



NORGE

(19) [NO]

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) **UTLEGNINGSSKRIFT** (11) **NR. 157143**

(51) Int. Cl.⁴ **C 07 D 487/04**

(21) Patentsøknad nr. **811628**

(22) Inngivelsesdag 13.05.81

(24) Løpedag 13.05.81

(62) Avdeilt/utskilt fra søknad nr.

(71)(73) Søker/Patenthaver **PFIZER INC.,**
235 East 42nd Street,
New York, NY 10017,
USA.

(83)

(86) Internasjonal søknad nr. -

(86) Internasjonal inngivelsesdag -

(85) Videreføringsdag -

(41) Aiment tilgjengelig fra 16.11.81

(44) Utlegningsdag 19.10.87

(72) Oppfinner **ROBERT LOUIS ROSATI,**
Stonington, New London, CT,
USA.

(74) Fullmektig Cand.mag. Johan H. Garbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 14.05.80, 09.02.81, US,
nr. 149604, 232156.

(54) Oppfinnelsens benevnelse **FREMANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV KARBAPEN-2-EM-DERIVATER.**

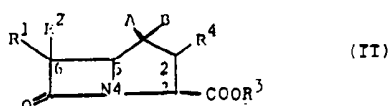
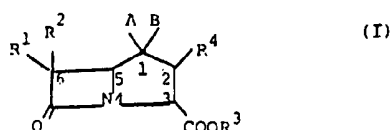
(57) Sammendrag

Karbapenam-3-karboksylsyrer og karbapen-2-em-3-karboksylsyrer som er substituert i 1-stilling med en okso-, hydrokso- eller acetokso-gruppe, varierende substituert i 2-stilling med slike grupper som f.eks. metyl, acetoksymetyl, metansulfonyloksy, alkoksy, alkyltio, aminoalkyltio eller amidinoalkyltio og eventuelt substituert i 6-stilling med en hydroksyalkylgruppe, en acetoksyalkylgruppe eller en konvensjonell penicillin-sidekjede, farmasøytisk godtagbare salter derav og forskjellige estere derav hvor den forestående gruppe fjernes elektivt i laboratoriet, eller hydrolyseres under fysiologiske betingelser.

Disse forbindelser er anvendbare enten systemisk eller lokalt ved behandling av sykdommer forårsaket av følsomme mikroorganismer, som dyreforadditiver for fremming av vekst, eller for konservering av bionedbrytbare materialer, eller som et mellomprodukt for forbindelser med slik antibakterielle aktivitet.

Nøkkel til syntesen av disse forbindelser er den lyskatalyserte omdannelse av 2-diazo-1-oksocef-3-em-4-karboksylater til 1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylater- en nylig oppdaget reaksjon som er bestemt å ha generell anvendbarhet.

Substituerte 1-okso-, 1-hydrokso- og 1-acetokso-karbapenam- og karbapen-2-em-karboksylater med formelene:

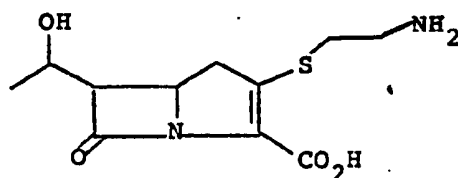


(56) Anførte publikasjoner Ingen.

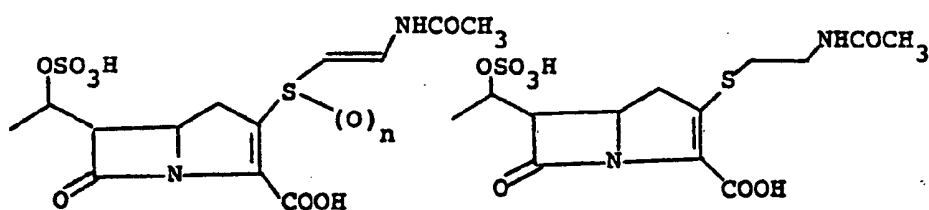
157143

1

En rekke karbapen-2-emer er beskrevet i litteraturen, og noen av dem er angitt å være anvendbare som antibakterielle midler. Blant disse er en rekke produkter oppnådd ved fermentering, av hvilke det første var tienamycin:

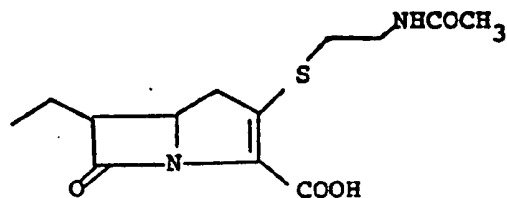


[Albers-Schonber et al., J. Am. Chem. Soc. 100, 6491 (1978)]. Andre forbindelser i denne familie av fermenteringsprodukter omfatter olivansyrene:



$n = 0$ eller 1

[Brown et al., J. Chem. Soc. Chem. Commun., 523 (1977); Corbett et al., ibid. 953 (1977)], og en forbindelse betegnet som PS-5:

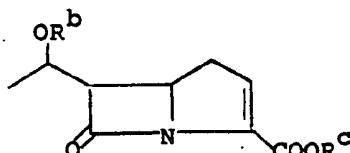


[Okamura et al., J. Antibiotics 31, 480 (1978)].

Derefter er det beskrevet en rekke derivater av tienamycin som har anvendbar antibakteriell aktivitet, omfattende karapen-2-em-derivatene:

157143

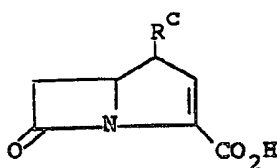
2



(belgisk patent 867.227) hvor R^b defineres grovt å omfatte hydrogen, acetyl og benzyloksykarbonyl, og R^c defineres grovt å omfatte hydrogen og konvensjonelle karboksybeskyttelsesgrupper, som f.eks. benzhydryl og 2-naftylmetyl (selektivt fjernet ved hydrogenolyse), 2,2,2-trikloretyl (selektivt fjernet ved mild sinkreduksjon) og forskjellige 1-alkoksykarbonyloksyalkyl-grupper (selektivt hydrolysert under fysiologiske betingelser).

Tienamycin er også fremstilt ved totalsyntese [Johnston et al., J. Am. Chem. Soc. 100, 313 (1978)], som også en esterforløper [Kametani et al., Heterocycles 12 (9), 1189 (1979)] og en rekke andre karbapen-2-emer, omfattende p-nitrobenzyl-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [Baxter et al., J. Chem. Soc. Chem. Commun., 236 (1979)], natrium-karbapen-2-em-3-karboksylat og natrium-6-(1-hydroksyetyl)karbapen-2-em-3-karboksylat [Cama og Christensen, J. Am. Chem. Soc. 100, 8006 (1978)] og 2-(4-metylfenylsulfonyloksy)karbapen-2-em-3-karboksylat [Ratcliffe et al., Tetrahedron Letters (21), 31 (1980)]. I litteraturen er også beskrevet karbacef-3-emer som f.eks. 7-acylamino-2-alkylkarbacef-3-em-4-karboksyl- og 7-acylamino-2-acyloksykarbacef-3-em-4-karboksylsyre-ester som hydrolyseres in vivo, dvs. under fysikalske betingelser (belgisk patent 875.054). Ikke i noe tilfelle er disse forbindelser oppnådd ved omdannelse av konvensjonelle beta-laktam-derivater eller noen av disse forbindelser substituert i 1-stilling.

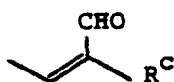
Nylig er fremstilling av forbindelser med strukturen:



157143

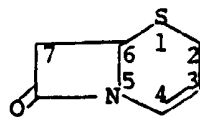
3

beskrevet (Christensen et al., US patent 4.208.422). I disse forbindelser er R^c substituert eller usubstituert alkyl, aryl eller aralkyl. Flertrinns-syntesen av disse forbindelser fra et alfa, beta-umettet aldehyd, f.eks.

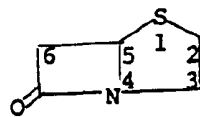


tillater ikke syntese av forbindelsene i foreliggende oppfinnelse.

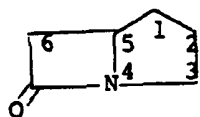
Av enkelhets-, klarhets- og hensiktsmessighets-grunner er den nomenklatur og det ringnummereringssystem som generelt anvendes her den standard "pen/cef"-nomenklatur som anvendes i litteraturen, f.eks.



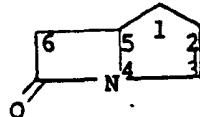
cef-3-em



penam



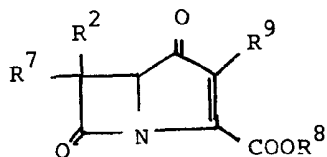
karbapenam



karbapen-2-em

Et alternativt navn for karbapenam, som også forekommer i litteraturen, er 1-azabicyklo[3.2.0]heptan-7-on.

Foreliggende oppfinnelse gjelder fremstilling av på forskjellige måter substituerte 1-okso-karbapen-2-em-karboksylater med formelen:



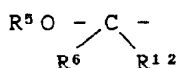
I

hvor

157143

4

R⁷ er hydrogen; 2-fenoksyacetamido; D-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)-2-fenylacetamido; D-2-benzyloksykarbonylamino-2-fenylacetamido; eller benzhydryl-, benzyl- eller 2-naftylmetyl-esteren av 2-karboksy-2-fenylacetamido; 5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido; eller



hvor

R⁵ er hydrogen, acetyl, benzyloksykarbonyl eller p-nitrobenzyloksykarbonyl;
R⁶ er hydrogen eller (C₁-C₃)alkyl og
R¹² er hydrogen eller metyl;
R² er hydrogen eller metoksy; med det forbehold at når R² er metoksy, er
R⁷ 2-fenoksyacetamido;
R⁸ er en konvensjonell karboksy-beskyttende gruppe; og
R⁹ er metyl, acetoksymetyl, metansulfonyloksy, OR¹⁰ eller SR¹⁰, hvor R¹⁰ er (C₁-C₃)alkyl, 2-benzyloksykarbonylaminoetyl, 2-acetamidoetyl eller 2-(p-nitrobenzyloksykarbonylamino)etyl.

Uttrykket "konvensjonell karboksy-beskyttende gruppe" menes å referere til grupper som vanligvis benyttes for å beskytte karboksy-gruppen i penicilliner og cefalosporiner, spesielt omfattende:

1) Grupper som hydrogenolyses selektivt for å gi den tilsvarende syre. Eksempler er benzyl-, p-nitrobenzyl-, benzhydryl- og 2-naftylmetylestrene. Foretrukket blant disse er benzyl-, benzhydryl- og 2-naftylmetyl, siden de lett hydrogenolyses, men til forskjell fra p-nitrobenzyl ikke har noen tendens til å komplisere sinkreduksjonene ifølge oppfinnelsen.

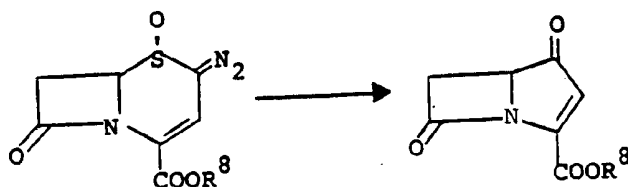
2) Grupper som fjernes selektivt ved mild sinkreduksjon. Eksempler er 2,2,2-trikloretylgruppen (kfr. Just og Grozinger, Synthesis, 457 (1976)).

3) Grupper som hydrolyseres selektivt under fysiologiske betingelser. Eksempler på slike grupper er acetoksymetyl, pivaloyloksymetyl, 1-etoksykarbonyloksyetyl og 1,3-dihydro-3-oksobenzo[c]-furan-1-yl. Slike estere er pro-medisiner, og er spesielt egnet som mer stabile former av den tilsvarende syre (frigjøres under fysiologiske betingelser), så vel som at de forbedrer oral absorpsjon når en forbindelse finner oral bruk som systemisk antibakterielt middel.

Forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen har anti-bakteriell aktivitet, eller er mellomprodukter for forbindelser som har slik aktivitet. Den antibakterielle aktiviteten til disse forbindelser bestemmes lett ved hjelp av den standard skive-plate-metoden som er beskrevet mer detaljert nedenfor. Denne metode anvendes rutinemessig for å sjekke følsomheten hos mikroorganismer, inkludert de som er nyisolert i klinisk praksis. Den målte antibakterielle aktiviteten reflekterer anvendelse ved systemisk eller lokal behandling av infeksjoner hos mennesker og dyr forårsaket av følsomme bakterier, i dyrefór som vekstfremmende midler, eller ved konservering av substanser som er bionedbrytbare av følsomme bakterier.

Nøkkelen for fremstilling av forbindelsene med formel I er omdannelsen av 2-diazo-1-oksocef-3-em-4-karboksylater til 1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylater. Denne omdannelsen kan anvendes for syntese av en rekke nye karbapen-2-em- og karbapenam-produkter.

1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylatene fremstilles lett. Nøkkel for fremstilling av dem er en nylig oppdaget, fotolytisk katalysert omdannelse av et 2-diazo-1-oksocef-3-em-4-karboksylat til et 1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat, nemlig:

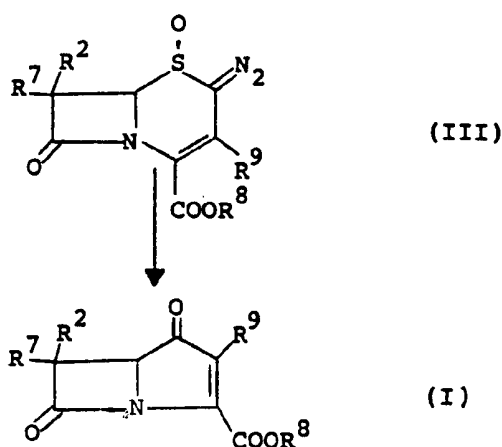


hvor R^8 er en konvensjonell karboksybeskyttende gruppe som definert foran. Et stort antall spesielle eksempler definerer

157143

6

det brede område for oppfinnelsen. Disse spesielle eksempler oppsummeres ved hjelp av følgende omdannelse:



Denne fotolytiske omdannelse utføres hensiktsmessig i et organisk løsningsmiddel i standard laboratorie-apparatur (Pyrex) innenfor et bredt temperaturområde (-100 til 35°C), forutsatt at løsningsmidlet er en væske ved den anvendte temperatur.

Eksempler på det brede område av passende organiske løsningsmidler er klorerte hydrokarboner (f.eks. metylenklorid), lavere alkanoler (f.eks. metanol) og aromatiske hydrokarboner (f.eks. toluen). Enkle forsøk vil bestemme brukbarheten av andre løsningsmidler (etere, ketoner osv.). Et foretrukket løsningsmiddel er metylenklorid, idet det er lavtkokende og derfor lett fjernes ved fordampning i vakuum under isolasjonen. For å minske mulig beta-laktam-nedbrytning foretrekkes det å utføre fotolysen ved lave temperaturer (f.eks. i området -45 til -85°C), hensiktsmessig i et tørris-aceton-bad (ca. -78°C). Lyskilden er en som har lys med bølgelengde i området for en vanlig sol-lampe, dvs. fra ultrafiolett til synlig. Fotolyseforløpet følges lett ved infrarød-spektroskopi (forsvinning av det karakteristiske diazo-båndet) eller ved hjelp av standard tynnskiktkromatografi, med oppdagelse av bestanddeler ved hjelp av alkalisk permanganat-spray; elueringsmidler velges slik at

startmateriale og produkt separeres; i foreliggende tilfelle er ofte metylenklorid eller kloroform, med varierende porsjoner etylacetat, anvendbare. Bruk av standard lysfiltere vil lett bestemme optimale bølgelengder for denne fotolysereaksjon. Biproduktene ved reaksjonen er nitrogen-gass og svovel. Når det ønskes karbapen-2-em-3-karboksylat med større renhet, omrøres reaksjonsblandingen hensiktsmessig med Raney-nikkel for å fjerne svovel. Siden Raney-nikkel også har tendens til å absorbere noe produkt og således redusere utbyttet, utelates dette trinn i isolasjonen når 1-okso-karbapen-2-em-3-karboksylat behandles videre ved en annen fremgangsmåte enn hydrogenolyse. 1-okso-karbapen-2-em-3-karboksylatene fremstilt ifølge oppfinnelsen er relativt ustabile forbindelser. Temperaturene minskes derfor under denne isolasjonen (f.eks. $<25^{\circ}\text{C}$, fortrinnsvis $<5^{\circ}\text{C}$), og disse forbindelser fremstilles vanligvis like før bruk, eller lagres ved fryseboks-temperatur.

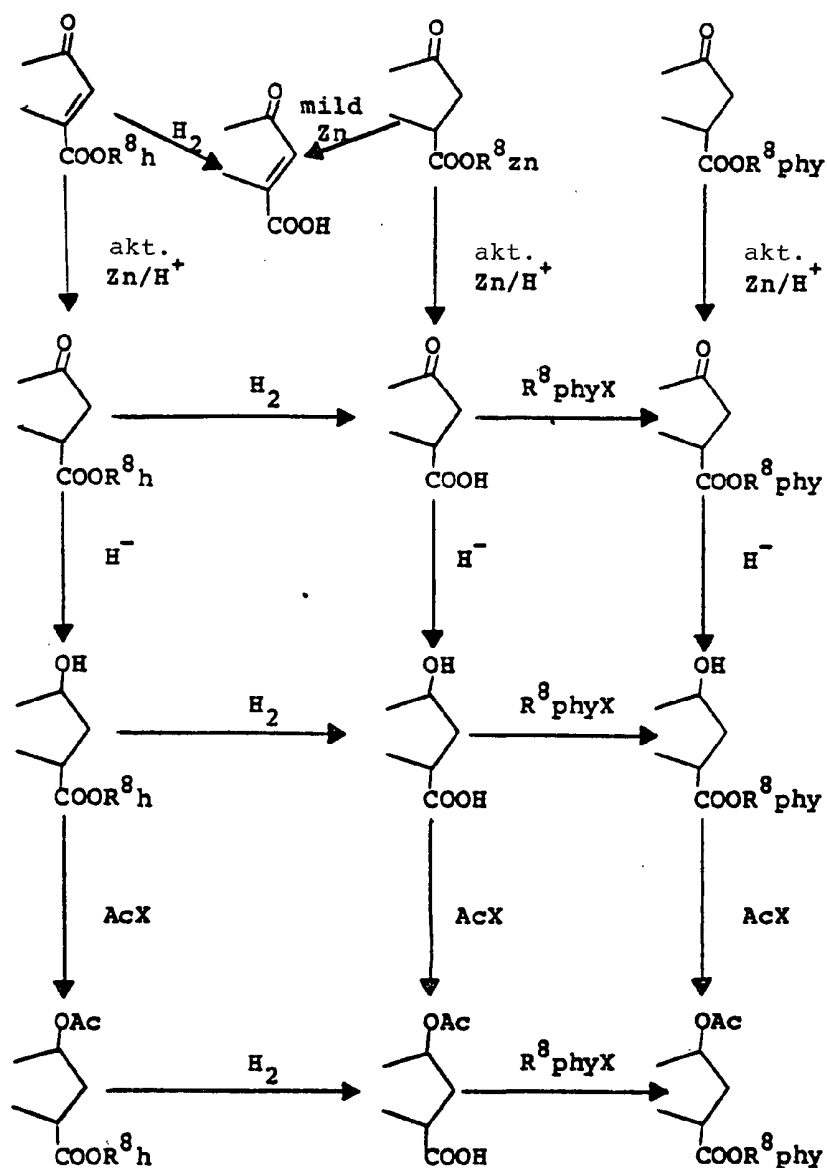
Videreomdannelsene av 1-okso-karbapen-2-em-3-karboksylater fremstilt ifølge oppfinnelsen, for fremstilling av andre forbindelser, er oppsummert i skjemaene I og II.

