



SUOMI—FINLAND

(FI)

**Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen**

[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT 57420**

C (45) Patentin myöntöajaksi 11.03.1980
Julkaisu - 1980

(51) Kv.lk.³/Int.Cl.³ C 07 D 501/36

(21) Patentihakemus — Patentansökn. 2677/73
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag 28.08.73
(23) Alkuperäinen — Giltighetsdag 28.08.73
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig 01.03.74
(44) Nähtävöksiänon ja kuuljulkaisun pvm. —
Ansökan utlagd och utskriften publicerad 30.04.80
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet 31.08.72
06.09.72, 06.09.72 USA(US) 285764, 286630
286792

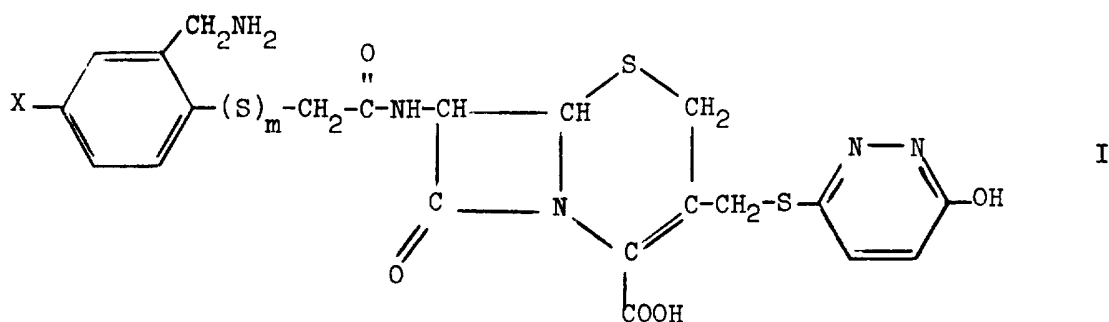
(71) Bristol-Myers Company, 345 Park Avenue, New York, N.Y., USA(US)

(72) Takayuki Naito, Tokyo, Jun Okumura, Yokohama, Japani-Japan(JP)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä antibakteeristen 7-substituoitujen 3-(3-hydroksipyridatsin-6-
yylitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapponen valmistamiseksi - Förfarande
för framställning av antibakteriska 7-substituerade 3-(3-hydroxipyridazin-
6-yylitiometyl)-3-cefem-4-karboxylsyror

Tämä keksintö koskee menetelmää uusien 3-tioloitujen 7-asyyliamidokefalospo-
raanihappojohdannaisten valmistamiseksi, joissa substituentti asemassa 7 on
o-aminometyylifenyyliasetamido, o-aminometyyli-p-hydroksi-fenyyliasetamido tai
o-aminometyyli-fenyyliitioasetamido ja tioliryhmä asemassa 3 on 3-hydroksipyridatsin-
6-yylitiometyyli, ja joiden kaava on



jossa X on H tai OH ja m on 0 tai 1, edellyttäen että m on 0, kun X on OH, sekä näiden myrkyttömien, farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi. Nämä uudet yhdisteet on havaittu arvokkaiksi bakteerimyrkyiksi, eläinten ravinnon täydennysaineiksi, lääkkeiksi karjassa esiintyvään utaretulehdukseen ja lääkkeiksi useiden Gram-positiivisten ja Gram-negatiivisten bakteerien siipikarjalle ja muille eläimille, ihminen mukaan luettuna, aiheuttamien tarttuvien sairauksien hoidossa.

7-fenyyliasetamidokefalosporaanihappo, jota kutsutaan myös 7-ACA:n N-fenyyliasetyylijohdannaiseksi, kefaloraamiksi, PACA:ksi ja ilmeisesti fenasporiiniksi, on hyvin tunnettu tieteellisestä kirjallisuudesta. Tämän yhdisteen, jonka bentseenirenkaassa joko on tai ei ole substituentteja, ja vastaavien yhdisteiden, joissa 3-asetoksimetyyliryhmä on korvattu metyyllillä, hydroksimetyyllillä ja/tai pyridiniummetyyllillä, valmistusta ja/tai ominaisuuksia kuvaavia julkaisuja ovat mm. seuraavat:

Chaivette, R.R., et al. "Chemistry of Cephalosporin Antibiotics II. Preparation of a New Class of Antibiotics and the Relation of Structure To Activity", Journal of the American Chemical Society, 84, 3401-3402 (1962).

Chauvette, R.R., et al. "Structure-Activity of Relationships Among 7-Acylamidocephalosporanic Acids", Antimicrobial Agents and Chemotherapy - 1962, 687-694.

Cocker, J.D. et al., "Cephalosporanic Acids. Part II. Displacement of the Acetoxy-group by Nucleophiles", Journal of the Chemical Society, 5015-5031 (1965).

Cocker, J.D. et al., "Cephalosporanic Acids. Part IV. 7-Acylamidoceph-2-em-4-karboxylic Acids", Journal of the Chemical Society, 1142-1151 (1966).

Culp, H.W., et al., "Metabolism and Absorption of the 7-(Phenylacetamido-1-C¹⁴)-Cephalosporanic Acid", Antimicrobial Agents and Chemotherapy - 1963, 243-246.

Jago, M., "Antibacterial Activity of Some Derivatives of 7-Aminocephalosporanic acid Against Staphylococcus Aureus and Synergism Between these and Other Antibiotics", Brit. J. Pharmacol., 22, 22-23 (1964).

Loder, B., et. al., "The Cephalosporin C Nucleus (7-Aminocephalosporanic Acid) and some of its Derivatives", Biochemical Journal, 79, 408-416 (1961).

Nishida, M., et al., "Studies on Microbial Degradation of Cephalosporin C Derivatives. II", The Journal of Antibiotics, 21, 375-378 (1968).

Nishida, M., et al. "Studies of Microbial Degradation of Cephalosporin C Derivatives I", The Journal of Antibiotics, 21, 165-169 (1968).

Spencer, J.L., et al., "Chemistry of Cephalosporin Antibiotics VIII. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Cephaloridine Analogues", Antimicrobial Agents and Chemotherapy - 1966, 573-580.

Stedman, R.J. et al., "7-Aminodesacetoxycephalosporanic Acid and its Derivatives", J. Med. Chem., 7(1), 117-119 (1964). Sullivan, H.R., et al., "Metabolism of Oral Cephalothin and Related Cephalosporins in the Rat", Biochemical Journal, 102, 976-982 (1967).

Vymola, F., et al., "The Classification and Characteristics of Cephalosporin Antibiotics I. Systematic Study of the Quantitative Sensitivity of Some Pathogenic Microorganisms to Cephaloridine", Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology, 10, 180-189 (1966).

Patenttikirjallisuudessa on selostuksia monista muista 7-aminokefalosporaanihapon 7-asyyli johdannaisista, joita ovat mm. 7-[4-(α -aminoalkyyli)fenyyliaasetamido]kefalosporaanihapot (US-patenttijulkaisu 3 382 241), 7-[p-amino-fenyylitio]asetamido]kefalosporaanihappo (US-patenttijulkaisu 3 422 100), 7-(halo-fenyylitioasetamido)kefalosporaanihapot (US-patenttijulkaisu 3 335 136), 7-[o-aminometyylifenyyli]tiaoasetamido]kefalosporiinihappo (DE-hakemusjulkaisu 2 112 058), ja lukematon määrä johdannaisia, jotka sisältyvät tähän yleiseen ryhmään ilman tarkempaa määrittelyä, esim. NL-patenttijulkaisu 69/02013 (Farmdoc 39 172). 7-(p-aminofenyyliaasetamido)-kefalosporaanihappo ja vastaava N-trifenyylimetyyli johdannainen on esitetty US-patenttijulkaisussa 3 422 103; katso myös JA-patenttijulkaisua 27 112/67 (Farmdoc 25 406).

US-patenttijulkaisusta 3 219 662 tunnetaan yhdisteet, joiden kaava on $R-CH_2-CO-ACA$, jossa R on fenyyli, nitrofenyyli (erityisesti para-nitro), kloorifenyyli, alkyyli-fenyyli ja alkoksifenyyli, ja vastaavat fenoksi- tai substituoidut yhdisteet sekä ne vastaavat yhdisteet, joissa 3-asetoksimetyyliryhmä on korvattu 3-pyridiniummetyyliryhmällä. Laajempi ryhmä näitä yhdisteitä, mukaan luettuina sarja, jossa R on fenyyli sekä yhdisteet, joissa R on bentsyyli [esim. 7-(β -fenyylipropionamido)kefalosporaanihappo], alkoksibentsyyli, alkanoyylioksibentsyyli, aminobentsyyli jne. on esitetty, ainakin yleisesti, lähtöaineina käytettäväksi GB-patenttijulkaisussa 1 012 943 ja 1 153 421 (Farmdoc 23 984); ks. myös GB-patenttijulkaisua 1 001 478 ja US-patenttijulkaisua 3 280 118. GB-patenttijulkaisussa 1 082 943 ja 1 082 962 on esitetty lähtöaineiksi 7-fenyyliaasetamidokefalosporaanihappoja, joissa on bentseenirenkaassa substituentteina mm. hydroksi- ja aminoryhmä.

US-patenttijulkaisussa 3 341 531 kuvataan 7-(o-, m- ja p-karboksiamidometyylifenyyliasetamido)kefalosporaanihappoja ja niiden betaiineja.

US-patenttijulkaisussa 3 431 259 (Farmdoc 27 715) nimetään useita 7-(halo-, dihalo-, nitro- ja halonitro-fenyyliaasetamido)kefalosporaanihappoja käytettäväksi lähtöaineina reaktioon eräiden nukleofiilien kanssa. Lisää 7-(fenyyliasetamido)kefalosporaanihappoja, joissa on erilaisia substituentteja bentseenirenkaassa, on

kuvattu seuraavissa patenttijulkaisuissa: JA-patenttijulkaisu 2712/67 (Farmdoc 25 406), JA-patenttijulkaisu 26 105/69 (Farmdoc 40 360), GB-patenttijulkaisu 1 178 471 (Farmdoc 27 715, ks NL-patenttijulkaisu 67/00906) ja JA-patenttijulkaisu 25 785/69 (Farmdoc 40 847).

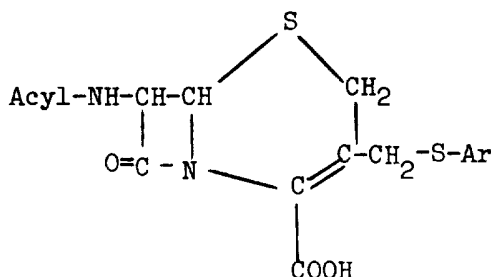
Kefalosporiinin 3-asetoksiryhmän korvaus erilaisilla heterosyklisillä tioleilla on esitetty

a) ZA-patenttijulkaisussa 70/2290 [ks. myös NL-patenttijulkaisu 70/05519 (Farmdoc 80 188R)], jossa sivuketjuina olivat esimerkiksi 7- α -aminofenyyliasetamidoryhmät ja tyypillisiä heterosyklisiä tioleja olivat 2-metyyli-1,3,4-tiadiatsoli-5-tioli ja 1-metyyli-1,2,3,4-tetratsoli-5-tioli, ja

b) US-patenttijulkaisussa 3 516 997, jossa aseman 7 sivuketjujen rakenne oli $R^3-(alk)_m-CO-NH-$ ja $R^3-S-(alk)_m-CO-NH-$, missä R^3 oli yksi useista aromaattisista heterosyklisistä ryhmistä ja aseman 3 lukuisien heterosyklisten tiolien joukossa olivat esim. 1-metyyli-tetratsoli-5-tioli ja 2-metyyli-1,3,4-tiadiatsoli-5-tioli, ja

c) US-patenttijulkaisussa 3 563 983.

Lukuisia kefalosporiineja, kefalosporiini C mukaanluettuna silloin tällöin, on saatettu reaktioon nukleofiilisten, aromaattisten merkaptaanien kanssa, jolloin tuotteiksi on saatu yhdisteitä, joiden kaava on

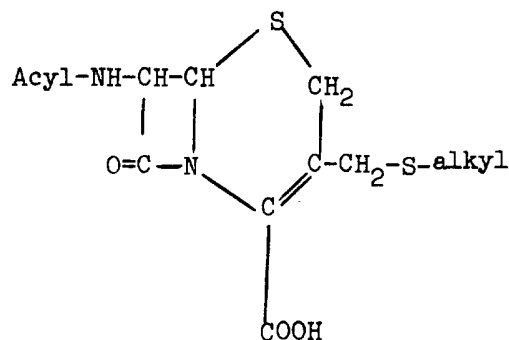


US-patenttijulkaisussa 3 278 531 Ar tarkoittaa fenyyliä tai eräitä substituoituja fenyylejä tai eräitä heterosyklisiä renkaita, jotka on nimetty esimerkiksi sarakkeessa 5. Samanlaisia nukleofiilejä, esim. 2-merkpto-pyrimidiinejä, kuvataan seuraavissa Glaxolle julkaistuissa patenteissa: US-3 261 832, GB-1 101 422, US-3 479 350 ja US-3 502 665. Vastaava selostus on Ciban GB-patenttijulkaisussa 1 109 525, esim. määriteltäessä R_3 :a vastaava "h". Lisää tämän tyyppisiä nukleofiilejä on selostettu seuraavissa Fujisawan patenttijulkaisuissa: BE-714 518 (Farmdoc 35 307, NL-68/06129 ja ZA-2695/68), CA-818 501 (Farmdoc 38 845), GB-1 187 323 (Farmdoc 31 936, NL-67/14888) ja erityisesti US-3 516 997 (Farmdoc 34 328, NL-68/05179), joka sisältää yhdisteen nimeltä kefatsoliini, jossa on tetratsolyyli-asetyyilisivuketju 7-aminoryhmään liittyneenä ja 5-metyyli-tiadiatsolyylietiometyyli-ryhmä asemassa 3, ja jota on jossain määrin kuvattu tieteellisessä

kirjallisuudessa, esim. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1969, American Society for Microbiology, Betesda, Maryland, ss. 236-243 ja J. Antibiotics (Japan) 23(3), 131-148 (1970).

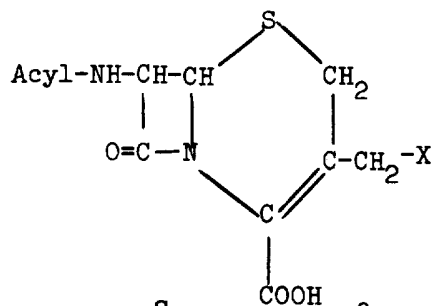
Uudemmat selostukset kefalosporiinin 3-asetoksiryhmän korvaamisesta erilaisilla heterosyklisillä tioleilla on US-patenttijulkaisussa 3 563 983 ja NL-patenttijulkaisussa 70/05519 (Farmdoc 80 188R), joissa sivuketjuina olivat esimerkiksi 7- α -aminofenyyliaasetamidoryhmät ja tyypillisiä heterosyklisiä tioleja olivat 2-metyyli-1,2,4-tiadiatsoli-5-tioli ja 1-metyyli-1,2,3,4-tetratsoli-5-tioli; jälkimmäinen vastaa US-patenttijulkaisua 3 641 021, julkaistu 1972-02-08, haettu 1969-04-18. Lisää samanlaisia selostuksia on seuraavissa patenttijulkaisuissa: US-3 563 983, BE-771 189 (Farmdoc 12 817T), JA-72/05550 (Farmdoc 12 921T) ja JA-72/0551 (Farmdoc 12 922T).

