

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 147483 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 3672/79

(51) Int.Cl.³: C 07 D 501/36

(22) Indleveringsdag: 31 aug 1979

(24) Løbedag: 29 aug 1975

(41) Alm. tilgængelig: 31 aug 1979

(44) Fremlagt: 27 aug 1984

(86) International ansøgning nr.: -

(62) Stamansøgning nr.: 3910/75

(30) Prioritet: 03 sep 1974 US 502991 27 jun 1975 US 590971

(71) Ansøger: *BRISTOL-MYERS COMPANY; New York, US.

(72) Opfinder: William J. *Gottstein; US, Murray A. *Kaplan; US, Alphonse P. *Granatek; US.

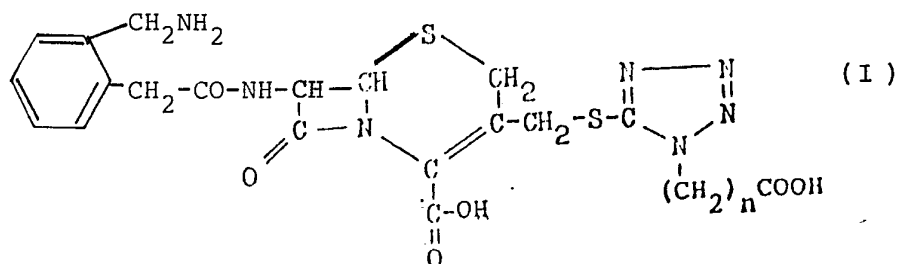
(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af cephalosporansyrederivater eller estere og salte deraf

DK 147483 B

Den foreliggende ansøgning angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte cephalosporansyrederivater, der er værdifulde som antibakterielle midler.

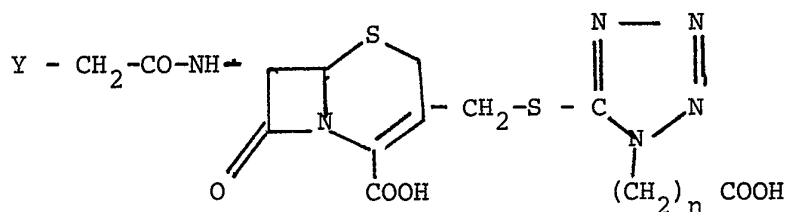
De ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser har formelen



hvori n er et helt tal fra 2-9 incl., eller er let hydrolyserbare estere eller ikke-toksiske, farmaceutisk acceptable salte deraf.

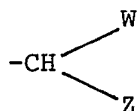
Fra de danske fremlæggelsesskrifter nr. 132.119 og 137.192 kendes beslægtede cephalosporansyrederivater, hvis sidekæder i 3-stillingen kan omfatte en methylsubstitueret tetrazolring. Det har vist sig, at de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser har en forbedret vandopløselighed og i almindelighed giver en højere blodspejlsværdi ved parenteral administrering ad intramuskulær vej i forhold til nævnte kendte cephalosporansyrederivater.

Dansk patentansøgning nr. 5760/75 angår fremstillingen af cephalosporansyrederivater bl.a. med formelen



hvor n er 1-10, og Y er en cyano-, sydnon- eller aminomethylphenylgruppe. I nævnte patentansøgnings beskrivelse findes imidlertid ingen konkrete udførelsesformer, der med angivelse af fysiske data for de fremstillede forbindelser illustrerer cephalosporansyrederivater, hvori Y er en aminomethylphenylgruppe.