157143

8

Skjema I

Omdannelser av karbapen-2-em-3-karboksylater



R⁸h = hydrogenolyserbar, karboksybeskyttende gruppe

R⁸zn = mild sinkreduserbar, karboksybeskyttende gruppe,

R⁸phy = fysiologisk hydrolyserbar, karboksybeskyttende gruppe,

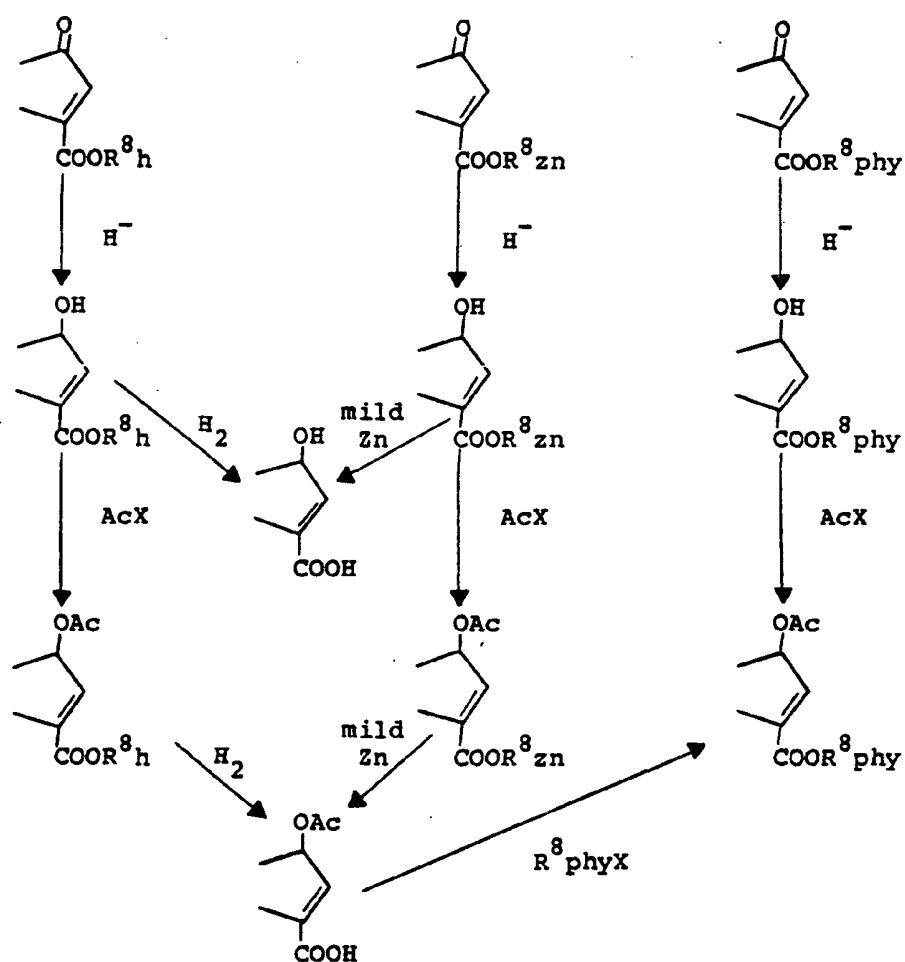
X = en utgående gruppe

157143

9

Skjema II

Videreomdannelser av karbapen-2-em-3-karboksylater

 R^8_{h} = hydrogenolyserbar, karboksybeskyttende gruppe, R^8_{zn} = mild sinkreduserbar, karboksybeskyttende gruppe, R^8_{phy} = fysiologisk hydrolyserbar, karboksybeskyttende gruppe, X = en utgående gruppe.

157143

10

Hydrogenolysereaksjonene i skjemaene I og II, hvor en hydrogenolyserbar, karboksybeskyttende gruppe (R^8h) fjernes ved hydrogenolyse, utføres ved hjelp av metoder som er velkjente for fagmannen, nemlig hydrogenering over en passende katalysator, som f.eks. palladium, platina eller rhodium, eventuelt på en bærer som f.eks. karbon, kalsiumkarbonat eller aluminiumoksyd, i et inert løsningsmiddel, på en slik måte at nedbrytning av karbapenam eller karbapenem blir minst mulig. Betingelsene er fortrinnsvis nær nøytrale ved omgivelsestemperatur eller lavere, og hensiktsmessig ved lave trykk (f.eks. 1 til 7 atmosfærer). Ved "inert løsningsmiddel" menes et som vil solubilisere startmaterialet uten i vesentlig grad å reagere med startmateriale(r), produkt(er) eller reagens(er) (i dette tilfelle hydrogen og katalysator). De foretrukne løsningsmidler for hydrogenolysen er også slike som er flyktige og som produktet også er løselige i, slik at produktet kan gjenvinnes ved enkel fordampning i vakuum (eller frysetørring, slik det passer) av filtratet etter frafiltrering av katalysatoren. De foretrukne katalysatorer for hydrogenolysen er palladium på karbon eller palladium på kalsiumkarbonat. Forbindelser som inneholder hydrogenolyserbare grupper festet til amino, hydroksy eller karboksy på en C-2- eller C-6-sidekjede (f.eks. benzyloksykarbonyl, p-nitrobenzyloksykarbonyl eller benzhydryl), hydrogenolyseres likeledes (dvs. til amino-, hydroksy- eller karboksy-grupper).

De milde sink-reduksjonene i skjemaene I og II, hvor en beskyttelsesgruppe (R^8zn), som f.eks. 2,2,2-trikloretyl, fjernes, utføres generelt ved å følge metoden til Just og Grozinger (Synthesis (7), 457 (1976)), nemlig ved reduksjon med en oppslemming av kommersielt sinkpulver i en blanding av vandig buffer (pH 4,2-7,2) og et inert, vann-blandbart, organisk løsningsmiddel som f.eks. tetrahydrofuran, fortrinnsvis ved omgivelsestemperatur eller lavere. Når mild sinkreduksjon er ett av flere trinn, og eventuelle andre veier er tilgjengelige, foretrekkes det å utføre den milde sinkreduksjonen på et karbapenam fremfor på et karbapenem. Analogt foretrekkes det å utføre den milde sinkreduksjonen på et 1-acetoksykarbapen-2-em fremfor på et 1-okso- eller 1-hydroksykarbapen-2-em. De milde

sinkreduksjonene følges også hensiktsmessig med tynnsikt-kromatografi som angitt i detalj ovenfor.

Reduksjonen av 1-okso-karbapen-2-emer til 1-okso-karbapenam-3-karboksylater (når den karboksybeskyttende gruppe er R^8H eller R^8Phy) eller 1-oksokarbapenam-3-karboksylsyrer (når den karboksybeskyttende gruppe er R^8Zn) med sink/syre-par er oppsummert i skjema I. For å utføre denne reduksjon greit under milde temperatur- og tidsbetingelser, er det viktig å bruke spesielt aktivert sink. Spesielt velegnet er den høyaktive sink som fremstilles som et svart pulver ifølge fremgangsmåten til Rieke og Uhm (Synthesis (7), 452 (1975)), nemlig ved reduksjon av et vannfritt sinksalt med kalium i tilbakeløpende tetrahydrofuran under en inert atmosfære. Den foretrukne syre for disse aktiverte sink-reduksjoner er eddiksyre. Den har tilstrekkelig syrestyrke til å lette reaksjonen, og likevel ikke så sterk at den forårsaker unødvendig ødeleggelse av beta-laktamet. Eddiksyre anvendes også samtidig som løsningsmiddel. Mens temperaturer så høye som $35^{\circ}C$ kan brukes for denne reaksjon, foretrekkes temperaturer på -10 til $0^{\circ}C$. Siden eddiksyre fryser ved ca. $17^{\circ}C$, er det nødvendig å tilsette et inert fortynningsmiddel som antifrysemiddel. Tetrahydrofuran (30%ig) er velegnet for dette formål. De aktiverte sinkreduksjoner følges og optimeres hensiktsmessig ved bruk av tynnskiktkromatografi, ifølge de metoder som er beskrevet ovenfor. Med hensyn til den aktiverte sinkreduksjon av 1-oksokarbapen-2-emene med struktur I, har denne reaksjon med hell bare vært anvendt i tilfeller hvor R^9 er metyl.

De hydrid-reduksjoner som er oppsummert i skjemaene I og II (omdannelse av 1-oksokarbapenamer til 1-hydroksykarbapenamer og 1-oksokarbapen-2-emer til 1-hydroksykarbapen-2-emer) utføres ved bruk av selektive hydrid-reducerende midler (dvs. slike som ikke har tendens til å angripe estergruppen, beta-laktamet eller amid-sidekjeden, om de finnes, eller når det gjelder 1-oksokarbapen-2-emer, har tendens til å redusere dobbeltbindingen (1,4-addisjon av hydrid) istedenfor karbonylen). Siden det foretrekkes lave temperaturer og aprotiske løsningsmidler for reduksjonen av disse relativt reaktive beta-laktamer, er tetraalkylammonium-borhydrid i et inert, flyktig løsningsmiddel

157143

12

med lavt frysepunkt, som f.eks. metylenklorid, spesielt velegnet for disse hydrid-reduksjoner. Metylenklorid, eller lignende, som løsningsmiddel muliggjør også enkel oppfølging av hydrid-reduksjonene med infrarød spektroskopi (forsvinning av det karakteristiske karbonylbåndet), i tillegg til tynnskikt-kromatografi. Disse verktøy kan anvendes sammen med spesiell effektivitet for å optimere de forskjellige hydrid-reduksjoner ifølge oppfinnelsen.

Acetyleringen av 1-hydroksykarbapenamer og 1-hydroksykarbapen-2-emer, slik de er oppsummert i skjemaene I og II, utføres ved hjelp av standard-metoder, hensiktsmessig ved å anvende eddiksyreanhydrid eller acetylklorid (AcX) i nærvær av tilstrekkelig base (vanligvis et tertiært amin som f.eks. pyridin eller trietylamin) i en mengde som er ekvivalent med alle karboksygrupper i substratet så vel som den samproduserte eddiksyre eller hydrogenklorid. Reaksjonen utføres generelt i et inert løsningsmiddel (som definert ovenfor), fortrinnsvis med ytterligere katalysator (f.eks. 10 mol% p-dimetylamino-pyridin). Temperaturen kan ligge innenfor et bredt område (f.eks. -100°C til 35°C), men utføres fortrinnsvis ved en lav temperatur i et flyktig løsningsmiddel. Metylenklorid er spesielt velegnet for dette formål. Det er et godt løsningsmiddel for startmaterialer og reagenser, det har et lavt frysepunkt (-95°C), slik at reaksjonene fortrinnsvis utføres i et tørris-aceton-bad (ca. -78°C), og produktene isoleres lett ved fordampning av løsningsmidlet i vakuum. Bruk av metylenklorid tillater også spesielt enkel styring av denne reaksjon ved hjelp av infrarød-spektroskopi (tilsynekomst av det karakteristiske ester-karbonyl-bånd), i tillegg til de tynnskikt-kromatografiske metoder som er beskrevet ovenfor. Kombinasjonen av disse analytiske teknikker er spesielt vel tilpasset for optimering av acetyleringsreaksjonene. Når 1-hydroksykarbapenam eller 1-hydroksykarbapen-2-em som skal acetyleres inneholder fri(e) amino- eller hydroksy-gruppe(r) i en sidekjede, acetyleres også slike grupper under samme betingelser (faktisk prefereres denne reaksjon når sidekjeden er et amin eller en primær alkohol som hydroksymetylgruppe). Når det også er ønskelig å acetylere slik(e) sidekjedegruppe(r), anvendes ytterligere

passende mengder av reagenser. Når de(n) frie amino- eller hydroksy-gruppe(r) er ønsket på sidekjede(r), foretrekkes det å acetylere den passende sidekjede som er benzyloksykarbonylert, med fjerning av de(n) beskyttende gruppe(r) ved hydrogenolyse som slutt-trinn.

Omdannelse av 3-karboksylsyrene til de tilsvarende beskyttede karboksylsyrer (dvs. R^8 -estere som definert ovenfor) gjennomføres også ved hjelp av standard-metoder. Karboksylsyren, som karboksylylsaltet (forhånds-dannet in situ ved tilsetning av minst en ekvivalent base), i en standard bimolekylær forflytning, omsettes med et passende halogenid, mesylat, osv. ($R^8\text{-phyX}$), f.eks. klormetyl-pivalat, brometylacetat, 1-etoksykarbonyloksy-etylklorid, 1,3-dihydro-3-oksobenzo[c]furan-1-yl-bromid, benzylklorid, benzylbromid, benzylmesylat, 2-brometyl-naftalen, benzhydrylklorid osv. Basen kan foreligge i form av et tertiært amin eller bikarbonat, og kan anvendes i overskudd for å maksimere konsentrasjonen av karboksylyl-ion, og så øke hastigheten. Natriumjodid kan tilsettes som katalysator. Reaksjonen utføres i et inert løsningsmiddel (som definert ovenfor), idet polare, aprotiske løsningsmidler som f.eks. dimetylformamid, foretrekkes, siden høye reaksjonshastigheter oppnås uten noen tendens til å angripe beta-laktamet i hverken substrat eller produkt. Temperaturområdet for reaksjonen er ikke kritisk (f.eks. 0-50°C), men holdes fortrinnsvis ved omgivelsestemperatur eller lavere, for å minske nedbrytning av beta-laktamet. Disse forestringsreaksjoner styres og optimeres ved å anvende tynnskiktkromatografi som beskrevet ovenfor. For å minimere nedbrytning av beta-laktamene ved disse forestringsreaksjoner er minimum reaksjonstider ønskelig. Av denne grunn foretrekkes jodider fremfor bromider, som i sin tur foretrekkes fremfor klorider for bruk som reagenser. Når bromider eller klorider brukes er jodidkatalysatorer vanligvis nyttige. Når syntesen av en spesiell forbindelse krever dannelsen av en ester av denne type og syntesesesekvensen tillater valgfrie veier, foretrekkes det å innføre estergruppen før omdannelsestrinnet.

Estrene fremstilles også ved reaksjon mellom en passende diazo-forbindelse og karboksylsyren. Et inert, aprotisk løsningsmiddel anvendes. Spesielt velegnet er metylenklorid,

157143

14

siden det er meget flyktig og produktene lett oppnås ved konsentrering i vakuum. Temperaturen er ikke kritisk (f.eks. -25 til 35°C), idet omgivelsestemperatur eller lavere foretrekkes. Eksempler på denne type av esterdannelse er reaksjonen mellom difenyldiazometan og en karboksylsyre i metylenklorid for å danne de tilsvarende benzyldiester. Denne reaksjon kan også styres og optimeres ved bruk av tynnskiktkromatografi og infrarød spektroskopi. Når den passende diazoforbindelsen er tilgjengelig, foretrekkes denne fremstilling fremfor forflytningsreaksjonen fra det nærmeste, ovenfor stående avsnittet, på grunn av de mildere betingelser som generelt kreves.

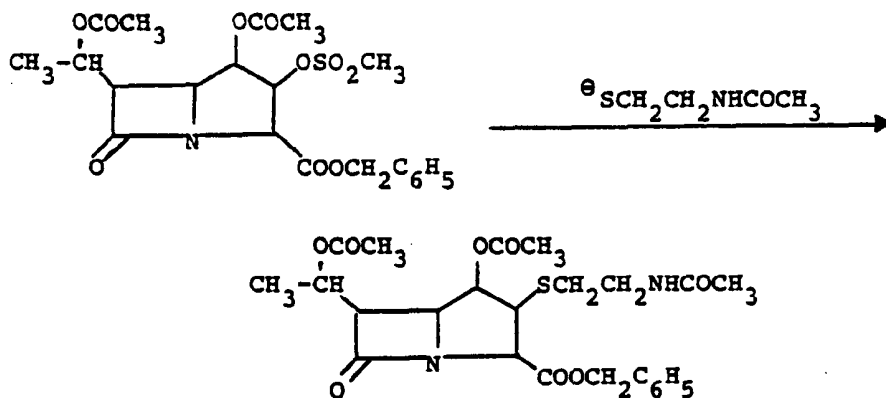
En tredje metode for syntese av esteren er dehydrativ kobling av en passende alkohol (2,2,2-trikloretanol, benzhydryl, benzylalkohol, 2-hydroksymetylnaftol, osv.) med ca. én ekvivalent av en karboksylsyre. Den dehydrative kobling gjennomføres ved hjelp av en lang rekke midler som vanligvis brukes ved peptidsyntese. Representative midler omfatter N,N-karbonyldiimidazol, N,N'-karbonyl-di-s-triazin, etoksyacetylen, 1,1-diklordietyler, difenylketen-p-tolyimin, N-hydroksy-ftalimid, N-hydroksy-succinimid, N-hydroksypiperidin, etylenklorfosfitt, dietylenpyrofosfitt, N-etyl-5-fenylisoksazolium-3'-sulfonat, fenylfosforo-di-(1-imidazolat) og karbodiimider som f.eks. dicykloheksyl-karbodiimid, 1-cykloheksyl-3-(2-morfolinometyl)karbodiimid, N-(3-dimetylaminopropyl)-N'-etyl-karbodiimid-hydroklorid, 1-etyl-3-(3'-dimetylaminopropyl)karbodiimidhydroklorid og dietylcyanamid. Generelt anvendes mellom 1 og 1,2 ekvivalenter av det dehydrative middel i nærvær av en tert.amin-katalysator (f.eks. pyridin, trietylamin; vanligvis mellom 1 og 1,5 ekvivalenter). Et inert, aprotisk løsningsmiddel anvendes. Temperaturen er ikke kritisk (f.eks. -25 til 40°C), fortrinnsvis omgivelsestemperatur eller lavere. Metylenklorid som løsningsmiddel og romtemperatur er hensiktsmessige betingelser. Hydratisert reagens fjernes ved filtrering, og produkter oppnås ved enkel konsentrering i vakuum. Reaksjonene styres ved hjelp av tynnskiktkromatografi og infrarød spektroskopi. Når passende alkoholer er tilgjengelige, foretrekkes denne forestringsfremgangsmåte fremfor halogenid-forflytnings-

fremgangsmåten som er beskrevet ovenfor, på grunn av mildere betingelser.

