

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 144527 B

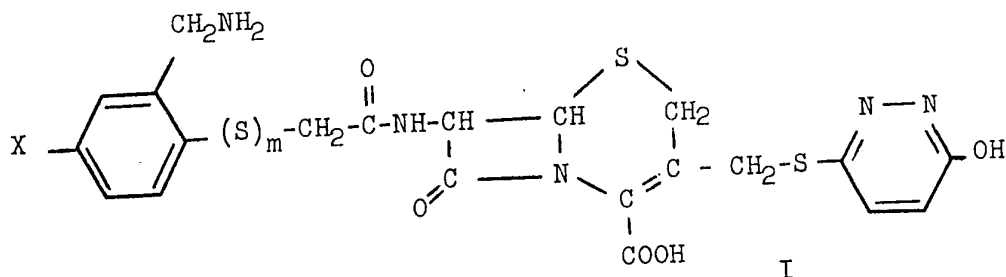
DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET



- (21) Ansøgning nr. 2915/80 (51) Int.Cl.³ C 07 D 501/18
(22) Indleveringsdag 4. jul. 1980
(24) Løbedag 28. aug. 1973
(41) Alm. tilgængelig 4. jul. 1980
(44) Fremlagt 22. mar. 1982
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. 4723/73
(30) Prioritet 31. aug. 1972, 285764, US 6. sep. 1972, 286630, US
6. sep. 1972, 286792, US
(71) Ansøger BRISTOL-MYERS COMPANY, New York, US.
(72) Opfinder Takayuki Naito, JP: Jun Okumura, JP.
(74) Fuldmægtig Th. Ostenfeld Patentbureau A/S.

(54) Cephalosporansyrederivat til anvendelse som mellemprodukt ved fremstilling af andre cephalosporansyrederivater.

Den foreliggende opfindelse angår et hidtil ukendt cephalosporansyrederivat til anvendelse som mellemprodukt ved fremstilling af cephalosporansyrederivater med den almene formel I



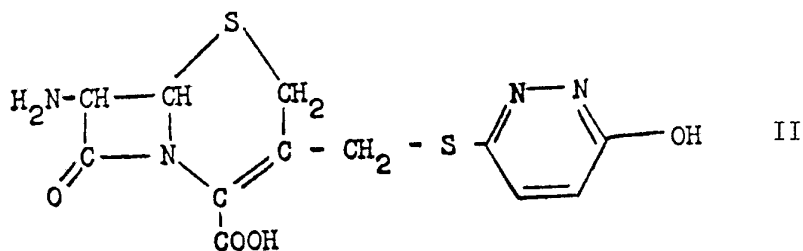
hvor X betegner H eller OH, og m betegner 0 eller 1, under den forudsætning at, når X betegner OH, betegner m 0, eller ikke-toxiske farmaceutisk anvendelige salte og let hydrolyserbare esterere deraf.

Slutprodukterne med formel I er amfotere forbindelser, der primært eksisterer på zwitterion-form.

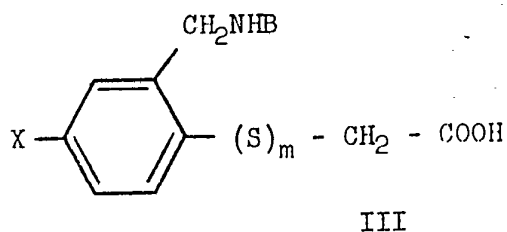
Slutprodukterne med formel I samt ikke-toksiske, farmaceutisk anvendelige salte og let hydrolyserbare estere deraf udviser værdifuld antibakteriel aktivitet og udmærker sig i forhold til de kommercielle antibiotika, cephaloridin og cephalothin ved at udvise et bredere antibakterielt spektrum, idet de kan anvendes til bekæmpelse af en række bakterier, som vides at være resistente over for cephalothin og cephaloridin. De omhandlede slutprodukter udviser især en uventet større effektivitet over for visse gram-negative bakterier, såsom *E. coli*, *K. pneumoniae* og *M. morganii*.

De ikke-toksiske farmaceutisk anvendelige salte af slutprodukterne med formel I omfatter ikke-toksiske carboxylsyresalte, herunder ikke-toksiske metalliske salte, såsom natrium-, kalium-, calcium- og aluminiumsaltene, ammoniumsaltet og de substituerede ammoniumsalte, f.eks. salte af sådanne ikke-toxiske aminer som trialkylaminer, herunder triethylamin, procain, dibenzylamin, N-benzyl-beta-phenethylamin, 1-ephenamin, N,N'-dibenzylethyldiamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis-dehydroabietylethyldiamin, N-(lavere)-alkylpiperidin, f.eks. N-ethylpiperidin, samt andre aminer, der har været anvendt til dannelse af salte med benzylpenicillin, samt de ikke-toxiske syreadditionssalte (dvs. aminsaltene) omfattende de mineralsure additionssalte, såsom hydrochloridet, hydrobromidet, hydroiodidet, sulfatet, sulfamatet samt phosphatet og de organiske syreadditionssalte, såsom maleatet, acetatet, citratet, oxalatet, succinatet, benzoatet, tartratet, fumaratet, malatet, mandelatet, ascorbatet og lignende. Særligt foretrukne salte er natriumsaltene af dimethansulfonatet af forbindelserne med formlen I. Disse salte er vandopløselige samt nyttige til fremstilling af injicerbare præparater.

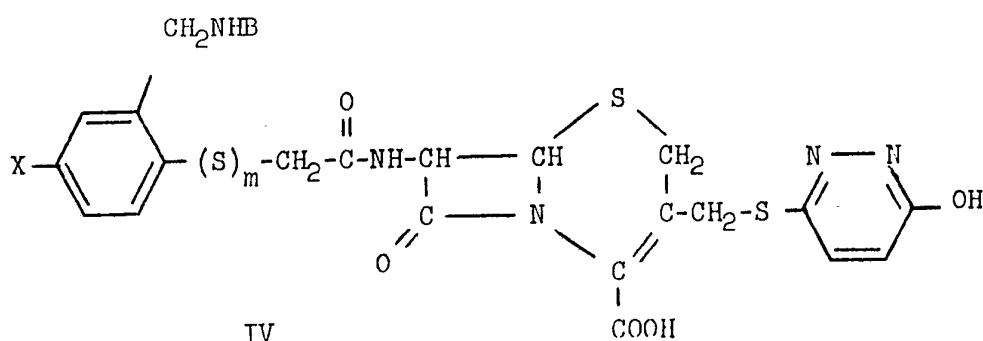
Cephalosporansyrederivatet ifølge opfindelsen er 7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre med formlen II



samt ikke-toksiske, farmaceutisk anvendelige salte og let hydrolyserbare estere heraf. Slutprodukterne fremstilles ved, at dette cephalosporansyrederivat eller et salt eller en let hydrolyserbar ester heraf omsættes med et acylerende derivat af en syre med formlen



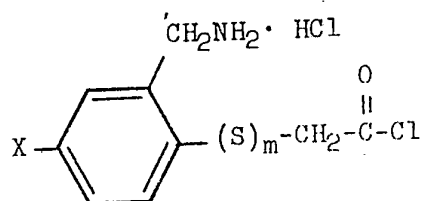
hvor B betegner en amino-beskyttende gruppe, og m samt X har ovennævnte betydning, til fremstilling af en forbindelse med formlen



hvor B, X og m har samme betydning som ovenfor, eller et salt eller en let hydrolyserbar ester heraf, samt at man derefter fjerner den amino-beskyttende gruppe B, og om ønsket omdanner en opnået forbindelse med formel I til et ikke-toksisk, farmaceutisk anvendeligt salt eller en let hydrolyserbar ester heraf eller et opnået salt eller en opnået ester til den frie syre.

De omhandlede amfotere forbindelser fremstilles således ved kobling mellem 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, eller et salt eller en let hydrolyserbar ester heraf (omfattende estere analoge med de produkter, der er omhandlet i USA patentskrift nr. 3.284.451 og engelsk patentskrift nr. 1.229.453 samt enhver af de silylestere, der er beskrevet i USA patentskrift nr. 3.249.622, til anvendelse med 7-aminopenicillansyre, hvilke forbindelsers anvendelse er beskrevet i engelsk patentskrift nr. 1.073.530, samt i særdeleshed pivaloyloxymethyl, acetoxymethyl, methoxymethyl, acetonyl, phenacyl, p-nitrobenzyl og β, β, β -trichlorethylestere) og

en syre med formelen III eller dens funktionelle ækvivalent som et acylerende middel for en primær amingruppe. Efter kobling fjernes den amino-blokerende gruppe B til dannelse af det ønskede produkt. Den amino-beskyttende gruppe B betegner en blokerende gruppe af den type, der anvendes enten ved peptidsynteser eller i enhver af de talrige synteser af ampicillin eller cephaloglycin eller cephalixin ud fra 2-phenylglycin. Særlig nyttige blokerende grupper er en proton, såsom i forbindelsen med formelen



eller en β -diketon eller en β -ketoester, såsom det er nævnt i engelsk patentskrift nr. 1.123.333 samt i USA patentskrift nr. 3.325.479 samt USA patentskrift nr. 3.316.247, f.eks. methylacetoacetat, eller et β -ketoamid, såsom i japansk patentskrift nr. 71/24714 (Farmdoc 47,321S), i hvilket tilfælde syren, som indeholder den blokerede aminogruppe, fortrinsvis omdannes til et blandet anhydrid, såsom med ethylchloroformiat, før omsætning med en forbindelse med formelen II eller et salt heraf til dannelse af det ønskede produkt I efter fraspaltning af den blokerende gruppe.

Efter koblingen fjernes den blokerende gruppe til dannelse af de omhandlede produkter, idet f.eks. t-butoxycarbonylgruppen kan fjernes ved behandling med myresyre eller trifluoreddikesyre, medens carbo-benzyloxygruppen kan fjernes ved katalytisk hydrogenering, 2-hydroxy-1-naphthcarbonylgruppen kan fjernes ved sur hydrolyse, trichlor-ethoxycarbonylgruppen kan fjernes ved behandling med zinkstøv i iseddike, og 1-carboethoxy-1-propenyl-2-gruppen fortrinsvis kan fjernes med myresyre. Naturligvis kan andre funktionelt ækvivalente blokerende grupper for aminogruyper anvendes.

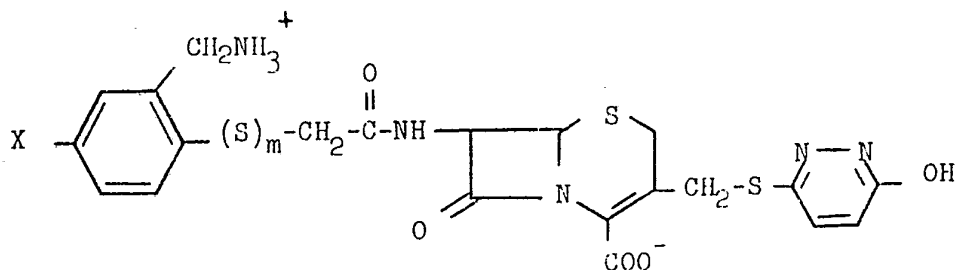
Med hensyn til det acylerende middel med formelen III omfatter funktionelle ækvivalenter de tilsvarende syrehalogenider, syreanhydrid, herunder blandede anhydrid, og i særdeleshed de blandede anhydrid, som fremstilles ud fra stærkere syrer, såsom lavere alifatiske monoestere af carbonsyre, eller alkyl- samt arylsulfonsyrer og af mere hindrende syrer, såsom diphenyleddikesyre. Endvidere kan et surt azid eller en aktiv ester eller thioester (f.eks. med p-nitrophenyl, 2,4-

-dinitrophenol, thiophenol, thioeddikesyre) anvendes, eller selve den frie syre kan kobles med forbindelsen II efter først at være omsat med N,N'-dimethylchloroformiminiumchlorid (konferer engelsk patentskrift nr. 1.008.170 samt Novak and Weichert, *Experientia* XXI, 6, 360 (1965)) eller ved anvendelse af enzymer eller et N,N'-carbonyldiimidazol eller en N,N'-carbonylditriazol (konferer sydafrikansk patentbeskrivelse nr. 63/2684) eller et carbodiimidreagens (især N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, N,N'-diisopropylcarbodiimid eller N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid; konferer Sheehan og Hess, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 1067 (1955)), eller et alkyllaminreagens (konferer R. Buijle og H.G. Viehe, *Angew. Chem. International Edition* 3, 582 (1964)) eller et isoxasoliumsalt (konferer R.B. Woodward, R.A. Olofson og H. Mayer, *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 1010 (1961)) eller et keteniminreagens (konferer C.L. Stevens og M.E. Mond i *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, (4065)).

