



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

207371

(11) (B2)

(22) Přihlášeno 12 10 76
(21) (PV 6581-76)
(32)(31)(33) Právo přednosti
od 08 05 76 (19000/76)
Velká Británie

(51) Int. Cl.³
C 07 D 498/04//
A 61 K 31/535

(40) Zveřejněno 15 09 80

(45) Vydáno 15 07 83

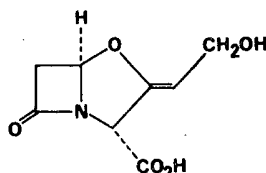
(72) Autor vynálezu PONSFORD ROGER JOHN, DORKING a HOWARTH THOMAS TREFOR, EWHURST
(VELKÁ BRITÁNIE)

(73) Majitel patentu BEECHAM GROUP LIMITED, BRENTFORD (VELKÁ BRITÁNIE)

(54) Způsob přípravy etherů clavulanové kyseliny

Vynález se týká způsobu přípravy etherů clavulanové kyseliny.

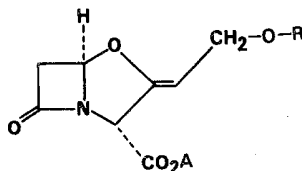
Belgický patent č. 827 926 uvádí mezi jiným clavulanovou kyselinu a její soli a estery, kde clavulanová kyselina má strukturu vzorce I.



(I)

Clavulanová kyselina a její soli a estery jsou schopné inhibovat beta-laktamasy bakterií a tato vlastnost umožňuje zvyšovat účinek penicilinů a cefalosporinů proti mnohým gram pozitivním a gram negativním bakteriím. Nyní bylo nalezeno, že určité deriváty clavulanové kyseliny mají také použitelný antibakteriální účinek a účinek inhibující beta-laktamasy.

Předmětem vynálezu je způsob přípravy etherů clavulanové kyseliny obecného vzorce II,



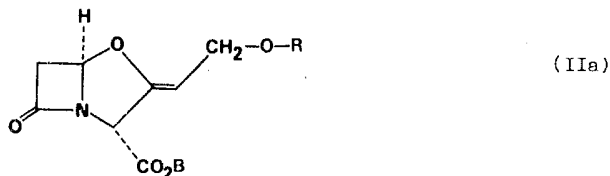
(II)

kde

R je alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenyl se 3 až 4 atomy uhlíku, benzyl, benzyl substituovaný nitroskupinou nebo alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, substituovaný karboxyskupinou ve formě soli, alkoxykarbonylskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxyly, benzyloxykarbonylskupinou, fenyلكarbonylskupinou, chlorfenylkarbonylskupinou, kyanoskupinou, hydroxyskupinou, aminoskupinou nebo aminoskupinou substituovanou alkylem s 1 až 4 atomy uhlíku a/nebo benzyloxykarbonylskupinou a

A je kation alkalického kovu,

který se vyznačuje tím, že se deesterifikuje sloučenina obecného vzorce IIa,



kde B je alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenyl s 3 až 4 atomy uhlíku, benzyl nebo benzyl substituovaný alkoxyly s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku substituovaný alkoxyly s 1 až 4 atomy uhlíku, alkyلكarbonyloxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkyly nebo alkoxykarbonylskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxyly, a získaná volná kyselina se převede reakcí s bází na odpovídající sůl.

Určité zejména vhodné sloučeniny podle vynálezu, vykazující zejména dobrý účinek proti určitým kmenům produkujícím beta-laktamazu, včetně *Staphylococcus aureus*, jsou ty, kde R je skupina CH_2R^9 , kde R^9 je fenyl nebo fenyl substituovaný atomem halogenu, nebo skupina R^{10} nebo OR^{10} , kde R^{10} je alkyl obsahující do 3 atomů uhlíku.

Vhodné skupiny A zahrnují atom vodíku a solné ionty, jako je lithium, sodík, draslík.

Zejména vhodné sloučeniny podle vynálezu zahrnují sloučeniny vzorce II, kde A je zejména sodný nebo draselný ion, nejlépe sodný ion.

Estery podle vynálezu jsou s výhodou hydrolyzovatelné in vivo. Vhodné estery zahrnují ty, které jsou popsány v belgickém patentu č. 827 926, jako hydrolyzovatelné in vivo při připojení na clavulanovou kyselinu. Zejména vhodné in vivo hydrolyzovatelné estery zahrnují acetoxymethyl, alfa-acetoxylethyl, pivaloyloxymethyl, ftalidyl, ethoxykarbonyloxymethyl, ethoxykarbonyloxyethyl apod.

