

## 신규 세파로스포린 항생제 DWC-751 합성과 물성연구

김명구 · 안상근 · 최영기 · 문치장 · 오세한 · 성무제 · 윤길중\*  
신종만 · 김학형 · 정종근 · 김영도 · 박준우 · 이재호  
(주) 대웅제약 중앙연구소

### Synthesis and Physicochemical Studies on a Novel Cephalosporin, DWC-751

Myoung-Goo KIM, Sang-Geun AN, Yong-Key CHOI, Chi-Jang MOON, Sea-Han OH, Moo-Je SUNG, Geal-Jung YUN\*, Jong-Man SHIN, Hak-Hyoung KIM, Jong-Keun CHUNG, Yeong-Do KIM, Jun-Woo PARK, and Jae-Ho LEE

R&D Center, Dae Woong Pharmaceutical Co., Ltd.  
223-23, Sangdaewon-Dong, Sungnam, Kyunggi-Do, 462-120, Korea

(Received March 8, 1993; accepted March 15, 1993)

**Abstract**—The synthesis and physicochemical properties of a novel cephalosporin, DWC-751 are described. DWC-751, (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(1-methylbenzotriazol-3-ium)methyl]-ceph-3-em-4-carboxylate monosulfate(IV<sub>a</sub>) was conveniently obtained by the conversion of compound(IV) into the crystalline monosulfate. Adjusting pH 4.8-5.2 in aqueous solution of the crude crystalline, compound(IV) in the form of a crystalline pentahydrate was prepared with a high degree of purity. The influence of the various organic and inorganic acids on the solubility of compound(IV) and its salts, was examined. Particularly, the solubility of DWC-751 was 92 mg/ml at pH 1.7 and 233 mg/ml at pH 3.0. DWC-751 showed a broad antimicrobial spectrum against gram-positive and negative bacteria.

**Keywords** □ DWC-751, hydrate, salt, solubility, cephalosporins, antibiotics.

세파로스포린계 항생제는 세포벽 합성 효소인 PBP (penicillin binding protein)에 결합하여 세균의 세포벽 합성을 저해하여 세균을 무력화시키는 것으로 알려져 있다. 그러나, 세균은 기존 약물에 대하여  $\beta$ -lactamase 분비 및 막 투과도 변화 등의 내성을 유발시켜 항생제의 활성을 감소시킨다.

일반적으로, 제 1세대 항생제인 cefazolin, cephalexin 등은 methicillin에 내성을 발현하는 *S. aureus* 및 페니실린에 내성을 발현하는 *Pneumococcus*에는 활성이 떨어지는 단점이 있으며, 제 2세대로 분류되는 cefuroxime, cefamandole 등은 1세대에 비해 그람 양성균에는 향상된 활성을 보여주나, *Pseudomonas*에는 전혀 활성을 나타내지 않는다. 또한, 3세대 항생제로 알려진 cefotaxime은 1, 2세대와 비교하여 그람 음성균에는 양호한 활성을 나타낸 반면 그람 양성균에는 비교적 낮은 활성을 나타내며

ceftazidime은 *Pseudomonas*에 대하여 비교적 양호한 활성을 가지지만 그람 양성균에는 1, 2세대에 비해 활성이 떨어진다. 이와같이, 3세대는 그람 음성균에 대한 항균력이 광범위하지만 MRSA와 녹농균에 대한 활성은 떨어진다. 그러나, 현재 개발중인 cefpirome, cefepime 등과 같은 약물은 그람 음성균은 물론 녹농균에 높은 활성을 나타내며, 구조적으로는 제 4급 암모늄염의 형태를 지니고 있다.

따라서, 본 연구는 이미 개발된 약물을 보다 개선시켜 제 4세대 세파로스포린 항생제를 개발하기 위하여 축적된 연구 경험을 바탕으로 C-7 위치는 cefotaxime 및 cefpirome과 같은 2-aminothiazol기를 도입하고, C-3 위치의 치환기를 변화시켜 치환기와 항균활성 관계를 체계적으로 연구한 결과 C-3 위치에 benzotriazole을 도입시킨 DWC-751을 합성하였다.