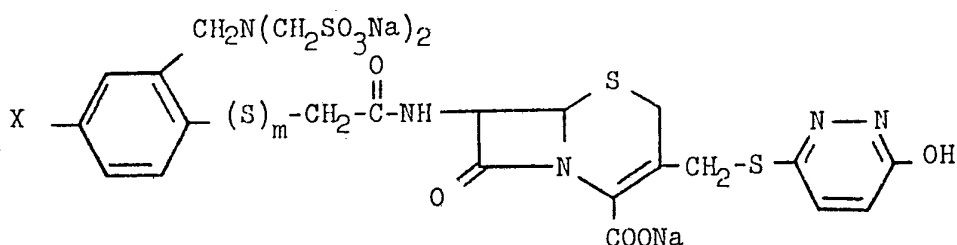
En anden med syren ækvivalent forbindelse er det tilsvarende azolid, dvs. et amid af den tilsvarende syre, hvis amidnitrogen er en del af en kvasiaromatisk fem-leddet ring indeholdende mindst to nitrogenatomer, dvs. imidazol, pyrazol, triazolerne, benzimidazol, benzotriazol og deres substituerede derivater. Som et eksempel på den almene fremgangsmåde til fremstilling af azolid kan N,N'-carbonyldiimidazol omsættes med en carboxylsyre i ækvimolære mængder ved stuetemperatur i tetrahydrofuran, chloroform, dimethylformamid eller et lignende inert opløsningsmiddel til dannelsen af carboxylsyreimidazolidet i praktisk taget kvantitativt udbytte under frigørelse af carbondioxid og 1 mol imidazol. Dicarboxylsyrer giver diimidazolider. Biproduktet, imidazol, udfælder og kan separeres, hvorpå imidazolidet kan isoleres, men dette er ikke nødvendigt. Fremgangsmåderne til udførelse af disse omsætninger til fremstilling af en cephalosporin samt fremgangsmåderne, der anvendes til isolering af den således fremstillede cephalosporin, er velkendte for fagfolk.

Ovenfor nævntes anvendelse af enzymer til at koble den frie syre med dennes blokerede aminogruppe med forbindelsen II. Indenfor rammerne af sådanne fremgangsmåder falder anvendelse af en ester, f.eks. methylesteren af den frie syre i forbindelse med enzymer, der tilvejebringes af forskellige mikroorganismer, f.eks. de, der er beskrevet af T. Takahashi et al., i *J. Amer. Chem. Soc.*, 94(11), 4035-4037 (1972) og af T. Nara et al., i *J. Antibiotics (Japan)* 24(5), 321-323 (1971).

Efter afslutning af koblingen og fraspaltningen af den blokerende gruppe kan forbindelsen med formlen I om ønsket omdannes ved fremgangsmåder, der som sådanne er kendte, til ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte eller let hydrolyserbare estere heraf. Zwitterionprodukter med formlen

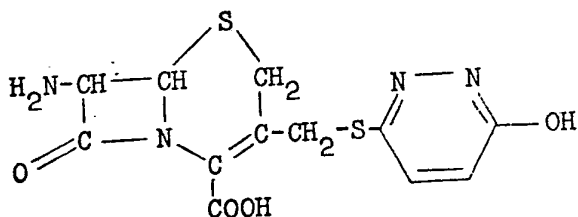


hvor X og m har den ovenfor anførte betydning, kan således omdannes til dimethansulfonatnatriumsalte med formlen

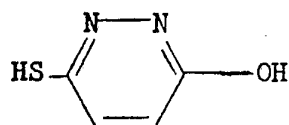


Omdannelse af cephalosporansyrerne på zwitterionform til dimethansulfonatderivaterne kan udføres ved fremgangsmåder, der som sådanne er kendte. En foretrukken fremgangsmåde omfatter, at zwitterionen omsættes med natriumformaldehydhydrogensulfit (eller en kilde hertil, såsom f.eks. natriumhydrogensulfit samt formalin) og vand under tilstedeværelse af en stærk natriumbase, f.eks. natrium-2-ethylhexanoat. Ovennævnte blanding opvarmes til over stuetemperatur, f.eks. over 40°C , og fortrinsvis til intervallet mellem 40 og 45°C , i et kort tidsrum, indtil der frembringes en opløsning af det ønskede produkt. Produktet udvindes som et faststof ved udfældning, f.eks. ved tilsætning af et vandopløseligt i det væsentlige vandfrit opløsningsmiddel, fortrinsvis en alkohol, såsom ethanol eller isopropanol.

Cephalosporansyrederivatet ifølge opfindelsen



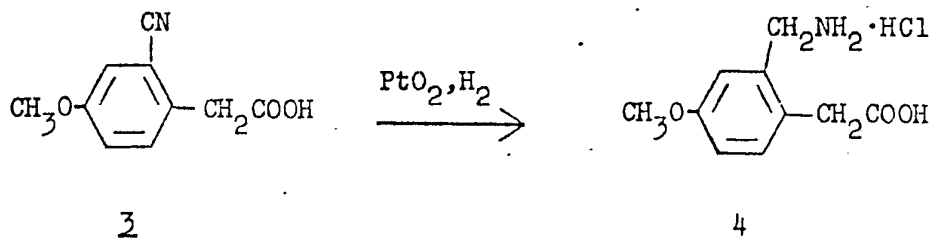
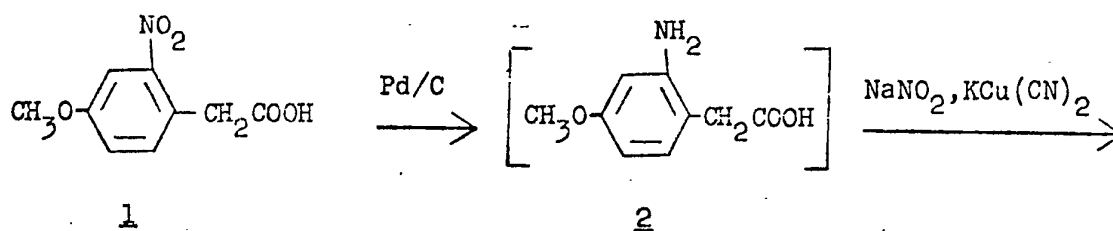
eller salte eller let hydrolyserbare estere heraf kan fremstilles ved, at man omsætter 7-aminocephalosporansyre eller et salt heraf med en thiol med formlen:



eller et salt heraf, fortrinsvis et natrium- eller kaliumsalt, og om ønsket på i og for sig kendt måde omdanner den således fremstillede 7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre til et salt eller en let hydrolyserbar ester heraf.

Erstatningen af en estergruppe, f.eks. 3-acetoxysgruppen i 7-aminocephalosporansyre, med en thiolgruppe er en velkendt reaktion, som kan gennemføres i vandig opløsning under tilstedeværelse af en mild base, såsom natriumhydrogencarbonat. Ombytningen udføres fortrinsvis ved en temperatur i intervallet fra ca. 50 til ca. 100°C.

Fremstilling af udgangsmaterialer



2-cyano-4-methoxyphenyleddikesyre

En opløsning af 12,7 g (0,06 mol) 4-methoxy-2-nitrophenyleddikesyre (D.G. Harvey et al., J. Chem. Soc., 1938, 97) samt 2,4 g (0,06 mol) natriumhydroxid i 100 ml vand hydrogeneredes ved stuetemperatur under et hydrogentryk på 50 psi med 1 g 10% palladium-på-trækul som katalysator. Den teoretiske hydrogenmængde absorberedes på 1 time. Katalysatoren fjernedes ved filtrering under anvendelse af et filter, som først var belagt med diatoméjord ("Celite"). Filtratet tilsattes dråbevis en opløsning af 4,2 g (0,06 mol) natriumnitrit i 30 ml vand ved 0°C, og derpå tilsattes dråbevis ved samme temperatur under omrøring 20 ml koncentreret saltsyre (ca. 0,25 mol). Omrøringen fortsattes i 10 minutter. Der tilsattes en opløsning af 4,1 g (0,03 mol) kaliumcarbonat i 10 ml vand. Reaktionsblandingen sættes til en opløsning af 10 g kaliumcyanid og 7 g cuprocyanid i 33 ml vand under kraftig omrøring ved 0°C, hvorpå blandingen omrørtes i 10 minutter ved 0°C, i 1 time ved 10-15°C, og sluttelig i 2 timer ved 50°C, hvorpå den fortyndedes med 300 ml vand og filtreredes. Filtratet syrnedes med koncentreret saltsyre, ekstraheredes med ethylacetat (5 x 100 ml) og genekstraheredes med 5% natriumhydrogencarbonatopløsning (5 x 100 ml). De forenede vandige ekstrakter affarvedes med en ringe mængde aktivt carbon, afkøledes, syrnedes med koncentreret saltsyre og ekstraheredes med ethylacetat (3 x 100 ml). Ekstrakterne udvaskedes med vand (3 x 30 ml), mættet natriumchloridopløsning (3 x 30 ml) og tørredes med vandfri natriumsulfat. Fjernelse af opløsningsmidlet tilvejebragte 8,7 g (76%) 2-cyano-4-methoxyphenyleddikesyre, som omkrySTALLiseredes fra benzen-ligroin. Smeltepunkt 130-132°C.

IR: $\nu_{\text{CN}}^{\text{KBr}}$ 2240 cm^{-1}

NMR: $\delta_{\text{DMSO-d}_6}^{\text{ppm}}$ 3,69 (2 H, s, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 3,77 (3 H, s, OCH_3), 6,9-7,4 (3 H, m, phenyl-H).

Analyse beregnet for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_3$: C: 62,82, H: 4,75, N: 7,33

Fundet: C: 62,92, H: 4,74, N: 7,20.

2-aminomethyl-4-methoxyphenyleddikesyre,hydrochlorid

En opløsning af 8,2 g (0,043 mol) 2-cyano-4-methoxyphenyleddikesyre i 100 ml ethanol og 50 ml 6N saltsyre hydrogeneredes med platinoxid i 2 dage ved stuetemperatur under 50 psi hydrogentryk. Katalysatoren fjernedes ved filtrering. Filtratet inddampedes til tørhed. Resanen udvaskedes med acetone (3 x 20 ml) til dannelse af 5,5 g 2-aminomethyl-4-methoxyphenyleddikesyre,hydrochlorid.

NMR: δ DMSO-d_6 3,61 (2 H, s, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 3,70 (3 H, s, OCH_3), 3,9 (2 H, q, 6,0 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 6,5-7,3 (3 H, m, phenyl-H), 8,5 (3H, br, NH_3^+).

2-aminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre

En blanding af 3 g (0,013 mol) 2-aminomethyl-4-methoxyphenyleddikesyre, hydrochlorid samt 40 ml 48% brombrinte tilbagesvales i 5 timer. Reaktionsblandingen behandlede med aktivt carbon og neutraliseredes (pH-værdi 6-7) med 6N natriumhydroxid til dannelse af et bundfald af 2-aminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand samt acetone og tørredes i vakuum. Udbytte 1,9 g (81,5%). Smeltepunkt $> 300^\circ\text{C}$.

2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre

En opløsning af 2,1 g (0,012 mol) 2-aminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre samt 1,4 g (0,035 mol) natriumhydroxid i 50 ml vand tilsættes en opløsning af 2,0 g (0,014 mol) t-butoxycarbonylazid i 25 ml THF, og blandingen omrørtes i 22 timer ved stuetemperatur, hvorpå den udvaskedes med ether syret med fortyndet saltsyre og ekstraheredes med ether (2 x 150 ml). De forenede ekstrakter udvaskedes med vand (2 x 50 ml) samt en mættet natriumchloridopløsning (3 x 50 ml), hvorpå ekstrakterne tørredes. Opløsningsmidlet fjernedes, og den olieagtige remanens tritureredes med chloroform-carbontetrachlorid (1:1, 50 ml) til dannelse af 1,7 g (52%) 2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre som et hvidt faststof smeltende ved $145\text{-}147^\circ\text{C}$.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3340, 1700, 1680, 1260 cm^{-1} .

NMR: δ DMSO-d_6 1,37 (9 H, s, t-Bu-H), 3,42 (2 H, s, CH_2CO), 3,97 (2 H, d, 6 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 6,3-7,1 (3 H, m, phenyl-H), 9,00 (1 H, br, NH), 12,0 (1 H, br, NH).

Analyse beregnet for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_5$: C: 59,77, H: 6,81, N: 4,98

Fundet: C: 58,84, H: 6,89, N: 4,79.

Kalium-o-[1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl]-p-hydroxyphenylacetat

I en 2000 ml rundbundet kolbe udstyret med en køler samt en topmonteret omrører anbringes 0,28 mol o-aminomethyl-p-hydroxyphenyleddikesyre, 15,28 g (0,28 mol) kaliumhydroxid, 64,96 g (0,56 mol) methylacetoacetat samt 1500 ml absolut methanol. Derpå tilbagesvales blandingen i 3 timer. Opløsningen inddampes herpå til ringe

volumen (100-150 ml), filtreres og fortyndes med 400-700 ml vandfri ether. Ved skrabning udkrystalliserer produktet. Faststoffet frafiltreres og tørres i en vakuumekssikkator over P_2O_5 . Udbyttet af produktet, som smelter ved 140-148°, er ca. 80 g.

Natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-p-hydroxyphenylacetat

En ethanolisk opløsning af natriumethoxid fremstillet ud fra 0,6 g (0,026 atom) metallisk natrium og 50 ml absolut ethanol tilsættes 0,026 mol o-aminomethyl-p-hydroxyphenyleddikesyre samt 3,38 g (0,026 mol) ethylacetoacetat, hvorpå blandingen tilbagesvales i 6 timer. Blandingen inddampes til tørhed, og remanensen omkrystalliseres fra ethanol til dannelse af ca. 6 g natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-p-hydroxyphenylacetat som farveløse nåle.

t-butoxycarbonylazid

En afkølet opløsning af 100 g (0,76 mol) t-butylcarbazat i 87 g iseddikesyre og 120 ml vand tilsættes dråbevis en opløsning af 60 g (0,85 mol) natriumnitrit i 50 ml vand i løbet af et tidsrum på 40 minutter, idet temperaturen holdes ved 10-15°C. Efter tilsætningen var afsluttet, fortsattes omrøringen i yderligere 30 minutter ved samme temperatur. Blandingen tilsættes 100 ml vand, og en olie, som udfældede, ekstraheredes med fem 100 ml portioner methylenchlorid. De forenede organiske ekstrakter udvaskedes med 100 ml 10% natriumhydrogencarbonatopløsning og herefter 100 ml vand, hvorpå ekstrakterne tørredes over vandfri natriumsulfat. Methylenchloridet fjernedes under sænket tryk på et vandbad, som opretholdtes ved 40-45°C. Azidresten destilleredes ved 45°C/20 mm Hg og opsamledes. Resten vejede 92,7 g (84%).

3-chlor-6-hydroxypyridazin

En blanding af 22,47 g (0,15 mol) 3,6-dichlorpyridazin og 50 ml eddikesyre tilbagesvales i 2 timer. Reaktionsblandingen afkøledes og fortyndedes med 50 ml vand, hvorpå den inddampedes til tørhed under reduceret tryk. Remanensen omkrystalliseredes fra vand til dannelse af 15,8 g (80%) 3-chlor-6-hydroxypyridazin som farveløse prismar, der smeltede ved 133-137°C. (litteratur 138-140°). Se N. Takabayashi, Yakugaku Zasshi, 75, 778 (1955).

3-hydroxy-6-mercaptopyridazin

En blanding af 2,6 g (0,02 mol) 3-chlor-6-hydroxypyridazin og 5,0 g (0,07 mol) nyfremstillet kaliumhydrogensulfid i 30 ml ethanol opvarmedes til 130-140°C i et lukket rør i 6 timer. Reaktionsblandingen afkølede og fortyndedes med 200 ml vand. Næsten alt organisk opløsningsmiddel fjernedes ved destillation under reduceret tryk. Den tilbageblevne vandige opløsning syrnedes med fortyndet saltsyre til pH-værdien 3 og ekstraheredes med ethylacetat (6 x 50 ml). De forenede ekstrakter inddampedes til tørhed, og remanensen genudfældedes ud fra 30 ml ethanol-ligroin (1:1) til dannelse af 2,2 g (87%) amorft 3-hydroxy-6-mercaptopyridazin. Smeltepunkt 158-159°C (litteratur 157-158°C). Se J. Druey et al., Helv. Chem. Acta, 37, 121 (1954).

3-hydroxy-6-mercaptopyridazin

En opløsning af 5,6 g (0,05 mol) 3,6-dihydroxypyridazin i 150 ml pyridin tilsattes portionsvis 2,70 g (0,012 mol) phosphorpentasulfid under kraftig omrøring og tilbagesvaling. Tilbagesvalingen fortsættes i 1 time, hvorpå reaktionsblandingen fortyndedes med 200 ml vand og ekstraheredes til fjernelse af pyridin. Den fremkomne olieagtige remanens suspenderedes i vand og ekstraheredes med ethylacetat. De organiske ekstrakter forenedes og inddampedes igen til dannelse af et olieagtigt materiale, som tritureredes med en ringe mængde vand til dannelse af 3-hydroxy-6-mercaptopyridazin som et gult faststof. Omkrystallisation fra vand tilvejebragte 0,62 g (12%) af produktet, der identificeredes som det ovenfor fremstillede.

3,6-dihydroxypyridazin

En kogende opløsning af 315 g (3 mol) hydrazin, dihydrochlorid i 2 liter vand tilsattes portionsvis 295 g (3 mol) fint malet malein-anhydrid under omrøring. Efter at tilsætningen var afsluttet, fortsattes opvarmningen i 4 timer, hvorpå man lod reaktionsblandingen henstå natten over i et køleskab til dannelse af 285 g (85%) 3,6-dihydroxypyridazin som tykke søjler. Smeltepunkt > 290°C.

3,6-dichloropyridazin

En blanding af 150 g (1,33 mol) 3,6-dihydroxypyridazin og 250 g phosphoroxychlorid tilbagesvaledes i 3 timer under udelukkelse af fugt. Overskudet af phosphoroxychlorid fjernedes under reduceret tryk, og den mørke remanens udhældtes på 1 kg knust is. Det fremkomne bundfald opsamledes ved filtrering. Anden fraktion af produktet fremkom

fra moderluden ved ekstraktion med fem 300 ml portioner chloroform efterfulgt af behandling med 1 g trækul og bortdampning af opløsningsmidlet. Første og anden fraktion forenedes, opløstes i 500 ml chloroform og behandlede igen med 1 g trækul, hvorpå der inddampedes til dannelse af 165 g (83%) 3,6-dichlorpyridazin som fine nåle smeltende ved 60-61°C. (i et forseglet rør).

6-chlor-3-hydroxypyridazin

En suspension af 60 g (0,4 mol) 3,6-dichlorpyridazin i 200 ml 10% saltsyre tilbagesvales i 2 timer, indtil der fremkom en klar opløsning. Den klare opløsning behandlede med ca. 1,5 g aktivt carbon, hvorpå den filtreredes. Filtratet inddampedes under reduceret tryk til dannelse af 6-chlor-3-hydroxypyridazin som farveløse nåle. Udbytte 49,5 g (98%). Smeltepunkt 137-139°C.

3-hydroxy-6-mercaptopyridazin

En blanding af 50 g (0,38 mol) 6-chlor-3-hydroxypyridazin, 60 g (0,83 mol) kaliumhydrogensulfid i 250 ml ethanol opvarmedes i en 500 ml autoklav ved 140°C i 14 timer under magnetomrøring. Trykket steg til 15-20 kg/cm². Blandingen inddampedes til tørhed, og remanensen opløstes i 300 ml vand. Den vandige opløsning syrnede med fortyndet saltsyre til pH-værdien 3 og ekstraheredes med ti 200 ml portioner ethylacetat. De forenede ekstrakter inddampedes til dannelse af 34,3 g (70%) amorft 3-hydroxy-6-mercaptopyridazin. Smeltepunkt 151-152°C.

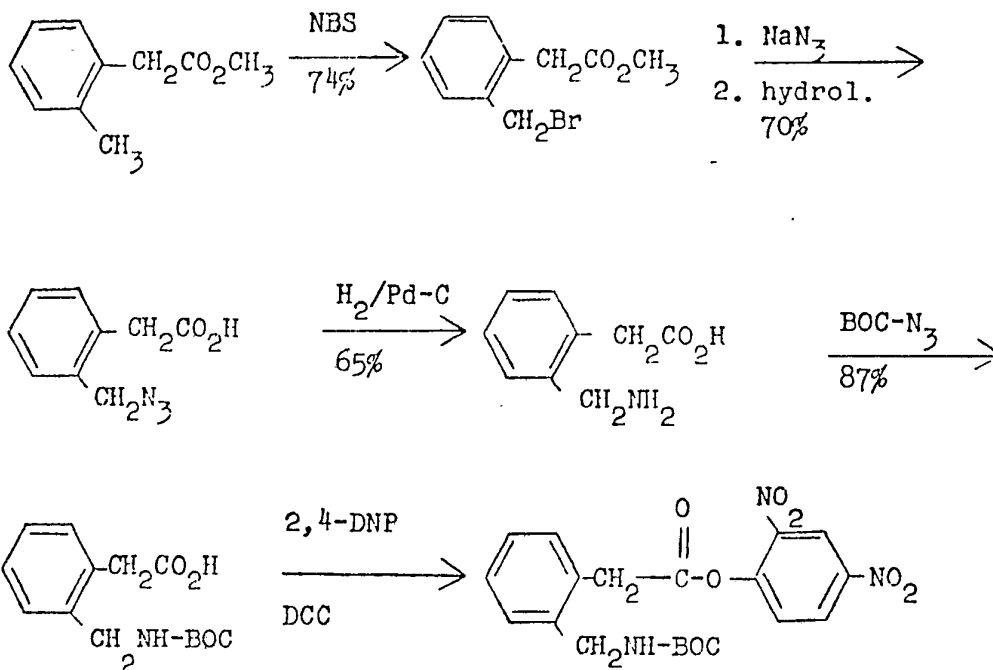
Kalium-o-[1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl]-phenylthioacetat

I en 2000 ml rundbundet kolbe udstyret med en køler og en topmonteret omrører anbringes 0,28 mol o-aminomethylphenylthioeddikesyre, 15,28 g (0,28 mol) kaliumhydroxid, 64,96 g (0,56 mol) methylacetoacetat og 1500 ml absolut methanol. Derpå tilbagesvales blandingen i 3 timer. Opløsningen inddampes derpå til ringe volumen (100-150 ml), filtreres og fortyndes med 400-700 ml vandfri ether. Ved skrabning udkrystalliserer produktet. Faststoffet opsamles ved filtrering og tørres i en vakuumeekssikator over P₂O₅.

Natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-phenylthioacetat

En ethanolisk opløsning af natriumethoxid, som fremstilles ud fra 0,6 g (0,026 gramatom) metallisk natrium og 50 ml absolut ethanol tilsættes 0,026 mol o-aminomethylphenylthioeddikesyre samt 3,38 g (0,026 mol) ethylacetoacetat, hvorpå blandingen tilbagesvales i 6 timer.

Blandingen inddampes til tørhed, og remanensen omkrystalliseres fra ethanol til dannelse af natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-yl-aminomethyl)-phenylthioacetat som farveløse nåle.



Methyl-o-bromomethylphenylacetat

En blanding af methyl-o-methylphenylacetat (82,0 g, 0,50 mol), N-bromosuccinimid (89,0 g, 0,50 mol), benzoylperoxid (1,0 g) samt carbontetrachlorid (800 ml) opvarmedes under tilbagesvaling i 2 timer, medens der bestråledes med en 750 watt lyskilde. Succinimidet fjernes ved filtrering, opløsningsmidlet fjernes fra filtratet, og remanensen destilleredes i vakuum til dannelse af 90,1 g (74%) produkt, kogepunkt $95-105^\circ$ (0,4 mm); n.m.r. (CCl_4): singlets ved τ 2,85 (4H), 5,50 (2H), 6,31 (2H) og 6,38 (3H).

o-azidomethylphenyleddikesyre

En blanding af methyl-o-bromomethylphenylacetat (90,1 g, 0,371 mol), natriumazid (26,0 g, 0,40 mol) og 10% vandig acetone (750 ml) omrørtes ved stuetemperatur i 3 timer. Opløsningsmidlet fjernes under reduceret tryk, og remanensen behandledes med ether (300 ml) samt vand (100 ml). Det rå methyl-o-azidomethylphenylacetat (74,8 g), der frem-

kom efter tørring og inddampning af etheropløsningen, opløstes i 150 ml methanol. Denne opløsning afkølede i is og behandlede med 150 ml 3N methanolisk natriumhydroxid. Blandingen henstod ved stuetemperatur i 1 time, hvorpå den inddampedes til tørhed, og remanensen opløstes i vand. Den vandige opløsning syrnede, produktet opsamledes ved filtrering, tørredes og omkrystalliseredes fra ethylacetat-n-hexan til dannelse af 49,5 g (70%) af syren med smeltepunkt 116-118⁰; n.m.r. (CDCl₃): skarpe singlets ved τ 2,75 (4H), 5,63 (2H) og 6,28 (2H).

Nujol
max 2100 og 1700 cm⁻¹.

Analyse beregnet for C₉H₉N₃O₂: C: 56,53, H: 4,75, N: 21,98

Fundet: C: 56,37, H: 4,65, N: 21,74.

o-aminomethylphenyleddikesyre

En blanding af o-azidomethylphenyleddikesyre (9,6 g, 0,050 mol), 10% palladium-på-trækul (2,5 g), methanol (150 ml) og 1N saltsyre (50 ml) hydrogeneredes ved 30 p.s.i. i 3,5 time. Blandingen filtreredes, inddampedes under reduceret tryk til et volumen, der nærmede sig 30 ml, og ekstraheredes med ether. Fra etherekstrakten udvandedes 1-2 g urent udgangsmateriale. Den vandige opløsning indstilledes til pH-værdien 5,0 med fortyndet ammoniumhydroxid og afkølede i is. Det hvide faststof, som udfældede, opsamledes ved filtrering, udvaskedes successivt med isvand, methanol samt ether og tørredes i vakuum over P₂O₅: Udbytte 5,4 g (65%), smeltepunkt 179-181⁰ (dekomponering). n.m.r. (CF₃CO₂H): τ 2,54 (s, 4H) 5,48 (q, 2H) og 6,00 (s, 2H).

o-t-butoxycarbonylaminomethylphenyleddikesyre

Triethylamin (14,4 g, 0,143 mol) sættes til en isafkølet opløsning af o-aminomethylphenyleddikesyre (10,3 g, 0,0624 mol) i 100 ml vand efterfulgt af tilsætning af en opløsning af t-butoxycarbonylazid (11,4 g, 0,080 mol) i 75 ml THF. Reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 16 timer, hvorpå det meste af THF fjernedes under reduceret tryk. Den vandige opløsning udvaskedes med ether, dækkedes med 125 ml ethylacetat og indstilledes på pH-værdien 3,5 med fortyndet saltsyre under isafkøling. Ethylacetatopløsningen tørredes, inddampedes, og den faste remanens omkrystalliseredes fra ethylacetat-n-hexan (1:1) til dannelse af 14,4 g (87%) hvide nåle med smeltepunktet 114-116⁰.

