



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

[B] (11) KUULUTUSJULKAISU UTLÄGGNINGSSKRIFT

73442

C (45) Patentti myönnetty
Date of grant 10.10.1987

(51) Kv.lk./Int.Cl.⁴ C 07 D 501/36

(21) Patentihakemus — Patentansökning	813088
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	06.10.81
(23) Alkupäivä — Giltighetsdag	06.10.81
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	07.04.82
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	30.06.87
(86) Kv. hakemus — Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	06.10.80

Sveitsi-Schweiz(CH) 7450/80-5
Toteennäytetty-Styrkt

(71) F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft, Basel, Sveitsi-Schweiz(CH)

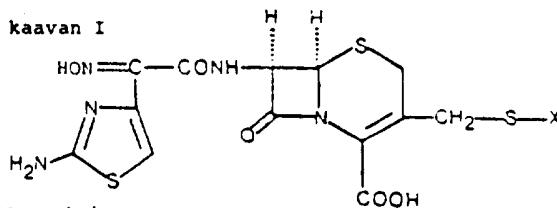
(72) Roland Reiner, Basel, Sveitsi-Schweiz(CH)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpoisten (6R,7R)-7-/2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(hydroksi-imino)-asetamido/-3-///(substituoitu-as-triatsin-3-yyli)tio/-metyyli/-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo/4.2.0/okt-2-eeni-2-karboksylihappojen valmistamiseksi - Förfarande för framställning av nya, terapeutiskt användbara (6R,7R)-7-/2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(hydroxiimino)acetamido/-3-///(substituerad-as-triazin-3-yl)tio/-metyl/-8-oxo-5-tia-1-azabicyklo/4.2.0/okt-2-en-2-karboxylsyror

(57) Tiivistelmä

Keksintö koskee antibiootteina käytettävien kaavan I mukaisten asyylijohdannaisten valmistusta,

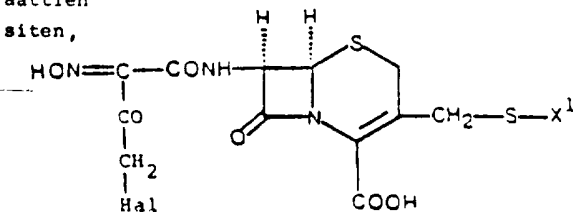


I

jossa kaavassa

X on 1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä tai sen vastaava tautomeerinen muoto, 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä,

sekä näiden yhdisteiden helposti hydrolysoitavien estereiden, helposti hydrolysoitavien eettereiden ja suolojen sekä kaavan I mukaisten yhdisteiden tai niiden esterien, eetterien ja suolojen hydraattien valmistusta. Näitä yhdisteitä valmistetaan siten, että a) kaavan II mukaisen yhdisteen



II

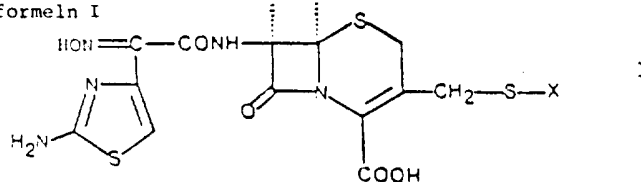
jossa X¹ merkitsee samaa kuin X kaavassa I, jolloin kuitenkin 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä voi olla eetteröity helposti hydrolysoitavaksi eetteriksi, Hal on bromi tai kloori ja karboksylihapporyhmä voi olla suojattu annetaan reagoida tioureaan kanssa ja mahdollisesti esiintyvä karboksylihapposuojarühmä lohkaistaan, tai

b) kaavan I mukaisen yhdisteen helposti hydrolysoitavan esterin tai eetterin valmistamiseksi suoritetaan kaavan I mukaiselle karboksyylihapolle tai enolille vastaava esteröinti tai eetteröinti, tai

c) kaavan I mukaisen yhdisteen suolojen tai hydraattien tai näiden suolojen hydraattien valmistamiseksi muutetaan kaavan I mukainen yhdiste suolaksi tai hydraatiksi tai tämän suolan hydraatiksi.

(57) Sammandrag

Uppfinningen hänför sig till framställning av som antibiotika användbara acylderivat med den allmänna formeln I

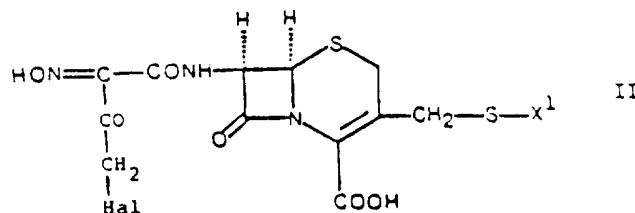


vari X är 1,2,5,6-tetrahydro-2-metyl-5,6-dioxo-as-triazin-3-ylgruppen eller dess motsvarande tautomera form, 2,5-dihydro-6-hydroxi-2-metyl-5-oxo-as-triazin-3-ylgruppen,

och till framställningen av lätt hydrolyserbara estrar, lätt hydrolyserbara etrar och salter av dessa föreningar och till framställningen av hydrat av föreningarna med formeln I eller av deras estrar, etrar och salter.

Dessa föreningar framställs genom att

a) en förening med formeln II



vari X^1 har samma betydelse som X i formeln I, varvid dock 2,5-dihydro-6-hydroxi-2-metyl-5-oxo-as-triazin-3-ylgruppen kan vara företräd till en lätt hydrolyserbar eter, Hal är brom eller klor och karboxylsyrgruppen kan vara skyddad,

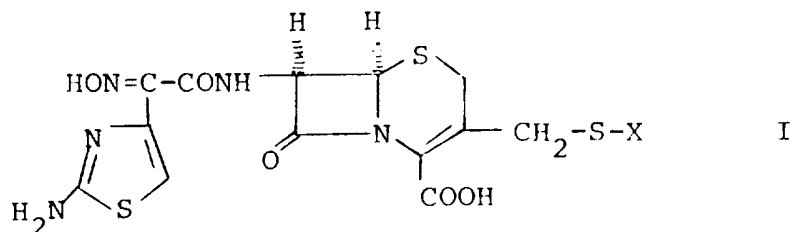
omsätts med tiourea och den eventuellt förefintliga karboxylsyrskyddsgruppen avspjälks, eller att man

b) för framställning av en lätt hydrolyserbar ester eller eter av föreningen med formeln I, utför en motsvarande förestring eller företring av en karboxylsyra eller enol med formeln I, eller

c) för framställning av salter eller hydrat av föreningen med formeln I eller av hydrat av dessa salter, omvandlar föreningen med formeln I till ett salt eller ett hydrat eller till ett hydrat av saltet.

Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpoisten (6R,7R)-7- β -(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(hydroksi-imino)asetamido γ -3- β [(substituoitu-as-triatsin-3-yyli)tio] γ -metyyli γ -8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappojen
5 valmistamiseksi.

Keksintö koskee menetelmää uusien kaavan I mukaisten (6R,7R)-7- β -(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(hydroksi-imino)-asetamido γ -3- β [(substituoitu-as-triatsin-3-yyli)tio] γ -metyyli γ -8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappojen, niiden helposti hydrolysoituvien estereiden, helposti hydrolysoituvien eettereiden ja suolojen sekä kaavan I mukaisten yhdisteiden ja niiden estereiden, eettereiden ja suolojen hydraattien valmistamiseksi,
15



20

jossa kaavassa X on 1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä tai sen vastaava tautomeerinen muoto, 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-2-yyli-ryhmä, jolloin yhdisteet ovat syn-isomeerien muodossa tai seoksen muodossa, jossa syn-isomeeri on vallitseva.
25 Näillä yhdisteillä on bakterisidinen vaikutus.

On yllättäen havaittu, että uusilla kaavan (I) mukaisilla hydroksi-iminoyhdisteillä on huomattavasti pitempi
30 puoliintumisaika kuin esimerkiksi FI-patenttijulkaisusta 65 434 tunnetuilla metoksi-iminoyhdisteillä. Siten esimerkiksi jäljempänä kuvatun uuden yhdisteen A puoliintumisaika on 140 minuuttia, kun taas mainitun FI-julkaisun esimerkissä 1 kuvatun yhdisteen puoliintumisaika on vain 35 minuuttia.
35 Metoksi-iminoryhmän korvaaminen hydroksi-iminoryhmällä pidetään siis huomattavasti puoliintumisaikaa, mitä on pidettävä erittäin yllättävänä. Pidentyneen puoliintumisaian johdosta kaavan (I) mukaiset yhdisteet pysyvät veressä

paljon kauemmin kuin mainitut tunnetut yhdisteet. Tämä merkitsee sitä, että käytettäessä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä voidaan antoväliä pidentää ja annosta huomattavasti pienentää.

