



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 D 501/36

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



⑫ PATENTSCHRIFT A5

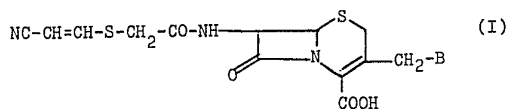
⑪

634 330

⑲ Gesuchsnummer:	582/80	⑦③ Inhaber:	Farmitalia Carlo Erba S.p.A., Milano (IT)
⑥② Teilgesuch von:	9845/77	⑦② Erfinder:	Giuliano Nannini, Bresso/Milano (IT) Ettore Perrone, Bresso/Milano (IT) Dino Severino, Vedasco di Stresa/Novara (IT) Giuseppe Meinardi, Milano (IT) Gisella Monti, Milano (IT) Alberta Bianchi, Milano (IT) Angelo Forgione, Milano (IT) Carlo Confalonieri, Cusano Milanino/Milano (IT)
②② Anmeldungsdatum:	11.08.1977	⑦④ Vertreter:	A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG, Patentanwälte, Basel
③⑩ Priorität(en):	11.02.1977 IT 20173/77		
②④ Patent erteilt:	31.01.1983		
④⑤ Patentschrift veröffentlicht:	31.01.1983		

⑤④ Verfahren zur Herstellung von ungesättigten Derivaten der 7-Acylamido-3-cephem-4-carbonsäure.

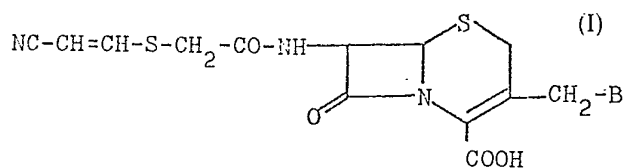
⑤⑦ Hergestellt werden Verbindungen der Formel:



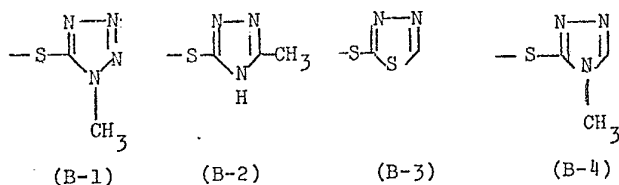
und deren pharmazeutisch zulässigen Salze, worin B eine 1-Methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylthio-, 1-Methyl-1,3,4-triazol-2-ylthio-, 5-Methyl-1,3,4-triazol-2-ylthio- oder 1,3,4-Thiadiazol-2-ylthiogruppe darstellt, durch Umsetzung einer entsprechenden 7-(Amino-, Isocyanato- oder Isothiocyanato)-cephemcarbonsäure oder deren 7-Aminsalze oder Metallsalze an der Carboxylgruppe bzw. unter intermediären Schutz derselben mit  $\beta$ -Cyanoäthylen-thioessigsäure oder deren reaktionsfähigem funktionellem Derivat. Die erhaltenen Carbonsäuren werden gegebenenfalls verestert. Die Verbindungen und ihre Salze entfalten eine antibakterielle Wirkung und können zur therapeutischen Behandlung von Infektionen verwendet werden.

## PATENTANSPRÜCHE

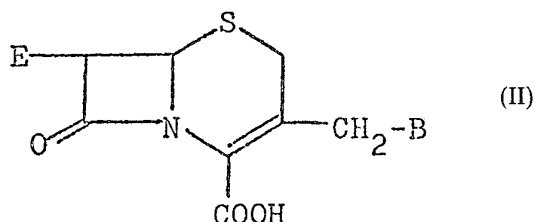
1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel:



worin die -CH=CH-Gruppe cis oder trans ist und B eine der folgenden Gruppen:



darstellt und ihrer pharmazeutisch unbedenklichen Salze, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel:



worin B die obige Bedeutung hat und E eine Amino-, -NCO oder -NCS Gruppe darstellt, oder ein Aminsalz derselben, wenn E eine Aminogruppe bedeutet, gegebenenfalls unter intermediärem Schutz der Carboxylgruppe, oder ein Metallsalz derselben mit einer Säure der Formel:  $\text{NC-CH=CH-S-CH}_2\text{-COOH}$  (III) oder einem reaktionsfähigen funktionellen Derivat derselben umsetzt.

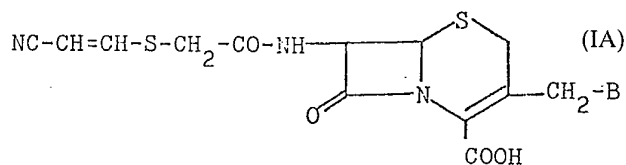
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung der Formel II in Form eines Silylesters intermediär geschützt wird, wobei der Silylester sich während der Aufarbeitung des Reaktionsgemisches zersetzt.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine erhaltene Verbindung der Formel I in ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz überführt bzw. ein erhaltenes Salz in eine freie Verbindung der Formel I überführt.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(5-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure; oder  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
sowie die pharmazeutisch unbedenklichen Salze davon, insbesondere die Alkalimetallsalze, vorzugsweise die Natrium- und Kaliumsalze, herstellt.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, dass man die erhaltene Verbindung in ein Alkalimetallsalz, vorzugsweise ein Natrium- oder Kaliumsalz, überführt.