Analyse beregnet for C₁₄H₁₉NO₄: C: 63,39, H: 7,22, N: 5,28

Fundet: C: 63,44, H: 7,21, N: 5,42.

2,4-dinitrophenyl-o-t-butoxycarbonylaminophenylacetat

N,N'-dicyclohexylcarbodiimid (1,0 g, 0,0050 mol) sættes til en isafkølet opløsning af o-t-butoxycarbonylaminomethylphenyleddikesyre (1,33 g, 0,0050 mol) samt 2,4-dinitrophenol (0,92 g, 0,0050 mol) i 12 ml vandfri tetrahydrofuran. Reaktionsblandingen holdtes ved stuetemperatur i 1 time, hvorpå det udfældede N,N'-dicyclohexylurinstof fjernes ved filtrering. Opløsningsmidlet fjernes fra filtratet til dannelse af den aktiverede ester som en viskos gul olie.

o-Aminomethylphenyleddikesyre.

<u>Materialer</u>	<u>Vægt, g</u>	<u>Volumen, ml</u>	<u>Mol</u>
Rå o-aminomethylphenyleddikesyre-lactam ud fra 1000 g 2-indanonoxim	~1000		~6,78
Koncentreret saltsyre		8000	
"Darko KB" aktiveret trækul	100		
Methylenchlorid		6000	
Methylisobutylketon (MIBK)		Efter behov	
6N ammoniumhydroxid		Efter behov	

Fremgangsmåde

1. Sæt 8000 ml koncentreret saltsyre til ca. 1000 g rå lactam fremkommet ved oximomlejring.
2. Omrør blandingen og opvarm forsigtigt til tilbagesvaling i 3 timer. (Ved opvarmning dannes ved denne omsætning en stor mængde skum, efterhånden som HCl fragår. Dette skum kan fylde hele apparatet. Skummet kan mindskes ved tilsætning af siliconeholdigt antiskummiddel. Efter at det indledende skummende trin er overstået, kan reaktionsblandingen tilbagesvales uden vanskeligheder).
3. Afkøl den mørke opslæmning til ca. 40-50°C og tilsæt 100 g aktiveret trækul ("Darko KB") og fortsæt omrøringen.
4. Behandl med carbon i 15-20 minutter, filtrer opslæmningen gennem en "Dicalite" filterkage og udvask filterkagen med ca. 4000 ml varmt vand.
5. Ekstraher det klare, gule filtrat med 6000 ml methylenchlorid ($\frac{1}{2}$ volumen) og fraskil methylenchloridet. Gem CH_2Cl_2 -laget til kontrol for mulig udvinding af uomsat lactam.
6. Inddamp vandfasen ved reduceret tryk til dannelse af fast o-amino-methylphenyleddikesyre,hydrochlorid.
7. Tilsæt MIBK til de våde faststoffer og fortsæt destillationen under reduceret tryk med MIBK-tilsætning, indtil alt vandet er blevet fjernet fra faststofferne.

8. Fortsæt destillationen under reduceret tryk, indtil al MIBK er blevet fjernet fra faststofferne. (MIBK-destillationen fjerner ikke alene vandet ved dannelse af en azeotrop, men fjerner også overskudet af HCl).
9. Genopløs faststofferne i 3900 ml vand og tilsæt 650 ml MIBK.
10. Medens der omrøres ved 20-25°C, indstil da pH-værdien af opløsningen på 5,0 med 6N ammoniumhydroxid. o-aminomethylphenyleddikesyrens zwitterion begynder at udkrystallisere ca. ved pH-værdien 3,5.
11. Omrør zwitterionopslæmningen og afkøl den til 0-5°C i 1 time.

Kalium-o-(1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl)-phenylacetat

I en 2000 ml rundbundet kolbe udstyret med en køler samt en topmonteret omrører fyldes 45,92 g (0,28 mol) o-aminomethylphenyleddikesyre, 15,28 g (0,28 mol) kaliumhydroxid, 64,96 g (0,56 mol) methylacetoacetat samt 1500 ml absolut methanol. Derpå tilbagesvales blandingen i 3 timer. Opløsningen inddampes derpå til ringe volumen (100-150 ml), filtreres og fortyndes med 400-700 ml vandfri ether. Ved skrabning udkrystalliserer produktet. Faststoffet frafiltreres og tørres i en vakuumekssikkator over P_2O_5 . (Det faste materiale var yderst hygroskopisk. Det bør filtreres så hurtigt som muligt og bør ikke lufttørres). Udbyttet af produktet, som smelter ved 140-148°, andrager 84,1 g (99%).

Analyse beregnet for $C_{14}H_{16}NO_4K$:

C: 54,20, H: 5,49, N: 4,52, KF: 2,90

Fundet: C: 53,72, H: 5,44, N: 4,56, KF: 2,92.

Natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-phenylacetat

En ethanolisk opløsning af natriumethoxid, som fremstilledes ud fra 0,6 g (0,026 gramatom) metallisk natrium og 50 ml absolut ethanol tilsattes 4,27 g (0,026 mol) o-aminomethylphenyleddikesyre samt 3,38 g (0,026 mol) ethylacetoacetat, hvorpå blandingen tilbagesvaledes i 6 timer. Blandingen inddampedes til tørhed, og remanensen omkrystalliseredes fra ethanol til dannelse af 6,36 g (82%) natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-phenylacetat som farveløse nåle smeltende ved 230-232°C.

IR: $\nu_{\max}^{KBr}$ 3320, 1645, 1605, 1470, 1395, 1275, 1180 cm^{-1} .

Analyse beregnet for $C_{15}H_{18}NO_4Na$: C: 60,20, H: 6,06, N: 4,68

Fundet: C: 59,95, H: 5,86, N: 4,67.

o-(t-butoxycarbonylaminomethyl)-phenyleddikesyre

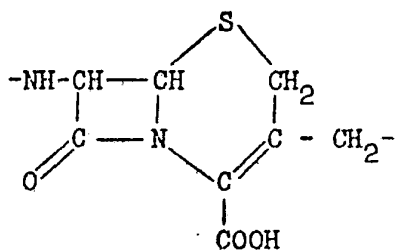
En opløsning af 70 g (0,35 mol) o-aminomethylphenyleddikesyre, hydrochlorid samt 116 g (1,15 mol) triethylamin (TEA) i 400 ml vand tilsattes dråbevis en opløsning af 64 g (0,45 mol) t-butoxycarbonylazid i 300 ml tetrahydrofuran (THF) under omrøring ved 0°C. Efter at tilsætningen var afsluttet, lod man temperaturen stige til stuetemperatur, og omrøringen fortsattes i 20 timer. Tetrahydrofuranen fradestilleredes under 40°C, og den vandige opløsning udvaskedes med 200 ml ether, dækkedes med 200 ml ethylacetat og syrnedes med fortyndet saltsyre til pH-værdien 3 under afkøling til 0°C. Det organiske lag fraskiltes, og den vandige fase ekstraheredes med fire 200 ml portioner ethylacetat. Den samlede ethylacetatopløsning udvaskedes med 200 ml vand, tørredes over vandfri natriumsulfat og inddampedes i vakuum. Koncentratet behandledes med 500 ml n-hexan til dannelse af 87,9 g (95%) o-(t-butoxycarbonylaminomethyl)-phenyleddikesyre som farveløse nåle smeltende ved 114-116°C.

2,4-dinitrophenyl-o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetat

Dicyclohexylcarbodiimid (17,72 g, 0,086 mol) (DCC) sættes på én gang til en blanding af o-(t-butoxycarbonylaminomethyl)-phenyleddikesyre (22,73 g, 0,086 mol) samt 2,4-dinitrophenol (15,82 g, 0,086 mol) (2,4-DNP) i 250 ml THF. Reaktionsblandingen omrørtes i 2 timer ved stuetemperatur. Det udfældede dicyclohexylurinstof frafiltreredes og udvaskedes med 100 ml THF. Filtratet og vaskevæskerne forenedes og inddampedes under reduceret tryk under 50°C til dannelse af en viskos gul olie, som tritureredes med n-hexan (150 ml) til dannelse af 2,4-dinitrophenyl-o-t-butoxycarbonylaminomethylphenyleddikesyre som gule nåle. Udbytte 34,9 g (94%). Smeltepunkt 76-77°C.

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3340, 1785, 1685, 1610, 1540, 1530, 1500, 1340 cm^{-1} .
 Analyse beregnet for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$: C: 55,68, H: 4,91, N: 9,74
 Fundet: C: 55,70, H: 5,05, N: 9,93.

Den foreliggende opfindelse belyses i det følgende nærmere ved eksempler, hvoraf eksempel 1 belyser fremstillingen af cephalosporansyrederivatet ifølge opfindelsen, mens de øvrige eksempler belyser omdannelsen deraf til de værdifulde slutprodukter, herunder salte og estere deraf. Alle temperaturer er anført i °C. 7-aminocephalosporansyre er forkortet som 7-ACA, idet -ACA- betegner gruppen med strukturen



og 7-ACA således kan betegnes som $\text{H-ACA-O-C(=O)-CH}_3$.

Eksempel 1

7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En blanding af 0,60 g (0,0047 mol) 3-hydroxy-6-mercaptopyridazin, 1,27 g (0,0047 mol) 7-aminocephalosporansyre, 0,78 g (0,0094 mol) natriumhydrogencarbonat i 25 ml 0,1M fosfatpuffer (pH-værdi 6,4) opvarmedes ved 60°C i 5 timer. Reaktionsblandingen filtreredes til fjernelse af spor af uopløseligt materiale, og filtratet indstilledes på pH-værdien 5 med eddikesyre til dannelse af brune bundfald, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand og herefter med acetone, hvorpå der tørredes i vakuum til dannelse af 7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. 1,03 g (71%). Smeltepunkt 290-300°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1805, 1680, 1650, 1580, 1415 cm^{-1} .

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

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{D}_2\text{O-K}_2\text{CO}_3}$ 3,22 (1H, d, 19 Hz), 3,37 (1H, d, 14 Hz), 3,65 (1H, d, 4Hz), 5,30 (1H, d, 4 Hz), 6,75 (1H, d, 10 Hz), 7,30 (1H, d, 10 Hz).

Analyse beregnet for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$:

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

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

Eksempel 2 - A.

7-(2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En opløsning af 1,7 g (6 mmol) 2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenyleddikesyre samt 1,2 g (6,6 mmol) 2,4-dinitrophenol i 40 ml THF tilsattes på én gang 1,35 g (6,6 mmol) dicyclohexylcarbodiimid, og blandingen omrørtes i 1½ time ved stuetemperatur. Det udfældede urinstof fjernedes ved filtrering. Filtratet tilsattes på én gang en opløsning af 2,0 g (5,9 mmol) 7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-

-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 1,7 ml (ca. 12 mmol) triethylamin i 30 ml vand. Blandingen omrørtes i 20 timer ved stuetemperatur, udvaskedes med ethylacetat (3 x 150 ml) og syrnedes med 6N saltsyre til dannelse af et bundfald, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med vand (50 ml) og tørredes. Bundfaldet opløstes i 1 liter methanol ved 50°C og filtreredes til fjernelse af en ringe mængde uopløseligt materiale. Filtratet behandledes med aktivt carbon og inddampedes til tørhed. Remanensen tritureredes med ether (50 ml) til dannelse af 920 mg (25%) 7-(2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre smeltende ved 190-200°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1700, 1670, 1580, 1250 cm^{-1} .

Analyse beregnet for $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C: 50,23, H: 5,03, N: 11,27

Fundet: C: 50,63, H: 4,69, N: 10,94.

B.

7-(2-aminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

Trifluoreddikesyre (2 ml) samt 7-(2-t-butoxycarbonylaminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (850 mg, 1,4 mmol) sammenblandedes under afkøling til 0-5°C og omrørtes i 1 time. Blandingen fortyndedes med 150 ml ether til dannelse af trifluoracetatet af den ønskede cephalosporin, 7-(2-aminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, hvilket acetat opsamledes ved filtrering og suspenderedes i 30 ml vand. Suspensionen indstillede på pH-værdien 6 med fortyndet ammoniumhydroxid og fortyndedes med 1 liter acetonitril under omrøring. Faststoffet opsamledes, udvaskedes med acetonitril (3 x 100 ml) og tørredes i vakuum til dannelse af 546 mg (77%) af den ønskede 7-(2-aminomethyl-4-hydroxyphenylacetamido)-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre smeltende ved 210°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1660, 1580, 1390 cm^{-1} .