DWC-751의 화학명은 (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(1-methylbenzo-

\*To whom correspondence should be addressed.

triazol-3-ium)methyl]-ceph-3-em-4-carboxylate mono-sulfate로 *E. coli*, *Klesiella*, *Proteus* 등의 균주에 대하여 ceftazidime, cefotaxime보다 강한 항균 활성을 나타내었다. 또한,  $\beta$ -lactamase 생성균주인 *S. aureus*에 대하여도 우수한 항균력을 가지는 세파로스포린계 항생물질이다(Moon 등, 1991).

구조적 특징은  $\beta$ -lactam 모핵의 C-7 위치에 2-(2-aminothiazol-4-yl), C-3 위치에는 (1-methylbenzotriazol-3-ium)methyl기를 포함하는 제 4급 암모늄염 형태의 세파로스포린이다(Fig. 1).

본 연구는 DWC-751의 구조 확인 과정을 거쳐 물리 화학적 성질을 파악하며, 표준품의 제조는 물론 실험실적

합성공정과 대량 합성기술을 확보하고자 하였다. 아울러, 각종 염을 합성하고 각 염의 용해도를 비교하여 주사제로서의 개발 가능성을 구체화 시키고자 시험 하였다. 한편, DWC-751의 각 단계별 합성 경로는 Scheme 1에 나타내었다.

실험방법

2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-(Z)-2-methoxyiminoacetic acid·HCl은 Lonza(Italy) 제품을 사용하였고, 7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate·HCl은 Otsuka chemicals(Japan) 제품을 사용하였으며, 기타 반응중에 사용된 시약은 특급시약을 사용하였다.

NMR은 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 하여 Bruker FT-80 MHz를 사용하여 얻었고, IR은 FTS-7(Bio-Rad), 원소 분석은 Carlo Erba 1108, Mass는 JMS-DX 303(Jeol)을 사용하여 얻었다. 또한, 열 분석기는 DSC 220(Seiko), 수분 측정은 682 titroprocessor(Metrohm), 흡광도는 Ultraspec(LKB), HPLC는 Waters사 제품을