5 Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden helposti hydrolysoituvilla estereillä tarkoitetaan kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joiden karboksiryhmä on helposti hydrolysoituvan esteriryhmän muodossa. Esimerkkejä tällaisista tavanomaisista estereistä ovat alemmat alkanoyylioksialkyyliesterit, 10 esim. asetoksimetyyli-, pivaloyylioksimetyyli-, 1-asetoksietyyli- ja 1-pivaloyylioksietyyliesteri; alemmat alkoksikarbonyylioksialkyyliesterit, esim. metoksikarbonyylioksimetyyli-, 1-etoksikarbonyylioksietyyli- ja 1-isopropoksi-
15 karbonyylioksietyyliesteri; laktonyyliesterit, esim. ftalidyli- ja tioftalidyliesteri; alemmat alkoksिमetyyliesterit, esim. metoksिमetyyliesteri; ja alemmat alkanoyyliaminometyyliesterit, esim. asetamidometyyliesteri. Muita sopivia estereitä ovat esim. bentsyyli- ja syanometyyliesterit.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden helposti hydrolysoituvilla eettereillä tarkoitetaan kaavan (I) mukaisia yhdisteitä joissa X merkitsee 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmää, jonka enolinen OH-ryhmä on helposti hydrolysoituvan eetteriryhmän muodossa. Eetteriryhminä tulevat kysymykseen samat ryhmät, jotka jo
25 mainittiin edellä helposti hydrolysoituvien esteriryhmien kohdalla. Tällaisia eettereitä ovat siis esimerkiksi alemmat alkanoyylioksialkyylietterit, esim. asetoksimetyyli-, pivaloyylioksimetyyli-, 1-asetoksietyyli- ja 1-pivaloyylioksietyylietteri; alemmat alkoksikarbonyylioksialkyyli-
30 eetterit, esim. metoksikarbonyylioksimetyyli-, 1-etoksikarbonyylioksietyyli- ja 1-isopropoksi-
35 karbonyylioksietyyli- ja 1-isopropoksi-
karbonyylioksietyyli-
eetteri; laktonyylietterit, esim. ftalidyli- ja tioftalidylietteri; alemmat alkoksिमetyylietterit, esim. metoksिमetyylietteri; ja alemmat alkanoyyliaminometyylietterit, esim. asetamidometyylietteri.

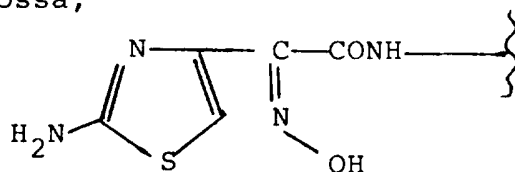
Esimerkkejä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suoloista ovat alkalimetallisuolat, kuten natrium- ja kaliumsuola; ammoniumsuola; maa-alkalimetallisuolat, kuten kalsiumsuola;

suolat orgaanisten emästen kanssa, kuten suolat amiinien kanssa, esim. suolat N-etyylipiperidiinin, prokaiinin, dibentsyyliamiinin, N,N'-dibentsyylietyleenidiamiinin, alkyyliamiinien tai dialkyyliamiinien kanssa, sekä suolat aminohappojen kanssa, kuten esim. suolat argiinin tai lysiinin kanssa. Suolat voivat olla monosuoloja tai myös disuoloja. Toinen suolanmuodostus voi tapahtua hydroksiryhmän kanssa yhdisteessä, joissa on 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä.

10 Kaavan (I) mukaiset yhdisteet muodostavat samoin additiosuoloja orgaanisten tai epäorgaanisten happojen kanssa. Esimerkkejä tällaisista suoloista ovat hydrohalogenidit, esim. hydrokloridit, hydrobromidit, hydrojodidit, sekä muut mineraalihapposuolat, kuten sulfaattit, nitraatit, fosfaattit ja vastaavat, alkyyli- ja mono-aryylisulfonylatit, kuten 15 etaanisulfonylatit, tolueenisulfonylatit, bentseenisulfonylatit ja vastaavat ja myös muut orgaaniset happosuolat, kuten asetaatit, tartraatit, maleaatit, sitraatit, bentsoaatit, salisylaatit, askorbaatit ja vastaavat.

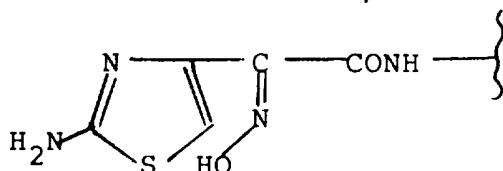
20 Kaavan (I) mukaiset yhdisteet (mukaanluettuna niiden suolat, helposti hydrolysoitavat esterit ja eetterit) voivat olla hydratoituja. Hydratointi voi tapahtua valmistusmenetelmän yhteydessä tai vähitellen lähinnä vedettömän tuotteen hygroskooppisten ominaisuuksien seurauksena.

25 Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voivat olla syn-isomeerisessä muodossa,



30

tai anti-isomeerisessä muodossa,



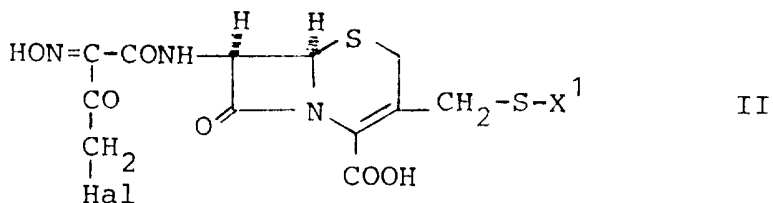
35

tai näiden molempien muotojen seoksena. Esillä oleva keksintö koskee syn-isomeerien ja sitä vallitsevana sisältävän seoksen valmistusta.

Edullisia yhdisteitä ovat:

(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-imino)-
asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-
triatsin-3-yyli]tio]-metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo-
5 [4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappo ja sen suolat sekä vas-
taavat hydraatit.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä, niiden helposti hydro-
lysoituvia estereitä, helposti hydrolysoituvia eettereitä
ja suoloja sekä kaavan I muiaisten yhdisteiden ja niiden
10 estereiden, eettereiden ja suolojen hydraatteja voidaan val-
mistaa siten, että yhdiste, jonka kaava



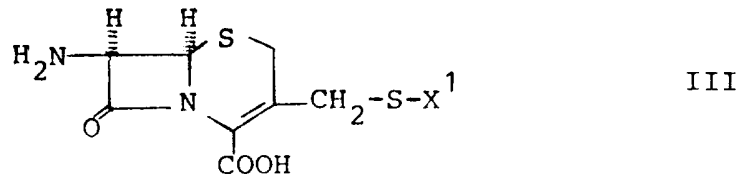
15

jossa X^1 tarkoittaa samaa kuin X tai X^1 on helposti hydro-
lysoituvaksi eetteriksi eetteröity 2,5-dihydro-6-hydroksi-
2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä ja Hal on bromi
20 tai kloori, tai sen suola tai karboksyyli-suojattu johdannai-
nen, jolloin kaavan II mukainen yhdiste, sen suola tai karb-
oksyyli-suojattu johdannainen on syn-isomeerin muodossa tai
seoksen muodossa, jossa syn-isomeeri on vallitsevana, saate-
taan reagoimaan tioureaan kanssa ja mahdollinen karboksyyli-
suojaryhmä lohkaistaan; ja haluttaessa saatu kaavan I mu-
25 kainen karboksyyli-happo tai enoli esteröidään tai eetteröi-
dään ja/tai saatu yhdiste muutetaan suolaksi tai hydraatik-
si ja/tai suola muutetaan hydraatiksi.

Kaavan (II) mukaisessa lähtöaineessa oleva karboksi-
30 ryhmä voidaan suojata valinnan mukaan esim. esteröimällä
helposti lohkaistavaksi esteriksi, kuten silyyliesteriksi,
esim. trimetyylisilyyliesteriksi. Kysymykseen tulevat myös
edellä esitetyt, helposti hydrolysoitavat esterit. Karbok-
siryhmä voidaan myös suojata muodostamalla suola epäorgaani-
35 sen tai tertiäärisen orgaanisen emäksen kanssa, kuten tri-
etyyliamiinin kanssa.

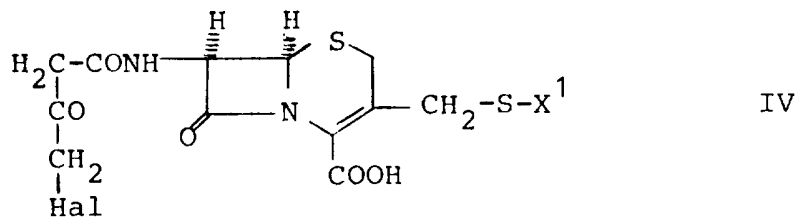
Kaavan II mukaisia lähtöaineita voidaan valmistaa esim. N-asyloimalla vastaava 7-aminoyhdiste siten, että yhdiste, jonka kaava on

5



10 jossa X¹ merkitsee samaa kuin edellä ja karboksiryhmä ja/tai aminoryhmä voi olla suojattu, muutetaan diketeenillä ja vastaavalla halogeenilla (bromi tai kloori) vastaavaksi 4-halogeenisasetoasetamidojohdannaiseksi, jonka kaava on

15



20 jossa X¹ ja Hal merkitsevät samaa kuin edellä, ja tätä tuotetta käsitellään nitrosointiaineella.