Erilaisia kefalosporiineja, joiden rakenne on



jossa asyyli edustaa erilaisia sivuketjuja, α -aminofenyyliaesityyli mukaanluettuna, on kuvattu joissakin yllä mainituista patenttijulkaisuista sekä seuraavissa Glaxolle julkaistuissa patenteissa: BE-734 532 (Farmdoc 41 619) ja BE-734 533 (Farmdoc 41 620) ja US-3 668 203.

Kefalosporiineja, joiden rakenne on



missä X on mm. $-S-\overset{\overset{S}{\parallel}}{C}-$ ja $-S-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$, on selostettu joissakin yllä mainituista patenttijulkaisuista sekä US-patenttijulkaisuissa 3 239 515, 3 239 516, 3 243 435, 3 258 461, 3 431 259 ja 3 446 803.

Tieteellisestä kirjallisuudesta löytyviä tähän liittyviä julkaisuja ovat mm. J. Med. Chem. 8, 174-181 (1965) ja J. Chem. Soc. (London) 1595-1605 (1965), 5015-5031 (1965) ja 1959-1963 (1967).

Kirjallisuudessa on useita selostuksia antibioottien metaanisulfonaateista. BE-patenttijulkaisussa 742 728 (Farmdoc 41466R) selostetaan ampisilliinin mono-metaanisulfonaattia. US-patenttijulkaisuissa 3 268 508 ja 3 295 246 selostetaan yhden tai useamman kanamysiinin vapaan aminoryhmän, joita kaikkiaan on neljä, muuntamista metaanisulfonaattijohdannaiseksi. Natriumbasitrasiinimetaanisulfonaattia selostetaan US-patenttijulkaisussa 3 205 137 ja neomysiiniä julkaisussa J. Antibiotics (Japan) 12, 114-115 (1959). Ruiskeena käytettävä antibioottinen kolistimetaatti (Warner-Chilcott markkinoi sitä kauppanimellä "Coly-Mycin") on kolistiinin metaanisulfonaatin natriumsuola; Merck Index lainaa julkaisua Koyama et al., JA-4898 (1957). Kolistimetaattia selostetaan yksityiskohtaisesti julkaisussa U.S. Dispensatory 26th Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Penna, ss. 315-320. Sitä kuvataan Colistin A:n penta(metaanisulfonihappo)johdannaisen pentanatriumsuolana julkaisussa U.S.P. XVII, ss. 621-622. US-patenttijulkaisussa 2 599 950 on seuraava esimerkki VII: "Polymyksiiniformaldehydi-natriumbisulfiittiyhdiste".

In vitro ja in vivo-kokeet

7-[(o-aminometyyli)fenyylitiioasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapolla = yhdiste A, 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapolla = yhdiste B ja 7-[o-aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyratsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapolla = yhdiste C on erinomainen in vitro ja in vivo aktiviteetti useita Gram-positiivisia ja Gram-negatiivisia bakteereja vastaan mukaan luettuna bakteerit, jotka ovat resistenttejä kefalotiinia ja kefaloridiinia vastaan.

Näiden kefalosporiinien dimetaanisulfonaattiadditioyhdiste valmistetaan vesiliukoisena preparaattina, joka sopii injektoitavaksi ja tutkittaessa absorptiota ja erittymistä sekä akuuttia myrkyllisyyttä ja kivun aiheutumista injektion yhteydessä.

Tutkittaessa bakteerinvastainen aktiviteetti in vitro kokein putkilaimennus- tai agar-laimennusmenetelmällä oli kaikkien kolmen yhdisteen minimiestopitoisuus alle 1,0 mg/ml melkein kaikkia tai melkein kaikkia Staphylococcus aureus-, Streptococcus pyogenes-, Diplococcus pneumoniae-, Bacillus anthracis-, Proteus rettgeri-, Shigella-, Salmonella enteritidis- ja Salmonella typhosa-lajien kantoja vastaan. Yhdiste C oli lisäksi tehokas kaikkia tai melkein kaikkia Bacillus mycoides- ja Enterobacter cloacae- lajin kantoja vastaan minimiestopitoisuuden

ollessa alle 1,0 mg/ml. Minimiestopitoisuus oli yleensä alle 4 mg/ml ja jossain tapauksessa alle 1,0 mg/ml *Escherichia coli*-, *Klebsiella pneumoniae*-, *Proteus mirabilis*-, yhdisteellä B ja yllättävästi yhdisteellä C *Proteus vulgaris*- ja yllättävästi yhdisteellä C *Proteus morganii*-lajin kantoja vastaan.

Yhdiste A oli liuoksessa 37°C:ssa täysin stabiili pH-arvossa 7,4 ja puoliintumisaika oli yli 24 h.

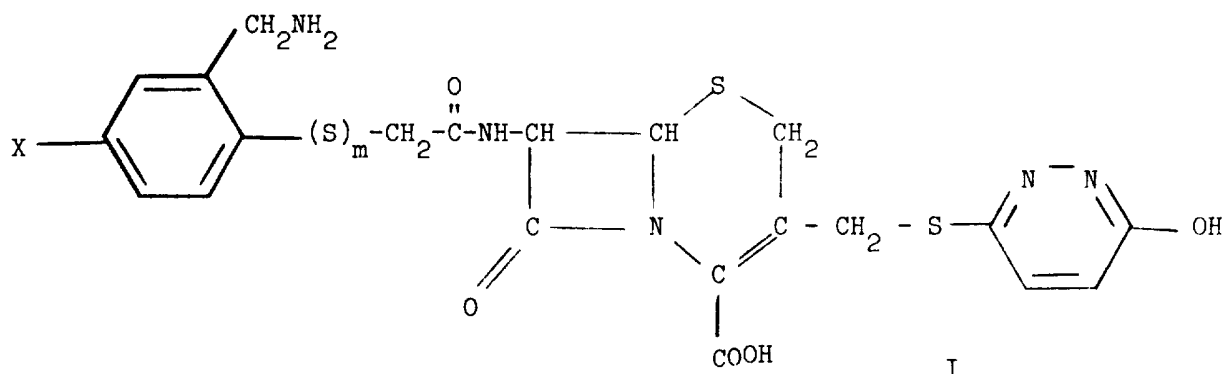
Yhdisteen A in vivo tehokkuus tutkittiin antamalla yhdistettä ihonalaisena ruiskeena hiirille, joille oli aiheutettu infektio 9:llä patogeenisellä bakteerilla mukaan luettuna penisillinaasipositiivinen *S. aureus* ja kefalosporinaasipositiivinen *E. coli*. Käytetyt bakteerit olivat *S. aureus*-, *S. pyrogenes*-, *E. coli*-, *Kl. pneumoniae*-, *P. vulgaris*-, *Pr. morganii*- ja *Pr. mirabilis*-lajin kantoja. CD_{50} ei koskaan ollut yli 100 mg/kg, ainoastaan kolmessa tapauksessa CD_{50} oli yli 25 mg/kg ja useissa tapauksissa 12,5 mg/kg tai alle. Aineen pitoisuus hiiren veressä sekä ihonalaisena että lihaksensisäisenä ruiskeena annettuna niinkin alhaisilla kuin 10 mg/kg:n annoksilla osoitti hyvää absorptiota.

Yhdisteen B in vivo tehokkuus tutkittiin antamalla yhdistettä ihonalaisena ruiskeena hiirille, joille oli aiheutettu infektio kahdella patogenisellä bakteerilla penisillinaasipositiivisella *S. aureus*ella ja kefalosporinaasipositiivisella *E. coli*lla. CD_{50} oli kummassakin tapauksessa alle 10 mg/kg.

Yhdisteen C in vitro kokeissa Gram-negatiiviset organismit käsittivät 14 kefalotiiniresistenttiä *Enterobacteriaceae*-kantaa (3 *E. coli*-, 6 *Proteus*-, 1 *Enterobacter*-, 1 *Shigella*- ja 3 *Serratia*-kantaa), joihin 100 mg/ml kefalotiinia ei vaikuttanut estävästi ja joskus ei myöskään 100 mg/ml kefaloridiinia ja kefapiiriinia. Yhdiste C oli huomattavan aktiivinen näitä organismeja vastaan estäen 9 kantaa 14 kannasta annoksella 6,3 mg/ml tai alle. Yhdisteen C minimiestopitoisuus ei oleellisesti alentunut vaikka läsnä oli ihmisen seerumia (esimerkiksi aina 50 %:iin saakka). Yhdisteen liuos 37°C:ssa oli erittäin stabiili pH-arvossa 4,6-8,4 ja puoliintumisaika oli yli 24 h.

Yhdisteen C in vivo tehokkuus tutkittiin antamalla yhdistettä ihonalaisena ruiskeena hiirille, joille oli aiheutettu infektio 10 patogeenisellä bakteerilla mukaan luettuna penisillinaasipositiivinen *S. aureus* ja kefalosporinaasipositiivinen *E. coli*. Käytetyt bakteerit olivat *S. aureus*-, *S. pyrogenes*-, *D. pneumoniae*-, *E. coli*-, *K. pneumoniae*-, *P. vulgaris*- ja *S. marcescens*-lajin kantoja. CD_{50} ei koskaan ollut yli 75 mg/kg; ainoastaan kolmessa tapauksessa CD_{50} oli yli 20 mg/kg ja kuudessa tapauksessa 5,0 mg/kg tai alle ja minimi oli 0,5 mg/kg. Aineen pitoisuus hiiren veressä ihonalaisena ruiskeena annettuna niinkin alhaisilla annoksilla kuin 5 mg/kg osoitti erinomaista absorptiota; talteenotto virtsasta oli hyvä (50 %) ja virtsan paperikromatografinen tutkimus osoitti, että yhdiste oli ainoa läsnäoleva bioaktiivinen aine, joka oli metabolisesti stabiili. Annettaessa yhdistettä C pitoisuudessa 12,5 % tai alle ei ruiskeen jälkeen havaittu kudoksen ärsyyntymistä.

Tämän keksinnön kohteena on menetelmä antibakteeristen 7-substituoitujen 3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappojen valmistamiseksi, joiden kaava on



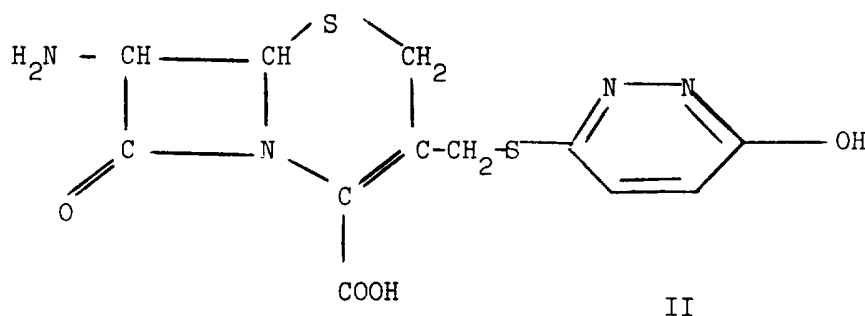
jossa X on H tai OH ja m on 0 tai 1, edellyttäen että m on 0, kun X on OH, sekä näiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

Myrkkövaikutuksettomia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joihin yllä viitataan, ovat myrkkövaikutuksettomat karboksyylihapposuolat, joihin kuuluvat myrkkövaikutuksettomat metallisuolat kuten natrium-, kalium-, kalsium- ja alumiinisuola, ammoniumsuola ja substituoitua ammoniumsuolat, esim. sellaisten myrkkövaikutuksettomien amiinien suolat kuin trialkyyliamiinit trietyyliamiini mukaanluettuna, prokaiini, dibentsyyliamiini, N-bentsyyli-beta-fenetyyliamiini, 1-efenamiini, N,N'-dibentsyylietyleenidiamiini, dehydroabietyyliamiini, N,N'-bis-dehydroabietyylietyleenidiamiini, N-(alempi)-alkyyli-piperidiini esim. N-etyyli-piperidiini sekä muut amiinit, joita on käytetty muodostamaan suoloja bentsyyli-penisilliinin kanssa; ja myrkkövaikutuksettomat happoadditiosuolat (so. amiinisuolat, joihin kuuluvat mineraalihappoadditiosuola kuten hydrokloridi, hydrobromidi, hydrojodidi, sulfaatti, sulfamaatti ja fosfaatti sekä orgaaniset happoadditiosuolat kuten maleaatti, asetaatti, sitraatti, oksalaatti, sukkiinaatti, bentsoaatti, tartraatti, fumaraatti, malaatti, mantelaatti, askorbaatti jne. Erittäin suositeltavia suoloja ovat kaavan I mukaisten yhdisteiden dimetaanisulfonaattinatriumsuolat. Vesiliukoisuutensa vuoksi voidaan näitä suoloja käyttää ruiskeina annettavissa seoksissa.

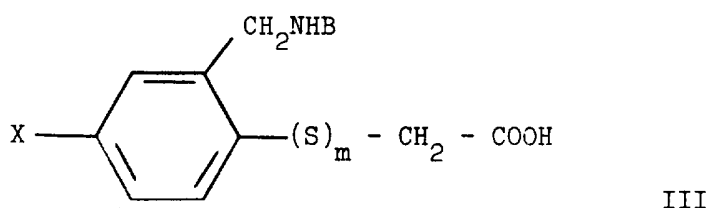
Yhdisteet, joissa aminoryhmä on suojattu substituentilla, kuten tert.-butoksikarbonyyli-, bentsyylioksikarbonyyli-, formyyl-, o-nitro-fenyyli-fulfenyyli-, β,β,β -trikloorietoksikarbonyyli-, 4-okso-2-pentenyyli-2,1-etoksikarbonyyli-1-propenyyli-2-ryhmällä, ovat valmistuksessa käytettäviä välituotteita tai aineenvaihdunnallisia esiasteita. Tällaisina suojaryhminä mainitaan varsinkin ketonit (erityisesti

asetoni) ja aldehydit (varsinkin formaldehydi ja asetaldehydi), joita on selostettu esimerkiksi Yhdysvaltain patenttijulkaisuissa no 3 198 804 ja 3 347 851 ja β -ketoesterit ja β -diketonit, joita on selostettu esim. Yhdysvaltain patenttijulkaisussa no 3 325 479 sekä β -ketoamidit, joita on selostettu Japanin patenttijulkaisussa 71/24714 (Farmdoc 47 321S).