Det er klart at under de forskjellige forestringsbetingelser som er beskrevet ovenfor, vil karboksygrupper i sidekjede også ha en tendens til å forestres. Dersom det ønskes en fri karboksygruppe i sidekjeden, blokkeres den fortrinnsvis med en beskyttelsesgruppe (f.eks. benzyl, benzhydryl, 2-naftylmetyl som kan fjernes ved selektiv hydrogenolyse dersom det ønskes en pivaloyloksymetyl- eller 2,2,2-triklor-ester på C-3), og det unngås kromatografisk separasjon av komplekse blandinger.

Amidinene fremstilles fra de tilsvarende aminer ved reaksjon mellom de sistnevnte og et lavere alkylformamidat (f.eks. etylformamidat) ved en svakt basisk pH (f.eks. 8,5-10,5) i et reaksjonsinert, vandig eller organisk løsningsmiddel ved 0-50°C. Vandig fosfatbuffer (pH ca. 9,5) i dimetylformamid ved omgivelsestemperatur er eksempelvis betingelser for denne reaksjon.

Visse forbindelser fremstilles alternativt fra mesylater, f.eks.



Reaksjonen utføres i et basisk tofase-system (f.eks. 0,02N natriumhydroksyd/metylenklorid) i nærvær av i det nærmeste en molekvivalent mengde av et lipofilt, kvartært salt (f.eks. benzyltrimetylammoniumklorid).

Fra diskusjonen ovenfor vil det være klart for fagmannen at det er mer enn en vei tilgjengelig for de fleste av forbindelsene, og at mer optimale fremgangsmåter generelt kan

157143

16

oppdages på forhånd. Om det eksempelvis er ønskelig å fremstille pivaloyloksymetyl-1-acetoksy-6-[2-amino-2-(4-hydroksyfenyl)-acetamido]-2-metylkarbapenam-3-karboksylat, ville den mest direkte måte være, omfattende nødvendig forestring, acetylering og hydrogenolyse i foretrukne trinn, å omdanne pivaloyloksymetyl-7-[2-benzyloksykarbonylamino-2-(4-benzyloksykarbonyloksyfenyl)-acetamido]-2-diazo-3-metyl-1-oksocef-3-em-4-karboksylat, fulgt i rekkefølge av aktivert sink-reduksjon, hydrid-reduksjon, acetylering og hydrogenolyse; dersom det er ønskelig å fremstille 1-acetoksy-6-[2-karboksy-(4-hydroksyfenyl)acetamido]-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat vil den mest direkte vei som omfatter forestring, acetylering og hydrogenolyse i foretrukne trinn, være omdannelse av benzhydryl-7-[2-benzhydryloksykarbonyl-2-(4-benzyloksykarbonyloksyfenyl)acetamido]-2-diazo-3-metyl-1-oksocef-3-em-4-karboksylat, fulgt i rekkefølge av hydrid-reduksjon, acetylering og hydrogenolyse; dersom det er ønskelig å fremstille 6-(1-acetoksyetyl)-1-okso-2-metylkarbapenam-3-karboksylsyre, er den mest direkte fremgangsmåte å omdanne 2,2,2-trikloretyl-7-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-oksocef-3-em-4-karboksylat, fulgt av aktivert sink-reduksjon; osv.

De 2-diazo-1-oksocef-3-em-4-karboksylater som kreves som startmaterialer for foreliggende synteser fremstilles ifølge metoder fra litteraturen, eller ved fremstillingsmetoder som angis i detalj senere. Slutt-trinnet i syntesen av start-materialet er vanligvis innføring av 2-diazo-gruppen. Forbindelsene 2-diazo-1-beta-oksocef-3-em fremstilles ifølge metoden til Ebbinghaus et al [J. Org. Chem. 44 (25), 4697 (1979)], alternativt med nærvær av kalium-tert-butoksyd i tillegg som angitt i detalj i Fremstillingene nedenfor. Den sistnevnte metode, men vanligvis ved anvendelse av litt kraftigere tids- og temperaturbetingelser, er også velegnet for syntese av de tilsvarende 2-diazo-1-alfa-oksocef-3-emer. De nødvendige 1-oksocef-3-em-4-karboksylater er i store mengder tilgjengelig i litteraturen (kf. Bruyns og Koning, US patent 4.182.870). De krevede oksyder fremstilles lett ved oksydasjon med persyre (hensiktsmessig m-klorperbenzoesyre) eller 30% hydrogenperoksyd/maursyre, som det nest siste trinn eller på et annet passende forløpertrinn. I noen tilfeller oppstår

separerbare blandinger av 1-alfa- og 1-beta-oksyder; i andre oppstår rene 1-beta-oksyder. De nødvendige karboksy- og amino-, og om ønsket, hydroksy-beskyttende grupper innføres på et passende trinn i syntesen av startmaterialet, ved å bruke metoder som er detaljert beskrevet ovenfor. Siden beta-laktamene av disse forløpere generelt er stabilere enn beta-laktamene av forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen, er det generelt mindre tydelig preferanse når det gjelder den spesielle metode som velges for forestring. Acetyleringer av passende forløpere utføres på den måte som er beskrevet ovenfor for acetylering av forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen. Benzyloksykarbonylering av passende forløpere utføres ved hjelp av samme fremgangsmåte som acetylering, idet acetyleringsmidlet erstattes med en ekvivalent karbobenzoksyklorid. Aminogrupper kan acyleres selektivt fremfor hydroksygrupper ved å bruke en enkelt molekvivalent acyleringsmiddel.

De farmasøytisk godtagbare kationiske salter av forbindelser med en fri karboksylsyre-gruppe, fremstilles lett ifølge standard-metoder. Eksempelvis kombineres en ekvivalent av det tilsvarende, kationiske hydroksyd, karbonat eller bikarbonat med karboksylsyren i et organisk eller vandig løsningsmiddel. Saltet isoleres ved konsentrering og/eller tilsetning av et ikke-løsningsmiddel. I noen tilfeller isoleres saltet direkte fra en reaksjonsblanding uten isolasjon av den frie syreform. Farmasøytisk godtagbare, kationiske salter omfatter, men er ikke begrenset til, de som dannes med natrium, kalium, kalsium, N,N'-dibenzyletylendiamin, N-metylglukamin og dietanolamin.

De farmasøytisk godtagbare syreaddisjonssalter av forbindelser som har en fri amino- eller amidinogruppe, fremstilles også lett ved hjelp av standard-metoder. Eksempelvis kombineres en ekvivalent av syren med amin eller amidin i et organisk eller vandig, organisk løsningsmiddel. Saltet isoleres ved konsentrering og/eller tilsetning av et ikke-løsningsmiddel. I noen tilfeller isoleres saltet direkte fra en reaksjonsblanding uten isolasjon av det frie amin eller amidin. Farmasøytisk godtagbare syreaddisjonssalter omfatter, men er ikke begrenset til, saltsyre, svovelsyre, salpetersyre, fosforsyre, sitronsyre, maleinsyre, ravsyre og metansulfonsyre.

Nytten av forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen som mellomprodukter for andre forbindelser vil være klar fra den forangående diskusjon. Den antibakterielle aktiviteten til disse forbindelser, som viser deres nytte ved bekjempelse av følsomme bakterielle infeksjoner hos mennesker og dyr, som dyrefôr-additiver for å fremme vekst eller som konserveringsmidler for materialer som bionedbrytes av følsomme mikroorganismer, måles best ved standard skive-plate-metoden som rutinemessig anvendes i kliniske laboratorier for bestemmelse av mikroorganismers følsomhet overfor antimikrobielle substanser. Sensitive skiver fremstilles ved å dyppe en standard 6,25 mm papirskive i en løsning av den forbindelsen som skal testes (kons. 1 mg/ml) i et flyktig løsningsmiddel (f.eks. metylenklorid) og skiven tørkes, hvilket gir skiver som inneholder ca. 25 mikrogram av forbindelsen. Skivene plasseres på overflaten av agar-vekstmedia som var podet med testmikroorganismen, som tidligere var laget til plater i Petriskåler. Platene inkuberes over natten ved 35-37°C. Aktiviteten til testforbindelsen sees ved en inhiberingssone for bakterievekst rundt test-skiven. Diameteren til denne sonen gir et kvantitativt mål på substansens antibakterielle aktivitet. Aktiviteten til forskjellige forbindelser fremstilt ifølge oppfinnelsen og forbindelser fremstilt ved videre omdannelse av disse oppsummeres i tabell I. For sammenlignings skyld inkluderes resultater oppnådd med 10 mikrogram skiver av ampicillin og penicillin G som positive kontroller. Den alternative in vitro "screening"-fremgangsmåten omfattende vekst av mikroorganismene i rør inneholdende seriefortynnede konsentrasjoner av testforbindelse i hjerne-hjerte-infusjonsvæske gjengir ikke korrekt den antibakterielle aktiviteten til forbindelsene, hvilket er et resultat av disse forbindelsers ustabilitet i testmediene. Eksempelvis viser en 25 mikrogram skive av pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapenam-3-karboksylat testet mot *Staphylococcus aureus* i skive-plate-forsøket at denne forbindelse har god aktivitet mot denne spesielle mikroorganisme til tross for at samme forbindelse mot samme mikroorganisme indikerte en minimums inhibitorkonsentrasjon på >200 mikrogram/ml i seriefortynnings-rørtesten. Resultatene

157143

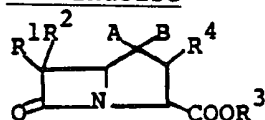
19

av seriefortynnings-rørtestene av forbindelser er oppsummert i tabell II.

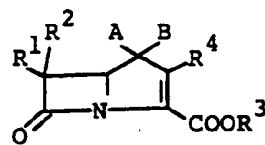
Tabell I

Antibakteriell aktivitet for karbapenamer og karbapen-2-emer
Skive-plate-metode

Forbindelse



(I)



(II)

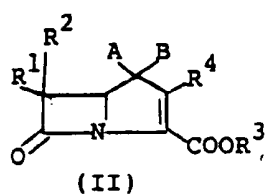
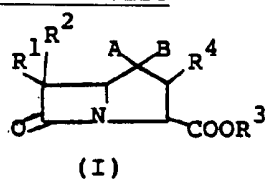
Inhiberingssone (mm)

<u>R¹</u>	<u>R²</u>	<u>R³</u>	<u>R⁴</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>I/II</u>	<u>Vibrio</u> <u>parcolans</u>	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	<u>Staphylococcus aureus</u> <u>(Antibiotic Resistant)</u>	<u>Micrococcus</u> <u>luteus</u>	<u>Bacillus subtilis</u>	<u>Staphylococcus aureus</u> <u>S</u>
H	H	POM	CH ₃	-O-		I	-	-	0	-	18	18
H	H	POM	CH ₃	H	OH	I	-	-	0	-	0	0
H	H	H	CH ₃	H	OAc	I	-	-	0	-	12	0
H	H	POM	CH ₃	-O-		II	14	0	18	26	37	22
H	H	POM	CH ₃	H	OH	II	-	10	13	10	15	15
H	H	POM	CH ₃	H	OAc	II	-	-	0	0	14	13
H	H	H	CH ₃	H	OAc	II	18	0	8	-	13	-
H	H	POM	CH ₂ -OAc	-O-		II	-	-	12	-	-	0
PMA	H	POM	CH ₃	-O-		I	-	0	12	15	21	-
PMA	H	POM	CH ₃	H	OH	I	-	0	17	14	23	20
PMA	H	POM	CH ₃	H	OAc	I	-	0	0	0	16	11
PMA	H	H	CH ₃	H	OAc	I	-	0	0	0	0	0
PMA	OMe	POM	CH ₃	-O-		I	0	0	0	-	11	0
PMA	OMe	POM	CH ₃	H	OH	I	0	0	0	-	11	23
PMA	OMe	POM	CH ₃	-O-		II	0	0	0	-	33	8
MPI	H	POM	CH ₃	-O-		I	0	0	11	-	15	0

157143

20

Tabell I forts.

ForbindelseInhiberingssone (mm)

<u>R¹</u>	<u>R²</u>	<u>R³</u>	<u>R⁴</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>I/II</u>	<u>Vibrio percolans</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>Staphylococcus aureus</u> (Antibiotic Resistant)	<u>Micrococcus luteus</u>	<u>Bacillus subtilis</u>	<u>Staphylococcus aureus 5</u>
MPI	H	POM	CH ₃	H	OH	I	13	0	14	-	16	15
MPI	H	POM	CH ₃	-O-		II	0	0	9	-	21	0
EPA	H	POM	CH ₃	-O-		I	21	12	12	-	21	12
EPA	H	POM	CH ₃	H	OH	I	24	20	10	-	17	18
EPA	H	H	CH ₃	H	OH	I	25	16	9	-	16	15
EPA	H	POM	CH ₃	-O-		II	20	0	0	0	0	0
HET	H	H	CH ₃	H	OH	I	-	23	-	39	29	29
HET	H	H	CH ₃	H	OAc	I	-	0	-	13	16	0
HET	H	H	OCH ₃	H	OH	I	-	11	-	42	22	27
HET	H	POM	CH ₃	H	OH	I	-	14	-	31	24	27
AET	H	H	CH ₃	H	OH	I	16	0	-	20	15	20
AET	H	H	CH ₃	H	OAc	I	10	0	-	26	25	21
Positive kontroller (a)												
Penicillin							33	16	0	45	32	31
Penicillin G							32	0	0	45	33	32

POM = pivaloyloksymetyl

PMA = 2-fenoksyacetamido

MPI = 5-metyl-3-fenylisoksazol-karboksamido

EPA = D-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-2-fenylacetamido

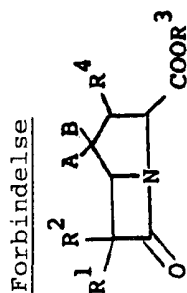
HET = 1-hydroksyetyl

AET = 1-acetoksyetyl

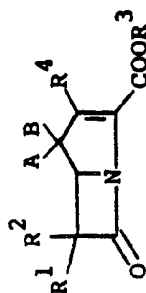
(a) 10 mikrogram skiver; alle andre 25 mikrogram skiver

Antibakteriell aktivitet for karbapenamer og karbapen-2-emer

Serie-fortynnings-rørmetoden



(I)

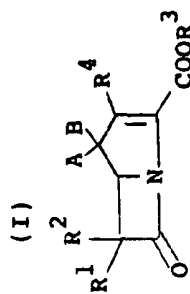
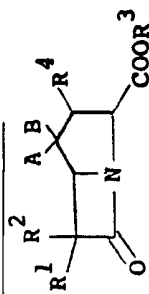


(II)

$\overline{R^1}$	$\overline{R^2}$	$\overline{R^3}$	$\overline{R^4}$	$\overline{A}$	$\overline{B}$	$\frac{I}{II}$
H	H	POM CH ₃	POM CH ₃	-O-	I	
H	H	POM CH ₃	H OH	I		
H	H	H CH ₃	H OAC	I		
H	H	POM CH ₃	-O-	II		
PMA	H	POM CH ₃	-O-	I		
PMA	H	POM CH ₃	H OH	I		
PMA	H	POM CH ₃	H OAC	I		

	(a)	(b)		
<u>Staphylococcus aureus</u>	>200	>200		>200
<u>Staphylococcus aureus</u> (Antibiotic Resistant)	>200	>200		>200
<u>Escherichia coli</u>	>200	>200		>200
<u>Escherichia coli</u> (Antibiotic Resistant)	>200	>200		>200
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	>200	>200		>200
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	>200	>200		>200
<u>Serratia marcescens</u>	>200	>200		>200
<u>Enterobacter cloacae</u>	>200	>200		>200
<u>Citrobacter diversus</u>	>200	>200		>200
<u>Proteus morgani</u>	>200	>200		>200

Forbindelse



(II)	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	A	B	I/II
	PMA	Ome	POM	CH ₃	-O-		I
	PMA	Ome	POM	CH ₃	H	OH	I
	MPI	H	POM	CH ₃	H	OH	I
	EPA	H	POM	CH ₃	-O-		I
	EPA	H	POM	CH ₃	H	OH	I
	EPA	H	H	CH ₃	H	OH	I
	HET	H	H	CH ₃	H	OH	I
	HET	H	H	CH ₃	H	OAc	I

POM = pivaloyloxymethyl. PMA = 2-fenoksyacetamido. MPI = 5-metil-3-fenylisoksazol-1-karboksamido

EPA = D-2-(4-etyl-2,3-diókso-piperazin-1-karboksamido)-2-fenylacetamido.

HET = 1-hydroksyetyl.

(a) viser en synergistisk effekt når den testes 1:1 med ampicillin

(b) viser en synergistisk effekt når den testes 1:1 med cefazolin

De antibakterielle forbindelser fremstilt ifølge oppfinnelsen og deres videre omdannelsesprodukter, som er anvendbare for behandling av system-infeksjoner hos dyr, inkludert mennesker, forårsaket av følsomme mikroorganismer, doseres i en mengde på 5-250 mg/kg pr. dag, fortrinnsvis 10-150 mg/kg pr. dag, vanligvis i oppdelte doser. Variasjon i dosering vil foretas avhengig av individet og av mikroorganismens følsomhet. Disse forbindelser er mest effektive når de doseres parenteralt, fortrinnsvis intramuskulært som en suspensjon av en mer stabil esterform av medisinen (som definert ovenfor). Følsomheten til de mikroorganismer som er isolert i kliniske laboratorier testes rutinemessig ved hjelp av den skive-plate-metoden som er beskrevet ovenfor. Foretrukne forbindelser er de som viser størst diameter for inhiberingssonen mot de bakterier som forårsaker den infeksjon som skal behandles.

De parenterale doseringsformer som kreves for den ovenfor nevnte systemiske bruk, fremstilles i findelt, tørr pulverform, og oppløses eller suspenderes like før bruk i en farmasøytisk godtagbar bærer, som f.eks. vann, saltløsning, sesamolje og lignende. Midler som forbedrer suspenderbarhet og dispersjonskvaliteter kan også tilsettes. Fremstilling av optimale doseringsformer vil foregå ved hjelp av metoder som er vel kjent på farmasiområdet.

De antibakterielle forbindelsene som er anvendbare ved behandling av lokale infeksjoner hos dyr, inkludert mennesker, forårsaket av følsomme mikroorganismer, foreligger som væskeløsninger, salver, kremer, geler eller lignende i konsentrasjoner i området 5-200 mg/ml av doseringsformen, fortrinnsvis i området 10-100 mg/ml. Doseringsformen påføres på infeksjonsstedet ad libitum, generelt minst én gang pr. dag. Mikroorganismer som forårsaker infeksjoner isoleres rutinemessig i kliniske laboratorier, og disse mikroorganismers følsomhet overfor forbindelsene bestemmes rutinemessig i de samme laboratorier ved hjelp av den skive-plate-metode som er beskrevet ovenfor. Foretrukne forbindelser er slike som oppviser den største inhiberingssone av de bakterier som forårsaker de infeksjoner som skal behandles.