Kaavan III mukaisessa 7-aminoyhdisteessä oleva karboksiryhmä voidaan suojata edellä kaavan II mukaisen lähtöaineen yhteydessä kuvatulla tavalla. Kaavan III mukaisen
25 yhdisteen aminoryhmä voidaan suojata esim. silyylisuojarahmällä, kuten trimetyylisilyylillä.

Diketeeniä tai bromia (tai klooria), joita tarvitaan yhdisteiden IV valmistukseen yhdisteestä III, käytetään edullisesti ekvimolaarisissa määrissä. Reaktio tapahtuu
30 edullisesti inertissä orgaanisessa liuottimessa, esim. metyleenikloridissa, kloroformissa, tetrahydrofuraanissa tai näiden seoksissa alhaisessa lämpötilassa, esim. -50°C - 0°C:ssa. Saadun kaavan IV mukaisen yhdisteen nitrosointi suoritetaan käsittelemällä yhdistettä typpihapokkeella tai
35 sen esterillä, esim. metyyli-, etyyli- tai amyylinitriilillä, tai nitrosyylikloridilla. Reaktio suoritetaan edullises-

ti inertissä liuottimessa, esim. vedessä, etikkahapossa, dioksaanissa, tetrahydrofuraanissa, asetonitrilissä tai näiden seoksissa noin -20°C :een ja 50°C :een välisessä lämpötilassa, edullisesti huoneen lämpötilassa. Näissä olosuhteissa saadaan kaavan II mukainen lähtöaine syn-muodossa (Z-muoto) tai seoksena, jossa syn-muoto on vallitsevana.

Kaavan II mukaisen halogenidin tai sen suolan reaktio tioureaan kanssa suoritetaan edullisesti inertissä liuottimessa, kuten alemmassa alkoholissa, esim. etanolissa, alemmassa ketonissa, kuten asetonossa, eetterissä, kuten tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa, dimetyyliformamidissa, dimetyyliasetamidissa, vedessä tai näiden seoksissa. Reaktiolämpötila on yleensä noin $0-60^{\circ}\text{C}$, edullisesti huoneen lämpötila. Voidaan käyttää kaavan II mukaista vapaata happoa, mutta myös sen suolaa, jolloin kysymykseen tulevat samat suolat kuin mitä edellä esitettiin kaavan I mukaisten yhdisteiden suolojen yhteydessä.

Reaktion jälkeen lohkaistaan mahdollisesti reaktiotuotteessa oleva karboksisuojaryhmä. Jos suojaryhmä on silyyli-ryhmä (silyyliesteri), voidaan tämä ryhmä lohkaista erityisen helposti käsittelemällä reaktiotuotetta vedellä. Alemmat alkanoyylioksi-alkyyli-, alkoksikarbonyylioksi-alkyyli-, laktonyyli-, alkoksimetyyli- ja alkanoyyliaminometyyli-esterit lohkaistaan edullisesti entsyymaattisesti sopivan esteraasin avulla (noin $20-40^{\circ}\text{C}$:ssa). Jos karboksyyli-ryhmä on suojattu suolanmuodostuksella (esim. trietyyliamiinilla), niin silloin voi tämän suolaa muodostavan suojaryhmän lohkaisuus tapahtua käsittelemällä hapolla. Happona voidaan tällöin käyttää esim. suolahappoa, rikkihappoa, fosforihappoa tai sitruunahappoa.

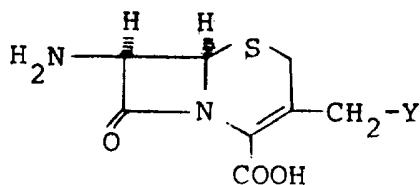
Kaavan I mukaisten karboksyylihapojen helposti hydrolysoitavien esterien valmistamiseksi annetaan karboksyylihapon reagoida edullisesti vastaavan, esteriryhmän sisältävän halogenidin kanssa, edullisesti jodidin kanssa. Reaktiota voidaan kiihdyttää emäksen, esim. alkalimetallihydroksidin tai -karbonaatin tai orgaanisen amiinin, kuten trietyyliamiinin avulla. Kun X on enolinen 2,5-dihydro-6-hyd-

roksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyliiryhmä, voidaan tämä eetteröidä muodostamalla vastaava, helposti hydrolysoitavissa oleva eetteri. Edullisesti käytetään tällöin ylimäärää vastaavaa halogenidia. Esteröinti-/eetteröinti-

- 5 reaktio suoritetaan edullisesti inertissä orgaanisessa liuottimessa, kuten dimetyyliasetamidissa, heksametyyli-fosforihappotriamidissa, dimetyylisulfoksidissa tai edullisesti dimetyyliformamidissa. Lämpötila on edullisesti noin 0-40°C.
- 10 Kaavan I mukaisten yhdisteiden suolojen ja hydraattien tai näiden suolojen hydraattien valmistus voi tapahtua sinänsä tunnetulla tavalla, esim. antamalla kaavan I mukaisen karboksyylihapon reagoida ekvivalenttisen määrän kanssa haluttua emästä sopivasti liuottimessa, kuten vedes-
- 15 sä tai orgaanisessa liuottimessa, kuten etanolissa, metanolissa, asetonissa tai vastaavassa. Käytettäessä toista ekvivalenttia emästä tapahtuu suolanmuodostus myös mahdollisesti esiintyvässä tautomeerisessä enolim muodossa (2,5-
- 20 dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyliiryhmä X), jolloin muodostuu disuola. Suolanmuodostuslämpötila ei ole kriittinen. Yleensä käytetään huoneen lämpötilaa, mutta voidaan myös käyttää vähän sen ylä- tai alapuolella olevaa lämpötilaa, suunnilleen alueella 0° - +50°C.

- Hydraattien muodostus tapahtuu useimmiten automaattisesti valmistuksen yhteydessä tai lähinnä vedettömän tuotteen hygroskooppisten ominaisuuksien seurauksena. Hydraatin valmistamiseksi voidaan kokonaan tai osittain vedetön tuote (kaavan I mukainen karboksyylihapo, tai sen esteri, eetteri tai suola) panna kosteaan atmosfääriin, esim. noin +10°C -
- 30 +40°C:ssa.

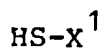
Edellä kuvattuja kaavan III mukaisia 7-aminoyhdisteitä voidaan valmistaa yhdisteistä, joiden kaava on



35

V

jossa Y on poistuva ryhmä ja karboksyyli-ryhmä on mahdollisesti suojattu muodostamalla suola epäorgaanisen tai tertiäärisen orgaanisen emäksen kanssa, kaavan V mukainen yhdiste saatetaan veden läsnäollessa reagoimaan tiolin kanssa, jonka kaava on

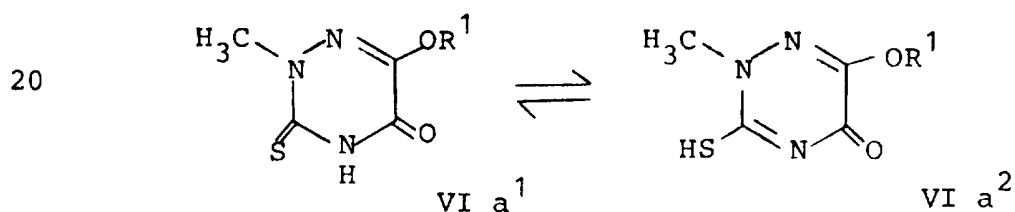


VI

jossa X^1 merkitsee samaa kuin edellä. Tämä reaktio suoritetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esim. noin $40 - 80^\circ\text{C}$:ssa, sopivasti noin 60°C :ssa, vedessä tai puskuriliuoksessa, jonka pH-arvo on noin 6-7, edullisesti 6,5.

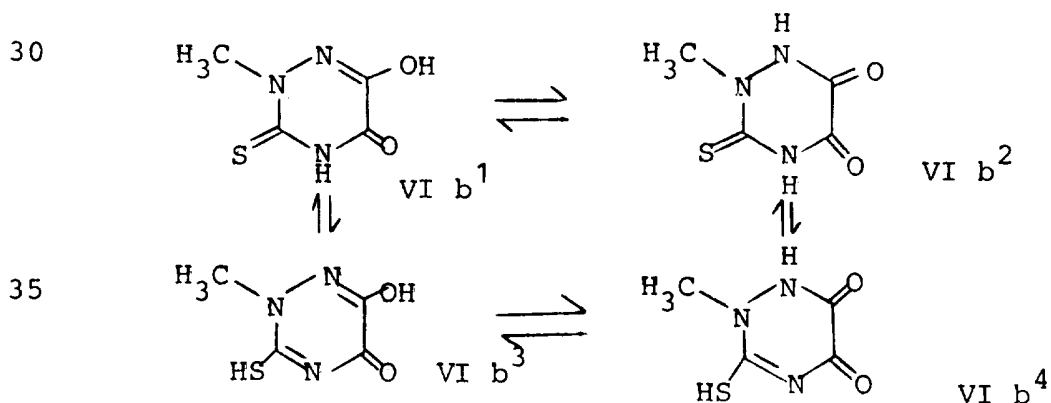
Saadun kaavan III mukaisen yhdisteen karboksiryhmä ja/tai aminoryhmä voidaan mahdollisesti suojata, esim. esteröimällä tai karboksiryhmän suolanmuodostuksella tai silyloimalla.