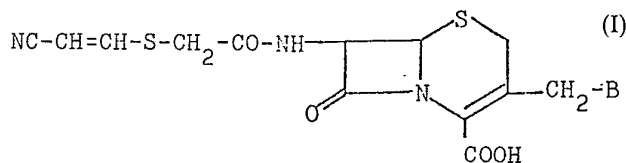
6. Verfahren zur Herstellung von Carbonsäureestern der Formel:



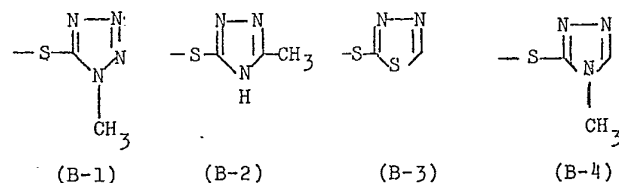
worin R den nicht carboxylischen Teil eines Esters darstellt, die -CH=CH-Gruppe cis oder trans ist und B eine 1-Methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-ylthio-, 1-Methyl-1,3,4-triazol-2-ylthio-, 5-Methyl-1,3,4-triazol-2-ylthio- oder 1,3,4-Thiadiazol-2-ylthiogruppe bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man nach dem Verfahren gemäss Anspruch 1 Verbindungen der daselbst gegebenen Formel I herstellt und diese Verbindungen entsprechend verestert.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Veresterung durch Umsetzung der freien Carbonsäure oder eines Salzes derselben, beispielsweise eines Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Triäthylammoniumsalzes, mit einem entsprechenden esterbildenden Halogenid in einem organischen Lösungsmittel oder einem Gemisch aus Wasser und einem organischen Lösungsmittel durchgeführt wird.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten Derivaten der 7-Acylamido-3-cephem-4-carbonsäure. Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen entsprechen der Formel:



worin die -CH=CH-Gruppe cis oder trans ist und B eine der folgenden Gruppen:



dargestellt.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Herstellung der pharmazeutisch unbedenklichen Salze der Verbindung der Formel I.

Gemäss der Erfindung werden insbesondere, unter den Verbindungen der Formel I, folgende hergestellt:  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(5-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;

7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
7-[β-Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;  
sowie die pharmazeutisch unbedenklichen Salze davon, insbesondere die Alkalimetallsalze, vorzugsweise die Natrium- und Kaliumsalze.

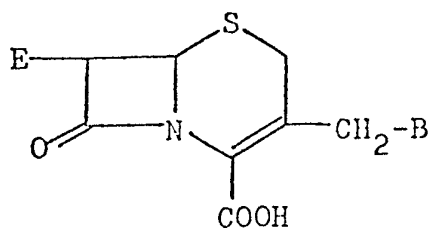
Die Strukturformeln der oben aufgezählten Verbindungen sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 1

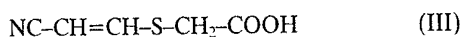
Verbindung	Geometrisches Isomere	B-Gruppe
1	trans	B-1
2	trans	B-3
3	cis	B-1
4	cis	B-3
5	cis	B-2
6	cis	B-4
7	trans	B-4

Die pharmazeutisch unbedenklichen Salze der Verbindungen der Formel I sind Salze entweder mit anorganischen Basen, wie z. B. Natriumhydroxyd, Kaliumhydroxyd, Calciumhydroxyd, Aluminiumhydroxyd und Alkali- und Erdalkalimetallcarbonaten oder -bicarbonaten, oder mit organischen Basen, wie beispielsweise organischen Aminen, z. B. Lysin, Triäthylamin, Procain, Dibenzylamin, N-Benzyl-β-phenyläthylamin, N,N'-Dibenzyläthylendiamin, Dehydroabietylamin, N-Aethylpiperidin, Diäthanolamin, N-Methylglucamin und Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan. Bevorzugt sind die Alkalimetallsalze, insbesondere die Natrium- und Kaliumsalze.

Erfindungsgemäss werden die Verbindungen dadurch hergestellt, dass man eine Verbindung der Formel:



worin B die obige Bedeutung hat und E eine Amino-, -NCO oder -NCS Gruppe darstellt, oder ein Aminsalt derselben, wenn E eine Aminogruppe bedeutet, gegebenenfalls unter intermediärem Schutz der Carboxylgruppe, oder ein Metallsalt derselben mit einer Säure der Formel:



oder einem reaktionsfähigen funktionellen Derivat derselben umsetzt.

Gewünschtenfalls kann man eine erhaltene Verbindung der Formel I in ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz überführen oder ein erhaltenes Salz in eine freie Verbindung der Formel I überführen.

Der intermediäre Schutz der Carboxylgruppe der Verbindung der Formel II kann in Form eines Silylesters erfolgen; der Silylester zersetzt sich während der Aufarbeitung des Reaktionsgemisches.

In dem obigen Verfahren werden die Gruppe B in der Formel II und die Konfiguration des geometrischen Isomeren in der Formel III, d. h. die cis- oder trans-CH=CH-Gruppe, wie in den

herzustellenden Verbindungen 1 bis 7 (siehe oben) gewählt. Die Umsetzung verläuft stereospezifisch. Nötigenfalls wird die Carboxylgruppe vor der Reaktion in herkömmlicher Weise geschützt. Beispiele von Schutzgruppen sind diejenigen, die gewöhnlich bei der Synthese von Peptiden verwendet werden, z. B. tert.-Butyl, Benzhydryl, p-Methoxybenzyl und p-Nitrobenzyl. Die Schutzgruppen werden dann am Ende der Reaktion in bekannter Weise entfernt, z. B. durch milde saure Hydrolyse.

Ein reaktionsfähiges Derivat einer Verbindung der Formel III ist z. B. ein Acylhalogenid, ein Anhydrid, ein gemischtes Anhydrid, ein Amid, ein Azid, ein reaktionsfähiger Ester oder ein Salz, wie z. B. die mit Alkali- und Erdalkalimetallen, Ammoniak oder organischen Basen gebildeten Salze.

Die Reaktion zwischen der Verbindung der Formel II oder einem ihrer bereits erwähnten Derivate und der Verbindung der Formel III oder einem reaktionsfähigen funktionellen Derivat davon kann entweder bei Raumtemperatur oder unter Kühlung in einem geeigneten Lösungsmittel, wie z. B. Aceton, Dioxan, Tetrahydrofuran, Acetonitril, Chloroform, Methylenechlorid oder Dimethylformamid, gewünschtenfalls in Gegenwart einer Base, wie z. B. Natriumbicarbonat, Kaliumbicarbonat oder ein Trialkylamin, ausgeführt werden.

Wenn die Verbindung der Formel III mit einer Verbindung der Formel II, worin E Amino bedeutet, als freie Säure oder als Salz umgesetzt wird, ist es erwünscht, dass die Reaktion in Gegenwart eines Kondensationsmittels, wie z. B. N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, ausgeführt wird.

