FI0001040748

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 104074 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats 15.11.1999

(51) Kv.lk.6 - Int.kl.6

C 07D 477/20, A 61K 31/40

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 930474

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 03.02.1993

(24) Alkupäivä - Löpdag 03.02.1993

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 05.08.1993

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

04.02.1992 GB 9202298 P

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(73) Haltija - Innehavare

1. **Zeneca Limited**, Imperial Chemical House, Millbank, London SW1P 3JF, United Kingdom, (GB)
2. **Zeneca-Pharma S.A.**, "Le Galien", 1, rue Des Chauffours, 95022 Cergy Cedex, France, (FR)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. **Betts, Michael John**, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, United Kingdom, (GB)
2. **Davies, Gareth Morse**, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, United Kingdom, (GB)
3. **Swain, Michael Lingard**, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, United Kingdom, (GB)

(74) Asiamies - Ombud: **Kolster Oy Ab**, Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

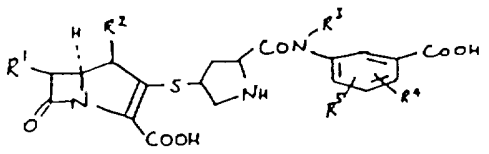
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]karbapeneemijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yltio]karbapenemderivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI C 81576 (C 07D 477/00), FI C 84826 (C 07D 477/00), FI C 88037 (C 07D 477/00), FI C 96863 (C 07D 477/20), EP A 126587 (C 07D 487/04), EP A 182213 (C 07D 487/04), EP A 243686 (C 07D 487/04), EP A 341557 (C 07D 487/04), WO A 92/17481 (C 07D 477/00)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

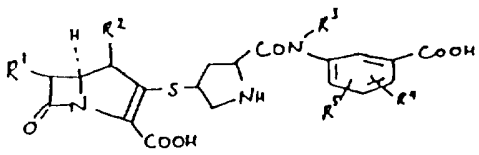
Keksintö koskee kaavan (I) mukaisten karbapeneemien



(I)

ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen ja in vivo hydrolysoituvien estereiden valmistamista, jossa:
R^1 on 1-hydroksietyyli, 1-fluorietyyli tai hydroksimetyyli; R^2 on vety tai C_{1-4}-alkyyli; R^3 on vety tai C_{1-4}-alkyyli; R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaiset ja valitaan ryhmästä vety, halogeeni, syaani, C_{1-4}-alkyyli, nitro, hydroksi, karboksi, C_{1-4}-alkoksi, C_{1-4}-alkoksikarbonyyli, aminosulfonyyli, C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, di-C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, karbamoyyli, C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, di-C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, trifluorimetyyli, sulfonihappo, amino, C_{1-4}-alkyyliamino, di-C_{1-4}-alkyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyli(N-C_{1-4}-alkyyli)amino, C_{1-4}-alkaanisulfoniamido ja C_{1-4}-alkyyli-$S(O)_n$-, jossa n on 0, 1 tai 2. Keksintö koskee myös siinä käytettäviä välituotteita.

Uppfinningen avser framställning av karbapenemer med formeln (I) förening med formeln (I):



(I)

och deras farmaceutiskt godtagbara salt eller deras in vivo hydrolyserbara ester, där:

R^1 är 1-hydroxietyl, 1-fluoretyl eller hydroximetyl; R^2 är väte eller en C_{1-4}-alkyl; R^3 är väte eller en C_{1-4}-alkyl; R^4 och R^5 är likadana eller olika och väljs från väte, halogen, cyan, C_{1-4}-alkyl, nitro, hydroxi, karboxi, C_{1-4}-alkoxi, C_{1-4}-alkoxikarbonyl, aminosulfonyl, C_{1-4}-alkylaminosulfonyl, di-C_{1-4}-alkylaminosulfonyl, karbamoyl, C_{1-4}-alkylkarbamoyl, di-C_{1-4}-alkylkarbamoyl, trifluormetyl, sulfonsyra, amino, C_{1-4}-alkylamino, di-C_{1-4}-alkylamino, C_{1-4}-alkanoylamino, C_{1-4}-alkanoyl (N-C_{1-4}-alkyl)amino, C_{1-4}-alkansulfonamido och C_{1-4}-alkyl-$S(O)_n$, där n är 0, 1 eller 2. Uppfinningen avser även däri använda mellanprodukter.

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]karbapeneemijohdannaisten valmistamiseksi

Tämän keksinnön kohteena on menetelmä sellaisten uusien karbapeneemijohdannaisten valmistamiseksi, joiden 2-asemassa on karboksifenyylikarbamoyylipyrrolidinyylitiosubstituentti.

Tämän keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat antibiootteja ja niitä voidaan käyttää sairauksien hoidossa, joita tavallisesti hoidetaan antibiooteilla, esimerkiksi bakteeri-infektion hoidossa nisäkkäissä, mukaanlukien ihminen.

Karbapeneemejä eristettiin ensimmäisen kerran fermentaatioelatusnesteestä vuonna 1974 ja niillä havaittiin olevan laaja antibakteerisen aktiivisuuden kirjo. Tästä havainnosta lähtien on tehty laajoja tutkimuksia koskien uusia karbapeneemijohdannaisia ja monia satoja patentteja ja tieteellisiä julkaisuja on julkaistu.

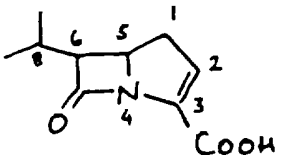
Ensimmäinen, ja tähän mennessä ainoa karbapeneemi kaupallisilla markkinoilla on imipeneemi (N-formimidoyylitienamysiini). Tällä yhdisteellä on laaja antibakteerinen aktiivisuuskirjo.

Tämän keksinnön mukaisesti valmistetuilla yhdisteillä on laaja antibakteerisen aktiivisuuden kirjo sekä gram-positiivisia että -negatiivisia, aerobisia ja anaerobisia bakteereja vastaan. Niillä on hyvä stabiilisuus beta-laktamaaseja kohtaan. Lisäksi tätä keksintöä edustavilla yhdisteillä on hyvin edullinen vaikutuksen kesto.

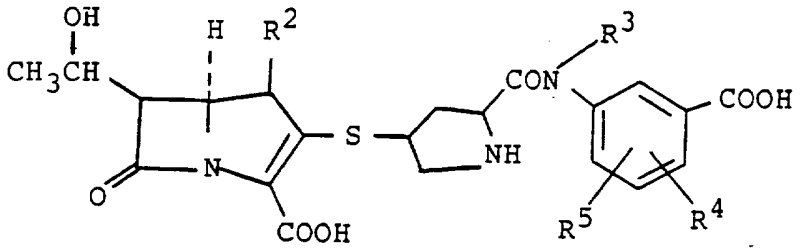
Muita karbapeneemijohdannaisia, joilla on kuvattu olevan antibakteerista aktiivisuutta, on esitetty suomalaisissa patenttijulkaisuissa 81 576, 84 826, 88 037 ja 96 863, EP-julkaisuissa 126 587, 182 213, 243 686 ja 341 557 sekä WO-julkaisussa 92/17481. Kaikki näistä julkaisuista tunnetut yhdisteet ovat kuitenkin rakenteeltaan täysin

erilaisia kuin esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet. Niinpä EP-julkaisuissa 126 587, 182 213, 243 686 ja 341 557 kaikissa kuvataan karbapeneemijohdannaisia, joissa on 2-asemassa 2-substituoitu pyrrolidinyylitioryhmä, mutta pyrrolidiiniryhmässä ei voi olla substituoimatonta tai substituoitua fenyylikarbamoyylisubstituenttia. Samalla tavalla suomalaisessa patenttijulkaisussa 81 576 esitetään karbapeneemijohdannaisia, joissa on 2-asemassa 1,2-disubstituoitu pyrrolinin-4-yylitioryhmä, joka eroaa esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetuista yhdisteistä pyrrolidiinirenkaan typpiatomissa aina olevan substituentin suhteen ja pyrrolidiinirenkaan 2-aseman erilaisten mahdollisten substituenttien suhteen. Tässä suomalaisessa patenttijulkaisussa kuvatuilla antibakteerisilla yhdisteillä väitetään olevan vähentynyt munuaistoksisuus. Suomalaisissa patenttijulkaisussa 84 826 kuvataan karbapeneemijohdannaisia, joissa on mahdollinen 2-pyrrolidinyyliryhmä, mutta pyrrolidiinirenkaan substituenteissa ei ole mukana esillä olevien kaavan I mukaisten yhdisteiden fenyylikarbamoyyliryhmää. Suomalaisessa patenttijulkaisussa 88 037 kuvataan (4R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-3-[4-(dimetyyliaminokarbonyyli)pyrrolidinyylitio)-4-metyyli-6-(1-hydroksietyyli)-1-atsabisyklo(3.2.0)hept-2-en-7-oni-2-karboksyylihapon kiteinen muoto, joka kuvattiin ensi kerran EP-julkaisussa 126 587. Suomalaisessa patenttijulkaisussa 96 863 kuvataan karbapeneemijohdannaisia, joissa on 2-asemassa substituentti, jossa on aina kvaternaarinen typpiatomi. WO-julkaisussa 92/17481, joka on tullut julkiseksi vasta lokakuussa 1992 esillä olevan hakemuksen etuoikeuspäivän jälkeen, esitetään karbapeneemijohdannaisia, joiden 2-asema on mahdollisesti substituoitu 2-karboksifenyylikarbamoyyliryhmällä ja jotka eroavat esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetuista yhdisteistä siinä, että tunnetuista yhdisteistä puuttuvat fenyylirenkaan orto-karboksisubstituentit.

Karbapeneemijohdannaiset, joihin tässä viitataan, nimetään yleisesti hyväksytyn puoli-systemaattisen nimistön mukaisesti seuraavasti:



Tämän keksinnön kohteena on menetelmä karbapeneemijohdannaisen valmistamiseksi, jolla on kaava (I)



(I)

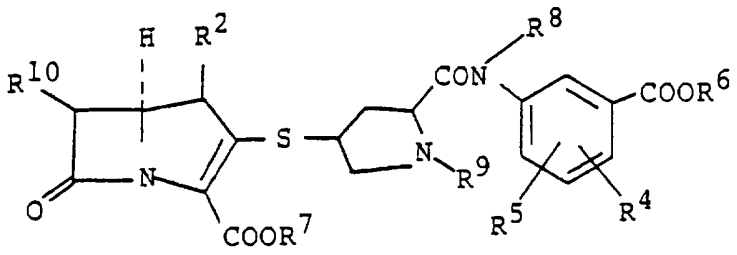
jossa

R^2 on vety tai C_{1-4}-alkyyli;

R^3 on vety tai C_{1-4}-alkyyli;

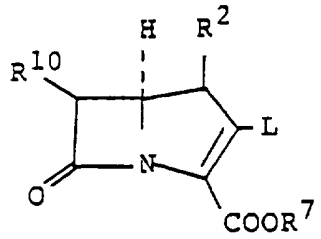
R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja ovat vety, halogeeni, syaani, C_{1-4}-alkyyli, nitro, hydroksi, karboksi, C_{1-4}-alkoksi, C_{1-4}-alkoksikarbonyyli, aminosulfonyyli, C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, di-C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, karbamoyyli, C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, di-C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, trifluorimetyyli, sulfonihapporyhmä, amino, C_{1-4}-alkyyliamino, di-C_{1-4}-alkyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyli-(N-C_{1-4}-alkyyli)amino, C_{1-4}-alkaanisulfoniamido tai

-$S(O)_n$-C_{1-4}-alkyyli, jossa n on 0, 1 tai 2, edellyttäen, ettei orto-asemassa sidokseen -NR^3-ryhmään nähden ole hydroksi- tai karboksisubstituenttia, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan tai sen esterin valmistamiseksi, jolla on kaava



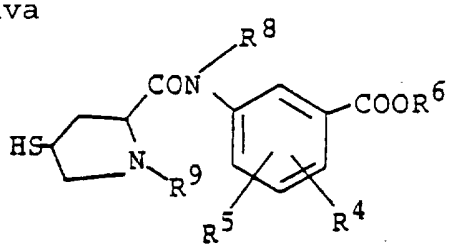
(V)

jossa R^2, R^4 ja R^5 ovat edellä määriteltyjä, jolloin R^4 ja R^5 ovat mahdollisesti suojattuja, mikäli näin on tarkoituksenmukaista, $-COOR^6$ ja $-COOR^7$ ovat karboksi tai suojattu karboksi, R^8 on edellä määritelty ryhmä R^3 tai aminon suojaryhmä, R^9 on vety tai aminon suojaryhmä; ja R^{10} on mahdollisesti suojattu 1-hydroksietyyli, jolloin vähintäin yksi suojaryhmä on läsnä ja menetelmälle on tunnusomaista, että yhdiste, jolla on kaava



(VI)

jossa R^2, R^7 ja R^{10} ovat edellä määriteltyjä ja L on lähtevä ryhmä, kuten sulfonaatti, fosforiesteri, halogenidi tai sulfoksidi, saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava



(VII)

jossa R^4, R^5, R^6, R^8 ja R^9 ovat edellä määriteltyjä, ja tarvittaessa

(i) poistetaan mahdollinen suojaryhmä/mahdolliset suojaryhmät ja

(ii) muodostetaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Tässä käytettynä alkyyli käsittää haarautumattomat ja haarautuneet alkyyliryhmät, esimerkiksi metyylin, etyy-

lin, n-propyylin, isopropyylin, n-butyylin ja isobutyylin.

R^2 on vety tai C_{1-4}-alkyyli, esimerkiksi metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli tai n-butyyli. Edullisesti R^2 on vety tai metyyli ja erityisesti R^2 on metyyli.

R^3 on vety tai C_{1-4}-alkyyli, esimerkiksi metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli tai n-butyyli. Edullisesti R^3 on vety.

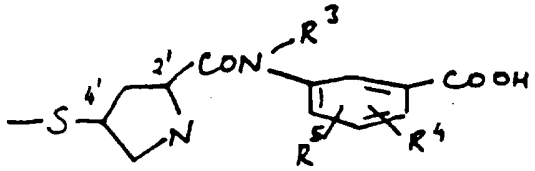
R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja valitaan ryhmästä vety; halogeeni, esimerkiksi fluori, bromi tai kloori; syaani; C_{1-4}-alkyyli, esimerkiksi metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli tai n-butyyli; nitro; hydroksi; karboksi; C_{1-4}-alkoksi, esimerkiksi metoksi tai etoksi; C_{1-4}-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi metoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli ja n-propoksikarbonyyli; aminosulfonyyli; C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, esimerkiksi metyyliaminosulfonyyli ja etyyliaminosulfonyyli; di-C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, esimerkiksi di-metyyliaminosulfonyyli, metyylietyyliaminosulfonyyli ja di-etyyliaminosulfonyyli; karbamoyyli; C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, esimerkiksi metyylikarbamoyyli tai etyylikarbamoyyli; di-C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, esimerkiksi dimetyylikarbamoyyli tai dietyylikarbamoyyli; trifluorimetyyli; sulfonihappo; amino; C_{1-4}-alkyyliamino, esimerkiksi metyyliamino tai etyyliamino; di-C_{1-4}-alkyyliamino, esimerkiksi dimetyyliamino tai dietyyliamino; C_{1-4}-alkanoyyliamino, esimerkiksi asetamido tai propioniamido; C_{1-4}-alkanoyyli(N-C_{1-4}-alkyyli)amino, esimerkiksi N-metyyliasetamido; C_{1-4}-alkaanisulfoniamido, esimerkiksi metaanisulfoniamido; ja C_{1-4}-alkyyli-$S(O)_n$-, esimerkiksi metyylitio, metyylisulfinyyli tai metyylisulfonyyli.

Edullisesti R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja valitaan ryhmästä vety, fluori, kloori, hydroksi, karboksi, syaani, nitro, metyyli, etyyli, metoksi, etoksi, metoksikarbonyyli, karbamoyyli, metyylikarbamoyyli, dimetyylikarbamoyyli, trifluorimetyyli, sulfonihappo, metyylisulfinyyli, metyylisulfonyyli, metaanisulfoniamido ja asetamido.

R^4 ja R^5 voivat molemmat olla muu kuin vety, mutta yleensä on erityisen edullista että ainakin toinen R^4:stä ja R^5:stä on vety.

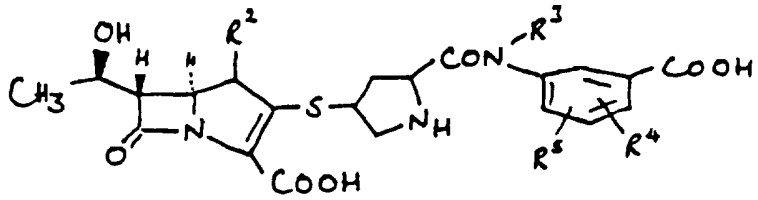
Erityisen edullisia yhdisteitä ovat ne, joissa R^4 on vety, karboksi, fluori, kloori, metyyli, metoksi, syaani, sulfonihappo tai metoksikarbonyyli ja R^5 on vety.

Tämä keksintö käsittää kaavan (I) tai (V) mukaisten yhdisteiden kaikkien epimeeristen diastereoisomeeristen ja tautomeeristen muotojen valmistusmenetelmän, joissa yhdisteiden absoluuttinen stereokemia 5-asemassa on kuten kaavoissa (I) ja (V) on kuvattu. Kun sidosta kuvataan kiilalla, tämä tarkoittaa, että avaruuskoordinaatistossa sidos tulisi paperista ulospäin ja kun sidos on katkoviiva, tämä tarkoittaa, että avaruuskoordinaatistossa sidos kohdistuu paperiin päin. Kaavan (I) tai (V) mukaisilla yhdisteillä on lukuisia muita stereokeskuksia, nimittäin 1-hydroksietyylisubstituentissa; 6-asemassa; 1-asemassa (kun R^2 on C_{1-4}-alkyyli); ja 2'- ja 4'-asemissa pyrrolidiinirenkaassa:



(II)

Edullisia yhdisteitä ovat ne, joissa betalaktaamirengasprotonit ovat <u>trans</u>-konfiguraatiossa suhteessa toisiinsa nähden. On edullista, että 8-substituentilla on R-konfiguraatio. Täten edullisia ovat yhdisteet, joilla on kaava (III)

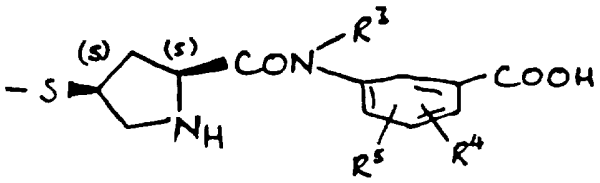


(III)

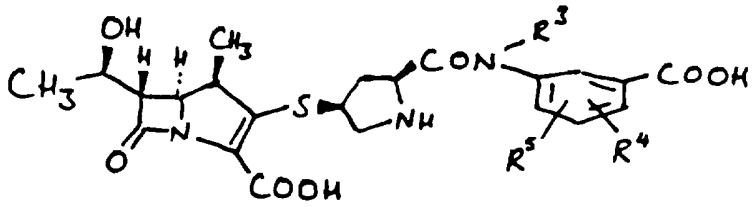
ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat, joissa R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat edellä on määritellyt.

Kun R^2 on C_{1-4}-alkyyli, esimerkiksi metyyli, on edullista, että yhdiste on 1R-konfiguraatio.

Edullisia yhdisteitä ovat ne, joissa pyrrolidiinirenkaalla on seuraava absoluuttinen stereokemia 2'- ja 4'-asemissa:



Edullisia tämän keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä ovat sellainen, joilla on kaava (IV):



(IV)

ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat, joissa R^3, R^4 ja R^5 ovat edellä määritellyt.

Erityisen edullisia kaavan (IV) mukaisia yhdisteitä ovat ne, joissa R^3 on vety ja R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja valitaan ryhmästä vety, fluori, kloori, hydroksi, karboksi, syaani, nitro, metyyli, etyyli, metoksi, etoksi, metoksikarbonyyli, karbamoyyli, metyylikarbamoyyli, dimetyylikarbamoyyli, metaanisulfonyyli, trifluorimetyyli, sulfonihappo, metyylisulfinyyli, metaanisulfoniamido tai asetamido.

Erityisen edullisia kaavan (IV) mukaisia yhdisteitä ovat ne, joissa R^3 ja R^5 ovat molemmat vety ja R^4 on vety, karboksi, fluori, kloori, metyyli, metoksi, syaani, sulfonihappo tai metoksikarbonyyli.

Sopivia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat happoadditiosuolat, kuten hydrokloridi, hydrobromidi, sitraatti, maleaatti ja suolat, jotka on muodostettu fosfori- ja rikkihapon kanssa. Lisäksi sopivia suoloja ovat emäs-

suolat, kuten alkalimetallisuola, esimerkiksi natrium- tai kaliumsuola, maa-alkalimetallisuola, esimerkiksi kalsium- tai magnesiumsuola, orgaaninen amiinisuola, esimerkiksi trietyyliamiini-, morfoliini-, N-metyylipiperidiini-, N-etyylipiperidiini-, prokaiini-, dibentsyyliamiini-, N,N-dibentsyylietyyliamiinisuola tai aminohappojen suolat, esimerkiksi lysiinisuola. Huomattakoon, että voi esiintyä yksi, kaksi tai kolme suolaa muodostavaa kationia riippuen karboksyylihapporyhmien lukumäärästä ja mainittujen kationien valenssista.

Edullisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat natrium- ja kaliumsuolat. Kuitenkin suolan eristämisen helpottamiseksi valmistuksen aikana suolat, jotka ovat vähemmän liukoisia valittuun liuottimeen, voivat olla edullisia riippumatta siitä, ovatko ne farmaseuttisesti hyväksyttäviä vai ei.

Edullisia tämän keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä ovat:
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-6-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-6-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)-pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-6-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3,4-dikarboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3,5-dikarboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo,
(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo
tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Kaavan (V) mukaisessa yhdisteessä olevat suojaryhmät voidaan yleensä valita mistä tahansa kirjallisuudessa kuvatusta ryhmästä tai ne ovat alan kemistin tuntemia sopiviksi kyseisen ryhmän suojaamiseksi ja ne voidaan liittää tavallisten menetelmien avulla.

Suojaryhmät voidaan poistaa millä tahansa tavallisella kirjallisuudessa kuvatulla tai alan kemistin tuntemalla menetelmällä, joka on sopiva kyseisen suojaryhmän poistamiseksi, jotka menetelmät valitaan niin, että suojaryhmä poistetaan tehokkaasti minimihäiriöin molekyylin muita ryhmiä kohtaan.

Spesifisiä esimerkkejä suojaryhmistä on annettu seuraavassa ymmärtämisen helpottamiseksi, joissa "alempi" tarkoittaa, että ryhmässä, johon se viittaa, on edullisesti 1 - 4 hiiliatomia. On ymmärrettävä, että nämä esimerkit eivät sulje pois muita suojaryhmiä. On mahdollista käyttää

myös suojaryhmiä ja suojauksen poistomenetelmiä, joita ei spesifisesti mainita.

Karboksyylin suojaryhmä voi olla esteriä muodostavan alifaattisen tai aralifaattisen alkoholin tai esteriä muodostavan silanolin jäännös (jolloin mainittu alkoholi tai silanoli sisältää edullisesti 1 - 20 hiiliatomia).

Esimerkkejä karboksin suojaryhmistä ovat haarautuneet tai haarautumattomat (1 - 12 C) alkyyliryhmät (esim. isopropyyli, t-butyyli); alempi alkoksi-alempi-alkyyliryhmät (esim. metoksimetyyli, etoksimetyyli, isobutoksimetyyli); alemmalla alifaattisella asyylioksilla substituidut alemmat alkyyliryhmät (esim. asetoksimetyyli, propionyylioksimetyyli, butyryylioksimetyyli, pivaloyylioksimetyyli); alempi-alkoksikarbonyylioksi-alempi-alkyyliryhmät (esim. 1-metoksikarbonyylioksietyyli, 1-etoksikarbonyylioksietyyli); aryyli-alempi-alkyyliryhmät (esim. p-metoksibentsyyli, o-nitrobentsyyli, p-nitrobentsyyli, bentshydryyli ja ftalidyyli); tri(alempi alkyyli)silyyliryhmät (esim. trimetyylisilyyli ja t-butyylidimetyylisilyyli); tri(alempi alkyyli)silyyli-alempi-alkyyliryhmät (esim. trimetyylisilyylietyyli); ja (2-6C)alkenyyliryhmät (esim. allyyli- ja vinyylietyyli).