Analyse beregnet for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C: 43,82, H: 4,73, N: 12,56

Fundet: C: 43,85, H: 4,28, N: 13,12.

Eksempel 3

7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En omrørt suspension af 2,1 mmol natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-p-hydroxyphenylacetat i 5 ml tørret acetonitril indeholdende 1 dråbe N,N'-dimethylbenzylamin tilsættes 0,25 g (2,3 mmol) ethylchloroformiat under omrøring ved -15°C , og omrøringen fortsættes i 20 minutter ved -10 til -15°C . Blandingen tilsættes på én gang en opløsning af 0,71 g (2,1 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 0,21 g (2,1 mmol) triethylamin i 3 ml acetonitril og 3 ml vand, og blandingen omrøres i 1 time ved 0°C . Reaktionsblandingen behandles med en ringe mængde trækul og filtreres. Filtratet tilsættes 0,5 ml myresyre under omrystning, og blandingen filtreres til fjernelse af en ringe mængde uomsat 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. Filtratet tilsættes 100 ml acetonitril, og man lader blandingen henstå i 1 time ved stuetemperatur. Bundfaldet opsamles ved filtrering, udvaskes med 10 ml vand og tørres i vakuum til dannelse af ca. 0,5 g 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

Eksempel 4

7-o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

I en 1 liter trehalset, rundbundet kolbe udstyret med et tørre-rør, en topmonteret omrører og et termometer anbringes 0,08 mol fint pulveriseret kalium-o-(1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl)-p-hydroxyphenylacetat i 350 ml tør tetrahydrofuran (THF) samt 4 dråber N,N'-dimethylbenzylamin. Suspensionen omrøres kraftigt og afkøles til -40° med et bad af acetone og tøris. Suspensionen tilsættes 13,6 g (0,06 mol) isobutylchloroformiat på én gang, medens temperaturen holdes under -35° . Efter 2½ minut fjernes kuldebadet af acetone og tøris, og en opløsning af 0,036 mol 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 5,04 g (0,050 mol) N-methylmorpholin i 250 ml vand tilsættes. Reaktionsblandingen omrøres, indtil den når stuetemperatur (1-2 timer). THF fjernes under reduceret tryk. Den vandige opløsning dækkes med 100 ml ethylacetat og syrnes til pH-værdien 1,7-2,0 med koncentreret HCl. Blandingen behandles med 3,5 g trækul ("Darco KB") og filtreres. Lagene adskilles, og den vandige fase ekstraheres med 2 x 100 ml portioner ethylacetat. Den vandige fase

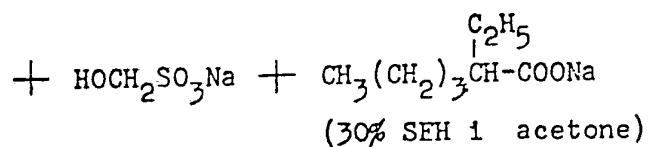
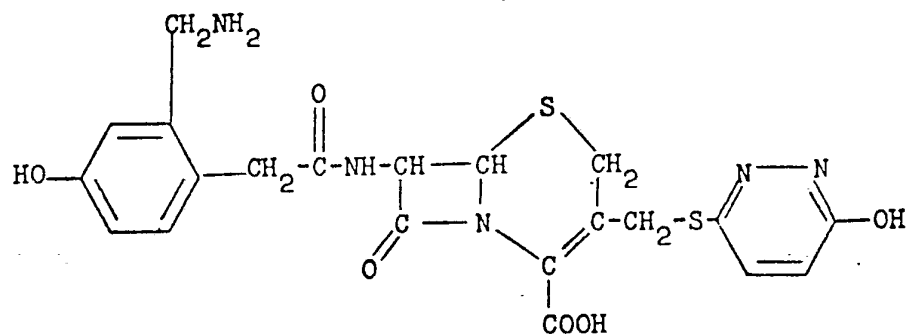
filtreres derpå gennem filterpapir, og pH-værdien indstilles på 4,0. Efter skrabning lader man opløsningen henstå natten over ved 5-7° til udkrystallisation. Produktet opsamles ved filtrering, udvaskes med en ringe mængde vand og tørres i en vakuumekssikkator over P_2O_5 . Udbyttet af 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre andrager ca. 30%.

Eksempel 5

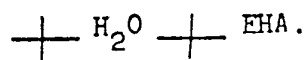
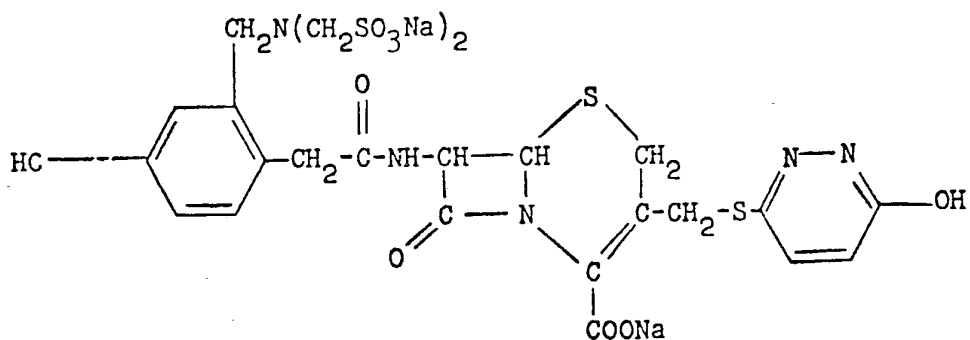
En suspension af 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterionform (0,361 g) i 3 ml methanol afkøles i is og behandles med få dråber koncentreret saltsyre, indtil der fås en klar opløsning. 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre,hydrochlorid udfælder som et lysebrunt farvet faststof ved tilsætning af ether og opsamles ved filtrering, hvorpå det tørres i vakuum over P_2O_5 .

Eksempel 6

En omrørt suspension af zwitterionformen af 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (0,361 g) tilsættes 1N vandig natriumhydroxid ved stuetemperatur, indtil der fås en klar opløsning (pH-værdi 10,8). Denne opløsning frysetørres øjeblikkeligt til dannelse af uren, fast natrium-7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Eksempel 7

1. Opvarm i vand
 2. Behandl med carbon og filtrer
 3. Sæt filtratet til vandfri alkohol
- ↓



Fremgangsmåde:

Anbring 2 mol (ca. 1010 g på vandfri basis) 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, 540 g natriumformaldehydhydrogensulfit (4,03 mol), 3000 ml vand og 2700 ml (4,87 mol) 30% SEH (natrium-2-ethylhexanoat) i acetone i en egnet beholder og omrør, medens blandingen opvarmes til 40-45°C. Blandingen danner i løbet af ca. 10 minutter en gul opløsning.

Opløsningen tilsættes efter 15 minutters opvarmning 50 g affarvende trækul ("Darco KB"), og der omrøres i yderligere 15 minutter ved 40-45°C.

Filtrer gennem diatoméjord ("Dicalite") efter opvarmning af reaktionsblandingen til 40-45°C i ialt 30 minutter.

Udvask carbonfilterkagen med 2000 ml 50% ethanol-vand.

Foren filtraterne, indstil temperaturen på 25°C og sæt ved 25°C opløsningen til 112 liter 100% ethylalkohol under hurtig omrøring. Der dannes et fint, hvidt, amorph bundfald af di-(natriummethansulfonat) af natrium-7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Omrør suspensionen i ca. 10 minutter og filtrer derpå, hvorefter filterkagen udvaskes med 15 liter 100% ethylalkohol.

Tør filterkagen ved 50-55°C i en ovn med luftcirkulation i ca. 2 timer og derpå i vakuum ved 4-6 mm i 24 timer.

Udbyttet andrager ca. 1200-1400 g amorph, hvidt, fast di-(natriummethansulfonat) af natrium-7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Produktet indeholder normalt adskillige procent vand samt muligvis ethanol-spor.

Dette produkt betegnes også natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfo-methyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Eksempel 8

Der fremstilledes følgende opslæmning:

2,19 g natrium-formaldehydhydrogensulfit (2 ækvivalenter).

3,5 g 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyrezwitterion (100-200 mesh).

25 ml vand (voluminet kan varieres).

14 ml 30% SEH-isopropanol.

I løbet af ca. $\frac{1}{2}$ times hurtig omrøring ved 24°C fås en næsten klar opløsning. Blandingens temperatur stiger hurtigt til $40-43^{\circ}\text{C}$. Temperaturen holdes her i ca. 2 minutter, hvorpå der hurtigt afkøles til $20-23^{\circ}\text{C}$.

Opløsningen filtreres til fjernelse af uopløse materiale (den samlede tid på opløst form bør ikke overskride 2 timer).

Opløsningen med pH-værdien 7,3 sættes i løbet af et tidsrum på 5 minutter til 600 ml absolut ethanol under meget kraftig omrøring (andre alkoholer, såsom vandfri isopropanol kan anvendes. Der dannes et amorft bundfald af di-(natriummethansulfonatet) af natrium-7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Blandingen omrøres i 5 minutter. Bundfaldet opsamles ved filtrering, udvaskes med 60 ml ethanol (eller isopropanol) og vakuumtørres ved 50°C i 24 timer. Udbyttet andrager ca. 4,3 g.

Produktet kan ved en pH-værdi på ca. 7 opløses i vand i en mængde på mindst 200 mg/ml. En sådan opløsning er stabil i mindst 2 timer ved stuetemperatur. Mere fortyndede opløsninger er stabile i endnu længere tidsrum. Produktet har samme antibakterielle spektrum som udgangszwitterionen og er fuldt biologisk aktivt, hvadenten det er hydrolyseret tilbage til zwitterionformen eller ej.

Eksempel 9

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.
Fremstilling under anvendelse af hydroxymethansulfonat.

En blanding af 2,05 mmol 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 1,56 g (10 mmol) natriumhydroxymethansulfonatmonohydrat, 6 ml (mmol) 1M SEH-opløsning i ethylacetat, 10 ml isopropanol og 10 ml vand omrøres ved stuetemperatur i $3\frac{1}{2}$ time. Den fremkomne opløsning behandles med 1 g aktivt carbon og hældes under omrøring ud i 300 ml absolut ethanol, hvorpå blandingen omrøres ved stuetemperatur i 30 minutter til dannelse af det krystallinske produkt, som opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner absolut ethanol og tørres over P_2O_5 ved $45-52^{\circ}/1\text{ mm}$ i 20 timer til dannelse af ca. 1,5 g natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der er let opløseligt i vand ($> 1\text{ g/ml}$).

Eksempel 10

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.
Fremstilling under anvendelse af formalin og natriumhydrogensulfit.

(a) En opløsning af 1 ml (10 mmol) 30% formalin og 1 g natriumhydrogensulfit i 10 ml vand tilsættes successivt 2 mmol af 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH-opløsning samt 10 ml isopropanol. Blandingen omrøres i 2½ time ved stuetemperatur og udhældes i 300 ml ethanol. Det fremkomne natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner ethanol og tørres i vakuum. Udbytte ca. 1,5 g.

(b) En blanding af 2 mmol 7-(o-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH i ethylacetat, 10 ml isopropanol samt 10 ml vand tilsættes 1 ml (10 mmol) 30% formalin. Blandingen omrøres i 2 timer ved stuetemperatur til dannelse af en klar opløsning med en ringe mængde oliegagtigt bundfald. Herefter tilsættes 1 g natriumhydrogensulfit, hvorpå opløsningen omrøres i yderligere 2 timer, i løbet af hvilket tidsrum det olieagtige bundfald går i opløsning. Reaktionsblandingen udhældes i 300 ml ethanol under kraftig omrøring til dannelse af ca. 1,8 g natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethyl-p-hydroxyphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner ethanol og tørres i vakuum.

Eksempel 11 - A.

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En opløsning af 2,19 g (4,7 mmol) 2,4-dinitrophenylestere af den BOC-beskyttede aminosyre o-aminomethylphenylthioeddikesyre i 50 ml THF tilsættes ved 0°C en opløsning af 1,02 g (3 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 0,85 ml triethylamin i 50 ml THF samt 20 ml vand. Reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 17 timer, hvorpå den behandledes med aktivt carbon og filtreredes. Filtratet indampedes i vakuum til fjernelse af THF, og konzentratet udvaskedes med fem 100 ml portioner ether. Den vandige opløsning dækkedes med 100 ml ethylacetat og syrnedes til pH-værdien 2 med fortynt-

det saltsyre under kraftig omrøring ved 0°C. Det vandige lag ekstraheredes med tre 100 ml portioner ethylacetat. Det organiske lag forenedes med ethylacetatekstrakterne, tørredes over vandfri natriumsulfat og behandledes med aktivt carbon. Filtratet inddampedes under reduceret tryk ved 30°C til dannelsen af et olieagtigt produkt, som tritureredes med 100 ml ether til dannelsen af 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxy-pyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et lysegult faststof. Opsamling af bundfaldet ved filtrering efterfulgtes af udvaskning med 100 ml ether, og der tilvejebragtes 0,71 g (38%) af den ønskede 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

B.