Die fakultative Salzbildung aus der Verbindung der Formel I sowie die fakultative Überführung eines Salzes in eine freie Verbindung können nach herkömmlichen Verfahren, d. h. in der organischen Chemie bereits bekannten Verfahren, ausgeführt werden.

Gegebenenfalls werden die erhaltenen Carbonsäuren verestert. Die Veresterung kann ausgeführt werden, indem man die Verbindung der Formel I, deren Carboxylgruppe frei oder als Salz vorliegt, z. B. in Form eines Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Triäthylammoniumsalzes, mit einem geeigneten Halogenid in einem organischen Lösungsmittel, wie Aceton, Tetrahydrofuran, Chloroform, Methylenechlorid, Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid, oder in einem Gemisch aus Wasser und einem organischen Lösungsmittel, z. B. Dioxan oder Aceton, umsetzt; die Reaktionstemperaturen können im Bereich von -20 bis +80° C liegen.

Die Verbindungen der Formel II, worin E Amino bedeutet, können z. B. hergestellt werden, indem man 7-Aminocephalosporansäure oder ein Salz davon unter Anwendung aus der Literatur gut bekannter Reaktionsbedingungen mit einer Verbindung der Formel HB (IX), worin B eine der eingangs angegebenen Gruppen darstellt, umsetzt.

Die Verbindungen der Formel IX können leicht nach bekannten Verfahren ausgehend von bekannten Verbindungen hergestellt werden bzw. sind bereits aus der Literatur bekannt.

Die Verbindungen der Formel II, worin E-NCO oder -NCS bedeutet, können z. B. hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel II, worin E Amino bedeutet, in Gegenwart eines Salzsäureakzeptors unter Anwendung bekannter Methoden mit Phosgen oder Thiophosgen umsetzt.

Die Verbindungen der Formel III können nach einer der folgenden Methoden hergestellt werden:

1. Durch Umsetzung einer Verbindung der Formel:



worin Z Cyano oder Carbamoyl darstellt und Y'' Halogen, vorzugsweise Chlor oder Brom, oder o-Tosyl oder o-Mesyl darstellt, mit einer Verbindung der Formel:



oder durch Umsetzung einer Verbindung der Formel V mit einer Verbindung der Formel:



worin Y die obige Bedeutung hat und R Wasserstoff oder Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, vorzugsweise Aethyl oder tert.-Butyl, darstellt; wenn R Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen bedeutet, wird das Reaktionsprodukt nach bekannten Verfahren verseift.

Wenn Z Carbamoyl bedeutet, wird die Verbindung durch Behandlung mit einem wasserabspaltenden Mittel, z. B. Phosphorpentachlorid, Phosphoroxychlorid oder Triphenylphosphin, in einem organischen Lösungsmittel, z. B. einem Gemisch aus Dimethylformamid und Diäthyläther, Tetrakohlenstoff, Triäthylamin und N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, bei Raumtemperatur oder durch Erwärmen auf ca. 30 bis 120°C in einem organischen Lösungsmittel, vorzugsweise in Hexamethylphosphorsäuretriamid oder Dimethylsulfoxyd, in die gewünschte entsprechende Cyanoverbindung übergeführt.

Die Reaktion einer Verbindung der Formel VIIa mit einer Verbindung der Formel X oder die Reaktion einer Verbindung der Formel V mit einer Verbindung der Formel XI wird vorzugsweise in Wasser oder in einem organischen Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran, Diäthyläther oder Benzol, oder in einem Gemisch aus einem organischen Lösungsmittel, z. B. einem der oben erwähnten, mit Wasser in Gegenwart von ca. 2 bis 2,5 Äquivalenten einer Base, wenn R Wasserstoff bedeutet, bzw. von ca. 1 bis 1,5 Äquivalenten einer Base, wenn R Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen bedeutet, bei Temperaturen im Bereich von ca. -10 bis ca. +25°C ausgeführt. Eine geeignete Base ist z. B. Natriumhydroxyd, Natriumbicarbonat oder Triäthylamin.

In dem zuvor besprochenen Verfahren soll in der Formel VIIa die Konfiguration des geometrischen Isomeren, d. h. die cis- oder trans-Konfiguration der Gruppe -CH=CH-, dieselbe sein wie in der Formel III, da die Reaktion stereospezifisch verläuft.

2. Umsetzung einer Verbindung der Formel X mit einer Verbindung der Formel:



worin Z die obige Bedeutung hat, wodurch eine Verbindung der Formel III in der cis- oder trans-Form, je nach den Reaktionsbedingungen, erhalten wird.

Wenn die Reaktion zwischen einer Verbindung der Formel X und einer Verbindung der Formel XII in einem protischen Lösungsmittel, vorzugsweise in einem wässrigen protischen Lösungsmittel, z. B. Wasser oder niederen aliphatischen Alkoholen, wie Aethanol, in Gegenwart von nicht mehr als einem Äquivalent einer Base, z. B. Triäthylamin, ein Alkalimetallbicarbonat oder ein Alkalimetallhydroxyd, und bei niedrigen

Temperaturen, vorzugsweise bei ca. 0°C, ausgeführt wird, wird eine Verbindung der Formel III in der cis-CH=CH-Form erhalten.

Wenn die gleiche Reaktion in den gleichen Lösungsmitteln und in Gegenwart der gleichen Basen, aber bei höheren Temperaturen als Raumtemperatur, oder in einem Überschuss des Thiolatanions, oder unter Verwendung von sauren Katalysatoren, z. B. Salzsäure, ausgeführt wird, wird eine Verbindung der Formel III erhalten, welche aus einem Gemisch von

10 cis-CH=CH- und trans-CH=CH- besteht.

Wenn Z Carbamoyl bedeutet, wird die Verbindung wiederum, wie bereits beschrieben, in das entsprechende Cyanoderivat übergeführt.

Die Trennung der erhaltenen Isomeren kann nach den üblichen, in der organischen Chemie zur Trennung von geometrischen Isomeren angewandten Verfahren ausgeführt werden, beispielsweise durch fraktionierte Kristallisation aus Lösungsmitteln, wie z. B. Wasser oder niederen aliphatischen Alkoholen, z. B. Aethanol, oder durch chromatographische Trennung.