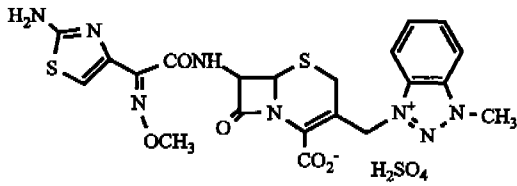
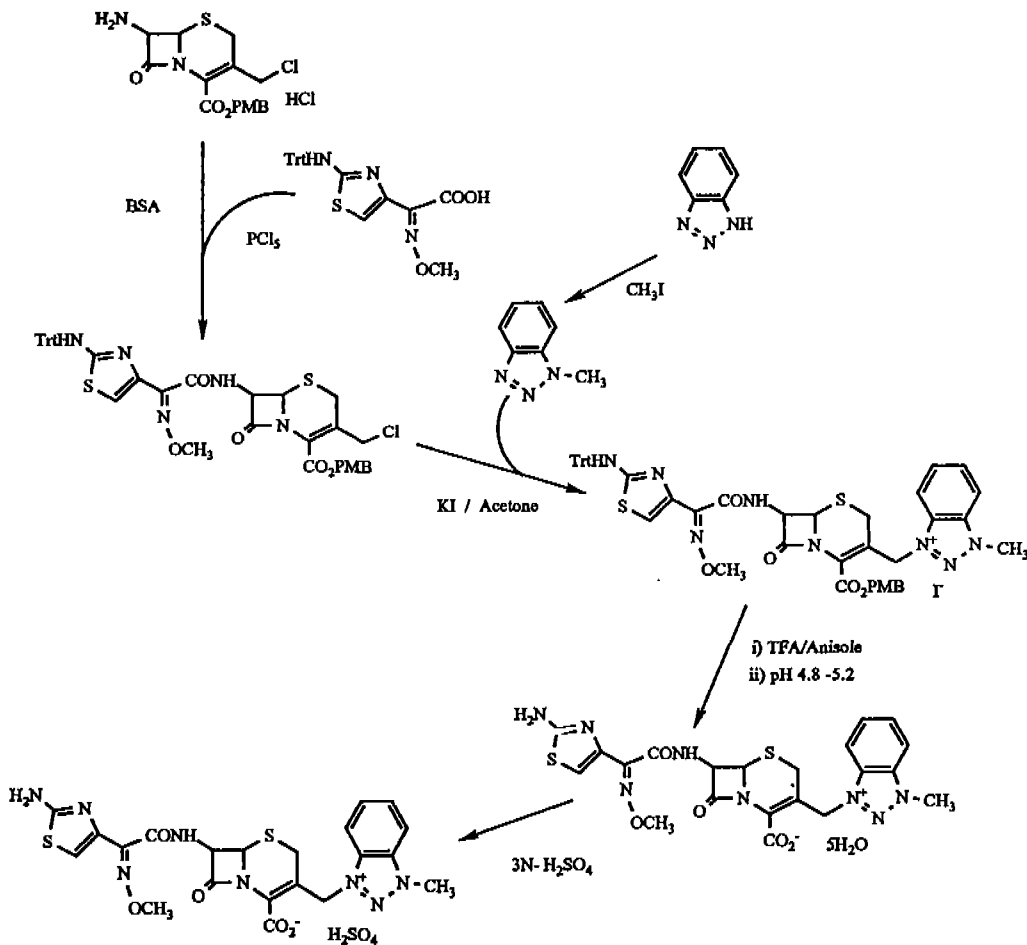


Fig. 1. Chemical structure of DWC-751.



Scheme 1. Synthesis of DWC-751.

사용 하였다. TLC 분석에는 silicagel plate(0.2 mm, 60F 254, Merck)를 사용하였다.

**물에 대한 용해도 시험(Danna와 Christopher, 1990)**

예상 용해도의 약 2배 양을 바이알에 넣고 물 300  $\mu$ l를 가한 다음 차광하여 20~25 $^{\circ}$ C에서 1시간 교반하고 시료를 물로 희석하여 HPLC로 용해도를 측정하였다. DWC-751의 HPLC 조건은 다음과 같다.

- column:  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (300 mm $\times$ 3.9 mm)
- mobile phase: 0.05 M NaOAc : MeOH=85 : 15 (pH 5.0 by acetic acid)
- flow rate: 1.0 ml/min
- detection: UV 254 nm

**DWC-751 중간물질의 합성 방법**

**1-Methylbenzotriazole(I)의 합성** : 물 2.5 L에 KOH 781g(13.92 mole)과 benzotriazole 1106g(9.27 mole)을 가하여 녹인 다음 methyl iodide 694 ml(11.15 mole)을 적가하고 70~75 $^{\circ}$ C에서 30분 교반한다. 반응 종료 후 45~50 $^{\circ}$ C로 냉각하고 ethyl acetate 6 L로 3회 나누어 추출하고 유기층을 감압 농축한 다음 n-hexane 과 petroleum ether의 2 : 1 혼합용매로 결정화하여 미황색 고체 775.84 g(62.74%)을 얻었다.

