsmidlet blev fjernet. Ved destillation af remanensen under formindsket tryk blev der opnået 20,7 g ethylcyanmethylthioacetat som en væske med et kogepunkt på 105°C (3 mmHg).

Til 50 ml af en 20% vandig opløsning af kaliumhydroxid sættes dråbevis 20,5 g af det således fremstillede ethylcyanmethylthioacetat under omrøring og isafkøling. Reaktionsblandingen blev omrørt, indtil esteren var fuldstændigt opløst og derefter i yderligere 1 time. Reaktionsblandingen blev vasket 1 gang med ether, og dens pH-værdi blev indstillet til omkring 2,0 ved tilsætning af koncentreret saltsyre, medens blandingen blev afkølet med isblokke og omrørt. Efter mætning af blandingen med natriumchlorid blev den mættede opløsning extraheret fire gange med ether. De kombinerede ekstrakter blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat, og opløsningsmidlet derpå fjernet. Ved destillation af remanensen under formindsket tryk blev der opnået cyanmethylthioeddikesyre som en viskøs væske med et kogepunkt på 148°C (2 mmHg).

Elementanalyse:

Beregnet for C₄H₅O₂NS: C 36,63%; H 3,84%; N 10,68%.

Fundet: C 36,51%; H 3,97%; N 10,41%.

b) Til en opløsning af 4,6 g metallisk natrium i 150 ml absolut ethanol sættes 9,2 g thioglycolsyre ($\text{HS}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$) efterfulgt af dråbevis tilsætning ved stuetemperatur af en opløsning af 7,55 g chloracetonitril i 15 ml ethanol. Efter omrøring i 4 timer blev reaktionsblandingen koncentreret. Til den således opnåede remanens sættes en lille mængde isvand, og derpå blev blandingsens pH-værdi indstillet til 2 ved tilsætning af saltsyre. Blandingen blev derefter ekstraheret med ether efter mætning med natriumchlorid. Ekstrakten blev vasket med en lille mængde af en vandig opløsning af natriumchlorid og derpå tørret med magnesiumsulfat. Efter fjernelse af etheren fra ekstrakten og destillation af remanensen under formindsket tryk blev der opnået cyanmethylthioeddikesyre i form af en viskøs væske.

2,4 g af den således opnåede cyanmethylthioeddikesyre blev opløst i 15 ml absolut ether. Til denne opløsning sættes 3,8 g phosphorpentachlorid under omrøring og isafkøling; omrøringen fortsattes under isafkøling i 2,5 timer. Efter dette tidsrum blev etheren fjernet fra opløsningen. Ved destillation af remanensen under formindsket tryk blev der opnået ca. 2 g cyanmethylthioacetylchlorid som en svagt gul væske med et kogepunkt på 105°C (3 mm Hg).

Præparation 2

Tetrahydropyran-2-oxyethylthioacetylchlorid

Til en opløsning af 11,7 g thioglycol og 25 g ethylbromacetat i acetone sættes 12,6 g natriumhydrogencarbonat i 100 ml vand. Opløsningen blev omrørt natten over ved stuetemperatur. Acetonen blev derpå afdestilleret under formindsket tryk, og remanensen blev ekstraheret med to 100 ml portioner ether. Ekstrakterne blev vasket to gange med vand og tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet blev derpå afdestilleret under formindsket tryk, hvorved der blev opnået 21,7 g ethyl-2-hydroxyethylthioacetat. Til 14,2 g af denne forbindelse sættes 7,26 g 2,3-dihydropyran, og derpå opløstes 1,65 g p-toluensulfonsyre-monohydrat i blandingen under isafkøling. Opløsningen blev omrørt i 2 timer ved stuetempe-

ratur og derpå hældt ud i vandigt natriumhydrogencarbonat. Blandingen blev extraheret med ethylacetat. Ekstrakten blev vasket med vand og tørret over vandfrit magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet blev afdestilleret, hvorved der blev opnået 15,8 g ethyl-tetrahydropyranyl-2-oxyethylthioacetat som en lysegul olie.