Benzylestery sloučenin vzorce IIa jsou zejména vhodnými hydrogenolyzovatelnými estery.

Sloučeniny připravené postupem podle vynálezu se mohou upravit na farmaceutické směsi, které se vyznačují tím, že obsahují sloučeniny podle vynálezu spolu s farmaceuticky vhodným nosičem.

Směsi se sloučeninami podle vynálezu zahrnují ty, které jsou ve formě upravené pro orální, topikální nebo parenterální použití a mohou se použít pro léčení infekcí u savců včetně lidí.

Vhodné formy směsí podle vynálezu zahrnují tablety, kapsle, krémy, sirupy, suspenze, roztoky, rekonstituovatelné prášky a sterilní formy vhodné pro injekce a infuze. Tyto formy mohou obsahovat běžné farmaceutické vhodné materiály, jako jsou ředidla, pojidla, barviva, chuťové látky, ochranné prostředky, disintegrátory apod., v soulase s běžnou farmaceutickou praxí způsobem běžně používaným při úpravě antibiotik.

Směsi používané jako injekce nebo infuze obsahující soli sloučenin vzorce II jsou zejména vhodné, protože vysoké hladiny sloučeniny vzorce II v tkáních se může dosáhnout po aplikaci injekcí nebo infusí. Výhodná směs podle vynálezu se vyznačuje tím, že obsahuje sůl sloučeniny vzorce II ve sterilní formě.

Jednotková dávka směsi obsahuje sloučeninu vzorce II nebo její sůl nebo ester adaptovaný pro orální aplikaci a je dalším výhodným rysem směsi podle vynálezu.

Sloučenina vzorce II nebo její sůl nebo ester může být přítomna ve směsi buď jako jediné terapeutické činidlo, nebo spolu s jinými terapeutickými činidly, jako jsou beta-laktamová antibiotika. Vhodná beta-laktamová antibiotika pro směs podle vynálezu jsou benzylpenicilin, fenoxymethylpenicilin, carbenicilin, azidocilin, propicilin, ampicilin, amoxycilin, epicilin, ticarcilin, cyclacilin, cefatriazin, pibencilin, alfa-sulfonyloxybenzylpenicilin, cefaloridin, cefalothin, cefazolin, cefaloxin, cefoxitin, cefacetril, cefamandol nafát, cefepitin, cefradin, 4-hydroxycefalexin, cefapatol, cefaloglycin a jiné dobře známé peniciliny a cefalosporiny nebo z nich připravená léčiva, jako je hetacilin, metampicilin, 4-acetoxymampicilin, acetoxymethyl, ethoxykarboxymethyl, pivaloyloxymethyl nebo ftalidyl estery benzylpenicilinu, ampicilinu, amoxycilinu nebo cefaloglycinu nebo fenyl, tolyl, indanyl alfa-estery carbenicilinu nebo ticarcilinu apod. Tyto sloučeniny se často používají ve formě solí nebo hydrátů.

Přirozeně jestliže penicilin nebo cefalosporin přítomný ve směsi není vhodný pro orální aplikaci, pak se směs upraví pro parenterální aplikaci.

Jestliže je sloučenina podle vynálezu přítomna ve farmaceutické směsi spolu s beta-laktamovým antibiotikem, pak poměr sloučeniny vzorce II nebo její soli nebo esteru k beta-laktamovému antibiotiku může být v širokém rozmezí, například 10:1 až 1:3, a s výhodou se pohybuje od 5:1 až 1:2, například od 3:1 do 1:1.

Celkové množství antibakteriálních činidel přítomných v jednotkové dávkové formě se normálně pohybuje od 50 do 1 500 mg a obvykle je od 100 do 1 000 mg.

Směs podle vynálezu se mohou použít pro léčení infekcí mezi jiným pro léčení dýchacích cest, močových cest, měkkých tkání a mastitis u dobytka.

Normálně se aplikuje mezi 50 a 3 000 mg sloučeniny podle vynálezu každý den pro léčení, ale běžněji se aplikuje 100 až 1 000 mg sloučeniny podle vynálezu za den, například v 1 až 6 dávkách, běžněji v 2 až 4 dávkách.

Penicilin nebo cefalosporin v synergicky účinkujících směsích podle vynálezu mohou být přítomny v přibližně stejných množstvích, jaká se používají běžně.