Menetelmiä, jotka ovat erityisen tarkoituksenmukaisia karboksyylin suojaryhmien poistamiseksi, ovat esimerkiksi happo-, emäs-, metalli- tai entsymaattisesti katalysoitu hydrolyysi.

Esimerkkejä hydroksyylin suojaryhmistä ovat alemmat alkenyyliryhmät (esim. allyyli); alemmat alkanoyyliryhmät (esim. asetyyli); alemmat alkoksikarbonyyliryhmät (esim. t-butoksikarbonyyli); alemmat alkenyylioksikarbonyyliryhmät (esim. allyylioksikarbonyyli); aryyli-alempi-alkoksikarbonyyliryhmät (esim. bentsoyylioksikarbonyyli, p-metoksibentsyylioksikarbonyyli, o-nitrobentsyylioksikarbonyyli, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli); tri-alempi alkyylisilyyli- (esim. trimetyylisilyyli, t-butyylidimetyylisilyyli) ja aryyli-alempi-alkyyliryhmät (esim. bentsyyli).

Esimerkkejä aminon suojaryhmistä ovat formyyli, aralkyyliryhmät (esim. bentsyyli ja substituoitu bentsyyli, esim. p-metoksibentsyyli, nitrobentsyyli ja 2,4-dimetoksibentsyyli ja trifenyylimetyyli); di-p-anisyylimetyyli- ja furyylimetyyliryhmät; alempi alkoksikarbonyyli (esim. t-butoksikarbonyyli); alempi alkenyylioksikarbonyyli (esim. allyylioksikarbonyyli); aryyli-alempi-alkoksikarbonyyliryhmät (esim. bentsyylioksikarbonyyli, p-metoksibentsyylioksikarbonyyli, o-nitrobentsyylioksikarbonyyli, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli; trialkyylisilyyli (esim. trimetyylisilyyli ja t-butyylidimetyylisilyyli); alkylideeni (esim. metylideeni); bentsylideeni ja substituoidut bentsylideeniryhmät.

Tarkoituksenmukaisia menetelmiä hydroksin ja aminon suojaryhmien poistamiseksi ovat esimerkiksi happo-, emäs, metalli- tai entsymaattisesti katalysoitu hydrolyysi, ryhmille kuten p-nitrobentsyylioksikarbonyylille hydraus, ryhmille kuten o-nitrobentsyylioksikarbonyylille fotolyyttisesti.

Edullisia suojaryhmiä karboksi- ja hydroksiryhmille kaavan (I) yhdisteissä ovat ryhmät allyyli ja p-nitrobentsyyli. Edullinen menetelmä allyyliryhmän poistamiseksi on palladiumkatalyysi käyttäen tetrakis(trifenyylifosfiini)-palladiumia ja Meldrumin happoa, dipolaarisen aproottisen liuottimen ja tetrahydrofuraanin seoksessa, kuten dimetyylisulfoksidi/tetrahydrofuraanissa tai 1,3-dimetyyli-2-okso-tetrahydropyrimidiini/tetrahydrofuraanissa tai alkoholi/tetrahydrofuraani-seoksessa, kuten isopropanoli/tetrahydrofuraanissa tai etanoli/tetrahydrofuraanissa, edullisesti ympäristön lämpötilassa. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää metyylianiliinia Meldrumin hapon asemesta dikloorimetaanissa. Nämä olosuhteet mahdollistavat tuotteen eristämisen saostamalla sen natriumsuola lisäämällä natriumsuolaa, kuten natrium-2-etyyliheksanoaattia.

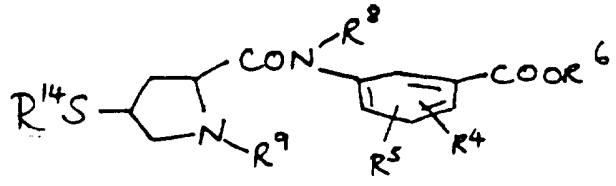
Edullinen menetelmä p-nitrobentsyyliryhmän poistamiseksi on hydraus käyttäen palladiumkatalyyttiä.

Sopivasti kaavan (VI) mukaisessa yhdisteessä L on hydroksiryhmän reaktiivinen esteri, kuten sulfonaatti (esimerkiksi C_{1-6}-alkaanisulfonyylioksi, trifluorimetaanisulfonyylioksi, bentseenisulfonyylioksi, tolueenisulfonyylioksi), fosforiesteri (esimerkiksi diaryylifosforiesteri, kuten difenyylifosforiesteri) tai L on halogenidi (esimerkiksi kloridi). Vaihtoehtoisesti L on sulfoksidi, esimerkiksi -SOCH=CH-NHCOCH$_3$, joka helposti voidaan korvata. Edullisesti L on difenyylifosforiesteri (-OP(O)(OPh)$_2$).

Kaavan (VI) mukaiset yhdisteet ja niiden valmistus ovat hyvin tunnettuja karbapeneemikirjallisuudessa, katso esimerkiksi EP-A-126 587, EP-A-160 391, EP-A-243 686 ja EP-A-343 499.

Reaktio kaavojen (VI) ja (VII) mukaisten yhdisteiden välillä toteutetaan tavallisesti emäksen, kuten orgaanisen amiinin, esimerkiksi di-isopropyylietyyliamiinin tai epäorgaanisen emäksen, esimerkiksi alkalimetallikarbonaatin, kuten kaliumkarbonaatin, läsnäollessa. Reaktio toteutetaan tavallisesti lämpötila-alueella -25 °C - ympäristön lämpötila, sopivasti n. -20 °C:ssa. Reaktio toteutetaan tavallisesti orgaanisessa liuottimessa, kuten asetonitriilissä tai dimetyyliformamidissa. Reaktio toteutetaan tavallisesti samaan tapaan kuin kirjallisuudessa on kuvattu vastaaville reaktioille.

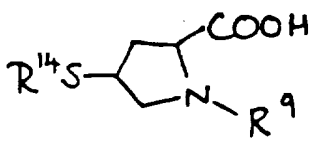
Kaavan (VII) mukaiset yhdisteet ovat uusia ja niitä voidaan valmistaa poistamalla suojaus yhdisteestä, jolla on kaava (IX)



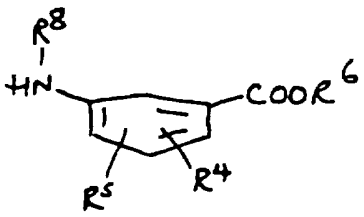
(IX)

jossa R^4 - R^6, R^8 ja R^9 ovat edellä määritellyt ja R^{14} on suojaryhmä, esimerkiksi C_{1-6}-alkanoyyli, C_{1-6}-alkoksikarbonyyli tai bentsoyyli. Edullisesti R^{14} on asetyyli tai t-butoksikarbonyyli. Kaavan (IX) mukaiset yhdisteet voidaan muuttaa kaavan (VII) mukaisiksi yhdisteiksi suojauksenpoiston stanardimenetelmillä, esimerkiksi asetyyliryhmät voidaan poistaa emäshydrolyysillä vesipitoisessa alkanolissa tai alkenolissa, esimerkiksi allyylialkoholissa.

Kaavan (IX) mukaiset yhdisteet ovat uusia ja niitä voidaan valmistaa kaavan (X) mukaisen yhdisteen mahdollisesti in situ muodostetun aktivoidun johdannaisen reaktiolla yhdisteen kanssa, jolla on kaava (XI):



(X)



(XI)

joissa R^4 - R^6, R^8, R^9 ja R^{14} ovat edellä määritellyt. Kaavan (X) mukaisen yhdisteen aktivoidut johdannaiset käsittävät happohalogenidit, anhydridit ja "aktivoidut" esterit, kuten kaavan (X) mukaisen tiokarboksyylihapon 1H-bentso[1,2,3]triatsol-1-yyli-, pentafluorifenyyli- ja 2,4,5-trikloorifenyyliesterit tai bentsimidatsol-2-yyliesterin. Kaavojen (X) ja (XI) mukaisten yhdisteiden reaktio toteutetaan standardimenetelmien avulla, esimerkiksi Vilsmeier reagenssin läsnäollessa (jolloin muodostuu kaavan (X) mukaisen yhdisteen reaktiivinen johdannainen in situ) lämpötila-alueella -30 °C - 25 °C, edullisesti alueella -20 °C - 5 °C.

Kaavojen (X) ja (XI) mukaiset yhdisteet valmistetaan standardimenetelmillä, jotka ovat tunnettuja alan kemistille, kuten seuraavien esimerkkien mukaisilla menetelmillä, tai menetelmillä, joita on kuvattu julkaisussa EP-A-126 587, tai menetelmillä, jotka ovat analogisia niille.

Antibakteerinen aktiivisuus

Tämän keksinnön mukaisesti valmistetut farmaseuttisesti hyväksyttävät karbapeneemiyhdisteet ovat hyödyllisiä antibakteerisia aineita, joilla on laaja aktiivisuuskirjo in vitro sekä gram-negatiivisia että gram-positiivisia standardi laboratorio mikro-organismeja, vastaan, joita käytetään tutkittaessa aktiivisuutta patogeenisia bakteereita vastaan. Kyseisen yhdisteen antibakteerinen kirjo ja tehokkuus voidaan määrittää standardikoemenetelmällä. Erityisesti keksinnön mukaisesti valmistetut karbapeneemit osoittavat hyvää stabiilisuutta beta-laktamaasien suhteen ja niillä on erityisen hyvä poistumisen puoliintumisaika nisäkkäissä. Yleisesti yhdisteillä on huomattavasti paremmat ominaisuudet verrattuna imipeneemiin.

Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden antibakteeriset ominaisuudet voidaan myös osoittaa tavanomaisilla in vivo-kokeilla.

Karbapeneemiyhdisteiden on yleensä havaittu olevan suhteellisen ei-myrkyllisiä lämminverisille eläimille ja tämä yleistys pitää paikkansa myös tämän keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden suhteen. Näitä yhdisteitä annettiin hiirille annoksina, jotka ylittivät annoksen, joka tarvitaan suojaamaan bakteeri-infektioita vastaan, eikä mitään ilmeisiä toksisuusoireita tai sivuvaikutuksia, jotka olisivat johtuneet annetuista yhdisteistä, havaittu.

Seuraavat tulokset saatiin edustaville yhdisteille in vitro vakiokoemenetelmässä käyttäen Diagnostic Sensitivity Test'iä. Antibakteerista aktiivisuutta kuvataan termillä minimiestokonsentraatio (MIC), joka on määritetty agar-laimennusmenetelmällä istutuskoolla 10^4 CFU/täplä.

ORGANISMI	MIC (µg/ml) ESIMERKKI 1	2	4	10	ceftriaxone
Enterobacter cloacae 029	0,06	0,03	0,03	0,01	0,06
Enterobacter cloacae 108	1,00	1,00	0,50	0,25	32
E. coli TEM	0,03	0,02	0,02	0,01	0,03
S. aureus 147N	0,25	0,50	0,25	0,13	2,0

Jotta voitaisiin käyttää kaavan (I) yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai kaavan (V) in vivo mukaista hydrolysoituvaa esteriä nisäkkäiden, mukaanlukien ihminen, terapeuttista hoitoa varten, erityisesti hoidettaessa infektiota, se formuloidaan tavallisesti farmaseuttisen standardikäytännön mukaisesti farmaseuttiseksi koostumukseksi.

Näitä farmaseuttisia koostumuksia voidaan antaa tavalliseen tapaan hoidettaessa sairauksia, joita halutaan hoitaa, esimerkiksi oraalisesti, peräsuolen sisäisesti tai ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti. Näitä tarkoituksia varten keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet voidaan formuloida alalla tunnettujen keinojen avulla esimerkiksi tablettien, kapseleiden, vesipitoisten tai öljymäisten liuosten tai suspensioiden, emulsioiden, dispergoituvien jauheiden, peräpuikkojen ja steriilien injektoitavien ve-

sipitoisten tai öljymäisten liuosten tai suspensioiden, muotoon.

Keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet voidaan formuloida kuivaksi jauheeksi täytettäväksi ampulleihin, jotka voivat sisältää tällaista yhdistettä pelkästään tai kuivana jauheseoksena. Esimerkiksi hapan yhdiste voi olla kuiva seos alkalimetallikarbonaatin tai -bikarbonaatin kanssa. Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden, pelkästään tai seoksena tavanomaisten täyteaineiden kanssa, kylmäkuivatut valmistemuodot ovat mahdollisia. Tavanomaisia täyteaineita ovat rakenteen muodostajat, alhaisen lämpötilan suojaajat ja pH:n modifioijat, kuten mannitoli, sorbitoli, laktoosi, glukoosi, natriumkloridi, dekstraani, sakkaroosi, maltoosi, gelatiini, naudanseerumialbumiini (BSA), glysiini, mannoosi, riboosi, polyvinyylipyrrolidiini (PVP), selluloosajohdannaiset, glutamiini, inositoli, kaliumglutamaatti, erytritoli, seriini ja muut aminohapot ja puskurit, esim. dinatriumvetyfosfaatti ja kaliumsitraatti.

Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden lisäksi farmaseuttinen koostumus voi sisältää tai sitä voidaan antaa yhdessä yhden tai useamman tunnetun lääkkeen kanssa, joka on valittu muista kliinisesti hyödyllisistä antibakteerisista aineista (esimerkiksi muista beta-laktaameista tai aminoglykosideista), beta-laktamaasi-inhibiittoreista (esimerkiksi klavulaanihappo), munuaistiehyiden salpausaineista (renal tubular blocking agents) (esim. propenesidi) ja aineenvaihduntaentsyymien inhibiittoreista (esimerkiksi dehydropeptidaasien inhibiittorit, esimerkiksi Z-2-asyyliamino-3-substituoidut propenoaatit, kuten silastatiini) ja N-asyloiduista aminohapoista (esimerkiksi katso EP-A-178911), jotka vähentävät munuaiseen kohdistuvia haitallisia vaikutuksia.

Sopiva farmaseuttinen koostumus oraalista antoa varten on yksikköannosmuodossa, esimerkiksi tablettina tai kapselina, joka sisältää 100 mg - 1 g keksinnön mukaisesti valmistettua yhdistettä.

Edullinen farmaseuttinen koostumus on sellainen, joka sopii laskimonsisäistä, ihonalaista tai lihaksensisäistä injektiota varten, esimerkiksi steriili injektio sisältää 1 - 50 paino-% keksinnön mukaisesti valmistettua yhdistettä.

Spesifisiä esimerkkejä koostumuksista, jotka valmistetaan 1-%:iseksi liuokseksi vedessä, kylmäkuivataan ja jotka voidaan valmistaa käyttömuotoon lisäämällä 0,9 % vesipitoista natriumkloridiliuosta, niin että saadaan tarvittava pitoisuus, edullisesti 1 mg - 10 mg/ml, ovat seuraavat:

Koostumus 1

esimerkin 1 yhdiste	50 mg

Koostumus 2

esimerkin 1 yhdiste	50 mg
glysiini	31 mg

Muita spesifisiä esimerkkejä koostumuksista ovat edellä esitettyjen mukaisia, mutta niissä esimerkin 1 yhdiste on korvattu millä tahansa esimerkkien 2 - 37 yhdisteellä.

Näitä farmaseuttisia koostumuksia annetaan tavallisesti ihmiselle bakteeriperäisten infektioiden vastustamiseksi samalla yleisellä tavalla kuin käytettäessä imipeneemiä, mutta on otettava huomioon näiden yhdisteiden annostasot mitä tulee tehokkuuteen ja vaikutuksen kestoon suhteessa imipeneemin kliiniseen käyttöön. Täten kukin potilas saa päivittäisen laskimonsisäisen, ihonalaisen tai lihaksensisäisen annoksen, joka on 0,05 - 5 g ja edullisesti 0,1 - 2,5 g keksinnön mukaisesti valmistettua yhdistettä, jolloin koostumus annetaan 1 - 4 kertaa päivässä, edullisesti 1 - 2 kertaa päivässä. Laskimonsisäinen, ihonalainen tai lihaksensisäinen annos voidaan antaa annosinjektiona. Vaihtoehtoisesti laskimonsisäinen annos voidaan antaa jatkuvana infuusiona tiettynä ajanjaksona. Vaihtoehtoisesti kukin potilas saa päivittäisen oraalisen annoksen, joka on suunnilleen sama kuin päivittäinen ruoansulatuskanavan ulkopuolinen annos. Täten sopiva päivit-

täinen oraalinen annos on 0,05 - 5 g keksinnön mukaisesti valmistettua yhdistettä ja koostumus annetaan 1 - 4 kertaa päivässä.

Keksintöä valaistaan yksityiskohtaisemmin seuraavilla esimerkeillä, joissa:

(a) NMR-spektri määritettiin 200 MHz:ssä tai 400 MHz:ssä;

(b) allyylioksi on propen-1-yylioksiryhmä $-OCH_2CH=CH_2$;

(c) THF on tetrahydrofuraani;

(d) DMF on dimetyyliformamidi;

(e) Meldrumin happo on 2,2-dimetyyli-1,3-dioksaani-4,6-dioni.

(f) Liuottimien haihdutus toteutettiin alennetussa paineessa;

(g) EtOAc on etyyliasetaatti;

(h) EEDQ on N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliini;

(i) DMSO on dimetyylisulfoksidi;

(j) DCCI on disykloheksyylikarbodi-imidi; ja

(k) NMR-spektrin huippujen kohdat DMSO-d_6:ssa ja etikkahappo-d_4:ssä vaihtelevat riippuen DMSO/etikkahappo-suhteesta.

Esimerkki 1

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-hydroksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Liuokseen, jossa oli allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (500 mg, 0,72 mmol) ja 2,2-dimetyyli-1,3-dioksaani-4,6-dionia (Meldrumin happo, 829 mg, 5,75 mM) seoksessa, jossa oli DMF (8 ml) ja THF (4 ml), argonsuojakaasussa, lisättiin tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (83 mg, 0,072 mmol). Liuosta sekoitettiin kaksi tuntia argonsuojakaasussa suojaten valolta. Liuos laimennettiin dietyylieetterillä (40 ml) ja saatu sakka sentrifugoitiin ja kirkas kerros poistettiin. Tuote pestiin suspendoimalla uu-

destaan eetteriin, mitä seurasi sentrifugointi, ja kuivattiin lopuksi suurtyhjössä. Raaka tuote liuotettiin veteen (10 ml) ja pH säädettiin arvoon 6,8 $NaHCO_3$:lla. Suodattamisen jälkeen liuos kromatografoitiin Diaion CHP20P hartsilla ja jakeet yhdistettiin tarkoituksenmukaisesti antamaan otsikkoyhdiste (66 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,82 (m, osa varjostunut, 1H); 2,79 (m, 1H); 3,03 (dd, 1H); 3,22 (dd, 1H); 3,38 (kvintetti, 1H); 3,57 (dd, 1H); 3,82 (kvintetti, 1H); 3,99 (kvintetti, 1H); 4,19 (dd + m, 2H); 7,13 (t, 1H); 7,44 (t, 1H); 7,65 (t, 1H).

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

Allyyli-3-allyylioksi-5-aminobentsoaatti

3-hydroksi-5-nitrobentsoehappo (3,9 g, 21,3 mM) liuotettiin DMF:ään (55 ml) ja vedetöntä K_2CO_3 (11,78 g, 76,5 mmol) lisättiin sekoittaen. Allyylibromidia (5,4 ml, 62,4 mmol) lisättiin ja seosta sekoitettiin 18 tuntia ympäristön lämpötilassa. Liuotin poistettiin haihduttamalla, jäännöstä käsiteltiin vedellä, pH säädettiin arvoon 5,5 ja tuote uutettiin etyyliasetaatilla. Yhdistetyt uutteet pestiin vesipitoisella NaH_2PO_4:llä, vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Haihduttamisen jälkeen jäännös kromatografoitiin silikageelillä eluoiden petrolieetteri/EtOAc-seoksella (10 : 1) antamaan allyyli-3-allyylioksi-5-nitrobentsoaatti (5,94 g, 90 %). NMR ($CDCl_3$): δ 4,66 (dt, 2H); 4,87 (dt, 2H); 5,31 - 5,52 (m, 4H); 5,94 - 6,14 (m, 2H); 7,92 (m, 2H); 8,46 (t, 1H).

Ms (CI): 264 $(MH)^+$

Edellä saatu esteri (2 g, 7,6 mmol) liuotettiin etyyliasetaattiin (15 ml) ja lisättiin suspensioon, jossa oli $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (13,7 g, 61 mmol), kuumennettiin palautusjäähdyttäen etyyliasetaatissa (35 ml) argonsuojakaasussa. Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen neljä tuntia, jäähdytettiin ja kaadettiin seokseen, jossa oli 880 ammoniakkia (20 ml) ja vettä (20 ml). Orgaaninen kerros erotettiin ja tehtiin kolme lisäuuttoa etyyliasetaatilla. Yhdistetyt uutteet pestiin laimealla ammoniakkiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdu-

tettiin antamaan allyyli-3-allyylioksi-5-aminobentsoaatin keltainen öljy (1,53 g, 86 %). NMR ($CDCl_3$): δ 3,60 (br, 2H); 4,53 (dt, 2H); 4,78 (dt, 2H); 5,25 - 5,44 (m, 4H); 5,96 - 6,12 (m, 2H); 6,43 (dt, 1H); 7,00 (m, 2H).
Ms (Cl): 233 $(MH)^+$

Pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti-sivuketjun valmistus

4-asetyylitio-1-allyylioksikarbonyyli-2-karboksipyrrolidiinin sykloheksyyliamiinisuola (5,6 g, 15 mmol) suspendoitiin etyyliasetaattiin ja ravisteltiin peräkkäisesti 2 M HCl:n (20 ml ja 10 ml), veden ja suolaliuoksen kanssa ja etyyliasetaattikerros kuivattiin $MgSO_4$:llä. Haihduttaminen antoi vapaan hapon. Vilsmeier reagenssi valmistettiin käsittelemällä dimetyyliformamidia (0,51 ml, 6,6 mmol) dikloorimetaanissa (20 ml) argonsuojakaasussa oksalyylikloridilla (0,52 ml, 6 mmol) dikloorimetaanissa (5 ml) 30 minuuttia. 4-asetyylitio-1-allyylioksikarbonyyli-2-karboksipyrrolidiiniä (1,64 g, 6 mM) dikloorimetaanissa (7 ml) lisättiin yhtenä annoksena, mitä seurasi N-metyylimorfoliini (0,79 ml, 7,2 mmol) dikloorimetaanissa (3 ml), ja sekoittamista jatkettiin 30 minuuttia -10 °C:ssa. Jäähdyttämisen jälkeen -20 °C:seen allyyli-3-allyylioksi-5-aminobentsoaattia (1,39 g, 5,9 mM) ja N-metyylimorfoliinia (0,79 ml, 7,2 mmol) liuotettuna dikloorimetaaniin (15 ml) lisättiin tipoittain. Lämpötilan annettiin nousta 0 °C:seen ja reaktioseosta säilöttiin 18 tuntia. Laimentamisen jälkeen dikloorimetaanilla (100 ml) seos pestiin 2 M HCl:llä, H_2O:lla ja kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla, kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdutettiin. Raaka aine puhdistettiin normaalipainekromatografisesti silikageelillä käyttäen petrolieetterin pitoisuusgradienttia dikloorimetaanissa (3 : 1 → 2 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti tahmeana aineena (2,37 g, 81 %). NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,58 (br, 2H); 3,39 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,55 (t, osa varjostunut, 1H); 4,58 (dt, 2H) 4,68 (dt, 2H); 4,81 (dt, 2H); 5,23 - 5,49 (m, 6H); 5,84 - 6,15 (m, 3H); 7,36

(t, 1H); 7,57 (t, 1H); 7,66 (t, 1H); 9,10 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 489 $(MH)^+$, 511 $(M + Na)^+$

Pyrrolidin-4-yyli-tiolien konversio

(2S,4S)-4-asetyylitio-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidiini (1,89 g, 3,9 mmol) liuotettiin allyylialkoholiin (25 ml) ja liuos huuhdeltiin argonilla. 1 M natriumhydroksidia (4 ml, 4 mmol) lisättiin, seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa kaksi tuntia ja haihdutettiin sitten kuiviin. Jäännös otettiin talteen etyyliasetaattiin (100 ml), pestiin 2 M HCl:llä, vedellä, $NaHCO_3$:lla, suolaliuoksella, kuivattiin ($MgSO_4$) ja haihdutettiin antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioli tahmeana aineena (1,57 g, 76 %). Raakaa ainetta käytettiin seuraavassa vaiheessa.