Til dette produkt sættes 63,6 ml 1N natriumhydroxid, og blandingen blev omrørt i 30 minutter ved stuetemperatur. Det uopløselige materiale blev skilt fra ved ekstraktion med chloroform. Opløsningen blev gjort sur og extraheret med ethylacetat. Ekstrakten blev tørret over vandfrit magnesiumsulfat og opløsningsmidlet afdestilleret, hvorved der blev opnået 7 g tetrahydropyranyl-2-oxyethylthioeddikesyre.

20 ml chloroform frit for ethanol blev opløst i 3,3 g af denne forbindelse. Til opløsningen sættes 1,2 ml thionylchlorid og 3 dråber dimethylformamid under isafkøling. Blandingen blev derpå omrørt i 2 timer ved en badtemperatur på 50°C, hvorefter opløsningsmidlet blev afdestilleret til opnåelse af tetrahydropyranyl-2-oxyethylthioacetylchlorid.

Præparation 3

2-cyanethylsulfonylacetylchlorid

Til en opløsning af 5,2 g 2-cyanethylthioeddikesyre i 50 ml eddikesyre sættes 12 ml 35% hydrogenperoxid ved 40-50°C under omrøring. Reaktionsblandingen blev omrørt natten over ved stuetemperatur og derefter i 2 timer ved 50°C og blev derpå koncentreret under formindsket tryk ved under 40°C til opnåelse af et farveløst fast stof. Dette faste stof blev omkrystalliseret fra ethylacetat indeholdende en lille mængde acetone, hvorved der blev opnået 4,3 g 2-cyanethylsulfonyleddikesyre, smp. 140°C.

Til en suspension af 199 mg af natriumsaltet af den ovennævnte syre i 10 ml tørt benzen sættes 5 ml oxalylchlorid, og blandingen blev opvarmet under tilbagesvaling i 1,5 timer. Efter fjernelse af natriumchlorid gav koncentreret reaktionsblandingen under formindsket tryk 2-cyanethylsulfonylacetylchlorid som et olieagtigt stof.

Præparation 41-cyanethylthioacetylchlorid

a) Til en kold opløsning af 2,3 g metallisk natrium i 100 ml ethanol sættes 12 g ethylmercaptoacetat efterfulgt af 10 g α -chlorpropionitril. Den resulterende blanding omrørtes i 3,5 timer ved stuetemperatur og derpå fortyndet med 200 ml ether. Blandingene blev vasket med 5% vandigt kaliumhydrogensulfat og derpå med vand, hvorefter den blev tørret over magnesiumsulfat. Efter fjernelse af opløsningsmidlet gav destillation af remanensen 4,8 g ethyl-1-cyanethylthioacetat, kp. 75°C (1 mm Hg).

b) Til 12 ml 20% vandigt kaliumhydroxid sættes 4,8 g af den ovenstående ester under afkøling. Reaktionsblandingen blev omrørt i 2 timer ved stuetemperatur og derpå vasket med ether og indstillet til pH 2 ved tilsætning af koncentreret saltsyre. Efter mætning med natriumchlorid blev blandingen ekstraheret med ether. Ekstrakten blev tørret over magnesiumsulfat, og opløsningsmidlet fjernet, hvorved der blev opnået 3,25 g 1-cyanethylthioeddikesyre. 3 g af denne syre blev opløst i 30 ml absolut ether. Til opløsningen sættes 5 g phosphorpentachlorid under isafkøling. Blandingen blev omrørt i 2 timer ved 10-15°C. Efter fjernelse af opløsningsmidlet blev remanensen destilleret, hvorved der blev opnået 2,3 g 1-cyanethylthioacetylchlorid, kp. 85°C (1 mm Hg).