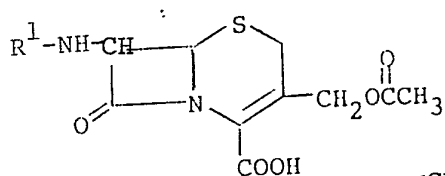
De let hydrolyserbare estere af forbindelserne med formlen (I) omfatter forbindelser indeholdende gruppen med formlen

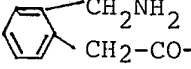


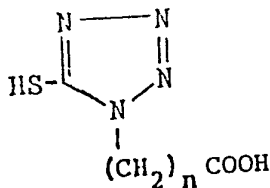
hvor W betegner hydrogen, og Z betegner lavere alkanoyl, benzoyl, naphthoyl, furoyl, thenoyl, nitrobenzoyl, methylbenzoyl, halogenbenzoyl, phenylbenzoyl, N-phthalimido, N-succinimido, N-saccharino, N-(lavere)alkylcarbamoyl, lavere alkoxy, lavere alkylthio, phenoxy, carbalkoxy, carbobenzoxo, carbamoyl, benzyl-oxo, chlorbenzyloxy, carbophenoxy, carbo-tert.-butoxy eller lavere alkylsulfonyl, eller W betegner carbalkoxy, og Z betegner carbalkoxy, eller W betegner phenyl og Z betegner benzoyl eller cyano, eller W og Z betegner tilsammen 2-oxocycloalkyl indeholdende 4 til 8 carbonatomer inkl. Gruppen $-\text{CH} \begin{array}{l} \diagup \text{W} \\ \diagdown \text{Z} \end{array}$ betegner fortrinsvis pivaloyloxymethyl, acetoxymethyl, methoxymethyl, acetonyl, phenacyl, p-nitrobenzyl, β, β, β -trichlorethyl, 3-phthalidyl eller 5-indanyl.

Som anført mere detaillert nedenfor tilvejebringer den foreliggende opfindelse også salte af disse syrer. Den bicykliske strukturs stereokemi er som hos cephalosporin C.

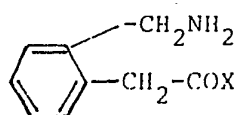
Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er karakteriseret ved, at man omsætter en forbindelse med formlen



hvor R^1 betegner H eller  eller et salt eller en let hydrolyserbar ester deraf, med en forbindelse med formlen



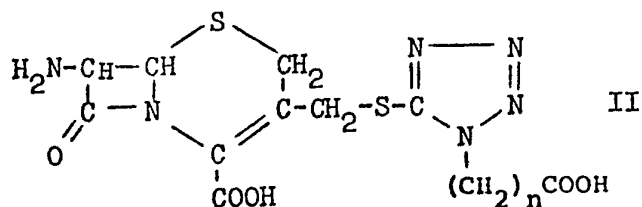
hvor n er 2- 9 og, såfremt R^1 er H, behandler den resulterende forbindelse med et acyleringsmiddel med formlen



hvor X betegner halogen eller et funktionelt ækvivalent deraf, og aminogruppen er beskyttet, og fjerner den beskyttende gruppe, og at man om ønsket omdanner en resulterende fri syre til en hydrolyserbar ester eller et ikke-toksisk farmaceutisk acceptabelt salt deraf, eller et resulterende salt eller en let hydrolyserbar ester til den tilsvarende frie syre med formlen (I).

Som acyleringsmiddel anvendes som nævnt et halogenid eller et funktionelt ækvivalent deraf.

Sådanne funktionelle ækvivalenter omfatter de tilsvarende syreanhydrider, herunder blandede anhydrider og især de blandede anhydrider fremstillet ud fra stærkere syrer såsom de lavere aliphatiske monoestere af carbonsyre, eller alkyl- og arylsulfonsyrer og af mere hindrede syrer såsom diphenyleddikesyre. Et særligt værdifuldt anhydrid er et N-carboxy-anhydrid (også kaldet et Leuch's anhydrid; se USA patentskrifter nr. 3.080.356 og 3.206.455). Endvidere kan anvendes et syreazid eller en aktiv ester eller thioester (f.eks. med p-nitrophenol, 2,4-dinitrophenol, thiophenol eller thioeddikesyre), eller selve den frie syre kan kobles med forbindelsen (II),



hvor n har den ovenfor anførte betydning, efter forudgående omsætning af den frie syre med N,N'-dimethylformiminiumchlorid [Britisk patentskrift nr. 1.008.170 og Novak og Weichet, Experientia