7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (0,50 g, 0,8 mmol) sættes på én gang til 3 ml trifluoreddikesyre under omrøring ved 0°C. Omrøringen fortsættes i 1 time ved 0-5°C. Ved tilsætning af 100 ml ether fremkom et hvidt bundfald. Dette opsamledes ved filtrering og suspenderedes i 4 ml vand ved stuetemperatur. Suspensionen indstilles på pH-værdien 5 med fortyndet ammoniumhydroxid samt omrøring. Opsamling af bundfaldet ved filtrering tilvejebragte 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et brunt pulver, der udvaskedes med vand samt herefter acetonitril og tørredes i vakuum over phosphorpentoxid. Produktet vejede 220 mg (52%) og havde et smeltepunkt på 200-210°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1670, 1580, 1210 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{1\% \text{ NaHCO}_3}$ 250 nm (ϵ 20800), 270 nm (ϵ 14900).

Analyse beregnet for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_3 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$:

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

Fundet:

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

Eksempel 12 - A.7-(o-t-butoxycarbonylaminoethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En opløsning af 1,85 g (4 mmol) 2,4-dinitrophenyl-(o-t-butoxycarbonylaminoethylphenylthio)-acetat (fremstillet som beskrevet i USA patentskrift nr. 3.657.232) i 50 ml THF tilsattes en opløsning af 1,02 g (3 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, 0,85 ml (ca. 6 mmol) triethylamin i en blanding af 30 ml tetrahydrofuran (THF), 30 ml acetonitril, samt 50 ml vand under afkøling ved 0°C. Man lod blandingen langsomt indstille sig på stuetemperatur, og der omrørtes i 12 timer. Reaktionsblandingen behandledes med en ringe mængde aktivt carbon og filtreredes. Filtratet inddampedes til fjernelse af det organiske opløsningsmiddel under vakuum ved en temperatur under 35°C. Den fremkomne vandige opløsning udvaskedes godt med ether (30 ml x 4), dækkedes med 50 ml ethylacetat, syrnedes med fortyndet saltsyre til pH-værdien 3 under omrøring ved 0-5°C. Bundfaldet, som fremkom mellem de to lag, opsamledes ved filtrering. Produktet vejede 0,6 g. Dette produkt udgjorde den ønskede 7-(o-t-butoxycarbonylaminoethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. En yderligere mængde af produktet opnåedes fra filtratet, der udgjordes af de to lag. Det vandige lag ekstraheredes tre gange med 100 ml ethylacetat pr. gang. Den organiske fase forenedes med de organiske ekstrakter, tørredes over vandfri natriumsulfat og inddampedes til tørhed. Remanensen udvaskedes godt med 100 ml ether og tørredes i vakuum over phosphorpentoxid. Produktet vejede 0,42 g. Det samlede udbytte af 7-(o-t-butoxycarbonylaminoethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre androg 1,02 g (55%). Smeltepunkt 150-160°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1690, 1590, 1535, 1175 cm^{-1} .

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

Analyse beregnet for $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$:

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

Fundet:

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

B.

7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthio-
methyl-3-cephem-4-carboxylsyre

En blanding af 0,98 g (1,58 mmol) af den BOC-beskyttede cephalosporin 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 4 ml trifluoreddikesyre omrørtes ved 0°C i 1 time. Tilsætning af 100 ml ether gav et hvidt bundfald, som opsamledes ved filtrering og udvaskedes med 100 ml ether. En suspension af bundfaldet i 10 ml vand indstilledes på pH-værdien 5 med fortyndet ammoniak til dannelse af den ønskede cephalosporin 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, der opsamledes ved filtrering, udvaskedes med 50 ml acetonitril og tørredes i vakuum. Udbytte 0,46 g (56%). Produktet var identisk (IR) med produktet fra eksempel 11 ovenfor.

Eksempel 13

7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthio-
methyl-3-cephem-4-carboxylsyre

En omrørt suspension af 2,1 mmol natrium-o-(1-ethoxycarbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-phenylthioacetat i 5 ml tørret acetonitril indeholdende 1 dråbe N,N-dimethylbenzylamin tilsættes 0,25 g (2,3 mmol) ethylchloroformiat under omrøring ved -15°C, og omrøringen fortsættes i 20 minutter ved -15°C. Blandingen tilsættes på én gang en opløsning af 0,71 g (2,1 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 0,21 g (2,1 mmol) triethylamin i 3 ml acetonitril og 3 ml vand, hvorpå blandingen omrøres i 1 time ved 0°C. Reaktionsblandingen behandles med en ringe mængde trækul og filtreres. Filtratet tilsættes 0,5 ml myresyre under omrystning, og blandingen filtreres til fjernelse af en ringe mængde uomsat 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. Filtratet tilsættes 100 ml acetonitril, og blandingen lader man henstå i 1 time ved stuetemperatur. Bundfaldet opsamles ved filtrering, udvaskes med 10 ml vand og tørres i vakuum til dannelse af 0,4 g 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

Eksempel 147-o-aminomethylphenylthioacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

I en 1 liter trehalset rundbundet kolbe udstyret med et tørre-rør, en topmonteret omrører og et termometer anbringes 0,08 mol godt pulveriseret kalium-o-(1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl)-phenylthioacetat i 350 ml tør tetrahydrofuran (THF) samt 4 dråber N,N-dimethylbenzylamin. Suspensionen omrøres kraftigt og afkøles til -40° med et bad af acetone og tøris. Suspensionen tilsættes på én gang 13,6 g (0,06 mol) isobutylchlorformiat, medens temperaturen holdes under -35° . Efter $2\frac{1}{2}$ minut fjernes kuldebadet af acetone og tøris, og der tilsættes en opløsning af 0,036 mol 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 5,04 g (0,050 mol) N-methylmorpholin i 250 ml vand. Reaktionsblandingen omrøres, indtil den når stuetemperatur (1-2 timer). THF fjernes under reduceret tryk. Den vandige opløsning dækkes med 100 ml ethylacetat og syres til pH-værdien 1,7-2,0 med koncentreret HCl. Blandingen behandles med 3,5 g trækul ("Darco KB") og filtreres. Lagene adskilles, og den vandige fase ekstraheres med to gange 100 ml portioner ethylacetat. Den vandige fase filtreredes derpå gennem filterpapir, og pH-værdien indstilledes på 4,0. Efter skrabning henstår opløsningen natten over ved $5-7^{\circ}$ til udkrystallisation. Produktet opsamles ved filtrering, udvaskes med en ringe mængde vand og tørres i en vakuumekssikkator over P_2O_5 . Udbyttet af 7-o-aminomethylphenylthioacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre er ca. 30%.

Eksempel 15

En suspension af zwitterionformen af 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (0,361 g) i 3 ml methanol afkøles i is og behandles med nogle få dråber koncentreret saltsyre, indtil der fås en klar opløsning. 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre,hydrochlorid udfælder som et lysebrunt farvet faststof ved tilsætning af ether og opsamles ved filtrering, hvorpå det tørres i vakuum over P_2O_5 .

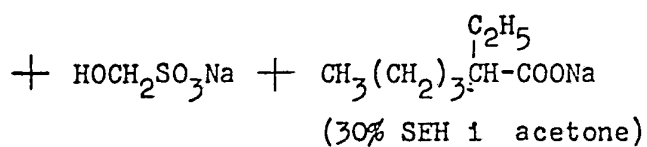
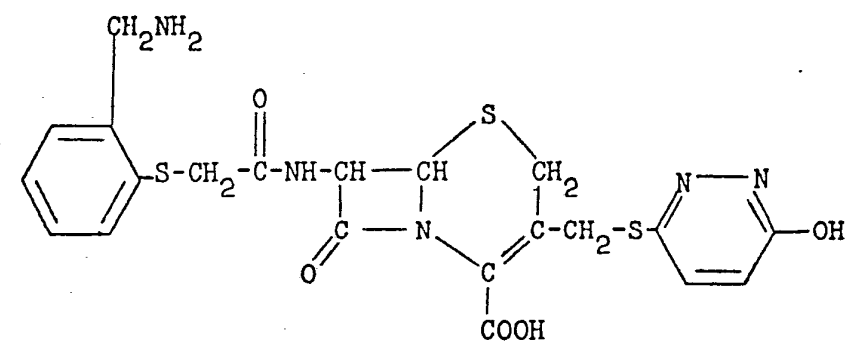
Eksempel 16

En omrørt suspension af zwitterionformen af 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (0,361 g) tilsættes 1N vandig natriumhydroxid ved

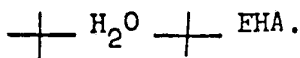
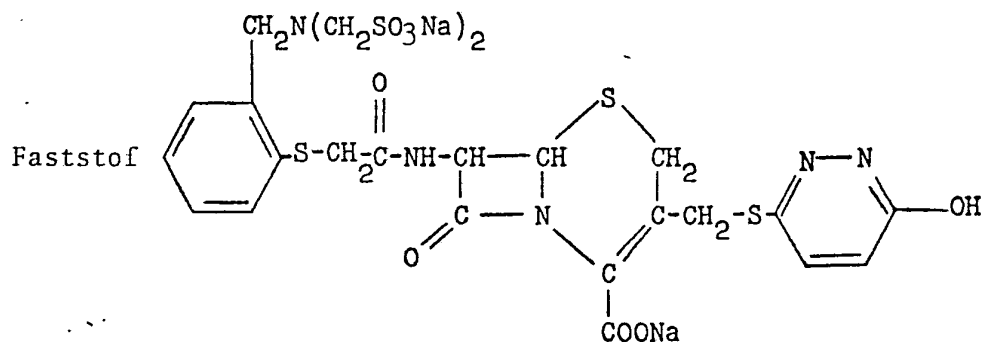
stuetemperatur, indtil der fås en klar opløsning med pH-værdien 10,8. Denne opløsning frysetørres øjeblikkeligt til dannelsen af uren, fast natrium-7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Fremstilling af dimethansulfonat

Eksempel 17



1. Opvarm i vand
 2. Behandl med carbon og filtrer
 3. Sæt filtratet til vandfri alkohol
- ↓



Fremgangsmåde:

Anbring 2,0 mol (ca. 1020 g på vandfri basis) 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, 540 g natriumformaldehydhydrogensulfit (4,03 mol), 3000 ml vand samt 2700 ml (4,87 mol) 30% SEH (natrium-2-ethylhexanoat) i acetone i en egnet beholder og opvarm under omrøring blandingen til 40-45°C. Blandingen danner i løbet af ca. 10 minutter en gul opløsning.

Efter 15 minutters opvarmning tilsæt da 50 g affarvende trækul ("Darco KB") til opløsningen og omrør i yderligere 15 minutter ved 40-45°C.

Filtrer gennem diatoméjord ("Dicalite") efter opvarmning af reaktionsblandingen ved 40-45°C i ialt 30 minutter.

Udvask carbonfilterkagen med 2000 ml 50% ethanol-vand.

Foren filtraterne, indstil på 25°C og sæt ved 25°C opløsningen til 112 liter 100% ethylalkohol under hurtig omrøring. Der dannes et fint, hvidt, amorft bundfald af di-(natriummethansulfonatet) af natrium-7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Omrør suspensionen i ca. 10 minutter og filtrer derpå og udvask filterkagen med 15 liter 100% ethylalkohol.

Tør filterkagen ved 50-55°C i en ovn med luftcirkulation i ca. 2 timer og derpå under vakuum ved 4-6 mm i 24 timer.

Udbyttet andrager ca. 1200-1400 g amorft, hvidt, fast di-(natriummethansulfonat) af natrium-7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Produktet indeholder normalt adskillige procent vand samt muligvis ethanol-spor.

Dette produkt betegnes også 7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Eksempel 18

Der fremstilles følgende opslæmning:

2,19 g natriumformaldehydhydrogensulfit (2 ækvivalenter).

3,5 g 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyrezwitterion (100-200 mesh).

25 ml vand (voluminet kan varieres).

14 ml 30% SEH-isopropanol.

Der fås i løbet af ca. ½ times hurtig omrøring ved 24°C næsten en klar opløsning. Blandingens temperatur hæves hurtigt til 40-43°C.

Temperaturen holdes her i ca. 2 minutter, hvorpå der hurtigt nedkøles til 20-23°C.

Opløsningen filtreres til fjernelse af uopløseligt materiale (den samlede tid på opløst form bør ikke overskride 2 timer).

Opløsningen med pH-værdien 7,3 sættes i løbet af et tidsrum på 5 minutter til 600 ml absolut ethanol under meget hurtig omrøring (andre alkoholer, såsom vandfri isopropanol kan anvendes). Der dannes et amorft bundfald af di-(natriummethansulfonat) af natrium-7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Blandingen omrøres i 5 minutter. Bundfaldet opsamles ved filtrering, udvaskes med 60 ml ethanol (eller isopropanol) og vakuumtørres ved 50°C i 24 timer. Udbyttet andrager ca. 4 g.

Produktet kan ved pH-værdien ca. 7 opløses i vand i en mængde på mindst 200 mg/ml. En sådan opløsning er stabil i mindst 2 timer ved stuetemperatur. Mere fortyndede opløsninger er stabile i endnu længere tidsrum. Produktet har samme antibakterielle spektrum som udgangszwitterionen og er fuldt biologisk aktivt, hvadenten det er hydrolyseret tilbage til zwitterionformen eller ej.