Suojattujen karbapeneemien valmistus

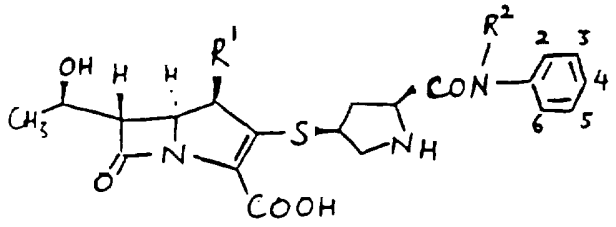
Liuos, jossa oli allyyli(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia (1,5 g, 3 mmol), liuotettiin kuivaan asetonitriiliin (18 ml) argonsuojakaasussa, jäähdytettiin -20 °C:seen ja di-isopropyylietyyliamiinia (0,63 ml, 3,6 mmol) lisättiin, mitä seurasi (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolin (1,57 g, 3,5 mM) lisääminen asetonitriilissä (12 ml). Sitten reaktioseosta säilöttiin -20 °C:ssa kolme päivää. Liuotin haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin normaalipainekromatografisesti silikageelillä eluoiden pitoisuusgradientilla (dikloorimetaani/etyyliasetaatti 40 : 60 → 70 : 30) antamaan allyyli(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksi-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti tahmeana aineena (1,25 g, 60 %).
NMR ($CDCl_3$): δ 1,23 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,65 (br, 2H); 3,26, 3,31 (dd peittävä m:n, 2H); 3,46 (m, 1H); 3,79 (kvintetti, 1H); 4,01 (dd, 1H); 4,19 - 4,29 (m, 2H); 4,50 -

4,50 - 4,78 (m, 9H); 5,19 - 5,46 (m, 8H); 5,83 - 6,12 (m, 4H); 7,36 (br s, 1H); 7,64 (m, 2H); 9,00 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 696 $(MH)^+$, 718 $(M + Na)^+$

Allyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksi-karbapeneemi-3-karboksylaatti valmistettiin seuraavasti.

Liuokseen, jossa oli allyyli-(1R,5S,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-oksokarbapenaami-3-karboksylaattia (2,66 mmol) [valmistettu in situ allyyli-2-diatso-3-okso-4-metyyli-4-(3-(1-hydroksietyyli)-2-oksoatsetidin-4-yyli)butanoaatista ja rodiumoktanoaatista: katso esimerkiksi EP-A-208 889] ja di-isopropyylietyyliamiinia (1,1 ekvivalenttia) asetonitriilissä 0 °C:ssa argonsuojakaasussa, lisättiin tipoittain difenyylikloorifosfaattia (1,1 ekvivalenttia). Liuosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 30 minuuttia, jolloin saatiin vastaava 2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi.

Lisäksi valmistettiin seuraavat esimerkkiyhdisteet:



Esimerkki	Fenyylisubstituentin asema					R^1	R^2
	2	3	4	5	6		
2	H	COOH	Cl	H	H	Me	H
3	H	COOH	H	H	Cl	Me	H
4	H	COOH	H	H	H	Me	H
5	H	COOH	H	H	SO_2CH_3	Me	H

Esimerkki	Fenyylisubstituentin asema 2	3	4	5	6	R^1	R^2
6	H	COOH	F	H	H	Me	H
7	H	COOH	H	H	F	Me	H
8	F	COOH	F	H	H	Me	H
9	H	COOH	COOH	H	H	Me	H
10	H	COOH	OH	H	H	Me	H
11	H	COOH	H	COOH	H	Me	H
12	H	COOH	H	H	H	Me	H
13	H	COOH	H	$CONH_2$	H	Me	H
14	H	COOH	H	H	$CONH_2$	Me	H
15	$CONMe_2$	COOH	H	H	H	Me	H
16	H	COOH	H	$NHCOCH_3$	H	Me	H
17	H	COOH	$NHCOCH_3$	H	H	Me	H
18	H	COOH	H	$NHSO_2Me$	H	Me	H
19	H	COOH	H	SO_3H	H	Me	H
20	H	COOH	H	H	H	H	H
21	H	COOH	H	CN	H	Me	H

Esimerkki	Fenyylisubstituentin asema 2	3	4	5	6	R^1	R^2
22	H	COOH	H	OMe	H	Me	H
23	H	COOH	H	H	SOMe	Me	H
24	H	COOH	H	SO_2Me	H	Me	H
25	H	COOH	H	CF_3	H	Me	H
26	H	COOH	H	H	OMe	Me	H
27	H	COOH	OMe	H	H	Me	H
28	OMe	COOH	H	H	H	Me	H
29	H	COOH	H	H	Me	Me	H
30	H	COOH	Me	H	H	Me	H
31	H	COOH	H	Me	H	Me	H
32	H	COOH	H	-COOMe	H	Me	H
33	H	COOH	F	H	F	Me	H
34	H	COOH	OMe	H	OMe	Me	H
35	H	COOH	H	H	CN	Me	H
36	H	COOH	H	F	H	Me	H
37	H	COOH	H	H	H	Me	Me

Esimerkki 2

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola valmistettiin samalla yleisellä menetelmällä, kuten esimerkissä 1, paitsi että palladiumkatalyytin lisäämisen jälkeen liuosta lämmitettiin hitaasti katalyytin liuottamiseksi ja liuosta sekoitettiin argonsuojakaasussa suojaten valolta yksi tunti. Liuos, jossa oli natrium-2-etyyliheksanoaattia THF:ssä, lisättiin ja yhdistetyt liuokset kaadettiin THF:ään voimakkaasti sekoittaen. Saatu sakka sentrifugoitiin ja kirkas kerros poistettiin. Tuote pestiin kahdesti suspendoimalla uudestaan THF:ään, mitä seurasi sentrifugointi, ja kuivattiin lopuksi suurtyhjössä antamaan otsikkotuote. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,17 (d, 6H); 1,85 (m, varjostettu, 1H); 2,73 (m, varjostettu, 1H); 2,95 (dd, 1H); 3,21 (dd, 1H); 3,40 (m, 1H); 3,54 (dd, 1H); 3,78 (kvintetti, 1H); 3,99 (t, 1H); 4,11 (t, 1H); 4,18 (dd, 1H); 7,41 (d, 1H); 7,75 (dd, 1H); 8,06 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 532/534 $(MH)^+$, (Na suola)$^+$; 554/556 (Na_2 suola)$^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2-kloori-5-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että lopussa käytetty uuttoliuotin oli tolueeni, antamaan allyyli-2-kloori-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,89 (dt, 2H); 5,33 - 5,51 (m, 2H); 5,96 - 6,15 (m, 1H); 7,66 (d, 1H); 8,27 (dd, 1H); 8,72 (d, 1H).

Ms (CI): 241/243 M^+, 259/261 $(M + NH_4)^+$

Tina(II)kloridididihydraattia palautusjäähdytettiin etanolissa argonsuojakaasussa, niin että saatiin liuos. Lämmitys poistettiin ja edellä saatua nitroyhdistettä etanolissa lisättiin. Sitten palautusjäähdyttämistä jatkettiin kolme tuntia, seos jäähdytettiin ja liuottimet

poistettiin. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin ja käsiteltiin 880 ammoniakilla emäksiseksi. Orgaaninen faasi dekantoitiin saostuneista tinasuoloista ja liete uutettiin uudestaan samalla tavalla lisämäärällä liuotinta. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin sitten laimealla ammoniakilla, vedellä ja suolaliuoksella ennen kuivaamista $MgSO_4$:llä. Haihduttaminen antoi allyyli-5-amino-2-klooribentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 3,74 (br, 2H); 4,81 (dt, 2H); 5,27 - 5,47 (m, 2H); 5,93 - 6,13 (m, 1H); 6,73 (dd, 1H); 7,15 (d, 1H); 7,24 (d, 1H).

Ms (CI): 212/214 M^+, 229/231 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/dietyylieetterin pitoisuusgradienttia (100 : 0 → 95 : 5) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,57 (br, 2H); 3,39 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,55 (t, 1H); 4,66 (dt, 2H) 4,83 (dt, 2H); 5,24 - 5,47 (m, 4H); 5,85 - 6,02 (m, 2H); 7,36 (d, 1H); 7,70 (dd, 1H); 7,92 (d, 1H); 9,32 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 467/469 $(MH)^+$, 489/491 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen eluointia pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,65 (br, 2H); 3,25 (dd peittävä m:n, 2H); 3,48 (m, 1H); 3,80 (kvintetti, 1H); 3,98 (dd, 1H); 4,20 - 4,31 (dd peittää kvintetin, 2H); 4,52 (t, 1H); 4,51 - 4,76 (m, 4H); 4,83 (dt, 2H); 5,20 - 5,47 (m, 6H); 5,85 - 6,11 (m, 3H); 7,39 (d, 1H); 7,77 (dd,

1H); 7,99 (d, 1H); 9,05 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 674/676 $(MH)^+$, 696/698 $(M + Na)^+$

Esimerkki 3

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,16 (d, 3H); 1,19 (d, 3H); 1,82 (m, varjostettu, 1H); 2,70 (dd peittävä m:n, 2H), 3,22 (dd, 1H); 3,35 - 3,60 (peittävä m:n, 3H); 3,95 - 4,08 (peittävä m:n, 2H); 4,16 (dd, 1H); 7,57 (d, 1H); 7,69 (dd, 1H); 8,36 (d, 1H).
Ms (+ve FAB): 532/534 $(MH)^+$, (Na suola)$^+$; 554/556 (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-kloori-3-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin kuten edeltävässä esimerkissä 1 antamaan allyyli-4-kloori-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,86 (d, 2H); 5,31 -5,48 (m, 2H); 5,94 - 6,13 (m, 1H); 7,50 (d, 1H); 8,18 (dd, 1H); 8,52 (d, 1H).
Ms (CI): 241/243 M^+, 259/261 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistäminen esimerkin 2 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-4-klooribentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 4,08 (br, 2H); 4,79 (dt, 2H); 5,25 - 5,44 (m, 2H); 5,92 - 6,11 (m, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,38 (dd, 1H); 7,47 (d, 1H).
Ms (CI): 212/214 M^+, 229/231 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/dietyylieetterin (100 : 0 → 95 : 5) pitoisuusgradienttia antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,56 (br, 1H), 2,66 (br, 1H); 3,43 (dd, 1H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,16 (dd, 1H); 4,61 (t, 1H); 4,66

(dt, 2H) 4,82 (dt, 2H); 5,21 - 5,45 (m, 4H); 5,84 - 6,11 (m, 2H); 7,45 (d, 1H); 7,77 (dd, 1H); 9,00 (d, 1H); 9,08 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 467/469 $(MH)^+$, 489/491 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen eluointia pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-kloorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$). δ 1,23 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,65 (br, 2H); 3,24 (dd peittävä m:n, 2H); 3,88 (kvintetti, 1H); 4,08 (m, 1H); 4,19 - 4,30 (dd peittävä kvintetti, 2H); 4,60 (t, 1H); 4,67 (m, 4H); 4,82 (dt, 2H); 5,18 - 5,45 (m, 6H); 5,82 - 6,01 (m, 3H); 7,44 (d, 1H); 7,76 (dd, 1H); 9,04 (d, 1H); 8,98 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 674/676 $(MH)^+$, 696/698 $(M + Na)^+$

Esimerkki 4

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että käytettiin DMSO:n ja THF:n seosta. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,94 (m, varjostettu, 1H); 2,85 (m, 1H); 3,10 (dd, 1H); 3,23 (dd, 1H); 3,40 (kvintetti, 1H); 3,66 (dd, 1H); 3,89 (kvintetti, 1H); 3,99 (t, 1H); 4,21 (dd, 1H); 4,27 (t, 1H); 7,46 (t, 1H); 7,71 (d, 1H); 7,86 (d, 1H); 8,27 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 498 $(MH)^+$, (Na suola)$^+$; 520 (Na_2 suola)$^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että loppu-uutossa käytetty liuotin oli dietyylieetteri, antamaan allyyli-3-nitrobentsoaatti. NMR

($CDCl_3$): δ 4,88 (d, 2H); 5,33 - 5,49 (m, 2H); 5,96 - 6,17 (m, 1H); 7,66 (t, 1H); 8,41 (td, 2H); 8,88 (t, 1H).

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli, antamaan allyyli-3-aminobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,38 (br, 2H); 4,79 (dt, 2H); 5,24 - 5,44 (m, 2H); 5,93 - 6,09 (m, 1H); 6,86 (dm, 1H); 7,21 (t, 1H); 7,37 (t, 1H); 7,45 (dt, 1H).

Pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti-sivuketjun valmistus

(2S,4S)-4-asetyylitio-1-allyylioksikarbonyyli-2-karboksipyrrolidiiniä (2,54 g, 9,3 mmol), allyyli-3-aminobentsoaattia (1,5 g, 8,5 mmol) ja 2-etoksi-1-etoksikarbonyyli-1,2-dihydrokinoliinia (2,72 g, 11 mmol) liuotettiin tolueeniin (50 ml) ja sekoitettiin 18 tuntia ympäristön lämpötilassa. Reaktioseos laimennettiin etyyliasetaatilla (150 ml) ja pestiin 2 M HCl:llä (3 x 30 ml), vedellä, kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla ja suolaliuoksella. Kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdutettiin antamaan (2S,4S)-4-asetyylitio-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidiini tahmeana aineena (3,7 g, 100 %) riittävän puhtaana jatkokäsittelyä varten. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,60 (br, 2H); 3,40 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,57 (t, 1H); 4,66 (dm, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,23 - 5,46 (m, 4H); 5,86 - 6,12 (m, 2H); 7,41 (t, 1H); 7,82 (d, 1H); 7,91 (d, 1H); 8,07 (t, 1H); 9,18 (br, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen eluointia pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista etyyliasetaatti/dikloorimetaaniin 1 : 1, antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,64 (br, 2H); 3,26, 3,28 (dd, peittävä m, 2H); 3,48 (m, 1H);

3,81 (kvintetti, 1H); 4,01 (dd, 1H); 4,22 - 4,32 (m, 2H); 4,54 (t, 1H); 4,62 - 4,75 (m, 4H); 4,82 (m, 2H); 5,19 - 5,45 (m, 8H); 5,82 - 6,10 (m, 4H); 7,41 (d, 1H); 7,81 (d, 1H); 7,92 (dm, 1H); 8,11 (t, 1H); 8,98 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 640 $(MH)^+$, 662 $(M + Na)^+$

Esimerkki 5

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-6-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin tarkoituksenmukaisesti suojatusta karbapeneemistä, kuten esimerkissä 1 on kuvattu. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 6H); 1,99 (kvintetti, 1H); 2,75 (m, osa varjostettu, 1H); 2,87 (dd, 1H); 3,22 (s, 3H); 3,25 (dd, osa varjostettu, 1H); 3,44 (kvintetti, 1H); 3,62 (dd, 1H); 3,75 (kvintetti, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,16 - 4,23 (m, 2H); 7,90 (dd, 1H); 8,17 (d, 1H); 9,00 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 554 $(MH)^+$, 576 (Na suola)$^+$, 598 (Na_2 suola)$^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-metaanisulfonyyli-3-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, eluoitiin pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin 9 : 1, antamaan allyyli-4-metaanisulfonyyli-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,45 (s, 3H); 4,90 (dt, 2H); 5,30 - 5,49 (m, 2H); 5,96 - 6,12 (m, 1H); 8,29 (d, 1H); 8,40 - 8,46 (m, 2H).

Pelkistettiin kuten esimerkissä 1, paitsi että liuotin oli metanoli, antamaan allyyli-3-amino-4-metaanisulfonyylibentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,07 (s, 3H); 4,82 (dt, 2H); 5,05 (br, 2H); 5,29 - 5,44 (m, 2H); 5,95 - 6,11 (m, 1H); 7,46 (m, 2H); 7,81 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 256 $(MH)^+$, 273 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografises-

ti käyttäen dikloorimetaani/dietyylieetterin (100 : 0 → 90 : 10) pitoisuusgradienttia antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,31 (s, 3H); 2,41 (m, 1H); 2,80 (m, 1H); 3,11 (s, 3H); 3,51 (dd, 1H); 4,00 - 4,18 (m, 2H); 4,53 (dd, 1H); 4,65 (2m, 2H) 4,87 (dt, 2H); 5,23 - 5,47 (m, 4H); 5,83 - 6,13 (m, 2H); 7,93 (dd, 1H); 8,03 (d, 1H); 9,09 (br s, 1H).

Ms (+ve FAB): 511 $(MH)^+$, 533 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen eluointia pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,21 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,43 (m, 1H); 2,75 (br, 1H); 3,08 (s, 3H); 3,23 (dd peittävä m, 2H); 3,55 (dd, 1H); 3,85 - 4,08 (m, 2H); 4,19 - 4,28 (m, 2H); 4,53 -4,68 (m, 5H); 4,86 (dt, 2H); 5,17 - 5,47 (m, 6H); 5,79 - 6,12 (m, 3H); 7,92 (dd, 1H); 8,00 (d, 1H); 9,16 (br s, 1H); 10,14 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 718 $(MH)^+$, 740 $(M + Na)^+$

Esimerkki 6

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo

Liuokseen, jossa oli allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1'-allyylioksikarbonyyli-2'-(3-allyylioksikarbonyyli-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (199 mg, 0,3 mmol) ja 2,2-dimetyyli-1,3-dioksaani-4,6-dionia (Meldrumin happo, 259 mg, 1,8 mmol) DMF:ssä (1,5 ml),

argonsuojakaasussa, lisättiin tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (10 mg, 0,009 mmol) THF:ssä (0,1 ml). Liuosta sekoitettiin argonsuojakaasussa kaksi tuntia ja tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (5 mg, 0,0045 mmol) THF:ssä (0,1 ml) lisättiin. 30 minuutin sekoittamisen jälkeen THF (3 ml) ja eetteriä (9 ml) lisättiin, saatu kiinteä aine suodatettiin pois, pestiin eetterillä (9 ml) ja kuivattiin suurtyhjössä antamaan otsikkoyhdiste (72 mg, 49 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,30 (d, 6H); 2,00 (m, osa varjostettu, 1H); 2,91 (m, osa varjostettu, 1H); 3,13 (dd, 1H); 3,36 (dd, 1H); 3,55 (dq, 1H); 3,73 (dd, 1H); 3,95 (m, 1H); 4,12 (m, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,34 (dd, 1H); 7,40 (dd, 1H); 7,98 (m, 1H); 8,32 (dd, 1H).
Ms (+ve FAB): 494 $(MH)^+$, 516 $(M + Na)^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

Allyyli-5-amino-2-fluoribentsoaatti

2-fluori-5-nitrobentsoehappo (4,16 g, 22,5 mmol) liuotettiin DMF:ään (45 ml) ja vedetöntä K_2CO_3 (4,65 g, 33,7 mmol) lisättiin sekoittaen. Allyylibromidia (2,38 ml, 28,1 mmol) lisättiin, seosta sekoitettiin 18 tuntia ympäristön lämpötilassa ennen kaatamista veteen (450 ml) ja uutettiin dietyylieetterillä (3 x 100 ml). Yhdistetyt uutteet kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdutettiin antamaan öljy (5,4 g). Öljy puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä eluoiden etyyliasetaatti/heksaanin seoksella (12,5 : 87,5), antamaan allyyli-2-fluori-5-nitrobentsoaatti (4,64 g, 92 %). NMR ($CDCl_3$): δ 4,89 (d, 2H); 5,30 - 5,50 (m, 2H); 5,90 - 6,10 (m, 1H); 7,32 (t, 1H); 8,38 - 8,46 (m, 1H); 8,86 (dd, 1H).
Ms (EI): 226 $(MH)^+$; (CI): 225 M^+, 243 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu esteri (2,47 g, 10,97 mmol) liuotettiin metanoliin (40 ml) ja tina(II)kloridi dihydraattia (9,89 g, 43,76 mmol) väkevässä HCl:ssä (9 ml) lisättiin sekoituksenalaiseen liuokseen samalla kun lämpötila pidettiin välillä 5 °C - 15 °C. Sitten seosta sekoitettiin yön

yli ympäristön lämpötilassa ennen kaatamista veteen (200 ml) ja neutraloitiin kiinteällä $NaHCO_3$:lla (17,6 g) pH-arvoon 6. Seos uutettiin kloroformilla (3 x 200 ml), yhdistetyt uutteet kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdutettiin antamaan allyyli-5-amino-2-fluoribentsoaatti (2,09 g, 98 %) keltaisena öljynä. NMR ($CDCl_3$): δ 3,60 (brs, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,25 - 5,48 (m, 2H); 5,93 - 6,12 (m, 1H); 6,78 (ddd, 1H); 6,93 (dd, 1H); 7,20 (dd, 1H).

Ms (EI): 195 M^+; (CI): 196 $(MH)^+$; 213 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1. Tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen etyyliasetaatti/heksaania (42,5 : 57,5) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,50 - 2,70 (br s, 2H); 3,40 (d, 1H); 3,98 - 4,20 (m, 2H); 4,56 (t, 1H); 4,67 (dt, 2H); 4,84 (dt, 2H); 5,20 - 5,50 (m, 4H); 5,83 - 6,12 (m, 2H); 7,10 (dd, 1H); 7,80 - 7,89 (m, 1H); 7,93 (dd, 1H); 8,90 - 9,40 (br s, 1H).

Ms (+ve FAB): 451 $(MH)^+$, 473 $(M + Na)^+$

Konversio pyrrolidin-4-yyli-tioliksi

(2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti (1,33 g, 2,96 mmol) liuotettiin allyylialkoholiin (30 ml) ja liuos huuhdeltiin argonilla. 1 M natriumhydroksidia (3,1 ml, 3,1 mmol) lisättiin, seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 30 minuuttia, käsiteltiin etikkahapolla (0,3 ml), sekoitettiin vielä viisi minuuttia ja haihdutettiin sitten kuiviin. Jäännös otettiin talteen etyyliasetaattiin (60 ml), pestiin kyllästetyllä vesipitoisella $NaHCO_3$:lla (60 ml), suolaliuoksella, kuivattiin ($MgSO_4$) ja haihdutettiin antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioli tahmeana aineena (1,07 g, 89 %). Raakaa ainetta käytettiin seuraavassa vaiheessa.

Tioli kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1 ja tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, eluoiden etyyliasetaatti/dikloorimetaanilla (75 : 25) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2S',4S')-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-karboksi-4-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,40 - 2,80 (br, 2H); 3,24 - 3,28 (m, 2H); 3,40 - 3,58 (br, 1H); 3,80 (dq, 1H); 3,99 (dd, 1H); 4,19 - 4,33 (m, 2H); 4,53 (t, 1H); 4,59 - 4,77 (m, 4H); 4,77 - 4,88 (m, 2H); 5,17 - 5,50 (m, 6H); 5,80 - 6,13 (m, 3H); 7,10 (dd, 1H); 7,82 - 7,95 (m, 1H); 8,00 (dd, 1H); 8,70 - 9,20 (br s, 1H).

Esimerkki 7

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo valmistettiin tarkoituksenmukaisesti suojatusta karbapeneemistä, kuten esimerkissä 6. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,30 (d, 6H); 1,84 (m, 1H); 2,80 - 2,93 (m, 2H); 3,36 (dd, 1H); 3,58 (m, 1H); 3,66 (dd, 1H); 3,81 (m, 1H); 4,09 (dq, 1H); 4,21 (m, 1H); 4,31 (dd, 1H); 7,56 (dd, 1H); 8,07 (m, 1H); 8,90 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 494 $(MH)^+$, 516 $(M + Na)^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

Allyyli-3-amino-4-fluoribentsoaatti

4-fluori-3-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 6 antamaan allyyli-4-fluori-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,87 (dt, 2H); 5,48 - 5,32 (m, 2H); 5,95 - 6,14 (m, 1H); 7,40 (dd, 1H); 8,30 - 8,38 (m, 1H); 8,76 (dd, 1H).

Ms (EI): 225 M^+; (CI): 225 M^+, 243 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu yhdiste pelkistettiin pääosin, kuten esimerkissä 2, paitsi että metanolia käytettiin liuottimena, antamaan allyyli-3-amino-4-fluoribentsoaatti. NMR

($CDCl_3$): δ 3,70 (br, 2H); 4,79 (dt, 2H); 5,25 - 5,44 (m, 2H); 5,96 - 6,09 (m, 1H); 7,02 (dd, 1H); 7,41 - 7,54 (m, 2H).