- MP : 64~67 $^{\circ}$ C
- TLC (ethyl acetate : n-hexane=1 : 1) Rf=0.35
- NMR (DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ ) 4.32(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.30~8.07(m, 4H, phenyl)

**p-Methoxybenzyl (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-chloromethyl-ceph-3-em-4-carboxylate(II)의 합성** : 7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate·HCl(ACLE) 40.53g(0.1 mole)에 acetonitrile 800 ml와 N.O-bis(trimethylsilyl)acetamide 61.8 ml(0.25 mole)을 가하여 1.5시간 교반시켜 용액으로 한다. 한편, 2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-(Z)-2-methoxyiminoacetic acid·HCl(TATA) 50.4g(0.11 mole)에 dichloromethane 400 ml를 가하고 -15 $^{\circ}$ C에서 triethylamine 16.73 ml(0.12 mole)을 가한다음, 여기에 PCl<sub>5</sub> 26.24g(0.13 mole)을 가하고 2시간 교반시켜 얻은 용액을 위에서 얻어진 용액에 -15 $^{\circ}$ C에서 가하고 2시간 교반한다. 반응종료 후 ethyl acetate 1.2 L와 물 1.6 L를 가하고 유기층을 취한 다음 감압 농축하고 isopropyl alcohol 1.5 L와 1% NaHCO<sub>3</sub> 1 L의 혼합 용매로 결정화하여 미황색 고체 58.65g(73.8%)을 얻었다.

- TLC(benzene : formic acid : tetrahydrofuran=5 : 1 : 1) Rf=0.7
- NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ ) 3.65(q, 2H, C-2), 3.78(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.85(s, 3H, OCH<sub>3</sub>) 4.54(bs, 2H, C-3), 5.20(d, 3H, C-6, CH<sub>2</sub>), 5.80(dd, 1H, C-7), 6.75(s, 1H, thiazole-H) 7.10~7.70(m, 19H, phenyl)

**p-Methoxybenzyl (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(1-methyl-**

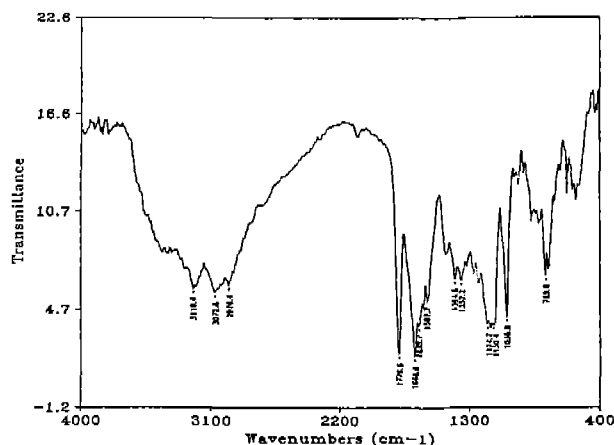


Fig. 2. IR spectrum of DWC-751 (KBr).

**benzotriazol-3-ium)methyl]-ceph-3-em-4-carboxylate iodide(III)의 합성** : acetone 300 ml에 화합물(II) 300g(0.38 mole)을 가하여 녹이고 potassium iodide 63.96g(0.39 mole)과 화합물(I) 125.71g(0.94 mole)을 가하고 35~40 $^{\circ}$ C에서 4시간 교반한다. 여기에 acetone 1.8 L로 희석시키고 생성된 고체는 여과 제거하고 용액의 양이 0.7 L가 될때까지 농축한 다음 toluene 4 L와 methyl isobutyl ketone 0.6 L의 혼합 용매로 결정화하여 미황색 고체 317.44 g(82.5%)을 얻었다.

- TLC(10% methanol/dichloromethane) Rf=0.5
- NMR (DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ ) 3.28~3.95(m, 5H, C-2, OCH<sub>3</sub>), 3.76(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.59(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.10(bs, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.35(d, 1H, C-6) 5.66(d, 1H, C-7), 5.90(dd, 2H, C-3), 6.70(s, 1H, thiazole-H), 7.0~7.5(m, 19H, phenyl), 8.0~8.30(m, 4H, benzotriazole)