XXI, 6, 360 (1965)] eller ved anvendelse af enzymer eller af en N,N'-carbonyldiimidazol eller en N,N'-carbonylditriazol (jvf. Sydafrikansk patentskrift nr. 63/2684) eller et carbodiimid-reagens [især N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, N,N'-diisopropylcarbodiimid eller N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimid; jvf. Sheehan og Hess, J. Amer. Chem. Soc., 77, 1967 (1955)] eller af alkylylamin-reagens [jvf. R. Buijle og H.G. Viehe, Angew. Chem. International Edition 3, 582 (1964)] eller af et isoxasoliumsalt-reagens [jvf. R.B. Woodward, R.A. Olofson og H. Mayer, J. Amer. Chem. Soc., 83, 1010 (1961)], eller af et ketenimin-reagens [jvf. C.L. Stevens og M.E. Munk, J. Amer. Chem. Soc., 80, 4065 (1958)] eller af hexachlorocyclotriphosphatriazin eller hexabromocyclotriphosphatriazin (USA patentskrift nr. 3.651.050) eller af diphenylphosphorylazid [DPPA; J. Amer. Chem. Soc., 94 6203-6205 (1972)] eller af diethylphosphorylcyanid [DEPC; Tetrahedron Letters nr. 18, pp. 1595-1598 (1973)] eller af diphenylphosphit [Tetrahedron Letters nr. 49, pp. 5047-5050 (1972)]. Et andet ækvivalent af syrechloridet er et tilsvarende azolid, d.v.s. et amid af den tilsvarende syre, hvis amidnitrogen indgår i en quasi-aromatisk 5-leddet ring indeholdende mindst to nitrogenatomer, d.v.s. imidazol, pyrazol, triazolene, benzimidazol, benzotriazol og deres substituerede derivater. Som et eksempel på den almene fremgangsmåde til fremstilling af et azolid omsættes N,N'-carbonyldiimidazol med en carboxylsyre i ækvimolære mængder ved stuetemperatur i tetrahydrofuran, chloroform, dimethylformamid eller et tilsvarende inert opløsningsmiddel til dannelselse af carboxylsyreimidazolidet i praktisk taget kvantitativt udbytte under frigørelse af carbondioxid og et mol imidazol. Dicarboxylsyrer danner diimidazolid. Biproduktet imidazol udfælder og kan fraskilles, og imidazolidet isoleres, men dette er ikke væsentligt. Fremgangsmåderne til udførelse af disse omsætninger til fremstilling af en cephalosporin, og fremgangsmåderne som anvendes til isolering af den således fremstillede cephalosporin er i og for sig kendte.

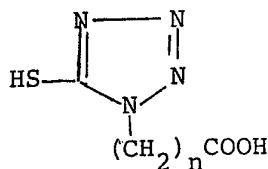
Ovenfor omtales anvendelsen af enzymer til kobling af den frie syre med forbindelse (II). Inden for rammerne af sådanne fremgangsmåder falder anvendelsen af en ester, f.eks. methylestere, af den pågældende frie syre med enzymer tilvejebragt af

forskellige mikroorganismer, f.eks. de som er beskrevet af T. Takahashi et al., J. Amer.Chem.Soc., 94 (11), 4035-4037 og af T. Nara et al., J. Antibiotics (Japan) 24 (5), 321-323 (1971) og i USA patentskrift nr. 3.682.777.

Til kobling af den organiske carboxylsyre som beskrevet ovenfor med forbindelse (II) (eller et salt eller fortrinsvis en let hydrolyseret ester deraf) er det også hensigtsmæssigt og effektivt som koblingsmiddel at benytte phosphonitрилchlorid-trimer (J. Org. Chem.33 (7), 2979-81, 1968) eller N-ethoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ) som beskrevet i J.Amer.Chem.Soc., 90

823-824 og 1652-1653 (1968) og USA patentskrift nr.3.455.929. Omsætningen udføres fortrinsvis ved 30-35°C i benzen, ethanol eller tetrahydrofuran under anvendelse af omtrentlig ækvimolære mængder af alle 3 reagenser efterfulgt af konventionel isolering og fjernelse af eventuelle tilstedeværende blokerende grupper ved hjælp af konventionelle metoder.