Ms (EI): 195 M^+; (CI): 196 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen etyyliasetaatti/heksaania (50 : 50) eluenttina antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,62 (br, 2H); 3,40 (dd, 1H); 3,98 - 4,20 (m, 2H); 4,60 (t, 1H); 4,67 (dt, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,2 - 5,5 (m, 4H); 5,8 - 6,15 (m, 2H); 7,16 (dd, 1H); 7,83 (ddd, 1H); 8,97 (dd, 1H); 9,27 (br, 1H).

Ms (EI): 451 $(MH)^+$; (CI): 451 $(MH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi, kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 6 ja tuote puhdistettiin kromatografisesti (eluoiden etyyliasetaatilla) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,90 (m, osa varjostettu, 1H); 2,78 (m, 1H); 3,22 (dd, 1H); 3,26 (m, 1H); 3,52 (m, 1H); 3,83 - 4,03 (m, 2H); 4,09 (dd, 1H); 4,22 (m, 1H); 4,53 (m, 1H); 4,53 - 4,65 (m, 4H); 4,80 (dt, 2H); 5,05 - 5,43 (m, 6H); 5,73 - 5,98 (m, 2H); 5,98 - 6,09 (m, 1H); 7,38 (dd, 1H); 7,78 (br s, 1H); 8,49 (m, 1H); 8,62 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 658 $(MH)^+$, 680 $(M + Na)^+$

Esimerkki 8

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-2,4-difluorifenyylikarbamoyylipyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo valmistettiin tarkoituksenmukaisesti suojatusta karbapeneemistä,

kuten esimerkissä 7. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,29 (d, 6H); 1,94 - 1,99 (m, osa varjostettu 1H); 2,81 - 3,07 (m, 1H); 3,05 (dd, 1H); 3,37 (dd, 1H); 3,56 (m, 1H); 3,75 (dd, 1H); 3,92 (q, 1H); 4,10 (dq, 1H); 4,29 - 4,38 (m, 2H); 7,22 (t, 1H); 8,07 (m, 1H).

Ms (+ve FAB): 512 $(MH)^+$, 534 (m +Na)$^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

Allyyli-3-amino-2,6-difluoribentsoaatti

2,6-difluori-3-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 6 antamaan allyyli-2,6-difluori-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): 4,90 (dt, 2H); 5,33 - 5,50 (m, 2H); 5,95 - 6,03 (m, 1H); 7,09 - 7,27 (ddd, 1H); 8,22 - 8,27 (ddd, 1H).

Ms (EI): 244 $(MH)^+$; (CI): 261 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu esteri pelkistettiin, kuten esimerkissä 2, paitsi että metanolia käytettiin liuottimena, antamaan allyyli-3-amino-2,6-difluoribentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,86 (dt, 2H); 5,27 - 5,49 (m, 2H); 5,95 - 6,09 (m, 1H); 6,77 - 6,86 (m, 2H).

Ms (EI): 213 M^+; (CI): 214 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti eluoiden etyyliasetaatti/heksaanilla (40 : 60), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-2,4-difluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,60 (br, 2H); 3,40 (dd, 1H); 3,95 - 4,19 (m, 2H); 4,57 (t, 1H); 4,67 (dt, 2H); 4,86 (dt, 2H); 5,20 - 5,50 (m, 4H); 5,81 - 6,13 (m, 2H); 6,95 (ddd, 1H); 8,4 (ddd, 1H); 9,2 (br, 1H).

MS (+ve FAB): 469 $(MH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 6. Tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, eluoitiin etyyliasetaatilla antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2S',4S')-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-kar-

boksi-2,4-difluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,26 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 1,80 (d, 1H); 2,62 (br, 2H); 3,19 - 3,36 (m, 2H); 3,44 (dd, 1H); 3,08 (q, 1H); 4,05 (dd, 1H); 4,19 - 4,33 (m, 2H); 4,50 - 4,80 (m, 5H); 4,86 (dt, 2H); 5,17 - 5,50 (m, 6H); 5,82 - 6,10 (m, 3H); 6,95 (dt, 1H); 8,38 (dt, 1H); 9,00 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 676 $(MH)^+$, 698 $(M + Na)^+$

Esimerkki 9

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3,4-dikarboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon trinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että käytettiin DMSO:n ja THF:n seosta. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,84 (m, osa varjostettu, 1H); 2,78 (m, 1H); 3,02 (dd, 1H); 3,23 (dd, 1H); 3,40 (kvintetti, 1H); 3,58 (dd, 1H); 3,83 (kvintetti, 1H); 4,00 (kvintetti, 1H); 4,20 (dd peittävä m, 2H); 7,92 (dd, 1H); 8,17 (d, 1H); 8,33 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 542 $(MH)^+$, (Na suola)$^+$; 564 (Na_2 suola)$^+$

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

2-karboksi-4-nitrobentsoehappo allyloitiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti antamaan allyyli-2-allyylioksikarbonyyli-4-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,85 (dt, 4H); 5,29 - 5,47 (m, 4H); 5,91 - 6,12 (m, 2H); 7,88 (d, 1H); 8,38 (dd, 1H); 8,63 (d, 1H).

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistäminen esimerkin 2 menetelmällä ja puhdistamalla normaalipainekromatografisesti silikageelillä käyttäen dikloorimetaani/dietyylieetterin pitoisuusgradienttia (100 : 0 → 90 : 10) antoi allyyli-2-allyylioksikarbonyyli-4-aminobentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 3,94 (br, 2H); 4,71 - 4,80 (m, 4H); 5,22 - 5,42 (m, 4H); 5,88 - 6,10 (m, 2H); 6,69 (dd, 1H); 6,75 (d, 1H); 7,74 (d, 1H).

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin normaalipainekromatografisesti silikageelillä käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista 20-%:iseen dietyylieetteriin dikloorimetaanissa, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3,4-diallyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,59 (br, 2H); 3,37 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,12 (dd, 1H); 4,56 (t, 1H); 4,67 (d, 2H); 4,77 (t, 4H); 5,25 - 5,42 (m, 6H); 5,84 - 6,11 (m, 3H); 7,79 (m, 3H); 9,52 (br, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi, joka kondensoitiin ilman jatkopuhdistusta karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin lopuksi normaalipainekromatografisesti silikageelillä käyttäen dikloorimetaani/etyyliasetaattia 3 : 2, eluenttina antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3,4-diallyylioksikarbonyyli-fenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,62 (br, 2H); 3,26 (dd peittävä m, 2H); 3,47 (br, 1H); 3,81 (kvintetti, 1H); 3,97 (dd, 1H); 4,19 - 4,29 (peittävä m, 2H); 4,53 (t, 1H); 4,62 - 4,82 (m, 8H); 5,19 - 5,44 (m, 8H); 5,84 - 6,07 (m, 4H); 7,82 (s, 3H); 9,30 (br, 1H).

Esimerkki 10

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-hydroksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo valmistettiin käyttäen esimerkin 1 menetelmää, paitsi että raaka happo oli riittävän puhdas eikä vaatinut käsittelyä kromatografisesti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,17 (d, 6H); 1,95 (m, varjostettu, 1H); 2,87 (m, varjostettu, 1H); 3,17 (dd, 1H); 3,25 (dd, 1H); 3,42 (dt, 1H); 3,75 (dd, 1H); 3,99 - 4,05 (m, 2H); 4,22 (dd, 1H); 4,33 (t, 1H); 6,76 (d, 1H); 7,56 (dd, 1H); 7,97 (d, 1H).

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2-hydroksi-5-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että lopullinen uuttoliuotin oli dietyylieetteri, antamaan allyyli-2-allyylioksi-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,82 (m, 4H); 5,26 - 5,55 (m, 4H); 5,97 - 6,13 (m, 2H); 7,49 (d, 1H); 8,41 (dd, 1H); 8,52 (d, 1H).

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli ja $NaHCO_3$ liuosta käytettiin tekemään emäksiseksi, antamaan allyyli-2-allyylioksi-5-aminobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,23 (br, 2H); 4,53 (dt, 2H); 4,79 (d, 2H); 5,21 - 5,49 (m, 4H); 5,93 - 6,14 (m, 2H); 6,80 (m, 2H); 7,16 (d, 1H).

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/dietyylieetterin pitoisuusgradienttia (100 : 0 → 85 : 15) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(4-allyylioksi-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,56 (br, 2H); 3,39 (dd, 1H); 4,01 (kvintetti, 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,52 (t, 1H); 4,60 (dt, 2H) 4,66 (m, 2H); 4,81 (dt, 2H); 5,23 - 5,51 (m, 6H); 5,85 - 6,13 (m, 3H); 6,91 (d, 1H); 7,76 (dd, 1H); 7,81 (d, 1H); 8,97 (br, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen eluointia pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(4-allyylioksi-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,57 (br, 2H); 3,25, 3,28 (dd peittävä kvintetti, 2H); 3,47 (br, 1H); 3,78 (kvintetti, 1H); 4,01 (dd, 1H); 4,18 - 4,27 (dd peittävä

m, 2H); 4,51 (t, 1H); 4,58 - 4,79 (m, 6H); 4,79 (dt, 2H); 5,19 - 5,51 (m, 8H); 5,83 - 6,12 (m, 4H); 6,93 (d, 1H); 7,79 (dd, 1H); 7,85 (d, 1H); 8,88 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 696 $(MH)^+$, 718 $(m + Na)^+$

Esimerkki 11

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3,5-dikarboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo valmistettiin käyttäen esimerkin 1 menetelmää, paitsi että raaka happo oli riittävän puhdas eikä tarvinnut käsittelyä kromatografisesti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,15 (d, 6H); 1,77 (m, osa varjostettu, 1H); 2,69 (m, osa varjostettu, 1H); 2,85 (m, osa varjostettu, 1H); 3,19 (dd, 1H); 3,33 - 3,51 (m, 2H); 3,71 (kvintetti, 1H); 3,94 (kvintetti, 1H); 4,03 (t, 1H); 4,15 (dd, 1H); 8,18 (t, 1H); 8,45 (d, 2H).

Ms (+ve FAB): 520 $(MH)^+$, 542 $(M + Na)^+$

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-karboksi-5-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, antamaan allyyli-3-allyylioksikarbonyyli-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,89 - 4,93 (m, 4H); 5,33 - 5,50 (m, 4H); 5,97 - 6,17 (m, 2H); 9,00 (t, 1H); 9,04 (d, 2H).

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 2 menetelmällä antamaan allyyli-3-allyylioksikarbonyyli-5-aminobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,91 (br, 2H); 4,80 - 4,84 (m, 4H); 5,26 - 5,45 (m, 4H); 5,96 - 6,11 (m, 2H); 7,53 (d, 2H); 8,09 (t, 1H).

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3,5-diallyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,60 (br, 2H); 3,40 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,14 (dd, 1H); 4,58 (t, 1H); 4,65 - 4,70 (m, 2H); 4,83 - 4,87 (m, 4H); 5,24 - 5,47 (m, 6H); 5,84 - 6,16 (m, 3H); 8,39 (d, 2H); 8,45 (t, 1H); 9,36 (br, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin tioliksi ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3,5-diallyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,23 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,63 (br, 2H); 3,25, 3,29 (dd peittävä m, 2H); 3,49 (br, 1H); 3,84 (kvintetti, 1H); 3,98 (dd, 1H); 4,19 - 4,30 (m, 2H); 4,55 (t, 1H); 4,63 - 4,78 (m, 4H); 4,84 (d, 4H); 5,19 - 5,45 (m, 8H); 5,84 - 6,12 (m, 4H); 8,46 (s, 3H); 9,18 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 724 $(MH)^+$, 746 $(M + Na)^+$

Esimerkki 12

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo

Liuokseen, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5S,6S,-8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (10 g, 12 mmol) ja Meldrumin happoa (5,2 g, 36 mM) THF:ssä (70 ml) argonsuojakaasussa ja valolta suojattuna, lisättiin tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (1,4 g, 1,2 mmol). Seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 30 minuuttia. Seos laimennettiin etyyliasetaatilla (230 ml) ja lisättiin liuokseen, jossa oli natriumbikarbonaattia (1,5 g) tislatussa vedessä (200 ml). 10-%:ista Pd-hiiltä (4 g) lisättiin ja seosta hydrattiin vedyn ilmakehässä kolme tuntia. Katalyytti suodatettiin, suodos uutettiin etyyliasetaatilla (2 x 100 ml) ja eetterillä (2 x 100 ml) ja vesipitoinen kerros väkevöitiin alennetussa paineessa n. 250 ml:ksi. Tämä liuos jaettiin kahteen osaan ja kumpikin näyte puhdistettiin antamalla sen kulkea 1 litran HP20SS-pylvään läpi käyttäen vettä eluenttina. Puhtaat jakeet kerättiin ja kylmäkuivattiin

antamaan otsikkoyhdiste vaaleankeltaisena kiinteänä aineena (3,5 g). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4, asemat herkkiä tarkalle liuotinsuhteelle): δ 1,19 (d, 6H); 1,94 (dt, 1H); 2,97 (dt, 1H); 3,13 (dd, 1H); 3,25 (dd, 1H); 3,42 (dt, 1H); 3,68 (dd, 1H); 3,94 (kvintetti, 1H); 4,02 (kvintetti, 1H); 4,22 (dd, 1H); 4,32 (t, 1H); 7,46 (t, 1H); 7,73 (dt, 1H); 7,88 (dm, 1H); 8,27 (t, 1H).

Ms (+ve FAB): 498 (Na suola), 520 (di-Na suola).

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

3-nitrobentsoehappo (50 g, 0,3 mol) allyloitiin samalla menetelmällä, kuten esimerkissä 1 on kuvattu. Kiinteää K_2CO_3 (82,7 g, 0,6 mol) lisättiin happoon kuivassa DMF:ssä (700 ml) sekoittaen. Reaktio oli hiukan eksoterminen ja seos muuttui paksuksi. Allyylibromidia (38,8 ml, 0,45 mol) lisättiin 30 minuutin aikana ja seos jätettiin sekoittumaan yön yli. Suodattamisen jälkeen piimaan läpi liuos haihdutettiin kuiviin alennetussa paineessa ja jäännös jaettiin eetterin ja vesipitoisen $NaHCO_3$:n kesken. Eeterikerros pestiin laimealla HCl:llä, suolaliuoksella ja vedellä, kuivattiin ja haihdutettiin antamaan keltainen öljy (62 g). NMR (DMSO-d_6): δ 4,85 - 4,92 (m, 2H); 5,27 - 5,5 (m, 2H); 5,97 - 6,2 (m, 1H); 7,85 (t, 1H); 8,37 - 8,42 (dt, 1H); 8,48 - 8,54 (dq, 1H); 8,64 (t, 1H).

Ilman jatkopuhdistusta tämä öljy pelkistettiin allyyli-3-aminobentsoaatiksi (53 g) käyttäen tina(II)kloridia ja esimerkissä 6 kuvattua menetelmää. NMR ($CDCl_3$): δ 3,6 (leveä, 2H); 4,77 - 4,82 (dt, 2H); 5,24 - 5,44 (m, 2H); 5,96 - 6,1 (m, 1H); 6,83 - 6,88 (m, 1H); 7,17 - 7,25 (m, 1H); 7,35 - 7,47 (m, 2H).

Edellä saatu allyyli-3-aminobentsoaatti (26,6 g, 0,15 mol) kondensoitiin 4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-karboksipyrrolidiinin kanssa (55,2 g, 0,15 mol) suspendoimalla tolueeniin (150 ml) ja EEDQ (44,5 g, 0,18 mol) lisättiin. Seosta sekoitettiin yön yli, laimennettiin EtOAc:llä (2 l) ja pestiin laimealla HCl:llä,

vedellä ja suolaliuoksella. EtOAc-faasi kuivattiin ja haihdutettiin ja jäännös uudelleenkiteytettiin etanolista antamaan (2S,4S)-4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidiini (67,7 g). NMR (DMSO-d_6): δ 1,93 (kvintetti, 1H); 2,9 (m, 1H); 3,35 (m, 1H); 3,91 - 4,14 (m, 2H); 4,49 (kvintetti, 1H); 4,81 (dd, 2H); 5,22 (dd, 2H); 5,2 - 5,44 (m, 2H); 5,95 - 6,10 (m, 1H); 7,47 (d, 2H); 7,66 (t, 2H); 7,8 - 7,93 (m, 2H); 8,18 - 8,3 (m, 2H); 10,31 (s, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti (52,7 g, 0,1 mol) muutettiin tioliksi liuottamalla se allyylialkoholiin (1 l), josta kaasu oli poistettu, ja lisäämällä vesipitoista NaOH (2 M, 50 ml) 0 °C:ssa. Kolmen tunnin kuluttua vesipitoista HCl (2 M, 52,5 ml) lisättiin, liuotin haihdutettiin ja jäännös jaettiin EtOAc:n ja suolaliuoksen kesken. EtOAc-faasi kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin. Tiolia käytettiin ilman jatkopuhdistusta.

Liuos, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia (59,68 g, 0,1 mol) asetonitriilissä (500 ml) ja metyleenikloridissa (120 ml), jäähdytettiin -15 °C:seen ja etyylidi-isopropyyliamiinia (52,5 ml) lisättiin hitaasti. (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolia (0,1 mol) asetonitriilissä (400 ml) lisättiin argonsuojakaasussa ja seos jätettiin seisomaan yön yli. Liuotin haihdutettiin ja jäännös altistettiin kromatografialle silikageelillä, eluoiden metyleenikloridilla, EtOAc:llä ja asetonitriilillä, antamaan 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti keltaisena kiinteänä aineena (52,6 g). NMR (DMSO-d_6+CD_3OD): δ 1,26 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,2 - 2,4 (m, 1H); 2,7 - 2,95 (m, 1H); 3,28 -

3,40 (m, 2H); 3,54 - 3,63 (m, 1H); 3,8 (t, 1H); 4,01 - 4,1 (q, 1H); 4,21 - 4,33 (m, 2H); 4,61 (dd, 1H); 4,73 (d, 2H); 5,17 - 5,45 (m, 6H); 5,93 - 6,11 (m, 1H); 7,37 - 8,22 (dublettien ja kaksoisdublettien monimutkainen sarja, 12H).

Esimerkki 13

Suojauksen poisto ja hydraus toteutettiin samalla tavalla kuin esimerkissä 12 on kuvattu, paitsi että käytettiin 4-nitrobentsyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,44 g). Hydrauksen jälkeen vesipitoinen kerros kylmäkuivattiin ilman HP20SS kromatografiaa, antamaan (1R,5S,6S,-8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo vaaleankeltaisena kiinteänä aineena (125 mg). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,9 (d, 6H); 1,98 - 2,06 (m, 1H); 2,85 - 2,98 (m, 1H); 3,16 - 3,21 (m, 1H); 3,26 (dd, 1H); 3,43 (kvintetti, 1H); 3,74 (dd, 1H); 3,91 - 3,97 (m, 1H); 4,0 (t, 1H); 4,23 (dd, 1H); 4,39 (t, 1H); 8,24 (t, 1H); 8,33 (t, 1H); 8,44 (t, 1H).

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

5-nitroisoftaalihappo (5 g) muutettiin mono-allyyliesteriksi käyttäen yhtä ekvivalenttia allyylibromidia (2 ml) käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 1 on kuvattu. Haluttu happo (2,7 g) uutettiin orgaanisesta faasista vesipitoisella $NaHCO_3$:lla. Orgaaninen kerros sisälsi di-allyyliesteriä (2,7 g). Monohappo, 3-allyylioksikarbonyyli-5-nitrobentsoehappo, saatiin valkoisena kiinteänä aineena. NMR ($CDCl_3$): 4,87 (d, 2H); 5,3 - 5,5 (q, 2H); 5,97 - 6,15 (m, 1H); 9,01 (t, 3H).

Ms (CI): 252 $(MH)^+$

DCCI (1,3 g) lisättiin liuokseen, jossa oli edellä saatua happoa (1,5 g) ja N-hydroksisukkiini-imidiä (0,76 g) metyleenikloridissa (50 ml) ja seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa kaksi tuntia. Valkoinen kiinteä aine suodatettiin ja liuos haihdutettiin kuiviin. Aktiivinen esteri puhdistettiin silikageelillä eluoiden metyleenikloridilla, liuotettiin sitten metyleenikloridiin ja käsiteltiin ammoniakkikaasulla 5 °C:ssa. Valkoinen kiinteä aine, joka saostui, oli 3-allyylioksikarbonyyli-5-nitrobentsamidi (1,1 g). NMR (DMSO-d_6): δ 4,9 (dt, 2H); 4,88 - 4,93 (m, 2H); 6,03 - 6,11 (m, 1H); 7,83 (leveä s, 1H); 8,55 (leveä s, 1H); 8,75 (t, 1H); 8,84 (t, 1H); 8,94 (t, 1H).
Ms (CI): 268 $(M + NH_4)^+$

3-allyylioksikarbonyyli-5-nitrobentsamidi (1 g) pelkistettiin $SnCl_2$:lla samanlaisella pelkistysmenetelmällä kuin esimerkissä 12, antamaan 3-allyylioksikarbonyyli-5-aminobentsamidi (0,5 g). NMR (DMSO-d_6): 4,78 (dt, 2H); 5,2 - 5,8 (leveä, 2H); 5,26 - 5,45 (m, 2H); 5,91 - 6,13 (m, 1H); 7,22 (leveä s, 1H); 7,27 (t, 1H); 7,33 (t, 1H); 7,59 (s, 1H).
Ms (CI): 221 $(MH)^+$

(2S,4S)-4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-karboksipyrrolidiini (0,75 g) muutettiin happokloridiksi ja saatettiin reagoimaan 3-allyylioksikarbonyyli-5-aminobentsamidin (0,45 g) kanssa samanlaisella menetelmällä kuin esimerkissä 12 on kuvattu. Raaka tuote kromatografoitiin silikageelillä, eluoiden EtOAc:lla, antamaan 4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)-pyrrolidiini (0,58 g). NMR (DMSO-d_6): δ 1,92 - 2,06 (m, 1H); 2,3 (s, 3H); 2,79 - 2,83 (m, 1H); 3,38 (dd, 1H); 3,97 - 4,12 (m, 2H); 4,49 (dd, 1H); 4,83 (dt, 2H); 5,19 (dd, 2H); 5,25 - 5,43 (m, 2H); 5,97 - 6,11 (m, 1H); 7,31 (leveä s, 2H); 7,54 (d, 2H); 8,04 (d, 2H); 8,12 (t, 1H); 8,26 (t, 1H); 8,31 (t, 1H); 10,0 (s, 1H).

Tioli muodostettiin edellä saadusta tioasetaatista esimerkissä 12 kuvatulla menetelmällä.

Liuos, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,6 g) ja (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-aminokarbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolia (0,48 g) asetonitriilissä (20 ml), saatettiin reagoimaan samalla tavalla, kuten esimerkissä 12 on kuvattu. Puhdistettiin flashkromatografisesti, eluoitiin EtOAc:lla, sitten 5-%:isella MeOH/EtOAc antamaan 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti keltaisena kiinteänä aineena (0,44 g). NMR (DMSO-d_6): δ 1,19 - 1,22 (d, 6H); 2,0 - 2,11 (m, 1H); 2,8 - 2,92 (m, 1H); 3,32 (dd, 1H); 3,42 - 3,62 (m, 2H); 3,92 - 4,2 (m, 2H); 4,31 (leveä d, 1H); 4,53 (q, 1H); 4,84 (d, 2H); 4,98 - 5,46 (m, 6H); 5,98 - 6,14 (m, 1H); 7,42 - 8,52 (dublettien ja kaksoisdublettien monimutkainen sarja).

Esimerkki 14

Suojauksen poisto ja hydraus suoritettiin samanlaisella menetelmällä kuin esimerkissä 12 on kuvattu, paitsi että käytettiin p-nitrobentsyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-allyylioksikarbonyyli-6-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia. Hydrauksen jälkeen vesipitoinen kerros kylmäkuivattiin antamaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-6-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,3 - 1,38 (2xd, 6H); 2,0 - 2,11 (m, 1H); 2,85 - 2,96 (m, 1H); 3,09 (dd, 1H); 3,37 (dd, 1H); 3,53 (kvintetti, 1H); 3,79 (dd, 1H);

3,94 (t, 1H); 4,16 (t, 1H); 4,33 (dd, 1H); 4,43 (t, 1H); 7,87 (dd, 1H); 7,97 (d, 1H); 9,12 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 541 (Na suola, 563 (di-Na suola).