**(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(1-methylbenzotriazol-3-ium)methyl]-ceph-3-em-4-carboxylate·5H<sub>2</sub>O(IV)의 합성** : 화합물(III) 300g에 anisole 300 ml와 trifluoroacetic acid 450 ml를 가하고 실온에서 3시간 교반한 다음 methyl ethyl ketone 1.5 L를 가하고 -10~-15 $^{\circ}$ C에서 25~28% 암모니아수 440 ml를 적가한다. 여기에 ethyl acetate 4.5 L와 ethyl ether 9 L를 가하고 결정화 하여 미황색 고체 150g을 얻었다. 이 고체를 물 300 ml에 녹이고 3N 염산으로 pH 3.0~3.2로 한 다음 활성탄 11g을 가하고 1시간 교반한다. 여과 제거한 여액을 acetone으로 결정화시키고 얻은 고체를 다시 물 113 ml에 녹이고 pH 4.8~5.2로 조절하면 결정이 생성된다. 생성된 결정을 여과하여 미백색 고체 37.5g(20.6%)을 얻었다.

- MP : 110~120 $^{\circ}$ C (분해)
- TLC(acetonitrile : H<sub>2</sub>O=4 : 1) Rf=0.14
- 수분 : 14~15%(Karl-Fischer)
- 원소분석 : 이론치 C(40.77%), H(4.87%), N(18.12%), O(25.87%), S(10.37%) 측정치 C(40.44%), H(4.52%), N

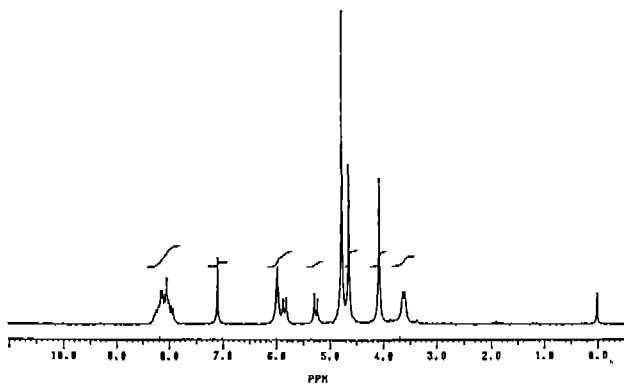


Fig. 3. NMR spectrum of DWC-751 (D<sub>2</sub>O).

(17.91%), O(24.93%), S(9.62%)

Mass(FAB) : M + 1 = 529

FT-IR : 1776.6 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactam carbonyl)

NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ ) 3.33(m, 2H, C-2), 3.84(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.65(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.18(d, 1H, C-6), 5.90~6.07(m, 3H, C-3, C-7), 6.75(s, 1H, thiazole-H), 7.90~8.48(m, 4H, benzotriazole)

#### 화합물 (IV)의 염 합성 방법

**화합물(IV)의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 염(IV<sub>a</sub>, DWC-751) 합성 :** 화합물(IV) 142g(0.23 mole)을 물 750 ml에 가하고 5~10°C로 냉각하고 3N 황산 183.82 ml를 서서히 가하여 녹인 다음, 불용물은 여과 제거하고 2시간 교반한다. 여기에 tetrahydrofuran 1.7 L로 결정화하여 백색 고체 143.8g(83.4%)을 얻었다.

MP : 200~202°C (분해)

수분 : 1.46~2.7% (Karl-Fischer)

원소분석 : 이론치 C(40.29%), H(3.54%), N(17.09%)  
측정치 C(40.00%), H(3.36%), N(18.10%)

Mass(FAB) : M + 1 = 628

FT-IR : 1776.6 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactam carbonyl)

NMR (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ ) 3.60(q, 2H, C-2), 4.07(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.63(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.25(d, 1H, C-6), 5.80~5.97(m, 3H, C-3, C-7), 7.09(s, 1H, thiazole-H), 8.0~8.15(m, 4H, benzotriazole)

DSC : exotherm 215°C (10°C/min 승온)

흡광도 : E<sub>1cm(272nm)}<sup>1%</sup> = 312~344</sub>

비선광도 :  $[\alpha]_D^{20} = +55^\circ$  (1% 수용액)

**화합물(IV)의 2HCl 염(IV<sub>b</sub>) 합성 :** 화합물(IV) 2.12g (3.47 mole)을 물 1.5 ml와 tetrahydrofuran 5.4 ml에 가하고 1N 염산 7.63 ml를 서서히 가한 다음 화합물(IV<sub>a</sub>)와 동일한 방법으로 하여 백색 고체 1.7g(84.6%)을 얻었다.

