



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl.³: C 07 D 487/04
A 61 K 31/40



Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENT SCHRIFT** A5

⑪

638 522

⑳ Gesuchsnummer: 5354/78

㉓ Inhaber:
Merck & Co., Inc., Rahway/NJ (US)

㉔ Anmeldungsdatum: 17.05.1978

㉔ Erfinder:
Burton Grant Christensen, Metuchen/NJ (US)
David Houngh-Min Shih, Edison/NJ (US)

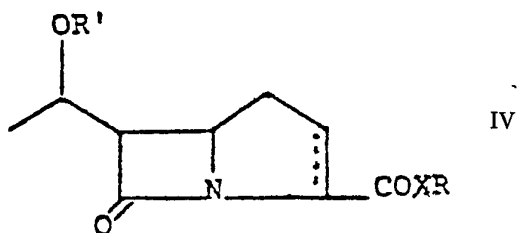
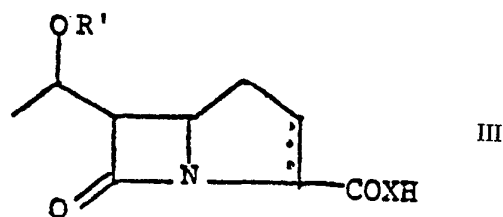
㉔ Patent erteilt: 30.09.1983

㉔ Patentschrift
veröffentlicht: 30.09.1983

㉔ Vertreter:
Bovard AG, Bern 25

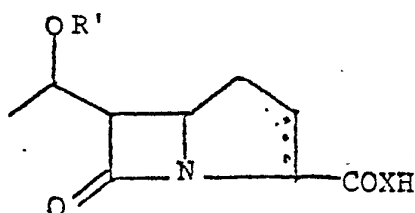
㉔ Therapeutisch aktive 6-(alpha-Hydroxyäthyl-7-oxo-1-azabicyclo(3.2.0)hept-2-en-2-carbonsäurederivate sowie Verfahren zu deren Herstellung.

㉔ Die therapeutisch aktiven Verbindungen der Formel III, worin die punktierte Linie die ungesättigte oder gesättigte 2,3 Bindung angibt und R' und X die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben sowie deren pharmazeutisch annehmbaren Salze und Ester sind wertvolle Antibiotika. Sie können durch hydrierende Spaltung und gegebenenfalls durch Hydrierung der Doppelbindung von Thienamycin der Formel IV und dessen Derivaten erhalten werden.



PATENTANSPRÜCHE

1. Verbindung der Formel III

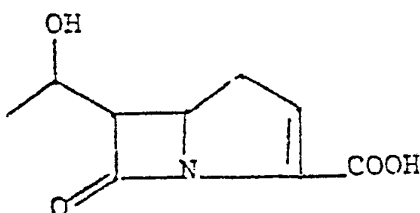


(III)

worin die punktierte Linie die ungesättigte 2,3-Dehydro- oder gesättigte, 2,3-Dihydro-Verbindung angibt,

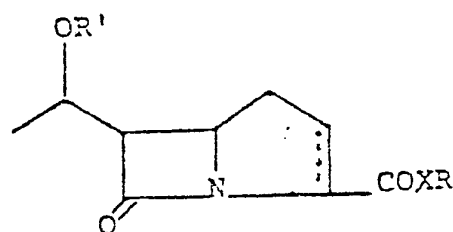
R' die Bedeutung Wasser, Phenyl, C₁-C₆-Alkyl, Alkoxyalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkoxygruppe und 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkylgruppe, C₂-C₆-Alkenyl, Aralkyl und kernsubstituiertes Aralkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in der Alkyl- und 6 bis 10 Kohlenstoffatomen in der Arylgruppe und wobei der Kernsubstituent Chlor, Fluor, Brom, Jod, Hydroxy, Amino oder C₁-C₆-Alkyl ist, Alkylthioalkyl mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen, Acyl, Thioacyl, Sulfo- oder Alkalimetallsulfonatgruppe oder Dimethoxyphosphinyl hat und X Sauerstoff oder Schwefel bedeutet, sowie deren pharmazeutisch annehmbare Salze und Ester.

2. Verbindung gemäss Anspruch 1 der Formel I



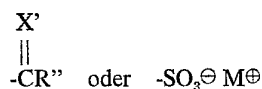
(I)

3. Verbindung der Formel IV gemäss Anspruch 1



(IV)

worin die punktierte Linie die ungesättigte 2,3-Dehydro- oder gesättigte, 2,3-Dihydro-Verbindung angibt, R' Wasserstoff, Phenyl, C₁-C₆-Alkyl, Alkoxyalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkoxygruppe und 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkylgruppe, C₂-C₆-Alkenyl, Aralkyl und kernsubstituiertes Aralkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in der Alkyl- und 6 bis 10 Kohlenstoffatomen in der Arylgruppe und wobei der Kernsubstituent Chlor, Fluor, Brom, Jod, Hydroxy, Amino oder C₁-C₆-Alkyl ist, Alkylthioalkyl mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen oder eine Gruppe der Formel