Kaavan VI mukaiset tiolit ovat tautomeerisessä tasapainossa vastaavien tionien kanssa seuraavasti:



jolloin R^1 on vety tai (yhdessä hapen kanssa) helposti hydrolysoitavissa oleva eetteriryhmä.

Jos kaavoissa VI a^1 ja VI a^2 R^1 merkitsee vetyä, ovat nämä 6-hydroksiyhdisteet tautomeerisessä tasapainossa vastaavien 6-oksoyhdisteiden kanssa seuraavien kaavojen mukaisesti:



- 6-asemassa eetteröityjen kaavan VI mukaisten tiolien (tionien) valmistus kuvataan esimerkissä 2. Yleensä liitetään eetteritähde siten, että annetaan S-suojatun (esim. bentshydryyllillä) tiolin reagoida eetteriryhmän sisältävän halogenidin, edullisesti jodidin kanssa, inertissä orgaanisessa liuottimessa happoa sitovan aineen, esim. kaliumkarbonaatin läsnäollessa, edullisesti noin 10° - 50° C:ssa, ja suojaryhmä lohkaistaan (bentshydryyli voidaan lohkaista anisolilla ja trifluorietikkahapolla huoneen lämpötilassa).
- 10 Mahdollisesti saatu, kaavan I mukaisen yhdisteen syn/anti-seos voidaan erottaa tavanomaisella tavalla vastaaviksi syn- ja antimuodoiksi, esim. uudelleenkiteyttämällä tai kromatograafisin menetelmin käyttäen sopivaa liuotinta tai liuotinseosta.
- 15 Kaavan I mukaiset yhdisteet sekä vastaavat helposti hydrolysoitavat esterit, eetterit ja suolat tai näiden tuotteiden hydraatit vaikuttavat antibioottisesti, erityisesti bakterisidisesti. Niillä on laaja vaikutusspektri, joka käsittää grampositiiviset ja gramnegatiiviset mikro-organis-
- 20 mit, mukaanluettuna β -laktamaasia muodostavat stafylokokit ja erilaiset β -laktamaasia muodostavat gramnegatiiviset bakteerit, kuten esim. *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus*-, *Neisseria*- ja *Klebsiella*-lajit. Erityisenä tunto-
- 25 merkinä on tuotteiden yllättävän korkea puoliintumisaika in vivo (aika, jonka kuluessa vaikutusainetiitteri alenee veriplasmassa puoleen), mikä tuo mukanaan tärkeän edun, nimittäin sen, että lukuunottamatta eroja spesifisessä bakterisidisessä vaikutuksessa verrattuna muihin tuotteisiin, joilla on alhaisemmat puoliintumisajat, tarvitaan vähäisempi vaikutusainemäärä vastaavan infektion hoitamiseksi; edelleen voidaan sallia vaikuttavan aineen halutun minimi-
- 30 tiitterin ylläpitämiseksi veressä, pitempiä väliaikoja eri antokertojen välillä.
- 35 Kaavan I mukaisia yhdisteitä sekä vastaavia helposti hydrolysoitavia estereitä, eettereitä ja suoloja tai näiden

5 tuotteiden hydraatteja voidaan käyttää infektiotautien hoitoon ja ennaltaehkäisyyn. Aikuisella tulee kysymykseen päivittäinen annos, joka on noin 0,1 kg - noin 2 kg. Kaavan I mukaisten yhdisteiden parenteraalista annostelutapaa pidetään erittäin edullisena.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden antimikrobisen vaikutuksen osoittamiseksi yhdisteet tutkittiin eri taudinaiheuttajien suhteen. Kokeissa tutkittiin seuraavat yhdisteet:

- 10 Tuote A: (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-imino)asetamido]-3-[[2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-astriastin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappo-dinatriumsuola
- 15 Tuote B: (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-imino)asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-[(pivaloyyloksi)-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihapponatriumsuola
- 20 Tuote C: metyleeni-(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-imino)asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-[(pivaloyylioksi)metoksi]as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksyylaattipivalaatti
- 25

Seuraavat tulokset tarkoittavat pienintä estävää konsentraatiota in vitro ($\mu\text{g/ml}$):

<u>Tuote A, testi in vitro</u>		<u>Pienin estävä konsentraatio (μg/ml)</u>
	Staphylococcus aureus	
5	kanta 1	0,62
	kanta 2:	1,2
	β -laktamaasia aiheuttava	
	Escherichia coli	
	kanta 1	1,2
	kanta 2	1,2
	kanta 3	2,5
	kanta 4	0,31
10	Klebsiella pneumoniae	kanta 1 0,02
	Serratia marcescens	
	kanta 1	0,16
	kanta 2	0,31
	kanta 3	0,31
	kanta 4	0,63
15	kanta 5	0,31
	kanta 6	0,31
	kanta 7	0,31
	kanta 8	0,31
	kanta 9	0,16
	Enterobacter cloacae	
20	kanta 1	20
	kanta 2	>80
	Citrobacter freundii	kanta 1 80
	Proteus vulgaris	
	kanta 1	0,31
	kanta 2	0,31
	kanta 3	0,63
25	Proteus morgani	kanta 1 $\geq 0,04$
	Proteus rettgeri	kanta 1 0,63
	Proteus inconstans	kanta 1 0,08
	Proteus mirabilis	kanta 1 0,02
	Pseudomonas aeruginosa	
30	kanta 1	>80
	kanta 2	>80
	kanta 3	40
	kanta 4	80
	kanta 5	>80
	kanta 6	10
	kanta 7	5
	kanta 8	20
	kanta 9	80
	35	kanta 10
kanta 11		5
kanta 12		>80
kanta 13		80

	kanta 14	>80
	kanta 15	80
	kanta 16	>80
	kanta 17	>80
	Neisseria meningitidis	
5	kanta 1	0,0025
	kanta 2	0,0025
	kanta 3	0,0025
	kanta 4	0,0012
	Neisseria gonorrhoeae	
	kanta 1	0,0012
	kanta 2	0,0012
	kanta 3	0,02
10	kanta 4	0,01
	kanta 5	0,04
	kanta 6	0,0006
	Haemophilus influenzae	
	kanta 1	0,63
	kanta 2	0,04
	kanta 3	0,04
	kanta 4	0,04
15	kanta 5	0,04
	kanta 6	0,02
	kanta 7	0,04

		Pienin estävä konsen- traatio		µg/ml	
				A	B
5	Staphylococcus aureus	kanta 3	1,6	0,4	
		kanta 4	1,6	0,8	
		kanta 5	1,6	0,4	
		kanta 6	3,1	0,8	
	Staphylococcus epidermidis		1,6	0,4	
10	Streptococcus faecalis	kanta 1	25	6,3	
		kanta 2	>25	>25	
	Streptococcus pyogenes	kanta 1	0,1	0,025	
		kanta 2	0,05	0,025	
	Streptococcus pneumoniae		0,4	0,1	
	Streptococcus viridans		1,6	0,4	
15	Escherichia coli	kanta 5	0,4	0,4	
		kanta 6	0,2	0,2	
		kanta 7	0,025	0,05	
		kanta 8	0,05	0,8	
	Proteus mirabilis	kanta 2	0,025	0,4	
		kanta 3	0,05	1,6	
		kanta 4	0,025	0,8	
20	Proteus inconstans	kanta 2	0,1	0,2	
		kanta 3	<0,025	<0,025	
	Proteus vulgaris	kanta 4	3,1	12,5	
		kanta 5	0,1	0,8	
		kanta 6	0,05	0,8	
	Proteus morgani	kanta 2	0,05	1,6	
25	Proteus rettgeri	kanta 2	0,05	0,4	
		Klebsiella pneumoniae	kanta 2	0,1	1,6
kanta 3	0,025		0,4		
kanta 4	0,05		0,8		
	Serratia marcescens	kanta 10	0,8	6,3	
		kanta 11	6,3	12,5	
		kanta 12	0,1	1,6	
30	Enterobacter cloacae	kanta 3	>25	>25	
		kanta 4	12,5	6,3	
	Enterobacter aerogenes	kanta 1	0,1	0,2	
		kanta 2	0,8	1,6	
35	Citrobacter freundii	kanta 2	6,3	3,1	
		kanta 3	0,2	0,4	

Kaavan I mukaisten yhdisteiden pitkän puoliintumisajan osoittamiseksi annettiin rotille 20 mg yhdistettä A/kg kohden intravenöösisti. Tällöin todettiin puoliintumisajaksi 140 minuuttia.