Omsætningen af 7-acylaminocephalosporansyren med thiolen med formlen



hvori n er 2-9, kan udføres i en opløsning såsom i vand eller vandig acetone ved en temperatur på mindst stuetemperatur og fortrinsvis i intervallet fra ca. 50°til ca. 100°C i nærværelse af en mild base såsom natriumhydrogencarbonat, f.eks. fortrinsvis nær neutralitet såsom ved en pH-værdi på ca. 6. Et overskud af thiolen foretrækkes fortrinsvis. Reaktionsproduktet isoleres ved forsigtig syring af reaktionsblandingen efterfulgt af ekstraktion med et med vand ublandbart organisk opløsningsmiddel.

Inden koblingen af den organiske carboxylsyre blokeres (eller beskyttes) aminogruppen, hvorefter koblingsreaktionen udføres, og den resulterende forbindelse underkastes endelig kemisk fjernelse af den beskyttende gruppe, dvs. en elimineringsreaktion for den beskyttende gruppe.

De omtalte salte omfatter de ikke-toksiske carboxylsyresalte af cephalosporansyrederivaterne, herunder ikke-toksiske metalsalte, f.eks. med natrium, kalium, calcium og aluminium, ammoniumsaltet og de substituerede ammoniumsalte, f.eks. salte af ikke-toksiske aminer såsom trialkylaminer, herunder triethylamin, procain, dibenzylamin, N-benzyl-beta-phenetylamin, 1-ephenamin, N,N'-dibenzylethylendiamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis-dehydroabiethylethylendiamin, N-(lavere)alkylpiperidin, f.eks. N-ethylpiperidin og andre aminer, som har været anvendt til at danne salte med benzylpenicillin; endvidere de ikke-toksiske syreadditionssalte deraf (dvs. aminsalte) herunder mineralsyreadditionssalte såsom hydrogenchloridet, hydrogenbromidet, hydrogeniodidet, sulfatet, sulfamatet og phosphatet og de organiske syreadditionssalte som maleatet, acetatet, citratet, oxalatet, succinatet, benzoatet, tartratet, fumaratet, malatet, mandelatet, ascorbatet og lignende.

Til blokering af aminogruppen kan f.eks. anvendes substituentter, såsom 2-iod-ethoxycarbonyl (Britisk patentskrift nr. 1.349.673), t-butoxycarbonyl, carbobenzyloxy, formyl, o-nitrophenylsulfenyl, β,β,β -trichlorethoxycarbonyl, 4-oxo-2-pentenyl-2,1-carbomethoxy-1-propenyl-2 og lignende. Navnlig dannes sådanne blokerende grupper med ketonerne (specielt acetone) og aldehyderne (specielt formaldehyd og acetaldehyd), som eksempelvis er omhandlet i USA patentskrifter nr. 3.198.804 og 3.347.851 samt β -ketoestrene og β -diketonerne, der f.eks. er omhandlet i USA patentskrift nr. 3.325.479 og β -ketoamiderne, som er omhandlet i Japansk patentskrift nr. 71/24714 (Farmdoc 47.321S).

De foretrukne estere af cephalosporinerne fremstillet eller anvendt som udgangsmateriale ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen er pivaloyloxymethyl-, acetoxymethyl-, methoxymethyl-, acetonyl- og phenacylestrene. Alle er værdifulde mellemprodukter til fremstilling af cephalosporinen med en fri carboxylsyregruppe, og de tre førstnævnte er endvidere af interesse, fordi de ved oral administrering tilvejebringer forskellige absorptionshastigheder og -mængder og giver varierende koncentrationer af det aktive antibakterielle middel i blod og væv.