157143

24

Foretrukne lokale doseringsformer er findelte suspensjoner av en pro-medisin-ester i en inert, farmasøytisk godtagbar bærer. Fremstilling av optimale doseringsformer vil foregå ved hjelp av metoder som er velkjente på farmasi-fagområdet.

Når de antibakterielle forbindelsene er anvendbare som vekstfremmende midler til husdyr, tilveiebringes de i små mengder (f.eks. 10 til 100 g pr. tonn fôr). Blanding av forbindelsen med fôr gjennomføres vanligvis i to trinn, først ved fremstilling av en forblending (f.eks. 10-100 g forbindelse blandet med 5-10 kg soyabønneavfall fra møllen eller lignende), som så blandes med fôret når det skal males. Siden vekstfremming utføres med et lavt aktivitetsnivå, og da forbindelsen på samme tid utsettes for betingelser som er utenfor vitenskapsmannens kontroll, er de forbindelser som er foretrukket for denne bruk, de som har god stabilitet, nemlig i preferanse-rekkefølge: 1-acetoksy-karbapenam-3-karboksylatestere, 1-hydroksykarbapenam-3-karboksylatestere og 1-acetoksykarbapen-2-em-3-karboksylatestere.

De antibakterielle forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen som er anvendbare som konserveringsmidler for bionedbrytbare materialer, blandes ganske enkelt med det bionedbrytbare materialet i en konsentrasjon som er minst tilstrekkelig til å inhibere vekst av de bakterier som forårsaker bionedbrytningen. Rutinemessige seriefortynningsteknikker kan anvendes for å bestemme de konsentrasjoner som er nødvendige for å oppnå det ønskede mål.

Foreliggende oppfinnelse illustreres ved hjelp av følgende eksempler. Det skal imidlertid forstås at oppfinnelsen ikke er begrenset til de spesielle detaljene i disse eksempler. De illustrerer også den videre omdannelse av de fremstilte forbindelser.

Eksempel 1

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

I en standard Pyrex-kolbe ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (124 mg, 0,35 mmol) oppløst i 124 ml metylenklorid, avkjølt til -78°C og bestrålt med en sol-lampe i totalt 25 minutter, mens reaksjonen styres

til den er fullført med IR spektralanalyser. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet i vakuum for å gi rått pivaloyloksymetyl-1-okso-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2): 1815, 1750, 1720 cm^{-1}].

Alternativt omrøres blandingen etter fullført reaksjon med 1,24 g Raney-nikkel ved -78°C i 30 minutter, filtreres og filtratet inndampes i vakuum for å gi det samme produkt med større renhet.

Eksempel 2

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapen-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat, nyfremstilt fra 50 mg pivaloyloksymetyl-1-beta-okso-2-diazo-3-metylcef-3-em-4-karboksylat ved hjelp av metoden fra eksempel 1 (ved å anvende det alternative Raney-nikkel-trinnet), ble opptatt i ca. 0,25 ml tetrahydrofuran og tilsatt til en oppslemming av 500 mg sinkpulver, spesielt aktivert ved hjelp av metoden til Rieke og Uhm [Synthesis, 452 (1975)], i 15 ml eddiksyre-30%ig tetrahydrofuran ved 0°C . Etter omrøring i 1 time ved denne temperatur ble reaksjonsblandingen fortynnet med toluen, inndampet i vakuum og residuet behandlet flere ganger med toluen. Den vakuum-pumpede rest ble opptatt i overskudd metylenklorid, sink fjernet ved filtrering og filtratet gjenfordampet i vakuum for å gi i hovedsak homogent pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapen-3-karboksylat (tlc: R_f 0,45 med 18:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; IR 1780, 1760 cm^{-1}).

Eksempel 3

Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-oksokarbapen-3-karboksylat (70 mg, 0,23 mmol) ble oppløst i 3 ml metylenklorid og avkjølt til -78°C . Tetrabutylammoniumborhydrid (15 mg, 0,06 mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time ved -78°C , ved hvilken tid tlc (silikagel: 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; fremkalling med alkalisk permanganatspray) indikerte at det ikke var noe startmateriale igjen. Eddiksyre (1 ekvivalent, 0,24 mmol) ble tilsatt og blandingen så hellet i

157143

26

vann. Den organiske fasen ble fraskilt, vasket med ytterligere porsjoner vann og så saltløsning, tørket over vannfritt magnesiumsulfat, filtrert og inndampet til tørrhet. Det resulterende råprodukt ble kromatografert på silikagel (4:1 metylenklorid:etylacetat-elueringsmiddel) for å gi rensset pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat (tlc: R_f 0,14 med 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel).

Eksempel 4

Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-betaoksocef-3-em-4-karboksylat (150 mg, 0,42 mmol) ble omdannet til en metylenkloridløsning av pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-karbapen-2-em-3-karboksylat ved hjelp av metoden fra eksempel 1. Uten isolasjon, og mens temperaturen fortsatt ble holdt på -78°C ble tetrabutylammoniumborhydrid (26,4 mg, 0,092 mmol) tilsatt og blandingen omrørt i 30 minutter. Reaksjonsblandingen ble avkjølt med eddiksyre (0,58 ekvivalent), ekstrahert to ganger med vandig buffer (pH 7), tørket over vannfritt natriumsulfat og filtrert for å gi en metylenkloridløsning av pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 1780, 1745 cm^{-1} ; R_f 0,25 (4:1 kloroform-etylacetat)].

Eksempel 5

Pivaloyloksymetyl-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Til den nyfremstilte metylenkloridløsningen av pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat fra eksempel 4, avkjølt til -78°C ble tilsatt eddiksyreanhydrid (0,170 ml, 1,68 mmol), pyridin (0,144 ml, 1,68 mmol) og 4-dimetylamino-pyridin (10,5 mg, 0,086 mmol) i to alikvoter i løpet av 2 timer. Reaksjonen ble styrt med tlc (3:1 kloroform:etylacetat). Etter å ha holdt reaksjonsblandingen på tørris-temperatur i ca. 16 timer ble ytterligere 4-dimetylamino-pyridin (0,5 mg) tilsatt og reaksjonen fortsatt i 2 timer ved -78°C . Reaksjonsblandingen ble ekstrahert to ganger med vandig buffer (pH 7), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet i vakuum. Residuet ble kromatografert på 8 g silikagel (6:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel, styrt

ved hjelp av tlc eller IR spektralanalyse) for å gi pivaloyl-oksymetyl-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [15 mg; IR (CH_2Cl_2) 1780, 1740 cm^{-1} ; R_f 0,75 (3:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 6

Benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

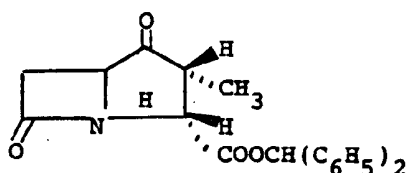
Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 1 (30-50 minutters bestrålingstid, innføring av en 500 mg Raney-nikkel-behandling) ble benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-betaoksocef-3-em-4-karboksylat (50 mg) i 50 ml metylenklorid omdannet til benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 1810 cm^{-1}].

Eksempel 7

Benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapenam-3-karboksylat

Det nyfremstilte benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat fra eksempel 6 ble redusert ved hjelp av den detaljerte fremgangsmåte fra eksempel 2 for å gi benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapenam-3-karboksylat [37 mg, 86%; R_f 0,59 (18:1 kloroform:etylacetat); omkrystallisasjon fra metylenklorid/heksan ga produktet med sm.p. 132-133°C].

En røntgen-krystallografisk analyse anga at dette produkt hadde følgende struktur og relative stereokjemi:



Eksempel 8

Benzhydryl-1-hydroksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåtene fra eksempel 3 ble benzhydryl-2-metyl-1-oksokarbapenam-3-karboksylat (53 mg i 3 ml metylenklorid ved å anvende bare de 10 mg reduksjonsmiddel som opprinnelig ble tilsatt) omdannet til renset benzhydryl-1-hydroksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat [53 mg, R_f 0,30 (4:1 kloroform:etylacetat)].

157143

28

Eksempel 9

Benzhydryl-1-acetoksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat

Nyfremstilt benzhydryl-1-hydroksy-2-metyl-karbapenam-3-karboksylat (53 mg, 0,15 mmol) ble oppløst i 5 ml metylenklorid og avkjølt til -10°C . Pyridin (12 mg, 0,15 mmol), eddiksyre-anhydrid (15,4 mg, 0,15 mmol) og 4-dimetylamino-pyridin (18,4 mg, 0,15 mmol) ble tilsatt og blandingen omrørt i 1 time ved -10°C , ved hvilken tid tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte ren omdannelse til acetatesteren. Reaksjonsblandingen ble kromatografert på silikagel (9:1 metylenklorid:etylacetat-eluerings-middel) for å gi renset benzhydryl-1-acetoksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat [R_f 0,65 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 10

1-acetoksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylsyre

Benzhydryl-1-acetoksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylat (26 mg) ble oppløst i 3 ml etylacetat. Hydrogenkatalysator (10% palladium-på-karbon, 26 mg) ble tilsatt og reaksjonsblandingen hydrogenert ved romtemperatur og atmosfæretrykk i 1 time, ved hvilken tid tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte at det ikke var noe utgangsmateriale igjen. Katalysatoren ble fjernet ved filtrering og filtratet inndampet i vakuum for å gi 1-acetoksy-2-metylkarbapenam-3-karboksylsyre [15 mg; R_f 0,0 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CH_2Cl_2) $1770, 1730\text{ cm}^{-1}$].

Trietylammoniumsaltet av produktet ble fremstilt ved å oppløse det i metylenklorid, tilsette en ekvivalent trietylamin og inndampe til tørrhet. Andre farmasøytisk godtagbare aminsalter fremstilles på samme måte.

Eksempel 11

2,2,2-trikloretyl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

2,2,2-trikloretyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat ble omdannet til 2,2,2-trikloretyl-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat ifølge fremgangsmåten fra eksempel 1, idet reaksjonen styres ved hjelp av IR spektral-analyse. I en 10 mg skala krevdes 15 minutter for å avslutte reaksjonen, mens det i en 100 mg skala krevdes 40 minutter.

Produktet ble isolert ved inndampning av reaksjonsblandingen i vakuum, uten Raney-nikkel-behandling.

Eksempel 12

2,2,2-trikloretyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Nyfremstilt 2,2,2-trikloretyl-2-metyl-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat, fremstilt av 100 mg (0,317 mmol) av forløperoksydet ifølge eksempel 11, ble opptatt i 2 ml metylenklorid og avkjølt til -78°C . Tetrametylammoniumborhydrid (23 mg, 0,079 mmol) ble tilsatt. Etter 30 minutter indikerte spektralanalyse (1775 cm^{-1}) en tilfredsstillende reduksjon. Reaksjonen ble avsluttet med eddiksyre (0,58 ekvivalent, 10 mikrol.), ekstrahert to ganger med vandig bufferløsning (pH 7), tørket over vannfritt magnesiumsulfat og filtrert for å gi en løsning av 2,2,2-trikloretyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat. Om ønsket isoleres dette produkt ytterligere ved inndampning til tørrhet i vakuum ved redusert temperatur.

Eksempel 13

2,2,2-trikloretyl-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Til en nyfremstilt løsning av 2,2,2-trikloretyl-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat i metylenklorid, fremstilt fra 100 mg (0,317 mmol) av 1-beta-oksydet ved hjelp av metoden i eksemplene 11 og 12, ble tilsatt 24 mikroliter (0,317 mmol) pyridin, 29 mikroliter (0,317 mmol) eddiksyreanhydrid og 4 mg 4-dimetylamino-pyridin. Infrarød spektralanalyse indikerte ren omdannelse til det ønskede acetat. Etter vasking med vann og tørking ga inndampning til tørrhet 2,2,2-trikloretyl-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 1780, 1725, 1700 cm^{-1} ; R_f 0,7-0,75 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 14

Natrium-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Selektiv, mild spaltning av 2,2,2-trikloretylesteren ble oppnådd ved å følge metoden til Just og Grozinger. [Synthesis, 457 (1976)]. 2,2,2-trikloretyl-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (46 mg) ble oppløst i 0,812 ml tetrahydrofuran og avkjølt til 0°C . Sinkpulver (85 mg) ble tilsatt, fulgt av

157143

30

vandig fosfatbuffer (0,162 ml, pH 5,5). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0°C i 30 minutter, ved hvilken tid tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte at det ikke foregikk noen vesentlig reduksjon. Blandingen ble oppvarmet til romtemperatur. Langsom reaksjon ble indikert ved tlc. Etter 15 minutter ble ytterligere sinkpulver (85 mg) tilsatt og omrøring fortsatt i 3 timer, ved hvilken tid tlc indikerte at reaksjonen var i hovedsak fullstendig. Reaksjonsblandingen ble filtrert, og tetrahydrofuran ble fordampet fra filtratet i vakuum. Den vandige rest ble justert til pH 7,0 med natriumbikarbonat og frysetørket for å gi natrium-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [R_f 0,0 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 15

Pivaloyloksymetyl-2-acetoksymetyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-1-beta-oksocefalosporanat (25 mg) ble oppløst i 25 ml metylenklorid, avkjølt til -78°C og bestrålt med en sol-lampe. Denne reaksjon ble styrt ved hjelp av infrarød spektralanalyse ved å følge forsvinning av diazo-båndet. Reaksjonen var i det vesentlige fullstendig etter 1 time og resulterte i en metylenkloridløsning av pivaloyloksymetyl-2-acetoksymetyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat [$IR (CH_2Cl_2)$ 1810, 1740 cm^{-1}].

Produktet ble isolert som en olje ved inndampning i vakuum. Ved å vedlikeholde en lav temperatur under isolasjonen ble unødvendig nedbrytning hindret.

Eksempel 16

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylat

Ved å følge en av de alternative metoder i eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)cef-3-em-4-karboksylat (5 mg) i 5 ml metylenklorid (anvendelse av 30 minutters bestrålingstid) omdannet til pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylat [$IR (CH_2Cl_2)$ 1805, 1740, 1715, 1680 cm^{-1}].

Eksempel 17Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat

Nyfremstilt pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylat (fremstilt fra 200 mg pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)cef-3-em-4-karboksylat, innføring av en 2 g Raney-nikkel-behandling i isolasjonstrinnet) ble opptatt i 1 ml tetrahydrofuran og tilsatt til en omrørt oppslemning av 2 g spesielt aktivert sinkpulver (eksempel 2), i 6 ml eddiksyre inneholdende 30% tetrahydrofuran holdt ved 0-5°C. Etter omrøring i 1 time ved denne temperatur ble reaksjonsblandingen fortynnet med toluen og inndampet til tørrhet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [R_f 0,34 (9:1 kloroform:etylacetat; IR (CH_2Cl_2) 1790, 1750, 1680 cm^{-1}].

Eksempel 18Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-2-(fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåtene fra eksemplene 3 og 6 ble pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat (102 mg, 0,23 mmol) i 3 ml metylenklorid redusert ved innvirkning av tetrabutylammoniumborhydrid (15 mg, 0,06 mmol) og isolert for å gi renset pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat [68 mg, R_f 0,26 (4:1 kloroform:etylacetat; IR (CH_2Cl_2) 1775, 1750, 1675 cm^{-1}].

Eksempel 19Pivaloyloksymetyl-1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 18 ble pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat (135 mg, 0,3 mmol) redusert med tetrabutylammoniumborhydrid, og isolasjonen fortsatt til det stadium hvor en vasket, tørket og filtrert løsning av pivaloyloksymetyl-1-

157143

32

hydroksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat i metylenklorid forelå. Denne løsning ble avkjølt til -10°C . Pyridin (24 mg, 0,3 mmol), eddiksyreanhydrid (31 mg, 0,3 mmol) og 4-dimetylamino-pyridin (4 mg, 0,3 mmol) ble tilsatt i rekkefølge. Etter omrøring i 1 time ved -10°C indikerte tlc (4:1 kloroform:etylacetat) fullstendig acetylering. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med toluen og inndampet til tørrhet i vakuum med toluen-tilsetninger. Kromfatografi på silikagel (20:1 metylenklorid:etylacetat) ga pivaloyloksymetyl-1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [10 mg, R_f 0,36 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CH_2Cl_2) 1780, 1750, 1685 cm^{-1}].

Eksempel 20

Benzhydryl-2-metyl-1-okso-6-2-(fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylat

Benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)cef-3-em-4-karboksylat (200 mg) i 200 ml metylenklorid ved -78°C i en Pyrex-kolbe ble bestrålt med en sol-lampe i 30 minutter. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet for å gi benzhydryl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 1810, 1720, 1690 cm^{-1}].

Eksempel 21

Benzhydryl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat

Benzhydryl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-2-karboksylat (nyfremstilt fra 200 mg benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat ifølge fremgangsmåten fra eksempel 20), ble opptatt i den minimale, nødvendige mengde tetrahydrofuran og tilsatt til en blanding av 2 g spesielt aktivert sinkpulver (eksempel 2) oppslemmet i en blanding av 4 ml eddiksyre og 2 ml tetrahydrofuran ved -10°C . Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time ved -10°C , fortynnet med toluen, inndampet til tørrhet i vakuum med toluentilsetninger, opptatt i toluen, sink og sinksalter fjernet ved filtrering og gjenfordampet for å gi benzhydryl-2-

157143

33

metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat
[140 mg, IR (CH_2Cl_2) 1790, 1745, 1680 cm^{-1}].

Eksempel 22

Benzhydryl-1-hydroksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat

Ifølge de fremgangsmåter som er angitt i detalj i eksempel 3 ble benzhydryl-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat (138 mg, 0,28 mmol) i 15 ml metylenklorid redusert med tetrabutylammoniumborhydrid (18 mg, 0,07 mmol) ved -78°C , styrt og isolert som en vasket, tørket metylenkloridløsning av benzhydryl-1-hydroksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [R_f 0,24 (4:1 kloroform:etylacetat)]. Om ønsket isoleres produktet ytterligere ved inndampning til tørrhet.

Eksempel 23

Benzhydryl-1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat

Den vaskede, tørrede metylenkloridløsning av benzhydryl-1-hydroksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat, som var nyfremstilt ifølge eksempel 22, ble avkjølt til -10°C . Pyridin (22 mg, 0,28 mmol) eddiksyreanhydrid (29 mg, 0,28 mmol) og 4-dimetylaminopyridin (3,4 mg, 0,028 mmol) ble tilsatt i rekkefølge. Etter omrøring i 1 time ved -10°C indikerte tlc (4:1 kloroform:etylacetat) fullstendig acetylering. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet i vakuum med toluen-tilsetninger. Kromatografi på silikagel ved bruk av metylenklorid-etylacetat-gradient (0 til 7,5% etylacetat) ga benzhydryl-1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [18 mg, R_f 0,56 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CHCl_3) 1780, 1730, 1680 cm^{-1}].