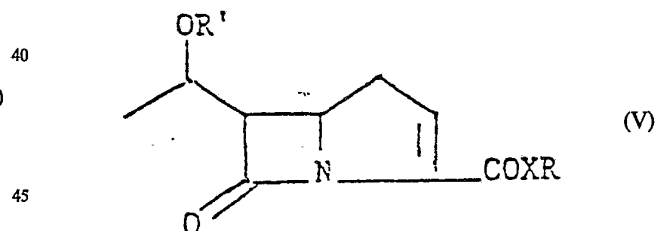


worin M⁺ Wasserstoff oder ein Alkalimetallkation, X' Sauerstoff oder Schwefel und R'' Wasserstoff, Amino, Mono- oder Dialkylamino, worin die Alkylgruppe 1 bis 6 Kohlenstoffatome hat, Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Phenylthio und kernsubstituiertes Phenylthio, wobei der Kernsubstituent Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Chlor, Fluor, Brom oder Jod ist, Alkoxy mit 1 bis 6 Kohlenstoff-

atomen, Aryloxy mit 6 bis 10 Kohlenstoffatomen, Aralkoxy und kernsubstituiertes Aralkoxy, wobei die Alkoxygruppe 1 bis 3 Kohlenstoffatome und der Kernsubstituent Nitro, Chlor, Brom, Fluor, Jod und Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen ist, Aryl mit 6 bis 10 Kohlenstoffatomen, Alkenyl mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, Benzyl, Halogenalkyl und Perhalogenalkyl, worin das Halogen Chlor, Brom oder Fluor ist, und das Alkyl 1 bis 6 Kohlenstoffatomen hat, X Sauerstoff oder Schwefel,

R Wasserstoff, Benzhydryl, Phthalidyl, Alkyl mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, Phenacyl und kernsubstituiertes Phenacyl, wobei die Substituenten Chlor, Brom, Fluor und Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen sind, Alkoxyalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkoxy- und 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkylgruppe, Alkanoyloxyalkyl mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen, Halogen- und Perhalogenalkyl, wobei das Halogen Chlor, Brom oder Fluor ist und die Alkylkette 1 bis 6 Kohlenstoffatome hat, Alkenyl mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, Aralkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in dem Alkyl- und 6 bis 10 Kohlenstoffatomen im Arylrest, Heteroalkyl, wobei das Heteroatom Sauerstoff, Schwefel oder Stickstoff ist, kernsubstituiertes Aralkyl und Heteroaralkyl, wobei der Substituent Chlor, Fluor, Brom, Jod und Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen ist, Alkoxy mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Heterocyclalkyl, wobei der Heterozyklus 4 bis 10 Kohlenstoffatome hat und das Heteroatom Sauerstoff, Schwefel oder Stickstoff ist und die Alkylgruppe 1 bis 6 Kohlenstoffatome hat, Indanylmethyl, Aryl und kernsubstituiertes Aryl mit 6 bis 10 Ringkohlenstoffatomen, wobei der Kernsubstituent Hydroxy, 5-Indanyl, Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Chlor, Fluor, Brom ist, Alkylthioalkyl mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen, Cycloalkylthioalkyl mit 4 bis 12 Kohlenstoffatomen, Acylthioalkyl, wobei der Acylrest 2 bis 10 Kohlenstoffatome und der Alkylrest 1 bis 6 Kohlenstoffatome hat, bedeutet, und pharmazeutisch annehmbare Salze derselben.

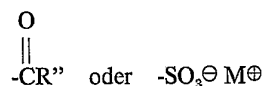
4. Verbindung gemäss Anspruch 3 der Formel V



(V)

worin R', R und X die im Anspruch 3 angegebene Bedeutung aufweisen.

5. Verbindung gemäss Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass R' Wasserstoff, Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Allyl, 2-Methyl-2-propenyl, Benzyl, p-Brombenzyl, p-tert-Butylbenzyl, Alkylthioalkyl mit 2 bis 8 Kohlenstoffatomen, eine Gruppe der Formel:



worin R'' Wasserstoff, Amino, Mono- und Dialkylamino, mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen im Alkylanteil, Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Phenylthio, Alkoxy mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Phenoxy, Benzyloxy, p-Nitrobenzyloxy, Phenyl, Allyl, 2-Methyl-2-propenyl, Benzyl, Halogen- oder Perhalogenalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, wobei das Halogen Chlor, Fluor oder Brom ist,

R Wasserstoff, Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Phenacyl, p-Bromphenacyl, Pivaloyloxymethyl, Halogen-

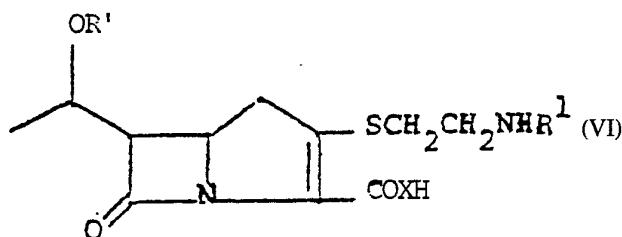
oder Perhalogenalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, wobei das Halogen Chlor, Fluor oder Brom ist, Alkenyl mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, Benzyl, Benzylhydridyl, p-tert.-Butylbenzyl, p-Brombenzyl, Phthalidyl, 5-Indanylmethyl, Phenyl, 5-Indanyl, Acetylthiomethyl, Acetylthioäthyl, Pivaloylthiomethyl, Alkylthioalkyl mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, und X Sauerstoff ist.

6. Verbindung gemäss Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass R' Wasserstoff, Methyl, Allyl, Phenyl, Benzyl, Methylthiomethyl, Formyl, Sulfoacetyl, Carbamoyl, Bromacetyl, Äthoxycarbonyl, p-Nitrobenzyloxycarbonyl,

X Sauerstoff,

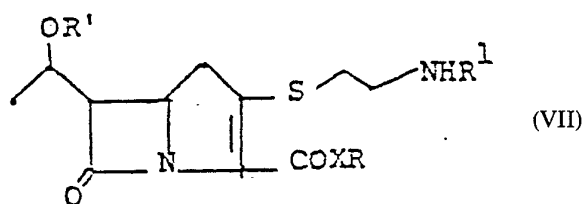
R Wasserstoff, Methyl, tert.-Butyl, Phenacyl, p-Bromphenacyl, Pivaoyloxymethyl, 2,2,2-Trichloräthyl, Allyl, 3-Methyl-2-butenyl, 2-Methyl-2-propenyl, Benzyl, Benzylhydridyl, p-tert.-Butylbenzyl, Phthalidyl, Phenyl, 5-Indanyl, Acetylthiomethyl, Acetylthioäthyl, Pivalylthiomethyl, Methylthiomethyl ist.