Som antydnet ovenfor fremstilles hver af disse 5 estere af 7-aminocephalosporansyre ved hjælp af i og for sig kendte frem-

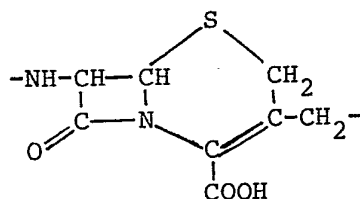
gangsmåder. En særlig god fremgangsmåde er den i USA patentskrift nr. 3.284.451 omhandlede, ifølge hvilken natriumcephalothin esterificeres ved omsætning med den tilsvarende aktive chlor- eller bromforbindelse (f.eks. phenacylbromid, chloracetone, chlormethylether, pivaloyloxymethylchlorid (også kaldet chlormethylpivalat) acetoxymethylchlorid), hvorefter thienyleddikesyresidekæden fjernes enzymatisk som beskrevet i samme patentskrift eller kemisk som i USA patentskrift nr. 3.575.970 og i Journal of Antibiotics, XXIV, 811), 767-773 (1971). En anden god fremgangsmåde består i, at tri-ethylaminsaltet af 7-aminocephalosporansyre omsættes direkte med den aktive halogenforbindelse som i britisk patentskrift nr. 1.229.453.

En ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillet ester af cephalosporinen kan, hvis den ikke anvendes direkte, omdannes til sin frie syre, herunder dens zwitterion (og om ønsket ethvert salt) ved fjernelse af den esterificerende gruppe, såsom ved vandig eller enzymatisk hydrolyse (såsom med humant eller animalsk serum) eller ved sur eller alkalisk hydrolyse eller ved behandling med natriumthiophenoxid som omhandlet i USA patentskrift nr. 3.284.451 og, for penicillinrækken, af Sheehan et al., J. Org. Chem. 29 (7), 2006-2008 (1964).

Til behandling af bakterielle infektioner hos mennesker administreres de omhandlede forbindelser parenteralt eller oralt i en mængde på fra ca. 5 til ca. 200 mg/kg/dag og fortrinsvis ca. 5 til 20 mg/kg/dag i opdeltede doser, f.eks. 3 til 4 gange dagligt. De administreres i dosis-enheder indeholdende f.eks. 125, 250 eller 500 mg aktiv bestanddel med passende fysiologisk acceptable bærere eller strækkemidler. Dosis-enhederne har form som flydende præparater såsom opløsninger eller suspensioner.

Konfigurationen ved de to optisk aktive asymmetriske centre i β -lactamkernen er den samme som i cephalosporin C fremstillet ved fermentering og i 7-aminocephalosporansyre afledt deraf.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere i det følgende ved udførelseseksempler. Alle temperaturer er i grader Celcius. 7-aminocephalosporansyre forkortes til 7-ACA; -ACA- betegner den del, som har strukturen

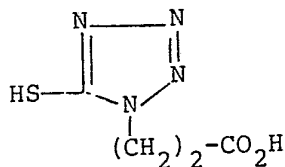


og 7-ACA kan derfor betegnes $\text{H-ACA-O-C(=O)-CH}_3$
Methylisobutylketon betegnes MIBK.

"Skellysolve B" er en petroleumsetherfraktion med kogepunkt 60-80°C bestående af i det væsentlige n-hexan.

Udgangsmaterialer

Fremstilling af 1-Carboxyethyltetrazol-5-thiol



A) 2-Carboxyethylisocyanat

β -alaninethylester, hydrochlorid (93,6 g), triethylamin 123,5 g) og methylenchlorid (400 ml) sammenblandedes og afkøledes til -10°C. Carbondisulfid (46,5 g) opløst i 150 ml chloroform sættes til ovennævnte opløsning over et tidsrum på 2 timer, mens temperaturen holdtes på ca. -10°C. Da tilsætningen var afsluttet, lod man temperaturen stige til 10°C i ca. 10 minutter. Opløsningen afkøledes igen til -10°C, og 66,8 g ethylchlorformiat i 60 ml chloroform tilsattes dråbevis over et tidsrum på 40 minutter med omrøring. Temperaturen fik lov til at stige til stuetemperatur i 30 minutter, og der afkøledes igen til 0°C og tilsattes yderligere 61,6 g triethylamin ved 0°C, hvorefter opløsningen omrørtes ved stuetemperatur i 3 timer.