Eksempel 24

1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylsyre

Benzhydryl-1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapenam-3-karboksylat (18 mg) ble oppløst i 3 ml etylacetat. Hydrogeneringskatalysator (18 mg av 10% palladium-på-kull) ble

157143

34

tilsatt, og blandingen hydrogenert ved atmosfærisk trykk og romtemperatur i 1 time. Når tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte at det ikke var noen forandring, ble en andre alikvot katalysator (18 mg) tilsatt. Ifølge tlc-forsøk forekom en viss omdannelse i løpet av den nærmeste time, ved hvilken tid en tredje alikvot katalysator (18 mg) ble tilsatt. Ved slutten av ytterligere en times hydrogenering indikerte tlc-forsøk at reaksjonen var fullstendig. Katalysator ble fjernet ved filtrering med vasking med etylacetat. Kombinasjonen av filtrat og vaskevæske ble inndampet til tørrhet i vakuum for å gi 1-acetoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksytsyre [R_f 0,77 (18:1 aceton:vann)]; IR (CH_2Cl_2) 1775, 1725, 1675 cm^{-1}].

Eksempel 25

Pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylyat

Metode A.

Ved å følge eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylyat (15 mg) i 15 ml metylenklorid bestrålt med en sol-lampe ved -78°C i 10 minutter, ved hvilken tid IR-analyse indikerte fullstendig omdannelse. Raney-nikkel (150 mg) ble tilsatt og omrøring fortsatt i 30 minutter ved -78°C . Raney-nikkel ble fjernet ved filtrering og filtratet inndampet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapen-2-em-3-karboksylyat [IR (CH_2Cl_2) 1810, 1750, 1715, 1690 cm^{-1}].

Metode B.

Ved å følge eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylyat (50 mg) i 50 ml metylenklorid bestrålt med en sol-lampe ved -78°C i 15 minutter, ved hvilken tid IR-analyse indikerte at omarrangeringen var fullstendig. Inndampning av reaksjonsblandingen i vakuum ga pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-karbapen-2-em-3-karboksylyat, som var egnet for viderebehandling.

Eksempel 26Pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)-
karbapenam-3-karboksylat

Det nyfremstilte pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapen-2-em-3-karboksylat fra metode B, eksempel 25, ble oppløst i den minimale nødvendige mengde tetrahydrofuran og tilsatt til en oppslemming av spesielt aktivert sinkpulver (eksempel 2; 500 mg) i en blanding av 1 ml eddiksyre og 0,5 ml tetrahydrofuran som ble holdt ved 0°C. Etter omrøring i 1 time ved 0°C ble reaksjonsblandingen fortynnet med toluen, inndampet til tørrhet i vakuum og tilsatt flere toluenporsjoner. Resten ble gjenoppløst i metylenklorid, sink fjernet ved filtrering og filtratet konsentrert igjen til tørrhet i vakuum. Resten ble opptatt i eter, uløselige forurensninger fjernet ved filtrering og filtratet inndampet til tørrhet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [20 mg; R_f 0,70 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 27Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-6-metoksy-2-metyl-6-(2-fenoksy-
acetamido)karbapenam-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-6-metoksy-2-metyl-1-okso-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat (79 mg, 0,17 mmol) i 10 ml metylenklorid ble redusert ved -78°C med tetrabutylammoniumborhydrid (11 mg, 0,04 mmol), reaksjonen styrt og råproduktet isolert ifølge eksempel 3. Kromatografi på silikagel (3:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel), styrt ved IR, ga pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-6-metoksy-2-metyl-6-(2-fenoksyacetamido)karbapenam-3-karboksylat [9,8 mg, 12%; R_f 0,3 (4:1, kloroform:etylacetat); IR (CH₂Cl₂) 1770, 1750, 1670 cm⁻¹].

Eksempel 28Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-
dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapen-2-em-3-
karboksylat

157143

36

Ved å følge eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat (10 mg) oppløst i 10 ml metylenklorid, avkjølt til -78°C og bestrålt med en sollampe i 20 minutter. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 1815, 1750, 1700 cm^{-1}].

Eksempel 29

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapenam-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapen-2-em-3-karboksylat (nyfremstilt ifølge eksempel 28 fra 127 mg (0,19 mmol) av cef-3-em-forløperen) ble opptatt i et minimum av tetrahydrofuran og tilsatt til en oppslemning av aktivert sinkpulver (1,27 g) i en blanding av 26 ml eddiksyre og 12 ml tetrahydrofuran ved 0°C . Omrøring ved 0°C ble fortsatt i 1 time. Produktet ble isolert ifølge de detaljerte fremgangsmåtene i eksempel 2, fulgt av utgnidning med eter for å gi pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapenam-3-karboksylat [30 mg; R_f 0,91 (etylacetat)]. Ytterligere 13 mg av mindre rent produkt ble oppnådd ved inndampning av eterutgnidning til tørrhet.

Eksempel 30

Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapenam-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapenam-3-karboksylat (103 mg, 0,16 mmol) i 10 ml metylenklorid ble omsatt med tetrabutylammoniumborhydrid (11 mg, 0,04 mmol) ved -78°C . Etter 15 minutter indikerte tlc (etylacetat) at reduksjonen var fullført. Isolasjon ifølge eksempel 3, bortsett fra bruk av 1:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel ved kromatograferingen, ga pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-

karbapenam-3-karboksylat [15 mg, 15%; IR (CH_2Cl_2) 1775, 1760, 1720, 1690 cm^{-1} ; R_f 0,0 (etylacetat)].

Eksempel 31

2-naftylmetyl-2-metyl-4-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapen-2-em-3-karboksylat

Ved å følge fremgangsmåten fra eksempel 1 (uten Raney-nikkel-behandling) ble 2-naftylmetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]cef-3-em-4-karboksylat (237 mg) omdannet til 2-naftylmetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapen-2-em-3-karboksylat.

Eksempel 32

2-naftylmetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat

2-naftylmetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapen-2-em-3-karboksylatet fra eksempel 31 ble opptatt i et minimum av tetrahydrofuran, og tilsatt til en oppslemning av aktivert sink (2,37 g) i 5 ml eddiksyre-30% tetrahydrofuran ved 0°C . Etter 1 time ved 0°C ble produktet isolert ifølge detaljerte fremgangsmåter fra eksempel 2. Det resulterende produktet ble opptatt i eter, uløselige stoffer fjernet ved filtrering og filtratet inndampet til tørrhet i vakuum for å gi 2-naftylmetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)-acetamido]-karbapenam-3-karboksylat [36 mg, 16%; R_f 0,48 (etylacetat)].

Eksempel 33

2-naftylmetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]karbapenam-3-karboksylat

2-naftylmetyl-2-metyl-1-okso-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat (36 mg, 0,056 mmol) i 3,6 ml metylenklorid ved -78°C ble redusert med tetrabutylammoniumborhydrid (3,6 mg, 0,014 mmol). Etter 1 times reaksjonstid ved -78°C indikerte tlc (etylacetat) at omdannelsen var fullstendig. Isolasjon ifølge eksempel 3

157143

38

(uten kromatografering) ga 2-naftylmetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat [36 mg; R_f 0,13 (etylacetat)].

Eksempel 34

Natrium-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat

2-naftylmetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat (36 mg, 0,056 mmol) ble oppløst i 2 ml dioksan. Vann (1 ml), natriumbikarbonat (4,7 mg, 0,056 mmol) og hydrogeneringskatalysator (36 mg av 10% palladium-på-kull) ble tilsatt og blandingen ble hydrogenert ved 3,52 kg/cm² og romtemperatur i 30 minutter. Styling ved hjelp av tlc (9:1 aceton:vann og 90:10:2 kloroform:etanol:eddiksyre) indikerte at hydrogenering var ufullstendig. Ytterligere 36 mg 10% palladium-på-kull ble tilsatt og hydrogenering under samme betingelser gjenopptatt i 30 minutter, ved hvilken tid tlc-kontroll indikerte at reaksjonen var fullstendig. Katalysator ble gjenvunnet ved filtrering og filtratet frysetørret for å gi natrium-1-hydroksy-2-metyl-6-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-karbapenam-3-karboksylat [10 mg, 34%, R_f 0,3 (9:1 aceton:vann; R_f 0,3 (90:10:2 kloroform:etanol:eddiksyre); IR (nujol mull) 1770, 1750, 1710 cm⁻¹].

Eksempel 35

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved å anvende metoder som er beskrevet i detalj i eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (222 mg) bestrålt, reaksjonen styrt og produktet isolert (uten Raney-nikkel-behandling) for å gi pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat [IR (CH₂Cl₂) 1810, 1750, 1710, 1680 cm⁻¹].

Eksempel 36Pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapenam-3-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylatet fra eksempel 35 ble redusert med sink (2,22 g) i 5,3 ml eddiksyre-30% tetrahydrofuran, ved hjelp av metoder som er beskrevet i detalj i eksempel 2, og isolert ifølge metoder som er beskrevet i detalj i eksemplene 2 og 32 ga pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapenam-3-karboksylat [100 mg, 50% totalt; IR (CH₂Cl₂) 1790, 1750, 1670 cm⁻¹].

Eksempel 37Pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-karbapenam-3-karboksylat

Ved hjelp av de metoder som er beskrevet i detalj i eksempel 33 ble pivaloyloksymetyl-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-oksokarbapenam-3-karboksylat (100 mg, 0,2 mmol) i 10 ml metylenklorid ved -78°C redusert med tetrametylammoniumborhydrid (13 mg, 0,05 mmol), reaksjonen styrt og produktet isolert. Sluttrensning ved hjelp av kromatografi på silikagel (3:1 metylenklorid:etylacetat) ga pivaloyloksymetyl-1-hydroksy-2-metyl-6-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamid)-karbapenam-3-karboksylat [18 mg, IR (CH₂Cl₂) 1775, 1750, 1660 cm⁻¹].

Eksempel 38Pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 1 ble pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (120 mg) bestrålt i 41 minutter i 120 ml metylenklorid ved -55°C. Inndampning til tørrhet ga pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksy)-etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat i kvantitativt utbytte [IR (CH₂Cl₂) 1810 cm⁻¹].

157143

40

Eksempel 39

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 4 ble det nyfremstilt pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat fra det foregående eksempel redusert til pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat. Råproduktet ble kromatografert på silikagel med 20:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel og tlc-styring; utbytte 62,5 mg, R_f 0,25 (4:1 kloroform:etylacetat); R_f 0,75 (etylacetat).

Eksempel 40

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 10 ble nyfremstilt pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (62,6 g) hydrogenolysert over 30 mg 5% Pd/C for etter silikagelkromatografi med etylacetat som elueringsmiddel å gi renset pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [21,1 mg; R_f 0,6 (etylacetat); R_f 0,0 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 41

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av metoden fra eksempel 1 og ved å bruke en bestrålingstid på 31 minutter og uten behandling med Raney-nikkel omdannes benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (100 mg) til benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat i hovedsakelig kvantitativt utbytte; IR (CH_2Cl_2) 1810 cm^{-1} .

Eksempel 42Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i eksempel 4 reduseres det nyfremstilte benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat fra det foregående eksempel til benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat, kromatograferes på 5 g silikagel med 20:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; utbytte 52,2 mg, R_f 0,5 (3:1 kloroform:etylacetat).

Eksempel 43Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

De to foregående eksempler ble gjentatt til det trinn ved hvilket det ble oppnådd en tørket metylenkloridløsning av rått benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat. Den sistnevnte ble avkjølt til -78°C , og eddiksyreanhydrid (18,7 mikrol.), pyridin (15,8 mikrol.) og 4-dimetylaminopyridin (4 mg) ble tilsatt. Etter omrøring i 1 time ved -78°C ble reaksjonsblandingen ekstrahert med vann, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet til tørrhet. Residuet ble kromatografert på silikagel med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; utbytte 32 mg. R_f 0,7 (3:1 kloroform:etylacetat).

Eksempel 44Natrium-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (30 mg) i 6 ml tetrahydrofuran og 6 ml vann ble hydrogenolysert over 150 mg 5% Pd/C i nærvær av 5,1 mg natriumbikarbonat ifølge eksempel 34. Etter fjerning av katalysator ble tetrahydrofuran fjernet ved vakuumfordampning. Den vandige rest ble ekstrahert med

157143

42

etylacetat og frysetørret for å gi natrium-6-alfa-(1-hydroksy-etyl)-1-hydroksy-3-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [20 mg; R_f 0.9 (9:1 aceton:vann); R_f 0,0 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Eksempel 45

Natrium-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra det foregående eksempel ble benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (10 mg) omdannet til natrium-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [12 mg; R_f 0,0 (4:1 kloroform:etylacetat); R_f 0,0 (etylacetat)].

Eksempel 46

Benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Metode A

Ved hjelp av metoden fra eksempel 1 ble benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (40 mg) bestrålt i 34 minutter. Raney-nikkel (0,4 g) ble tilsatt, og blandingen omrørt ved -78°C i 30 minutter. Raney-nikkel ble gjenvunnet ved filtrering. Inndampning av moderluten til tørrhet ga benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat, alt brukt uten veiing i det neste trinn [IR (CH_2Cl_2) 1805 cm^{-1}].

Metode B

Metode A ble gjentatt på 90 mg startmateriale med utelatelse av behandling med Raney-nikkel. Det samme produkt ble oppnådd i det vesentlige i kvantitativt utbytte [IR (CH_2Cl_2) 1805 cm^{-1}].

Eksempel 47

Benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Hele satsen av benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat fra metode A i det foregående

eksempel ble opptatt i 10 ml metylenklorid, avkjølt til -78°C og omsatt med tetrabutylammoniumborhydrid ifølge eksempel 4 og kromatografert på silikagel med 1:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi rensset benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat [21 mg; PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 1,5 (d, 3H, $J=6$), 2,0 (s, 3H) og 5,4 ppm (s, 2H)].

Eksempel 48

Benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av metoden fra eksempel 43, ved å gjenta metoden B fra eksempel 46 og eksempel 47, ble en tørket løsning av rått benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat acetylert til benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat, kromatografert på silikagel med 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; utbytte 12,7 mg; PNMR/ CDCl_3 /delta 3,5 ppm (q, 1H).

Eksempel 49

Natrium-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i eksempel 44 ble benzyl-6-alfa-(1-acetoksy)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (5,3 mg) i 2 ml dioksan og 1 ml vann hydrogenert over 10,6 mg 5% Pd/C i nærvær av natriumbikarbonat (1,24 mg). Utbyttet av natrium-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-hydroksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat var i det vesentlige kvantitativt, og produktet viste de antimikrobielle egenskaper som er angitt i tabell I.

Eksempel 50

Natrium-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av samme fremgangsmåte som i det foregående eksempel ble benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat (4 mg) omdannet i det hovedsakelige i kvantitativt utbytte til natrium-6-alfa-(1-acetoksy-

157143

44

etyl)-1-acetoksy-2-metylkarbapen-2-em-3-karboksylat, med de antimikrobielle egenskaper som er angitt i tabell I.

Eksempel 51

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av metoden i eksempel 1 ble benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em (31 mg) i 30 ml metylenklorid bestrålt ved -50°C i 10 minutter. Inndampning til tørrhet i vakuum ga benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metoksy-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat i kvantitativt utbytte [IR (CH_2Cl_2) 1810 cm^{-1}].

Eksempel 52

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-hydroksy-2-metoksykarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i eksempel 4 ble det nyfremstilte benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-metyl-1-oksokarbapen-2-em-3-karboksylat fra det foregående eksempel redusert til benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-1-hydroksy-2-metoksykarbapen-2-em-3-karboksylat, kromatografert på silikagel med 100:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; utbytte 5,8 mg; IR (CH_2Cl_2) 1780 cm^{-1} .

Eksempel 53

Natrium-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-hydroksy-2-metoksykarbapen-2-em-3-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 44 ble benzyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-1-hydroksy-2-metoksykarbapen-2-em-3-karboksylat (5,8 mg) hydrogenolysert over 17,4 mg 5% Pd/C i 3 ml 1:1 dioksan:vann i nærvær av natriumbikarbonat (1 mg). Utbytte av faststoffer var 8 mg som inneholdt 2,6 mg produkt. Produktet hadde de antimikrobielle egenskaper som angitt i tabell I.

Fremstilling 1Pivaloyloksymetyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

3-metylcef-3-em-4-karboksylsyre [12,9 g, 65 mmol; Kemp et al., Tetrahedron Letters, 3785 (1979)] ble oppløst i 100 ml dimetylformamid. Trietylamin (6,6 g, 65 mmol) ble tilsatt (mild eksoterm notert) og blandingen omrørt i 0,5 time ved romtemperatur. Kaliumbikarbonat (13 g, 130 mmol) ble tilsatt og omrøring fortsatt i ytterligere en time. Endelig ble klormetylpivalat (10,8 g, 70 mmol) tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt i ca. 16 timer, ved hvilken tid tlc (silikagel, 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel; fremkalling ved hjelp av alkalisk permanganat-spray) indikerte at reaksjonen var fullstendig. Reaksjonsblandingen ble hellet i 1,5 l eter, vasket med flere porsjoner vann, så med 1N saltsyre, igjen med vann og til slutt saltløsning, tørket over magnesiumsulfat og inndampet til tørrhet i vakuum med metylenklorid-tilsetninger for å gi pivaloyloksymetyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat [15,8 g, 79%; IR (CH_2Cl_2) 1770, 1750 cm^{-1}].

Fremstilling 2Pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-3-em-4-karboksylat (15,4 g, 49 mmol) ble oppløst i 1 l metylenklorid og avkjølt til 0°C. Mens denne temperatur ble bibeholdt, ble 80%ig m-klorperbenzoesyre (10,6 g, 49 mmol) tilsatt i fem like porsjoner i løpet av 1 time. Etter at tilsetningen var avsluttet ble reaksjonen fortsatt inntil tlc (metode og elueringsmiddel som i Fremstilling 1) indikerte at det var inntrådt fullstendig omdannelse til de tilsvarende alfa- og beta-oksyder (ca. 0,5 time). Reaksjonsblandingen ble vasket flere ganger med vann, så mettet bikarbonatløsning, så vann og endelig med saltløsning, tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet fjernet i vakuum. Det resulterende produkt ble kromatografert på silikagel (20 vektdeler) med etylacetat-10% metanol som elueringsmiddel for å gi pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (4,0 g; tlc: R_f 0,14 med 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel).

157143

46

Det tilsvarende 1-alfa-oksyd med lavere polaritet oppstår også ved kolonnekromatograferingen, men i mindre ren form.