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

Nitrotereftaalihappo (6,33 g) metyleenikloridissa (75 ml) ja THF:ssä (15 ml) muutettiin monohappokloridiksi käyttäen oksalyylikloridia (2,63 ml), DMF (2,55 ml) ja N-metyylimorfoliinia (7,95 ml) -10 °C:ssa. Yhden tunnin kuluttua liuottimet poistettiin ja tuote liuotettiin ilman jatkopuhdistusta allyylialkoholiin (20 ml) ja THF:ään (10 ml) ja sekoitettiin yön yli ympäristön lämpötilassa. Liuottimet poistettiin ja jäännös jaettiin EtOAc:n ja vesipitoisen $NaHCO_3$:n kesken. $NaHCO_3$-liuoksen happamointi ja uuttaminen EtOAc:lla antoi tuotteen, 4-allyylioksikarbonyyli-2-nitrobentsoehapon (6,8 g). NMR ($CDCl_3$): δ 4,89 (d, 2H); 5,31 - 5,49 (m, 2H); 5,95 - 6,15 (m, 1H); 7,94 (d, 1H); 8,36 (dd, 1H); 8,54 (d, 1H). Tämä happo puhdistamattomana muutettiin edellä kuvatulla menetelmällä happokloridiksi, joka liuotettiin THF:ään (100 ml) 0 °C:ssa. Ammoniakkikaasua kuplitettiin liuokseen, kunnes reaktio oli täydellinen. Liuos jaettiin EtOAc:n ja veden kesken ja orgaanisesta jakeesta saatu tuote puhdistettiin silikageelillä, eluoiden metyleenikloridilla ja sen jälkeen EtOAc:lla. Tuote (4 g), joka sisälsi pienen määrän epäpuhtauksia, pelkistettiin $SnCl_2$:lla samalla tavalla kuin esimerkissä 12, antamaan 4-allyylioksikarbonyyli-2-aminobentsamidi. NMR (DMSO-d_6): δ 4,79 (d, 2H); 5,22 - 5,46 (m, 2H); 5,91 - 6,13 (m, 1H); 7,02 (dd, 1H); 7,37 (d, 1H); 7,61 (d, 1H).

(2S,4S)-4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-karboksipyrrolidiini (1,58 g) muutettiin happokloridiksi suspendoimalla metyleenikloridissa (25 ml) ja lisäämällä oksalyylikloridia (1,52 ml). Muutama tippa DMF lisättiin. Kahden tunnin kuluttua liuottimet haihdutettiin ja happokloridia liuotettuna metyleenikloridiin (10 ml)

lisättiin argonsuojakaasussa liuokseen, jossa oli 4-allyylioksikarbonyyli-2-aminobentsamidia (0,52 g) THF:ssä (10 ml) ja metyleenikloridissa (5 ml), joka sisälsi N-metyylimorfoliinia (0,38 ml), 0 °C:ssa. Reaktio jätettiin seisomaan yön yli ja jaettiin metyleenikloridin ja laimean vesipitoisen HCl:n kesken. Metyleenikloridijae pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin. Puhdistus silikageelikromatografisesti, eluoiden kasvavilla pitoisuuksilla EtOAc metyleenikloridissa, antoi (2S,4S)-4-asetyylitio-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyyli-6-karbamoylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidiinin (0,84 g). NMR ($CDCl_3$): δ 2,25 (kvintetti, 1H); 2,29 (s, 3H); 2,83 (m, 1H); 3,53 (dd, 1H); 4,02 (kvintetti, 1H); 4,2 (dd, 1H); 4,49 (dd, 1H); 4,85 (d, 2H); 5,23 - 5,46 (m, 2H); 5,97 - 6,13 (m, 1H); 7,31 - 7,5 (leveä, 2H); 7,57 (d, 1H); 7,75 (dd, 1H); 7,81 - 7,95 (leveä, 2H); 9,27 (d, 1H).

Tioli muodostettiin edellä saadusta tioasetaatista samanlaisella menetelmällä kuin esimerkissä 12 on kuvattu.

Liuos, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia ja (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(2-karbamoyyli-5-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolia asetonitriilissä (20 ml), saatettiin reagoimaan, kuten esimerkissä 12 on kuvattu, antamaan 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksi-3-karbonyyli-6-karbamoylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti keltaisena vaahtona (1,24 g). NMR 1,23 - 1,35 (m, 6H); 2,2 - 2,38 (m, 1H); 2,77 - 2,93 (m, 1H); 3,27 (dd, 1H); 3,28 - 3,42 (m, 1H); 3,65 - 3,92 (m, 2H); 4,17 - 4,35 (m, 3H); 4,53 (t, 1H); 4,83 (d, 2H); 4,92 - 5,44 (m, 6H); 5,93 - 6,11 (m, 1H); 6,22 - 6,58 (leveä, 2H); 7,35 - 8,23 (dublettien ja kaksoisdublettien monimutkainen sarja, 10H); 9,20 (d, 1H).

Esimerkki 15

Suojauksen poisto ja puhdistaminen toteutettiin samalla tavalla kuin esimerkissä 2 on kuvattu (lopputuotteen kromatografia suoritettiin HP20SS-pylväässä) paitsi että käytettiin allyyli- (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia. Tarkoituksenmukaiset vesipitoiset jakeet pylväästä kylmäkuivattiin antamaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-karboksifenyylikarbamoyyli)-pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4, rotameerien seos): δ 1,17 (d, 6H); 1,75 (m, 2H); 2,65, 2,72 (2 x s, peittävä m, 4H); 3,00, 3,01 (2 x s, peittävä m, 4H); 3,17 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,55 (m, 2H); 3,96 (m, 2H); 4,15 (dd, 1H); 7,43 (t, 1H); 7,68 (m, 1H); 8,20 - 8,40 (2 x d, 1H).

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-nitrobentsoehappo (1 g) muutettiin allyyliesteriksi samalla tavalla, kuten esimerkissä 1 on kuvattu 3-allyylioksi-5-aminobentsoaatin muodostamiseksi, antamaan allyyli-2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-nitrobentsoaatti (0,88 g).

NMR (DMSO-d_6): δ 2,45 (s, 3H); 2,97 (s, 3H); 4,79 (dd, 2H); 5,28 - 5,47 (m, 2H); 5,9 - 6,1 (m, 1H); 7,81 (t, 1H); 8,28 - 8,4 (dq, 2H).

Ms (CI): 279 $(MH)^+$

Allyyliesteri (0,44 g) pelkistettiin $SnCl_2$:lla samanlaisella pelkistysmenetelmällä, kuten esimerkissä 1 on kuvattu, antamaan allyyli-2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-aminobentsoaatti (0,41 g) kirkkaana punaisena öljynä.

NMR ($CDCl_3$): δ 2,24 (s, 3H); 3,06 (s, 3H); 3,64 (leveä, 2H); 4,68 (dd, 2H); 5,17 - 5,37 (m, 2H); 5,82 - 6,02 (m, 1H); 6,83 (dd, 1H); 7,09 - 6,85 (m, 1H); 7,37 (dd, 1H).

Ms (CI): 249 $(MH)^+$

Allyyli-2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-aminobentsoaatti (0,39 g, 1,4 mM) kondensoitiin (2S,4S)-4-asetyylitio-1-alloksikarbonyyli-2-karboksipyrrolidiinin kanssa (0,42 g, 1,54 mmol) käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä kuvattu 12 EEDQ-menetelmä antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitioasetaatti (0,84 g). NMR ($CDCl_3$, rotameerien seos): δ 2,32 (s, 3H); 2,38 (br m, osa varjostettu, 1H); 2,38 (br m, osa varjostettu, 1H); 2,74, 2,76 (2 x s peittävä br m, 4H); 3,11, 3,14 (2 x s, 3H); 3,36 - 3,45 (m, 1H); 3,98 - 4,14 (m, 2H); 4,50 (dd, 1H); 4,56 - 4,79 (m, 4H); 5,16 - 5,44 (m, 4H); 5,93 - 6,06 (m, 2H); 7,45 (t, 1H); 7,81 - 7,86 (m, 1H); 8,33 - 8,41 (2 x d, 1H); 8,60 (br, 1H).
Ms (CI): 504 $(MH)^+$

Tioli muodostettiin edellä saadusta tioasetaatista samanlaisella menetelmällä kuin esimerkissä 12 on kuvattu.

Liuos, jossa oli allyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,73 g, 1,47 mmol) ja (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli)-2-(2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolia asetonitriilissä (12 ml), saatettiin reagoimaan samanlaisella menetelmällä kuin on kuvattu esimerkin 1 vaiheessa "suojatun karbapeneemin valmistus", antamaan allyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(2-dimetyyliaminokarbonyyli-3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti valkoisena kiinteänä aineena (0,63 g). NMR ($CDCl_3$, rotameerien seos): δ 1,24 (d, 3H); 1,35 (2 x d, 3H); 1,98 (br, 1H); 2,34 (br, 1H); 2,73 (s, 3H); 3,11, 3,13 (2 x s, 3H); 3,22 - 3,46 (m, 3H); 3,66 - 3,85 (m, 1H); 4,00 - 4,26 (m, 3H); 4,50 (t, 1H); 4,62 - 4,80 (m, 6H); 5,08 - 5,46 (m, 6H); 5,83 - 6,06 (m, 3H); 7,46 (td, 1H); 7,86 (d, 1H); 8,29 (m, 1H); 8,55 (br, 1H).
Ms (CI): 711 (HH)+

Esimerkki 16

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dikaliumsuola

Liuokseen, jossa oli 4-allyyli-(1R,5S,6S,8R,-2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,4 g, 0,53 mmol) DMF:ssä (20 ml), lisättiin Meldrumin happoa (0,2 g, 1,39 mmol) ja tetrakistrifenyylifosfiinipalladiumia (40 mg, 0,035 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin yksi tunti ympäristön lämpötilassa. Liuos, jossa oli 1 M kaliumfosfaattipuskuria (20 ml) ja sinkkijauhetta (0,5 g), lisättiin liuokseen yhden tunnin kuluttua ympäristön lämpötilassa, reaktioseos suodatettiin piimaalla ja suodoksen pH säädettiin arvoon 7,5 kiinteällä kaliumkarbonaatilla. Liuos suodatettiin, väkevöitiin alennetussa paineessa ja saatu jäännös puhdistettiin käänteisfaasikromatografisesti (Nucleosil C18), käyttäen vettä eluenttina, antamaan kylmäkuivaamisen jälkeen, otsikkoyhdiste (78 mg, 28 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,15 (d, 3H); 1,17 (d, 3H); 1,74 (m, 1H); 2,06 (s, 3H); 2,66 (m, 1H); 2,84 (m, 1H); 3,20 (dd, 1H); 3,40 (m, 2H); 3,70 (m, 1H); 3,97 (m, 2H); 4,16 (dd, 1H); 7,92 (s, 1H); 7,94 (s, 1H); 8,19 (s, 1H),

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

Liuosta, jossa oli (2S,4S)-4-asetyylitio-2-karboksi-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)pyrrolidiiniä (1 g, 1,8 mmol) ja EEDQ (0,53 g, 3 mmol) kloroformissa (70 ml), sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yksi tunti. 3-asetamido-5-aminobentsoehappoa (0,53 g, 2,7 mmol) ja di-isopropyylietyyliamiinia (0,7 ml, 4 mmol) lisättiin sitten reaktioseokseen, jota sekoitettiin kaksi tuntia ympäristön

lämpötilassa. Liuottimen haihduttamisen jälkeen raaka yhdiste puhdistettiin kromatografisesti HP20SS:llä käyttäen metanoli/vettä (80 : 20) eluenttina. Liuottimien osittainen haihduttaminen ja kylmäkuivaaminen antoi (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatin (1 g, 67 %).

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti liuotettiin seokseen, jossa oli metanolia (60 ml) ja vettä (20 ml), ja liuoksen pH säädettiin arvoon 11 1 M vesipitoisella NaOH-liuoksella. 30 minuutin kuluttua ympäristön lämpötilassa reaktioseos neutraloitiin metanolilla, haihdutettiin ja puhdistettiin kromatografisesti HP20SS:llä käyttäen metanoli/vettä (80 : 20) eluenttina. Haihduttaminen ja kylmäkuivaaminen antoi (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolin (0,68 g, 74 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 2,05 (s, 3H); 2,05 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 3,20 - 3,80 (m, 2H); 4,00 (m, 1H); 4,42 (m, 1H); 5,40 (br s, 2H); 7,45 - 8,30 (m, 7H).

Liuokseen, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5S,-6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,6 g, 1,2 mmol) DMF:ssä (12 ml), lisättiin peräkkäisesti di-isopropyylietyyliamiinia (0,6 ml, 3,4 mmol), (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolia (0,6 g, 1,2 mmol), tri-n-butyylifosfiinia (0,6 ml, 2,4 mmol) ja vettä (0,1 ml, 5,5 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli 4 °C:ssa, haihdutettiin kuiviin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti HP20SS-hartsilla käyttäen asetonitriili/vettä (40 : 60) eluenttina. Haihduttaminen ja kylmäkuivaus antoi allyyli-(1R,5R,6S,8R,2S',4S')-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-asetamidofenyy-

likarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatin (0,8 g, 88 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,15 (d, 3H); 1,17 (d, 3H), 2,05 (s, 3H); 2,17 (m, 1H); 2,81 (m, 1H); 3,26 (dd, 1H); 3,36 (td, 1H); 4,56 - 4,74 (m, 2H); 5,02 - 5,73 (m, 4H); 5,91 (m, 1H); 7,47 (d, 1H); 7,68 (d, 1H); 7,85 - 7,99 (m, 3H); 8,20 - 8,29 (m, 2H),

Esimerkki 17

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Otsikkoyhdiste valmistettiin 4-allyyli-(1R,5S,-6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatin di-isopropyylietyyliamiinisuolasta, käyttäen samanlaista menetelmä kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,14 (d, 3H); 1,16 (d, 3H); 1,75 (m, 1H); 2,07 (s, 3H); 2,73 (m, 1H); 2,96 (dd, 1H); 3,21 (dd, 1H); 3,39 (m, 1H); 3,54 (dd, 1H); 3,78 (m, 1H); 3,96 (m, 1H); 4,08 (t, 1H); 4,18 (dd, 1H); 7,69 (dd, 1H); 8,18 (d, 1H); 8,42 (d, 1H),

MS (+ve FAB): 571 $(MH)^+$, (K suola)

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitioasetaatti valmistettiin 2-asetamido-5-aminobentsoehaposta käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,95 (m,1H); 2,12 (s, 3H); 2,34 (s, 3H); 2,77 (m, 1H); 3,32 (m, 1H); 3,93 - 4,50 (m, 3H); 5,04 - 5,32 (m, 2H); 7,47 - 8,42 (m, 7H).

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitioli valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbo-

nyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16.

Allyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatin di-isopropyylietyyliamiinisuola valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(4-asetamido-3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolista ja allyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaatista käyttäen samanlaista menetelmä kuin esimerkissä 16. NMR ($CDCl_3$) δ: 1,14 - 1,80 (m, 23H); 2,17 (s, 3H); 2,67 (m, 1H); 3,00 - 3,30 (m, 3H); 3,35 - 3,90 (m, 4H); 3,90 - 4,40 (m, 3H); 4,40 - 4,75 (m, 3H); 5,00 - 5,75 (m, 4H); 5,70 - 6,10 (m, 1H); 7,38 - 8,65 (m, 7H).

Esimerkki 18

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dikaliumsuola

Otsikkoyhdiste valmistettiin allyyli- (1R,5S,6S,-8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,16 (d, 3H); 1,17 (d, 3H); 1,74 (m, 1H); 2,64 (m, 1H); 2,81 (dd, 1H); 3,01 (s, 3H); 3,20 (m, 1H); 3,40 (m, 2H); 3,68 (m, 1H); 3,96 (m, 2H); 4,17 (dd, 1H); 7,54 (s, 1H); 7,82 (s, 1H); 8,00 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 607 $(M + H)^+$ monokaliumsuolalle; 645 $(M + H)^+$ dikaliumsuolalle.

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

(2S,4S)-1-(4-(nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti valmistettiin 3-amino-5-metyylisulfoniamidobentsoehaposta käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 2,00 (m, 1H); 2,30 (s, 3H); 2,84 (m, 1H); 2,95 (s, 3H); 3,20 - 3,51 (m, 1H); 3,83 - 4,20 (m, 2H); 4,30 - 4,58 (m, 1H); 5,20 (m, 2H); 7,48 - 8,22 (m, 7H).

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioli valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 2,10 (m, 1H); 2,78 (m, 1H); 2,99 (s, 3H); 3,43 (m, 1H); 3,68 (m, 1H); 4,05 (m, 1H); 4,42 (m, 1H); 5,13 - 5,32 (m, 3H); 7,50 - 8,82 (m, 7H).

Allyyli-(1R,5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-metyylisulfoniamidofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiosta ja allyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 3H); 1,22 (d, 3H); 1,96 (m, 1H); 2,83 (m, 1H); 3,00 (s, 3H); 2,26 - 3,57 (m, 3H); 3,87 - 4,28 (m, 4H); 4,42 - 4,76 (m, 3H); 5,08 - 5,42 (m, 4H); 5,92 (m, 1H); 7,22 - 8,22 (m, 7H).

Esimerkki 19

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli 4-nitrobentsyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (0,5 g, 0,56 mmol) DMF:ssä (5 ml) ja vettä (5 ml), lisättiin 1 M natriumfosfaattipuskuriliuosta (5 ml) ja sen jälkeen sinkkijauhetta (1 g). Reaktioseosta sekoitettiin yksi tunti ja liuoksen pH säädettiin arvoon 8 lisäämällä kyllästettyä vesipitoista natriumvetykarbonaattiliuosta. Suodattamisen jälkeen piimaalla suodos väkevöitiin ja puhdistettiin preparatiivisella kromatografialla (Nucleosil C-18) käyttäen vettä eluenttina. Haluttujen jakeiden väkevöinti ja kylmäkuivaus antoi otsikkoyhdisteen (44 mg, 12 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,15 (d, 3H); 1,16 (d, 3H); 1,78 (m, 1H); 2,73 (m, 1H); 2,92 (m, 1H); 3,21 (dd, 1H); 3,40 (m, 1H); 3,48 (m, 1H); 3,75 (m, 1H); 3,97 (m, 1H); 4,03 (m, 1H); 4,18 (m, 1H); 7,93 (s, 1H); 8,11 (s, 1H); 8,29 (s, 1H).

MS (-ve FAB): 576 $(M-H)^-$ mononatriumsuolalle; 598 $(M-H)^-$ dinatriumsuolalle.

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti valmistettiin 3-amino-5-sulfobentsoehaposta käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,97 (m, 1H); 2,30 (s, 3H); 2,80 (m, 1H); 3,37 (m, 1H); 3,86 - 4,15 (m, 2H); 4,46 (m, 1H); 5,05 - 5,28 (m, 2H); 7,46 - 9,25 (m, 7H).

(2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioli

valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 16. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,25 (d, 3H); 1,27 (d, 3H); 2,07 (m, 1H); 2,70 (m, 1H); 3,4 (m, 1H); 3,67 (m, 1H); 3,99 (m, 1H); 4,49 (m, 1H); 5,07 - 5,30 (m, 2H); 7,47 - 8,40 (m, 7H).

4-nitrobentsyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti valmistettiin (2S,4S)-1-(4-nitrobentsyylioksikarbonyyli)-2-(3-karboksi-5-sulfofenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolista ja 4-nitrobentsyyli-(1R,5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyyli-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaatista käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 1. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 3H); 1,21 (d, 3H); 1,96 (m, 1H); 2,77 (m, 1H); 3,18 - 3,47 (m, 2H); 3,66 - 4,90 (m, 6H); 5,04 - 5,50 (m, 4H); 7,30 - 8,35 (m, 11H).

Esimerkki 20

(5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)karbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Sekoituksenalaiseen liuokseen, jossa oli allyyli-(5R,6S,8R,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli)-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)karbapeneemi-3-karboksylaattia (0,185 g, 0,296 mmol) CH_2Cl_2:ssa (4 ml), ympäristön lämpötilassa, lisättiin peräkkäisesti N-metyylianiliinia (0,190 g, 1776 mmol), vettä (4 ml), natriumbikarbonaattia (100 mg) ja tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (34 mg, 0,029 mmol). 10 minuutin kuluttua vesipitoinen faasi erotettiin ja injektoitiin preparatiiviseen HLPC-pylvääseen C18 antamaan otsikkoyhdiste (43 mg, 27 %). NMR (DMSO-d_6 + etikka-

happo-d_4): 1,16 (d, 3H); 1,81 (m, 1H); 2,64 (m, 1H); 2,84 (m, 1H); 3,26 (m, 3H); 3,4 (m, 1H); 3,67 (m, 1H); 3,94 (m, 2H); 4,12 (m, 1H); 7,42 (t, 1H); 7,65 (d, 1H); 7,83 (d, 1H); 8,27 (s, 1H).

Lähtöaine allyyli-(5R,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)karbapeneemi-3-karboksylaatti valmistettiin 67 %:n saantona käyttäen samanlaista menetelmää kuin esimerkissä 1 on kuvattu, saattamalla (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-tioli, kuvattu esimerkissä 4, reagoimaan allyyli-(5R,6S,8R)-6-(1-hydroksietyyli)-2-difenyylifosforyylioksikarbapeneemi-3-karboksylaatin kanssa (EP-A-126 780 ja EP-A-208 889).

Esimerkki 21

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-syaanifenyylikarbamoyylipyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Liuokseen, jossa oli allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (358 mg, 0,54 mmol) ja 2,2-dimetyyli-1,3-dioksaani-4,6-dionia (388 mg, 2,7 mmol) seoksessa, jossa oli DMF (8 ml) ja THF (4 ml), argonsuojakaasussa, lisättiin tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (62 mg, 0,054 mM). Liuosta sekoitettiin argonsuojakaasussa suojaten valolta 1,75 tuntia ja liuotin poistettiin haihduttamalla. Jäännös liuotettiin seokseen, jossa oli THF (6 ml) ja DMF (2 ml) ja liuos, jossa oli natrium-2-etyyliheksanoaattia (295 mg, 1,77 mmol) THF:ssä (4 ml), lisättiin, mitä seurasi dietyylieetteri (20 ml). Saatu sakka sentrifugoitiin ja kirkas kerros poistettiin. Tuote pestiin kahdesti suspendoimalla uudestaan seokseen, jossa oli THF (4 ml) ja dietyylieette-

riä (10 ml), sitten dietyylieetterissä (20 ml), mitä seurasi sentrifugointi. Raaka tuote liuotettiin veteen (20 ml) ja pH säädettiin arvoon 7,4 $NaHCO_3$:lla. Suodattamisen jälkeen liuos kromatografoitiin HP20SS hartsilla ja jakeet yhdistettiin tarkoituksenmukaisesti antamaan otsikkoyhdiste (206 mg, 70 %). NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): 1,17 (d, 6H); 1,95 (m, osa varjostettu, 1H); 2,83 (m, 1H); 3,09 (dd, 1H); 3,25 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,64 (dd, 1H); 3,88 (kvintetti, 1H); 4,02 (kvintetti, 1H); 4,22 (dd, 1H); 4,31 (t, 1H); 8,00 (s, 1H); 8,28 (t, 1H); 8,46 (t, 1H).

Ms (+ve FAB): 523 $(MH)^+$, (Na suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-syaani-5-nitrobentsoehappo

3-amino-5-nitrobentsoehappo (3,64 g, 20 mmol) liuotettiin väkevään vetykloridihappoon (20 ml), laimennettiin vedellä (75 ml), jäähdytettiin 0 °C:seen ja lisättiin 30 minuutin aikana liuokseen, jossa oli $NaNO_2$ (1,38 g, 20 mM) vedessä (10 ml). pH säädettiin arvoon 6,2 kyllästetyllä Na_2CO_3-liuoksella. Seos, jossa oli $CuSO_4$. 5 H_2O (10 g, 42 mmol) vedessä (40 ml) ja KCN (10 g, 154 mmol) vedessä (20 ml), kuumennettiin 65 °C:seen, liuos, jossa oli diatsoniumsuolaa, lisättiin 15 minuutin aikana ja seosta palautusjähdytettiin 40 minuuttia. Jäähdyttämisen ja happamoinnin jälkeen 2 M vetykloridihapolla orgaaniset aineet uutettiin etyyliasetaatilla (2 x 200 ml). Yhdistetyt uutteet pestiin vesipitoisella NaH_2PO_4:llä, vedellä ja suolaliuoksella ja kuivattiin Na_2SO_4:llä. Haihduttaminen antoi 3-syaani-5-nitrobentsoehapon (3,6 g, 94 %).