Wenn Z Carbamoyl bedeutet, wird die Verbindung wiederum, wie bereits beschrieben, in das entsprechende Cyanoderivat übergeführt.

Es sind bereits in grosser Zahl halbsynthetische und synthetische Verbindungen mit antibakterieller Wirkung hergestellt worden, beispielsweise die in den Französischen Patentschriften Nr. 2.238.497 und 2.308.369 beschriebenen Verbindungen. Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen dagegen zeichnen sich durch eine andere Strukturformel und eine erhöhte antibakterielle Aktivität aus. Sie erweisen sich hochwirksam bei Tieren und beim Menschen sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien und sind daher brauchbar für die Behandlung von durch diese Mikroorganismen verursachten Infektionen, wie z. B. Infektionen der Atemwege, z. B. Bronchitis, Bronchopneumonie und Pleuritis; hepatobiliäre und abdominale Infektionen, z. B. Cholezystitis und Peritonitis; Blut- und kardiovaskuläre Infektionen, z. B. Septikämie, Infektionen der Harnwege, z. B. Pyelonephritis und Zystitis, obstetrische und gynäkologische Infektionen, z. B. Zervizitis und Endometritis, sowie Ohren-, Nasen- und Halsinfektionen, z. B. Otitis, Sinusitis und Parotitis.

Die folgende Tabelle zeigt die Mindesthemmkonzentrationen (MIC) in µg/ml der Verbindungen 3 und 4 von Tabelle 1 gegen sowohl grampositive als auch gramnegative Bakterien im Vergleich mit den bekannten Verbindungen K 9227 und K 10299 (bei denen es sich um die wirksamsten unter den gesättigten Verbindungen aus der britischen Patentschrift Nr. 1478055 handelt) und Cefazolin und Cefamandole.

Tabelle 2

	Cefazolin	Cefamandole	K 9227	K 10299	3	4
<b>Gram-positive Bakterien:</b>						
Staphylococcus aureus Smith	0,05	0,15	0,05	0,075	0,025	0,025
Diplococcus aureus 39/2	0,6	1,2	0,2	0,4	0,14	0,14
Diplococcus pneumoniae ATCC 6301	0,05	0,019	0,4	0,2	0,012	<0,006
Streptococcus β-haemolyticus C203	0,05	0,019	0,025	0,037	0,012	<0,006
<b>Gram-negative Bakterien:</b>						
Escherichia coli G	1,6	2,35	3,1	0,8	0,14	0,57
Escherichia coli 1507	1,6	0,8	1,6	0,8	0,1	0,57
Klebsiella pneumoniae ATCC 10031	0,8	0,15	0,4	0,2	0,1	0,2
Klebsiella aerogenes 1522E	1,1	0,4	1,6	0,8	0,1	0,28
Enterobacter aerogenes ATCC 8308	1,2	1,6	1,2	0,6	0,2	0,4
Enterobacter cloacae 1321E	3,1	1,6	3,1	1,6	0,56	1,6
Salmonella typhi Watson	1,6	0,6	0,8	0,2	0,07	0,2
Shigella sonnei ATCC 11060	1,6	2,35	1,6	1,6	0,8	1,6
Proteus mirabilis ATCC 9921	6,2	1,6	12,5	6,2	0,4	0,4

Cefazolin	= 7-[1-(1H)-Tetrazolylacetamido]-3-[2-(5-methyl-1,3,4-thiadiazolyl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;
Cefamandole	= 7-D-Mandelamido-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)-thio]-methyl]-3-cephem-4-carbonsäure;
K 9227	= 7-[(Cyanomethyl-thio)-acetamido]-3-[2-(5-methyl-1,3,4-thiadiazolyl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure;
K 10299	= 7-[(Cyanomethyl-thio)-acetamido]-3-[5-(1-methyl-1,2,3,4-tetrazolyl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, zeigen die Verbindungen 3 und 4 nicht nur eine hohe Aktivität gegen grampositive Bakterien, sondern haben überraschenderweise auch eine sehr hohe Aktivität gegen gramnegative Bakterien; sie sind daher viel nützlicher als die bekannten Verbindungen aus der Tabelle, und zwar für die Behandlung von durch gramnegative Bakterien verursachten Infektionen, wie beispielsweise Infektionen der Harnwege und der Atemwege.

Insbesondere zeigt die Tabelle, dass die Verbindung 3 gegen Staphylokokken etwa 2mal wirksamer, gegen Streptokokken (einschliesslich Diplokokken) etwa 4,2 mal wirksamer und gegen gramnegative Bakterien etwa 9,6 mal wirksamer als Cefazolin ist. Ferner wurde die Verbindung 3 im Vergleich mit Cefazolin gegen eine Reihe von 60 Stämmen von gramnegativen Mikroorganismen, einschliesslich Klebsiella, Escherichia coli, Proteus mirabilis und Proteus vulgaris, getestet, wobei gefunden wurde, dass sie immer wirksamer war als Cefazolin. Gegen Haemophilus influenzae (gramnegatives Bakterium; 7 Stämme wurden getestet) war sie ca. 6 mal wirksamer als Cefazolin.

Die Verbindungen können Menschen oder Tieren in den verschiedensten Darreichungsformen verabreicht werden, z. B. oral in Form von Tabletten, Kapseln, Tropfen oder Sirupen, rektal in Form von Suppositorien, parenteral, z. B. intravenös oder intramuskulär (als Lösungen oder Suspensionen), wobei die intravenöse Verabreichung in Notfällen bevorzugt wird, durch Inhalation in Form von Aerosolen oder Lösungen für Zerstäuber, intravaginal in Form von z. B. Kerzen oder topisch in Form von Lotionen, Cremes und Salben. Die pharmazeutischen Mittel, welche die Verbindungen enthalten, können in herkömmlicher Weise unter Verwendung herkömmlicher Träger und/oder Verdünnungsmittel, die für die anderen Cephalosporine verwendet werden, hergestellt werden.