7. Verfahren zur Herstellung einer im Ringsystem einfach ungesättigten Verbindung der Formel III gemäss Anspruch 1 und deren pharmazeutisch annehmbarer Salze und Ester, worin R' und X die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, dadurch gekennzeichnet, dass in einer entsprechenden Verbindung der Formel VI



worin R' Wasserstoff oder Acyl ist, durch hydrierende Spaltung die über Schwefel gebundene Seitenkette entfernt wird.

8. Verfahren gemäss Anspruch 7 zur Herstellung einer im Ringsystem einfach ungesättigten Verbindung der Formel IV gemäss Anspruch 3, worin R', R und X die in Anspruch 3 angegebene Bedeutung haben, und pharmazeutisch annehmbare Salze derselben, dadurch gekennzeichnet, dass eine entsprechende Verbindung der Formel VII



worin R' Wasserstoff oder Acyl ist, hydrierend gespalten wird.

9. Verfahren zur Herstellung einer im Ringsystem gesättigten Verbindung der Formel III gemäss Anspruch 1 und deren pharmazeutisch annehmbarer Salze und Ester, worin R' und X die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, dadurch gekennzeichnet, dass in einer entsprechenden Verbindung der Formel VI, worin R' Wasserstoff oder Acyl ist, durch hydrierende Spaltung die über Schwefel gebundene Seitenkette entfernt wird und die Doppelbindung zu einer Einfachbindung hydriert wird.

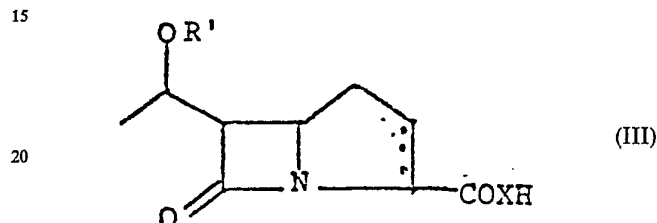
10. Verfahren nach Anspruch 9 zur Herstellung einer im Ringsystem gesättigten Verbindung der Formel IV gemäss Anspruch 3, worin R', R und X die Anspruch 3 angegebene Bedeutung haben, und pharmazeutisch annehmbare Salze derselben, dadurch gekennzeichnet, dass eine entsprechende Verbindung der Formel VII worin R' Wasserstoff

oder Acyl ist, hydrierend gespalten und die Doppelbindung hydriert wird.

11. Antibiotisches, pharmazeutisches Präparat, enthaltend in einer Einheitsdosierung eine therapeutisch wirksame Menge einer Verbindung gemäss Anspruch 1 in Verbindung mit einem pharmazeutischen Träger.

12. Antibiotisches, pharmazeutisches Präparat gemäss Anspruch 11, enthaltend eine Verbindung gemäss Anspruch 3.

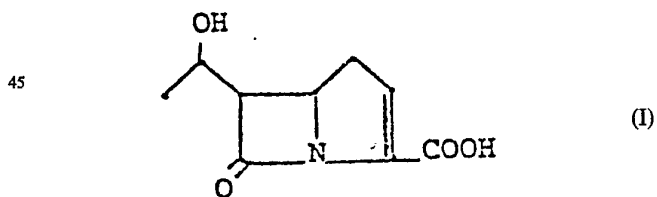
Die Erfindung bezieht sich auf therapeutisch aktive Verbindungen der Formel III



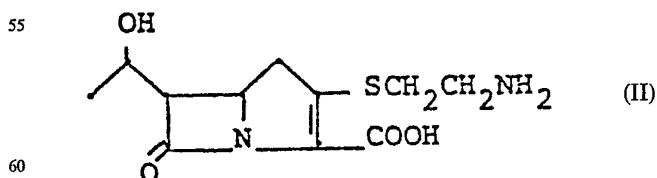
worin die punktierte Linie die ungesättigte 2,3-Dehydro- oder gesättigte, 2,3-Dihydro-Verbindung angibt,

R' die Bedeutung Wasserstoff, Phenyl, C₁-C₆-Alkyl, Alkoxyalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkoxygruppe und 1 bis 6 Kohlenstoffatomen in der Alkylgruppe, C₂-C₆-Alkenyl, Aralkyl und kernsubstituiertes Aralkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in der Alkyl- und 6 bis 10 Kohlenstoffatomen in der Arylgruppe und wobei der Kernsubstituent Chlor, Fluor, Brom, Jod, Hydroxy, Amino oder C₁-C₆-Alkyl ist, Alkylthioalkyl mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen oder Acyl hat und X Sauerstoff oder Schwefel bedeutet, sowie deren pharmazeutisch annehmbare Salze und Ester. Diese Verbindungen sind wertvolle Antibiotika. Die Erfindung bezieht sich ferner auf Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen sowie auf pharmazeutische Zubereitungen.

Eine bevorzugte Verbindung der Erfindung wird durch die folgende Strukturformel I wiedergegeben



Diese erfindungsgemässen Verbindungen sind verwandt mit dem neuen Antibiotika Thienamycin. Thienamycin ist bekannt unter der folgenden Strukturformel



Thienamycin ist beschrieben in der US Patentschrift 3 950 357 (13. April 1976). Es kann als Ausgangsprodukt zur Herstellung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung durch Entfernen der 3-Aminoäthylthio-Seitenkette dienen.