NMR (DMSO-d_6): δ 8,69 (t, 1H); 8,80 (t, 1H); 8,97 (t, 1H).

Ms (-ve FAB): 191 $(M-H)^-$

IR (nujol): v 2220 cm^{-1}

3-syaani-5-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että kromatografisessa puhdistuksessa käytettiin petrolieetteri/etyyliasetaatin seosta

(5 : 1), antamaan allyyli-3-syaani-5-nitrobentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 4,91 (dt, 2H); 5,39 - 5,53 (m, 2H); 5,99 - 6,19 (m, 1H); 8,78 (t, 1H); 8,81 (t, 1H); 9,04 (t, 1H). Ms (+ve FAB): 202 M^+: 232 $(M + NH_4)^+$; (molemmat aminoyhdisteelle ammoniakkiherkistyksellä)

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-5-syaanibentsoaatin, sp. 112 - 113 °C. NMR (DMSO-d_6): δ 4,79 (dt, 2H); 5,25 - 5,45 (m, 2H); 5,94 - 6,13 (m peittävä br, 1H); 7,10 (t, 1H); 7,37 (t, 1H); 7,48 (t, 1H).
Ms (+ve FAB): 202 M^+; 232 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/etyyliasetaatin seosta (19 : 1 → 9 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,59 (br, 2H); 3,38 (dd, 1H); 3,97 - 4,17 (m, 2H); 4,56 (t, 1H); 4,69 (d, 2H); 4,84 (d, 2H); 5,26 - 5,48 (m, 4H); 5,85 - 6,14 (m, 2H); 8,03 (br s, 1H); 8,18 (t, 1H); 8,29 (br s, 1H); 9,69 (br, 1H).

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin, kuten esimerkissä 1, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioli. NMR ($CDCl_3$): δ 1,90 (d, 1H); 2,52 (br, 1H); 2,65 (br, 1H); 3,34 - 3,52 (m, 2H); 4,07 (dd, 1H); 4,54 (t, 1H); 4,69 (d, 2H); 4,84 (d, 2H); 5,27 - 5,47 (m, 4H); 5,87 - 6,11 (m, 2H); 8,01 (s, 1H); 8,21 (t, 1H); 8,28 (s, 1H); 9,56 (br, 1H).

Edellä saatu tioli kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/etyyliasetaatin (3 : 2 → 2 : 3) pitoisuusgradienttia, antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-

4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$); δ 1,27 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,67 (v br, 2H); 3,21 - 3,33 (peittävä m, 2H); 3,53 (br, 1H); 3,83 (kvintetti, 1H); 3,93 (dd, 1H); 4,20 - 4,31 (peittävä m, 2H); 4,54 (t, 1H); 4,63 - 4,86 (m, 6H); 5,21 - 5,47 (m, 6H); 5,82-6,11 (m peittävä br, 3H); 8,05 (t, 1H); 8,33 (br s, 1H); 8,37 (br s, 1H); 9,35 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 665 $(MH)^+$; 687 $(H + Na)^+$

Esimerkki 22

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metoksi-fenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksi-etyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 21 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,17 (d, 3H); 1,18 (d, 3H); 1,83 (m, osa varjostettu, 1H); 2,76 (kvintetti, 1H); 2,98 (dd, 1H); 3,22 (dd, 1H); 3,39 (kvintetti, 1H); 3,56 (dd, 1H); 3,81 (s peittävä m, 4H); 4,00 (kvintetti, 1H); 4,15, 4,18 (t peittävä dd, 2H); 7,22 (t, 1H); 7,58 (t, 1H); 7,84 (t, 1H).
Ms (-ve FAB): 505 $(M - H)^-$, (Na suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-hydroksi-5-nitrobentsoehappo metyloitiin pääosin, kuten esimerkin 1 allylointivaiheessa, paitsi että allyylibromidi korvattiin dimetyylisulfaatilla ja puhdistus kromatografisesti oli tarpeetonta, antamaan metyyli-3-metoksi-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,94 (s,3H); 3,97 (s, 3H); 7,87 (t, 1H); 7,90 (t, 1H); 8,44 (t, 1H).

Edellä esteri (3,45 g, 16 mmol) liuotettiin THF:ään (100 ml), käsiteltiin 1 M NaOH:lla (25 ml) ja sekoitettiin ympäristön lämpötilassa viisi tuntia. Liuottimen poistamisen jälkeen jäännöstä käsiteltiin vedellä (50 ml), tehtiin happamaksi 2 M rikkihapolla ja uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 60 ml). Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestiin vesipitoisella NaH_2PO_4:llä, suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Haihduttaminen antoi 3-metoksi-5-nitrobentsoe-

hapon, joka allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että kromatografisessa puhdistuksessa käytettiin petroli/etyyliasetaatin (6 : 1) seosta, antamaan allyyli-3-metoksi-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 3,95 (s, 3H); 4,87 (dt, 2H); 5,31 - 5,48 (m, 2H); 5,95 - 6,15 (m, 1H); 7,89 (t, 1H); 7,92 (t, 1H); 8,46 (t, 1H).

Ms (CI): 237 M^+; 255 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistäminen esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-5-metoksibentsoaatin. NMR (DMSO-d_6): δ 3,72 (s, 3H); 4,50 (v br, 2H); 4,75 (dt, 2H); 5,25 - 5,43 (m, 2H); 5,95 - 6,11 (m, 1H); 6,47 (t, 1H); 6,75 (t, 1H); 6,93 (t, 1H).

Ms (CI): 208 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen petroli/etyyliasetaatin (5 : 2 → 2 : 1) pitoisuusgradienttia, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,59 (br, 2H); 3,38 (dd, 1H); 3,85 (s, 3H); 4,02 (kvintetti, 1H); 4,15 (dd, 1H); 4,55 (t, 1H); 4,68 (d, 2H); 4,81 (d, 2H); 5,22 - 5,46 (m, 4H); 5,83 - 6,13 (m, 2H); 7,35 (t, 1H); 7,58 (br s, 1H); 7,64 (t, 1H); 9,12 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 463 $(MH)^+$; 485 $(H + Na)^+$

Edeltävä tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/etyyliasetaatin (60 : 40 → 45 : 55) pitoisuusgradienttia, antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,25 (d, 3H); 1,37 (d, 3H); 2,64 (v br, 2H); 3,21 - 3,33 (peittävä m, 2H); 3,48 (br, 1H); 3,80 (kvin-

tetti, 1H); 3,85 (s, 3H); 4,01 (dd, 1H); 4,19 - 4,29 (peittävä m, 2H); 4,53 (t, 1H); 4,62 - 4,83 (m, 6H); 5,20 - 5,45 (m, 6H); 5,84 - 6,11 (m peittävä br, 3H); 7,25 (t, 1H); 7,63 (m, 2H); 8,90 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 670 $(MH)^+$; 692 $(H + Na)^+$

Esimerkki 23

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-metaanisulfinyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin seoksena, jossa oli diastereoisomeerejä sulfoksidikeskuksessa, käyttäen esimerkin 21 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,87 (m, osa varjostettu, 1H); 2,64 - 2,91, 2,82, 2,84 (m peittävä 2 x s, 5H); 3,21 (dd, 1H); 3,40 (kvintetti, 1H); 3,52 (dd, 1H); 3,71 (kvintetti, 1H); 4,01 (kvintetti, 1H); 4,01 (m, 1H), 4,18 (dd, 1H); 7,83 (t, 1H); 7,94 (td, 1H); 8,45 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 560 $(HH)^+$, (Na suola); 582 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-metaanisulfinyyli-3-nitrobentsoehappo

4-metyylitio-3-nitrobentsoehappo (4,36 g, 20 mmol) liuotettiin etikkahappoon (200 ml) ja käsiteltiin ympäristön lämpötilassa H_2O_2:lla (2,5 ml, 30 %, 22 mmol). Neljän päivän sekoittamisen jälkeen ympäristön lämpötilassa ylimäärä peroksidia hajotettiin natriummetabisulfiitilla ja liuotin haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, eluoiden metanolilla, antamaan 4-metaanisulfinyyli-3-nitrobentsoehappo (4,1 g, 89 %), sp. 238 - 239 °C. NMR (DMSO-d_6): δ 2,90 (s, 3H); 8,29 (d, 1H); 8,56 (dd, 1H); 8,68 (d, 1H).

Ms (-ve FAB): 229 $(M - H)^-$

Edellä saatu happo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että kromatografinen puhdistus oli tarpeeton, antamaan allyyli-4-metaanisulfinyyli-3-nitrobentsoaatti, sp. 119 - 121 °C. NMR (DMSO-d_6): δ 2,91 (s, 3H);

4,91 (dt, 2H); 5,29 - 5,50 (m, 2H); 5,99 - 6,18 (m, 1H); 8,34 (d, 1H); 8,61 (dd, 1H); 8,69 (d, 1H).

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-4-metaanisulfinyylibentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 2,92 (s, 3H); 4,82 (dt, 2H); 5,17 (br, 2H); 5,28 - 5,46 (m, 2H); 5,96 - 6,11 (m, 1H); 7,30 (dd, 1H); 7,41 (m, 2H).

Ms (EI): 223 $(M - O)^+$; 239 M^+

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen heksaani/etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia (3 : 2 → 1 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metaanisulfinyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR (DMSO-d_6 100 °C:ssa): δ 1,98 (m, 1H); 2,32 (s, 3H); 2,73 (s, 3H); 2,86 (m, osa varjostettu, 1H); 3,36 (m, 1H); 3,91 - 4,10 (peittävä m, 2H); 4,48 (dd, 1H); 4,53 (m, 2H); 4,86 (d, 2H); 5,11 - 5,49 (m, 4H); 5,80 - 5,97 (m, 1H); 6,01 - 6,15 (m, 1H); 8,09 (s, 2H); 8,35 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 495 $(HH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia etyyliasetaatista etyyliasetaatti/isopropanoliin (98 : 2) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metaanisulfinyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR (DMSO-d_6, rotameerien seos): δ 1,18 (d, 6H); 1,99 (br, 1H); 2,80 (s peittävä m, 5H); 3,25 (liuottimen peittävä m, 2H); 3,54 (m, 1H); 3,90 - 4,18 (m, 3H); 4,15 (dd, 1H); 4,55 (m, 4H); 4,85 (d, 2H); 5,06 (d, 1H); 5,14 - 5,46 (m, 6H); 5,79 - 6,13 (m, 3H); 7,80 - 8,05 (m, 2H); 8,12 (m, 1H); 10,10 (m, 1H).

Ms (+ve FAB): 702 $(MH)^+$

Esimerkki 24

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 21 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,16 (d, 3H); 1,18 (d, 3H); 1,75 (kvintetti, 1H); 2,63 (m, 1H); 2,79 (dd, 1H); 3,20 (s peittävä m, 4H); 3,38 (m, 2H); 3,64 (kvintetti, 1H); 3,95 (m, 2H); 4,14 (dd, 1H); 8,09 (t, 1H); 8,44 (m, 2H).

Ms (-ve FAB): 574 $(H - H)^-$, (Na suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-metyylitio-5-nitrobentsoehappo

3-amino-5-nitrobentsoehappo (1,82 g, 10 mmol) liuotettiin väkevään rikkihappoon (1,9 ml), laimennettiin vedellä (10 ml) ja jäähdytettiin 5 °C:seen. Liuos, jossa oli $NaNO_2$ (0,7 g, 10 mmol) vedessä (3 ml), lisättiin ja seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Kylmää diatsoniumsuolaliuosta lisättiin tiometyylikupari(I)lietteeseen 3 °C:ssa ja seosta sekoitettiin 45 minuuttia. Orgaaniset aineet uutettiin etyyliasetaatilla (5 x 60 ml) ja yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin vesipitoisella NaH_2PO_4:llä, vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin Na_2SO_4:llä. Haihduttaminen antoi 3-metyylitio-5-nitrobentsoehapon (1,77 g, 83 %). NMR (DMSO-d_6): δ 2,63 (s, 3H); 8,10 (t, 1H); 8,21 (t, 1H); 8,32 (t, 1H); 13,68 (br, 1H).

Ms (-ve FAB): 213 $(M - H)^-$

Edellä saatu happo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että eluentti kromatografiassa oli petroli/etyyliasetaatin seos (6 : 1), antamaan allyyli-3-metyylitio-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,60 (s, 3H); 4,87 (dt, 2H); 5,32 - 5,49 (m, 2H); 5,93 - 6,07 (m, 1H); 8,20 (m, 2H); 8,57 (t, 1H).

Ms (EI): 253 M^+

Allyyli-3-metyylisulfonyyli-5-nitrobentsoaatti

Allyyli-3-metyylitio-5-nitrobentsoaatti (1,12 g, 4,4 mmol) liuotettiin metanoliin (30 ml) ja jäähdytettiin 2 °C:seen. Liuos, jossa oli "kaliumperoksimonopersulfaattia" ($2KHSO_5.KHSO_4.K_2SO_4$, 8,13 g, 13,2 mM) vedessä (25 ml), lisättiin hitaasti ja sekoittamista jatkettiin neljä tuntia. Seos laimennettiin vedellä (60 ml) ja uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 100 ml). Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin Na_2SO_4:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen petroli/etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia (3 : 1 → 2 : 1) antamaan allyyli-3-metyylisulfonyyli-5-nitrobentsoaatti (0,74 g, 59 %). NMR (DMSO-d_6): δ 3,44 (s, 3H); 4,94 (dt, 2H); 5,32 - 5,53 (m, 2H); 6,01 -6,25 (m, 1H); 8,78 (t, 1H); 8,89 (t, 1H); 8,91 (t, 1H).

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-5-metaanisulfonyylibentsoaatin. NMR (DMSO-d_6): δ 3,15 (s, 3H); 4,80 (dt, 2H); 5,26 - 5,47 (m, 2H); 5,95 - 6,15 (m peittävä br, 3H); 7,29 (t, 1H); 7,47 (t, 1H); 7,51 (t, 1H).

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen heksaani/etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia (2 : 1 → 1 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,34 (s, 3H); 2,48 (m, 1H); 2,62 (m, 1H); 3,17 (s, 3H); 3,41 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,15 (dd, 1H); 4,58 (dd, 1H); 4,71 (d, 2H); 4,84 (dt, 2H); 5,27 - 5,47 (m, 4H); 5,88 - 6,14 (m, 2H); 8,23 (br s, 2H); 8,37 (t, 1H); 9,69 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 511 $(MH)^+$; 533 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaa-

ni/etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia (55 : 45 → 20 : 80) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metaanisulfonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,54 (br, 1H); 2,66 (br, 1H); 3,12 (s, 3H); 3,19 - 3,22 (peittävä m, 2H); 3,54 (br, 1H); 3,87 (kvintetti, 1H); 3,94 (dd, 1H); 4,25, 4,29 (kvintetti peittävä dd, 2H); 4,55 (t, 1H); 4,65 - 4,80 (m, 4H); 4,85 (d, 2H); 5,20 - 5,46 (m, 6H); 5,86 - 6,12 (m peittävä br, 3H); 8,31 (br, 1H); 8,43 (br, 1H); 8,52 (br, 1H); 9,40 (br, 1H),

Ms (+ve FAB): 718 $(MH)^+$; 740 $(M + Na)^+$

Esimerkki 25

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-trifluorimetyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,16 (d, 6H); 1,92 (m, osa varjostettu, 1H); 2,77 (m, osa varjostettu, 1H); 3,00 (dd, 1H); 3,21 (dd, 1H); 3,37 (kvintetti, 1H); 3,59 (kvintetti, 1H); 3,80 (kvintetti, 1H); 3,97 (kvintetti, 1H); 4,20 (m, 2H); 7,91 (br s, 1H); 8,27 (br s, 1H); 8,44 (br s, 1H),

Ms (-ve FAB): 542 $(H - H)^-$, (happo); 564 $(M - H)^-$, (Na suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-nitro-5-trifluorimetyylibentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että tuote oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografiaa, antamaan allyyli-3-nitro-5-trifluorimetyylibentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 4,91 (dt, 2H); 5,30 - 5,51 (m, 2H); 5,99 - 6,20 (m, 1H); 8,58 (br s, 1H); 8,77 (br s, 1H); 8,84 (t, 1H).

Ms (CI): 275 M^+; 293 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 2 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-5-trifluorimetyylibentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR (DMSO-d_6): δ 4,78 (dt, 2H); 5,24 - 5,43 (m, 2H); 5,93 - 6,13 (m, 1H); 7,08 (t, 1H); 7,27 (br s, 1H); 7,44 (t, 1H).

Ms (CI): 245 M^+; 263 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (9 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-trifluorimetyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,59 (m, 2H); 3,39 (dd, 1H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,14 (dd, 1H); 4,58 (t, 1H); 4,62 (dt, 2H); 4,85 (dt, 2H); 5,23 - 5,48 (m, 4H); 5,84 - 6,15 (m, 2H); 8,03 (br s, 1H); 8,23 (br s, 2H); 9,60 (br, 1H),

Ms (+ve FAB): 501 $(MH)^+$; 523 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaatti/dikloorimetaaniin (9 : 1) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-trifluorimetyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,21 (d, 6H); 2,05 (br, 1H); 2,85 (br, 1H); 3,29 (dd, 1H); 3,44 (dd, 1H); 3,51 (kvintetti, 1H), 3,93 (br, 1H); 4,05 - 4,18 (m, 2H); 4,27 (dd, 1H); 4,43 - 4,71 (peittävä m, 5H); 4,85 (d, 2H); 5,16 - 5,46 (m, 6H); 5,70 - 6,16 (m, 3H); 7,94 (br s, 1H); 8,37 (br s, 1H); 8,53 (br s, 1H).

Esimerkki 26

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-metoksi-

fenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 1 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 6H); 1,93 (m, (osa varjostettu, 1H); 2,86 (kvintetti, 1H); 3,02 (dd, 1H); 3,26 (dd, 1H); 3,44 (kvintetti, 1H); 3,68 (dd, 1H); 3,84 (kvintetti, 1H); 3,95 (s, 3H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,22 (dd, 1H); 4,34 (t, 1H); 7,13 (d, 1H); 7,78 (dd, 1H); 8,25 (d, 1H),

Ms (+ve FAB): 528 $(HH)^+$, (Na suola); 550 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-metoksi-3-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että tuote oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia, antamaan allyyli-3-nitro-4-metoksibentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,03 (s, 3H); 4,83 (dt, 2H); 5,29 - 5,46 (m, 2H); 5,93 - 6,14 (m, 1H); 7,14 (d, 1H); 8,24 (dd, 1H); 8,52 (d, 1H).

Ms (CI): 237 M^+; 255 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 2 menetelmällä antamaan allyyli-3-amino-4-metoksibentsoaatti, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR ($CDCl_3$): δ 3,72 (br, 2H); 3,90 (s, 3H); 4,77 (dt, 2H); 5,24 - 5,43 (m, 2H); 5,95 - 6,10 (m, 1H); 6,79 (d, 1H); 7,41 (d, 1H); 7,50 (dd, 1H).

Ms (CI): 208 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, paitsi että aine puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä, käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (4 : 1), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,51 (br, 1H); 2,66 (br, 1H); 3,41 (dd, 1H); 3,93 (s, 3H); 4,01 (kvintetti, 1H); 4,17 (dd, 1H); 4,55 (t, 1H); 4,64 (d, 2H); 4,80 (dt, 2H); 5,18 - 5,44 (m, 4H); 5,81 - 6,14

(m peittävä br, 2H); 6,91 (d, 1H); 7,84 (dd, 1H); 8,90 (br, 1H); 9,01 (d, 1H),

Ms (+ve FAB): 463 $(MH)^+$; 485 $(H + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$: δ 1,23 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,52 (br, 1H); 2,66 (br, 1H); 3,22 (dd, 1H); 3,28 (kvintetti, 1H); 3,44 (dd, 1H);,3,83 (kvintetti, 1H); 3,93 (s, 3H); 4,09 (m, 1H); 4,19 - 4,31 (peittävä m, 2H); 4,53 (t, 1H); 4,65 (m, 4H); 4,81 (d, 2H); 5,19 - 5,45 (m, 6H); 5,83 - 6,11 (m, 3H); 6,91 (d, 1H); 7,83 (dd, 1H); 8,79 (br, 1H); 9,04 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 670 $(HH)^+$; 692 $(H + Na)^+$

Esimerkki 27

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,17 (d, 6H); 1,83 (m, osa varjostettu; 1H); 2,75 (kvintetti, 1H); 2,97 (dd, 1H); 3,23 (dd, 1H); 3,40 (kvintetti, 1H); 3,56 (dd, 1H); 3,82 (s + m, 4H); 3,99 (kvintetti, 1H); 4,12 (t, 1H); 4,19 (dd, 1H); 7,09 (d, 1H); 7,75 (dd, 1H); 7,95 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 528 $(MH)^+$, (Na suola; 550 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2-metoksi-5-nitrobentsoehappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että tuote oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia antamaan allyyli-2-metoksi-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,03 (s,

3H); 4,85 (dt, 2H); 5,30 - 5,49 (m, 2H); 5,95 - 6,14 (m, 1H); 7,08 (d, 1H); 8,48 (dd, 1H); 8,72 (d, 1H).
Ms (CI): 238 $(MH)^+$; 255 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 2 menetelmällä antoi allyyli-5-amino-2-metoksibentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR ($CDCl_3$): δ 3,39 (br, 2H); 3,83 (s, 3H); 4,80 (dt, 2H); 5,23 - 5,47 (m, 2H); 5,94 - 6,13 (m, 1H); 6,83 (d, 2H); 7,18 (t, 1H).
Ms (CI): 208 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, paitsi että aine puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (4 : 1), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,58 (br, 2H); 3,39 (dd, 1H); 3,89 (s, 3H); 4,02 (kvintetti 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,53 (t, 1H); 4,66 (dt, 2H); 4,80 (dt, 2H); 5,23 - 5,48 (m, 4H); 5,84 - 6,13 (m, 2H); 6,94 (d, 1H); 7,80 (m, 2H); 8,94 (br, 1H).
Ms (CI): 463 $(MH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,25 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,65 (br, 2H); 3,25 (dd, 1H); 3,28 (kvintetti, 1H); 3,47 (br, 1H); 3,79 (kvintetti, 1H); 3,89 (s, 3H); 4,01 (dd, 1H); 4,18 - 4,29 (peittävä m, 2H); 4,51 (t, 1H); 4,66 (m, 4H); 4,79 (dt, 2H); 5,19 - 5,46 (m, 6H); 5,84 - 6,11 (m, 3H); 6,95 (d, 1H); 7,79 - 7,87 (m, 2H);

8,70 (br, 1H),
Ms (+ve FAB): 670 $(MH)^+$; 692 $(M + Na)^+$

Esimerkki 28

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,85 (m, osa varjostettu, 1H); 2,66 - 2,86 (peittävä m, 2H); 3,21 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,52 - 3,72 (peittävä m, 2H); 3,82 (s, 3H); 3,99 (kvintetti, 1H); 4,08 (dd, 1H); 4,17 (dd, 1H); 7,17 (t, 1H); 7,45 (dd, 1H); 8,41 (dd, 1H).
Ms (+ve FAB): 528 $(MH)^+$, (Na suola); 550 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2-hydroksi-3-nitrobentsoehappo metyloitiin pääosin, kuten esimerkin 1 allylointivaiheessa, paitsi että allyylibromidi korvattiin metyylijodidilla ja puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan metyyli-2-metoksi-3-nitrobentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 3,88 (s, 3H); 3,90 (s, 3H); 7,44 (t, 1H); 8,04 (dd, 1H); 8,12 (dd, 1H).
Ms (CI): 212 $(MH)^+$; 229 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu esteri (3,45 g, 16 mM) hydrolysoitiin pääosin esimerkin 22 menetelmällä, paitsi että liuotin oli DMSO THF:n asemesta, antamaan 2-metoksi-3-nitrobentsoehappo. NMR (DMSO-d_6): δ 3,89 (s, 3H); 7,40 (t, 1H); 8,01 (dd, 1H); 8,06 (dd, 1H).
Ms (CI): 215 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu nitrohappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, paitsi että tuote oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia, antamaan allyyli-2-metoksi-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,00 (s, 3H); 4,86 (dt, 2H); 5,31 - 5,50 (m, 2H); 5,96 - 6,16 (m, 1H); 7,27 (d, 1H); 7,92 (dd, 1H); 8,06 (dd, 1H).
Ms (CI): 238 $(MH)^+$; 255 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-2-metoksibentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR ($CDCl_3$): δ 3,86 (s, 3H); 3,92 (br, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,26 - 5,49 (m, 2H); 5,96 - 6,16 (m, 1H); 6,91 (dd, 1H); 7,00 (t, 1H); 7,23 (dd, 1H).
Ms (CI): 208 $(MH)^+$; 225 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): NMR ($CDCl_3$): δ 2,30 (s, 3H); 2,53 (br, 1H); 2,65 (br, 1H); 3,41 (dd, 1H); 3,86 (s, 3H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,16 (dd, 1H); 4,58 (t, 1H); 4,66 (d, 2H); 4,83 (dt, 2H); 5,20 - 5,47 (m, 4H); 5,83 - 6,13 (m peittävä br, 2H); 7,16 (t, 1H); 7,60 (dd, 1H); 8,57 (dd, 1H); 9,15 (br, 1H),
Ms (+ve FAB): 463 $(MH)^+$; 485 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,53 (br, 1H); 2,68 (br, 1H); 3,24 (dd, 1H); 3,28 (kvintetti, 1H); 3,43 (br, 1H);, 3,80 (kvintetti, 1H); 3,83 (s, 3H); 4,12 (m, 1H); 4,19 - 4,29 (peittävä m, 2H); 4,57 (t, 1H); 4,64 (m, 4H); 4,83 (d, 2H); 5,18 - 5,48 (m, 6H); 5,81 - 6,14 (m, 3H); 7,17 (t, 1H); 7,61 (dd, 1H); 8,56 (dd, 1H); 9,02 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 670 $(MH)^+$; 692 $(M + Na)^+$

Esimerkki 29

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksi-

etyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,19 (d, 6H); 1,88 (m, osa varjostettu, 1H); 2,31 (s, 3H); 2,77 (dt, 1H); 2,93 (dd, 1H); 3,22 (dd, 1H); 3,42 (kvintetti, 1H); 3,57 (dd, 1H); 3,77 (kvintetti, 1H); 4,01 (kvintetti, 1H); 4,16 (t, 1H); 4,19 (dd, 1H); 7,35 (d, 1H); 7,69 (dd, 1H); 8,39 (d, 1H).