Zejména výhodné směsi podle vynálezu mohou obsahovat od 150 do 1 000 mg amoxycilinu, ampicilinu nebo z nich připravených léčiv a od 50 do 500 mg sloučeniny vzorce II nebo její soli nebo in vivo hydrolyzovatelného esteru, a ještě výhodněji směsi obsahující od 200 do 500 mg amoxycilinu, ampicilinu nebo z nich připravených léčiv a od 50 do 250 mg sloučeniny vzorce II nebo její soli nebo in vivo hydrolyzovatelného esteru.

Látky přítomné ve směsích mohou být popřípadě hydratované, například ampicilintrihydrát nebo amoxycilintrihydrát. Hmotnosti antibiotik v těchto směsích jsou vyjádřeny na podkladě antibiotik teoreticky přítomných ve směsích, a ne na hmotnosti z nich připravených léků.

Výchozí sloučeniny vzorce IIa, jak jsou definovány výše, se připravují tak, že se esterifikuje ester clavulanové kyseliny a pak se popřípadě esterová skupina nahradí známými způsoby za karboxylovou skupinu nebo její sůl nebo jiný ester.

Běžně se etherifikační reakce provádí u esteru clavulanové kyseliny, který je snadno hydrogenolyzovatelný na základní kyselinu, například benzylester nebo jeho chemický ekvivalent.

Estery vzorce II se mohou připravit reakcí alkoholu vzorce X,



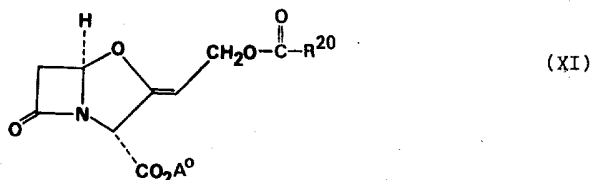
kde R má význam uvedený ve vzorci II, s odpovídajícím esterem sloučeniny vzorce I v přítomnosti katalyzátoru typu Lewisových kyselin, jako je bortrifluorid nebo jeho ekvivalenty, jako je bortrifluoridetherát, například $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$.

Tato reakce se běžně provádí v rozpouštědle inertním za reakčních podmínek, jako je chloroform, dichlormethan, tetrahydrofuran nebo dioxan, při snížené nebo nezvýšené teplotě, například při -80°C až $+30^\circ\text{C}$, s výhodou při snížené teplotě, například -50°C až 0°C , nejlépe při teplotě kolem -30°C .

Alternativní forma této metody přípravy esterů vzorce II se vyznačuje reakcí alkoholu vzorce X,



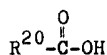
kde R má význam uvedený u vzorce II, s odpovídajícím esterem clavulanové kyseliny, kde hydroxylová skupina je maskována tak, že sloučenina má vzorec XI,



kde R^{20} je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, popřípadě inertně substituovaný jedním nebo více atomy halogenu, a $\text{CO}_2\text{A}^\circ$ je esterová skupina v přítomnosti Lewisovy kyseliny.

Podmínky pro tuto reakci jsou obdobné podmínkám uvedeným výše pro reakci sloučeniny vzorce X s esterem sloučeniny vzorce I.

Sloučeniny vzorce XI se mohou připravit způsobem popsáním v belgickém patentu číslo 834 645, to jest reakcí sloučeniny vzorce

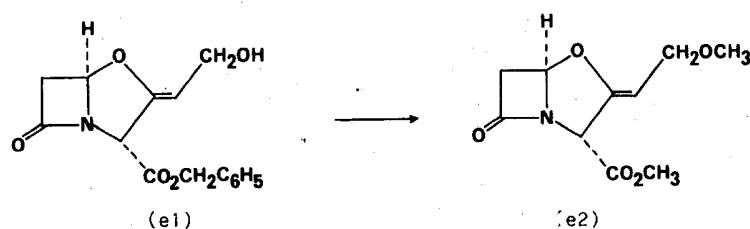


nebo jejího reaktivního acylačního derivátu s odpovídajícím esterem clavulanové kyseliny.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech.

P ř í k l a d 1

Příprava methylclavulanyl-O-methyletheru



Benzylclavulanát (e1), 1,5 g, v methanolu (10 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (0,4 g) 30 minut při teplotě místnosti a tlaku místnosti. Roztok se filtruje přes celit a nechá se reagovat s roztokem diazomethanu v etheru při 0 °C. Roztok se nechá stát při 0 °C přes noc, rozpouštědlo se odpaří a olej se chromatografuje na silikagelu a jako druhý eluovaný produkt se získá surová sloučenina (e2) (35 mg). Opakovanou chromatografií se získá sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bezbarvého oleje (15 mg).