Blandingen behandlede med vand, og den organiske fase opsamledes, vaskedes med 2 x 250 ml 2N HCl, dernæst med 2 x 250 ml NaHCO₃, dernæst med 2 x 250 ml vand. Den organiske fase tørredes over Na₂SO₄, og opløsningsmidlet fjernedes i vakuum til dannelse af 93,7 g af en olie, som viste sig at være det ønskede produkt. IR- og NMR-spektrene var i overensstemmelse med strukturen.

B) 1-carboxyethyltetrazol-5-thiol

Natriumazid (29,7 g) opløstes i 400 ml vand og opvarmedes til 60°C i en nitrogenatmosfære. 2-carboxyethylisocyanat (46,9 g) opløst i 50 ml "Skellysolve B" (i det væsentlige n-hexan) sættes til den opvarmede natriumazid-opløsning. Opløsningen omrørtes i ca. 150 minutter ved ca. 70-72°C og dernæst afkøledes til 30°C på et isbad. 50% natriumhydroxid-opløsning tilsættes, indtil pH-værdien var 12. Blandingen opvarmedes i 40 minutter ved 70°C og afkøledes til 15°C i et isbad. pH-værdien indstilledes til 2 ved anvendelse af koncentreret HCl og dernæst ekstraheredes med ethylacetat (4 x 150 ml). Ethylacetatekstrakterne vaskedes med vand, tørredes derefter over natriumsulfat. Opløsningsmidlet afdampedes i vakuum, og produktet opsamledes som krystaller fra methylenchlorid til dannelse af 19,5 g af produktet nævnt i overskriften.

Eksempel

Fremstilling af 7-amino-3-(1-carboxyethyltetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

Til en suspension af 5 g (0,029 mol) 1-carboxyethyltetrazol-5-thiol, 7 g (0,026 mol) 7-aminocephalosporansyre og 500 mg natriumbisulfit i 300 ml IM fosfatpuffer med pH 6,4 sættes fast natriumbicarbonat, indtil der opnåedes en klar opløsning. Opløsningen opvarmedes til 55°C under nitrogen i 3 1/2 time. Derefter køledes opløsningen til 5°C og gjordes sur til pH 2 med 1:1 phosphorsyre. Det rå faste stof opsamledes, vaskedes med vand og overførtes til en kolbe indeholdende 200-300 ml methanol. Opslæmningen behandlede dråbevis med koncentreret saltsyre, indtil det faste stof gik i opløsning. Efter dråbevis tilsætning af koncen-

treret ammoniumhydroxid til pH 7 fældede produktet ud, og det vejede 5 g. Produktet omkrystalliseredes fra fortyndet saltsyre (pH 1,5), behandlede med carbon og indstilledes til pH 5 med koncentreret ammoniumhydroxid, hvilket gav ialt 2 g af det ønskede produkt. IR (KBr) 1810 (s), 1725 (s), 1725 (s), 1620 (m), 1550 (s), 1420 (s), 1355 (m) cm^{-1} . ^1H NMR ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{DCl}$) 5,2-5,4 (d,2), 4,4,-4,8 (m,4); 3,9 (s,2), 3,1-3,3 (m,2).

Analyse beregnet for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 35,66 H, 3,99; N, 20,70. Fundet: C, 36,09; H, 3,85; N, 20,12.