Ms (+ve FAB): 512 $(MH)^+$, (Na suola; 534 $(MH)^+$, (Na_2 suola); 556 $(M + Na)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-metyyli-3-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1 paitsi että puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-4-metyyli-3-nitrobentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 2,59 (s, 3H); 4,84 (dt, 2H); 5,27 - 5,47 (m, 2H); 5,96 - 6,16 (m, 1H); 7,67 (d, 1H); 8,16 (dd, 1H); 8,44 (d, 1H).

Ms (EI): 222 $(MH)^+$

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli, antamaan allyyli-3-amino-4-metyylibentsoaatti, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR (DMSO-d_6): δ 2,10 (s, 3H); 4,74 (dt, 2H); 5,15 (br, 2H); 5,22 - 5,43 (m, 2H); 5,93 - 6,12 (m, 1H); 7,04 (d, 1H); 7,11 (dd, 1H); 7,28 (d, 1H).

Ms (CI): 192 $(MH)^+$; 209 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (9 : 1), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR (DMSO-d_6, rotameerien seos): δ 1,97 (kvintetti, 1H); 2,26 (s, 3H); 2,34 (s, 3H); 2,80 (br, 1H); 3,30 (br, 1H); 3,93 - 4,08 (br m, 2H); 4,53 (br, 3H); 4,80 (dt, 2H);

5,10 - 5,44 (m peittävä br, 4H); 5,78 - 6,13 (m peittävä br, 2H); 7,38 (d, 1H); 7,72 (dd, 1H); 7,94 (br, 0,5H); 8,01 (br, 0,5H); 9,61 (br, 0,5H); 9,67 (br, 0,5H).
Ms (CI): 447 $(MH)^+$; 464 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/etyyliasetaattiin (1 : 1) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4, rotameerien seos): δ 1,16 (d, 3H); 1,18 (d, 3H); 1,98 (kvintetti, 1H); 2,27 (s, 3H); 2,86 (br, 1H); 3,27 (dd, 1H); 3,33 (t, 1H); 3,56 (kvintetti, 1H); 3,95 (kvintetti, 1H) 4,02 (dd, 1H); 4,15 (kvintetti, 1H); 4,27 (dd, 1H); 4,48 - 4,70 (peittävä m, 5H); 4,80 (d, 2H); 5,10 - 5,45 (m peittävä br, 6H); 5,81 - 6,14 (m peittävä br, 3H); 7,38 (d, 1H); 7,75 (dd, 1H); 8,01 (br, 0,5H); 8,07 (br, 0,5H); 9,60 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 654 $(MH)^+$; 676 $(M + Na)^+$

Esimerkki 30

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-4-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,15 (d, 3H); 1,16 (d, 3H); 1,78 (dt, 1H); 2,48 (s, 3H); 2,60 (dt, 1H); 2,90 (dd, 1H); 3,21 (dd, 1H); 3,39 (kvintetti, 1H); 3,49 (dd, 1H); 3,73 (kvintetti, 1H); 3,99 (kvintetti, 1H); 4,03 (t, 1H); 4,17 (dd, 1H); 7,23 (d, 1H); 7,70 (dd, 1H); 8,12 (d, 1H).
Ms (+ve FAB): 512 $(MH)^+$, (Na suola; 534 $(MH)^+$, (Na_2 suola); 556 $(M + Na)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2-metyyli-5-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1, paitsi että puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-2-metyyli-5-nitrobentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 2,65 (s, 3H); 4,84 (dt, 2H); 5,28 - 5,47 (m, 2H); 5,99 - 6,18 (m, 1H); 7,65 (d, 1H); 8,31 (dd, 1H); 8,57 (d, 1H).

Ms (CI): 222 $(MH)^+$; 099 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli, antoi allyyli-5-amino-2-metyylibentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR (DMSO-d_6): δ 2,33 (s, 3H); 4,73 (dt, 2H); 5,18 (br, 2H); 5,23 - 5,44 (m, 2H); 5,93 - 6,12 (m, 1H); 6,68 (dd, 1H); 6,95 (d, 1H); 7,12 (d, 1H).

Ms (CI): 192 $(MH)^+$; 209 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (9 : 1), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR (DMSO-d_6, rotameerien seos): δ 1,91 (br m, 1H); 2,33 (s, 3H); 2,76 (br m, 1H); 3,28 (s peittävä m, 4H); 4,00 (br m, 2H); 4,38 (t, 1H); 4,51 (br, 2H); 4,78 (dt, 2H); 5,01 - 5,46 (m peittävä br, 4H); 5,68 - 6,16 (m peittävä br, 2H); 7,27 (d, 1H); 7,72 (dd, 1H); 8,11 (br, 0,5H); 8,05 (br, 0,5H); 10,17 (br, 1H).

MS (+ FAB): 447 $(MH)^+$; 469 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/etyyliasetaattiin (1 : 1), antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-4-metyy-

lifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,19 (d, 6H); 1,92 (br, osa varjostettu, 1H); 2,48 (s, 3H); 2,79 (br, 1H); 3,25 (dd, 1H); 3,32 (t, 1H); 3,54 (kvintetti, 1H); 3,91 (br m, 1H); 4,01 (kvintetti, 1H); 4,12 (dd, 1H); 4,25 (dd, 1H); 4,45 (m, 1H); 4,50 - 4,68 (m, 4H); 4,78 (dt, 2H); 5,18 - 5,45 (m, 6H); 5,70 - 6,13 (m peittävä br, 3H); 7,25 (d, 1H); 7,76 (dd, 1H); 8,12 (br m, 1H).

Ms (+ve FAB): 654 $(MH)^+$; 676 $(M + Na)^+$

Esimerkki 31

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola

Allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaattia (3 g, 4,59 mmol) ja 2,2-dimetyyli-1,3-dioksaani-4,6-dionia (3,97 g, 27,6 mmol) liuotettiin seokseen, jossa oli DMSO (15 ml) ja THF (5 ml) argonin ilmakehän paineessa, ja tetrakis(trifenyylifosfiini)palladiumia (531 mg, 0,46 mmol) lisättiin. Liuosta sekoitettiin argonsuojakaasussa suojaten valolta yksi tunti. Lisättiin natrium-2-etyyliheksanoaatin (1,53 g, 9,22 mmol) liuos THF:ssä (5 ml) ja sen jälkeen THF (250 ml). Saatu sakka suodatettiin argonsuojakaasussa kosteuden poistamiseksi ja pestiin peräkkäisesti pienillä annoksilla THF (kahdesti) ja dietyylieetteriä. Raaka tuote ja $NaHCO_3$ (1,5 g) liuotettiin veteen (100 ml) ja liuos kromatografoitiin HP20SS-hartsilla käyttäen eluenttina pitoisuusgradienttia vedestä vesi/asetonitriiliin (9 : 1). Tarkoituksenmukaiset jakeet yhdistettiin ja kylmäkuivattiin antamaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-

metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo, dinatriumsuola. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,13 (d, 3H); 1,15 (d, 3H); 1,76 (dt, 1H); 2,32 (s, 3H); 2,68 (dt, 1H); 2,87 (dd, 1H); 3,18 (dd, 1H); 3,36 (kvintetti, 1H); 3,45 (dd, 1H); 3,71 (kvintetti, 1H); 3,95 (kvintetti, 1H); 4,02 (t, 1H); 4,14 (dd, 1H); 7,49 (s, 1H); 7,65 (s, 1H); 8,05 (s, 1H). Ms (+ve FAB): 512 $(MH)^+$, (Na suola); 534 $(MH)^+$, (Na_2 suola); 556 $(M + Na)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-metyyli-5-nitrobentsoehappo

3,5-dimetyylinitrobentseeniä (30 g, 0,198 mol) kuumennettiin sekoittaen 80 °C:seen seoksessa, jossa oli pyridiiniä (400 ml) ja vettä (250 ml). $KMnO_4$ (62,7 g, 0,396 mol) lisättiin annoksittain 0,75 tunnin aikana ja kuumentamista jatkettiin 85 - 90 °C:ssa 1,75 tuntia. Kuuma liuos suodatettiin piimaan läpi ja pestiin kuumalla vedellä (150 ml). Väri poistettiin vaaleanpunaisista suodoksista muutamalla tipalla natriummetabisulfiittia ja haihdutettiin kuiviin. Jäännös liuotettiin veteen (250 ml) ja uutettiin dietyylieetterillä (2 x 90 ml). Vesipitoinen kerros tehtiin happamaksi (väkevällä vetykloridihapolla) ja uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 120 ml). Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestiin NaH_2PO_4-liuoksella, suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Raaka tuote eluoitiin silikageelikerroksen läpi käyttäen etyyliasetaatti/dikloorimetaani/etikkahapon seosta (25 : 25 : 1), antamaan 3-metyyli-5-nitrobentsoehappo (14,5 g, 40 %), sp. 171 - 172 °C. NMR (DMSO-d_6): δ 2,51 (s, 3H); 8,17 (s, 1H); 8,30 (t, 1H); 8,42 (t, 1H); 13,58 (br, 1H).

Ms (CI): 181 $(MH)^+$

3-metyyli-5-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1, paitsi että puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-3-metyyli-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,53 (s, 3H); 4,87 (dt, 2H); 5,31 - 5,48 (m, 2H); 5,99 - 6,13 (m, 1H); 8,20 (s, 1H); 8,23 (s, 1H); 8,68 (s, 1H).

Ms (CI): 222 $(MH)^+$

Edellä saatu nitroyhdiste pelkistettiin esimerkin 1 menetelmällä antamaan allyyli-5-amino-3-metyylibentsoaatti, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR ($CDCl_3$): δ 2,30 (s, 3H); 3,46 (br, 2H); 4,78 (dt, 2H); 5,23 - 5,45 (m, 2H); 5,93 - 6,12 (m, 1H); 6,68 (t, 1H); 7,17 (t, 1H); 7,27 (t, 1H).
Ms (CI): 192 $(MH)^+$; 220 $(M + C_2H_5)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen heksaani/etyyliasetaattia (3 : 1) eluenttina, antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,39 (s, 3H); 2,58 (br, 2H); 3,29 (dd, 1H); 4,02 (kvintetti, 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,56 (t, 1H); 4,68 (dm, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,23 - 5,44 (m, 4H); 5,86 - 6,12 (m, 2H); 7,63 (s, 1H); 7,85 (s, 1H); 7,85 (s, 1H); 9,09 (br, 1H).
Ms (+ FAB): 447 $(MH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen dikloorimetaani/etyyliasetaatin pitoisuusgradienttia (3 : 2 → 2 : 3) antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,23 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,38 (s, 3H); 2,63 (br, 2H); 3,23 (dd, 1H); 3,27 (kvintetti, 1H); 3,46 (br, 1H); 3,78 (kvintetti, 1H); 4,00 (dd, 1H); 4,24 (peittävä m, 2H); 4,51 (t, 1H); 4,59 - 4,63 (m, 4H); 4,79 (d, 2H); 5,17 - 5,42 (m, 6H); 5,82 - 6,09 (m, 3H); 7,61 (s, 1H); 7,73 (s, 1H); 7,99 (s, 1H); 8,87 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 654 $(MH)^+$

Esimerkki 32

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-

hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,18 (d, 6H); 1,92 (br, osa varjostettu, 1H); 2,81 (m, 1H); 3,03 (dd, IH); 3,23 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,61 (m, 1H); 3,90 (s peittävä m, 4H); 4,00 (kvintetti, 1H); 4,21 (peittävä m, 2H); 8,25 (t, 1H); 8,50 (m, 2H).

Ms (+ve FAB): 556 $(MH)^+$, (Na suola); 578 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-metoksikarbonyyli-5-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1, paitsi että puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-3-metoksikarbonyyli-5-nitrobentsoaatti. NMR (DMSO-d_6): δ 3,97 (s, 3H); 4,91 (dt, 2H); 5,31 - 5,51 (m, 2H); 6,00 - 6,19 (m, 1H); 8,75 (t, 1H); 8,81 (d, 2H).

Ms (EI): 265 M^+

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli, antoi allyyli-3-amino-5-metoksikarbonyylibentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR (DMSO-d_6): δ 3,79 (br, 2H); 3,92 (s, 3H); 4,82 (dt, 2H); 5,26 - 5,46 (m, 2H); 5,94 - 6,14 (m, 1H); 7,53 (m, 2H); 8,07 (t, 1H).

Ms (CI): 236 $(MH)^+$; 253 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (9 : 1), antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,60 (br, 2H); 3,40 (dd, 1H); 3,94 (s, 3H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,14 (dd, 1H); 4,58 (t, 1H); 4,68 (dm, 2H); 4,85 (dt, 2H); 5,25 - 5,47 (m, 4H); 5,85 - 6,16 (m, 2H); 8,36 (t, 1H); 8,43 (m,

2H); 9,40 (br, 1H).
Ms (+ FAB): 491 $(MH)^+$; 513 (11 + Na)$^+$

(2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti (1,2 g, 2,4 mmol) liuotettiin THF:ään (50 ml) argonsuojakaasussa ja vesipitoista metyyliamiinia (33 % paino/tilavuus, 0,51 g, 5,4 mmol) lisättiin. Sekoittamista jatkettiin kolme tuntia ja liuotin poistettiin. Jäännöstä käsiteltiin 2 M vetykloridihapolla ja uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen liuos pestiin vedellä, suolaliuoksella, vesipitoisella $NaHCO_3$:lla ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Liuottimien poistaminen antoi (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tiolin (1,02 g, 93 %). Tioli kondensoitiin ilman jatkopuhdistusta karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/etyyliasetaattiin (1 : 1), antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-metoksikarbonyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,37 (d, 3H); 2,64 (br, 2H); 3,26 (dd peittävä kvintetti, 2H); 3,48 (br, 1H); 3,86 (kvintetti, 1H); 3,94 (s peittävä m, 4H); 4,25 (kvintetti, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,56 (t, 1H); 4,69 (m, 4H); 4,86 (dm, 2H); 5,19 - 5,46 (m, 6H); 5,85 - 6,13 (m, 3H); 8,46 (m, 3H); 9,18 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 698 $(MH)^+$; 720 (M + Na)$^+$

Esimerkki 33

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2,4-difluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 6H); 1,96 (m,

osa varjostettu, 1H); 2,81 (m, 1H); 3,14 (dd, 1H); 3,27 (dd, 1H); 3,43 (kvintetti, 1H); 3,73 (m, 1H); 3,91 (kvintetti, 1H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,23 (dd, 1H); 4,43 (t, 2H); 7,29 (t, 1H); 8,54 (t, 1H).

Ms (+ve FAB): 534 $(MH)^+$, (Na suola); 556 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2,4-difluori-5-nitrobentsoehappo

2,4-difluoribentsoehappo (5 g, 0,031 mol) liuotettiin väkevään rikkihappoon (30 ml) ja jäähdytettiin 0 °C:seen. Seosta sekoitettiin ja väkevää typpihappoa (1,567 g/ml, 1,91 ml, 0,047 mol) lisättiin tipoittain ja lämpötila pidettiin alle 5 °C. Kolmen tunnin sekoittamisen jälkeen seos kaadettiin jäihin ja orgaaniset aineet uutettiin dikloorimetaaniin (2 x 75 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin vedellä, kuivattiin ($MgSO_4$) ja haihdutettiin antamaan 2,4-difluori-5-nitrobentsoehappo (3,9 g, 61 %). NMR (DMSO-d_6): δ 7,18 (t, 1H); 8,88 (t, 1H); 9,93 (br, 1H).

Ms (-FAB): 202 $(M-H)^-$

2,4-difluori-5-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1, paitsi että reaktioaika oli pelkästään 1,5 tuntia, DMF sekoitettiin IR-120-H ioninvaihtohartsissa ennen käyttöä ja puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-2,4-difluori-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,88 (dt, 2H); 5,31 - 5,50 (m, 2H); 5,93 - 6,13 (m, 1H); 7,13 (t, 1H); 8,80 (dd, 1H).

Ms (EI): 265 M^+

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 2 menetelmällä, paitsi että liuotin oli metanoli, antoi allyyli-5-amino-2,4-difluoribentsoaatin, joka oli riittävän puhdas käytettäväksi ilman kromatografointia. NMR ($CDCl_3$): δ 3,61 (br, 2H); 4,81 (dt, 2H); 5,26 - 5,48 (m, 2H); 5,92 - 6,12 (m, 1H); 6,83 (t, 1H); 7,38 (dd, 1H).

Ms (CI): 214 $(MH)^+$; 231 $(M + NH_4)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (9 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2,4-difluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,63 (br, 2H); 3,39 (dd, 1H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,14 (dd, 1H); 4,59 (t, 1H); 4,66 (dt, 2H); 4,83 (dt, 2H); 5,22 - 5,49 (m, 4H); 5,84 - 6,13 (m, 2H); 6,94 (t, 1H); 8,82 (t, 1H); 9,22 (br, 1H).
Ms (+ FAB): 469 $(MH)^+$; 491 $(H + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/etyyliasetaattiin (1 : 1), antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2,4-difluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,25 (d, 3H); 1,38 (d, 3H); 2,62 (br, 2H); 3,24 (dd peittävä kvintetti, 2H); 3,45 (dd, 1H); 3,88 (kvintetti, 1H); 4,03 (dd, 1H); 4,25 (kvintetti, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,57 (t, 1H); 4,68 (m, 4H); 4,82 (dm, 2H); 5,21 - 5,48 (m, 6H); 5,85 - 6,10 (m, 3H); 6,94 (t, 1H); 8,85 (t, 1H); 9,12 (br, 1H).
Ms (+ve FAB): 676 $(MH)^+$; 698 $(M + Na)^+$

Esimerkki 34

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2,4-dimetoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 6H); 1,95 (m, osa varjostettu, 1H); 2,87 (dt, 1H); 3,08 (dd, 1H); 3,26 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,71 (dd, 1H); 3,87 (kvintetti, osa varjostettu, 1H); 3,91 (s, 3H); 3,96 (s,

3H); 4,03 (kvintetti, 1H); 4,21 (dd, 1H); 4,39 (t, 2H); 6,76 (s, 1H); 8,44 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 558 $(MH)^+$, (Na suola); 580 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

2,4-dimetoksi-5-nitrobentsoehappo

Natriummetoksidiliuos valmistettiin liuottamalla natriummetallia (1,42 g, 0,062 mol) metanoliin (40 ml) jäähdyttäen. Allyyli-2,4-difluori-5-nitrobentsoaattia (5 g, 0,021 mol) lisättiin ja seosta sekoitettiin kaksi tuntia. Liuos, jossa oli NaOH (2 g, 0,05 mol) vedessä (10 ml) lisättiin ja seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 16 tuntia. Liuotin haihdutettiin, jäännös liuotettiin veteen (50 ml) ja uutettiin dietyylieetterillä (40 ml). Vesipitoinen kerros tehtiin happamaksi rikkihapolla ja sakka suodatettiin ja kuivattiin antamaan 2,4-dimetoksi-5-nitrobentsoehappo (4,23 g, 91 %). NMR ($CDCl_3$): δ 4,07 (s, 3H); 4,16 (s, 3H); 6,62 (s, 1H); 8,81 (s, 1H).

Ms (CI): 228 $(MH)^+$; 245 $(M + NH_4)^+$

2,4-dimetoksi-5-nitrobentsoehappo allyloitiin, kuten esimerkissä 1, paitsi että puhdistus kromatografisesti oli tarpeeton, antamaan allyyli-2,4-dimetoksi-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,02 (s, 3H); 4,04 (s, 3H); 4,79 (dt, 2H); 5,26 - 5,46 (m, 2H); 5,93 - 6,13 (m, 1H); 6,54 (s, 1H); 8,63 (s, 1H).

Ms (+ FAB): 268 $(MH)^+$; 290 $(M + Na)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-5-amino-2,4-dimetoksibentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 3,25 (br, 2H); 3,87 (s, 3H); 3,90 (s, 3H); 4,76 (dt, 2H); 5,22 - 5,46 (m, 2H); 5,93 - 6,12 (m, 1H); 6,47 (s, 1H); 7,29 (s, 1H).

Ms (CI): 238 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 4, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (4 : 1), antamaan (2S,4S)-

1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2,4-dimetoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,49 (br, 1H); 2,64 (br, 1H); 3,40 (dd, 1H); 3,91 (s, 3H); 3,93 (s, 3H); 4,00 (kvintetti, 1H); 4,17 (dd, 1H); 4,53 (t, 1H); 4,64 (d, 2H); 4,77 (dt, 2H); 5,19 - 5,46 (m, 4H); 5,80 - 6,14 (m peittävä br, 2H); 6,49 (s, 1H); 8,69 (br, 1H); 8,81 (s, 1H),

Ms (+ FAB): 493 $(MH)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2,4-dimetoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,22 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,48 (br, 1H); 2,65 (br, 1H); 3,23 (dd, 1H); 3,28 (kvintetti, 1H); 3,43 (dd, 1H); 3,80 (kvintetti, 1H); 3,91 (s, 3H); 3,92 (s, 3H); 4,09 (dd, 1H); 4,24 (kvintetti, 1H); 4,27 (dd, 1H); 4,51 (t, 1H); 4,66 (m, 4H); 4,77 (dt, 2H); 5,20 - 5,45 (m, 6H); 5,83 - 6,11 (m peittävä br, 3H); 6,49 (s, 1H); 8,45 (br, 1H); 8,82 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 700 $(MH)^+$

Esimerkki 35

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(5-karboksi-2-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,17 (d, 6H); 1,83 (m, osa varjostettu, 1H); 2,62 - 2,79 (peittävä m, 2H); 3,18 (dd, 1H); 3,41 (kvintetti, 1H); 3,66 (kvintetti; 1H); 3,98 (kvintetti, 1H); 4,07 (dd, 1H); 4,17 (dd, 1H); 7,79 (m, 2H); 8,67 (s, 1H).

Ms (+ve FAB): 523 $(MH)^+$, (Na suola), 545 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

4-syaani-3-nitrobentsoehappo

4-kloori-3-nitrobentsoehappoa (5,84 g, 29 mmol), kupari(II)syanidia (5,2 g, 58 mmol), kupari(II)kloridia (0,96 g, 9,7 mmol) ja kinoliinia (6,9 ml, 58 mmol kuumennettiin argonsuojakaasussa 180 °C:ssa 3,5 tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen seos liuotettiin väkevään vetykloridihappoon (60 ml), laimennettiin vedellä (80 ml) ja uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 100 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin vesipitoisella NaH_2PO_4:llä, suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä eluoiden seoksella, jossa oli dikloorimetaani/etikkahappoa (98 : 2), antamaan 4-syaani-3-nitrobentsoehappo (2,65 g, 48 %). NMR (DMSO-d_6): δ 8,31 (d, 1H); 8,41 (dd, 1H); 8,68 (d, 1H).