5 Kaavan I mukaisten tuotteiden pitkä viipymisaika elimistössä käy myös ilmi annettaessa hiirille subkutaanisesti yhdisteitä A ja C 5 tuntia ennen testattavalla mikro-organismissa tapahtuvaa tartuttamista, jolloin saadaan seuraavat ED₅₀-arvot.

10	<u>Aiheuttaja</u>	ED ₅₀ mg/kg ihon kautta annettuna	
		A	C
	Streptococcus pyogenes	0,15	0,45
	Serratia marcescens	0,89	
15	Escherichia coli		5,6*

* Annettu 24 tuntia ennen infektiota

Kaavan I mukaiset yhdisteet ovat myrkyttömiä, kuten seuraavat yhdisteiden A ja B 24-tunnin arvot osoittavat:

20	<u>Annostelutapa</u>	<u>Kuolettava</u>	<u>Siedetty</u>	
		<u>annos mg/kg</u>	<u>annos mg/kg</u>	
		A	A	B
	Suun kautta	>5000	5000	>5000
	ihon kautta	>4000		>4000
	intravenöösisti	1000	500	

25 Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää esim. farmaseuttisina valmisteina, jotka sisältävät niitä tai niiden suoloja seoksena enteraaliseen tai parenteraaliseen antoon soveltuvien farmaseuttisten, orgaanisten tai epäorgaanisten interttien kantaja-aineiden kanssa, kuten esim.

30 veden, gelatiinin, arabikumin, maitosokerin, tärkkelyksen, magnesiumsteraatin, talkin, kasvisöljyjen, polyalkyleeni-glykolin, vaseliinin jne. kanssa. Farmaseuttiset valmisteet voivat olla kiinteässä muodossa, esim. tabletteina, lääkeraikeina, peräpuikkona, kapseleina; tai nestemäisessä

35 muodossa, esim. liuoksina, suspensioina tai emulsioina. Ne voivat olla steriloituja ja/tai sisältää apuaineita,

kuten säilöntä-, stabilointi-, kostutus- tai emulgointia-
 neita, suoloja osmoottisen paineen muuttamiseksi, kipulääk-
 keitä tai puskuriaineita. Ne voivat myös sisältää muita
 5 terapeuttisesti arvokkaita aineita. Kaavan I mukaiset yhdis-
 teet ja niiden suolat tai hydraatit tulevat edullisesti
 kysymykseen parenteraalisessa annostelussa ja ne valmiste-
 taan tätä tarkoitusta varten edullisesti lyofilisaateiksi
 tai kuivajauheiksi tavanomaisilla aineilla, kuten vedellä
 tai isotonisella keittosuolaliuoksella laimennusta varten.
 10 Kaavan I mukaisten yhdisteiden helposti hydrolysoitavat
 esterit tai eetterit ja niiden suolat tai hydraatit tulevat
 myös kyseeseen enteraalisisä, esim. oraalisisä annoste-
 lussa.

Esimerkki 1

15 (6R,7R)-7- β -(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-
 imino)asetamido γ -3- β [(2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-
 okso-as-triatsin-3-yyli)ti α γ metyyli γ -8-okso-5-tia-1-atsa-
 bisyklo[4.2.0]okt-2-eeeni-2-karboksyylihapon dinatriumsuo-
 lan valmistus:

20 10 g (6R,7R)-7- β -bromi-2-(Z-hydroksi-imino)-aseto-
 asetamido γ -8-okso-3- β [(1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-
 diokso-as-triatsin-3-yyli)ti α γ metyyli γ -5-tia-1-atsabi-
 syklo[4.2.0]okt-2-eeeni-2-karboksyylihappoa liuotetaan 50
 ml:aan asetonia ja lisätään liuokseen, jossa on 3,5 g tio-
 25 virtsa-ainetta 150 ml:ssä asetonia. Tällöin heti saostuva
 hydrobromidi imusuodatetaan ja pestään asetonilla ja alhaalla
 kiehuvalla petrolieetterillä. Saadaan roosan värinen hydro-
 bromidi raakatuotteena. Tarkoituksena muuttaa dinatriumsuo-
 laksi liuotetaan se seokseen, jossa on 100 ml vettä ja 100
 30 ml metanolia ja lisätään 40 ml 2N 2-etyylikapronihappo-
 natriumsuola-liuosta etikkaesterissä. Oranssinväristä liuos-
 ta sekoitetaan sen jälkeen kun on lisätty aktiivihiltä,
 1 tunnin ajan 25°C:ssä, sitten suodatetaan ja suodosta lai-
 mennetaan metanolilla, kunnes saavutetaan tilavuudeksi 2 l.
 35 Suodatetaan pienestä määrästä saostunutta ainetta (fraktio
 1, ruskea). Suodos tiivistetään vakuuissa 40°C:ssä noin

800 ml:ksi, ja saostunut aine (fraktio 2, keltainen) suodatetaan. Suodos tiivistetään noin 200 ml:ksi, laimennetaan 1 litralla metanolia, jolloin aine saostuu, ja se suodatetaan (fraktio 3, keltainen). Suodos tiivistetään vakuuissa 5 40°C:ssa noin 300 ml:n tilavuuteen ja saostunut aine suodatetaan (fraktio 4, keltainen). Suodokseen lisätään 1 litra etanolia ja amorfisena saostuva aine suodatetaan (fraktio 10 5, beigen värinen). Ohutkerroskromatografisen ja NMR-analyysin mukaan ovat fraktiot 2, 3 ja 4 identtisiä ja ovat haluttu yhdiste; fraktiot 1 ja 5 ovat sitävastoin vahvoja seoksia ja heitetään pois. Sen jälkeen kun fraktioita 2, 3 ja 4 on kuivattu suurvaakumissa 40°C:ssa yön yli saadaan keltainen, amorfinen otsikonyhdiste, jolloin $[\alpha]_D^{25} = -133,2^\circ$ (c 1 vedessä). Aine sisältää 4 % vettä ja 3 % metanolia.

15 Edellä olevassa menetelmässä lähtöaineena käytetty (6R,7R)-7-[4-bromi-2-(Z-hydroksi-imino)asetoasetoamido]-8-okso-3-[1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappoa voidaan valmistaa seuraavasti:

20 5,44 g diketeeniä liuotetaan 25 ml:aan dikloorimetaania ja -30 - -40°C:ssa lisätään tippoittain liuos, jossa on 10,4 g bromia 25 ml:ssa dikloorimetaania noin 15 min. sisällä. Väritön liuos jäädytetään -50°C:een ja noin 10 min. sisällä tiputetaan -20°C:ssa liuokseen, joka on valmistettu siten, että 18,5 g:aan (7R)-7-amino-3-desasetoksi-

25 3-[2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli]tio]-kefalosporaanihappoa 300 ml:ssa abs. tetrahydrofuraania lisätään 50 ml N,O-bis-(trimetyylisilyyli)-asetamidia 30 min. sisällä. Reaktioseosta sekoitetaan jäädyttämättä 30 min. ajan, jolloin lämpötila kohoaa 0°C:een. Orans-

30 sinruskea seos kaadetaan sitten 2 litraan etyyliasetaatia ja sekoitetaan voimakkaasti 500 ml:n vettä kanssa. Tällöin muodostunut välikerros suodatetaan ja heitetään pois. Oranssinvärinen orgaaninen faasi pestään kolme kertaa kulloinkin 500 ml:lla vettä ja lopuksi sekoitetaan ilman kuivausta

35 10 g:n aktiivihieiltä kanssa 1 1/2 tunnin ajan. Sen jälkeen

kun hiili on suodatettu kuivataan vaaleankeltainen suodos natriumsulfaatilla ja tiivistetään vakuuissa 40°C:ssa noin 100 ml:n tilavuuteen. Tällöin kiteytynyt aine imusuodatetaan ja pestään pienellä määrällä etyyliasetaattia. Saadaan puh-
 5 das, beigenvärinen (6R,7R)-7-(4-bromiasetoasetamido)-8-okso-3-[[[1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-
 eeni-2-karboksyylihappo. Emäliuoksesta saadaan saostamalla eetterillä edelleen väritön, amorfinen puhdas aine. $[\alpha]_D^{20} =$
 10 $-247,3^\circ$ (c = 1 dimetyyliformamidissa).