Thienamycin und deren Isomere (in reiner Form und als Mischungen) sind auch erhältlich durch die Totalsynthese,

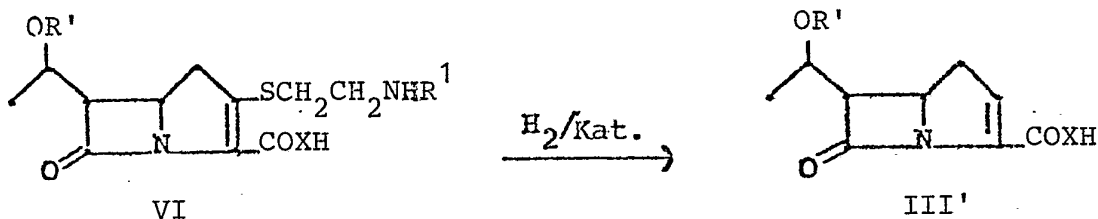
die beschrieben ist in der US Patentanmeldung Ser. Nr. 833 210 (15. September 1977). Diese Patentanmeldung macht die Isomeren von II als Ausgangsprodukte zur Herstellung der Verbindungen der Erfindung I zugänglich.

Es besteht ein beständiges Bedürfnis für neue Antibiotika. Da Antibiotika unglücklicherweise keine ständige selektive Wirksamkeit haben, entstehen resistente Stämme und Pathogene. Ferner haben bekannte Antibiotika den Nachteil, dass sie nur gegen gewisse Typen von Mikroorganismen wirksam sind. Daher ist eine weitere Erforschung nach neuen Antibiotika erforderlich.

Unerwarteterweise wurde gefunden, dass die Verbindungen gemäss der vorliegenden Erfindung Breitband-Antibiotika sind, die zur Therapie beim Menschen, beim Tier und in unbelebten Systemen sind.

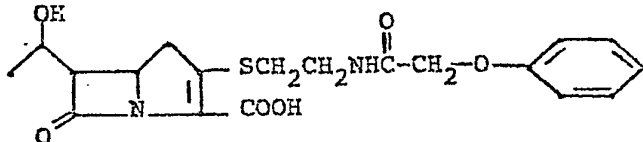
Die vorgenannten Antibiotika sind aktiv gegen einen weiten Bereich von Pathogen, die sowohl grampositive Bakterien einschliessen wie *S. aureus*, *S. pyogenes* und *B. subtilis* und gramnegative Bakterien wie *E. coli*, *Proteus morganii*, *Klebsiella*, und *Pseudomonas*.

Die erfindungsgemässen Verbindungen der Formel I werden zweckmässigerweise hergestellt durch Hydrierung von Thienamycin (Formel II oben) oder Derivate desselben, gemäss der folgenden Reaktionsgleichung:



worin R_2 und R_3 unabhängig voneinander Wasserstoff oder Acyl sind.

In dem obigen Reaktionsschema ist das Ausgangsprodukt vorzugsweise ein N-acyliertes Thienamycin-Derivat worin der Acylanteil einen aromatischen Ring enthält wie z.B. N-Phenoxyacetyl-thienamycin:



Diese N-acylierten Thienamycine, in denen der Acylanteil ein aromatisches Ringsystem ist, sind bevorzugt bei der Herstellung der Verbindungen gemäss der Erfindung, da das gewünschte Produkt nach der Hydrierung durch chromatographische Auftrennung der Reaktionsmischung über einem solchen Polystyrolharz leicht aufgetrennt werden kann, das eine Affinität zu dem aromatischen Kern hat, durch Abspaltung der Cysteaminy-Seitenkette, während das Harz eine geringe oder keine Affinität gegenüber den Decysteaminy-Thienamycin-Derivaten gemäss der Erfindung hat.

Geignete Katalysatoren für die vorgenannte Hydrierung sind Platinmetalle und Oxide derselben, wie Palladium, Platin, Rhodium und dgl. und Raney Nickel. Wie oben erwähnt ist das Thienamycin-Substrat vorzugsweise ein N-acyliertes Thienamycin-Derivat, wobei der Acylanteil ein aromatischer Rest ist. Vorzugsweise wird die Hydrierung in einem Hydrierungsbehälter durchgeführt, wobei das zu reduzierende Thienamycin-Substrat in Wasser oder einer wässrigen Mischung von Wasser und einem polaren organischen Lösungsmittel wie Dioxan, Tetrahydrofuran, Dimethylformamid (DMF) oder dgl. gelöst ist. Das ungesättigte De-

rivat, Ia, wird in im wesentlichen quantitativer Ausbeute durch Hydrierung, wie vorstehend beschrieben, bei 0 bis 50°C, unter 1 bis 2 Atmosphären Wasserstoff innerhalb von 0,5 bis 3 Stunden erhalten. Das 2,3-Dihydroderivat, Ib, wird erhalten durch Hydrierung, wie vorstehend beschrieben, bei 0 bis 70°C bei etwa 1 bis 10 Atmosphären Wasserstoff innerhalb von 3 bis 10 Stunden.

Wie vorstehend erwähnt wird das erhaltene gewünschte Produkt von dem Ausgangsmaterial und von dem Cysteaminyrest durch Chromatographie über ein Polystyrolharz wie ein XAD-2 Harz (hergestellt von der Firma Rohm & Haas) erhalten. Das Trennverfahren wird beispielsweise durchgeführt durch Eingeben der Reaktionsmischung in eine XAD-2 Harzkolonne und anschliessende Eluierung mit Wasser. Die Identifizierung der gewünschten Fraktionen wird durchgeführt durch Registrierung der gekennzeichneten Fraktionen durch Ultraviolett-Absorption und flüssige Hochdruckchromatographie, HPLC (Waters Associates). Aufgrund der Affinität des aromatischen Acylanteils gegenüber dem XAD-2 Harz wird die Abtrennung der Produkte der vorliegenden Erfindung von dem Ausgangsmaterial und von den Nebenprodukten der Hydrierung in einfacher Weise leicht durchgeführt. Die Auswertung der Fraktionen aus dem XAD-2 Harz wird durchgeführt durch Einführen einer aliquoten Probe (1 µl) der fraglichen Fraktion in das HPLC System, das ausgestattet ist mit einem 254 nm UV-Detektor und einer 2 ft. × 1/8 inch i.d. Kolonne, beschickt mit einem C_{18} -Bondapak Phasenumkehrabsorbenten (geliefert von Waters Associates). Die Kolonne wird eluiert mit einer wässrigen 10%igen Tetrahydrofuran (THF) Lösung mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 0,5 ml/Min.