7-(2-aminomethylphenylacetamido-3-(1-carboxyethyl-tetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

A) Kalium-O-(1-carboxymethoxy-propen-2-ylamino-methyl-phenylacetat (Enamin)

1. Anbring 1000 g o-aminomethylphenyleddikesyre, 340 g kaliumhydroxid, 1412 g methylacetoacetat og 32.400 ml absolut methanol i en beholder.
2. Opvarm blandingen til tilbagesvaling i 4 timer under omrøring.
3. Koncentrer reaktionsblandingen under reduceret tryk ved $<50^\circ\text{C}$ til ca. 1/5 af udgangsvolumenet.
4. Sæt 10.000 ml MIBK til koncentratet og fortsæt koncentrationen ved reduceret tryk, indtil methanolen er fjernet.
5. Tilsæt 10.000 ml MIBK eller hvilken som helst mængde, der er nødvendig til at fremstille en bearbejdelig opslæmning af koncentratet.
6. Omrør og afkøl blandingen til $5-10^\circ\text{C}$ i 30 minutter.
7. Filtrer opslæmningen og vask kagen med 5000 ml MIBK og dernæst med 5000 ml acetone.
8. Tør produktet i en luftcirkuleringsovn ved $\sim 40^\circ\text{C}$.
9. Udbyttet er 1605 - 1680 g eller 88-92% hvidt krystallinsk produkt. Smeltepunkt = $140 - 142^\circ\text{C}$.

B) 7-(2-aminomethylphenylacetamido-3-(1-carboxyethyl-tetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre

A¹) Enamin (4,09 g) fra trin A og 90 ml tetrahydrofuran blandes i en 3-halset kolbe forsynet med omrører og tørrerør og

afkøledes i et tøris-acetonebad. Der tilsattes 8 dråber N,N-dimethylbenzylamin, og blandingen afkøledes til -38°C . Der tilsattes isobutylchlorformiat (1,95 g) og omrørtes i 15 minutter.

B¹) 7-amino-3-(1-carboxyethyltetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre (3,5 g) opløstes i 50 ml vand og 2,29 g N-methylmorpholin og afkøledes til 2°C . Anhydridet fra trin A¹ sættes til opløsningen under omrøring. Blandingen omrørtes i 1,5 time ved 2°C . Tetrahydrofuranen fjernedes i vakuum, det tilbageblevne skiltes med ethylacetat og indstilledes til en pH-værdi på 3. Efter omrøring i et isbad opsamledes produktet; 250 mg, smp. 140°C dekomponering.

IR- NMR-spektrene var i overensstemmelse med titelproduktet, men antydede ca. 20% urenheder, først og fremmest udgangsmaterialer. Når denne forbindelse blev indgivet intramuskulært ved injektion ved en dosis på 10 mg/kg legemsvægt i mus, opnåedes en blodspejlsværdi på 22,3 mg/ml efter 15 minutter.

Forbindelsen kaldet 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre ifølge eksempel 1 og krav 1 i USA patentskrift nr. 3.766.175 og ifølge dansk fremlæggelsesskrift nr. 137.192 er en meget kraftigt virkende cephalosporin, som udviser et særligt ønskeligt aktivitetsspektrum, især over for visse gram-negative organismer. Desværre udviser denne zwitterion imidlertid en meget lav opløselighed i vand og især i blodstrømmen, hvilket vil sige ved en pH-værdi på ca. 7,2 eller deromkring. Mere specielt gav forsøg på at måle denne opløselighed resultater i intervallet ca. 1,0-3,0 mg/ml i både forpufret vandigt medium og i hundeurin ved stuetemperatur. pH-værdien af frisk beagle hundeurin er 7,6. Dette rejser spørgsmålet, hvorvidt der er en eventuel toksisk effekt ved indgivelse af denne zwitterion i mennesker, fordi det kan antages, at den vil udfælde på krystallinsk form i nyrerne, når den koncentrerendes heri under udskillelse. Dette vil hos mennesker være særdeles uønsket. Konventionelle forsøg på at løse dette mulige problem ved anvendelse af sædvanlige vandopløselige former og derivater af 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre har været uden resultat på grund af omdannelse i legemet af