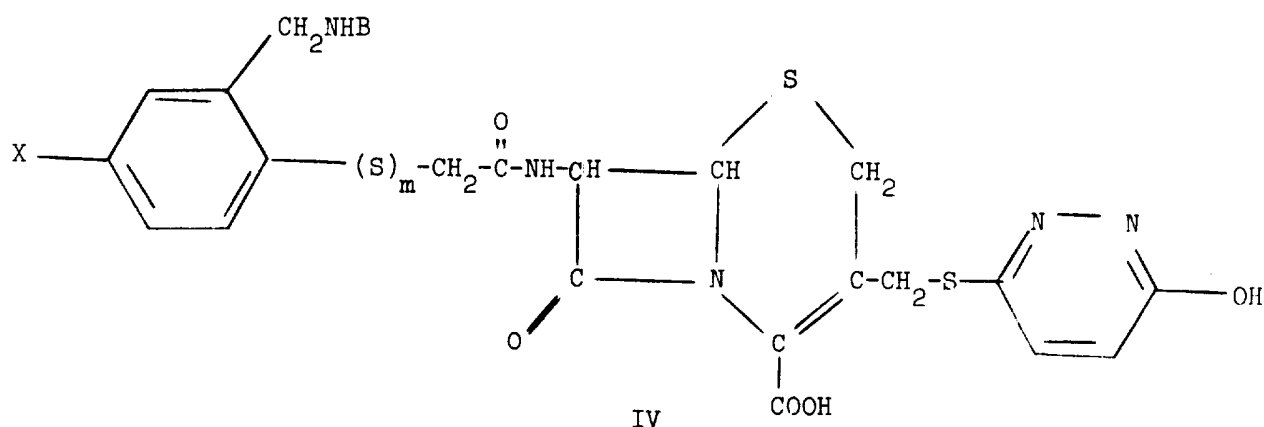
Keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomista, että saatetaan yhdiste, jonka kaava on



tai tämän suola reaktioon asylointijohdannaisen kanssa, jonka kaava on

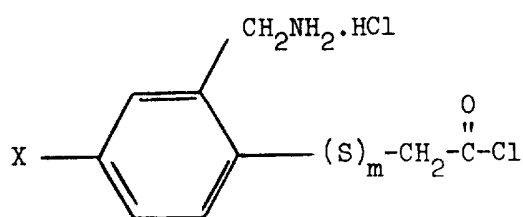


jossa B esittää aminosuojaryhmää ja m sekä X ovat samat kuin yllä, jolloin saadaan tuotteeksi yhdiste, jonka kaava on



jossa B, X ja m ovat samat kuin yllä, tai tämän suola, ja tämän jälkeen aminosuojaryhmä poistetaan ja saadaan haluttu kaavan I mukainen yhdiste tai sen myrkyvaikutuksen, farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Kaavan I mukaiset amfoteeriset yhdisteet valmistetaan liittämällä kaavan II mukaisen 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylin hapon tai sen suolan aminoryhmään asylointireagenssi, joka on kaavan III mukainen happo tai sen funktionaalinen ekvivalentti. Liittämisen jälkeen aminosuojaryhmä B poistetaan ja saadaan haluttu tuote. Aminosuojaryhmä B on sellainen suojaryhmä, jota käytetään joko peptidisynteesissä tai missä tahansa niistä lukuisista synteeseistä, joilla valmistetaan ampicilliinia tai kefaloglysiiniä tai kefaleksiiniä 2-fenyyliiglysiinistä. Erittäin arvokkaita suojaryhmiä ovat protoni kuten kaavassa



tai β -diketoni tai β -ketoesteri kuten GB-patenttijulkaisussa 1 123 333 ja US-patenttijulkaisuissa 3 325 479 ja 3 316 247, esim. metyyliasetoasetaatti, tai β -ketoamidi kuten JA-patenttijulkaisussa 71/24714 (Farmdoc 47 321S), jossa tapauksessa aminosuojaryhmän sisältävä happo on sopivinta muuttaa seka-anhydridiksi esim. etyyliklooriformaatin kanssa ennen yhdisteen II tai sen suolan kanssa tapahtuvaa reaktiota, jossa saadaan haluttua tuotetta I, kun ensin on poistettu suojaryhmä.

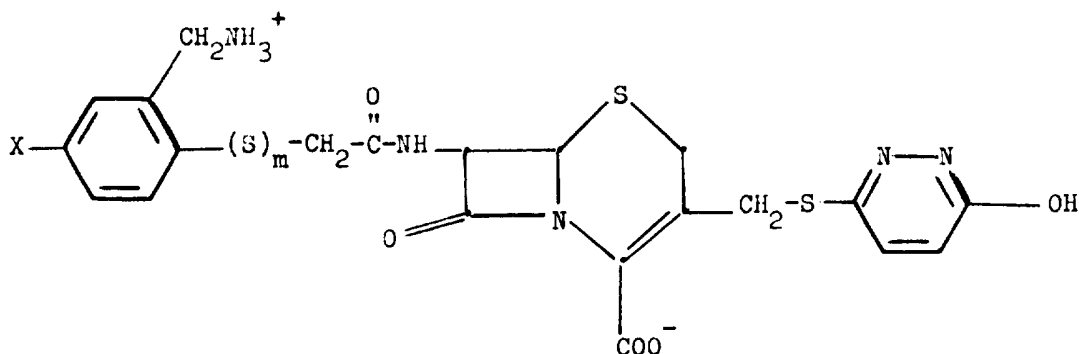
Yhdistämisreaktiota seuraa suojaryhmän poistaminen, jolloin saadaan tämän keksinnön mukaisia tuotteita, esim. tert.-butoksikarbonyyliryhmä voidaan poistaa muurahaishappo- tai trifluorietikkahappokäsittelyllä, bentsyylioksikarbonyyliryhmä voidaan poistaa katalyyttisellä hydrauksella, 2-hydroksi-1-naftokarbonyyliryhmä voidaan poistaa happohydrolyysillä, trikloorietoksikarbonyyliryhmä voidaan poistaa käsittelemällä sinkkipölyllä jääetikassa ja 1-etoksikarbonyyli-1-propenyyliryhmä on sopivinta poistaa muurahaishapolla. Tietenkin voidaan käyttää myös muita funktionaalisesti ekvivalentteja aminosuojaryhmiä ja tällaiset ryhmät katso- taan keksinnön alaan kuuluviksi.

Mitä tulee kaavan III mukaiseen asylointireagenssiin, ovat funktio-naalisia ekvivalentteja mm. vastaavat happohalogenidit, happoanhydridit, seka-anhydridit mukaanluettuina, ja erityisesti seka-anhydridit, jotka on valmis-tettu vahvemmista hapoista kuten karboksyylihapon alemmista alifaattisista monoestereistä tai alkyyli- tai aryylisulfonihapoista sekä heikommista hapoista kuten difenyylietikkahaposta. Lisäksi happoatsidia tai aktiivista esterinä tai tioesterinä (esim. p-nitrofenyylin, 2,4-dinitrofenolin, tiofenolin, tio-etikkahapon kanssa syntyneitä) voidaan käyttää tai itse vapaa happo, kunhan se on ensin reagoinut N,N'-dimetyyliklooriforminiumkloridin kanssa, voidaan yhdistää yhdisteeseen II [ks. GB-patenttijulkaisu 1 008 170 ja Novak, Weichet, Experientia XXI, 6, 360 (1965)] tai yhdistäminen voidaan suorittaa käyttä-mällä entsyymejä tai N,N'-karbonyylidi-imidatsolia tai N,N'-karbonyyliditri-atsolia [ks. ZA-patenttijulkaisu 63/2684] tai karbodi-imidireagenssia [erityi-sesti N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä, N,N'-di-isopropyylikarbodi-imidiä tai N-sykloheksyyli-N'-(2-morfolinoetyyli)karbodi-imidiä; ks. Sheelan, Hess, J.Amer.Chem.Soc., 77, 1067 (1955)] tai alkylyyliamiini-reagenssia [ks. R. Buijle, H.G.Viehe, Angew Chem. International Edition 3, 582, (1964)] tai isoksatsolium-suolareagenssia [ks. R.B. Woodward, R.A. Olofson, H. Mayer, J.Amer.Chem.Soc., 83, 1010 (1961)] tai keteeni-imiinireagenssia [ks. C.L. Stevens, M.E. Mond, J.Amer.Chem.Soc., 80, 4065].

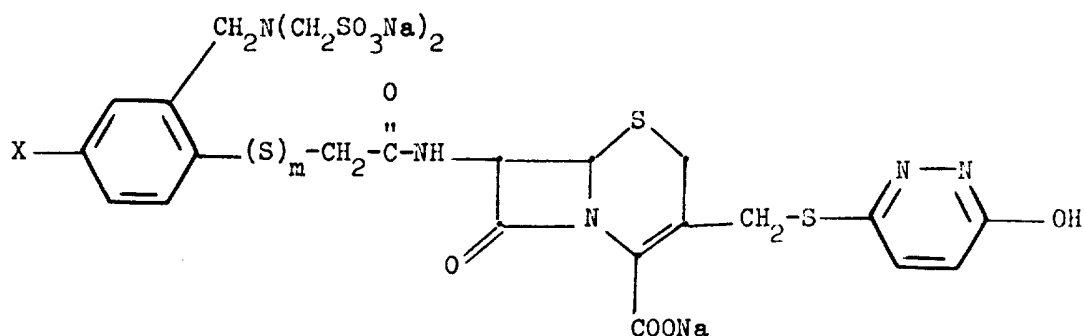
Hapon ekvivalentti on lisäksi vastaava atsolidi, so. vastaavan hapon amidi, jonka amidityppi on jäsenenä vähintään kaksi typpiatomia sisältävässä kvasiaromaattisessa renkaassa, joita ovat imidatsoli, pyratsoli, triatsolit, bentsimidatsoli, bentsotriatsoli ja näiden substituoidut johdannaiset. Atsolidi valmistetaan esimerkiksi siten, että N,N'-karbonyylidi-imidatsoli saatetaan ekvimolaarisesti reaktioon karboksyylihapon kanssa huoneen lämpötilassa tetrahydrofuraanissa, kloroformissa, dimetyyliformamidissa tai vastaavassa inertissä liuottimessa, jolloin syntyy käytännöllisesti katsoen kvantitatiivinen määrä karboksyylihapon imidatsolidia ja vapautuu hiilidioksidia sekä yksi mooli imidatsolia. Dikarboksyylihapoista syntyy di-imidatsolidia. Sivutuote, imidatsoli, saostuu ja voidaan erottaa, jolloin jäljelle jää imidatsolidi, mutta tämä ei ole välttämätöntä. Näiden kefalosporiinin valmistusreaktioiden suorittamismenetelmät sekä syntyneen kefalosporiinin erotusmenetelmät ovat hyvin tunnettuja.

Edellä mainittiin entsyymien käytöstä, kun halutaan yhdistää aminosuojattu vapaa nappo yhdisteeseen II. Näihin menetelmiin kuuluu kyseisen vapaan hapon esterin, esim. metyyliesterin, käyttö eri mikro-organismien tuottamien entsyymien kanssa, esim. kyseeseen tulevia entsyymejä ovat selostaneet T. Takahashi et al., Amer.Chem.Soc., 94(11), 4035-4037 ja T. Nara et al., J.Antibiotics (Japan) 24(5), 321-323 (1971).

Kun liittämisreaktio ja suojaryhmän poisto on suoritettu, voidaan kaavan I mukainen yhdiste haluttaessa muuttaa tunnetuilla menetelmillä myrkkyyvaikutusettomiksi farmaseuttisesti hyväksyttäviksi suoloikseen. Kahtaisionituotteet, joiden kaava on

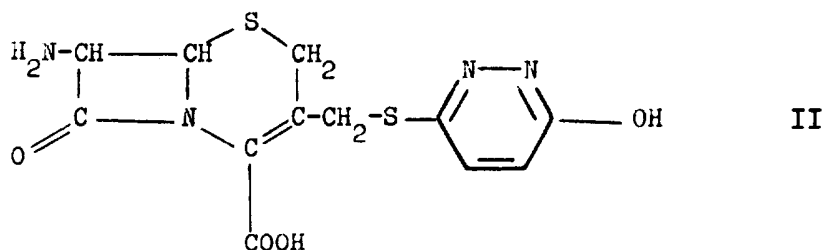


missä X ja m ovat samat kuin yllä, voidaan muuttaa dimetaanisulfonaattinatrium-suoloikseen, joiden kaava on

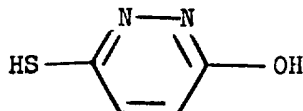


Kahtaisionimuodossa olevat kefalosporaanihapot voidaan muuttaa dimetaanisulfonaattijohdannaisiksi tunnetuilla menetelmillä. Suositeltavaa on antaa kahtaisionin reagoida natriumformaldehydibisulfiitin (tai sen lähteen kuten natriumbisulfiitin ja formaliinin) ja veden kanssa vahvan natriumemäksen, esim. natrium-2-etyyliheksanoaattin, läsnäollessa. Tätä seosta kuumennetaan yli huoneen lämpötilassa, esim. yli 40°C :ssa, sopivimmin noin $40-45^{\circ}\text{C}$:ssa, lyhyt aika, joka tarvitaan halutun tuotteen liuoksen syntymiseen. Tuote otetaan talteen saostamalla, esim. lisäämällä vesiliukoista käytännöllisesti katsoen vedetöntä liuotinta, sopivimmin alkoholia kuten etanolia tai isopropanolia.

Keksinnön mukaisessa menetelmässä käytetään lähtöaineena yhdistettä, jonka kaava on



tai tämän yhdisteen suolaa. Kaavan II mukainen yhdiste voidaan valmistaa siten, että saatetaan 7-aminokefalosporaanihappo tai sen suola reaktioon tiolin kanssa, jonka kaava on



tai sen suolan, sopivimmin natrium- tai kaliumsuolan, kanssa, ja haluttaessa muutetaan näin syntynyt 7-amino-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-

4-karboksyylimahappon suolaksi.

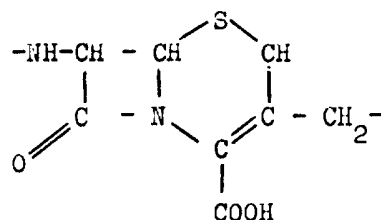
7-aminokefalosporaanin esteriryhmän, esim. 3-asetoksyryhmän, korvaaminen tiolilla on tunnettu reaktio, joka voidaan suorittaa vesiliuoksessa heikon emäksen kuten natriumbikarbonaatin läsnäollessa. Korvausreaktio on sopivinta suorittaa noin 50-100°C lämpötilassa.

Kaavan II mukaista uutta välituotetta, 7-amino-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylimahappon, voidaan käyttää kaavan I mukaista aktiivisten kefalosporiiniyhdisteiden valmistamiseen tai muiden mahdollisesti arvokkaiden uusien kefalosporiini johdannaisien valmistamiseen.

Asiaan perehtyneille on selvää, että kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan, vaihtoehtoisesti valmistaa siten, että ensin asyloidaan 7-aminokefalosporaanin happo tai sen suola aseman 7 sivuketjun asylointireagenssilla, jota sitten seuraa 3-asetoksyryhmän nukleofiilinen korvaus 3-hydroksi-6-merkaptopyridatsiinillä, jolloin saadaan haluttu tuote.