Fremstilling 3

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (674 mg, 2,05 mmol) ble oppløst i 75 ml metylenklorid og avkjølt til 0°C. Diisopropyletylamin (397 mg, 3,08 mmol) og kalium-tert-butoksyd (345 mg, 3,08 mmol) ble tilsatt, fulgt etter noen få minutter av pikryl-azid [1,04 g, 4,1 mmol; E. Schrader, Ber. 50, 777 (1917)]. Etter omrøring i 30 minutter indikerte IR-spektralanalyse nærvær av et sterkt diazobånd. Trifluoreddiksyre (2 ekvivalenter) ble tilsatt, blandingen filtrert og filtratet inndampet til en gummi. Gummien ble kromatografert på silikagel med 3:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [384 mg; IR (CH₂Cl₂) 2080, 1790, 1725 cm⁻¹].

Fremstilling 4

Benzhydryl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-3-em-4-karboksylsyre (7,56 g, 38 mmol) ble oppløst i 100 ml metylenklorid. Difenyldiazometan (ca. 16,6 g, 85 mmol) ble tilsatt dråpevis inntil tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte at reaksjonen var fullstendig. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet, residuet opptatt i 50% vandig etylacetat og pH justert til 2,5. Etylacetatskiktet ble fraskilt, vasket flere ganger med vann, blandet med et like stort volum vann og pH justert til 7,8. Etylacetatskiktet ble igjen fraskilt, vasket flere ganger med vann og så med salt-løsning, tørket over vannfritt magnesiumsulfat, filtrert og inndampet for å gi benzhydryl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat [11,4 g, 82%; tlc: R_f 0,75 med 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel, IR (CH₂Cl₂) 1775, 1725 cm⁻¹].

Fremstilling 5

Benzhydryl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzhydryl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (11,4 g, 31 mmol) ble oksydert med 85%ig m-klorperbenzoesyre (7,0 g, 34 mmol, idet de 10% overskudd ble brukt for å fullføre reaksjonen) og en blanding av alfa- og beta-oksydene isolert ifølge fremgangsmåtene i Fremstilling 2. Råproduktet ble omkrystallisert fra etylacetat for å gi benzhydryl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [2,63 g, 22%; sm.p. 180-181°C (spaltn.); tlc: R_f 0,05 (4:1 kloroform:etylacetat elueringsmiddel)]. Filtratet ble inndampet til tørrhet og kromatografert på silikagel (samme elueringsmiddel) for å gi 3-metyl-1-alfa-oksocef-3-em-4-karboksylat [2,7 g, 22%; sm.p. 163-165°C (spaltn.); tlc: R_f 0,15 (samme elueringsmiddel)] og ytterligere 0,8 g (7%) av 1-beta-oksydet.

Fremstilling 6

Benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzhydryl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (1,5 g, 4 mmol) i 160 ml metylenklorid, diisopropyletylamin (568 mg, 4,4 mmol), kalium-tert-butoksyd (493 mg, 4,4 mmol) og pikryl-azid (2,03 g, 8 mmol) ble omsatt ifølge metodene i Fremstilling 3. Reaksjonen ble styrt ved hjelp av tlc (18:1 kloroform:etylacetat). Etter omrøring i 1 time ved 0°C var det bare spor av startmateriale igjen. Trifluoreddiksyre (2 ekvivalenter) ble tilsatt, reaksjonsblandingen filtrert og filtratet inndampet til en gummi. Residuet ble utgnidd flere ganger med eter og residuet tørket i høyvakuum i 10 minutter. Residuet ble krystallisert fra 3:1 metylenklorid:etylacetat for å gi benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [1 g, 62%; R_f 0,4 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CH₂Cl₂) 2080, 1805, 1745, 1680 cm⁻¹].

I en annen fremstilling hvor produktet ikke krystalliserte, ble råproduktet kromatografert på silikagel (3:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel), hvorved det oppnåddes et produkt i samme utbytte. Produktet fremstilles alternativt ved

157143

48

hjelp av den lignende fremgangsmåten til Ebbinghaus et al. [J. Org. Chem. 44, 4697 (1979)].

Fremstilling 7

2,2,2-trikloretyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

3-metylcef-3-em-4-karboksylsyre (4 g, 20 mmol) ble oppløst i 200 ml metylenklorid som inneholdt pyridin (2,05 g, 26 mmol). 2,2,2-trikloretyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (3 g, 20 mmol) ble tilsatt, fulgt av dicykloheksylkarbodiimid (4,5 g, 22 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i ca. 16 timer ved romtemperatur. Utfelte faststoffer ble fjernet ved filtrering og filtratet inndampet til tørrhet i vakuum. Residuet ble opptatt i etylacetat og gjeninndampet, residuet utgitt med heksan og filtrert for å gi 2,2,2-trikloretyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat [IR (CH₂Cl₂) 1775, 1730 cm⁻¹].

Fremstilling 8

2,2,2-trikloretyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

2,2,2-trikloretyl-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (3,1 g, 9 mmol) i 300 ml metylenklorid med 85%ig m-klorperbenzoesyre (1,9 g, 9 mmol) og en blanding av de alfa- og beta-oksyder som er isolert ifølge de metoder som er angitt i detalj i Fremstilling 2. Omkrystallisasjon av råproduktet ga 2,2,2-trikloretyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (539 mg, sm.p. 166-170°C). Filtratet, inndampet til tørrhet og kromatografert på silikagel (9:1 etylacetat:metanol) ga ytterligere 1-beta-oksyd [482 mg; sm.p. 169-170°C; R_f 0,10 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Fremstilling 9

2,2,2-trikloretyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

2,2,2-trikloretyl-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (1,04 g, 3 mmol) i 75 ml metylenklorid ble omsatt med diisopropyletylamin, kalium-tert-butoksyd og pikryl-azid, ved å bruke de ekvivalenter og fremgangsmåter som er angitt i Fremstilling 3. Isolering og rensing ved hjelp av metoder som er identiske med dem som ble anvendt i nevnte Fremstilling 3 ga 2,2,2-trikloretyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-

157143

49

karboksylat [659 mg, 58%, R_f 0,4 (4:1 kloroform:etylacetat)
IR (CH_2Cl_2) 2080, 1790, 1730 cm^{-1}].

Fremstilling 10

7-bromcefalosporansyre

7-aminocefalosporansyre (54,4 g, 0,20 mmol) ble suspendert i en blanding av 1 liter vann og 0,25 liter metanol og avkjølt til 0-5°C. Under omrøring og bibehold av dette temperaturområde ble hydrobromsyre (48%ig, 338 ml, 0,20 mmol) tilsatt dråpevis, fulgt av porsjonsvis tilsetning av natriumnitritt (20,7 g, 0,30 ml). Rikelig gassutvikling ble notert. Etter ytterligere 60 minutters omrøring ved 0-5°C ble reaksjonsblandingens metanol fjernet i vakuum, og produktet ekstrahert med åtte 250 ml porsjoner kloroform. Kloroformekstraktene ble kombinert, tilbakevasket med saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og filtratet inndampet i vakuum for å gi 7-bromcefalosporansyre [25,2 g; lysegult skum; PNMR ($\text{CDCl}_3/\text{TMS}/\delta$) inkluderer 2,0 (s, 3H); 3,0-4,0 (m, 2H)].

Fremstilling 11

Cefalosporansyre

Hydrogeneringskatalysator (25,2 g av 5% palladium-på-kalsiumkarbonat) ble forhåndsredusert i 25 ml vann på en Paar rystemaskin. 7-bromcefalosporansyre ble opptatt i en blanding av 50 ml tetrahydrofuran og 50 ml vann og tilsatt til katalysatoroppslemningen. pH ble justert til 4,5 og blandingen hydrogenert inntil hydrogenopptaket opphørte. Katalysatoren ble gjenvunnet ved filtrering på diatoméjord og tetrahydrofuran fjernet fra filtratet i vakuum. Til den vandige resten ble det tilsatt et like stort volum etylacetat og pH justert til 1,5. Etylacetatskiktet ble fraskilt og det vandige skiktet ekstrahert med fire ytterligere porsjoner etylacetat. Etylacetatekstraktene ble kombinert, tilbakevasket med saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet til tørrhet i vakuum for å gi cefalosporansyre [13,2 g; skum; PNMR ($\text{CDCl}_3/\text{TMS}/\delta$): inkluderer 2,0 (s, 3H); 2,5-4,2 (m, 4H)].

157143

50

Fremstilling 12

Pivaloyloksymetyl-cefalosporanat

Cefalosporansyre (5,0 g, 19,4 mmol), oppløst i 50 ml dimetylformamid, ble omsatt med trietylamin (1,96 g, 19,4 mmol), kaliumbikarbonat (3,89 g, 38,9 mmol) og klormetylpivalat (3,21 g, 3,07 ml, 21,4 mmol) ifølge de fremgangsmåter som er angitt i detalj i Fremstilling 1. Etter omrøring i ca. 16 timer ved romtemperatur indikerte tlc at reaksjonen var ufullstendig. Ytterligere kaliumkarbonat (1,95 g) og klormetylpivalat (3,21 g) ble tilsatt og reaksjonen fortsatt i ytterligere 6 timer, ved hvilken tid bare en liten mengde startmateriale var igjen. Isolasjon som også foregikk som i Fremstilling 1, ga pivaloyloksymetylcefalosporanat [5,31 g; olje; IR (CH₂Cl₂) 1775, 1750 cm⁻¹; R_f 0,7 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Fremstilling 13

Pivaloyloksymetyl-1-beta-oksocefalosporanat

Pivaloyloksymetyl-cefalosporanat (5,31 g, 14,3 mmol) i 50 ml kloroform ble omsatt med 85%ig m-klorperbenzoesyre (2,46 g, 12,2 mmol) ved 0°C i 1 time. Reaksjonsblandingen ble filtrert, filtratet vasket i rekkefølge med mettet natriumbikarbonat, vann og saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og filtratet inndampet i vakuum for å gi produktet i form av en olje (4,97 g). Oljen ble kromatografert på 150 g silikagel med oppsamling av 12 ml fraksjoner av etylacetat-elueringsmidlet. Fraksjoner 38-64 ble kombinert og inndampet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-1-alfa-oksocefalosporanat (625 mg). Fraksjoner 110-183 ble kombinert og inndampet i vakuum for å gi pivaloyloksymetyl-1-beta-oksocefalosporanat [984 mg; IR (CH₂Cl₂) 1790, 1745 cm⁻¹].

Fremstilling 14

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-1-beta-oksocefalosporanat

Ved i hovedsak å følge fremgangsmåten til Ebbinghaus et al. [J. Org. Chem. 44, 4697 (1979)], ble pivaloyloksymetyl-1-beta-okso-2-diazocefalosporanat (120 mg, 0,31 mmol) oppløst i

12 ml metylenklorid og avkjølt til -10°C . Pikrylazid (158 mg, 62 mmol) og diisopropyletylamin (80 mg, 62 mmol) ble tilsatt, og blandingen omrørt ved -10°C i 90 minutter, ved hvilken tid tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte at reaksjonen var fullstendig. Reaksjonsblandingen ble inndampet for å fjerne løsningsmiddel i vakuum og kromatografert på silikagel (3:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel) for å gi pivaloyloksymetyl-2-diazo-1-beta-oksocefalosporanat [89 mg, 61%; R_f 0,2 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CH_2Cl_2) 1795, 1750 cm^{-1}].

Fremstilling 15

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)cef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre (69,6 g, 0,2 mol) ble oppløst i 300 ml dimetylformamid og omsatt i rekkefølge med trietylamin (20,2 g, 0,2 mol), kaliumbikarbonat (40 g, 0,4 mol) og klormetylpivalat (33 g, 0,22 mol) ifølge fremgangsmåten i Fremstilling 1. For å isolere produktet ble reaksjonsblandingen fortynnet med 3 l eter, og den organiske løsning vasket, tørket og inndampet til tørrhet, som angitt i detalj i Fremstilling 1, for å gi pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [75,5 g, 82%; IR (CH_2Cl_2) 1776, 1750, 1685 cm^{-1}].

Fremstilling 16

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (76,5 g, 0,16 mol) i 2 l metylenklorid, holdt ved $0-5^{\circ}\text{C}$, ble oksydert med 85%ig m-klorperbenzoesyre (32,5 g, 0,16 mol) tilsatt i to porsjoner i løpet av ca. 1 time. Reaksjonen ble styrt ved hjelp av tlc (metode og elueringsmiddel som i Fremstilling 1). Så snart reaksjonen var ferdig fulgte isolasjon etter de fremgangsmåter som er angitt i Fremstilling 2 for å gi pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (41 g, 54%, sm.p. $138-140^{\circ}\text{C}$) med en slik renhet at kolonnekromatografering var unødvendig.

157143

52

Fremstilling 17

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (4,78 g, 10 mmol) i 400 ml metylenklorid ble omsatt ved 0°C med diisopropylamin (1,9 g, 15 mmol), kalium-tert-butoksyd (1,7 g, 15 mmol) og pikryl-azid (5,08 g, 20 mmol) ifølge fremgangsmåter som er angitt i Fremstilling 3. Reaksjonen ble styrt ved hjelp av tlc (metode og elueringsmiddel som i Fremstilling 1). Tredve minutter etter tilsetning av azidet indikerte tlc at alle startmaterialer var forbrukt. Råprodukt, isolert ifølge Fremstilling 1, ble kromatografert på silikagel (4:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel) for å gi pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [1,5 g, 29%; R_f 0,33 (4:1 kloroform:etylacetat; IR (CH_2Cl_2) 2080, 1800, 1725, 1720, 1690 cm^{-1}].

Fremstilling 18

Benzhydryl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre (17,75 g, 51 mmol) ble oppløst i 100 ml metylenklorid. Difenyldiazometan (ca. 75 mmol) ble tilsatt dråpevis under omrøring inntil en fiolett farve holdt seg i reaksjonsblandingen. Etter ytterligere 30 minutters omrøring ved romtemperatur ble metylenkloridet fordampet i vakuum. Residuet ble opptatt i en blanding av 100 ml vann og viderebehandlet ifølge Fremstilling 4 for å gi benzhydryl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [5,03 g; $^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{TMS}/\delta$): inkluderer 2,0 (s, 3H), 3,2 (m, 2H), 4,5 (s, 2H), 6,9-7,6 (m, 11H)].

Fremstilling 19

Benzhydryl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Benzhydryl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (18,0 g, 35 mmol) ble oppløst i 100 ml kloroform, avkjølt til 0-5°C og 85%ig m-klorperbenzoesyre (7,1 g, 35 mmol)

tilsatt porsjonsvis. Blandingen ble oppvarmet til romtemperatur og omrørt i 1 time, ved hvilken tid tlc indikerte at reaksjonen var ufullstendig. Ytterligere 85%ig m-klorperbenzoesyre (0,71 g, 3,5 mmol) ble tilsatt, og omrøring fortsatte i 1,5 timer, ved hvilken tid det ikke var noen startmaterialer igjen ved tlc-kontroll. Isolasjon ifølge fremgangsmåten fra Fremstilling 3 ga benzhydryl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [14,0 g; PNMR (CDCl_3 /TMS/delta): inkluderer 2,0 (s, 3H), 3,3 (m, 2H), 6,1 (dd, 1H, $J=5, 12$)].

Fremstilling 20

Benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Benzhydryl-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (5,3 g, 10 mmol) i 250 ml metylenklorid ble omsatt med reagenser og reagensmengder som i Fremstilling 17, som angitt i detalj i Fremstilling 3. Tredve minutter etter tilsetning av azid ble råprodukt isolert ifølge Fremstilling 3. Kromatografering ifølge Fremstilling 17 ga benzhydryl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [1,1 til 1,7 g; IR (CH_2Cl_2) 2080, 1800, 1700 cm^{-1}].

Fremstilling 21

Pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Metode A

Ved å følge en fremgangsmåte analog med den hos Koppel og Koehler [J. Am. Chem. Soc. 95, 2403 (1973)], ble en fenyl-litium-løsning (4,76 ml 2,1M i benzen-eter, 10 mmol) tilsatt til 80 ml tørt tetrahydrofuran ved 0°C. Metanol (8,5 ml) ble tilsatt og oppløsningen omrørt i 2 min. ved 0°C, så avkjølt til -46°C, ved hvilket punkt pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (924 mg, 2 mmol) ble tilsatt fulgt etter 1 minutt av tert-butyl-hypokloritt (0,286 ml, 2,4 mmol), og etter ytterligere 2 minutter, en blanding av 8,5 ml eddiksyre og 8,5 ml tetrahydrofuran. Reaksjonsblandingen fikk varme seg opp til romtemperatur, ble fortynnet med toluen

157143

54

og inndampet til tørrhet i vakuum. Residuet ble opptatt i toluen, vasket i rekkefølge med 10%ig, vandig natriumbisulfitt, vandig fosfatbuffer (pH 8) og saltløsning, tørket over vannfritt magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert til tørrhet i vakuum. Det resulterende råprodukt ble kromatografert på silikagel ved å bruke en metylenklorid-etylacetat-gradient (0-10% etylacetat) for å gi pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [316 mg; R_f 0,67 (etylacetat); IR (CH_2Cl_2) 1775, 1740, 1690 cm^{-1}].

Metode B

Metode A ble gjentatt ved å erstatte fenyl-litium med n-butyllitium (0,65 g, 20 mmol). Utbyttet fra kolonnen var 416 mg (42%).

Fremstilling 22

Pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Ifølge fremgangsmåten i Fremstilling 2 ble pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (316 mg, 0,64 mmol) i 9 ml metylenklorid ved 0°C oksydert med 80%ig m-klorperbenzoesyre (138 mg, 0,64 mmol) tilsatt i 10 like porsjoner i løpet av 1 time. En blanding av alfa- og beta-oksyder ble isolert ifølge Fremstilling 2 og kromatografert på silikagel (3:1 metylenklorid:etylacetat) for å gi pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [52-64 mg, 16-20%; R_f 0,1 (4:1 kloroform:etylacetat)] og pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-1-alfa-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [65-67 mg, 20-21%; R_f 0,2 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Fremstilling 23

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Ifølge metoder angitt i detalj i Fremstilling 3 ble pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (136 mg, 0,27 mmol) i 12 ml metylenklorid ved -10°C omsatt med diisopropylamin (52 mg,

0,4 mmol), kalium-tert-butoksyd (45 mg, 0,4 mmol) og pikryl-azid (136 mg, 0,54 mmol). Reaksjonsblandingen ble holdt på -10°C og infrarød spektralanalyse indikerte at omdannelse til azid var ufullstendig 0,5 time etter azidtilsetningen, men at omdannelsen var fullstendig i løpet av 1 time derefter. Råproduktet ble isolert og kromatografert, også ifølge Fremstilling 3, for å gi 2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-beta-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [65 mg, 45%; IR (CH_2Cl_2) 2080, 1790, 1725, 1690 cm^{-1}].