46,4 g (6R,7R)-7-(4-bromiasetoasetamido)-8-okso-3-[[[1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-
 15 eeni-2-karboksyylihappoa suspendoidaan 100 ml:aan jääetikkaa ja 10-15°C:ssa lisätään liuos, jossa on 2,5 g natriumnitriittiä 10 ml:ssa vettä noin 15 min. sisällä. Reaktioseosta sekoitetaan 1 1/2 tunnin ajan 10°C:ssa. Näin muodostunut, oranssinvärinen liuos kaadetaan 1 litraan etyyliasetaattia, pestään kerran 600 ml:lla 0,16N rikkihappoa, sitten 3 kerran kulloinkin 500 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaatilla ja tiivistetään vakuuissa 40°C:ssa voimakkaasti.
 20 Konsentraattiin lisätään eetteriä, jolloin aine saostuu amorfisena. Tämä imusuodatetaan, pestään peräjälkeen eetterillä ja alhaalla kiehuvalle petrolieetterillä ja kuivataan vakuuissa 25°C:ssa. Saadaan beigenvärinen (6R,7R)-7-[4-bromi-2-(Z-hydroksi-imino)asetoasetamido]-8-okso-3-[[[1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli]-tio]metyyli]-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-
 25 eeni-2-karboksyylihappo, jolloin $[\alpha]_D^{20} = -279,2^\circ$, (c = 1 dimetyyliformamidissa).
 30 amidissa).

Esimerkki 2

(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(Z-hydroksi-imino)-asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-
 [(pivaloyylioksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-
 35 8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-
 eeni-2-karboksyylihapon natriumsuolan valmistus:

5,4 g (6R,7R)-7-[4-bromi-2-(Z-hydroksi-imino)-aseto-
 asetoamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-(pivaloyylioksi)metoksi]-
 as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-
 tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappoa sus-
 5 pensoidaan 70 ml:aan etanolia ja lisätään 1,2 g tiovirtsa-
 ainetta. Muodostunutta keltaista liuosta sekoitetaan 25 min.
 ajan 25°C:ssa. Sitten lisätään 9 ml 2N 2-etyylikapronihappo-
 natriumsuola-liuosta etyyliasetaatissa, jolloin aine saos-
 tuu erittäin puhtaassa muodossa. Sen jälkeen kun on lisätty
 10 300 ml metanolia ja 130 ml etanolia suodatetaan lievästi
 samea liuos ja vaaleankeltainen suodos tiivistetään vakuu-
 missa 40°C:ssa noin 100 ml:n tilavuuteen. Tällöin saostunut
 aine imusuodatetaan, pestään etanolilla ja alhaalla kiehu-
 valla petrolieetterillä ja kuivataan yön ajan suurvakuumissa
 15 40°C:ssa. Saadaan puhdas beigenvärisen, amorfinen otsikon-
 yhdiste, jolloin $[\alpha]_D^{25} = -133,3^\circ$ (c = 1 vedessä). NMR-spekt-
 ri ja mikroanalyysi vastaavat ilmoitettua rakennetta.

Edelläolevassa menetelmässä lähtöaineena käytetty
 (6R,7R)-7-[4-bromi-2-(Z-hydroksi-imino)asetoasetamido]-3-
 20 [[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-(pivaloyylioksi)metoksi]-
 as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo-
 [4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappoa voidaan valmistaa
 seuraavasti:

a) Tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-3-tiokso-as-tri-
 25 atsin-1(2H)-karboksyylihappobentsyyliesterin valmistus:

39,79 g 1,2,5,6-tetrahydro-5,6-diokso-2-merkapto-2-
 metyyli-as-triatsiiniä liuotetaan 500 ml:aan dimetyyliform-
 amidia ja lisätään 35 ml trietyyliamiinia. 15 min. sisällä
 tiputetaan 39 ml bentsyylioksikarbonyylikloridia, jolloin
 30 reaktioseoksen lämpötila kohoaa 45°C:een, trietyyliamiini-
 hydrokloridi saostuu ja suspensio värjätään keltaiseksi.
 Seosta sekoitetaan 2 1/2 tunnin ajan 25°C:ssa ja lopuksi
 haihdutetaan vakuumissa 70°C:ssa. Öljyistä haihdutusjään-
 nöstä sekoitetaan 500 ml:n vettä kanssa 1 tunnin ajan,
 35 jolloin tämä tulee kiinteäksi. Saatu kiinteä aine imsuoda-
 tetaan ja pestään 50 ml:n vettä kanssa. Keltaista suodatin-

kakkua sekoitetaan hyvin 250 ml:n etanolia kanssa, imusuo-
datetaan, pestään etanolilla ja kuivataan vakuuissa
40°C:ssa. Saadaan väritön raakakiteytymä, joka kiteytetään
uudelleen metanolista ja saadaan väritön puhdas aine, jonka
5 sp. on 150-153°C.

b) 3-[difenyyylimetyyli]tio-5,6-dihydro-2-metyyli-
5,6-diokso-as-triatsin-1/2H)-karboksyylihappo-bentsyylies-
terin valmistus:

13,2 g tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-3-tiokso-as-
10 triatsin-1(2H)-karboksyylihappo-bentsyyliesteriä liuotetaan
500 ml:aan etikkaesteriä ja lisätään liuos, jossa on dife-
nyylidiatsometaania 90 ml:ssa alhaalla kiehuva petroliet-
teri. Aluksi violetinvärisen reaktioliuoksen annetaan seistä
40 tunnin ajan 25°C:ssa, jolloin värimuuttuu vaaleanpunai-
15 seksi. Lisätään 3 ml jäätikkoa, ja seos haihdutetaan 1
tunnin kuluttua vakuuissa 40°C:ssa. Haihdutusjäännöksenä
saadaan keltainen öljy. Tämä erotetaan pylväskromatografian
avulla käyttäen silikageeliä sekä eluointiaineina bentsee-
niä, bentseeni/etyyliasettaattia 95:5 ja bentseeni/etyyli-
20 asetaattia 90:10. Haluttua ainetta sisältävät fraktiot kerä-
tään ja haihdutetaan vakuuissa 40°C:ssa. Saadaan, sen jäl-
keen kun on kiteytetty uudelleen etanolista, väritön puhdas
aine, jonka sp. on 90-92°C.

c) 3-[difenyyylimetyyli]tio-1,2-dihydro-2-metyyli-as-
25 triatsiini-5,6-dionin valmistus:

6,9 g kohdassa b) valmistettua ainetta liuotetaan
100 ml:aan etyyliasettaattia ja sekoitetaan läpikotaisin
30 ml:n vesipitoista 7 %:sta ammoniakkiliuosta kanssa
25°C:ssa 15 min. ajan. Etyyliasettaattifaasi erotetaan ja
30 heitetään pois. Vesipitoiseen faasiin lisätään 7 ml kons.
suolahappoa ja sekoitetaan 30 min. ajan jäähauteessa. Täl-
löin saostunut aine imusuoatetaan, pestään vedellä ja ki-
teytetään heti uudelleen etanolista. Saadaan väritön puh-
das aine, jonka sp. on 180-182°C.

d) 3-[$\text{[difenyyylimetyyli]tio}$]-6-pivaloyylioksimetoksi-2-metyyli-as-triatsin-6(2H)-onin valmistus:

3,25 g kohdassa c) valmistettua yhdistettä liuotetaan 40 ml:aan dimetyyliformamidia ja lisätään 1,52 g kaliumkarbonaattia. Tähän seokseen lisätään yhdellä kertaa 2,66 g pivaloyylioksimetyylijodidia, jolloin muodostuu vaaleankeltainen liuos. Reaktioseosta sekoitetaan 4 tunnin ajan 25°C:ssa ja lisätään vielä kerran 2,66 g pivaloyylioksimetyylijodidia. Tätä seosta sekoitetaan 15 tunnin ajan 25°C:ssa ja lopuksi haihdutetaan suurvaakumissa 35°C:ssa. Tulokseksi saatava haihdutusjäännös jaetaan 100 ml:n vettä ja 100 ml:n etyyliasettaattia välillä. Vesipitoinen faasi uutetaan vielä 2 kertaa kulloinkin 50 ml:lla etyyliasettaattia. Yhdistetyt etyyliasettaatti-faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan vakuumissa 35°C:ssa. Jäljellejäävä keltainen öljy kromatografoidaan silikageelipylväällä käyttäen etyyliasettaattia eluointiaineena. Haluttua tuotetta sisältävät fraktiot kerätään ja haihdutetaan vakuumissa 35°C:ssa. Jäljellejäävää vaaleansinistä öljyä kuivataan suurvakuumissa 25°C:ssa 1 tunnin ajan, jolloin saadaan puhdas aine vaaleansinisenä hartsina.

e) [$\text{[2,3,4,5-tetrahydro-2-metyyli-5-okso-3-tiokso-as-triatsin-6-yyli]oksi}$]metyyli-pivalaatin valmistus:

3,6 g kohdassa d) valmistettua yhdistettä sekoitetaan 18 ml:ssa anisolia ja 18 ml:ssa trifluorietikkahappoa 2 1/2 tunnin ajan 25°C:ssa. Liuos haihdutetaan sitten vakuumissa 50°C:ssa. Öljyistä jäännöstä sekoitetaan 50 ml:n alhaalla kiehuvaa petrolieetteriä kanssa, jolloin tapahtuu kiteytyminen. Kiteytymä imusuodatetaan ja pestään alhaalla kiehuvalle petrolieetterillä. Saadaan valkoisia kiteitä, joista saadaan tulokseksi sen jälkeen kun on kiteytetty uudelleen eetteri/alhaallakiehuvaasta petrolieetteristä, valkoinen kiteinen puhdas aine, jonka sp. on 112-113°C. NMR-spektri ja mikroanalyysi vastaavat ilmoitettua rakennetta.

f) (6R,7R)-7-amino-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-[(pivaloyylioksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihapon valmistus:

5 3,0 g kohdassa e) valmistettua yhdistettä suspendoidaan yhdessä 2,72 g:n kanssa 7-aminokefalosporaanihappoa 50 ml:aan vettä. Suspension pH saatetaan typpikaastuksen alaisena 1N natronlipeällä arvoon 6,5 ja sekoitetaan 4 tunnin ajan pH:n ollessa 6,5-7 ja lämpötilan ollessa 55-60°C.