Ihmisessä esiintyvien bakteeritartuntojen hoidossa annetaan tämän keksinnön mukaiset yhdisteet parenteraalisesti käyttäen antibiootihoidon normaaleja menetelmiä ja annoksia, jotka ovat määrältään noin 5-200 mg/kg/vrk, sopivimmin noin 5-20 mg/kg/vrk, ja jotka ovat jaetut osiin siten, että koko annos kertyy esim. 3-4 kertaa päivässä annetuista osa-annoksista. Lääkitys tapahtuu kerta-annoksina, joissa on esim. 125, 250 tai 500 mg aktiivista aineosaa sekoitettuna sopiviin fysiologisesti hyväksyttäviin kantimiin tai täyteaineisiin. Kerta-annokset ovat nestemäisessä muodossa kuten liuoksina tai suspensioina.

Seuraavat esimerkit valaisevat tätä keksintöä. Kaikki lämpötilat on annettu Celsius-asteina. 7-aminokefalosporaanin haposta käytetään lyhennettä 7-ACA, -ACA- esittää ryhmää, jonka rakenne on



Esimerkki 1

7-amino-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo
 Seosta, jossa oli 0,60 g (0,0047 moolia) 3-hydroksi-6-merkaptopyridatsiinia, 1,27 g (0,0047 moolia) 7-aminokefalosporaanihappoa, 0,78 g (0,0094 moolia) natriumbikarbonaattia ja 25 ml 0,1 M fosfaattipuskuria (pH 6,4), kuumennettiin 60°C:ssa 5 tuntia. Kun reaktioseoksesta suodatettiin pois jäljelle jäänyt liuennematon aine ja suodoksen pH säädettiin etikkahapolla arvoon 5, saatiin ruskea sakka, joka suodatettiin talteen, pestiin perättäisesti vedellä ja asetonilla ja kuivatettiin vakuuissa, jolloin saatiin 1,03 g (71 %) 7-amino-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, sp. 290-300°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$ maks 1805, 1680, 1650, 1580, 1415 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{maks}}^{1\% \text{ NaOH}}$ 249 nm (ϵ 19400)

NMR: $\delta^{D_2O-K_2CO_3}$ ppm 3,22 (1H, d, 19 Hz), 3,37 (1H, d, 14 Hz), 3,65 (1H, d, 14 Hz), 3,72 (1H, d, 19 Hz) 4,90 (1H, d, 4Hz), 5,30 (1H, d, 4Hz), 6,75 (1H, d, 10Hz), 7,30 (1H, d, 10 Hz).

Analyysi: $C_{12}H_{12}N_4O_4S_2 \cdot 1/2 H_2O$

laskettu C 41,25 H 3,75 N 16,04 S 18,36

löydetty C 41,45 H 3,70 N 15,83 S 18,03.

Esimerkki 2

A. 7-(2-tert.-butoksikarbonyyliaminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo.

Liuokseen, jossa oli 1,7 g (6 mmoolia) 2-tert.-butoksikarbonyyliaminometyyli-4-hydroksifenyylietikkahappoa, 1,2 g (6,6 mmoolia) 2,4-dinitrofenolia ja 40 ml tetrahydrofuraania, lisättiin yhdessä erässä 1,35 g (6,6 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä, ja seosta sekoitettiin 1,5 tuntia huoneenlämpötilassa. Erottunut urea suodatettiin pois. Suodokseen lisättiin yhdessä erässä liuos, jossa oli 2,0 g (5,9 mmoolia) 7-amino-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-

3-kefem-4-karboksyylihappoa, 1,7 ml (noin 12 mmoolia) trietyyliamiinia ja 30 ml vettä. Kun seosta sekoitettiin 20 tuntia huoneen lämpötilassa, pestiin etyyliasetaatilla (3 x 150 ml) ja tehtiin happamaksi 6N suolahapolla, saatiin sakka, joka suodatettiin talteen, pestiin vedellä (50 ml) ja kuivattiin. Sakka liuotettiin litraan metanolia 50°C:ssa ja liukenematon aine suodatettiin pois. Suodos käsiteltiin aktiivihieillä ja haihdutettiin kuiviin. Kun jäännös hierrettiin eetterillä (50 ml), saatiin 920 mg (25 %) 7-(2-tert.-butoksikarbonyyliaminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, sp. 190-200°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$ maks 1770, 1700, 1670, 1580, 1250 cm^{-1}

Analyysi: $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

laskettu C 50,23 H 5,03 N 11,27

löydetty C 50,63 H 4,69 N 10,94

B. 7-(2-aminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

2 ml trifluorietikkahappoa ja 850 mg (1,4 mmoolia) 7-(2-tert.-butoksikarbonyyliaminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa sekoitettiin keskenään 0-5°C:ssa ja seosta sekoitettiin tunnin ajan. Kun seos laimennettiin 150 ml:lla eetteriä, saatiin halutun kefalosporiinin, 7-(2-aminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon, trifluoriasetaatti, joka suodatettiin talteen ja suspendoitiin 30 ml:aan vettä.

Suspension pH säädettiin laimealla ammoniumhydroksidilla arvoon 6 ja laimennettiin litralla asetonitriiliä

samalla sekoittaen. Kun kiinteä aine suodatettiin talteen, pestiin asetonitriilillä (3 x 100 ml) ja kuivattiin vakuumissa, saatiin 546 mg (77 %) 7-(2-aminometyyli-4-hydroksifenyyliasetamido)-3-(6-hydroksipyridatsin-3-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, sp. 210°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$ maks 1770, 1660, 1580, 1390 cm^{-1}

Analyysi: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

laskettu C 43,82 H 4,73 N 12,56

löydetty C 43,85 H 4,28 N 13,12.

Esimerkki 3

7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo.

Sekoitettuun suspensioon, jossa on 2,1 mmoolia natrium-o-(1-etoksikarbo-nyyli-1-propen-2-yyliaminometyyli)-p-hydroksifenyyliasetaatia, 5 ml kuivaa asetoni-riiliä ja yksi tippa N,N'-dimetyyli-entsyyliamiinia, sekoitetaan -15°C:ssa 0,25 g (2,3 mmoolia) etyyliklooriformaatia ja sekoitusta jatketaan 20 minuuttia -10 - -15°C:ssa. Seokseen lisätään yhdessä erässä liuos, jossa on 0,71 g (2,1 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, 0,21 g (2,1 mmoolia) trietyyliamiinia, 3 ml asetoni-riiliä ja 3 ml vettä, ja seosta sekoitetaan yksi tunti 0°C:ssa. Reaktioseos käsitellään pienellä määrällä aktiivihieiltä ja suodatetaan. Suodokseen lisätään ravistelemalla 0,5 ml muurahaishappoa ja seoksesta suodatetaan pois reagoimaton 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo. Suodokseen lisätään 100 ml asetoni-riiliä ja seoksen annetaan seisoa tunti huoneenlämpötilassa. Kun sakka suodatetaan talteen, pestään 10 ml:lla vettä ja kuivataan vakuumissa, saadaan noin 0,5 g 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa.

Esimerkki 4

7-o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Litran kolmikaulaiseen pyörökolviin, johon on asetettu kuivausputki, sekoittaja ja lämpömittari, pannaan 0,08 moolia huolellisesti hienonnettua kalium-o-(1-karbometoksi-1-propen-2-yyliaminometyyli)-p-hydroksifenyyliasetaatia 350 ml:aan kuivaa tetrahydrofuraania (THF) ja muutama tippa N,N'-dimetyyli-entsyyliamiinia. Suspensiota sekoitetaan voimakkaasti ja se jäädytetään -40°C:een asetoni-kuivajääkylvyssä. Suspensioon lisätään yhdessä erässä 13,6 g (0,06 moolia) isobutyryliklooriformaatia ja lämpötila pidetään lisäyksen aikana alle -35°C:ssa. 2,5 minuutin kuluttua asetoni-kuivajääkylpy poistetaan ja lisätään liuos, jossa on 0,036 moolia 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 5,04 g (0,050 moolia) N-metyylimorfoliinia 250 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitetaan kunnes sen lämpötila saavuttaa huoneenlämpötilan (1,2 tuntia). THF poistetaan alipaineessa. Vesiliuos kerrostetaan 100 ml:lla etyyliasetaatia ja tehdään happamaksi väkevällä suolahapolla (pH 1,7-2,0). Seos käsitellään 3,5 g:lla aktiivihieiltä ("Darco KB") ja suodatetaan. Kerrokset ero-

tetaan ja vesifaasi uutetaan etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Vesifaasi suodetaan suodatinpaperin läpi ja pH säädetään arvoon 4,0. Raaputuksen jälkeen liuos jätetään yön ajaksi 5-7°C:een kiteytymään. Tuote suodatetaan talteen, pestään pienellä vesimäärällä ja kuivataan vakuumieksikaattorissa P_2O_5 :llä. 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon saanto on noin 30 %.

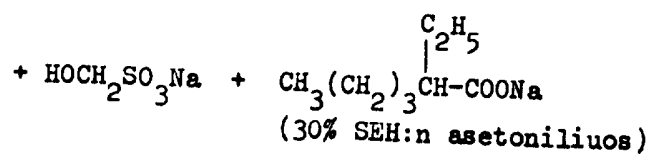
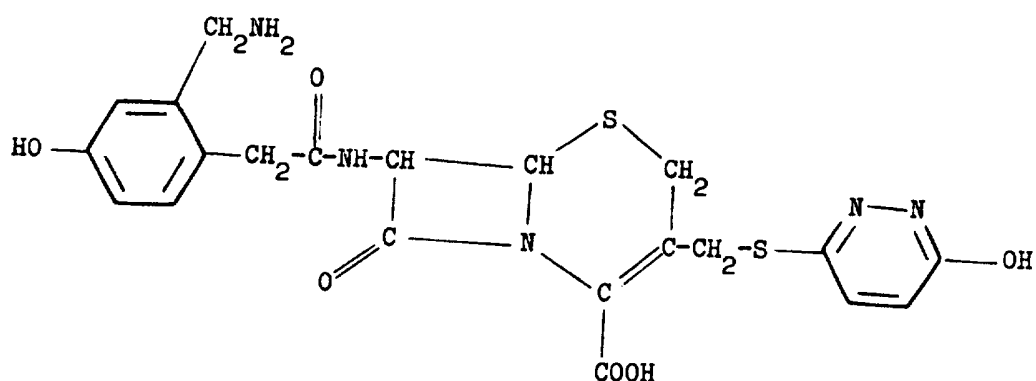
Esimerkki 5

Suspensio, jossa on 0,361 g 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa kahtaisioni-muodossa 3 ml:ssa metanolia, jäädytetään jäässä ja siihen tiputetaan väkevää suolahappoa kunnes syntyy kirkas liuos. Kun lisätään eetteriä, 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappohydrokloridi saostuu vaaleanruskeana sakkana, joka suodatetaan talteen ja kuivataan vakuumissa P_2O_5 :n yllä.

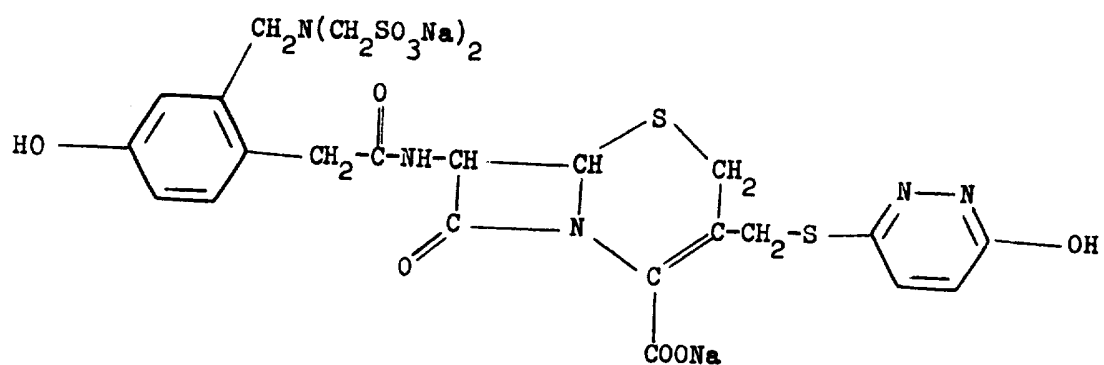
Esimerkki 6

Sekoitettuun suspensioon, jossa on 0,361 g 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa lisätään 1N natriumhydroksidin vesiliuosta huoneenlämpötilassa kunnes syntyy kirkas liuos (pH 10,8). Liuos kylmäkuivataan välittömästi ja saadaan kiinteätä, epäpuhdasta natrium-7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaattia.

Esimerkki 7



1. Kuumennetaan vedessä
2. Käsitellään aktiivihieilellä ja suodatetaan
3. Suodos lisätään vedettömään alkoholiin



Menettely:

Pannaan 2,0 moolia (noin 1010 g vedettömänä laskettuna) 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifynyyliasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyyliliappoa, 540 g natriumformaldehydibisulfiittia (4,03 moolia), 3000 ml vettä ja 2700 ml (4,87 moolia) natrium-2-etyyliheksanoaatin (SEH) 30 % asetoniliuosta sopivaan säiliöön, ja seos kuumennetaan 40-45°C:een samalla sekoittaen. Liukeneminen tapahtuu noin 10 minuutissa ja syntyy keltainen liuos. 15 minuutin lämmityksen jälkeen lisätään 50 g aktiivihiihtä ("Darco KB") ja sekoitetaan vielä 15 minuuttia 40-45°C:ssa. Kun reaktioseosta on sekoitettu kaikkiaan 30 minuuttia 40-45°C:ssa, se suodatetaan piimaan ("Dicalite") läpi. Hiilikerros pestään 2000 ml:lla etanoli-vesiseosta (50 %). Suodokset yhdistetään, lämpötila säädetään 25°C:een ja liuos lisätään 25°C:ssa 112 litraan tehokkaasti sekoitettua 100 % etanolia. Natrium-7-(o-aminometyyli-p-hydroksifynyyliasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatin di(natriummetaanisulfonaatti) muodostaa hienojakeisen, valkoisen amorfisen sakan. Suspensiota sekoitetaan noin 10 minuuttia, jonka jälkeen se suodatetaan ja sakka pestään 15 litralla 100 % etanolia. Sakkaa kuivataan uunissa 50-55°C:ssa kiertävällä ilmalla noin 2 tuntia ja sen jälkeen vakuuissa 4-6 mm paineessa 24 tuntia. Amorfista, valkoista, kiinteätä natrium-7-(o-aminometyyli-p-hydroksifynyyliasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) saadaan noin 1200-1400 g. Tuote sisältää tavallisesti useita prosentteja vettä ja mahdollisesti jäänteitä etanolista. Tuotteen nimi on myös natrium-7-(o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyyli-p-hydroksifynyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatti.