Fremstilling 24

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-alfa-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat

Ved å følge den fremgangsmåte som er angitt i Fremstilling 23 ble pivaloyloksymetyl-7-metoksy-3-metyl-1-alfa-okso-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat (178 mg, 0,35 mmol) i 15 ml metylenklorid ved -10°C omsatt med diisopropyletylamin (68 mg, 0,525 mmol), kalium-tert-butoksyd (59 mg, 0,525 mmol) og pikrylazid (178 mg, 0,7 mmol). Etter 1 time ved -10°C indikerte IR spektralanalyse betydelig omdannelse til diazo-forbindelsen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur, ved hvilken tid IR og tlc (4:1 kloroform:etylacetat) indikerte fullstendig omdannelse. Isolasjon og kromatografering ifølge Fremstillingene 3 og 23 ga pivaloyloksymetyl-2-diazo-7-metoksy-3-metyl-1-alfa-okso-7-(2-fenoksyacetamido)-cef-3-em-4-karboksylat [54 mg, 29%; IR (CH_2Cl_2) 2075, 1795, 1750, 1700, 1690 cm^{-1}].

Fremstilling 25

3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylsyre

Cefaleksin (696 mg, 2 mmol) ble oppløst i 10 ml vann ved 5°C ved innvirkning av kaliumkarbonat (304 mg, 2,2 mmol). Etylacetat (5 ml) ble tilsatt, og så ble 4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karbonyl-klorid (450 mg, 2,2 mmol) tilsatt i løpet av en periode på 15 minutter ved $0-5^{\circ}\text{C}$. Etter at tilsetningen var ferdig ble reaksjonsblandningen omrørt i ytterligere 30 minutter, ved hvilken tid etylacetatskiktet ble fraskilt og den vandige fasen vasket med en tilleggsporsjon av etylacetat. Den

157143

56

vandige fase ble justert til 2,5 og produktet ekstrahert med flere porsjoner ny etylacetat. De sure etylacetat-ekstraktene ble kombinert, tilbakevasket med vann, vasket med saltløsning, tørket over vannfritt magnesiumsulfat, inndampet til tørrhet i vakuum, og residuet krystallisert fra metylenklorid for å gi 3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylsyre (568 mg, sm.p. 199-200°C).

Fremstilling 26

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre (3,5 g, 6,8 mmol) i 15 ml tørt dimetylformamid, trietylamin (0,69 g, 6,8 mmol), kaliumbikarbonat (1,36 g, 13,6 mmol) og klormetylpivalat ble både omsatt og produktet isolert ifølge fremgangsmåtene i Fremstilling 1, hvilket resulterte i pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [1,62 g; R_f 0,48 (etylacetat)].

Fremstilling 27

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat ble oppløst i 60 ml metylenklorid og avkjølt til 0°C. m-klorperbenzoesyre (80%ig, 720 mg, 3,3 mmol) ble tilsatt i 7 like porsjoner i løpet av en periode på 1 time idet temperaturen ble holdt på 0°C. Etter den siste tilsetningen indikerte tlc (etylacetat) at oksydasjonen var fullstendig. Isolasjon utført som i Fremstilling 2 (kromatografering unødvendig) ga pivaloyloksymetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [1,5 g, 70%; R_f 0,19 (etylacetat)].

Fremstilling 28

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat (1,3 g, 2 mmol) i 130 ml metylenklorid ble omsatt med diisopropyletylamin (387 mg, 3 mmol), kalium-tert-butoksyd (336 mg, 3 mmol) og pikrylazid, ved å følge fremgangsmåtene som er angitt i Fremstilling 3. Isolasjon av råprodukt og kromatografering på silikagel (etylacetat som elueringsmiddel) ga pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [750 mg; R_f 0,25 (etylacetat)].

Fremstilling 29

2-naftylmetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylsyre (4,48 g, 8,7 mmol) ble oppløst i 30 ml dimetylformamid. Trietylamin (8,79 mg, 8,7 mmol) ble tilsatt og blandingen omrørt i 30 minutter. Kaliumbikarbonat (1,74 g, 17,4 mmol) ble tilsatt og omrøring fortsatt i 1 time. Endelig ble natriumjodid (1,3 g, 8,7 mmol) og 2-(brommetyl)-naftalen (2,11 g, 9,6 mmol) tilsatt (en svak varmeutvikling ble observert), og blandingen ble omrørt i ca. 16 timer ved romtemperatur. Siden tlc (9:1 aceton:vann) styring av reaksjonsblandingen i de neste 8 timer indikerte at reaksjonen var avsluttet før fullstendig omdannelse til esteren, ble en tiendedel av mengdene av kaliumbikarbonat, natriumjodid og 2-(brommetyl)naftalen tilsatt, og reaksjonen fikk fortsette i ytterligere 16 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med 1:1 etylacetat:vann, og det organiske skiktet ble fraskilt og tilbakevasket flere ganger med vann. Den organiske fase ble skiktet med nytt vann, pH senket til 2,5 og det organiske skiktet fraskilt, vasket med flere porsjoner vann, vasket med saltløsning, tørret over vannfritt magnesiumsulfat,

157143

58

filtrert og inndampet i vakuum for å gi 2-naftylmetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [4,8 g, 84%; R_f 0,39 (etylacetat)].

Fremstilling 30

2-naftylmetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat

2-naftylmetyl-3-metyl-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat (4,8 g, 7,3 mmol) i 480 ml metylenklorid ble omsatt ved 0°C med 80%ig m-klorperbenzoesyre (1,6 g, 7,3 mmol) tilsatt i 5 like porsjoner i løpet av 1 time. tlc (etylacetat) indikerte at startmaterialet var forbrukt. Isolasjon ifølge Fremstilling 27 ga 2-naftylmetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [3,3 g, 67%, R_f 0,13 (etylacetat)].

Fremstilling 31

2-naftylmetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylat

2-naftylmetyl-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat (382 mg, 0,57 mmol) i 38 ml metylenklorid ved -10°C ble omsatt med diisopropyletylamin (110 mg, 0,86 mmol), kaliumtert-butoksyd (96 mg, 0,86 mmol) og pikryl-azid (290 mg, 1,14 mmol) ifølge fremgangsmåter angitt i Fremstilling 3. Etter 0,5 time ved -10°C indikerte IR- og tlc- (etylacetat) analyser at omdannelsen var fullstendig. Produktet ble isolert og kromatografert på silikagel (etylacetat-elueringsmiddel) ifølge Fremstilling 3 for å gi 2-naftylmetyl-2-diazo-3-metyl-1-beta-okso-7-[2-fenyl-2-(4-etyl-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-acetamido]-cef-3-em-4-karboksylat [237 mg, 60%; IR (CH_2Cl_2) 2080, 1800, 1760, 1740 cm^{-1} ; R_f 0,25 (etylacetat)].

Fremstilling 32

3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre

7-aminodesacetoksycefalosporansyre (7-amino-3-metyl-cef-3-em-4-karboksylsyre; 21,4 g, 0,1 mmol) ble oppløst i 800 ml vann ved innvirkning av natriumbikarbonat (27,9 g, 0,33 mmol).

Løsningen ble fortynnet med 800 ml aceton og avkjølt til 0°C. 5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karbonylklorid (27,7 g, 0,33 mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt i 2 timer ved 0°C og så holdt ved kjøleskaptemperatur i ca. 16 timer. Aceton ble fjernet ved inndampning i vakuum, den vandige rest ekstrahert flere ganger med etylacetat. Skikting av den vandige fase med etylacetat og justering av pH til 2,0 felte ut det ønskede produkt. Filtrering med etylacetatvasking ga 3-metyl-7-(5-metyl-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre [27,5 g, PNMR (TMS/DMSO-d₆) delta: inkluderer 2,0 (s, 3H); 2,4 (s, 3H); 3,4 (m, 2H); 7,2-7,8 (m, 5H)].

Fremstilling 33

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylat

3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylsyre (25,9 g, 65 mmol) ble oppløst i vannfritt dimetylformamid (150 ml). Trietylamin (19,7 g, 195 mmol), kalium-bikarbonat (19,5 g, 195 mmol), natriumjodid (29,3 g, 195 mmol) og klormetyl-pivalat (29,3 g, 195 mmol) ble tilsatt. En varmeutvikling ble observert idet temperaturen steg til ca. 35°C. Etter omrøring i 6 timer ved omgivelsestemperatur indikerte tlc-undersøkelse (4:1 kloroform:etylacetat) at det var igjen betydelige mengder startmateriale. Ytterligere klormetyl-pivalat (8,4 g, 65 mmol) ble tilsatt og omrøring ved omgivelsestemperatur fortsatt i 16 timer. Isolasjon som angitt i Fremstilling 1 ga pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylat [25,3 g, 76%; R_f 0,8 (4:1 kloroform:etylacetat; IR (CH₂Cl₂) 1780, 1750, 1670 cm⁻¹].

157143

60

Fremstilling 34

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-okso-cef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-cef-3-em-4-karboksylat (24,6 g, 48 mmol) i 1200 ml metylenklorid ved 0°C ble omsatt med 80%ig m-klorperbenzoesyre (10,4 g, 48 mmol). Etter 1 time ga isolasjon ifølge Fremstilling 2 (uten kromatografering) pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-okso-cef-3-em-4-karboksylat [10,9 g, 43%; R_f 0,4 (4:1 kloroform:etylacetat)].

Fremstilling 35

Pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-okso-cef-3-em-4-karboksylat

Ifølge den fremgangsmåte som er angitt i Fremstilling 3 ble pivaloyloksymetyl-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-okso-cef-3-em-4-karboksylat (2,1 g, 4 mmol) i 200 ml metylenklorid ved -10°C omsatt med diisopropyletylamin (774 mg, 6 mmol), kalium-tert-butoksyd (672 mg, 6 mmol) og pikrylazid (2,0 g, 8 mmol), reaksjonen styrt og produktet isolert (bortsett fra at 3:1 metylenklorid:etylacetat ble anvendt som elueringsmiddel i silikagelkromatograferingen), hvilket ga pivaloyloksymetyl-2-diazo-3-metyl-7-(5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido)-1-beta-okso-cef-3-em-4-karboksylat [1,09 g, 49%; IR (CH₂Cl₂) 2080, 1800, 1750, 1680 cm⁻¹].

Fremstilling 36

Pivaloyloksymetyl-6,6-dibrompenicillanat

6,6-dibrompenicillansyre [Clayton, J. Chem. Soc. C, 2123 (1969); 10 g, 30 mmol] i 200 ml dimetylformamid ble omsatt med trietylamin (4,17 ml, 30 mmol), kaliumbikarbonat (3,0 g, 30 mmol) og klormetyl-pivalat (4,3 ml, 30 mmol). Etter omrøring i 5 timer ved romtemperatur indikerte tlc (18:1 aceton:vann) betydelige mengder startmateriale. Ytterligere porsjoner av klormetyl-pivalat (4,3 ml, 30 mmol) og kaliumbikarbonat (3,0 g, 30 mmol) ble tilsatt, og reaksjonen fikk lov å fortsette i

ytterligere 16 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble inndampet til tørrhet i vakuum og residuet kromatografert på silikagel med 30:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel, styrt ved tlc- og IR-analyse. Det oppsto pivaloyloksymetyl-6,6-dibrom-penicillanat [1,73 g, R_f 0,77 (18:1 aceton:vann); IR (CH_2Cl_2) 1790, 1750 cm^{-1}].

Fremstilling 37

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillansyre

Under en nitrogenatmosfære og i en flammetørket, 50 ml trehalskolbe ble pivaloyloksymetyl-6,6-dibrompenicillansyre (1,0 g, 2,33 mmol) oppløst i tørt, nydestillert tetrahydrofuran og avkjølt til -78°C . tert-butyl-magnesiumklorid-løsning (1,03 ml, 2,7M, 2,79 mmol) i eter ble tilsatt med en sprøyte og reaksjonsblandingen omrørt i 1 time ved -78°C . Acetaldehyd (0,29 ml, 5,23 mmol) ble så tilsatt, og reaksjonen fikk lov å fortsette i ytterligere 1 time ved -78°C . Reaksjonsblandingen ble tilsatt eddiksyre (0,22 ml, 3,9 mmol), fikk varme seg opp til romtemperatur og ble inndampet til tørrhet i vakuum. Residuet ble fordelt mellom like volumer kloroform og vann. Den vandige fase ble ekstrahert med to nye porsjoner kloroform. Kloroformfasen og vaskeløsningene ble kombinert, tilbakevasket med vann, vasket med saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet til tørrhet for å gi pivaloyloksymetyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillansyre [1,01 g; olje; IR (CH_2Cl_2) 1775, 1750 cm^{-1}].

Fremstilling 38

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat

Hydrogeneringskatalysator (1,01 g 10% palladium-på-karbon) ble oppslemmet i 10 ml vann og forhydrogenert i 10 minutter (3,5 kg/ cm^2 , romtemperatur). Pivaloyloksymetyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (1,01 g) i 10 ml tetrahydrofuran ble tilsatt, og hydrogenering gjenopptatt i 1,5 timer. Katalysatoren ble fjernet ved filtrering og vasket med vandig tetrahydrofuran. Tetrahydrofuranet ble inndampet i vakuum fra det kombinerte filtrat og vaskevaskene. Produktet ble ekstrahert

157143

62

fra den vandige rest med 4 porsjoner etylacetat, og etylacetat-ekstraktene ble kombinert, vasket med saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet for å gi pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (249 mg). Katalysatorkaken ble oppslemmet i ca. 100 ml tetrahydrofuran, katalysatoren gjenvunnet ved filtrering og filtratet inndampet i vakuum for å gi ytterligere 278 mg av det ønskede produkt [IR (CH_2Cl_2) 1770, 1760 cm^{-1} ; R_f 0,48 (4:1 kloroform: etylacetat)].

Fremstilling 39

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-penicillanat

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (468 mg, 1,49 mmol) og diisopropyletylamin (0,30 ml) ble oppløst i 50 ml metylenklorid. Løsningen ble avkjølt til 0°C, 4-dimetylaminopyridin (18,7 mg) og eddiksyreanhydrid (0,17 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt i 30 minutter ved romtemperatur, ved hvilken tid tlc-analyse indikerte at acetyleringen var fullstendig. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med vandig buffer (pH 7,0), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet for å gi det ønskede produkt. Kromatografering (30:1 kloroform:etylacetat) ga rensset pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)penicillanat [120 mg; IR (CH_2Cl_2) 1770, 1750 cm^{-1} ; R_f 0,35 (30:1 kloroform: etylacetat; 0,80 (15:1 metylenklorid:etylacetat))].

Fremstilling 40

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-oksopenicillanat

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-penicillanat (120 mg, 0,31 mmol) ble oppløst i 10 ml metylenklorid og avkjølt til -78°C. m-klorperbenzoesyre (85%ig, 62 mg, 0,31 mmol) ble tilsatt i tre porsjoner i løpet av 1 time. Etter 2,5 timers omrøring ved -78°C indikerte tlc-analyse (15:1 kloroform: etylacetat) at oksydasjonen var fullstendig. Isolasjon ifølge Fremstilling 2 (unødvendig med kromatografering) ga pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-oksopenicillanat [91 mg; IR (CH_2Cl_2) 1780, 1750 cm^{-1} ; R_f 0,22 (15:1 metylenklorid: etylacetat)].

Fremstilling 41Pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

Ved å følge fremgangsmåten som er analog med metoden til Morris et al. [J. Am. Chem. Soc. 85, 1896 (1973)], pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-okso-penicillansyre (90,5 mg) oppløst i 20 ml tørt dioksan ble plassert i kolben i et Soxhlet-ekstraksjonsapparat under nitrogen, med en 50/50 blanding av 4A molekylsikter og nøytralt aluminiumoksyd i fingerbøll. Pyridin (2 dråper) og 80%ig fosforsyre (1 dråpe) ble tilsatt og blandingen tilbakeløpsbehandlet i 23 timer. Reaksjonsblandingen ble inndampet i vakuum til en olje som ble opptatt i 50/50 metylenklorid/vann. Det ble observert pH på ca. 2,5. Metylenkloridfasen ble fraskilt, tilbakevasket med vann, fortynnet med ytterligere vann og pH justert til 7-7,5. Metylenkloridfasen ble igjen fraskilt, vasket med nytt vann og så saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet i vakuum for å gi det ønskede produkt (61 mg). Preparativ tynnskiktkromatografi (250 mikron tykkelse på silikagelen), utviklet med 30:1 metylenklorid:etylacetat, idet hovedbåndet ble ekstrahert med aceton og inndampet til tørrhet for å gi pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metylcef-3-em-4-karboksylat [15,6 mg; IR (CH_2Cl_2) 1770, 1745 cm^{-1}].

Fremstilling 42Pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 40 ble pivaloyloksymetyl-7-(1-acetoksymetyl)-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (15,6 mg, 0,04 mmol) oksydert og isolert for å gi en blanding av pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat og pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-alfa-oksocef-3-em-4-karboksylat [16 mg; IR (CH_2Cl_2) 1780, 1745 cm^{-1}].

157143

64

Fremstilling 43

Pivaloyloksymetyl-7-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Blandingen av pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat og pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-alfa-oksocef-3-em-4-karboksylat (16 mg, 0,039 mmol) fra Fremstilling 42 ble oppløst i 2 ml metylenklorid og avkjølt til -10°C . Diisopropyletylamin (13 mikroliter, 0,078 mmol) og så pikryl-azid (19,9 mg, 0,078 mmol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 5 timer idet temperaturen ble holdt på mellom 0 til -10°C , ved hvilken tid IR-analyse indikerte utstrakt diazo-dannelse. Etter opphold ved kjøleskaptemperatur i ca. 16 timer ble reaksjonsblandingen inndampet til tørrhet for å gi en blanding av pivaloyloksymetyl-7-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [IR (CH_2Cl_2) 2080, 1785, 1750 cm^{-1}] og uomsatt pivaloyloksymetyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-alfa-oksocef-3-em-4-karboksylat.

Fremstilling 44

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-penicillanat

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (3,2 g) ble oppløst i 100 ml metylenklorid og avkjølt til 0°C . Diisopropylamin (2,19 ml), 4-dimetylaminopyridin (1,28 g) og 2,5 g p-nitrobenzyloksykarbonylklorid (p-nitrokarbobenzoksyklorid, 2,72 g) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 16 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble vasket med vann, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet til råprodukt. Råproduktet ble kromatografert på silikagel med 15:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi rensat pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]penicillanat [5 g; R_f 0,75 (4:1 kloroform:etylacetat; R_f 0,7 (eter); $^1\text{H NMR}/\text{CDCl}_3/\delta$ inkluderer 1,0 (s, 9H), 1,5 (d, 3H, $J=7$), 4,2 ppm (s, 1H)].

Fremstilling 45Pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksy-karbonyloksy)-etyl]-1-beta-oksoopenicillan

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 2 ble pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyl)etyl]penicillan (5 g) omsatt med m-klorperbenzoesyre (2,2 g) i 200 ml metylenklorid ved å anvende en reaksjonstid på 16 timer ved 0°C. Elueringsmidlet ved kromatografering var 4:1 kloroform:etylacetat. Utbyttet av pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksy-karbonyloksy)etyl]-1-beta-oksoopenicillan var 2,55 g, R_f 0,6 (4:1 kloroform:etylacetat).