I. Č. (CHCl₃): 1 800, 1 750, 1 695 cm⁻¹,

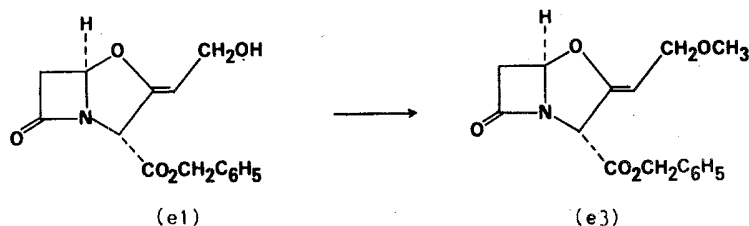
N. M. R. (CHCl₃): 3,03 (1H, dd, J 17Hz), J' 1Hz, 6β-CH), 3,53 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6α-CH), 3,31 (3H, s, OCH₃), 3,79 (3H, s, CO₂CH₃), 4,03 (2H, d, J 7Hz, CH₂OCH₃), 4,88 (1H, široký t, J 7Hz, olef. CH), 5,08 (1H, m, 3-CH), 5,70 δ (1H, dd, J 2,5Hz, J' 2,5Hz, 5-CH).

I₅₀ hodnoty inhibice beta-laktamasy v ug/ml pro (e2) jsou následující:

Escherichia coli JT4	0,9
Klebsiella aerogenes E70	0,25
Staphylococcus aureus Russell	0,5
Escherichia coli JT410	3,1
P. moig, Cr.	0,68
Pseudomonas aeruginosa	1,9
Citrobacter mantic	0,45

P ř í k l a d 2

Příprava benzylclavulanyl-O-methyletheru



Benzylclavulanát (e1) (300 mg) se rozpustí v bezvodém methylenedichloridu (25 ml) a ochladí na 0 °C. Přidá se bortrifluoridetherát (5 kapek) při 0 °C a pak roztok diazomethanu v etheru. Reakce se míchá jednu hodinu při 0 °C a pak se promyje 3% roztokem hydrogenuhlíčitenu sodného (2x25 ml). Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Chromatografickým čištěním se získá sloučenina uvedená v nadpisu (e3) (66 mg).

I. Č. (CHCl₃): 1 800, 1 745, 1 695 cm⁻¹,

N. M. R. (CDCl₃): 3,10 (1H, d, J 17Hz, 6β-CH), 3,35 (3H, s, OCH₃), 3,60 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6α-CH), 4,12 (2H, d, J 8Hz, CH₂OCH₃), 4,94 (1H, t, J 8Hz, =CH-CH₂),

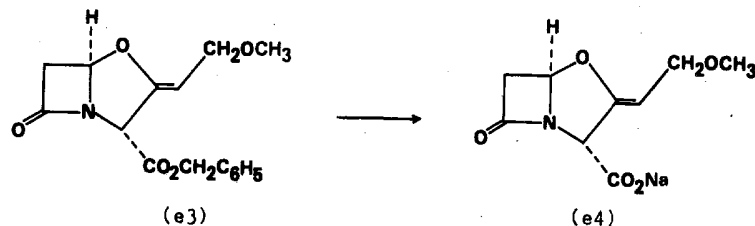
5,24 (1H, široký s, 3-CH), 5,32 (2H, s, CO₂CH₂Ph), 5,82 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 7,516 (5H, s, CO₂CH₂Ph).

I₅₀ hodnoty inhibice beta-laktamasy v µg/ml pro (e3) jsou následující:

Escherichia coli JT4	0,1
Klebsiella aerogenes E70	0,05
Staphylococcus aureus Russell	0,05
Proteus mirabilis C889	< 0,07
Pseudomonas aeruginosa	1,4
Pseudomonas dalgleish	< 0,07
Citrobacter mantic	1,1

P ř í k l a d 3

Příprava sodné soli clavulanyl-O-methyletheru



Ether (e3) (30 mg) se rozpustí v tetrahydrofuranu (3 ml) a přidá se 10% paládium na uhlí (10 mg). Rostok se hydrogenuje při teplotě místnosti 15 minut za normálního tlaku, přefiltruje se a přidá se hydrogenuhlíčitan sodný (8,4 mg) v 0,5 ml vody. Rozpouštědlo se odpaří a získá se po rozmělnění s etherem sodná sůl (e4) ve formě amorfni pevné látky (15 mg).