Esimerkki 8

Valmistetaan liete, joka sisältää 2,19 g (2 ekvivalenttia) natriumformaldehydibisulfiittia, 3,5 g 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifynyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyyliliapon kahtaisionia (100-200 mesh), 25 ml vettä (tilavuutta voidaan muuttaa) ja 14 ml 30 % SEH-isopropanolia. Liukeneminen tapahtuu lähes täydellisesti, kun sekoitetaan tehokkaasti 0,5 tuntia 24°C:ssa. Seoksen lämpötila nostetaan nopeasti 40-43°C:een. Lämpötila pidetään tässä noin kaksi minuuttia, jonka jälkeen se lasketaan nopeasti 20-23°C:een. Liukenematon aine poistetaan suodattamalla (liuoksessaolon kokonaisaika ei saisi ylittää kahta tuntia). Liuos, jonka pH on 7,3, lisätään 5 minuutin kuluessa 600 ml:aan hyvin tehokkaasti sekoitettua absoluuttista etano-

lia (myös muita alkoholeja kuten vedetöntä isopropanolia voidaan käyttää). Syntyy natrium-7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) amorfisena sakkana. Seosta sekoitetaan 5 minuuttia. Sakka suodatetaan talteen, pestään 60 ml:lla etanolia (tai isopropanolia) ja kuivataan 24 tunnin aikana 50°C:ssa vakuuissa. Saanto on noin 4,3 g). Tuotteen liukenevuus veteen noin pH 7:ssä on vähintään 200 mg/ml. Tällainen liuos pysyy huoneenlämpötilassa vähintään 2 tuntia, laimeimmat liuokset ovat pysyvämpiä. Tuotteella on sama bakteerispektri kuin vastaavalla kahtaisionilla ja se on täysin biologisesti aktiivinen hydrolysoidaan se sitten takaisin kahtaisioniksi tai ei.

Esimerkki 9

Natrium-7-(o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus hydroksimetaanisulfonaatista.

Seosta, jossa on 2,05 mmoolia 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapon kahtaisionia, 1,56 g (10 mmoolia) natriumhydroksimetaanisulfonaattimonohydraattia, 6 ml (6 mmoolia) 1 M SEH:n etyyliasetaattiliuosta, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 3,5 tuntia. Kun syntynyt seos käsitellään 1 g:lla aktiivihieletä, kaadetaan sekoittaen 300 ml:aan absoluuttista etanolia ja sekoitusta jatketaan huoneenlämpötilassa 30 minuuttia, saadaan kiteinen tuote, joka suodatetaan talteen, pestään absoluuttisella etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan P₂O₅:n yllä 45-52°C/1 mm 20 tuntia, jolloin saadaan noin 1,5 g natrium-7-(o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaattia, joka liukenee helposti veteen (>1 g/ml).

Esimerkki 10

Natrium-7-(o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus käyttämällä formaliinia ja natriumbisulfiittia.

(a) Liuokseen, jossa on 1 ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia ja 1 g natriumbisulfiittia 10 ml:ssa vettä, lisätään perättäisesti 2 mmoolia 7-(o-aminometyyli-p-hydroksifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapon kahtaisionia, 6 ml 1M SEH-liuosta ja 10 ml isopropanolia. Seosta sekoitetaan 2,5 tuntia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen se kaadetaan 300 ml:aan

etanolia. Syntynyt natrium-7-($\text{O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyyli-p-hydroksifenyliasetamido}$)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karboksy-laatti suodatetaan talteen, pestään etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan vakuu-missa. Saanto on noin 1,5 g.

(b) Seokseen, jossa on 2 mmoolia 7-($\text{o-aminometyyli-p-hydroksifenyliasetami-do}$)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon kahtais-iona, 6 ml 1M SEH:n etyyliasetaattiliuosta, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, lisätään 1 ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia. Kun seosta sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpötilassa, saadaan kirkas liuos, jossa on hieman öljymäistä sakkaa. Kun lisätään 1 g natriumbisulfiittia ja sekoitetaan vielä 2 tuntia, liukenee öljymäinen sakka. Kun reaktioseos kaadetaan 300 ml:aan etanolia tehokkaasti sekoit-taen, saadaan noin 1,8 g natrium-7-($\text{O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)-aminometyyli-p-hydroksifenyliasetamido}$)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaattia sakkana, joka suodatetaan talteen, pestään etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan vakuuissa.

Esimerkki 11

A. 7-($\text{o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliitioasetamido}$)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo.

Liukseen, jossa oli 2,19 g (4,7 mmoolia) 2,4 dinitrofenyyli($\text{o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliitio}$)asetaatia 50 ml:ssa tetrahydro -furaania, lisättiin 0°C :ssa liuos, jossa oli 1,02 g (3 mmoolia)-7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, 0,85 ml tri-etyyliamiinia, 50 ml tetrahydrofuraania ja 20 ml vettä. Reaktioseosta sekoit-tettiin huoneenlämpötilassa 17 tuntia, jonka jälkeen se käsiteltiin aktiivihiilellä ja suodatettiin. Tetrahydrofuraani haihdutettiin pois vakuuissa ja konsentraatti pestiin eetterillä (5x100 ml). Vesiliuos kerrostettiin 100 ml:lla etyyliasetaatia ja tehtiin happamaksi (pH 2) laimealla suolahapolla 0°C :ssa voimakkaasti sekoittaen. Vesikerros uutettiin etyyliasetaatilla (3x100 ml). Orgaaninen kerros yhdistettiin etyyliasetaatiiuutteisiin, kuivattiin vedettö-mällä natriumsulfaatilla ja käsiteltiin aktiivihiilellä. Kun suodos haihdu-tettiin alipaineessa 30°C :ssa, saatiin öljymäinen tuote, joka hierrettiin 100 ml:lla eetteriä ja saatiin 7-($\text{o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylife-nyyliitioasetamido}$)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliometyyli)-3-kefem-4-karbok-syylihappoa vaaleankeltaisena kiinteänä aineena. Kun sakka suodatettiin talteen ja pestiin 100 ml:lla eetteriä, saatiin 0,71 g

(38 %) 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa.

B. 7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

0,50 g (0,8 mmoolia) 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa sekoitettiin yhdessä erässä 3 ml:aan trifluorietikkahappoa 0°C:ssa. Sekoitusta jatkettiin tunti 0-5°C:ssa. Kun lisättiin 100 ml eetteriä, syntyi valkoinen sakka. Sakka kerättiin talteen suodattamalla ja suspendoitiin 4 ml:aan vettä huoneenlämpötilassa. Suspension pH säädettiin laimealla ammoniumhydroksidilla arvoon 5. Kun sakka suodatettiin talteen, saatiin 7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ruskeana pulverina, joka pestiin perättäisesti vedellä ja asetonitriilillä ja kuivattiin vakuu-
missa fosforipentoksidin yllä. Tuote painoi 220 mg (52 %), sp. 200-210°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$ maks 1770, 1670, 1580, 1210 cm^{-1}

UV: λ maks $\frac{1\% \text{ NaHCO}_3}{\text{maks}}$ 250 nm (ϵ 20800), 270 nm (ϵ 14900)

Analyysi $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_3 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

laskettu C 44,67 H 4,64 N 12,40 S 17,04

löydetty C 44,43 H 3,85 N 10,84 S 17,89.

Esimerkki 12

A. 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Jäähdytettyyn liuokseen, jossa oli 1,85 g (4 mmoolia) 2,4-dinitrofenyyli (o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitio)asetaatia (valmistettu kuten Yhdysvaltain patenttijulkaisussa no. 3 657 232) 50 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin 0°C:ssa liuos, jossa oli 1,02 g (3 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 0,85 ml (noin 6 mmoolia) trietyyliamiinia seoksessa, jossa oli 30 ml tetrahydrofuraania, 30 ml asetonitriiliä ja 50 ml vettä. Seoksen lämpötilan annettiin kohota huoneenlämpötilaan hitaasti, jonka jälkeen seosta sekoitettiin 12 tuntia. Reaktioseos käsiteltiin pienellä määrällä aktiivihieletä ja suodatettiin. Orgaaninen liuotin haihdutettiin suodoksesta vakuuissa alle 35°C:ssa. Syntynyt vesiliuos pestiin hyvin eetterillä (4 x 30 ml), peitettiin 50 ml:lla etyyliasetaatia ja liuokseen sekoitettiin 0-5°C:ssa laimeata suolahappoa niin, että pH laski arvoon 3. Sakka, joka

ilmestyi kerrosten välille, suodatettiin talteen. Sakka painoi 0,6 g. Kyseessä oli haluttu 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo. Lisää tuotetta saatiin kaksi kerrosta käsittävästä suodoksesta. Vesikerros uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 100 ml). Orgaaninen kerros yhdistettiin orgaanisiin uutteisiin, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja haihdutettiin kuiviin. Jäännös pestiin hyvin 100 ml:lla eetteriä ja kuivattiin vakuuissa fosforipentoksidilla. Tuote painoi 0,42 g. 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa saatiin yhteensä 1,02 g (55 %), sp. 150-160°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$ maks 1770, 1690, 1590, 1535, 1175 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{maks}}^{1\% \text{ NaHCO}_3}$ 250 nm (ϵ 21700), 270 nm (sh) (ϵ 15500)

Analyysi: $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_3 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

laskettu C 49,67 H 4,97 N 11,13 S 15,30

löydetty C 49,95 H 4,60 N 10,70 S 15,52.

B. 7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Seosta, jossa oli 0,98 g (1,58 mmoolia) butoksikarbonyylisuo-jattua kefa-losporiinia, 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, ja 4 ml tri-fluorietikkahappoa, sekoitettiin 0°C:ssa yksi tunti. Kun lisättiin 100 ml eette-riä, saatiin valkoinen sakka, joka suodatettiin talteen ja pestiin 100 ml:lla eetteriä. Kun sakka suspendoitiin 10 ml:aan vettä ja pH säädettiin laimealla ammoniakilla arvoon 5, saatiin haluttu kefalosporiini, 7-(o-aminometyylifenyyli-tioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyyli-happo, joka suodatettiin talteen, pestiin 50 ml:lla asetonitriiliä ja kuivattiin vakuuissa. Saanto oli 0,46 g (56 %). Tuote oli denttinen (IR) esimerkissä 11 saadun tuotteen kanssa.

Esimerkki 13

7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipirimidin-6-yyli-tio-metyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Sekoitettuun suspensioon, jossa on 2,1 mmoolia natrium-o-(1-etokskarbo-nyyli-1-propen-2-yyliaminometyyli)fenyyilitioasetaatia, 5 ml kuivaa asetonitrii-liä ja yksi tippa N,N-dimetyylibentsyyliamiinia, sekoitetaan -15°C:ssa 0,25 g (2,3 mmoolia) etyylikloroformaattia ja sekoitusta jatketaan 20 minuuttia -15°C:ssa.

Seokseen lisätään yhdessä erässä liuos, jossa on 0,71 g (2,1 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 0,21 g (2,1 mmoolia) trietyyliamiinia 3 ml:ssa asetonitriiliä ja 3 ml:ssa vettä, ja seosta sekoitetaan tunti 0°C:ssa. Reaktioseos käsitellään pienellä määrällä aktiivihiiltä ja suodatetaan. Suodokseen lisätään 0,5 ml muurahaishappoa ja ravistellaan ja reagoimaton 7-amino-3-(3-hydroksipyrimidin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo suodatetaan pois. Suodokseen lisätään 100 ml asetonitriiliä ja seoksen annetaan seisoa huoneenlämpötilassa yksi tunti. Kun sakka suodatetaan talteen, pestään 100 ml:lla vettä ja kuivataan vakuuissa, saadaan 0,4 g 7-(o-aminometyylifenyyliitiioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa.

Esimerkki 14

7-o-aminometyylifenyyliitiioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Litran kolmikaulaiseen pyörökolviin, johon on asetettu kuivausputki, sekoittaja ja lämpömittari, pannaan 0,08 moolia huolellisesti hienonnettua kalium-o-(1-karbometoksiipropen-2-yyliaminometyyli)fenyyliitiioasetaatia 350 ml:aan kuivaa tetrahydrofuraania, jossa on 4 tippaa N,N-dimetyylibentsyyliamiinia. Suspensiota sekoitetaan tehokkaasti ja jäähdytetään -40°C:een asetoni-kuivajääkylvyssä. Suspensioon lisätään yhdellä kertaa 13,6 g (0,06 moolia) isobutyliklooriformaatia ja lämpötila pidetään koko ajan alle -35°C:ssa. 2,5 minuutin kuluttua poistetaan asetoni-kuivajääkylpy ja lisätään liuos, jossa on 0,036 moolia 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 5,04 g (0,050 moolia) N-metyylimorfoliinia 250 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitetaan kunnes sen lämpötila saavuttaa huoneenlämpötilan (1-2 tuntia). Tetrahydrofuraani poistetaan alipaineessa. Vesiliuos kerrostetaan 100 ml:lla etyyliasetaatia ja tehdään happamaksi (pH 1,7-2,0) väkevällä suolahapolla. Seos käsitellään 3,5 g:lla aktiivihiiltä ("Darco KB") ja suodatetaan. Kerrokset erotetaan ja vesikerros uutetaan etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Vesikerros suodatetaan suodatinpaperin läpi ja pH säädetään arvoon 4,0. Rasputuksen jälkeen liuos jätetään yön ajaksi 5-7°C:een kiteytymään. Tuote suodatetaan talteen, pestään pienellä määrällä vettä ja kuivataan vakuuieksikaattorissa P₂O₅:llä. 7-o-aminometyylifenyyliitiioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon saanto on noin 30 %.

Esimerkki 15

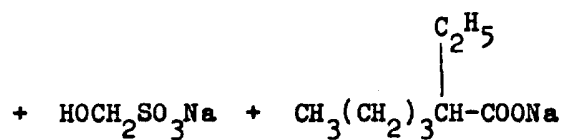
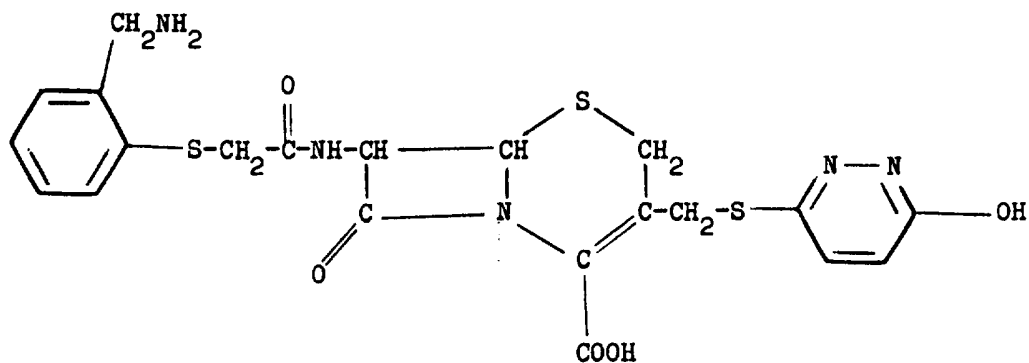
Suspensio, jossa on 0,361 g 7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa kahtaisionimuo-
dossa 3 ml:ssa metanolia, jäädytetään jäässä ja lisätään tiputtamalla väkevää
suolahappoa kunnes saadaan kirkas liuos. Kun lisätään eetteriä, 7-(o-aminometyyli-
fenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karbok-
syylihappohydrokloridi saostuu vaaleanruskeana kiinteänä aineena, joka suodate-
taan talteen ja kuivataan P_2O_5 :llä.