Die erfindungsgemässen Verbindungen sind wertvolle Antibiotika, die gegen verschiedene gram-positive und gram-negative Bakterien wirksam sind und finden daher Verwen-

ding in der menschlichen und Veterinärmedizin sowie in leblosen Systemen. Die erfindungsgemässen Produkte können daher verwendet werden als antibakterielle Arzneimittel zur Behandlung von Infektionen verursacht durch gram-positive oder gram-negative Bakterien z.B. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas* und *Bacterium proteus*. Die antibakteriellen Verbindungen der Erfindung können ferner verwendet werden als Additive für Tiernahrungsmittel, zum Präparieren von Futtermitteln und als Desinfektionsmittel. Beispielsweise können sie verwendet werden in wässrigen Zubereitungen in Konzentrationen von etwa 0,1 bis 100 ppm, um das schädliche Bakterienwachstum bei medizinischen oder zahntechnischen Instrumenten zu unterbinden und als Bakterizide für industrielle Anwendungen, z.B. in Farbstoffen auf Wasserbasis und in dem weissen Wasser in Papierfabriken.

Die erfindungsgemässen Verbindungen können allein oder in Kombination als Aktivsubstanz in einer Vielzahl von pharmazeutischen Zubereitungen verwendet werden. Diese Antibiotika und ihre entsprechenden pharmazeutisch annehmbaren Salze, Ester und Amide, können verwendet werden in Form von Kapseln, Tabletten, Pulver oder flüssigen Lösungen wie Suspensionen oder Elixirs. Sie können oral, intravenös oder intramuskulär verabreicht werden. Die pharmazeutisch annehmbaren Derivate sind Salze der freien Aminogruppe, wie beispielsweise das Phosphat, Chlorid, Citrat, sowie Salze, Ester und Amide von geeigneten funktionellen Gruppen, die Träger der Substituenten R oder R' sind.

Diese pharmazeutische Zubereitungsformen können nach Verfahren, wie sie in der Branche üblich sind, hergestellt werden.

Die Präparate werden vorzugsweise in einer solchen Form hergestellt, die geeignet zur Absorption durch den gastro-intestinalen Trakt ist. Tabletten und Kapseln für orale Verabreichung können in Einheitsdosierungen vorliegen und können übliche Exzipienzien enthalten wie Bindemittel z.B. Syrup, Acacia, Gelatine, Sorbitol, Tragacanth oder Polyvinylpyrrolidon, Füllstoffe, beispielsweise Lactose, Zucker, Maisstärke, Kalziumphosphat, Sorbitol oder Glycin, Gleitmittel beispielsweise Magnesiumstearat, Talcum, Polyäthylenglycol, SiO₂, Zerfallmittel, beispielsweise Kartoffelstärke oder annehmbare Netzmittel wie Natriumlaurylsulfat. Die Tabletten können nach bekannten Verfahren überzogen sein. Orale flüssige Präparate können in Form von wässrigen oder öligen Suspensionen, Lösungen, Emulsionen, Syrops, Elixirs usw. vorliegen oder sie können als trockenes Produkt beispielsweise zur Auflösung mit Wasser oder anderen geeigneten Trägerstoffen hergestellt werden. Diese flüssigen Zubereitungen können übliche Additive enthalten wie beispielsweise Suspendierungsmittel, beispielsweise Sorbitol, Syrup, Methylcellulose, Glucose/Zuckersirup, Gelatine, Hydroxyäthylcellulose, Carboxymethylcellulose, Aluminiumstearat, Gel oder hydrierte Speiseöle, z.B. Mandelöl, fraktioniertes Kokosnussöl, ölige Ester, Propylenglykol oder Äthylenglykol, Konservierungsmittel, z.B. Methyl- oder Propyl p-Hydroxybenzoate oder Sorbinsäure. Suppositorien können übliche Basisstoffe enthalten, z.B. Kakaobutter oder andere Glyceride.

Präparate für die Injektion können vorliegen in Einzeldosierungen in Form von Ampullen oder in Mehrfachdosierungen mit zugefügtem Konservierungsmittel. Die Präparate können als Suspensionen, Lösungen, Emulsionen in Öl oder wässrigen Träger vorliegen oder können Formulierungsmittel enthalten wie Suspensions-, Stabilisations- und/oder Dispersionsmittel. Andererseits kann die Aktivsubstanz in Pulverform vorliegen für die Zubereitung mit einem ge-

eigneten Träger, z.B. sterilem, pyrogenfreiem Wasser, vor Gebrauch.

Die Zubereitungen können auch in geeigneter Form zur Absorption durch die Mukosmembrane der Nase und der Atmungs- oder Bronchialgewebe vorliegen und kann vorzugsweise zubereitet sein in Form von Pulvern oder flüssigen Sprays oder Inhalationsmitteln, Lutschtabletten usw. Zur Behandlung der Augen und Ohren können die Präparate als Kapseln, in flüssiger oder halbfester Form vorliegen oder sie können als Tropfen angewandt werden. Topische Anwendungsformen können formuliert werden in hydrophoben oder hydrophilen Basen, wie Salben, Cremes, Lotions, Anstrichen oder Pulvern.

Zusätzlich zu dem Trägerstoff können die Präparate ferner Stabilisatoren, Bindemittel, Antioxidanzien, Konservierungsmittel, Gleitmittel, Suspensionsmittel, die Viskosität beeinflussende Mittel und Geschmacksstoffe enthalten. Es können ferner weitere Aktivsubstanzen zugefügt werden, um ein breiteres antibiotisches Spektrum zu erreichen.