I. Č. (KBr disk): 1 790, 1 690, 1 615 cm⁻¹,

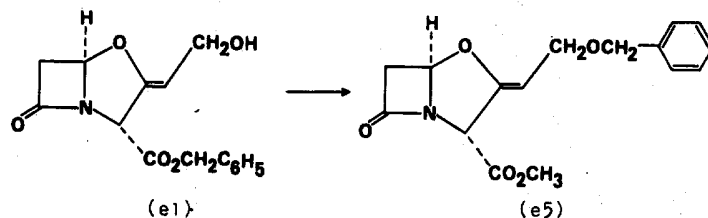
N. M. R. (D₂O): 3,07 (1H, d, J 17Hz, 6β-CH), 3,27 (3H, s, OCH₃), 3,54 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6α-CH), 4,04 (2H, d, J 8Hz, CH₂OCH₃), 4,87 (1H, t, J 8Hz, =CH-CH₂), 4,93 (1H, s, 3-CH), 5,698 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH).

I₅₀ hodnoty inhibice beta-laktamasy v µg/ml pro (e4) jsou následující:

Escherichia coli JT4	0,18
Klebsiella aerogenes E70	0,07
Staphylococcus aureus Russell	0,05
Proteus mirabilis C889	0,01

P ř í k l a d 4

Příprava methylclavulanyl-O-benzyletheru



Benzylclavulanát (e1) (300 mg) v methylenchloridu (25 ml) se ochladí na -30°C a nechá se reagovat s bortrifluoridetherátem (5 kapek) a pak se přidá roztok diazotoluenu v etheru. Roztok se míchá jednu hodinu při -30°C a pak se promyje 3% roztokem hydrogenuhlíčitánu sodného (3x25 ml). Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a po chromatografii se získá surový benzyl 3-(2-benzyloxyethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyklo(3,2,0)heptan-3-karboxylát (e5) (150 mg) ve formě oleje. Olej se rozpustí v tetrahydrofuranu (5 ml) a hydrogenuje se při teplotě místnosti a normálním tlaku na 10% Pd na uhlí (20 mg) po dobu 20 minut. Roztok se odfiltruje a nechá reagovat s roztokem diazomethanu v etheru při 0°C . Odpařením rozpouštědla s chromatografií se získá sloučenina uvedená v nadpisu (e5) (30 mg) ve formě bezbarvého oleje.

I. Č. (CHCl_3): 1 800, 1 750, 1 695 cm^{-1} ,

N. M. R. (CDCl_3): 3,12 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,62 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 3,89 (3H, s, CO_2CH_3), 4,25 (2H, d, J 8Hz, =CH-CH₂O), 4,61 (2H, s, OCH_2Ph), 5,02 (1H, široký t, J 8Hz, =CH-CH₂), 5,18 (1H, m, 3-CH), 5,82 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 7,49 δ (5H, s, OCH_2Ph), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +15^{\circ}$ (c = 1,37, MeOH).

Antibakteriální účinek in vitro ($\mu\text{g/ml}$)

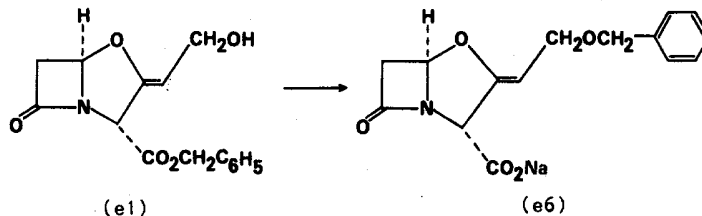
Staphylococcus aureus Oxford	15 - 31
Staphylococcus aureus Russell	8 - 15
Klebsiella aerogenes A.	> 500

I_{50} hodnoty inhibice beta-laktamasy v ($\mu\text{g/ml}$)

Escherichia coli JT4	0,8
Klebsiella aerogenes E70	0,8
Staphylococcus aureus Russell	0,005

Příklad 5

Příprava sodné soli clavulan-3-yl-O-benzyletheru



Surový benzyl 3-(2-benzylethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyklo(3,2,0)heptan-2-karboxylátu (e1) (150 mg) se rozpustí v tetrahydrofuranu (5 ml) a hydrogenuje při teplotě místnosti za normálního tlaku na 10% Pd na uhlí (20 mg) po dobu 20 minut. Roztok se filtruje a nechá reagovat s hydrogenuhlíčitanem sodným (15 mg) v 1 ml vody. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se rozpustí ve vodě (10 ml) a promyje ethylacetátem (3x10 ml). Vodná fáze se odpaří a po rozmělnění s etherem se v amorfní formě získá požadovaná sodná sůl (e6) (35 mg).