Eksempel 19

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.
Fremstilling under anvendelse af hydroxymethansulfonat.

En blanding af 2,05 mmol 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 1,56 g (10 mmol) natriumhydroxymethansulfonatmonohydrat, 6 ml (6 mmol) 1M SEH-opløsning i ethylacetat, 10 ml isopropanol samt 10 ml vand omrøres ved stuetemperatur i 3½ time. Den fremkomne opløsning behandles med 1 g aktivt carbon og udhældes under omrøring i 300 ml absolut ethanol, hvorpå blandingen omrøres ved stuetemperatur i 30 minutter til dannelse af det krystallinske produkt, som opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner absolut ethanol og tørres over P₂O₅ ved 45-52°C/1 mm i 20 timer til dannelse af natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der er let opløseligt i vand (>1 g/ml).

Eksempel 20

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.
Fremstilling under anvendelse af formalin og natriumhydrogensulfit.

(a) En opløsning af 1 ml (10 mmol) 30% formalin og 1 g natriumhydrogensulfit i 10 ml vand tilsættes successivt 2 mmol 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH-opløsning samt 10 ml isopropanol. Blandingen omrøres i 2½ time ved stuetemperatur og udhældes i 300 ml ethanol. Det fremkomne natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner ethanol og tørres i vakuum.

(b) En blanding af 2 mmol 7-(o-aminomethylphenylthioacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH i ethylacetat, 10 ml isopropanol samt 10 ml vand tilsættes 1 ml (10 mmol) 30% formalin. Blandingen omrøres i 2 timer ved stuetemperatur til dannelse af en klar opløsning med en ringe mængde olieagtigt bundfald. Herefter tilsættes 1 g natriumhydrogensulfit, hvorpå opløsningen omrøres i yderligere 2 timer, i løbet af hvilket tidsrum det olieagtige bundfald opløses. Reaktionsblandingen udhældes i 300 ml ethanol under kraftig omrøring til dannelse af fast natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylthioacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der opsamles ved filtrering, udvaskes med tre 50 ml portioner ethanol og tørres i vakuum.

Eksempel 21 - A.

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En omrørt opløsning af 1,9 g (3,75 mmol) 2,4-dinitrophenyl-o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetat i 15 ml THF tilsættes på én gang en afkølet opløsning af 1,14 g (3,3 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 0,62 g (6,6 mmol) triethylamin i 15 ml acetonitril og 5 ml vand under afkøling ved 0°C. Man lader langsomt reaktionsblandingen nå stuetemperatur, og der røres natten over. Blandingen indampes til fjernelse af organisk opløsningsmiddel under reduceret tryk ved en temperatur under 30°C, og den tilbageblevne vandige opløsning udvaskes med ether (10 ml x 3). Den vandige fase dækkes med 20 ml ethylacetat og syres til pH-værdien

2,5 med fortyndet saltsyre under omrøring, hvorpå det organiske lag fraskilles. Den vandige fase ekstraheres med ethylacetat (100 ml x 3). Uopløseligt materiale, som fremkom under ekstraktionen, opsamles ved filtrering og udvaskedes med en ringe mængde vand til dannelse af 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et lysegult pulver (0,30 g) (A). De forenede organiske ekstrakter behandles med en ringe mængde aktivt carbon og filtreres. Filtratet tørres over vandig natriumsulfat, og opløsningsmidlet bortdampes til dannelse af et olieagtigt materiale, der udvaskedes godt med 50 ml ether til dannelsen af 0,59 g 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et lysegult pulver (B). Begge fraktioner (A) og (B) havde samme IR-spektre. Samlet udbytte 0,89 g (86%). Smeltepunkt 160-170°C (dekomponering).

IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1780, 1710, 1690, 1680, 1530 cm^{-1} .

UV: $\lambda_{\text{max}}^{1\% \text{ NaHCO}_3}$ 250 nm (ϵ 18400).

NMR: $\delta_{\text{ppm}}^{\text{DMSO}}$ 1,35 (9 H, s), 3,55 (2H, s), 4,02 (2 H, s), 3,3-4,7 (5 H, ikke godt adskilt), 4,95 (1H, d, 4 Hz), 5,50^x (1 H, d-d, 9, 4 Hz), 6,64 (1H, d, 10 Hz), 7,04 (4 H, s), 7,18 (1 H, d, 10 Hz), 8,90^{xx} (1 H, d, 9 Hz), 12,60^{xx} (1 H, br-s).
(^x dublet (J=4 Hz) ved tilsætning af D₂O. ^{xx} Forsvandt ved tilsætning af D₂O).

Analyse beregnet for C₂₆H₂₉N₅O₇S₂·½H₂O:

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

Fundet: C: 52,03, H: 4,98, N: 11,37, S: 10,09.

B.

7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (500 mg, 0,87 mmol) sættes til 3 ml trifluoreddikesyre under omrøring ved 0°C, hvorpå blandingen omrørtes i yderligere 1 time under 0°C. Der tilsættes 100 ml ether til reaktionsblandingen, og det fremkomne bundfald opsamles ved filtrering. Bundfaldet suspenderedes i 10 ml vand, og pH-værdien af denne suspension indstilledes på 5 ved tilsætning af fortyndet ammoniumhydroxid under omrøring. Det ønskede produkt 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-

-carboxylsyre opsamledes ved filtrering, udvaskedes med først 5 ml vand og derpå 5 ml acetonitril og tørredes i vakuum over phosphor-pentoxid. Produktet vejede 286 mg (67%). Smeltepunkt 222-230°C (dekomponering).

IR: $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1770, 1665, 1640, 1580, 1395, 1005 cm^{-1} .

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

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

Analyse beregnet for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_2 \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$:

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

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

Eksempel 22 - A.

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En opløsning af 1,0 g (3,7 mmol) o-t-butoxycarbonylaminomethylphenyleddikesyre samt 0,69 g (3,7 mmol) ^{2,6-dinitrophenol} i 8 ml tør ethylacetat tilsattes på én gang 0,78 g N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time. Dicyclohexylurinstof, som udskiltes, frafiltreredes, og filtratet inddampedes under reduceret tryk til dannelsen af den aktiverede ester som en gul olie. Den aktive ester opløstes i 30 ml THF og afkøledes til 0°C. Opløsningen tilsattes på én gang en blanding af 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (1,02 g, 3 mmol), 0,85 ml triethylamin, 30 ml THF og 10 ml vand. Reaktionsblandingen omrørtes ved stuetemperatur i 16 timer og behandledes med aktivt carbon. Filtratet fortyndedes med 50 ml vand og udvaskedes to gange med 100 ml ether. Den vandige opløsning dækkedes med 100 ml ethylacetat og syrnedes til pH-værdien 2 med fortyndet saltsyre under kraftig omrøring ved 5-10°C. Det vandige lag ekstraheredes to gange med 100 ml ethylacetat. Det organiske lag forenedes med ethylacetatekstrakterne, tørredes over vandfri natriumsulfat, behandledes med aktivt carbon og filtreredes. Bortdampning af opløsningsmidlet tilvejebragte 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et lysegult olieagtigt faststof, der tritureredes med 100 ml ether. Det BOC-beskyttede produkt opsamledes ved filtrering, udvaskedes med 30 ml ether og tørredes i vakuum.

Produktet vejede 0,95 g (54%).

B.

7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En kold blanding af 0,95 g (1,6 mmol) af den BOC-beskyttede cephalosporin, 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, samt 6 ml trifluoreddikesyre omrørtes i 1 time ved 0-5°C. Der tilsattes til reaktionsblandingen 100 ml ether, og det fremkomne hvide bundfald opsamledes ved filtrering og udvaskedes med 100 ml ether. Suspensionen af bundfaldet i 10 ml vand indstilledes på pH-værdien 5 med fortyndet ammoniumhydroxid. Det ønskede produkt, 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, frafiltreredes, udvaskedes med 50 ml acetonitril og tørredes i vakuum over phosphorpentoxid. Udbytte 0,50 g (61%).

Eksempel 23 - A.

7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En afkølet (-3 til 0°C) og omrørt opløsning af 93 g 2,4-dinitrophenyl-o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetat i 600 ml tetrahydrofuran tilsattes på én gang en afkølet opløsning af 62 g (0,18 mol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 46 g (0,46 mol) triethylamin i 250 ml vand. Reaktionsblandingen omrørtes natten over, og man lod temperature stige til stuetemperatur. Blandingen behandledes med 10 g trækul og filtreredes. Filtratet indampedes til ca. 300 ml under reduceret tryk ved en temperatur under 40°C. Koncentratet udvaskedes med fem 200 ml portioner ether og behandledes igen med ca. 20 g trækul. Filtratet dækkedes med 1 liter ether og syrnedes med fortyndet saltsyre til pH-værdien 3,5 under kraftig omrøring til dannelse af rå 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, der opsamledes ved filtrering, udvaskedes med 2 liter ether, 2 liter vand og 0,5 liter ether efter tur. Produktet vejede 90 g.

Råproduktet opdeltes i to dele. Første del (50 g) anvendtes til næste trin uden yderligere rensning.

Anden del (40 g) opløstes i 1 liter methanol til fjernelse af mørkfarvet uopløseligt materiale (3,9 g), og filtratet indampedes til ca. 50 ml. Koncentratet tilsattes 300 ml acetonitril til dannelse

af 17,4 g lysegult bundfald, der opsamledes ved filtrering og udvaskedes med 100 ml acetonitril. Inddampning af moderluden tilvejebragte yderligere 12,5 g produkt.

B.

7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

(a) 50 g af den rå 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre opløstes i 100 ml trifluoreddikesyre under afkøling. Opløsningen omrørtes i 1½ time ved 0-5°C. Tilsætning af 1 liter ether til opløsningen tilvejebragte trifluoracetatet af den ønskede cephalosporin, hvilket produkt opsamledes ved filtrering og udvaskedes med 300 ml ether. Trifluoracetatet opløstes i 100 ml vand, og opløsningen indstilledes på pH-værdien 4 med 10% ammoniumhydroxid til dannelse af det farvede produkt (26,6 g), hvilket udvaskedes med 300 ml vand og herefter 300 ml acetonitril, hvorpå produktet tørredes i vakuum. Råproduktet opløstes i 50 ml formamid ved stuetemperatur, og opløsningen tilsattes dråbevis 150 ml vand til dannelse af en ringe mængde farvet bundfald, som frafiltreredes. Filtratet tilsattes 1,5 liter acetonitril til dannelse af 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre som et lysegult pulver. Produktet vejede 9,8 g.

(b) Samme fremgangsmåde som ovenfor beskrevet anvendtes med to fraktioner (17,4 g og 12,5 g) af genudfældet 7-(o-t-butoxycarbonylaminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre og tilvejebragte 12,3 g af det ønskede produkt, 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre.

De to produkter fra (a) og (b), der ovenfor er beskrevet, havde næsten samme IR-spektre og MIC-værdier. Produkterne forenedes og analyseredes. Smeltepunkt 208°C (dekomponering).

Analyse beregnet for $C_{21}H_{21}N_5O_5S_2 \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$:

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

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

Eksempel 247-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyrimidin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

En omrørt suspension af 0,63 g (2,1 mmol) natrium-o-(1-ethoxy-carbonyl-1-propen-2-ylaminomethyl)-phenylacetat i 5 ml tørret acetonitril indeholdende 1 dråbe N,N'-dimethylbenzylamin tilsættes 0,25 g (2,3 mmol) ethylchlorformiat under omrøring ved -15°C , og omrøringen fortsættes i 20 minutter ved -10 til -15°C . Blandingen tilsættes på én gang en opløsning af 0,71 g (2,1 mmol) 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 0,21 g (2,1 mmol) triethylamin i 3 ml acetonitril samt 3 ml vand, hvorpå blandingen omrørtes i 1 time ved 0°C . Reaktionsblandingen behandlede med en ringe mængde trækul og filtreredes. Filtratet tilsættes 0,5 ml myresyre under omrystning, og blandingen filtreredes til fjernelse af en ringe mængde uomsat 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. Filtratet tilsættes 100 ml acetonitril, og man lod blandingen henstå i 1 time ved stuetemperatur. Bundfaldet opsamledes ved filtrering, udvaskedes med 10 ml vand og tørredes i vakuum til dannelse af 0,49 g (48%) 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre. Smeltepunkt $200-210^{\circ}\text{C}$ (dekomponering).