Für veterinäre Verwendung kann das Präparat beispielsweise formuliert werden für eine Intramammaverabreichung entweder langwirkenden oder schnell-freisetzenden Basisstoffen.

Die zu verabreichende Dosierung hängt in weitem Umfang ab von den Bedingungen des zu behandelnden Subjektes und dem Gewicht, der Häufigkeit der Verabreichung, wobei der parenterale Weg für allgemeine Infektionen und der orale Weg für intestinale Infektionen bevorzugt ist. Im allgemeinen enthält eine tägliche orale Dosierung etwa 15 bis 600 mg der Aktivsubstanz pro kg. Körpergewicht in einer oder mehreren Verabreichungen pro Tag. Eine bevorzugte tägliche Dosierung für Erwachsene liegt im Bereich von etwa 80 bis 120 mg der Aktivsubstanz pro kg Körpergewicht.

Die Präparate können verabreicht werden in mehreren Einheitsdosierungen wie beispielsweise in fester oder flüssiger, oral einnehmbarer Dosierung. Die Präparate können pro Einheitsdosierung, entweder flüssig oder fest, etwa 0,1 bis 99% Aktivsubstanz, vorzugsweise 10-60% Aktivsubstanz enthalten. Die Präparate enthalten im allgemeinen 15 bis 1500 mg der Aktivsubstanz, jedoch wird es bevorzugt eine Dosierung im Bereich von etwa 250 mg bis 1000 mg zu verwenden. Die Einheitsdosierung ist bei parenteraler Verabreichung im allgemeinen die reine Verbindung in einer leicht angesäuerten sterilen Wasserlösung oder sie liegt in Form eines löslichen Pulvers zur Herstellung einer Lösung vor.

In den folgenden Beispielen wird die Erfindung im einzelnen näher erläutert.

Beispiel 1

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat durch Hydrierung von N-Phenoxyacetyl-thienamycin Natriumsalz

Stufe A

Herstellung des Natriumsalzes von N-Phenoxyacetyl-thienamycin

In einem 250 ml Kolben, enthaltend Thienamycin (190 mg) werden 30 ml Wasser, 0,6 g Natriumbicarbonat und 30 ml Dioxan zugefügt. Während die Mischung gerührt und auf 0°C gehalten wird, wird Phenoxyacetylchlorid (170 mg) tropfenweise während 10 Minuten zugegeben. Die Lösung wird weitere 10 Minuten gerührt und dann mit 30%iger Phosphorsäure auf ein pH von 4,5 angesäuert. Zur Entfernung des Überschusses des Reagenzes und des hy-

drolisierten Produktes, der Phenoxyessigsäure, wird die angesäuerte Lösung schnell mit 50 ml Äther extrahiert. Die erhaltene wässrige Schicht wird weiterhin angesäuert mit 30% Phosphorsäure bis zu einem pH von 2,0 und dann mit 50 ml Äthylacetat extrahiert. Die organische Schicht, die das freie N-Phenoxyacetyl Thienamycin enthält, wird abgetrennt und mit 30 ml einer wässrigen Lösung enthaltend 60 mg Natriumbicarbonat extrahiert. Die wässrige Schicht wird gefriergetrocknet und ergibt 120 mg N-Phenoxyacetyl-thienamycin Natriumsalz. Elektrophorese (0,5 M, pH 7,0, Phosphatpuffer, 2KV, 20 Minuten): Einzelne bioaktive Zone, die sich 45 mm gegen die Anode bewegt.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 302 nm.

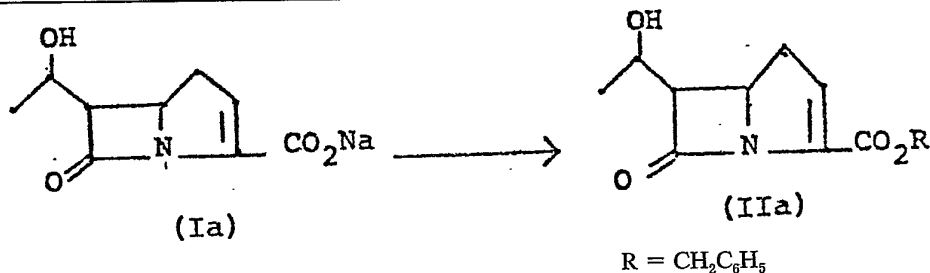
Stufe B

Herstellung des Natriumsalzes von 6-(α -Hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat

In einem 250 ml Hydrierbehälter enthaltend 1,4 Palladiumoxid und 5 ml Wasser werden 73 mg N-Phenoxyacetyl Thienylamycin Natriumsalz in 27 ml Wasser zugefügt. Die Mischung wird unter einer Atmosphäre Wasserstoff bei 25°C drei Stunden gerührt, worauf der Katalysator durch Filtration abgetrennt wird. Das Filtrat wird auf 5 ml eingengt und eine 80 ml XAD-2 Harzkolonne damit beschickt. Die Kolonne wird mit Wasser in 3 ml Fraktionen eluiert und durch UV-Absorption ausgewertet. Die Fraktionen, enthaltend die Titelverbindung, werden identifiziert, kombiniert, gefriergetrocknet und ergeben 12 mg Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat. Elektrophorese (0,5 M pH 7,0 Phosphatpuffer, 2 kv, 20 Minuten): einzelne bioaktive Zone, die sich 70 mm gegen die Anode bewegt.

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 265 nm.

100 MHz NMR (D_2O): 1,29 (d), 2,86 (m), 3,39 (q), 4,24 (Quintett), 4,26 (dt) und 6,27 ppm (q). Die antibakterielle Aktivität dieser Verbindung wird durch β -Lactamase inhibiert.