I. Č. (KBr): 1 790, 1 690, 1 615 cm^{-1}

N. M. R. (D_2O): 3,09 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,59 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 4,20 (2H, d, J 8Hz, =CH-CH₂O), 4,48 (2H, s, OCH_2Ph), 4,97 (1H, široký t, J 8Hz, =CH-CH₂O), 4,99 (1H, m, 3-CH), 5,74 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 7,42 δ (5H, s, OCH_2Ph), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +22,5^{\circ}$ (c = 1,15, 50 % vodný MeOH).

Antibakteriální účinek in vitro ($\mu\text{g/ml}$)

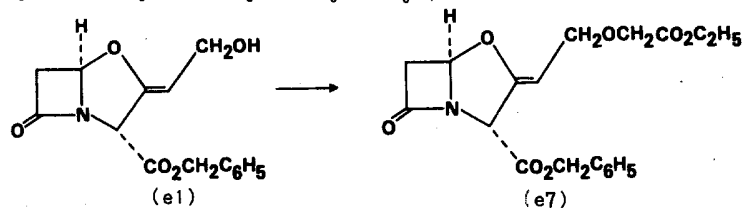
Klebsiella aerogenes A.	125
Staphylococcus aureus Oxford	4,0
Staphylococcus aureus Russell	8,0

 I_{50} hodnoty inhibice laktamasy v ($\mu\text{g/ml}$)

Escherichia coli JT4	0,1
Klebsiella aerogenes E70	0,04
Staphylococcus aureus Russell	0,005
Proteus mirabilis C889	0,02
Pseudomonas delgleish	0,008

Příklad 6

Příprava benzylclavulanyl-(ethoxykarbonylmethyl)etheru



Benzylclavulanát (e1) (1,44 g) se rozpustí v bezvodém methylenchloridu (100 ml) a při teplotě -30°C se přidá bortrifluoridetherát (25 kapek, 0,3 ml). Během půl hodiny se přikapává ethyldiazoacetát (2,90 g, 5 ekvivalentů) v methylenchloridu (10 ml) a reakční směs se míchá jednu hodinu při -30°C až -10°C . Roztok se promyje 3% roztokem hydrogenuhlíčitenu sodného (3x50 ml) a vysuší síranem hořečnatým. Rozpouštědlo se odpaří při teplotě místnosti a odparek se chromatografuje. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (e7) ve formě bezbarvého oleje (600 mg).

I. Č. (CHCl_3): 1 800, 1 745, 1 695 cm^{-1} .

N. M. R. (CDCl_3): 1,29 (3H, t, J 8Hz, $-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,00 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,50 (1H, dd, J 17Hz, J 2,5 Hz, 6 α -CH), 3,97 (2H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), 3,90 až 4,50 (4H, kompletní multiplet, $=\text{CH}-\text{CH}_2$ a $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,79 (1H, t, J 8Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2$), 5,14 (1H, široký s, 3-CH), 5,23 (2H, s, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5,72 (1H, d, 2,5Hz, 5-CH), 7,37 δ (5H, s, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).
 $[\alpha]_D^{21} = +35,3^\circ$ (c = 1,29, MeOH).

I_{50} hodnoty inhibice beta-laktamasy v $\mu\text{g/ml}$ pro (e7) jsou následující:

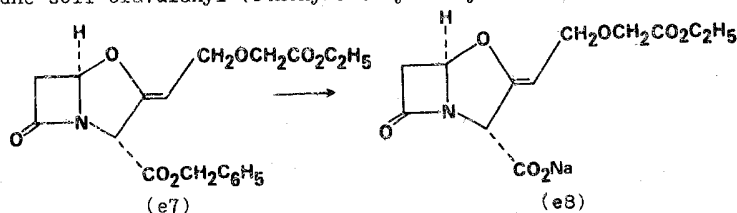
Escherichia coli JT4	0,14
Klebsiella aerogenes E70	0,30
Staphylococcus aureus Russell	0,12
Proteus mirabilis C889	1,0