Herkömmliche Träger oder Verdünnungsmittel sind z. B. Wasser, Gelatine, Lactose, Stärken, Magnesiumstearat, Talkum, pflanzliche Öle, Cellulose und dergleichen. Es können tägliche Dosierungen im Bereich von ca. 1 bis ca. 100 mg pro kg Körpergewicht angewandt werden, und zwar bei verschiedenen Tierarten, wobei die genaue Dosis von dem Alter, dem Gewicht und dem Zustand des zu behandelnden Patienten und von der Häufigkeit und der Art der Verabreichung abhängt. Eine bevorzugte Art der Verabreichung der Verbindungen ist die parenterale Verabreichung; in diesem Falle können die Verbindungen z. B. an erwachsene Menschen in einer Menge von ca. 100 bis ca. 200 mg pro Dosis, vorzugsweise ca. 150 mg pro Dosis, einmal bis viermal täglich verabreicht werden, und zwar gelöst in einem geeigneten Lösungsmittel, wie z. B. steriles Wasser oder Lidocainhydrochloridlösung für die intramuskuläre Injektion und steriles Wasser, physiologische Kochsalzlösung, Dextroselösung oder die herkömmlichen intravenösen Flüssigkeiten oder Elektrolyten für die intravenöse Injektion.

Ferner können die Verbindungen in prophylaktischer Weise als antibakterielle Mittel verwendet werden, z. B. bei der Reinigung oder als Oberflächendesinfektionsmittel, z. B. bei einer Konzentration von ca. 0,2 bis 1 Gew.-% der Verbindungen im Gemisch mit, suspendiert in oder gelöst in herkömmlichen

inerten trockenen oder wässrigen Trägern für die Anwendung beim Waschen oder Besprühen.

Sie sind auch nützlich als Ernährungszusatzstoffe in Tierfuttermitteln.

Die Bestimmung von Schmelzpunkten war in einigen Fällen etwas schwierig, da die Verbindungen dazu neigen, das Lösungsmittel zurückzuhalten. In diesen Fällen wurde nach der Angabe des Schmelzpunktes das Wort Zersetzung zugefügt.

Die Infrarotspektren wurden in fester Phase auf einem Spektrophotometer Perkin-Elmer 125 bestimmt, während die Ultraviolettspektren gewöhnlich in einer Phosphatpufferlösung vom pH=7,4 auf einem Bausch-Lomb-Apparat bestimmt wurden. Die magnetischen Kernresonanzspektren wurden in Dimethylsulfoxyd mit einem Spektrometer Varian HA-100 unter Verwendung von  $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$  als innerer Standard gemessen.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

#### Beispiel 1

Eine Lösung von 2,88 g  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäure und 2,8 g Triäthylamin in 120 ml wasserfreiem Aceton wurde mit einigen Tropfen N-Methylmorpholin versetzt. Das Gemisch wurde auf  $-10^\circ\text{C}$  abgekühlt, worauf unter Rühren eine Lösung von 2,44 ml Pivaloylchlorid in 30 ml wasserfreiem Aceton zugegeben wurde. Nach halbstündigem Rühren bei  $-10^\circ\text{C}$  wurde eine Lösung von 6,56 g 7-Amino-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure und 2,8 ml Triäthylamin in 240 ml 50%igem Aceton, die auf  $-20^\circ\text{C}$  gekühlt war, nach 30 Minuten zugegeben.

Das Gemisch wurde dann eine Stunde lang bei  $-20^\circ\text{C}$  gerührt und danach 2 Stunden lang bei Raumtemperatur. Das Aceton wurde im Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen, mit Äthylacetat der Schichtbildung unterworfen und der pH-Wert des Gemisches mit 40%iger Phosphorsäure auf 2,5 gebracht.

Nach Filtration wurde das Äthylacetat abgetrennt und die organische Phase mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingedampft. Äthyläther wurde zugegeben, wobei eine Festsubstanz entstand, die abfiltriert und mit Äthyläther gerührt wurde. Die Festsubstanz wurde wieder abfiltriert, wobei man 5,4 g (Ausbeute 60%) 7- $[\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 118 bis  $120^\circ\text{C}$  (Zersetzung) erhielt.

Analyse für  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_4\text{S}_3$ :  
Gefunden: C 39,83; H 3,42; N 21,31; S 20,87.  
Berechnet: C 39,80; H 3,33; N 21,60; S 21,20.

Ultraviolettspektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{\text{max}} = 267 \text{ m}\mu$ ;  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 411$ .

Dünnschichtchromatographie:

$R_f = 0,55$  ( $\text{CHCl}_3$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ : $\text{HCOOH} = 160:40:20$ ).

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C $\equiv$ N) konjugiert  $2200 \text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam  $1775 \text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1670 \text{ cm}^{-1}$ .

Magnetisches Kernresonanzspektrum, ppm (DMSO- $d_6$ ):

3,75 (4H, br. s,  $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}$  und  $2-\text{CH}_2$ );

3,94 (3H, s,  $\text{CH}_3-\text{N}$ );

4,33 (2H, q,  $3-\text{CH}_2$ );

5,11 (1H, d, 6-H);

5,64 (1H, d,  $\text{NC}-\text{CH}=\text{}$ );

5,7 (1H, d-d, 7-H),  $J_{6\text{H}-7\text{H}} = 4,5 \text{ Hz}$ ;

7,82 (1H, d,  $=\text{CH}-\text{S}$ ),  $J_{\text{CH}=\text{CH}(\text{trans})} = 16 \text{ Hz}$ ;

9,28 (1H, d,  $-\text{CONH}$ ),  $J_{7\text{H}-\text{NH}} = 8 \text{ Hz}$ .

Die als Ausgangsmaterial verwendete  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäure wurde nach den folgenden Verfahren hergestellt:

## Verfahren A

Zu einer auf +5° C gekühlten Lösung von 2,1 ml 70 %iger Thioglycolsäure und 5,6 ml Triäthylamin in 50 ml Wasser wurde eine Lösung von 1,73 g trans- $\beta$ -Chloracryl-nitril in 7 ml Tetrahydrofuran zugepfropft. Das Gemisch wurde 30 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt und mit 20 %iger Schwefelsäure angesäuert. Der erhaltene Niederschlag wurde mit Aethylacetat extrahiert; die Extrakte wurden mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, mit Kohle behandelt und eingedampft, wobei man ein Öl erhielt, das zu 2,5 g (Ausbeute 88 %)  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäure vom Schmelzpunkt 81 bis 86° C erstarrte.