10 Haluttu yhdiste saostuu ja imusuodatetaan sen jälkeen kun seos on jäädytetty 25°C:een. Sen jälkeen kun on pesty vedellä, asetonilla ja alhaalla kiehuvalle petrolieetterillä ja kuivattu yön ajan suurvakuumissa 40°C:ssa saadaan puhdas aine, jonka mikroanalyysi ja NMR-spektri vastaavat ilmoitettua rakennetta.

15

g) 6R,7R)-7-[4-bromi-asetoasetoamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-[(pivaloyylioksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihapon valmistus:

20 Ensiksi liuotetaan 4,35 g diketeeniä 20 ml:aan metyleenikloridia ja -30 - -40°C:ssa lisätään tipoittain liuos, jossa on 8,32 g bromia 20 ml:ssa metyleenikloridia noin 15 min. sisällä. Happobromidia sisältävä väritön liuos jäädytetään -50°C:een ja tiputetaan noin 10 min. sisällä

25 -20°C:ssa seuraavalla tavalla valmistettuun liuokseen: 19,42 g kohdassa f) valmistettua yhdistettä suspensoidaan 400 ml:aan etyyliasetaatia ja lisätään 40 ml N,O-bis-(trimetyylisilyyli)-asetamidia. Suspensiota sekoitetaan 30 min. ajan 35-40°C:ssa, kunnes ruskehtava liuos on muodostunut.

30 Tämä jäädytetään -20°C:een edellä kuvatulla tavalla valmistetulla happobromidilla asylointia varten. Sen jälkeen kun happobromidi-liuos on tiputettu, sekoitetaan reaktio-seosta vielä 1 tunnin ajan ilman jäädytystä. Tämän jälkeen lisätään 200 ml vettä. Saostunut, reagoimaton lähtöaine

35 imusuodatetaan ja heitetään pois. Vesipitoinen faasi erotetaan. Oranssinvärinen orgaaninen faasi pestään kaksi ker-

taa kulloinkin 250 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaatil-
la ja tiivistetään vakuuissa 40°C:ssa. Sen jälkeen kun on
lisätty eetteriä saostuu reaktiotuote amorfisena. Imusuoda-
tetaan, pestään eetterillä ja alhaalla kiehuvalle petroli-
eetterillä ja kuivataan vakuuissa 25°C:ssa. Saadaan raaka
5 amorfinen aine, joka saostetaan uudelleen puhdistamista
varten etyyliasetatti/eetteristä. Täten saadaan beigenvä-
rinen otsikonyhdiste, jolloin $[\alpha]_D^{25} = -159,3^\circ$ (c = 1 kloro-
formissa).

10 h) (6R,7R)-7-[4-bromi-2-(Z-hydroksi-imino)-aseto-
asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-[[pivaloyyli-
oksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-
tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-ene-2-karboksyylihapon val-
mistus:

15 13 g kohdassa g) valmistettua yhdistettä liuotetaan
65 ml:aan etikkahappoa. Tähän liuokseen lisätään tiptoittain
10-15°C:ssa noin 45 min. sisällä liuos, jossa on 1,65 g
natriumnitriittiä 7 ml:ssa vettä. Reaktioliuosta sekoite-
taan 1 1/4 tunnin ajan 10-15°C:ssa edelleen, kunnes ei enää
20 voida osoittaa jodi-tärkkelyspaperin avulla typpihapoketta.
Punertava liuos kaadetaan sitten 500 ml:aan etyyliasetaat-
tia. Tämä seos pestään 2 kertaa laimennetulla natriumklori-
di-liuoksella. Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatil-
la ja tiivistetään vakuuissa 40°C:ssa voimakkaasti. Jäl-
25 jellejäävään siirappimaiseen jäännökseen lisätään eetteriä,
jolloin aine saostuu amorfisena. Tämä imusuodatetaan, pes-
tään eetterillä ja alhaallakiehuvalle petrolietterillä ja
kuivataan yön ajan vakuuissa 40°C:ssa. Saadaan ruskehtava
amorfinen jauhe, jota sekoitetaan puhdistamisen vuoksi
30 100 ml:ssa isopropanolia, jolloin ensiksi muodostuu liuos,
josta sitten erottuu hyytelömäinen massa, joka kiteytyy sen
jälkeen kun on sekoitettu noin 45 min. ajan 25°C:ssa. Ki-
teinen aine imusuodatetaan, pestään pienellä määrällä iso-
propanolia, eetterillä ja alhaalla kiehuvalle petroliet-
35 terillä ja kuivataan suurvaakumissa 40°C:ssa. Saadaan val-
koinen, kiteinen puhdas aine, jolloin $[\alpha]_D^{25} = -284,6^\circ$ (c =
1 kloroformissa). NMR-spektri vastaa ilmoitettua rakennetta.

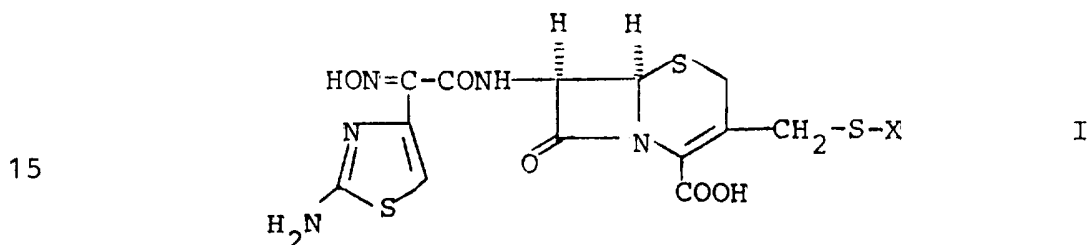
Esimerkki 3

Metyleeni-(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-
2-(Z-hydroksi-imino)asetamido]-3-[[[2,5-di-
hydro-2-metyyli-5-okso-5[(pivaloyylioksi)metok-
5 si]-as-triatsin-3-yyli]tio]metyyli]-8-okso-5-
tia-1-atsabisyklo[4,2,0]okto-2-eeni-2-karboksy-
laatti-pivalaatin valmistus:

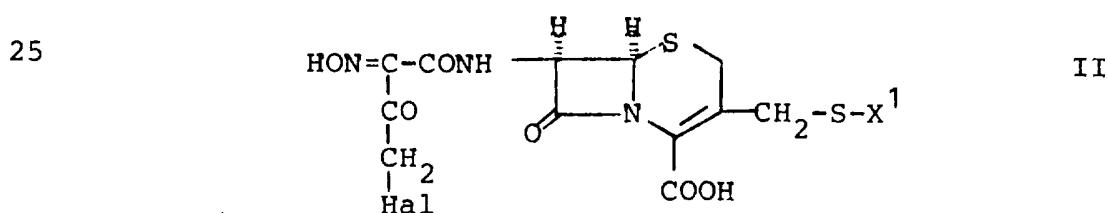
1,35 g (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-
10 (Z-hydroksi-imino)asetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyyli-
5-okso-6-[(pivaloyylioksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli/-
tio)metyyli]-5-okso-4-tia-1-atsabisyklo[4,2,0]okt-2-
eeni-2-karboksylihapon natriumsuolaa liuotetaan 25 ml:
aan dimetyyliformamidia ja lisätään 1 g pivaloyylioksi-
metyylijodidia 0-5°C:ssa. Seosta sekoitetaan 30 min.
15 ajan 0-5°C:ssa typpi-kaasutuksen alaisena. Tämän jäl-
keen kaadetaan se 400 ml:aan etyyliasetaattia, pestään
peräjälkeen kaksi kertaa kulloinkin 100 ml:lla vettä,
kaksi kertaa kulloinkin 50 ml:lla 8 %:sta natriumve-
tykarbonaattiliuosta, kerran 100 ml:lla 5 %:sta natrium-
20 tiosulfaatti-liuosta ja kaksi kertaa kulloinkin 100 ml:
lla vettä ja lopuksi kuivataan natriumsulfaatilla.
Etyyliasetaattiliuos tiivistetään sitten vakuumis-
sa 40°C:ssa ja lisätään 150 ml eetteriä, jolloin aine
saostuu amorfisena. Tämä imusuodatetaan, pestään eet-
25 terillä ja alhaalla kiehuvalle petrolieetterillä ja
kuivataan yön ajan suurvakuumissa 40-45°C:ssa. Saadaan
beigenvärisen puhdas aine, jolloin $R_f = 0,57$ DC-sys-
teemissä käytettäessä butanoli/etikkahappo/vettä 4:1:1
silikageeli-F₂₅₄-valmislevyillä. NMR-spektri vastaa
30 ilmoitettua rakennetta.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten kaavan I mukaisten (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-(hydroksi-imino)asetamido]-3-[[[(substituoitu-as-triatsin-3-yyli)-tio]-metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-karboksyylihappojen, niiden helposti hydrolysoituvien estereiden, helposti hydrolysoituvien eettereiden ja suolojen sekä kaavan I mukaisten yhdisteiden ja niiden estereiden, eettereiden ja suolojen hydraattien valmistamiseksi,