Antibakteriální účinek in vitro ($\mu\text{g/ml}$)

Klebsiella aerogenes A.	> 500
Staphylococcus aureus Oxford	125
Staphylococcus aureus Russell	125

Příklad 7

Příprava sodné soli clavulanyl (ethoxykarbonylmethyl)etheru



Ester (e7) (188 mg) se rozpustí v bezvodém tetrahydrofuranu (5 ml) a přidá se 10% Pd na uhlí (65 mg). Roztok se hydrogenuje při teplotě místnosti a normálním tlaku po dobu 15 minut. Roztok se filtruje přes křemelinu a přidá se hydrogenuhlíčen sodný (42 mg) ve vodě (1 ml). Rozpouštědlo se odpaří a odparek se chromatografuje na silikagelu elucí směsí butanolu, ethanolu a vody (4:1:1). Rozmělněním produktu v etheru se získá sodná sůl ve formě amorfni pevné látky (e8) (95 mg).

I.Č. (KBr): 1 790, 1 740, 1 690, 1 600 cm^{-1} ,

N. M. R. (D_2O): 1,27 (3H, t, J 8Hz, $\text{CO}_2\text{CH}-\text{CH}_3$), 3,09 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,57 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 4,14 (2H, s, $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), 4,21 (4H, dublet a kvartet spojený, J = J' 8Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2-$ a $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,86 (1H, t, J 8Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2-$), 4,96 (1H, široký s, 3-CH), 4,71 δ (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH).
 $[\alpha]_D^{21} = 36,5^\circ$ (c = 1,15, 50% vodný MeOH).

I_{50} hodnoty inhibice beta-laktamasy v $\mu\text{g/ml}$ pro (e8) jsou následující:

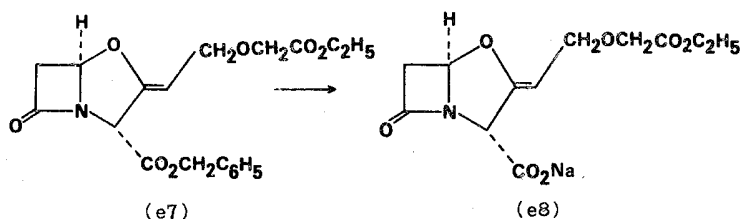
Escherichia coli JT4	0,16
Klebsiella aerogenes E70	0,034
Staphylococcus aureus Russel	0,044
Proteus mirabilis C889	0,025

Antibakteriální účinek in vitro ($\mu\text{g/ml}$)

Escherichia coli 10418	31,0
Klebsiella aerogenes A.	15,0
Proteus mirabilis C977	62,0
Staphylococcus aureus Oxford	15,0
Staphylococcus aureus Russell	15,0

Příklad 8

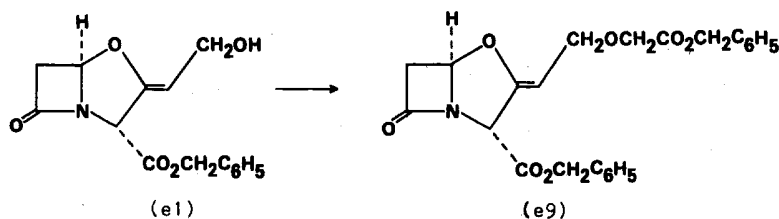
Příprava sodné soli clavulanyl-(ethoxykarbonylmethyl)etheru



Ester (e7) (122 mg) se hydrolyzuje použitím 1N roztoku hydroxidu sodného při konstantním pH (použitím pH-stat) až do úplné hydrolyzy. Chromatografií se získá sodná sůl ve formě amorfni pevné látky pro rozmělnění s etherem (e8) (15 mg).

Příklad 9

Příprava benzylclavulanyl-(benzyloxykarbonylmethyl)etheru



Benzylclavulanát (e1) (1,8 g) se rozpustí v bezvodém methylenchloridu (100 ml) při -30°C se přidá bortrifluoridetherát (25 kapek, 0,3 ml). Při -30°C se pak během 30 minut přikape benzyldiazoacetát (5g, 66% čistý materiál) v methylenchloridu (20 ml) a směs se míchá jednu hodinu při -30°C až -10°C . Roztok se promyje 3% roztokem hydrogenuhličitánu sodného (2x50 ml) a vysuší se síranem hořečnatým. Rozpouštědlo se odpaří při teplotě místnosti a odparek se chromatografuje na silikagelu elucí směsí hexanu a ethylacetátu. Vzniklý poněkud znečištěný olej poskytne opakovanou chromatografií čistou látku (e9) ve formě bezbarvého oleje (0,32 g).