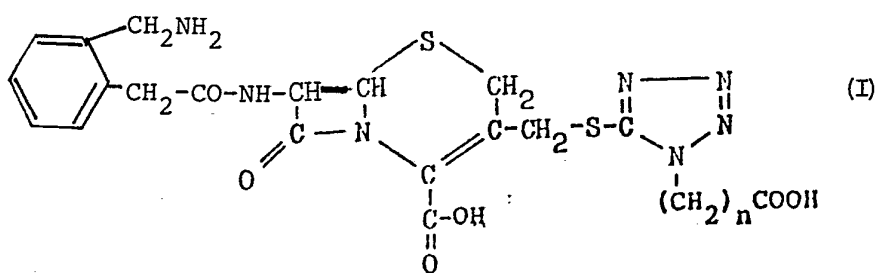
saltet eller derivatet til zwitterionen, der så udviser sin naturlige lave opløselighed i vandige medier og blod.

Til forskel herfra opnåedes der som omtalt tidligere en blodspejlsværdi på 22,3 mg/ml 15 min. efter intramuskulær injektion i mus af forbindelsen 7-(2-aminomethylphenylacetamido)-3-(1-carboxyethyltetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre opnået ifølge opfindelsen, ved en dosis på 10 mg/kg legemsvægt.

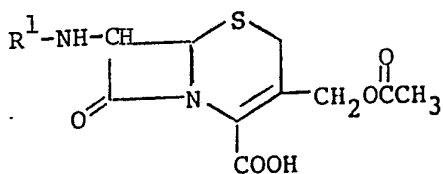
Forbindelsen 7-(2-aminomethylphenylacetamido)-3-(1-carboxyethyltetrazol-2-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre udviser omtrent samme antibakterielle aktivitet som den kendte forbindelse 7-(o-aminomethylphenylacetamido)-3-(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylthiomethyl)-3-cephem-4-carboxylsyre, bortset fra en noget lavere aktivitet over for S. aureus. De her omhandlede forbindelser udmærker sig ved deres forbedrede vandopløselighed i forhold til den kendte forbindelse og ved de i almindelighed højere blodspejlsværdier, som opnås med forbindelserne ved parenteral administrering ad intramuskulær vej.

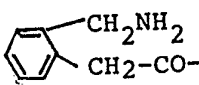
PATENTKRAV

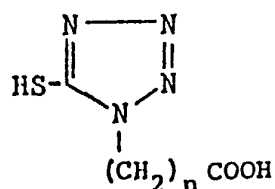
1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af cephalosporan-syrederivater med formlen



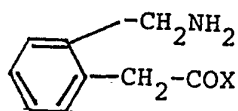
hvori n er et helt tal fra 2-9 incl., eller let hydrolyserbare estere eller ikke-toksiske, farmaceutisk acceptable salte deraf, k e n d e t e g n e t ved, at man omsætter en forbindelse med formlen



hvor R^1 betegner H eller  eller et salt eller en let hydrolyserbar ester deraf, med en forbindelse med formlen



hvor n er 2-9 og, såfremt R^1 betegner H, behandler den resulterende forbindelse med et acyleringsmiddel med formlen



hvor X betegner halogen eller et funktionelt ækvivalent deraf, og aminogruppen er beskyttet, og fjerner den beskyttende gruppe, og at man om ønsket omdanner en resulterende fri syre til en hydrolyserbar ester eller et ikke-toksisk farmaceutisk acceptabelt salt deraf, eller et resulterende salt eller en let hydrolyserbar ester til den tilsvarende frie syre med formlen (I).

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at en resulterende fri syre med formel (I) omdannes til en ester i form af en pivaloyloxymethyl-, acetoxyethyl-, methoxyethyl-, acetyl-, phenacyl-, p-nitrobenzyl-, β, β, β -trichlorethyl-, 3-phthalidyl- eller 5-indanylester.

Fremdragne publikationer:

DK ansøgninger nr. 1945/70 (patent 132119), 2317/72 (patent 137192), 5760/75 (PL § 2.2.3).