Esimerkki 16

Sekoitettuun suspensioon, jossa on 7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-
3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa (0,361 g)
lisätään 1N natriumhydroksidin vesiliuosta huoneenlämpötilassa kunnes syntyy
kirkas liuos (pH 10,8). Kun tämä liuos kylmäkuivataan välittömästi, saadaan
epäpuhdasta natrium-7-(o-aminometyylifenyyilitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridat-
sin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaattia.

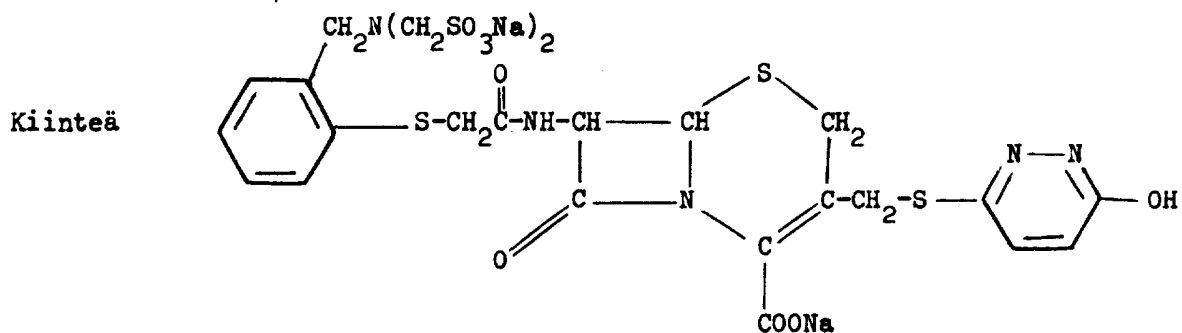
Dimetaanisulfonaatin valmistus

Esimerkki 17



(30% 30 % SEH:n asetoniliuos)

1. Kuumennetaan vedessä
2. Käsitellään aktiivihieilellä ja suodatetaan
3. Lisätään suodos vedettömään alkoholiin



Menettely:

Pannaan 2,0 moolia (noin 1020 g vedettömänä laskettuna) 7-(o-aminometyyli-fenyyli)litioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli)tiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappoa, 540 g natriumformaldehydibisulfiittia (4,03 moolia), 3000 ml vettä ja 2700 ml (4,87 moolia) 30 % SEH:n (natrium-2-etyyliheksanoaatin) asetoniliuosta sopivaan säiliöön ja seos kuumennetaan 40-45°C:een samalla sekoittaen. Liukeneminen tapahtuu noin 10 minuutissa ja syntyy keltainen liuos. 15 minuutin lämmityksen jälkeen lisätään 50 g aktiivihiihtä ("Darco KB") ja sekoitusta jatketaan vielä 15 minuuttia 40-45°C:ssa. Kun reaktioseosta on sekoitettu 40-45°C:ssa kaikkiaan 30 minuuttia, se suodatetaan piimaan läpi ("Dicalite"). Hiilikerros pestään 2000 ml:lla 50 % etanoli-vesiseosta. Suodokset yhdistetään, lämpötila säädetään 25°C:een ja liuos lisätään 25°C:ssa 112 litraan tehokkaasti sekoitettua 100 % etanolia. Syntyy natrium-7-(o-aminometyylifenyyli)litioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli)tiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) hienojakoisena, valkoisena, amorfisena sakkana. Suspensiota sekoitetaan noin 10 minuuttia, jonka jälkeen se suodatetaan ja sakka pestään 15 litralla 100 % etanolia. Sakkaa kuivataan ensin uunissa 50-55°C:ssa kiertävällä ilmalla 2 tuntia ja sitten vakuumissa (4-6 mm) 24 tuntia. Amorfista, valkoista, kiinteätä natrium-7-(o-aminometyylifenyyli)litioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli)tiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) saadaan noin 1200 - 1400 g. Tuote sisältää tavallisesti useita prosentteja vettä ja mahdollisesti hieman etanolia. Tuote on myös nimeltään natrium-7-(o-N,N-bis-(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyli)litioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli)tiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti.

Esimerkki 18

Valmistetaan liete, jossa on 2,19 g (2-ekvivalenttia) natriumformaldehydibisulfiittia, 3,5 g 7-(o-aminometyylifenyyli)litioasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli)tiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappoa kahtaisionina (100-200 mesh), 25 ml vettä (tilavuutta voidaan muuttaa) ja 14 ml 30 % SEH:n isopropanoliliuosta. Kun sekoitetaan tehokkaasti noin 0,5 tuntia 24°C:ssa, tapahtuu liukeneminen lähes täydellisesti. Seoksen lämpötila kohotetaan nopeasti 40-43°C:een. Lämpötila pidetään tässä noin 2 minuuttia, jonka jälkeen jäädytetään nopeasti 20-23°C:een. Liukenematon aine poistetaan liuoksesta suodattamalla (liuoksessa olon kokonaisaika ei saisi ylittää kahta tuntia). Liuos (pH 7,3) lisätään 5 minuutin aikana 600 ml:aan hyvin tehokkaasti sekoitettua absoluuttista etanolia (muita alkoholeja kuten isopropanolia voidaan käyttää). Syntyy natrium-7-(o-aminometyylifenyyli)litio-

asetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) amorfisena sakkana. Seosta sekoitetaan 5 minuuttia. Sakka suodatetaan talteen, pestään 60 ml:lla etanolia (tai isopropanolia) ja vakuumikuivataan 50°C:ssa 24 tunnissa. Saanto on noin 4 g. Tuotteen liukenevuus veteen pH 7:ssä on vähintään 200 mg/l. Tämä liuos pysyy huoneenlämpötilassa vähintään 2 tuntia, laimeammat liuokset ovat säilyvämpiä. Tuotteella on sama bakteerispektri kuin vastaavalla kahtaisionilla ja se on täysin biologisesti aktiivinen hydrolysoituu se sitten takaisin kahtaisioniksi tai ei.

Esimerkki 19

Natrium-7-(O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus hydroksimetaanisulfonaatista.

Seosta, jossa on 2,05 mmoolia 7-(o-aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapon kahtaisionia, 1,56 g (10 mmoolia) natriumhydroksimetaanisulfonaatinmonohydraattia, 6 ml (6 mmoolia) 1M SEH:n etyyliasetaattiliuosta, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 3,5 tuntia. Kun syntynyt liuos käsitellään 1 g:lla aktiivihieletä ja sekoitetaan 300 ml:aan absoluuttista etanolia ja syntynyttä seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 30 minuuttia, saadaan kiteinen tuote, joka suodatetaan talteen, pestään absoluuttisella etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan P₂O₅:llä (45-52°C/1 mm) 20 tunnissa ja saadaan natrium-7-(O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)-aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaattia, joka on hyvin vesiliukoista (>1 g/ml).

Esimerkki 20

Natrium-7-(O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus käyttämällä formaliinia ja natriumbisulfiittia.

(a) Liuokseen, jossa on 1 ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia ja 1 g natriumbisulfiittia 10 ml:ssa vettä, lisätään järjestyksessä 2 mmoolia 7-(o-aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-5-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapon kahtaisionia, 6 ml 1M SEH-liuosta ja 10 ml isopropanolia. Seosta sekoitetaan 2,5 tuntia huoneenlämpötilassa ja se kaadetaan 300 ml:aan etanolia. Syntynyt natrium-7-(O-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyylitioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti suodatetaan talteen, pestään etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan vakuuissa.

(b) Seokseen, jossa on 2 mmoolia 7-(o-aminometyylifenyyli-tioasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon kahtaisionia, 6 ml 1M SEH:n etyyliasetaatia, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, lisätään 1 ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia. Kun seosta sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpötilassa, saadaan kirkas liuos, jossa on pieni määrä öljymäistä sakkaa. Kun lisätään 1 g natriumbisulfiittia ja liuosta sekoitetaan 2 tuntia, öljymäinen sakka liukenee. Kun reaktioseos kaadetaan 300 ml:aan etanolia tehokkaasti sekoittaen, saadaan kiinteätä natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyli-tioasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaattia, joka suodatetaan talteen, pestään etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivataan vakuu-
missa.

Esimerkki 21

A. 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo.

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 1,9 g (3,75 mmoolia) 2,4-dinitrofenyyli-o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetaatia 15 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin 0°C:ssa yhdessä erässä, jäähdytetty liuos, jossa oli 1,14 g (3,3 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 0,62 g (6,6 mmoolia) trietyyliamiinia 15 ml:ssa asetonitriiliä ja 5 ml:ssa vettä. Reaktioseoksen lämpötilan annettiin nousta hitaasti huoneenlämpötilaan ja seosta sekoitettiin yön yli. Orgaaninen liuotin haihdutettiin pois alipaineessa alle 30°C:ssa ja jäljelle jäänyt vesiliuos pestiin eetterillä (3 x 10 ml). Vesikerros peitettiin 20 ml:lla etyyliasetaatia ja seoksen pH laskettiin arvoon 2,5 sekoittamalla siihen laimeata suolahappoa ja orgaaninen kerros erotettiin. Vesikerros uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 100 ml). Kun uuton aikana syntynyt orgaaninen aine suodatettiin talteen ja pestiin pienellä määrällä vettä, saatiin 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa vaaleankeltaisena jauhana (0,30 g) (A). Yhdistetyt orgaaniset uutteen käsiteltiin pienellä määrällä aktiivihieiltä ja suodatettiin. Kun suodos kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja liuotin haihdutettiin, saatiin öljymäinen aine, joka pestiin hyvin 50 ml:lla eetteriä ja saatiin 0,59 g 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa vaaleankeltaisena jauhana (B). Sekä A:lla että B:llä oli sama IR-spektri. Kokonaissaanto oli 0,89 g (46 %), sp. 160-170°C (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$
maks 1780, 1710, 1690, 1680, 1530 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{maks}}^{1\% \text{ NaHCO}_3}$ 3 NaHCO nm (ϵ 18400)

NMR δ_{DMSO}
ppm 1,35 (9H, s), 3,55 (2H, s), 4,02 (2H, s), 3,3-4,7 (5H, ei ilmene hyvin), 4,95 (1H, d, 4Hz), 5,50* (1H, d-d, 9, 4Hz), 6,64 (1H, d, 10 Hz), 7,04 (4H, s), 7,18 (1H, d, 10 Hz), 8,90** (1H, d, 9 Hz), 12,60** (1H, br-s). (*kaksoispiikki ($J = 4 \text{ Hz}$) kun lisätään D_2O :ta, **häipyy, kun lisätään D_2O :ta).

Analyysi $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

laskettu C 52,34 H 5,07 N 11,74 S 10,75

löydetty C 52,03 H 4,98 N 11,37 S 10,09

B. 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappo

7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappoa (500 mg, 0,87 mmoolia) sekoitettiin 0°C :ssa 3 ml:aan trifluorietikkahappoa ja sekoittamista jatkettiin vielä tunti alle 0°C :ssa. Reaktioseokseen lisättiin 100 ml eetteriä ja syntynyt sakka suodatettiin talteen. Sakka suspendoitiin 10 ml:aan vettä ja suspensioon sekoitettiin laimeata ammoniumhydroksidia niin, että pH nousi arvoon 5. Haluttu tuote, 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappo suodatettiin talteen, pestiin perättäisesti 5 ml:lla vettä ja 5 ml:lla asetonitriiliä ja kuivattiin vakuumissa fosforipentoksidilla. Sakka painoi 286 mg (67 %), sp. $222-230^\circ\text{C}$ (hajoaa).

IR: $\sqrt{\text{KBr}}$
maks 1770, 1665, 1640, 1580, 1395, 1005 cm^{-1}

UV: $\lambda_{\text{maks}}^{1\% \text{ NaHCO}_3}$ 250 nm (ϵ 18400), 270 nm (sh) (ϵ 14600)

NMR $\delta_{\text{D}_2\text{O}-\text{K}_2\text{CO}_3}$
ppm 3,70 (2H, s), 4,15 (2H, s), 3,0-4,3 (4H, ei ilmene hyvin), 4,90 (1H, d, 4 Hz), 5,45 (1H, d, 4 Hz), 6,63 (1H, d, 9 Hz), 7,15 (4H, s), 7,20 (1H, d, Hz).

Analyysi: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

laskettu C 49,02 H 4,71 N 13,61 S 12,46

löydetty C 48,66 H 4,52 N 13,04 S 12,43.

Esimerkki 22

A. 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappo

Liukseen, jossa oli 1,0 g (3,7 mmoolia) o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyylietikkahappoa ja 0,69 g (3,7 mmoolia) 8 ml:ssa kuivaa etyyliasetaatia, lisättiin yhdessä erässä 0,78 g N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä, ja seosta

sekoitettiin huoneenlämpötilassa yksi tunti. Kun erottunut disykloheksyyliurea suodatettiin pois ja suodos haihdutettiin alipaineessa, saatiin aktiivinen esteri keltaisena öljynä. Aktiivinen esteri liuotettiin 30 ml:aan tetrahydrofuraania ja jäähdytettiin 0°C:een. Liuokseen lisättiin yhdessä erässä seos, jossa oli 1,02 g (3 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, 0,85 ml trietyyliamiinia, 30 ml tetrahydrofuraania ja 10 ml vettä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 16 tuntia, jonka jälkeen se käsiteltiin aktiivihielellä. Suodos laimennettiin 50 ml:lla vettä ja pestiin eetterillä (2 x 100 ml). Vesiliuos peitettiin 100 ml:lla etyyliasetaatia ja tehtiin happamaksi (pH 2) laimealla suolahapolla käyttäen tehokasta sekoitusta 5-10°C:ssa. Vesikerros uutettiin etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Orgaaninen kerros yhdistettiin etyyliasetaatuuhteisiin, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla, käsiteltiin aktiivihielellä ja suodatettiin. Kun liuotin haihdutettiin, saatiin 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa vaaleankeltaisena, öljymäisenä kiinteänä aineena, joka hierrettiin 100 ml:lla eetteriä. Butoksikarbonyylisuojaattu tuote kerättiin talteen suodattamalla, pestiin 30 ml:lla eetteriä ja kuivatettiin vakuuissa. Tuote painoi 0,95 g (54 %).

B. 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Jäähdytettyä seosta, jossa oli 0,95 g (1,6 mmoolia) butoksikarbonyylisuojaattua kefalosporiinia, 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, ja 6 ml trifluorietikkahappoa, sekoitettiin tunti 0-5°C:ssa. Reaktioseokseen lisättiin 100 ml eetteriä ja syntynyt sakka suodatettiin talteen ja pestiin 100 ml:lla eetteriä. Sakka suspendoitiin 10 ml:aan vettä ja pH säädettiin laimealla ammoniumhydroksidilla arvoon 5. Haluttu tuote, 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo, suodatettiin talteen, pestiin 50 ml:lla asetonitriiliä ja kuivattiin vakuuissa fosforipentoksidilla. Tuotetta saatiin 0,50 g (61 %).