Fremstilling 46Pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-beta-oksoopenicillan (2,5 g) i 400 ml dioksan, 22 dråper 80%ig fosforsyre og 62 dråper pyridin ble omsatt ifølge Fremstilling 41. Kromatografering på en silikagelkolonne med 30:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel og tic-styring, ga 380 mg rent produkt. Fraksjoner (558 mg) som inneholder en mindre forurensning ble kromatografert på en tykkskikt-plate for å gi ytterligere 190 mg rensset produkt. Totalutbyttet av pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metylcef-3-em-4-karboksylat var 570 mg, 1H NMR/ $CDCl_3$ /delta inkluderer 1,5 (d, 3H, $J=7$), 2,0 (s, 3H), 4,8 ppm (d, 1H, $J=2$).

Fremstilling 47Pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksy-karbonyloksy)etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-cef-3-em-4-karboksylat (570 mg) ble oppløst i 75 ml metylenklorid. Maursyre (0,30 ml) og 30%ig hydrogenperoksyd (0,22 ml) ble tilsatt og blandingen omrørt i 2 dager ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med vann, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet i

157143

66

vakuum. Residuet ble kromatografert på silikagel ved bruk av 1:3 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel og tlc-styring. Utbyttet av pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat var 224 mg. R_f 0,1 (4:1 kloroform:etylacetat); IR (CH_2Cl_2) 1775 cm^{-1} .

Fremstilling 48

Pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av metoden i Fremstilling 43 ble pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (49,8 mg) omsatt med pikryl-azid (77,1 mg) i nærvær av diisopropyletylamin (28,8 mikroliter) i 15 ml metylenklorid i 16 timer ved -10°C til 0°C . Ytterligere reagenser (azid, 35 mg og amin, 10,8 mikroliter) ble tilsatt i løpet av de nærmeste to dager. Etter en total reaksjonstid på 2,3 dager ble et produkt isolert ifølge samme Fremstilling 43 og råproduktet kromatografert på silikagel ved å bruke 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi rensset pivaloyloksymetyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [120 mg; IR (CH_2Cl_2) 2080 cm^{-1}].

Fremstilling 49

Benzyl-6,6-dibrompenicillanat

Dibrompenicillansyre (50 g, 0,30 mol) ble oppløst i 150 ml dimetylformamid. Løsningen ble avkjølt til $0-5^\circ\text{C}$, trietylamin (21,3 ml, 0,30 mol) og så benzylbromid (18,2 ml, 0,30 mol) ble tilsatt, og reaksjonsblandingen omrørt i 16 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble hellet i is og vann og ekstrahert med fire porsjoner etylacetat. De kombinerte organiske skikt ble i rekkefølge vasket med 0,1N saltsyre, vann og saltløsning, tørret over vannfritt natriumsulfat og inndampet til tørrhet. Krystallisasjon fra eter ga benzyl-6,6-dibrompenicillanat (61 g).

Fremstilling 50Benzyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillansyre

Ved hjelp av metoden i Fremstilling 37 ble benzyl-6,6-dibrompenicillansyre (30 g) omdannet til benzyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillansyre [31,4 g; olje; PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 5,2 (s, 2H), 4,5 (s, 1H)].

Fremstilling 51Benzyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra Fremstilling 37 ble benzyl-6-alfa-brom-6-beta-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (31,4 g) hydrogenert over 15,7 g 5% Pd/ CaCO_3 i 150 ml 2:1 tetrahydrofuran:vann, idet hydrogeneringen ble stanset ved bruddpunktet da i det vesentlige en molekvivalent hydrogen var forbrukt. Råproduktet (19,6 g), isolert som en olje, ble kromatografert på 400 mg silikagel med 3:2 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel. Etter et første eluat på 500 ml ble 12 ml fraksjoner oppsamlet. Fraksjonene 41-70 ble kombinert og inndampet for å gi renset benzyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat [7,72 g; PNMR/ CDCl_3 /delta 1,4 (s, 3H), 1,6 (s, 3H), 4,5 (s, 1H), 5,1 (s, 1H), 5,8 (s, 1H), 7,3 ppm (s, 5H)].

Fremstilling 52Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-penicillanat

Benzyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)-penicillanat (7,7 g, 0,023 mol) ble oppløst i 125 ml metylenklorid og løsningen avkjølt til 0°C. Diisopropyletylamin (4,8 ml, 0,028 mol), dimetylaminopyridin (2,8 g, 0,023 mol) og p-nitrobenzylklorformiat (6,0 g, 0,028 mol) ble tilsatt i rekkefølge og reaksjonsblandingen omrørt ved romtemperatur i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble vasket i rekkefølge med 100 ml 1N saltsyre, 100 ml vann, 100 ml mettet natriumbikarbonat, 100 ml vann og 100 ml saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet i vakuum for å gi råproduktet. Kromatografering på silikagel ved bruk av 15:1 kloroform:etylacetat ga renset benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]penicillanat [11,1 g; olje;

157143

68

PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 4,5 (s, 1H), 5,2 ppm (s, 2H)].

Fremstilling 53

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-beta-oksopenicillanat

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-penicillanat (10,95 g, 0,022 mol) ble omsatt med m-klorperbenzoesyre i 400 ml metylenklorid ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 2, ved å bruke en opprinnelig reaksjonstemperatur på -78°C fulgt av 16 timer ved 0°C . Råproduktutbyttet var 11,6 g. Silikagelkromatografi ved anvendelse av 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel ga renset benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-beta-oksopenicillanat [4,1 g, IR (CH_2Cl_2) 1770 cm^{-1}].

Fremstilling 54

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

Ved å følge fremgangsmåten i Fremstilling 41 ble benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-1-beta-okso-penicillanat omdannet til benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metylcef-3-em-4-karboksylat, renset ved hjelp av silikagelkromatografering under anvendelse av 30:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel [1,4 g, PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 2,0 (s, 3H) og 4,5 ppm (d, 1H, $J=2\text{ Hz}$)].

Fremstilling 55

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (1,40 g, 2,82 mmol) ble oppløst i 150 ml metylenklorid. Maursyre (0,42 ml) og 30%ig hydrogenperoksyd (0,42 ml, 3,1 mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 dager. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med vann, tørret over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet for å gi en blanding av alfa- og beta-oksydene. Blandingen ble kromatografert på silikagel under anvendelse av 1:3 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel. Det mindre polare alfa-oksydet

ble først eluert [R_f 0,5 (1:3 kloroform:etylacetat)], fulgt av det mer polare beta-oksydet (R_f 0,3). Ytterligere beta-oksyd ble isolert ved tykkskikt-kromatografi av de midtre eluatporsjoner som inneholdt begge isomerer. Totalutbyttet av rensed benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat var 509 mg [IR (CH_2Cl_2) 1780 cm^{-1}].

Fremstilling 56

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 14 ble benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (509 mg), omdannet til benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat, rensed ved kromatografi på silikagel med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel. Utbytte: 318 mg; R_f 0,4 (10:1 kloroform:etylacetat); IR (CH_2Cl_2) $1780, 2060\text{ cm}^{-1}$.

Fremstilling 57

Benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)penicillanat

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 39 ble benzyl-6-alfa-(1-hydroksyetyl)penicillanat (4 g) acetyleret ved å bruke en reaksjonstid på 7 timer for å oppnå uten kromatografi, benzyl-6-alfa-(1-acetoksy-metyl)penicillanat [3,72 g; $PNMR/CDCl_3/\delta$ inkluderer 5,2 (s, 2H) og 7,4 ppm (s, 5H)].

Fremstilling 58

Benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-okso-penicillanat

Ved hjelp av samme fremgangsmåte som i Fremstilling 41 ble benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-penicillanat (3,72 g) oksydert til benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-okso-penicillanat [3,7 g; $PNMR/CDCl_3/\delta$ inkluderer 2,0 ppm (s, 3H)].

157143

70

Fremstilling 59

Benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metylcef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra Fremstilling 41 ble benzyl-6-alfa-(1-acetoksyetyl)-1-beta-oksopenicillanat (3,7 g) omsatt med pyridin (2,5 ml) og fosforsyre (42 dråper, 0,84 ml) i 500 ml dioksan, og råproduktet kolonnekromatografert på silikagel med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi rensset benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-cef-3-em-4-karboksylat [922 mg, PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 1,4 (s, 3H, $J=6$), 1,9 s, 3H), 4,5 ppm (d, 1H, $J=1$)].

Fremstilling 60

Benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 40 ble benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metylcef-3-em-4-karboksylat (922 mg) oksydert med m-klorperbenzoesyre i metylenklorid i 20 timer ved -78°C . Kolonnekromatografi på silikagel ga benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [331 mg; PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 2,0 (br. s, 6H), 5,2 ppm (s, 2H)] og, separat, det tilsvarende alfa-oksyd (265 mg).

Fremstilling 61

Benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten i Fremstilling 3 ble benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (331 mg) omdannet til benzyl-7-alfa-(1-acetoksyetyl)-2-diazo-3-metyl-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat, rensset ved hjelp av silikagelkromatografi med 1:1 metylenklorid:etylacetat som elueringsmiddel [130 mg; IR (CHCl_3) 2080 cm^{-1}].

Fremstilling 62

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)]-3-metylen-1-beta-oksocefam-4-karboksylat

Benzyl-6-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-1-beta-oksopenicillanat (1,0 g) ble kombinert med N-khorsuccinimid

(286 mg) i 200 ml kloroform og tilbakeløpsbehandlet i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0°C og tinn(IV)klorid (SnCl₄; 0,24 ml) tilsatt. Etter 8 timer ble reaksjonsblandingen fortynnet med etylacetat for å oppløse utfelte faststoffer, vasket i rekkefølge med mettet natriumbikarbonat, vann og saltløsning, tørket over vannfritt natriumsulfat og inndampet i vakuum. Residuet ble kromatografert på silikagel med 3:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel og tlc-styring. Fraksjoner med rent produkt ble kombinert og inndampet for å gi rensset benzyl-7-alfa-1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-3-metylen-1-beta-okso-cefam-4-karboksylat (0,51 g; PNMR/CDCl₃/delta inkluderer 1,5 (d, 3H, J=6), 4,7 (br. s, 1H), 5,3 (s, 1H), 5,7 ppm (s, 1H)].

Fremstilling 63

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-hydroksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-metylen-1-beta-oksocefam-4-karboksylat (491 mg) ble oppløst i 50 ml metylenklorid og løsningen avkjølt til -78°C. Ozon ble boblet inn i løsningen i noen få minutter inntil en blåfarge besto. Blandingen ble gjennomblåst med nitrogen i 10 minutter og så ble dimetylsulfid (0,2 ml) tilsatt. Blandingen ble oppvarmet til over 0°C, vasket med vann. Vannfasen ble tilbakevasket med metylenklorid og de to organiske skiktene kombinert, vasket med saltløsning, tørret over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet for å gi benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-hydroksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat.

Fremstilling 64

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-hydroksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (300 mg) ble oppløst i 25 ml metylenklorid og avkjølt til 0°C. Diazometan (5 ekvivalenter) i eter (30 ml) ble tilsatt dråpevis og blandingen holdt ved 0°C i 1 time. Tilstrekkelig eddiksyre ble tilsatt

157143

72

for å ødelegge overskudd diazometan, og blandingen ble vasket med vann, vasket med saltløsning, tørret over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet i vakuum. Residuet ble kromatografert på silikagel med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel og tlc-styring for å oppnå rensset benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [133 mg; R_f 0,2 (4:1 kloroform:etylacetat); 1H NMR/ $CDCl_3$ /delta inkluderer 1,4 (d, 3H, $J=6$), 3,4 (s, 3H), 4,4 ppm (d, 1H, $J=2$)].

Fremstilling 65

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Ved hjelp av fremgangsmåten fra Fremstilling 14 ble benzyl-7-alfa-[1-p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (134 mg, 0,24 mmol) omdannet til benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-2-diazo-3-metoksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat, rensset ved kromatografi på silikagel med 30:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel. Fraksjoner med rent produkt ble kombinert og inndampet i vakuum for å gi 28 mg rensset produkt [R_f 0,5 (etylacetat), IR (CH_2Cl_2) 1800, 2090 cm^{-1}]. Gjentatt kromatografering av fraksjoner som var forurenset med mer polare urenheter (19 mg) ga ytterligere 3 mg rensset produkt.

Fremstilling 66

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-mesyloksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-hydroksy-1-beta-oksocef 3 em 4 karboksylat (420 mg) ble oppløst i 60 ml metylenklorid og løsningen avkjølt til 0°C. Diisopropyletylamin (0,25 ml) og mesylklorid (0,15 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt ved 0°C i 8 timer, så vasket med mettet natriumbikarbonat, vasket med saltløsning og inndampet til tørrhet (0,56 g). Råproduktet ble kromatografert på silikagel med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel for å gi rensset benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-mesyloksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat [0,27 g; R_f 0,42

(1:1 kloroform:etylacetat); PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 3,1 ppm (s, 3H)].

Fremstilling 67

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-[2-(p-nitrobenzyloksykarbonylamino)etyltio]-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

2-(p-nitrobenzyloksykarbonylamino)etylmerkaptan (23,1 mg, 0,05 mmol) og trietylbenzylammoniumklorid (11 mg, 0,04 mol) ble kombinert med en blanding av 0,1N natriumhydroksyd (0,5 ml), vann (2 ml) og metylenklorid (2,5 ml). Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-mesyloksy-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat (25 mg, 0,04 mmol) ble tilsatt og reaksjonen omrørt ved romtemperatur i 16 timer. Skiktene ble separert og det vandige skiktet vasket med ny metylenklorid. De organiske skiktene ble kombinert, tilbakevasket med vann, tørret over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet for å gi produktet (41 mg). Kromatografering på silikagel (10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel) ga renset benzyl-7-alfa-[1-(p-nitro-benzyloksykarbonyloksy)etyl]-3-[2-(p-nitro-benzyloksykarbonylamino)etyltio]-1-oksocef-3-em-4-karboksylat [16 mg; PNMR/ CDCl_3 /delta inkluderer 2,9 ppm (m, 2H)].

Fremstilling 68

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-etyltio-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Mesyloksy-oksyd fra Fremstilling 66 (25 mg) ble tilsatt ved 0°C til en omrørt løsning av 5,5 mikroliter etylmerkaptan i en tofaseblanding av 3 ml metylenklorid, 1 ml 0,1N natriumhydroksyd og 2,5 ml vann og omrørt i 8 timer ved romtemperatur. Ytterligere 5,5 mikroliter etylmerkaptan ble tilsatt og blandingen oppbevart ved -78°C i 16 timer. Det ble så tilsatt 5,5 mikroliter etylmerkaptan, 0,5 ml natriumhydroksyd og 11 mg benzyltrietyl-ammoniumklorid som katalysator. Reaksjonen ble fullført i løpet av 1 time ved romtemperatur. Skiktene ble separert og det vandige skiktet vasket med 3 porsjoner metylenklorid. Metylenkloridskiktene ble kombinert og tilbakevasket med vann og så saltløsning, tørret over vannfritt natriumsulfat,

157143

74

filtrert og inndampet til tørrhet. Residuet ble kromatografert på silikagel, med 10:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel, og tlc-styring. Utbytte 10,6 mg av tittelproduktet, R_f 0,5 (etylacetat).

Fremstilling 69

Benzyl-7-alfa-[1-(p-nitrobenzyloksykarbonyloksy)-etyl]-3-etyltio-2-diazo-1-1-beta-oksocef-3-em-4-karboksylat

Tittel-etyltioforbindelsen fra Fremstilling 68 (37,5 mg) ble omrørt i 10 ml vann og 10 ml metylenklorid og avkjølt til 5°C. Makrocyklisk eter 18 "krone" 6 (17,2 mg), benzyltrietyl-ammoniumklorid (15,2 mg), kaliumhydroksyd (3,7 mg) og pikrylazid (33,7 mg) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 8 timer ved 5°C. Metylenkloridskiktet ble vasket med isvann og så kald saltoppløsning, tørret over vannfritt natriumsulfat, filtrert og inndampet til tørrhet. Residuet ble kromatografert på silikagel med 4:1 kloroform:etylacetat som elueringsmiddel. Utbytte av tittelforbindelsen som viste et sterkt diazo-bånd ved IR (2080 cm^{-1}), var 10 mg.

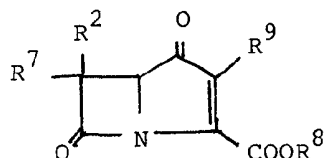
Fremstilling 70

Etylformamidat-hydroklorid

En blanding av formamid (4,5 g, 4,0 ml, 0,10 mol) og etanol (4,6 g, 5,8 ml, 0,10 mol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av benzoylklorid (14,1 g, 11,7 ml, 0,10 mol) i 70 ml eter ved 10°C. Ved omrøring ble reaksjonsblandingen en oppslemning. Etter omrøring i 30 minutter ble produktet gjenvunnet ved filtrering og tørret over P_2O_5 . Utbyttet av etylformamid-hydroklorid, oppnådd som et hvitt fast stoff, var 2,46 g.

P a t e n t k r a v :

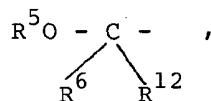
Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formelen:



I

hvor

R^7 er hydrogen; 2-fenoksyacetamido; D-2-(4-etyl-2,3-diokso-piperazin-1-karboksamido)-2-fenylacetamido; D-2-benzyloksy-karbonylamino-2-fenylacetamido; eller benzhydryl-, benzyl- eller 2-naftylmetyl-esteren av 2-karboksy-2-fenylacetamido; 5-metyl-3-fenylisoksazol-4-karboksamido; eller



hvor

R^5 er hydrogen, acetyl, benzyloksykarbonyl eller p-nitro-benzyloksykarbonyl;

R^6 er hydrogen eller (C_1-C_5) alkyl og R^{12} er hydrogen eller metyl;

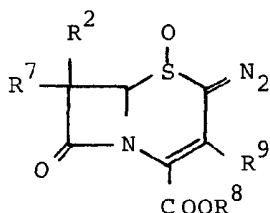
R^2 er hydrogen eller metoksy; med det forbehold at når R^2 er metoksy, er

R^7 2-fenoksyacetamido;

R^8 er en konvensjonell karboksy-beskyttende gruppe; og

R^9 er metyl, acetoksymetyl, metansulfonyloksy, OR^{10} eller SR^{10} , hvor R^{10} er (C_1-C_3) alkyl, 2-benzyloksykarbonylamino-etyl, 2-acetamidoetyl eller 2-(p-nitrobenzyloksykarbonylamino)etyl,

k a r a k t e r i s e r t v e d lys-katalysert omleiring av en forbindelse med formelen:



III

157143

i et reaksjonsinert, organisk løsningsmiddel i temperatur-
området -100 til 35°C.