Ms (EI): 192 M^+

Edellä saatu nitrohappo allyloitiin pääosin, kuten esimerkissä 1, raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen eluenttina heksaani : etyyliasetaattia (6 : 1) antamaan allyyli-4-syaani-3-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,93 (dt, 2H); 5,37 - 5,50 (m, 2H); 5,97 - 6,13 (m, 1H); 8,03 (d, 1H); 8,46 (dd, 1H); 8,94 (d, 1H).

Ms (CI): 221 $(MH)^+$; 250 $(M + NH_4)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-4-karbamoyylibentsoaatin, uudelleenkiteytettynä etyyliasetaatti/petrolieetteristä, sp. 149 - 150 °C. NMR (DMSO-d_6): δ 4,77 (dt, 2H); 5,25 - 5,43 (m, 2H); 5,96 - 6,11 (m, 1H); 6,72 (br, 2H); 7,04 (dd, 1H); 7,25 (br, 1H); 7,35 (d, 1H); 7,63 (d, 1H); 7,87 (br, 1H).

Ms (EI): 220 M^+

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen heksaani/etyyliasetaattia (1 : 1) antamaan

(2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$, rotameerien seos): δ 2,25 (kvintetti, 1H); 2,28 (s, 3H); 2,82 (br, 1H); 3,52 (dd, 1H); 4,13 (t, 1H); 4,20 (br m, 1H); 4,52 (dd, 1H); 4,61 (br, 2H); 4,85 (d, 2H); 5,01 - 5,48 (m peittävä br, 4H); 5,66 - 6,12 (m peittävä br, 2H); 6,55 (br, 1H); 6,89 (br, 1H); 7,64 (br m, 1H); 7,79 (br m, 1H); 9,30 (br m, 1H); 11,68 (br, 0,5H); 12,06 (br, 0,5H).

Ms (+ve FAB): 476 $(MH)^+$

(2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti

DMF (0,2 ml, 2,5 mmol) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml), jäähdytettiin -5 °C:seen ja käsiteltiin oksalyylikloridilla (0,2 ml, 2,3 mmol). 30 minuutin sekoittamisen jälkeen lisättiin liuos, jossa oli (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-karbamoyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaattia (1 g, 2,1 mmol) asetonitriilissä (15 ml), ja sen jälkeen pyridiiniä (0,38 ml, 4,6 mmol). 15 minuutin kuluttua seos laimennettiin etyyliasetaatilla (200 ml), pestiin vetykloridihapolla (2 M, 20 ml), vedellä, vesipitoisella $NaHCO_3$:lla ja suolaliuoksella, ja kuivattiin Na_2SO_4:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(5-allyylioksikarbonyyli-2-syaanifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti (0,9 g, 93 %). NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H); 2,63 (br, 2H); 3,46 (dd, 1H); 4,06 (kvintetti, 1H); 4,16 (dd, 1H); 4,64 (t, 1H); 4,71 (dt, 2H); 4,85 (dt, 2H); 5,22 - 5,47 (m, 4H); 5,87 - 6,14 (m, 2H); 7,67 (d, 1H); 7,87 (dd, 1H); 8,96 (d, 1H); 9,42 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 458 $(MH)^+$; 480 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-2-metoksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,35 (d, 3H); 2,60 (br, 2H); 3,25 (dd peittävä kvintetti, 2H); 3,52 (br, 1H); 3,88 (kvintetti, 1H); 4,02 (dd, 1H); 4,25 (kvintetti, 1H); 4,28 (dd, 1H); 4,55 - 4,74 (m, 5H); 4,85 (dt, 2H); 5,18 - 5,468 (m, 6H); 5,83 - 6,11 (m, 3H); 7,65 (dt, 1H); 7,87 (dd, 1H); 9,00 (br s, 1H); 9,25 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 665 $(MH)^+$; 687 $(M + Na)^+$

Esimerkki 36

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-5-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää, paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4): δ 1,20 (d, 6H); 1,99 (dt, 1H); 2,91 (dt, 1H); 3,26 (dd peittävä m, 3H); 3,42 (kvintetti, 1H); 3,74 (dd, 1H); 3,96 (kvintetti, 1H); 4,04 (kvintetti, 1H); 4,22 (dd, 1H); 4,41 (t, 1H); 7,43 (dm, 1H); 7,81 (dd, 1H); 8,00 (t, 1H).

Ms (+ve FAB): 516 $(MH)^+$, (Na suola); 538 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

3-fluori-5-nitrobentsoehappo

Voimakkaan sekoituksen alaista lietettä, jossa oli nitrosoniumtetrafluoriboraattia (3,53 g, 30,2 mmol) asetonitriilissä (50 ml) argonsuojakaasussa, jäähdytettiin jäähauteessa ja 3-amino-5-nitrobentsoehappoa (5,0 g, 27,5 mmol) lisättiin kolmena annoksena. Sitten lämpötilan annettiin nousta ympäristön lämpötilaan ja seosta sekoitettiin 48 tuntia. 1,2-diklooribentseeniä (50 ml) lisättiin

ja asetonitriili tislattiin seoksesta alennetussa paineessa. Sitten seosta kuumennettiin 170 °C:ssa 30 minuuttia, jolloin kaasun muodostuminen päättyi. Jäähdyttämisen jälkeen seos kaadettiin dikloorimetaaniin (200 ml) ja uutettiin $NaHCO_3$-liuoksella. Vesipitoisen faasin vastavirtapesun jälkeen dikloorimetaanilla se tehtiin happamaksi (2 M vetykloridihappo) ja orgaaniset aineet uutettiin etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä eluoiden pitoisuusgradientilla dikloorimetaani/etikkahaposta (99 : 1) dikloorimetaani/isopropanoli/etikkahappoon (80 : 20 : 1), antamaan 3-fluori-5-nitrobentsoehappo (3,26 g, 64 %). NMR (DMSO-d_6): δ 8,14 (dm, 1H); 8,37 (dt, 1H); 8,46 (m, 1H).

Ms (EI): 185 M^+

Allyyli-3-fluori-5-nitrobentsoaatti

3-fluori-5-nitrobentsoehappoa (3 g, 16,2 mmol), p-tolueenisulfonihappoa (1,54 g, 8,1 mmol) ja allyylialkoholia (50 ml) kuumennettiin palautusjäähdyttäen ajaen tisle 3 Å:n molekyyliseulojen läpi 16 tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen seos neutraloitiin trietyyliamiinilla ja liuotin poistettiin. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin, pestiin 2 M vetykloridihapolla, vesipitoisella $NaHCO_3$:lla ja suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttäen eluoinnissa pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaatti/dikloorimetaaniin (3 : 1) antamaan allyyli-3-fluori-5-nitrobentsoaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 4,89 (dt, 2H); 5,33 - 5,49 (m, 2H); 5,95 - 6,15 (m, 1H); 8,11 (m, 2H); 8,70 (t, 1H).

Ms (CI): 226 $(MH)^+$; 253 $(M + C_2H_5)^+$

Edellä saadun nitroyhdisteen pelkistys esimerkin 1 menetelmällä antoi allyyli-3-amino-5-fluoribentsoaatin. NMR ($CDCl_3$): δ 3,89 (br, 2H); 4,79 (dt, 2H); 5,25 - 5,45

(m, 2H); 5,92 - 6,12 (m, 1H); 6,54 (dt, 1H); 7,07 - 7,15 (m, 2H).

Ms (CI): 196 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (85 : 13) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H); 2,59 (br, 2H); 3,48 (dd, 1H); 4,03 (kvintetti 1H); 4,13 (dd, 1H); 4,56 (t, 1H); 4,68 (dt, 2H); 4,82 (dt, 2H); 5,25 - 5,46 (m, 4H); 5,86 - 6,11 (m, 2H); 6,47 (dm, 1H); 7,72 (t, 1H); 7,87 (dt m, 1H); 9,38 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 451 $(MH)^+$; 473 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-5-fluorifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$): δ 1,24 (d, 3H); 1,36 (d, 3H); 2,63 (br, 2H); 3,26 (dd, 1H); 3,29 (kvintetti, 1H); 3,48 (br, 1H); 3,81 (kvintetti, 1H); 3,97 (dd, 1H); 4,27 (dd peittävä m, 2H); 4,54 (t, 1H); 4,62 - 4,76 (m, 4H); 4,81 (dt, 2H); 5,20 - 5,46 (m, 6H); 5,85 - 6,10 (m peittävä br, 3H); 7,48 (dt, 1H); 7,83 (br s, 1H); 7,88 (dt, 1H); 9,18 (br, 1H).

Ms (+ve FAB): 658 $(MH)^+$; 680 $(H + Na)^+$

Esimerkki 37

(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(2-(3-karboksi-N'-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola valmistettiin käyttäen esimerkin 2 menetelmää,

paitsi että DMF korvattiin DMSO:lla ja tuote puhdistettiin kromatografisesti CHP20P pylvässä eluoiden vedellä. NMR (DMSO-d_6 + etikkahappo-d_4, ajo 50 °C:ssa): δ 1,12 (d, 3H); 1,18 (d, 3H); 1,67 (br, 1H); 2,13 (br, 1H); 3,02 (dd, 1H); 3,17 (dd, 1H), 3,28 (s peittävä m, 5H); 3,65 (br, 1H); 3,98 (peittävä kvintetti m, 2H); 4,12 (dd, 1H); 7,58 (d, 1H); 7,91 (d, 1H); 7,98 (m, 1H).

Ms (+ve FAB): 512 $(MH)^+$, (Na suola); 534 $(MH)^+$, (Na_2 suola)

Lähtöaineet valmistettiin seuraavasti:

Allyyli-3-metyyliaminobentsoaatti

Allyyli-3-aminobentsoaatti (5 g, 28,2 mmol) liuotettiin trietyyliortoformiaattiin (50 ml) ja trifluorietikkahappoa (5 tippaa) lisättiin. Liuosta sekoitettiin ja palautusjäähdytettiin 3 Å:n molekyyliseulojen läpi viisi tuntia. Liuotin poistettiin ja jäännös liuotettiin etanoliin (50 ml), mitä seurasi etikkahapon (8,08 ml) ja natriumsyaaniboorihydridin (6,85 g, 0,108 mol) lisääminen useina annoksina. Seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 16 tuntia ja liuotin poistettiin. Jäännös liuotettiin dietyylieetteriin, pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin $MgSO_4$:llä. Raaka tuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä eluoiden pitoisuusgradientilla dikloorimetaanista dikloorimetaani/etyyliasetaattiin (95 : 5), antamaan allyyli-3-metyyliaminobentsoaatti (0,93 g, 17 %). NMR ($CDCl_3$): δ 2,88 (s, 3H); 4,81 (dt, 2H); 5,23 - 5,45 (m, 2H); 5,94 - 6,13 (m, 1H); 6,83 (dd, 1H); 7,25 (dd, 1H); 7,33 (t, 1H); 7,43 (dm, 1H).

Ms (CI): 192 $(MH)^+$

Edellä saatu amiini kondensoitiin proliinihapon kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista dikloorimetaani/dietyylieetteriin (4 : 1) antamaan (2S,4S)-1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-N'-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tioasetaatti. NMR ($CDCl_3$, rotameerien seos): 1,93 (m, 1H); 2,32 (s, 3H);

2,48 (m, osa varjostettu, 1H); 3,28, 3,31 (2 x s, 3H); 3,40 (kvintetti, 1H); 3,76 (m, 1H); 4,01 (m, 1H); 4,24 (m, 1H); 4,50 - 4,74 (m, 2H); 4,86 (d, 2H); 5,18 - 5,48 (m, 4H); 5,84 - 6,13 (m, 2H); 7,38 - 7,68 (m, 2H); 7,90 - 8,11 (m, 2H).

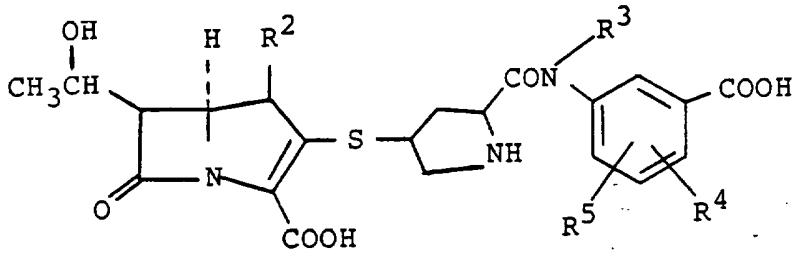
Ms (+ve FAB): 447 $(MH)^+$; 469 $(M + Na)^+$

Edellä saatu tioasetaatti deasetyloitiin ja kondensoitiin karbapeneemifosfaatin kanssa kuten esimerkissä 1, puhdistettiin kromatografisesti käyttäen pitoisuusgradienttia dikloorimetaanista etyyliasetaattiin antamaan allyyli-(1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-(1-allyylioksikarbonyyli-2-(3-allyylioksikarbonyyli-N'-metyylifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yyli-tio)-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksylaatti. NMR ($CDCl_3$, rotameerien seos): δ 1,20 (2 x d, 3H); 1,34 (2 x d, 3H); 1,87 (br, 1H); 2,30 (br, 1H); 3,29, 3,31 (2 x s peittävä m, 6H); 4,05 - 4,30 (m, 4H); 4,50 - 4,81 (m, 5H); 4,96 (d, 2H); 5,20 - 5,48 (m, 6H); 5,85 - 6,13 (m, 3H); 7,39 - 7,68 (m, 2H); 7,91 - 8,11 (m, 2H).

Ms (+ve FAB): 654 $(MH)^+$; 676 $(H + Na)^+$

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen 2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]karbapeneemijohdannaisen valmistamiseksi, jolla on kaava



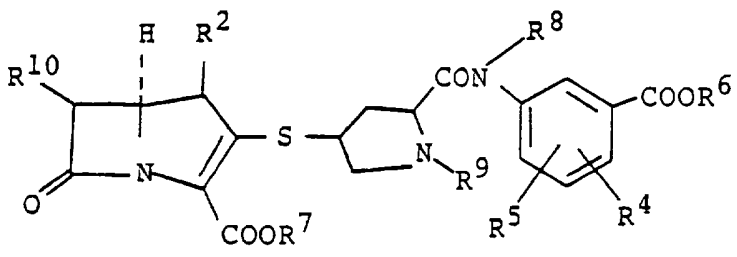
(I)

jossa

R^2 on vety tai C_{1-4}-alkyyli;

R^3 on vety tai C_{1-4}-alkyyli;

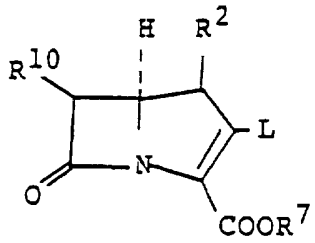
R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja ovat vety, halogeeni, syaani, C_{1-4}-alkyyli, nitro, hydroksi, karboksi, C_{1-4}-alkoksi, C_{1-4}-alkoksikarbonyyli, aminosulfonyyli, C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, di-C_{1-4}-alkyyliaminosulfonyyli, karbamoyyli, C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, di-C_{1-4}-alkyylikarbamoyyli, trifluorimetyyli, sulfonihapporyhmä, amino, C_{1-4}-alkyyliamino, di-C_{1-4}-alkyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyliamino, C_{1-4}-alkanoyyli-(N-C_{1-4}-alkyyli)amino, C_{1-4}-alkaanisulfoniamido tai -$S(O)_n$-C_{1-4}-alkyyli, jossa n on 0, 1 tai 2, edellyttäen, ettei orto-asemassa sidokseen -NR^3-ryhmään nähden ole hydroksi- tai karboksisubstituenttia, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan tai sen esterin valmistamiseksi, jolla on kaava



(V)

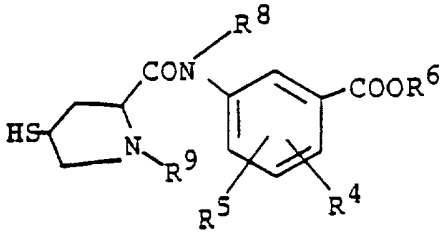
jossa R^2, R^4 ja R^5 ovat edellä määriteltyjä, jolloin R^4 ja R^5 ovat mahdollisesti suojattuja, mikäli näin on tarkoituksenmukaista, $-COOR^6$ ja $-COOR^7$ ovat karboksi tai suojattu karboksi, R^8 on edellä määritelty ryhmä R^3 tai aminon suojaryhmä, R^9 on vety tai aminon suojaryhmä; ja R^{10} on mahdollisesti suojattu 1-hydroksietyyli, jolloin vähintäin yksi suojaryhmä on läsnä, t u n n e t t u siitä, että

yhdiste, jolla on kaava



(VI)

jossa R^2, R^7 ja R^{10} ovat edellä määriteltyjä ja L on lähtevä ryhmä, kuten sulfonaatti, fosforiesteri, difenyylifosforiesteri($-OP(O)(OPh)_2$), halogenidi tai sulfoksidi, saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava



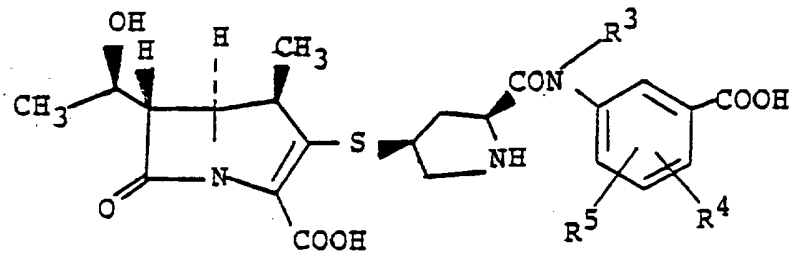
(VII)

jossa R^4, R^5, R^6, R^8 ja R^9 ovat edellä määriteltyjä, ja tarvittaessa

(i) poistetaan mahdollinen suojaryhmä/mahdolliset suojaryhmät ja

(ii) muodostetaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava



(IV)

jossa R^3, R^4 ja R^5 ovat patenttivaatimuksessa 1 määriteltyjä ryhmiä.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo tai farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappo.

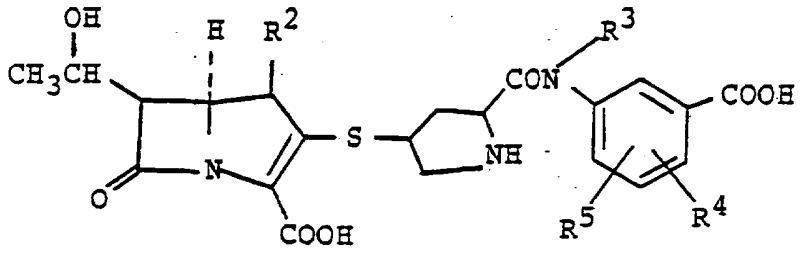
5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon mononatriumsuola.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)pyrrolidin-4-yylitio]-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihapon dinatriumsuola.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan seos, jossa on (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboksifenyylikarbamoyyli)-pyrrolidin-4-yylitio]-6-(1-hydroksietyyli)-1-metyylikarbapeneemi-3-karboksyylihappoa mono- ja dinatriumsuolan muodossa.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett terapeutiskt användbart 2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yl-tio]karbapenemderivat med formeln



(I)

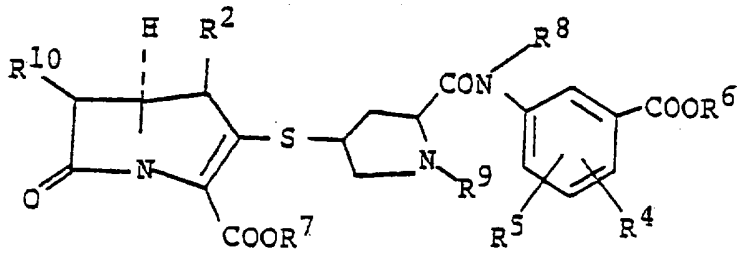
vari

R^2 är väte eller C_{1-4}-alkyl;

R^3 är väte eller C_{1-4}-alkyl;

R^4 och R^5 är samma eller olika och är väte, halogen, cyan, C_{1-4}-alkyl, nitro, hydroxi, karboxi, C_{1-4}-alkoxi, C_{1-4}-alkoxikarbonyl, aminosulfonyl, C_{1-4}-alkylaminosulfonyl, di-C_{1-4}-alkylaminosulfonyl, karbamoyl, C_{1-4}-alkylkarbamoyl, di-C_{1-4}-alkylkarbamoyl, trifluormetyl, en sulfonsyragrupp, amino, C_{1-4}-alkylamino, di-C_{1-4}-alkylamino, C_{1-4}-alkanoylamino, C_{1-4}-alkanoyl-(N-C_{1-4}-alkyl)amino, C_{1-4}-alkansulfonamido eller

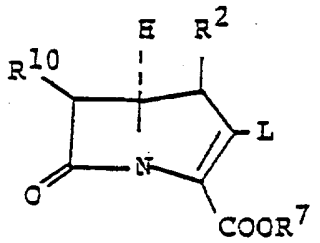
$-S(O)_n-C_{1-4}$-alkyl, vari n är 0, 1 eller 2, förutsatt, att ingen hydroxi- eller karboxisubstituent föreligger i orto-ställning i förhållande till bindningen till gruppen $-NR^3-$, eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav eller en ester därav med formeln



(V)

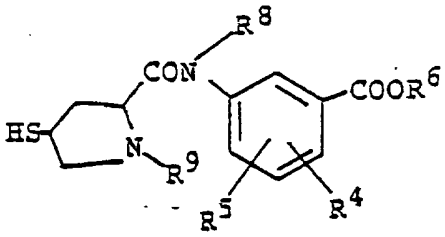
vari R^2, R^4 och R^5 är ovan definierade, varvid R^4 och R^5 eventuellt är skyddade om detta är ändamålsenligt, $-COOR^6$ och $-COOR^7$ är karboxi eller skyddad karboxi, R^8 är en ovan definierad grupp R^3 eller en skyddsgrupp för amino, R^9 är väte eller en skyddsgrupp för amino; och R^{10} är en eventuellt skyddad 1-hydroxietylgrupp, varvid minst en skyddsgrupp är närvarande, k ä n n e t e c k n a t av att

en förening med formeln



(VI)

vari R^2, R^7 och R^{10} är ovan definierade och L är en avgående grupp, som sulfonat, fosforester, difenylfosforester(-$OP(O)(OPh)_2$), halogenid eller sulfoxid, omsätts med en förening med formeln



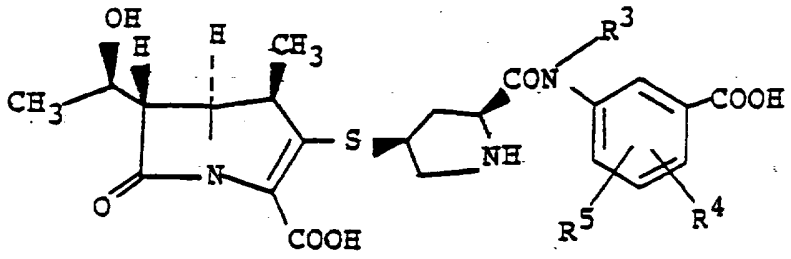
(VII)

vari R^4, R^5, R^6, R^8 och R^9 är ovan definierade, och om så behövs

(i) avlägsnas en eventuell skyddsgrupp/eventuella skyddsgrupper och

(ii) bildas ett farmaceutiskt godtagbart salt.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en förening med formeln



(IV)

vari R^3, R^4 och R^5 är i patentkrav 1 definierade grupper.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yltio]-6-(1-hydroxietyl)-1-metylkarbapenem-3-karboxylsyra eller ett farmaceutiskt acceptabelt salt därav.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yltio]-6-(1-hydroxietyl)-1-metylkarbapenem-3-karboxylsyra.

5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer ett mononatriumsalt av (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)-pyrrolidin-4-yltio]-6-(1-hydroxietyl)-1-metylkarbapenem-3-karboxylsyra.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer ett dinatriumsalt av (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yltio]-6-(1-hydroxietyl)-1-metylkarbapenem-3-karboxylsyra.

7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en blandning innehållande (1R,5S,6S,8R,2'S,4'S)-2-[2-(3-karboxifenylkarbamoyl)pyrrolidin-4-yltio]-6-(1-hydroxietyl)-1-metylkarbapenem-3-karboxylsyra i form av mono- och dinatriumsalter.