Eksempel 257-o-aminomethylphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

I en 1 liter trehalset rundbundet kolbe udstyret med et tørre-rør, en topmonteret omrører og et termometer anbringes 24,0 g (0,08 mol) godt pulveriseret kalium-o-(1-carbomethoxypropen-2-ylaminomethyl)-phenylacetat i 350 ml tør tetrahydrofuran (THF) samt 4 dråber N,N-dimethylbenzylamin. Suspensionen omrøres kraftigt, og der afkøles til -35 til -40° med et kuldebad af acetone og tøris. Suspensionen tilsættes 13,6 g (0,06 mol) isobutylchloroformiat på én gang, medens temperaturen holdes under -35° . Efter $2\frac{1}{2}$ minut fjernes kuldebadet af acetone og tøris, og der tilsættes en opløsning af 0,036 mol 7-amino-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre samt 5,04 g (0,050 mol) N-methylmorpholin i 250 ml vand. Reaktionsblandingen omrøres, indtil den når stuetemperatur (1-2 timer). THF fjernes under reduceret tryk. Den vandige opløsning dækkes med 100 ml ethylacetat og syrnes til pH-værdien 1,7-2,0 med koncentreret HCl. Blandingen behandles med 3,5 g trækul ("Darco KB") og filtreres. Lagene ad-

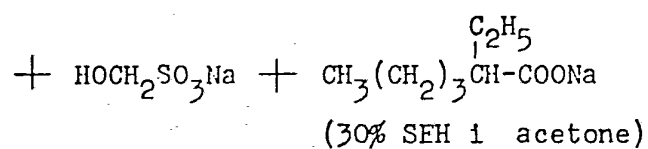
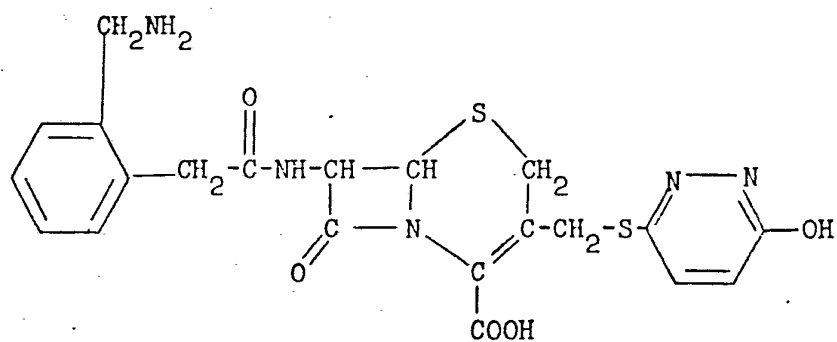
skilles, og den vandige fase ekstraheres med 2 x 100 ml portioner af ethylacetat. Den vandige fase filtreres derpå gennem filterpapir, og pH-værdien indstilles på 4,0. Efter skrabning henstår opløsningen nat-ten over ved 5-7⁰ til udkrystallisation. Produktet opsamles ved fil-trering, udvaskes med en ringe mængde vand og tørres i en vakuumekssik-kator over P₂O₅. Udbyttet af 7-o-aminomethylphenylacetamido-3-(3-hy-droxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre er ca. 30%.

Eksempel 26

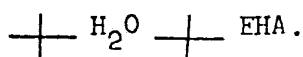
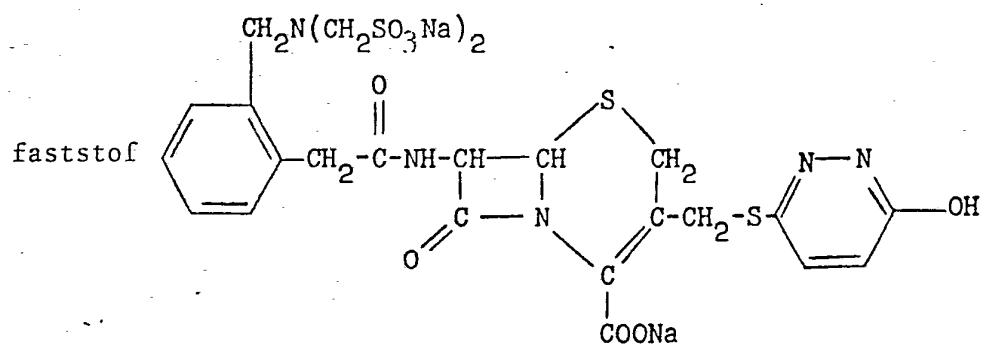
En suspension af zwitterionformen af 7-(o-aminomethylphenylacet-amido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (0,361 g) i 3 ml methanol afkøles i is og behandles med få dråber koncentreret saltsyre, indtil der fås en klar opløsning. 7-(o-amino-methylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre,hydrochlorid udfælder som lysebrunt farvet faststof ved tilsætning af ether og samles ved filtrering, hvorpå det tørres i vakuum over P₂O₅.

Eksempel 27

En omrørt suspension af zwitterionformen af 7-(o-aminomethylphe-nylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carb-oxylsyre (0,361 g) tilsættes 1N vandig natriumhydroxid ved stuetempe-ratur, indtil der fås en klar opløsning med pH-værdien 10,8. Denne opløsning frysetørres øjeblikkeligt til dannelse af uren fast natrium-7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Fremstilling af dimethansulfonatEksempel 28

1. Opvarm i vand
2. Behandl med carbon og filtrer
3. Sæt filtratet til vandfri alkohol



Fremgangsmåde:

Anbring 2,0 mol (ca. 980 g på vandfri basis) 7-(o-aminomethylphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, 540 g natriumformaldehydhydrogensulfit (4,03 mol), 3000 ml vand og 2700 ml (4,87 mol) 30% SEH (natrium-2-ethylhexanoat) i acetone i en egnet beholder og opvarm under omrøring blandingen til 40-45°C. Blandingens danner i løbet af ca. 10 minutter en gul opløsning.

Sæt efter 15 minutters opvarmning 50 g affarvende trækul ("Darco KB") til opløsningen og omrør i yderligere 15 minutter ved 40-45°C.

Filtrer gennem diatoméjord ("Dicalite") efter opvarmning af reaktionsblandingen til 40-45°C i ialt 30 minutter.

Udvask filterkagen med 2000 ml 50% ethanol-vand.

Foren filtraterne, indstil temperaturen på 25°C og sæt ved 25°C opløsningen til 112 liter 100% ethylalkohol under hurtig omrøring. Der dannes et fint, hvidt, amorft bundfald af di(natriummethansulfonatet) af natrium-7-(o-aminomethylphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Omrør suspensionen i ca. 10 minutter og filtrer herpå og udvask filterkagen med 15 liter 100% ethylalkohol.

Tør filterkagen ved 50-55°C i en ovn med luftcirkulation i ca. 2 timer og derpå under et vakuum ved 4-6 mm i 24 timer.

Udbyttet andrager ca. 1200-1400 g amorft, hvidt fast di(natriummethansulfonatet) af natrium-7-(o-aminomethylphenylacetamido-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Produktet indeholder normalt adskillige procent vand og muligvis spor af ethanol.

Dette produkt betegnes også natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

Eksempel 29

Der fremstilles følgende opslæmning:

2,19 g natriumformaldehydhydrogensulfit (2 ækvivalenter).

3,5 g 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyrezwitterion (100-200 mesh).

25 ml vand (voluminet kan varieres).

14 ml 30% SEH-isopropanol.

Der fås i løbet af ca. $\frac{1}{2}$ times hurtig omrøring ved 24°C næsten en klar opløsning. Temperaturen af blandingen hæves hurtigt til 40-43°C. Temperaturen holdes her i ca. 2 minutter, hvorpå der hurtigt afkøles til 20-23°C.

Opløsningen filtreres til fjernelse af uopløseligt materiale (den samlede tid på opløst form bør ikke overskride to timer).

Opløsningen med pH-værdi 7,3 sættes i løbet af et tidsrum på 5 minutter til 600 ml absolut ethanol under meget hurtig omrøring (andre alkoholer, såsom vandfri isopropanol, kan anvendes). Der dannes et amorft bundfald af di(natriummethansulfonat) af 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat. Blandingen omrøres i 5 minutter. Bundfaldet opsamles ved filtrering, udvaskes med 60 ml ethanol (eller isopropanol) og vakuumtørres ved 50°C i 24 timer. Udbyttet andrager ca. 4,3 g.

Produktet kan ved pH-værdien ca. 7 opløses i vand i en mængde på ca. 200 mg/ml. En sådan opløsning er stabil i mindst 2 timer ved stuetemperatur. Mere fortyndede opløsninger er stabile i endnu længere tidsrum. Produktet har samme antibakterielle spektrum som udgangszwitterionen og er fuldt biologisk aktivt, hvadenten det er hydrolyseret tilbage zwitterionen eller ej.

Eksempel 30

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.
Fremstilling under anvendelse af hydroxymethansulfonat.

En blanding 1 g (2,05 mmol) 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 1,56 g (10 mmol) natriumhydroxymethansulfonatmonohydrat, 6 ml (6 mmol) 1M SEH-opløsning i ethylacetat, 10 ml isopropanol og 10 ml vand omrørtes ved stuetemperatur i 3½ time. Den fremkomne opløsning behandledes med 1 g aktivt carbon og udhældtes under omrøring i 300 ml absolut ethanol, hvorpå blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 30 minutter til dannelse af det krystallinske produkt, som opsamledes ved filtrering, udvaskedes med tre 50 ml portioner absolut ethanol og tørredes over P₂O₅ ved 45-52°/1 mm i 20 timer til dannelse af 1,64 g natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der var let opløseligt i vand (>1 g/ml). Smeltepunkt >270°.

IR: $\nu_{\text{KBr max}}$ 1760, 1680-1620, 1580, 1400, 1200, 1040 cm⁻¹.

UV: $\lambda_{\text{H}_2\text{O max}}$ 249 nm (ϵ 14.900), 272 nm (ϵ 10.900, sh), 320 nm (ϵ 2.100, sh).

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

Eksempel 31

Natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat.

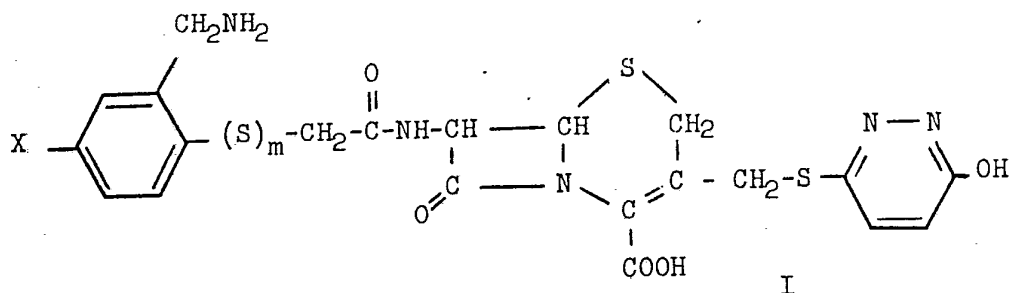
Fremstilling under anvendelse af formalin og natriumhydrogensulfit.

(a) En opløsning af 1 ml (10 mmol) 30% formalin og 1 g natriumhydrogensulfit i 10 ml vand tilsættes successivt 0,975 g (2 mmol) 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH-opløsning og 10 ml isopropanol. Blandingen omrørtes i 2½ time ved stuetemperatur og udhældtes i 300 ml ethanol. Det fremkomne natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat opsamledes ved filtrering, udvaskedes med tre 50 ml portioner ethanol og tørredes i vakuum. Udbytte 1,60 g.

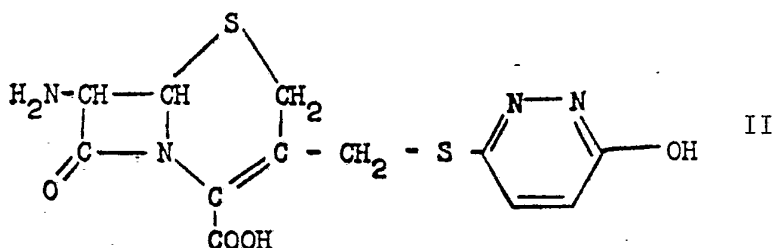
(b) En blanding af 0,975 g (2 mmol) 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyres zwitterion, 6 ml 1M SEH i ethylacetat, 10 ml isopropanol og 10 ml vand tilsættes 1 ml (10 mmol) 30% formalin. Blandingen omrøres i 2 timer ved stuetemperatur til dannelse af en klar opløsning med en ringe mængde olieagtigt bundfald. Efter tilsætning af 1 g natriumhydrogensulfit omrøres opløsningen i yderligere 2 timer, hvorunder det olieagtige bundfald opløses. Reaktionsblandingen udhældes i 300 ml ethanol under kraftig omrøring til dannelse af 1,84 g natrium-7-[o-N,N-bis-(natriumsulfomethyl)-aminomethylphenylacetamido]-3-(3-hydroxypyridazin-6-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylat, der opsamledes ved filtrering, udvaskedes med tre 50 ml portioner ethanol og tørredes i vakuum.

PATENTKRAV

1. Cephalosporansyrederivat til anvendelse som mellemprodukt ved fremstilling af cephalosporansyrederivater med den almene formel



hvor X betegner H eller OH, og m betegner 0 eller 1, under den forudsætning at, når X betegner OH, betegner m 0, eller ikke-toxiske farmaceutisk anvendelige salte og let hydrolyserbare estere heraf, KENDETEGNET ved, at det er 7-amino-3-(6-hydroxypyridazin-3-ylthio-methyl)-3-cephem-4-carboxylsyre med formelen



samt ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte og let hydrolyserbare estere deraf.

2. Cephalosporansyrederivat ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, at det er natrium- eller kaliumsaltet af forbindelse II.

Fremdragne publikationer:

DK patentansøgning nr. 1174/71 (patent nr. 130742)
DE offentliggørelsesskrift nr. 2202274.