Analyse für  $C_5H_7NO_2S$ :

Gefunden: C 41,81; H 3,57; N 9,71; S 22,31.

Berechnet: C 41,94; H 3,52; N 9,78; S 22,39.

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C $\equiv$ N) konjugiert 2220  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) Säure 1720  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=C) konjugiert 1575  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C-H):C=C trans 930  $cm^{-1}$ .

Magnetisches Kernresonanzspektrum (DMSO- $d_6$ ):

5,56  $\delta$  (d, NC-CH=);

7,78  $\delta$  (d, =CH-S),  $J_{CH=CH(trans)} = 16$  Hz.

## Verfahren B

Eine Lösung von 0,5 ml 70 %iger Thioglycolsäure und 0,84 mg Natriumbicarbonat in 50 ml Wasser wurde unter Rühren mit 1,03 g  $\beta$ -Tosyl-acrylnitril versetzt. Das Gemisch wurde 3 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt und filtriert. Die Lösung wurde mit 20 %iger Schwefelsäure angesäuert und mit Aethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockene eingedampft, wobei man 0,65 g (Ausbeute 91 %)  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäure erhielt.

Durch Reinigung durch Bildung des Dicyclohexylaminsalzes wurde ein Produkt erhalten, das mit dem nach Verfahren A hergestellten identisch war.

Das als Ausgangsmaterial verwendete  $\beta$ -Tosylacrylnitril wurde hergestellt, indem man das Natriumsalz der p-Toluolsulfinsäure und  $\beta$ -Chlor-acrylnitril nach einem bekannten Verfahren in einem Gemisch von Dioxan, Wasser und Borsäure umsetzte.

## Beispiel 2

Wenn man nach Beispiel 1 verfuhr und  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäure mit 7-Amino-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure umsetzte, erhielt man in einer Ausbeute von 68 % 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 100° C (Zersetzung).

Analyse für  $C_{15}H_{13}N_5O_4S_4$ :

Gefunden: C 39,66; H 2,91; N 15,25; S 28,05.

Berechnet: C 39,54; H 2,87; N 15,37; S 28,15.

Ultravioletspektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{max} = 267$  m $\mu$ ;  $E_{1cm}^{1\%} = 569,8$ .

Dünnschichtchromatographie:

$R_f = 0,54$  ( $CHCl_3:CH_3OH:HCOOH = 160:40:20$ ).

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C $\equiv$ N) konjugiert 2215  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam 1775  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid 1675  $cm^{-1}$ .

## Beispiel 3

Eine Lösung von 1,44 g  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure und 1,4 ml Triäthylamin in 80 ml wasserfreiem Aceton wurde mit einigen Tropfen N-Methylmorpholin versetzt. Die Lösung wurde auf 0° C abgekühlt und dann unter Rühren mit einer Lösung von 1,22 ml Pivaloylchlorid in 20 ml wasserfreiem

Aceton versetzt. Das Gemisch wurde 30 Minuten lang bei 0° C gerührt. Dann wurde eine Lösung von 3,28 g 7-Amino-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thio-methyl]-3-cephem-4-carbonsäure und 1,4 ml Triäthylamin in 160 ml 50 %igem Aceton zuge-<sup>5</sup> setzt. Nach der Zugabe wurde die Lösung eine Stunde lang bei 0° C gerührt und danach 2 Stunden lang bei Raumtemperatur. Das Aceton wurde im Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und mit Aethylacetat gewaschen. Nach der Abtrennung wurde die wässrige Phase mit<sup>10</sup> Aethylacetat der Schichtbildung unterworfen und mit 20 %iger Schwefelsäure auf pH = 2 gebracht.

Der Rückstand wurde abfiltriert und die organische Phase abgetrennt, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingedampft. Der Rückstand wurde mit<sup>15</sup> Aethyläther aufgenommen, wobei man 2,7 g (Ausbeute 60 %) 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 113 bis 115° C (Zersetzung) erhielt.

Analyse für  $C_{15}H_{15}N_7O_4S_3$ :

Gefunden: C 39,78; H 3,43; N 21,40; S 20,78.

Berechnet: C 39,80; H 3,33; N 21,60; S 21,20.

Ultravioletspektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{max} = 273$  m $\mu$ ;  $E_{1cm}^{1\%} = 463$ .

Dünnschichtchromatographie:

<sup>25</sup>  $R_f = 0,60$  ( $CHCl_3:CH_3OH:HCOOH = 160:40:20$ ).

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C $\equiv$ N) konjugiert 2210  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam 1775  $cm^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid 1680  $cm^{-1}$ .

<sup>30</sup>  $\nu$  (C-N)+ $\delta$  (N-H) sekundäres Amid 1540  $cm^{-1}$ .

Magnetisches Kernresonanzspektrum, ppm (DMSO- $d_6$ ):

3,68 (2H, q, 1-CH<sub>2</sub>);

3,73 (2H, s, -S-C<sub>7</sub>-CO);

3,94 (3H, s, CH<sub>3</sub>-N);

<sup>35</sup> 4,31 (2H, q, 3-CH<sub>2</sub>);

5,10 (1H, d, 6-H);

5,63 (1H, d-d, 7-H);

5,72 (1H, d, NC-CH=);

7,63 (1H, d, =CH-S)  $J_{CH=CH(cis)} = 11$  Hz;

<sup>40</sup> 9,2 (1H, d, -CONH).