MP : 220°C (분해)

Titration(0.01 N NaOH) : 102.0%

**화합물(IV)의 HCl 염(IV<sub>c</sub>) 합성 :** 화합물(IV) 1g (1.6 mmole)을 물 0.7 ml와 tetrahydrofuran 2.5 ml에 가하고

1N 염산 1.8 ml를 서서히 가한 다음 화합물(IV<sub>a</sub>)와 동일한 방법으로 하여 백색 고체 0.8g(81.2%)을 얻었다.

MP : 154°C (분해)

Titration(0.01 N NaOH) : 103.6%

**화합물(IV)의 maleic acid염(IV<sub>d</sub>) 합성 :** 화합물(IV) 0.2 g (0.32 mmole)을 물 1.5 ml와 tetrahydrofuran 1.5 ml에 가하고 maleic acid 45 mg(0.39 mmole)을 가한 다음 1시간 교반하고 화합물(IV<sub>a</sub>)와 동일한 방법으로 하여 미백색 고체 0.13g(62.5%)을 얻었다.

Titration(0.01 N NaOH) : 100.7%

## 실험결과 및 고찰

DWC-751의 중요한 출발 물질인 화합물(I)의 합성 과정에는 목적물인 1-isomer 외에 2-isomer가 부반응으로 생성되는데, 이 비율은 alkali 조건이나 base 농도에는 커다란 영향이 없고 메틸화 시약에 좌우된다(Böhm, 1978; Palmer 등, 1975). 따라서, 본 합성 과정에서 methyl iodide로 반응시키고 생성된 2-isomer(oil)는 결정화 용매로 제거하여 1-isomer만을 얻었다.

한편, 최종 물질 합성은 여러가지 경로를 통하여 합성할 수 있으며 예를들면, iodotrimethylsilane을 사용하는 방법(Walker 등, 1988; Lattrell 등, 1988)은 반응중 생기는 불순물은 컬럼을 통해야만 제거가 가능하였고, cefotaxime에서 iodine complex(NaI, KI 등)를 사용하는 방법(Matsumura 등, 1987; Sakane 등, 1991)은 수율이 저조하여 대량 합성시 많은 문제점이 발견 되었다. 따라서, 본 연구에서는 Otsuka의 ACLE를 사용하여 Scheme 1과 같은 단계를 거쳐 합성하게 되었다(Takayuki 등, 1986; Seiji 등, 1990).

화합물(II) 합성에서 ACLE를 silylation 시약으로 N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide 3당량이 적당하였으며, chlorotrimethylsilane 등 다른 시약은 일부 부반응이 생겨 수율과 순도에 영향을 주었다. 또한, 화합물(III)의 합성에서는 화합물(I)의 친핵성이 떨어져 반응완결이 어려워 정제에 초점을 맞추었다. 화합물(I)의 당량은 2.5당량을 사용하였으며, 반응용매로 acetone을 화합물(II)에 대해 1:1 비율로 사용하여 반응성을 증대시켰다. 정제 과정에서는 반응중 생성되는 KCl을 반응종료 후 acetone으로 희석시켜 여과 제거한 다음 toluene : methyl isobutyl ketone 9:1로 결정화 하였을때 미반응 물질을 제거할 수 있었다.