Esimerkki 23

A. 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Jäähdytettyyn (-3 - 0°C) ja sekoitettuun liuokseen, jossa oli 93 g 2,4-dinitrofenyyli-o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetaatia 600 ml:ssa

tetrahydrofuraania, lisättiin yhdessä erässä jäädytetty liuos, jossa oli 62 g (0,18 moolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyliihappoa ja 46 g (0,46 moolia) trietyyliamiinia 250 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli ja lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpötilaan. Seos käsiteltiin 10 g:lla aktiivihieletä ja suodatettiin. Suodos konsentroitiin noin 300 ml:aan alipaineessa alle 40°C:ssa. Konsentraatti pestiin eetterillä (5 x 200 ml) ja käsiteltiin jälleen noin 20 g:lla aktiivihieletä. Kun suodos peitetiin litralla eetteriä ja tehtiin happamaksi (pH 3,5) laimealla suolahapolla käyttäen samalla voimakasta sekoitusta, saatiin epäpuhdasta 7-(o-tert.-butoksi-karbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyliihappoa, joka suodatettiin talteen, pestiin perättäisesti 2 litralla eetteriä, 2 litralla vettä ja 0,5 litralla eetteriä. Tuote painoi 90 g.

Tuote jaettiin kahteen osaan. Toinen osa (50 g) käytettiin seuraavassa vaiheessa ilman tarkempaa puhdistusta.

Toinen osa (40 g) liuotettiin 1 litraan metanolia tumman liukenemattoman aineen poistamiseksi (3,9 g) ja suodos konsentroitiin noin 50 ml:ksi. Kun konsentraattiin lisättiin 300 ml asetonitriiliä, saatiin 17,4 g vaaleankeltaista sakkaa, joka suodatettiin talteen ja pestiin 100 ml:lla asetonitriiliä. Kun emäliuos konsentroitiin, saatiin vielä 12,5 g tuotetta.

B. 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyliihappo

(a) 50 g epäpuhdasta 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyliihappoa liuotettiin 100 ml:aan jäädytettyä trifluorietikkahappoa. Liuosta sekoitettiin 1,5 tuntia 0-5°C:ssa. Kun liuokseen lisättiin litra eetteriä, saatiin halutun kefalosporiinin trifluoriasetaattia, joka suodatettiin talteen ja pestiin 300 ml:lla eetteriä. Kun trifluoriasetaatti liuotettiin 100 ml:aan vettä ja liuoksen pH säädettiin 10 % ammoniumhydroksidilla arvoon 4, saatiin värillistä tuotetta (26,6 g), joka perättäisesti pestiin 300 ml:lla vettä ja 300 ml:lla asetonitriiliä ja kuivatettiin vakuuimissa. Kun epäpuhdas tuote liuotettiin 50 ml:aan formamidia huoneenlämpötilassa ja liuokseen lisättiin tiputtamalla 150 ml vettä, syntyi pieni määrä värillistä sakkaa, joka suodatettiin pois. Kun suodokseen lisättiin 1,5 litraa asetonitriiliä, saatiin 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyliihappoa vaaleankeltaisena jauheena. Jauhe painoi 9,8 g.

(b) Kaksi 7-(o-tert.-butoksikarbonyyliaminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappojaetta (17,4 g ja 12,5 g) käsiteltiin ylläkuvatulla tavalla ja saatiin 12,3 g haluttua 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa.

Sekä (a):n että (b):n IR-spektri ja MIC-arvot olivat lähes samat. Tuotteet yhdistettiin ja analysoitiin, jolloin sp. oli 208°C (hajoaa).

Analyyysi: $C_{21}H_{21}N_5O_5S_2 \cdot 2 \frac{1}{2} H_2O$

laskettu C 47,36 H 4,92 N 13,15 S 12,04

löydetty C 47,30, 47,56 H 4,37, 4,50 N 13,67, 13,71 S 12,38.

Esimerkki 24

7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipirimidin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Sekoitettuun suspensioon, jossa oli 0,63 g (2,1 mmoolia) natrium-o-(1-etoksikarbonyyli-1-propen-2-yyliaminometyyli)fenyyliasetaatia 5 ml:ssa kuivaa asetonitriiliä, jossa oli yksi tippa N,N'-dimetyylibentsyyliamiinia, sekoitettiin -15°C:ssa 0,25 g (2,3 mmoolia) etyyliklooriformaattia ja sekoitusta jatkettiin 20 minuuttia -10 - -15°C:ssa. Seokseen lisättiin yhdessä erässä liuos, jossa oli 0,71 g (2,1 mmoolia) 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 0,21 g (2,1 mmoolia) trietyyliamiinia 3 ml:ssa asetonitriiliä ja 3 ml:ssa vettä ja seosta sekoitettiin tunti 0°C:ssa. Reaktioseos käsiteltiin pienellä määrällä aktiivihieletä ja suodatettiin. Suodokseen lisättiin 0,5 ml muurahaishappoa ja ravisteltiin ja seoksesta suodatettiin pois pieni määrä reagoimatonta 7-amino-3-(3-hydroksipirimidin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa. Suodokseen lisättiin 100 ml asetonitriiliä ja seoksen annettiin seisoa huoneen lämpötilassa yksi tunti. Kun sakka suodatettiin talteen, pestiin 10 ml:lla vettä ja kuivattiin vakuuissa, saatiin 0,49 g (48 %) 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa, sp. 200-210°C (hajoaa).

Esimerkki 25

7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappo

Litran kolmikaulaiseen pyörökolviin, johon on asetettu kuivausputki, sekoittaja ja lämpömittari, pannaan 24,0 g (0,08 moolia) huolellisesti hienonnettua kalium-o-/1-karbometoksiipropen-2-yyliaminometyyli/fenyyliasetaatia 350 ml:aan kuivaa tetrahydrofuraania, jossa on 4 tippaa N,N'-dimetyylibentsyyliamiinia. Suspen-

siota sekoitetaan tehokkaasti ja se jäädytetään $-35 - 40^{\circ}\text{C}$:een asetoni-kuivajääkylvyssä. Suspensioon lisätään yhdessä erässä 13,6 g (0,06 moolia) isobutyliklooriformaattia ja lämpötila pidetään koko ajan alle -35°C :ssa. Asetoni-kuivajääkylpy poistetaan 2,5 minuutin kuluttua ja lisätään liuos, jossa on 0,036 moolia 7-amino-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa ja 5,04 g (0,050 moolia) n-metyylimorfoliinia 250 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitetaan kunnes sen lämpötila saavuttaa huoneenlämpötilan (1-2 tuntia). Tetrahydrofuraani poistetaan alipaineessa. Vesiliuos kerrostetaan 100 ml:lla etyyliasetaatia ja seoksen pH lasketaan arvoon 1,7-2,0 väkevällä suolahapolla. Seos käsitellään 3,5 g:lla aktiivihiltä ("Darco KB") ja suodatetaan. Kerrokset erotetaan ja vesifaasi uutetaan etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Vesifaasi suodatetaan suodatinpaperin läpi ja pH säädetään arvoon 4,0. Raaputuksen jälkeen liuos jätetään yöksi $5-7^{\circ}\text{C}$:een kiteytymään. Tuote suodatetaan talteen, pestään pienellä määrällä vettä ja kuivataan vakuuieksikaattorissa P_2O_5 :llä. 7-o-aminometyylifenyliasetamido-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon saanto on noin 30 %.

Esimerkki 26

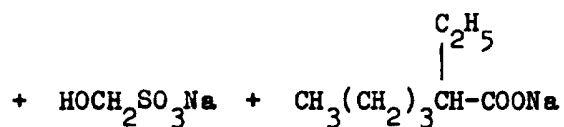
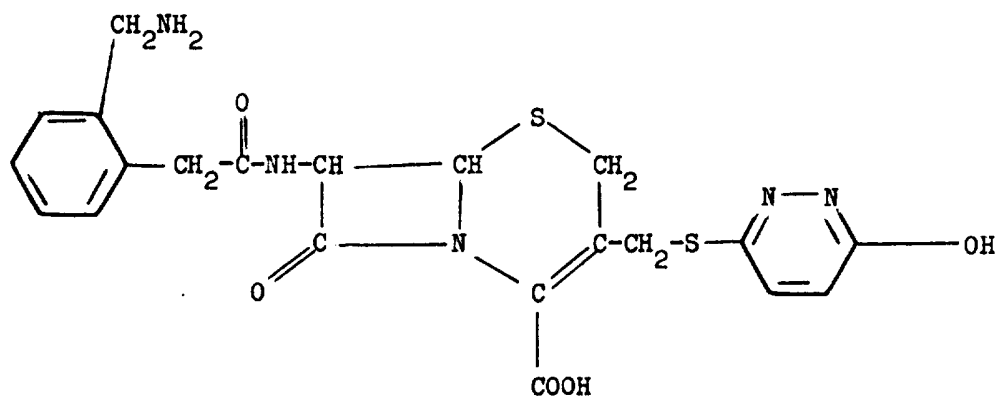
Suspensio, jossa on 7-(o-aminometyylifenyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappoa (0,361 g) 3 ml:ssa metanolia, jäädytetään jäässä ja lisätään muutamia tippoja väkevää suolahappoa kunnes syntyy kirkas liuos. 7-(o-aminometyylifenyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappohydrokloridi saostuu vaaleanruskeana kiinteänä aineena kun lisätään eetteriä, ja sakka suodatetaan talteen ja kuivataan vakuuissa P_2O_5 :llä.

Esimerkki 27

Sekoitettuun suspensioon, jossa on 0,361 g 7-(o-aminometyylifenyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon kahtaisionia, lisätään 1N natriumhydroksidin vesiliuosta huoneenlämpötilassa kunnes syntyy kirkas liuos (pH 10,8). Kun tämä liuos kylmäkuivataan välittömästi, saadaan epäpuhdasta, kiinteätä natrium-7-(o-aminometyylifenyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaattia.

Dimetaanisulfonaatin valmistus

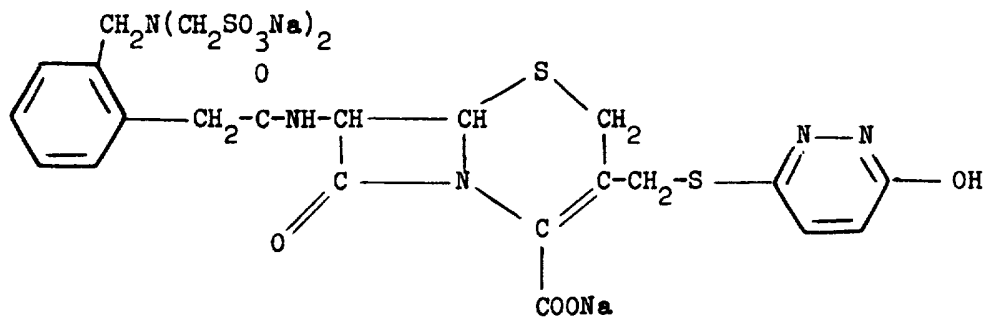
Esimerkki 28



(30% SEH:n asetoniliuos)

1. Kuumennetaan vedessä
2. Käsitellään aktiivihieillä ja suodatetaan
3. Suodos lisätään vedettömään alkoholiin

Kiinteä



Menettely:

Pannaan 2,0 moolia (noin 980 g vedettömänä laskettuna) 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihappona, 540 g natriumformaldehydibisulfiittia (4,03 moolia), 3000 ml vettä ja 2700 ml (4,87 moolia) 30 % SEH:n (natrium-2-etyyliheksanoaatin) asetoniliuosta sopivaan säiliöön ja seos lämmitetään 40-45°C:een samalla sekoittaen. Liukeneminen tapahtuu noin 10 minuutissa ja syntyy keltainen liuos. Kun reaktioseosta on kuumennettu 15 minuuttia 40-45°C:ssa, lisätään 50 g aktiivihieletä ("Darco KB") ja liuosta sekoitetaan vielä 15 minuuttia 40-45°C:ssa. Kun reaktioseosta on sekoitettu kaikkiaan 30 minuuttia 40-45°C:ssa, se suodatetaan piimaan läpi ("Dicalite"). Hiilikerros pestään 2000 ml:lla 50 % etanoli-vesiseosta. Suodokset yhdistetään, lämpötila säädetään 25°C:een ja liuos lisätään 25°C:ssa 112 litraan tehokkaasti sekoitettua 100 % etanolia. Syntyy natrium-7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) hienojakoisena, valkoisena, amorffisena sakkana. Suspensiota sekoitetaan noin 10 minuuttia, jonka jälkeen se suodatetaan ja sakka pestään 15 litralla 100 % etanolia. Sakkaa kuivataan ensin uunissa 50-55°C:ssa kiertävällä ilmalla 2 tuntia ja sitten vakuuissa (4-6 mm) 24 tuntia. Amorfista, valkoista, kiinteätä natrium-7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) saadaan noin 1200-1400 g. Tuote sisältää tavallisesti useita prosentteja vettä ja mahdollisesti hieman etanolia. Tuote on myös nimeltään natrium-7-(o-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatti.

Esimerkki 29

Valmistetaan liete, jossa on 2,19 g natriumformaldehydibisulfiittia (2 ekvivalenttia), 3,5 g 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliotiometyyli)-3-kefem-4-karboksylihapon kahtaisiona (100-200 mesh), 25 ml vettä (tilavuutta voidaan muuttaa) ja 14 ml 30 % SEH:n isopropanoliliuosta. Kun sekoitetaan tehokkaasti 0,5 tuntia 24°C:ssa, tapahtuu liukeneminen lähes täydellisesti. Seoksen lämpötila kohotetaan nopeasti 40-43°C:een. Lämpötila pidetään tässä noin 2 minuuttia, jonka jälkeen jäädytetään nopeasti 20-23°C:een. Liukenematon aine poistetaan liuoksesta suodattamalla (liuoksessa olon kokonaisaika ei saisi ylittää kahta tuntia). Liuos (pH 7,3) lisätään 5 minuutin aikana 600 ml:aan hyvin tehokkaasti sekoitettua absoluuttista etanolia (muuta alkoholeja kuten isopropanolia voidaan käyttää). Syntyy natrium-7-(o-aminometyylifenyyli-

asetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin di(natriummetaanisulfonaattia) amorfisena sakkana. Seosta sekoitetaan 5 minuuttia. Sakka suodatetaan talteen, pestään 60 ml:lla etanolia (tai isopropanolia) ja vakuumikuivataan 50°C:ssa 24 tunnissa. Saanto on noin 4,3 g. Tuotteen liukenevuus veteen pH 7:ssä on vähintään 200 mg/ml. Tämä liuos pysyy huoneenlämpötilassa vähintään 2 tuntia, laimeammat liuokset ovat säilyvämpiä. Tuotteella on sama bakteerispektri kuin vastaavalla kahtaisionilla ja se on täysin biologisesti aktiivinen hydrolysoituu se sitten takaisin kahtaisioniksi tai ei.

Esimerkki 30

Natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus hydroksimetaanisulfonaatista.

Seosta, jossa oli 1 g (2,05 mmoolia) 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatin kahtaisionia, 1,56 g (10 mmoolia) natriumhydroksimetaanisulfonaattimonohydraattia, 6 ml (6 mmoolia) 1 M SEH:n etyyliasetaattiliuosta, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, sekoitettiin huoneenlämpötilassa 3,5 tuntia. Kun syntynyt liuos käsiteltiin 1 g:lla aktiivihieletä ja sekoitettiin 300 ml:aan absoluuttista etanolia ja syntynyttä seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia, saatiin kiteinen tuote, joka suodatettiin talteen, pestiin absoluuttisella etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivatettiin P₂O₅:llä (45-52°C/1 mm) 20 tunnissa ja saatiin 1,64 g natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaattia, joka on hyvin vesiliukoista (ξ 1 g/ml), sp. 7 270°C.