Die als Ausgangsmaterial verwendete  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure wurde folgendermassen hergestellt:

Eine auf 0° C gekühlte Lösung von 4 g  $\beta$ -Carboxamido-äthylen-(cis)-thio-essigsäure in 100 ml eines Gemisches aus Dimethyl-<sup>45</sup> formamid und Aethyläther (3:2) wurde unter Rühren mit 5,2 g Phosphorpentachlorid versetzt, wobei man die Temperatur zwischen 8 und 10° C hielt. Die Lösung wurde dann 2 Stunden lang zwischen 0 und 10° C gerührt.

Die Lösung wurde in Eis gegossen und die ätherische Schicht<sup>50</sup> abgetrennt. Die wässrige Schicht wurde viermal mit je 50 ml Aethylacetat extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und dann bei einer Temperatur nicht über 40° C zur Trockene eingedampft, wobei man ein gelbliches Öl erhielt, das in 10 ml Methanol gelöst wurde. Die resultierende Lösung wurde mit der stöchiometrischen Menge Dicyclo-<sup>55</sup> hexylamin versetzt, wodurch das Dicyclohexylaminsalz der  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure ausgefällt wurde, das nach Filtration wiederholt mit Aethyläther gewaschen wurde (Schmelzpunkt 180 bis 183° C).

Das Salz wurde bei 5° C in 120 ml eines Gemisches aus Wasser<sup>60</sup> und Aethylacetat (5:7) gelöst. Die Lösung wurde durch Zutropfen von 10 ml 40 %iger Phosphorsäure angesäuert. Die resultierende Lösung wurde dreimal mit Aethylacetat extrahiert, worauf die vereinigten organischen Extrakte mit einer gesättigten wäss-<sup>65</sup> rigen Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockene eingedampft wurden, wobei man 2,76 g (Ausbeute 77 %)  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure vom Schmelzpunkt 90 bis 92° C erhielt.

Analyse für  $C_5H_5NO_2S$ :

Gefunden: C 41,70; H 3,63; N 9,64; S 22,25.

Berechnet: C 41,94; H 3,52; N 9,78; S 22,39.

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C≡N) konjugiert  $2220\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) Säure  $1720\text{ cm}^{-1}$ ;

Magnetisches Kernresonanzspektrum, (DMSO- $d_6$ ):

5,4  $\delta$  (d, NC-CH=);

7,4  $\delta$  (d, =CH-S);  $J_{\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})} = 10\text{ Hz}$ ;

#### Beispiel 4

Wenn man nach Beispiel 3 verfährt und  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure mit 7-Amino-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure umsetzt, so erhält man in einer Ausbeute von 63% 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 93 bis  $95^\circ\text{ C}$  (Zersetzung).

Analyse für  $C_{15}H_{13}N_5O_4S_4$ :

Gefunden: C 39,33; H 2,94; N 15,22; S 27,93.

Berechnet: C 39,54; H 2,87; N 15,37; S 28,15.

Ultraviolettpektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{\text{max}} = 273\text{ m}\mu$ ;  $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 504$ .

Dünnschichtchromatographie:

$R_f = 0,56$  ( $\text{CHCl}_3$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ : $\text{HCOOH} = 160:40:20$ ).

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C≡N) konjugiert  $2220\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam  $1775\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1715\text{ cm}^{-1}$ .

$\nu$  (C-N) +  $\delta$  (N-H) sekundäres Amid  $1540\text{ cm}^{-1}$ .

#### Beispiel 5

Eine Lösung von 1,44 g  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure und 1,4 ml Triäthylamin in 80 ml wasserfreiem Aceton wurde mit einigen Tropfen N-Methylmorpholin versetzt. Nach Abkühlen auf  $0^\circ\text{ C}$  wurde unter Rühren eine Lösung von 1,22 ml Pivaloylchlorid in 20 ml wasserfreiem Aceton zugesetzt. Das Gemisch wurde 30 Minuten lang bei  $0^\circ\text{ C}$  gerührt und dann mit einer Lösung von 3,26 g 7-Amino-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure und 1,4 ml Triäthylamin in 160 ml 50%igem Aceton versetzt. Nach der Zugabe wurde die Lösung eine Stunde lang bei  $0^\circ\text{ C}$  und dann 2 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt.

Das Aceton wurde im Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und mit Äthylacetat gewaschen. Nach Trennung der Phasen wurden die wässrige Phase mit Äthylacetat der Schichtbildung unterworfen und der pH-Wert mit 20%iger Schwefelsäure auf 2 gebracht. Der Rückstand wurde abfiltriert und die organische Phase über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingedampft. Der Rückstand wurde mit Äthyläther aufgenommen. Durch Filtration wurden 2,5 g (Ausbeute 55%) 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 125 bis  $130^\circ\text{ C}$  (Zersetzung) erhalten.

Analyse für  $C_{16}H_{16}N_6O_4S_3$ :

Gefunden: C 42,77; H 3,96; N 18,27; S 20,87.

Berechnet: C 42,50; H 3,56; N 18,60; S 21,20.

Ultraviolettpektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{\text{max}} = 267\text{ m}\mu$ ;  $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 458$ .

Dünnschichtchromatographie:

$R_f = 0,32$  ( $\text{CHCl}_3$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ : $\text{HCOOH} = 160:40:20$ ).

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C≡N) konjugiert  $2215\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam  $1775\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1675\text{ cm}^{-1}$ .

Analog wurden die folgenden Verbindungen erhalten:

7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-

1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 127 bis  $131^\circ\text{ C}$  (Zersetzung).

Analyse für  $C_{16}H_{16}N_6O_4S_3$ :

Gefunden: C 42,82; H 3,67; N 18,33; S 20,73.

5 Berechnet: C 42,50; H 3,56; N 18,60; S 21,20.

Ultraviolettpektrum (Phosphatpuffer vom pH = 7,4):

$\lambda_{\text{max}} = 267\text{ m}\mu$ ;  $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 444$ .

Dünnschichtchromatographie:

$R_f = 0,28$  ( $\text{CHCl}_3$ : $\text{CH}_3\text{OH}$ : $\text{HCOOH} = 160:40:20$ ).

10 Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C≡N) konjugiert  $2215\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O)  $\beta$ -Lactam  $1775\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1675\text{ cm}^{-1}$ .

15 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(5-methyl-1,3,4-triazol-2-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure.