Beispiel 2

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat durch Hydrierung von N-Phenoxyacetyl-thienamycin Natriumsalz

Die in Beispiel 1, Stufe B beschriebene Reaktion wird wiederholt mit der Ausnahme, dass die Reaktionszeit auf 6 Stunden ausgedehnt wird. Die Fraktionierung der Reaktionsmischung in der XAD-2 Kolonne und Eluierung mit Wasser ergibt 3 ml Fraktionen. Die Fraktionen Nr. 15 bis Nr. 60, die durch UV-Absorption identifiziert wurden, werden kombiniert und als das ungesättigte Produkt gemäss Beispiel 1 ermittelt. Die Fraktionen Nr. 1 bis 14, die keine UV-Absorption zeigen, werden auf MB-108 Platten biologisch geprüft und zeigen, dass die Aktivität bei Fraktion Nr. 6 beginnt, mit einer Spitze bei Fraktion 9 und sich vermindert bei Fraktion Nr. 13. Die antibakterielle Aktivität dieser Fraktionen wird inhibiert durch β -Lactamase. Fraktionen Nr. 9 bis Nr. 13 werden zur Trockene eingedampft und ergeben 0,5 mg der Titelverbindung.

Beispiel 3

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat durch Hydrierung von Thienamycin Natriumsalz

Gemäss dem Verfahren von Beispiel 1, Stufe B, mit der Ausnahme dass N-Phenoxyacetyl-thienamycin ersetzt wird durch eine äquivalente Menge von Thienamycin, wird die Titelverbindung erhalten, die aus der Reaktionsmischung durch präparative Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von 20% Methanol in Wasser als Eluierungsmittel auf Silikagel-Platten (Silikagel GF, Analtech Inc.) gewonnen wird.

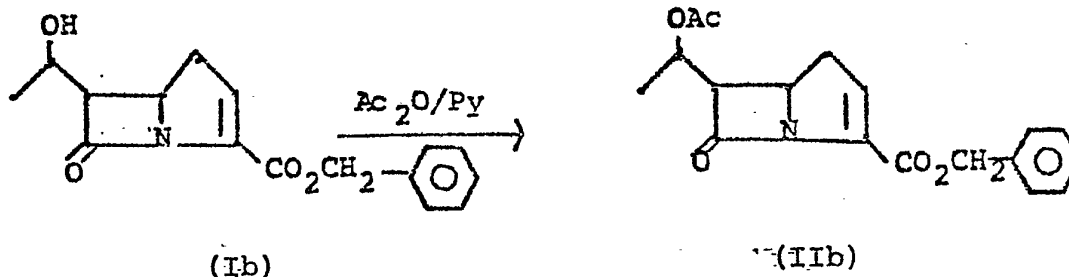
Beispiel 4

Herstellung von Benzyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (IIa)

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carboxylat (Ia) 5 mg wird mit Benzylbromid (0,2 ml) in Hexamethylphosphoramid (0,5 ml) bei 25°C 30 Minuten gerührt. Zu der Mischung werden 5 ml Äthylacetat zugefügt. Nachdem die Mischung gründlich mit Wasser gewaschen ist, wird die organische Schicht abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und auf 0,2 ml eingengt. Das gewünschte Produkt (3,0 mg) wird durch TLC, Silikagel GF Platten (R_f 0,31, 20% Äthylacetat/Chloroform) isoliert. Das Produkt zeigt eine IR-Absorption bei 1780 cm^{-1} (β -Lactam), UV-Absorption bei 276 nm, Massenspektrum bei m/e 287 (molekulares Ion) und NMR Resonanz bei 3,18 ppm (q, $J=3,0$ und 6,0 Hz), welche Daten übereinstimmen mit der angenommenen Struktur (II, $\text{R} = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$).

Beispiel 5

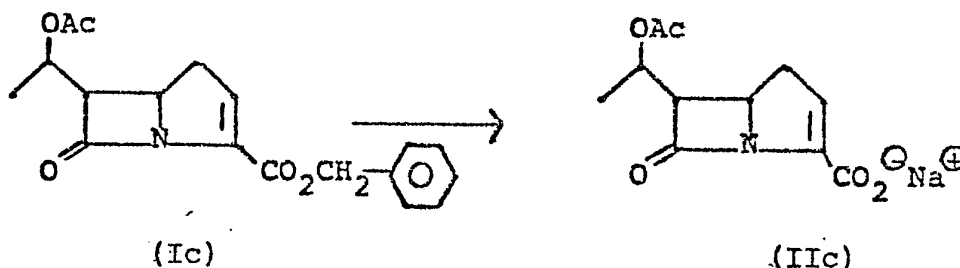
Herstellung von Benzyl-6-(α -acetoxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carboxylat (IIb)



Benzyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carboxylat (Ib) (18 mg) werden in 1 ml Pyridin (Py) und 0,2 ml Essigsäureanhydrid (Ac_2O) gelöst. Die Mischung wird 3 Stunden bei 25°C gerührt und dann zur Trockene eingedampft, wobei ein öliges Rückstand entsteht. Der Rückstand wird in 0,2 ml Chloroform gelöst und über zwei 20 $\times$ 20 cm, 250 μ Silikagel TLC Platten (R_f 0,56, 20% Äthylacetat/Chloroform) chromatographiert und ergibt 4 mg des gewünschten Produktes (IIb). NMR (CDCl_3 , 60 MHz) Resonanzen bei 2,02 (s, OAc) und 6,48 (t, Vinylproton) und 7,40 ppm (m, aromatische Protonen) und IR (CHCl_3) Carbonylvibrationen bei 1780 (β -Lactam) und 1740 cm^{-1} (Ester).