Præparation 5

A. Benzhydryl-7-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxybenzyliden-amino)-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat

En blanding af 10 g benzhydryl-7-amino-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat og 5 g 3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxybenzaldehyd i 200 ml benzen blev opvarmet under tilbagesvaling i 40 minutter under anvendelse af en vandudskiller. Reaktionsblandingen blev koncentreret til omkring 25 ml i vacuum, og remanensen blev opløst i 150 ml methanol og fik lov at stå natten over i et køleskab. De udskilte krystaller blev opsamlet, vasket og tørret, hvorved der blev opnået 12 g farveløse krystaller, smp. 175 °C.

Analyse beregnet for $C_{88}H_{42}O_4N_6S_2$: C 64,21; H 5,96; N 11,83;
fundet : C 64,21; H 5,97; N 11,79.

B. Benzhydryl-7-(3,4-di-tert.-butyl-4-oxo-2,5-cyclohexadien-1-
ylen)methylimino-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-
cephem-4-carboxylat

Til den under A opnåede benzenopløsning uden isolering af produktet
sattes 50 ml 1,2-dichlorethan. Efter afkøling med is-vand tilsattes
20 g frisk fremstillet PbO_2 , og blandingen blev omrørt i 1 time og
derpå filtreret ved sugning. Det rødbrune filtrat blev koncentreret
til omkring det halve volumen i vacuum, og tilsætning af 300 ml n-
hexan gav et bundfald, som blev opsamlet og tørret i vacuum, hvor-
ved der blev opnået 13 g af den i overskriften angivne forbindelse
som et brunt pulver.

NMR ($CDCl_3$) δ 1,33 (18H, s, tert.-butyl), 3,82 (2H, br s, C-2),
3,84 (3H, s, N- CH_3), 4,22, 4,53 (2H, d-d, $J=14$ Hz, CH_2S -). 5,42
(1H, s, C-6), 7,05 (2H, d, $J=3$ Hz, cyclohexadienyl), 7,07 (1H, s,
diphenylmethyl), 7,41 (10H, br s, diphenyl), 7,94 (1H, d, $J=3$ Hz,
=CH-N-).

C. Benzhydryl-7³-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxybenzyliden-amino)-
7⁴-methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl-3-cephem-
4-carboxylat

Til en opløsning af 13 g af den under B fremstillede forbindelse i
100 ml benzen eller til det ovenfor beskrevne rødbrune filtrat sat-
tes 400 ml methanol. Blandingen fik lov at stå natten over ved
stuetemperatur, og blev derpå koncentreret i vacuum. Remanensen
blev omkrystalliseret fra methanol, hvorved der blev opnået 7 g
bleggule krystaller. En analytisk prøve smeltede ved 170 °C.

Analyse beregnet for $C_{39}H_{44}O_5N_6S_2$: C 63,22; H 5,99; N 11,34; S 8,66
fundet : C 63,04; H 6,02; N 11,08; S 8,93.

NMR (CDCl₃) δ 1,42 (18H, s, tert.-butyl), 3,59 (3H, s, OCH₃), 3,60 (2H, ABq, J=18Hz, C-2), 3,80 (3H, s, N-CH₃), 4,20, 4,40 (2H, d-d, J=14Hz, CH₂S-), 5,03 (1H, s, C-6), 5,60 (1H, s, OH), 6,96 (1H, s, diphenylmethyl), 7,3 (10H, m, diphenyl), 7,65 (2H, s, aromatisk), 8,55 (1H, s, -CH=N-).