Analyse für  $C_{16}H_{16}N_6O_4S_3$ :

Gefunden: C 42,63; H 3,73; N 18,40; S 20,91.

Berechnet: C 42,50; H 3,56; N 18,60; S 21,20.

#### Beispiel 6

Eine auf  $0^\circ\text{ C}$  gekühlte Lösung von 3,28 g 7-Amino-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure und 2 g Natriumbicarbonat in 60 ml 50%igem wässrigem Aceton wurde unter Rühren mit einer Lösung von 2,18 g  $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-essigsäurechlorid (durch Umsetzung mit Oxalylchlorid in Dimethylformamid bei  $0^\circ\text{ C}$  aus der Säure erhalten) in 30 ml Aceton versetzt.

Das Gemisch wurde 20 Minuten lang bei einer Temperatur zwischen  $0$  und  $5^\circ\text{ C}$  gerührt. Das Aceton wurde verdampft. Die resultierende wässrige Lösung wurde mit Äthylacetat versetzt und dann mit 8%iger Salzsäure bis pH = 2 angesäuert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Äthyläther behandelt und filtriert, wobei man 2,3 g 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(trans)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 118 bis  $120^\circ\text{ C}$  (Zersetzung) erhielt. Die Mikroanalyse sowie die Ultraviolett-, Dünnschichtchromatographie-, Infrarot- und magnetischen Kernresonanzdaten dieser Verbindung waren identisch mit den in Beispiel 1 angegebenen. Durch analoges Vorgehen wurden auch die anderen in den vorhergehenden Beispielen erwähnten Verbindungen hergestellt.

#### Beispiel 7

Eine Lösung von 1,44 g  $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-essigsäure in 50 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran wurde mit 2,1 g Dicyclohexylcarbodiimid versetzt, worauf das Gemisch 30 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt wurde. Dieses Gemisch wurde mit einer Lösung von 3,28 g 7-Amino-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure und 0,84 g Natriumbicarbonat in 60 ml eines Gemisches aus Tetrahydrofuran und Wasser (1:1) versetzt. Nach 3-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Tetrahydrofuran im Vakuum 55 verdampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und der Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Das Filtrat wurde der Schichtbildung mit Äthylacetat unterworfen und mit 20%iger Schwefelsäure bis pH = 2,5 angesäuert. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen, auf ein kleines Volumen eingedampft und dann mit Äthyläther versetzt, wobei sich eine Festsubstanz bildete, die abfiltriert und dann mit Äthyläther gerührt wurde; auf diese Weise wurde 7-[ $\beta$ -Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure vom Schmelzpunkt 113 bis  $115^\circ\text{ C}$  (Zersetzung) erhalten. Die Mikroanalyse sowie die Ultraviolett-, Dünnschichtchromatographie-, Infrarot- und magnetischen Kernresonanzdaten waren identisch mit den bereits in Beispiel 3 angegebenen.

Durch analoges Vorgehen wurden auch die anderen in den vorhergehenden Beispielen erwähnten Verbindungen erhalten.

#### Beispiel 8

Eine wässrige Suspension von 4,53 g 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure in 80 ml Wasser wurde mit der stöchiometrischen Menge Natriumbicarbonat versetzt, so dass sich die Verbindung vollständig auflöste. Diese Lösung wurde dann gefriergetrocknet, wobei man das Natriumsalz von 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure erhielt.

Analyse für  $C_{15}H_{14}N_7O_4S_3Na$ :

Gefunden: C 37,71; H 2,43; N 20,55; S 20,15; Na 4,75.

Berechnet: C 37,88; H 2,39; N 20,62; S 20,23; Na 4,83.

Infrarotspektrum (KBr):

$\nu$  (C≡N) konjugiert  $2210\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) β-Lactam  $1775\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1670\text{ cm}^{-1}$ .

$\nu$  (C-N) +  $\delta$  (N-H) sek. Amid  $1540\text{ cm}^{-1}$ .

#### Beispiel 9

Eine Lösung von 1,13 g 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure in 30 ml Aethylacetat wurde mit der stöchiometrischen Menge einer 30%igen Lösung von Natrium-2-äthyl-hexanoat in Isopropylalkohol versetzt. Nach halbstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Gemisch mit Petroläther verdünnt und der erhaltene Niederschlag abfiltriert, wobei das Natriumsalz der 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure erhalten wurde.

Analyse für  $C_{15}H_{14}N_7O_4S_3Na$ :

Gefunden: C 37,71; H 2,43; N 20,55; S 20,15; Na 4,75.

Berechnet: C 37,88; H 2,39; N 20,62; S 20,23; Na 4,83.

Infrarotspektrum (KBr):

<sup>5</sup>  $\nu$  (C≡C) konjugiert  $2210\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) β-Lactam  $1775\text{ cm}^{-1}$ ;

$\nu$  (C=O) sekundäres Amid  $1670\text{ cm}^{-1}$ .

$\nu$  (C-N) +  $\delta$  (N-H) sek. Amid  $1540\text{ cm}^{-1}$ .

#### Beispiel 10

Eine Suspension von 2,38 g des Natriumsalzes der 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure in 40 ml Aceton wurde mit 0,4 ml einer 10%igen wässrigen Natriumjodidlösung und 0,72 ml Chlormethylpivalat versetzt.

Die Suspension wurde 3 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf  $5^\circ\text{C}$  wurde die Festsubstanz abfiltriert und die resultierende Lösung im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in 50 ml Aethylacetat gelöst. Die resultierende Lösung wurde mit einer 5%igen wässrigen Natriumbicarbonatlösung und dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und zur Trockene eingedampft, wobei der Pivaloyloxymethylester der 7-[β-Cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carbonsäure erhalten wurde.

#### Anwendungsbeispiel

Ein injizierbares pharmazeutisches Präparat wurde hergestellt, indem man 100 bis 500 mg Natrium-7-[β-cyano-äthylen-(cis)-thio-acetamido]-3-[(1-methyl-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylat in 1 bis 2 ml sterilem Wasser oder steriler normaler Kochsalzlösung löste.