Beispiel 6

Herstellung von Natrium-6-(α -acetoxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carboxylat (IIc)



Benzyl-6-(α -acetoxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carboxylat (Ic) (4 mg) werden in 2 ml Dioxan und 2 ml Phosphatpuffer (0,1 M, pH 7,0) gelöst. Die Mischung wird bei 25°C unter 1 Atmosphäre Wasserstoff in Gegenwart eines 10% Pd/C Katalysators (10 mg) 10 Minuten gerührt. Die Mischung wird dann von Katalysator abfiltriert und mit fünf mal 2 ml Äther extrahiert. Die wässrige Schicht wird abgetrennt, gefriergetrocknet und ergibt 1 mg der Titelverbindung, die biologisch aktiv ist gegenüber Staphylococcus. Das Produkt hat eine UV-Absorption bei 268 nm und eine HPLC-Retentionszeit von 6,5 Minuten im Vergleich zu 3,2 Minuten für das 6-(α -Hydroxy) Analoga (2 ft. $\times$ 1/8 in. C_{18} Bondapak Kolonne, eluiert mit einer wässrigen 10%igen THF- Lösung bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 0,5 ml/Min).

Beispiel 7

Nach dem Verfahren von Beispiel 4, mit der Ausnahme, dass für Benzylbromid gemäss Beispiel 5 eine äquivalente Menge von Brommethylpivalat, 1-Brom-3-methyl-2-buten, 1-Chlor-2-methylpropan, p-tert. Butylbenzylbromid und 3-Bromphthalid verwendet werden, werden die entsprechenden folgenden Ester erhalten:

R
Pivaloyloxymethyl,
3-Methyl-2-buten-1-yl,
2-Methyl-2-propen-1-yl,
p-tert.-Butyl-benzyl und
Phthalidyl.

Beispiel 8

Es wird nach dem Verfahren gemäss Beispiel 5 gearbeitet, wobei das Essigsäureanhydrid/Pyridin von Beispiel 5 ersetzt wurde durch:

eine äquivalente Menge von Äthylchlorformiat in Gegenwart einer äquivalenten Menge von Triäthylamin in Gegenwart von Methylenchlorid als Lösungsmittel,

Methyljodid in Gegenwart einer äquivalenten Menge von Lithiumdiisopropylamid in Gegenwart von Dimethylformamid,

Methansulfonylchlorid in Gegenwart von einer äquivalenten Menge von Triäthylamin mit Methylenchlorid als Lösungsmittel, und

Dimethylphosphorchloridat in Gegenwart einer äquivalenten Menge von Triäthylamin mit Methylenchlorid als Lösungsmittel,

wobei die folgenden Verbindungen (O-R') erhalten werden: O-Äthoxycarbonyl-, O-Methyl-, O-Methansulfonyl- und O-Dimethoxyphosphinyl-Derivate von Benzyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat.

Beispiel 9

Es wurde nach dem Verfahren von Beispiel 6 gearbeitet, wobei Benzyl-6-(α -acetoxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat ersetzt wurde durch: eine äquivalente Menge von O-Äthoxycarbonyl-, O-Methyl-, und O-Dimethoxyphosphinyl-Derivate von Benzyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat. Es wurden die folgenden Verbindungen erhalten: O-Äthoxycarbonyl-, O-Methyl und O-Dimethoxyphosphinyl-Derivate von Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat.

Beispiel 10

Herstellung von pharmazeutischen Präparaten

Eine Einheitsdosierungsform wird hergestellt durch Vermischen von 120 mg Pivaloyloxymethyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat mit 20 mg Lactose und 5 mg Magnesiumstearat und Einbringen der Mischung (145 mg) in eine Gelatinekapsel Nr. 3. In ähnlicher Weise, jedoch unter Verwendung von mehr der Aktivsubstanz und weniger Lactose können andere Dosierungsformen in Gelatinekapseln Nr. 3 verarbeitet werden und gegebenenfalls können auch mehr als 145 mg der Bestandteile gemischt, grössere Kapseln wie komprimierte Tabletten und Pillen hergestellt werden. Die folgenden Beispiele erläutern die Herstellung von pharmazeutischen Formulierungen:

Tablette	Pro Tablette
Pivaloyloxymethyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat	125 mg
Kornstärke, U.S.P.	6 mg
Dikalziumphosphat	192 mg
Lactose, U.S.P.	190 mg

Die aktive Substanz wird gemischt mit Kalziumphosphat, Lactose und ungefähr der Hälfte der Kornstärke. Dann wird die Mischung mit 15% Kornstärkepaste (6 mg) granuliert und roh gesiebt. Sie wird bei 45°C getrocknet und durch Nr. 16 Siebe gesiebt. Die restliche Kornstärke und das Magnesiumstearat werden zugefügt und die Mischung in Tabletten von ungefähr 0,5 inch Durchmesser und 800 mg Gewicht verpresst.

10 Parenterale Lösung

Ampulle:

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat 500 mg

15 Verdünnungsmittel: Steriles Wasser für Injektion 2 cc

Opthalmische Lösung

Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat 100 mg

20 Hydroxypropylmethylcellulose 5 mg

Steriles Wasser auf 1 ml

Otische Lösung

25 Natrium-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat 100 mg

Benzalkoniumchlorid 0,1 mg

Steriles Wasser auf 1 ml

30 Topische Salbe

Pivaloyloxymethyl-6-(α -hydroxyäthyl)-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat 100 mg

Polyäthylenglycol 4000 U.S.P. 400 mg

Polyäthylenglycol 400 U.S.P. 1,0 g

35 Die Aktivsubstanz in den vorstehenden Formulierungen kann allein oder in Kombination mit anderen biologisch aktiven Substanzen wie beispielsweise mit anderen antibakteriellen Mitteln wie Lincomycin, einem Penizillin, Streptomycin, Novobiocin, Gentamicin, Neomycin, Kolistin und Kanamycin oder mit anderen therapeutischen Mitteln wie Probenecid angewandt werden.