화합물(III)의 탈보호 공정에서 trifluoroacetic acid와 anisole을 사용하는 경우 일반적으로 trifluoroacetate 염으로 얻어지는데, 이 경우 염의 용해도가 떨어져 정제 과정이 어렵고 특히, 컬럼을 사용하여 분리해야 한다는 단점이 있어 탈보호 하고 암모니아수로 처리하여 inner salt 형태로 얻은 조절정으로부터 pH 4.8~5.2의 등전점에서 결정화시켜 순수한 화합물(IV)를 얻을 수 있었으며

Table I. Water solubility

compound	pH	solubility(mg/ml)
(IV)	4.9	14
(IV <sub>a</sub> )	1.7	92
(IV <sub>a</sub> )	3.0	233
(IV <sub>b</sub> )	1.6	57
(IV <sub>c</sub> )	2.0	93
(IV <sub>d</sub> )	3.0	29

공정도 간소화시킬 수 있었다.

화합물(IV)는 순도와 안정성을 확보하였으나, 물에 대한 용해도가 14 mg/ml로 주사제로서 사용할 수가 없어 용해도를 증가시킬 목적으로 염 합성을 집중적으로 연구하게 되었다. 실제 무기산 3종, 유기산 9종, 아미노산 5종을 사용하여 염을 합성하였으나, pKa 값이 3.5이하의 경우에만 염 형성이 가능하여 1H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1HCl, 2HCl, 1 maleate 4종을 합성하였다(Kaplan 등, 1991 ; Kartner 와 Kartner, 1988 ; Lattrell 등, 1989).

표준품은 화합물(IV)를 재결정하여 고순도로 얻은 다음 다시 3 N 황산으로 처리하여 DWC-751을 합성하였으며, HPLC에서 불순물 정도를 비교 관찰하여 표준품의 순도를 개선하였다.

DWC-751을 주사제로 개발하기 위하여 용해도와 안정성 등의 기초물성연구가 진행되었다(Kazuhide 등, 1989 ; Pikal 등, 1977 ; Hou와 Poole, 1971 ; Tatsuo 등, 1990 ; Kazuhide 등, 1990). DWC-751 등 4종 염을 합성하여 각 염의 물에 대한 용해도를 조사하여 Table I에 나타내었다.

Table I에서 나타난 바와 같이 1HCl 염(IV<sub>c</sub>)은 pH 2.0에서 93 mg/ml이었고 1H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 염(IV<sub>a</sub>)은 pH 1.7, 3.0에서 각각 92, 233 mg/ml의 용해도를 나타내었으며 결과적으로 DWC-751이 주사제로서 비교적 적합한 형태임을 확인할 수 있었다.

DWC-751은 cefotaxime, ceftazidime 보다 우수한 항균력을 나타내는 제 4급 암모늄염 형태의 세파로스포린 항생제로서 본연구에서는 실험실적 공정확립은 물론 대량 합성기술을 확보하였으며, 향후 주사제 처방에 대한 연구가 보완된다면 신약으로서의 개발 가능성은 높을 것으로 기대된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 보건사회부 신약 개발 지원 사업으로 진행되었습니다. 연구 과제 수행중 물심 양면으로 지원을 아끼지 않으신 보건사회부 관계자 및 과제에 관련된 분들께 감사드립니다.