IR: $\begin{matrix} \text{KBr} \\ \text{maks} \end{matrix}$ 1760, 1680-1620, 1580, 1400, 1200, 1040 cm⁻¹

UV: $\lambda_{\text{maks}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 249 nm (ξ 14900), 272 nm (ξ 10900, sh), 320 nm (ξ 2100, sh).

NMR: $\int_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O}}$ 3,30-4,0 (6H, m S-CH₂, Ø-CH₂-CO ja Ø-CH₂-N tai 3-CH₂-S), 4,04 (2H, s, N-CH₂-Ø tai 3-CH₂-S), 4,30 (4H, s, N-CH₂-SO₃Na) 4,89 (1H, d, 4Hz, 6-H), 5,40 (1H, d, 4Hz, 7-H), 6,78 (1H, d, 9,5 Hz, pyridatsiini-H), 7,1-7,4 (4H, fenyyli-H), 7,32 (1H, d, 9,5 Hz, pyridatsiini-H).

Esimerkki 31

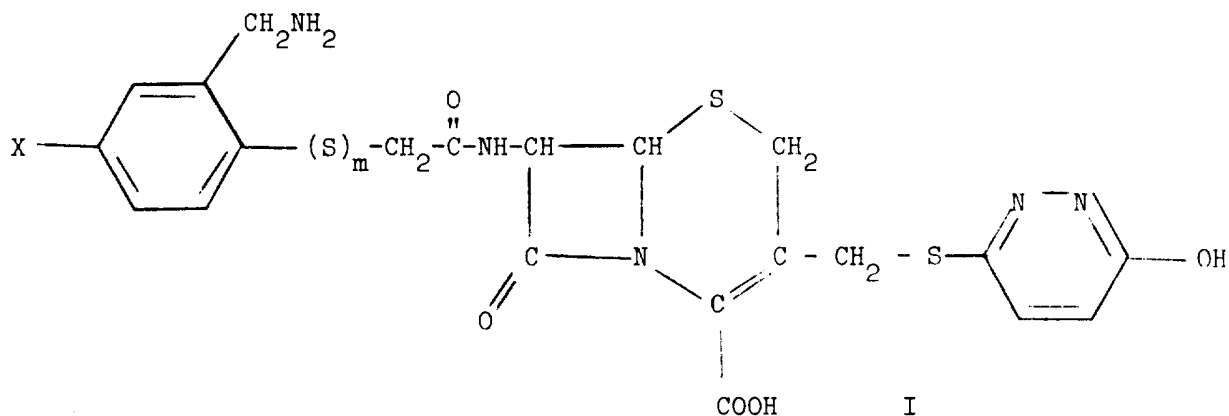
Natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyllitiometyyli)-3-kefem-4-karboksylaatti. Valmistus käyttämällä formaliinia ja natriumbisulfiittia.

a) Liuokseen, jossa oli ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia ja 1 g natriumbisulfiittia 10 ml:ssa vettä, lisättiin perättäisesti 0,975 g (2 mmoolia) 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon kahtaisionia, 6 ml 1M SEH-liuosta ja 10 ml isopropanolia. Seosta sekoitettiin 2,5 tuntia huoneenlämpötilassa ja se kaadettiin 300 ml:aan etanolia. Syntynyt natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaatti suodatettiin talteen, pestiin etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivattiin vakuumissa. Saanto oli 1,6 g.

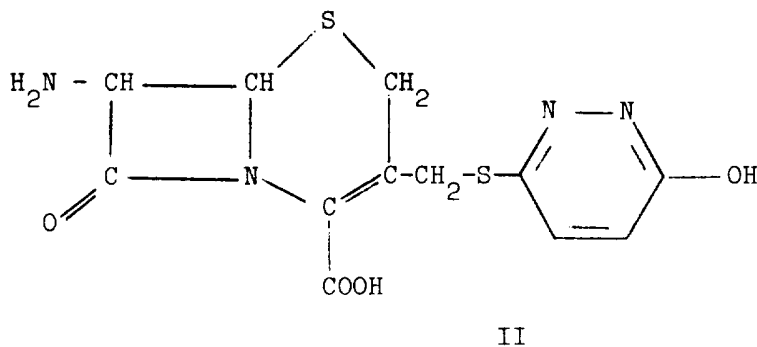
b) Seokseen, jossa oli 0,975 g (2 mmoolia) 7-(o-aminometyylifenyyliasetamido)-3-(3-hydroksipyratsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihapon kahtaisionia, 6 ml 1M SEH etyyliasetaatissa, 10 ml isopropanolia ja 10 ml vettä, lisättiin 1 ml (10 mmoolia) 30 % formaliinia. Kun seosta sekoitettiin 2 tuntia huoneenlämpötilassa, syntyi kirkas liuos, jossa oli pieni määrä öljymäistä sakkaa. Kun lisättiin 1 g natriumbisulfiittia ja liuosta sekoitettiin vielä 2 tuntia, liukeni öljymäinen sakka. Kun reaktioseos kaadettiin 300 ml:aan etanolia tehokkaasti sekoittaen, saatiin 1,84 g natrium-7-[o-N,N-bis(natriumsulfometyyli)aminometyylifenyyliasetamido]-3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyliitiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylaattia, joka suodatettiin talteen, pestiin etanolilla (3 x 50 ml) ja kuivattiin vakuumissa.

Patenttivaatimus:

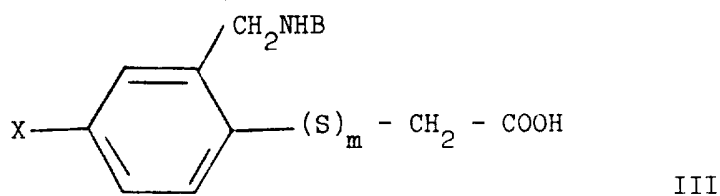
Menetelmä antibakteeristen 7-substituoitujen 3-(3-hydroksipyridatsin-6-yyli-tiometyyli)-3-kefem-4-karboksyylihappojen valmistamiseksi, joiden kaava on



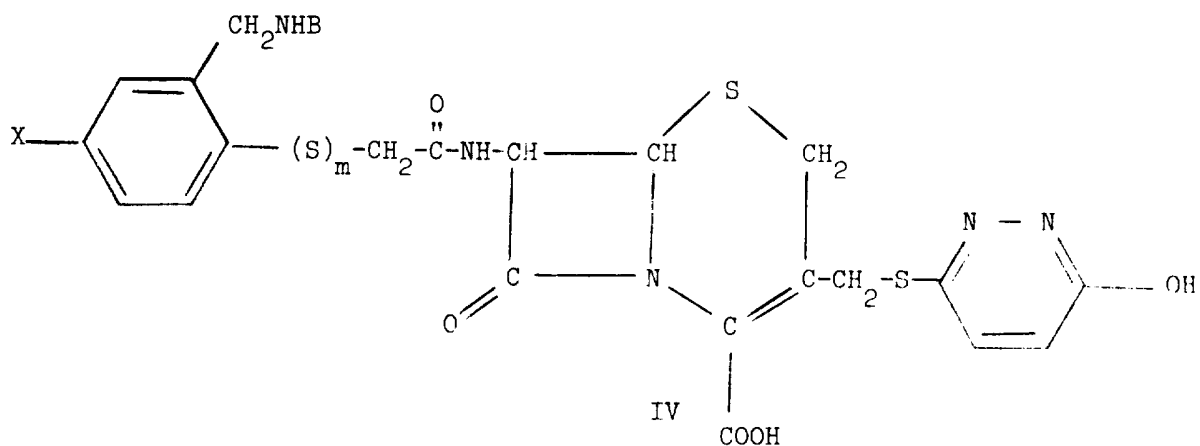
jossa X on H tai OH ja m on 0 tai 1, edellyttäen että m on 0, kun X on OH, sekä näiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, tunnettua siitä, että saatetaan yhdiste, jonka kaava on



tai tämän suola reaktioon asylointijohdannaisen kanssa, jonka kaava on



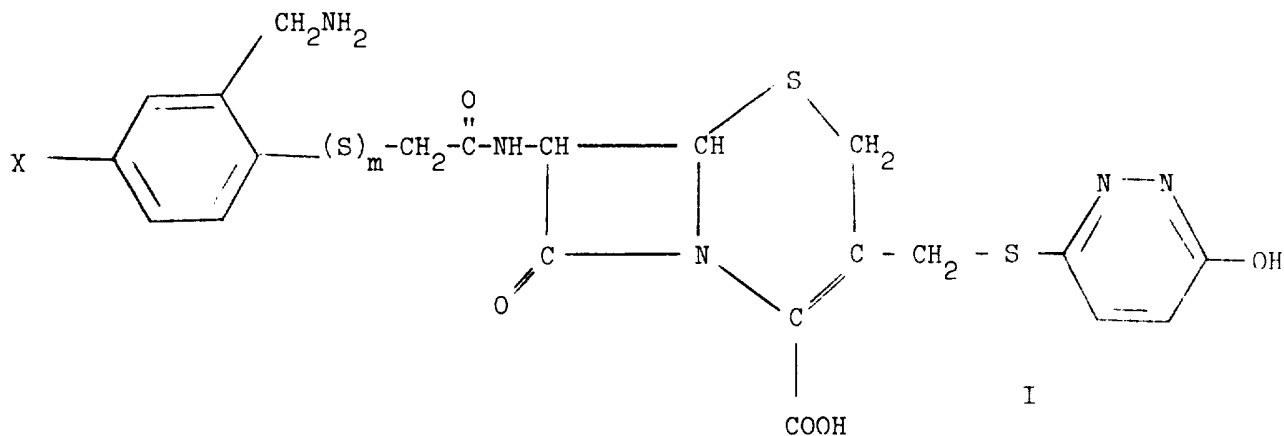
jossa B esittää aminosuojaryhmää ja m sekä X ovat samat kuin yllä, jolloin saadaan tuotteeksi yhdiste, jonka kaava on



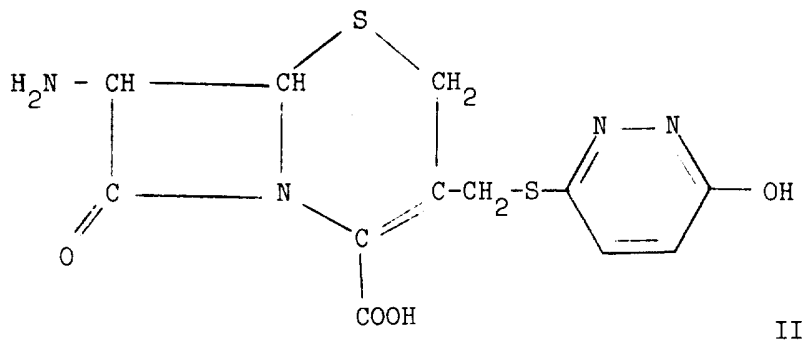
jossa B, X ja m ovat samat kuin yllä, tai tämän suola, ja tämän jälkeen amino-suojaryhmä poistetaan ja saadaan haluttu kaavan I mukainen yhdiste tai sen myrkyvaikutukseton, farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Patentkrav:

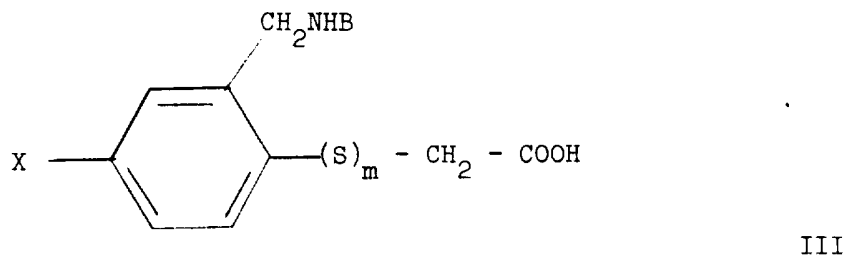
Förfarande för framställning av antibakteriska 7-substituerade 3-(3-hydroxypyridazin-6-yltiometyl)-3-cefem-4-karboxylsyror med formeln



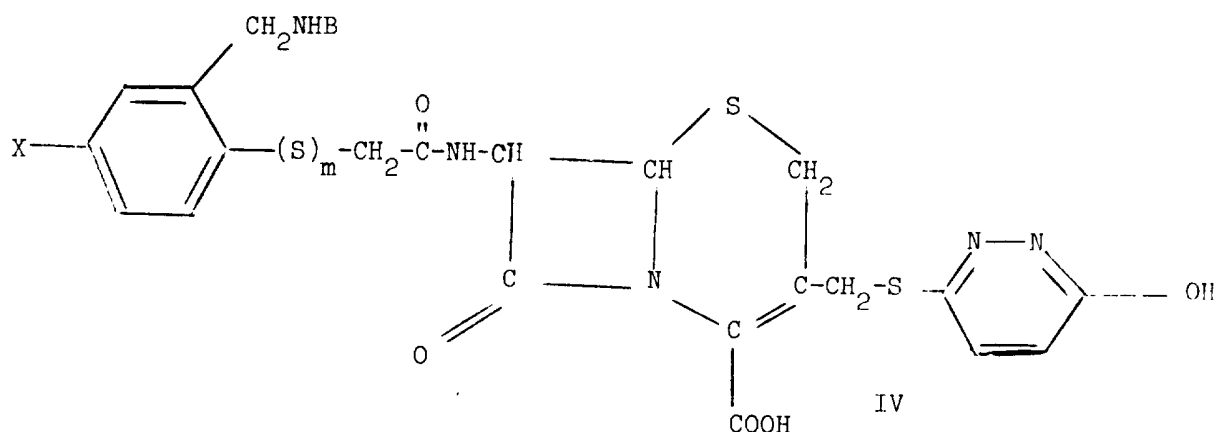
vari X är H eller OH och m är 0 eller 1, under förutsättning, att när X är OH, är m 0, och giftfria, farmaceutiskt godtagbara salter därav, k ä n n e - t e c k n a t därav, att man omsätter en förening med formel



eller ett salt därav med ett acylerande derivat av en syra med formel



vari B är en amino-skyddande grupp och m och X har ovannämnda betydelse, för erhållande av en förening med formel



vari B, X och m har ovannämnda betydelse, eller ett salt därav, varefter man avlägsnar den aminoskyddande gruppen B för erhållande av den önskade föreningen med formel I eller ett giftfritt farmaceutiskt godtagbart salt därav.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Hakemusjulkaisuja:-Ansökningspublikationer: Saksan Liittotasavalta-Föbundsrepubliken Tyskland(DE) 2 055 796, 2 112 058 (C 07 d 99/24).

Patentijulkaisuja:-Patentskrifter: Suomi-Finland(FI) 50 427 (C 07 D 501/36), 51 200 (C 07 D 501/30).