jossa kaavassa X on 1,2,5,6-tetrahydro-2-metyyli-5,6-diokso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä tai sen vastaava tautomeerinen muoto, 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä, jolloin yhdisteet ovat syn-isomeerin muodossa tai seoksen muodossa, jossa syn-isomeeri on vallitsevana, t u n n e t t u siitä, että yhdiste, jonka kaava



jossa X¹ tarkoittaa samaa kuin X tai X¹ on helposti hydrolysoituvaksi eetteriksi eetteröity 2,5-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli-ryhmä ja Hal on bromi tai kloori, tai sen suola tai karboksyyli-suojattu johdannainen, jolloin kaavan II mukainen yhdiste, sen suola tai karboksyyli-suojattu johdannainen on syn-isomeerin muodossa tai seoksen muodossa, jossa syn-isomeeri on vallitsevana, saate-
35 taan reagoimaan tioureaan kanssa ja mahdollinen karboksyyli-suojaryhmä lohkaistaan; ja haluttaessa saatu kaavan I mu-

kainen karboksyylihappo tai enoli esteröidään tai eetteröidään ja/tai saatu yhdiste muutetaan suolaksi tai hydraatiksi ja/tai suola muutetaan hydraatiksi.

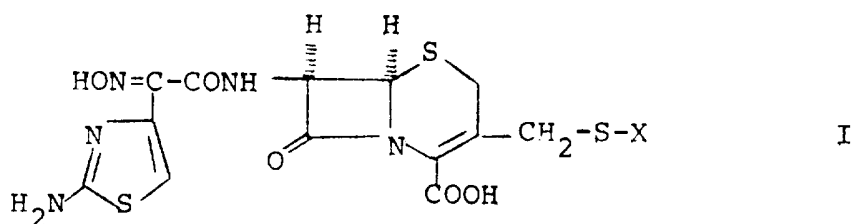
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä (6R,7R)-
 5 7- $\left[2-(2\text{-amino-4-tiatsolyyli})-2-(Z\text{-hydroksi-imino})\text{-asetamido}\right]$ -
 3- $\left[\left[2,5\text{-dihydro-6-hydroksi-2-metyyli-5-okso-as-triatsin-3-yyli}\right]\text{tio}\right]$ -metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo- $\left[4.2.0\right]$ -
 okt-2-eeni-2-karboksyylihapon, sen suolan tai hydraatin tai suolan
 hydraatin valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että
 10 lähtöaineena käytetään vastaavasti substituoitua kaavan II
 mukaista yhdistettä.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä (6R,7R)-
 7- $\left[2-(2\text{-amino-4-tiatsolyyli})-2-(Z\text{-hydroksi-imino})\text{-asetamido}\right]$ -
 3- $\left[\left[2,5\text{-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-}\left[\left(\text{pivaloyylioksi}\right)\text{-metok-}\right.\right.\right.$
 15 $\left.\left.\left.\text{si}\right]\text{-as-triatsin-3-yyli}\right]\text{tio}\right]$ -metyyli]-8-okso-5-tia-1-atsabi-
 syklo $\left[4.2.0\right]$ okt-2-eeni-2-karboksyylihapon, sen suolan tai
 hydraatin tai suolan hydraatin valmistamiseksi, t u n -
 n e t t u siitä, että lähtöaineena käytetään vastaavasti
 substituoitua kaavan II mukaista yhdistettä.

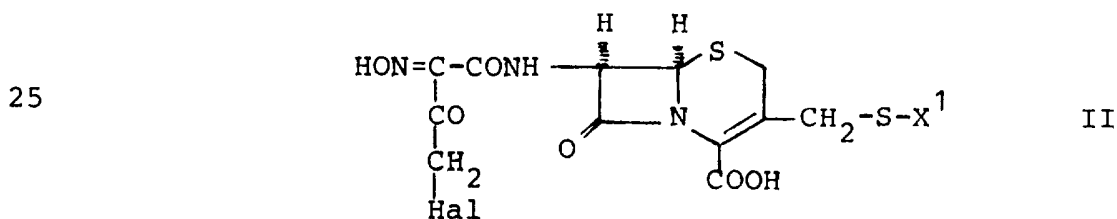
20 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä metyleeni-
 (6R,7R)-7- $\left[2-(2\text{-amino-4-tiatsolyyli})-2-(Z\text{-hydroksi-imino})\text{-}\right.$
 astamido $\left.3-\left[\left[2,5\text{-dihydro-2-metyyli-5-okso-6-}\left(\text{pivaloyyli-}\right.\right.\right.\right.$
 oksi)metoksi]-as-triatsin-3-yyli]-tio]-metyyli]-8-okso-5-
 tia-1-atsabisyklo $\left[4.2.0\right]$ -okt-2-eeni-2-karboksilaatti-piva-
 25 laatin, sen suolan ja hydraatin sekä suolan hydraatin val-
 mistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineena
 käytetään vastaavasti substituoitua kaavan II mukaista yh-
 distettä.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(hydroxiimino)-acetamido]-3-[[substituerad-as-triazin-3-yl]tio]-metyl]-8-oxo-5-tia-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboxylsyror, lätt hydrolyserbara estrar, lätt hydrolyserbara etrar och salter därav samt hydrater av föreningar med formeln I och av deras estrar, etrar och salter,



i vilken formel X är en 1,2,5,6-tetrahydro-2-metyl-5,6-dioxo-as-triazin-3-ylgrupp eller dess motsvarande tautomera form, 2,5-dihydro-6-hydroxi-2-metyl-5-oxo-as-triazin-3-ylgruppen, varvid föreningarna är i form av syn-isomeren eller i form av en blandning, där syn-isomeren är övervägande, k ä n n e t e c k n a t därav, att en förening med formeln



där X^1 betecknar samma som X eller X^1 är en till en lätt hydrolyserbar eter företrad 2,5-dihydro-6-hydroxi-2-metyl-5-oxo-as-triazin-3-ylgrupp och Hal är brom eller klor, eller ett salt eller ett karboxylskyddat derivat därav, varvid föreningen med formeln II, saltet eller det karboxylskyddade derivatet därav i form av syn-isomeren eller i form av en blandning, där syn-isomeren är övervägande, omsätts med tiourea och en eventuell skyddsgrupp avspjälkes; och, om

35

så önskas, esterfieras eller företras en erhållen karboxylsyra eller enol med formeln I och/eller omvandlas en erhållen förening till ett salt eller hydrat och/eller omvandlas ett salt till ett hydrat.

5 2. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(Z-hydroxiimino)-acetamido]-3-[[[2,5-dihydro-6-hydroxi-2-metyl-5-oxo-as-triazin-3-yl]tio]-metyl]-8-oxo-5-tia-1-azabicyklo-[4.2.0]-
10 ett hydrat av saltet, k ä n n e t e c k n a t därav, att man som utgångsämne använder en på motsvarande sätt substituerad förening med formeln II.

 3. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(Z-hydroxiimino)-
15 acetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyl-5-oxo-6-[(pivaloyloxi)-metoxi]-as-triazin-3-yl]tio]-metyl]-8-oxo-5-tia-1-azabicyklo-[4.2.0]-
20 okt-2-en-2-karboxylsyra, ett salt eller hydrat därav eller ett hydrat av saltet, k ä n n e t e c k n a t därav, att man som utgångsämne använder en på motsvarande sätt substituerad förening med formeln II.

 4. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av metylen-(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(Z-hydroxiimino)-acetamido]-3-[[[2,5-dihydro-2-metyl-5-oxo-6-[(pivaloyloxi)metoxi]-as-triazin-3-yl]tio]-metyl]-8-oxo-5-tia-1-
25 azabicyklo-[4.2.0]-okt-2-en-2-karboxylat-pivalat, ett salt eller hydrat därav eller ett hydrat av saltet, k ä n n e t e c k n a t därav, att man som utgångsämne använder en på motsvarande sätt substituerad förening med formeln II.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: Suomi-Finland(FI) 65 434
(C 07 D 501/36).