### 참고문헌

- Böhm, R. (1978). Phasen transferkatalysierte alkylierung von 1,2,3-benzotriazole. *Pharmazie* **33**, 83-84.
- Danna, L.R. and Christopher, M.R. (1990). Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials. *Inter. J. Pharmaceutics* **63**, 237-250.
- Hou, J.P. and Poole, J.W. (1971).  $\beta$ -lactam antibiotics: their physicochemical properties and biological activities in relation to structure. *J. Pharmaceutic. Sci.* **60**, 503-532.
- Kaplan, M.A. Hudyma, T.W., Lipper, R.A., Shih, K.M. and Boettger, S.D. (1991). Cephalosporin salt and injectable compositions. *US Pat.* 4,994,451.
- Kartner, A.S. and Kartner, R.M.E. (1988). Crystalline cephalosporin antibiotic salt and solvates. *US Pat.* 4,734,408.
- Kazuhide, A., Kiyohiko, U., Teiichi, H. and Yasuo, I. (1989). Pseudopolymorphism and phase stability in four solid forms of E-1040. *J. Pharmaceutic. Sci.* **78**, 893-899.
- Kazuhide, A., Kiyohiko, U., Teiichi, H., Yasuo, I., Yasuo, M. and Tadasi, S. (1990). Solid-state stability and preformulation study of a new parenteral cephalosporin antibiotics(E-1040). *Yakugaku Zasshi* **110**, 191-201.
- Lattrell, R., Blumbach, J., Duerckheimer, W., Fehlhaber, H.W., Fleischmann, K., Kirrstetter, R., Mencke, B., Scheunemann, K.H., Scrinner, E., Schwab, W., Seeger, K. and Seibert, G. (1988). Synthesis and structure-activity relationships in the cepirome series. *J. Antibiotics*, **41**, 1374-1394.
- Lattrell, R., Durckheimer, W. and Kirrstetter, R. (1989). Crystallized cephem acid addition salt, and a process for the preparation thereof. *US Pat.* 4,845,087.
- Matsumura, K. Akagi, H., Suzuki, D. and Shimabayash, A. (1987). Cephalosporin derivatives. *Eur. Pat.* 214,600.
- Michael, H.P. et al., (1975). Reactivity of indazoles and benzotriazole towards N-methylation and analysis of the <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectra of indazoles and benzotriazoles. *J. Chem. Soc. Perkin. II*, 1695-1700.
- Moon, C.J., Rho, I.K., Park, S.C., Kim, M.G., Choi, Y.K., Oh, S.H., Yim, S.S., Sung, M.J. and An, S.G. (1991). Novel cephalosporins and process for preparation thereof. *WO* 92-21681.
- Palmer, M.H., Findlay, R.H., Kennedy, S.M.F. and McIntyre, P.S. (1975). Reactivity of indazoles and benzotriazole towards N-methylation and analysis of the <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectra of indazoles and benzotriazole. *J. Chem. Soc., Perkin II*, 1695-1700.
- Pikal, M.J. Lukes, A.L. and Lang, J.E. (1977). Thermal decomposition of amorphous  $\beta$ -lactam antibacterials. *J. Pharmaceutic. Sci.* **66**, 1312-1316.
- Sakane K., Kawabata, K. and Inamoto, Y. (1991). New cephem compounds and processes for preparation thereof. *Eur. Pat.* 427,248.
- Seiji S., Tsuneo, O., Takashi, M., Yasushi, M., Toshiaki, K., Shigeharu, I. and Shinichi, K. (1990). A new aminothiazolyl cephalosporin having 1-carboxy ethoxyimino group, ME-1228. *J. Antibiotics*. **43**, 62-69.
- Takayuki N., Shimpei, A., Hajime, K., Yukio, N., Jun, O. and

- Hiroshi, K. (1986). Synthesis and structure-activity relationships of a new series of cephalosporins, BMY-28142 and related compounds. *J. Antibiotics* **39**, 1092-1106.
- Tatsuo S., Toshikazu, A., Yuji, C., Emi, S., Akimitsu, S., Takeo, K., Mikio, S. and Kenji, S. (1990). Stability and degradation pattern of cefpirome(HR-810) in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1998-2002.
- Walker, D.G., Brodfuehrer, P.R., Brundidge, S.P., Shih, K.M. and Jr, C.S. (1988). Use of bistrimethyl silylated intermediates in the preparation of semisynthetic 7-amino-3-substituted cephems. Expedient syntheses of a new 7-amino-3-[(1-methyl-1-pyrrolidino)methyl]cephalosporin. *J. Org. Chem.* **53**, 983-991.