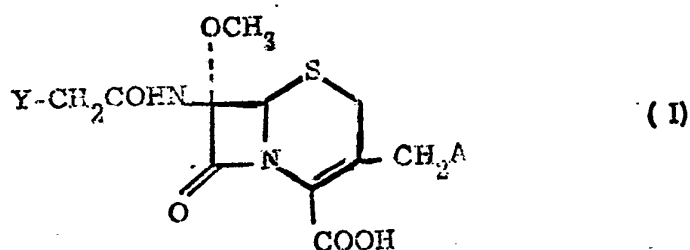
D. Benzhydryl-7 β -amino-7 α -methoxy-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)-thiomethyl-3-cephem-4-carboxylat

Til en opløsning af 5 g af den under C fremstillede forbindelse i 50 ml ethylacetat sættes en opløsning af 2 g "GIRARD T"-reagens i 40 ml methanol. Blandingen blev omrørt i 2,5 timer ved stuetemperatur, og blev derpå koncentreret i vacuum. Til remanensen sættes 50 ml ethylacetat og 30 ml vand, og det udskilte vandige lag blev ekstraheret med ethylacetat. De kombinerede organiske lag blev vasket to gange med vand, tørret (MgSO₄) og inddampet i vacuum. Til remanensen sættes ether, hvorved der udfældedes et gult pulver, som blev opsamlet og tørret. Udbytte 3 g, smp. 95 - 120 °C (dec.).

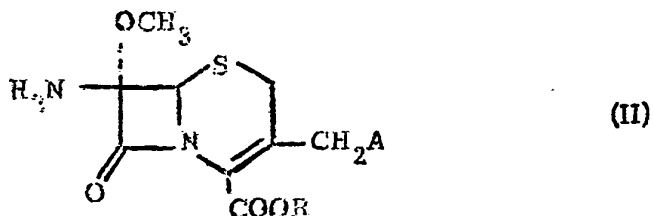
Analyse beregnet for C₂₄H₂₄O₄N₆S₂: C 54,96; H 4,61; N 16,03;
fundet: C 54,53; H 4,46; N 15,45.

P a t e n t k r a v :

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af 7 α -methoxycephalosporin-derivater med den almene formel



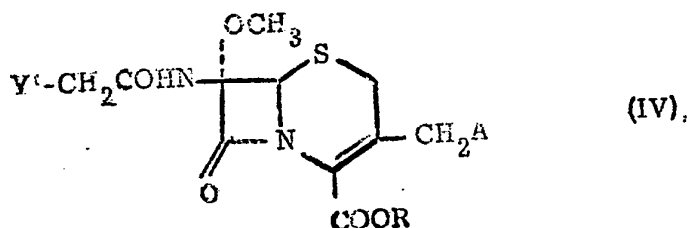
hvor A betyder acetoxy, carbamoyloxy eller (1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio, og Y betyder cyanmethylthio, 1-cyanethylthio, 2-hydroxyethylthio, methylsulfonyl, ethylsulfonyl, 2-cyanethylsulfonyl eller sydnon-3-yl, eller farmaceutisk acceptable salte deraf, k e n - d e t e g n e t ved, at en forbindelse med formlen



hvor A har den ovennævnte betydning, og R er en beskyttende gruppe for carboxyl-funktionen, omsættes med en carboxylsyre med formlen



hvor Y' betyder gruppen Y, hvor eventuelle reaktive grupper er blevet beskyttet, eller med et funktionelt derivat af denne carboxylsyre (III) til dannelselse af en forbindelse med formlen



hvor A, Y' og R har den ovennævnte betydning, og den eller de beskyttende grupper fjernes fra forbindelsen med formlen (IV) til dannelse af forbindelsen med formlen (I), hvorpå eventuelt, hvis A er acetoxyl eller carbamoyloxy, forbindelsen omsættes med 5-mercapto-1-methyl-1H-tetrazol eller alkalimetalsalte deraf til dannelse af 7 α -methoxycephalosporinderivatet med formlen I, hvor A er (1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio, og om ønsket den dannede forbindelse med formlen (I) neutraliseres til dannelse af et farmaceutisk acceptabelt salt deraf.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at A er (1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio, og Y er som defineret under formel I.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at A er acetoxyl eller carbamoyloxy, og Y er cyanmethylthio.

Fremdragne publikationer:

DK ans.nr. 5836/70, 2918/71, 3930/71, 1196/72, 3918/73.