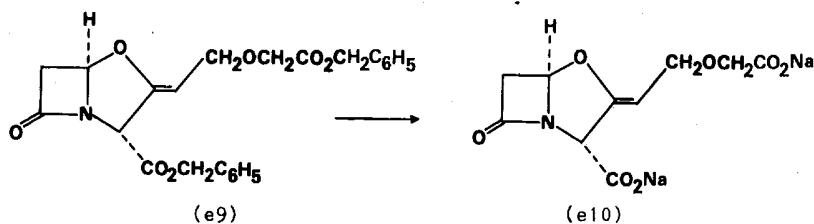
I. Č. (film): 1 800, 1 760, 1 750, 1 695 cm^{-1} ,

N. M. R. (CDCl_3): 7,29 (10H, aromatický H), 5,58 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 5,13 (4H, CH_2Ph), 5,03 (1H, 3-CH), 4,79 (1H, t, J 7Hz, =CH- CH_2), 4,16 (2H, d, J 8Hz, =CH- CH_2 -), 4,00 (2H, s, =CH- CH_2 -O- CH_2 -), 3,40 - 2,958 (2H, dd, J 18Hz, 6- CH_2).

Benzyldiazoacetát se připraví reakcí benzylchloroformiátu a diazomethanu při 4°C po dobu 3 dnů ve výtěžku 66 % čistého olejovitého produktu.

Příklad 10

Příprava dvojsodné soli clavulanyl-(karboxymethyl)etheru

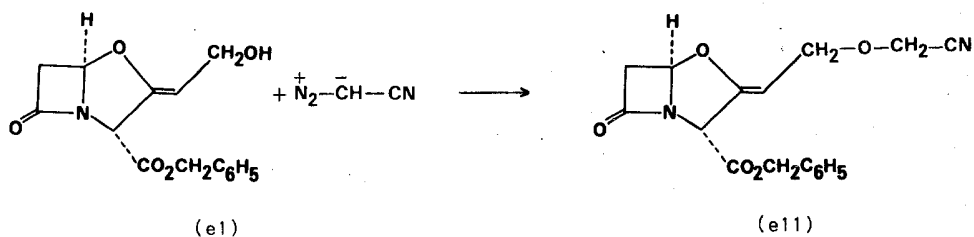


Ester (e9) (260 mg) se rozpustí ve směsi tetrahydrofuranu a vody (5:1, 12 ml) a přidá se hydrogenuhličitan sodný (100 mg) a 10% Pd na uhlí (150 mg). Roztok se hydrogenuje při teplotě místnosti a normálním tlaku po dobu 30 minut, přefiltruje se a odpařením se získá požadovaná dvojsodná sůl (e10).

I. Č. (KBr): 1 780, 1 685, 1 600, 1 425 cm^{-1} .

P ř í k l a d 11

Příprava benzyl-9-(0-kyanomethyl)clavulanátu



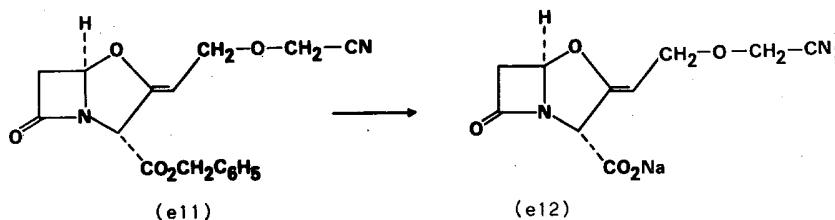
Roztok benzyl clavulanátu (e1) (5,18 g) v methyldichloridu (50 ml) se vysuší na 4A molekulárních sítích a filtruje se. Roztok se ochladí na -40 až -30 °C a přidá se 1 ml bor-trifluoridetherátu. Během jedné hodiny se při teplotě -40 až -30 °C přikape roztok diazoacetonnitrilu (připraveného z aminoacetonitril hydrochloridu (9,3 g) podle Houben-Weyla díl 10/4) v methyldichloridu (250 ml). Směs se nechá ohřát na teplotu -10 °C a po jedné hodině stání při této teplotě se promyje 3 dávkami zředěného roztoku hydrogenuhličitanu sodného (200 ml), vysuší se chloridem vápenatým a odpařením se získá hnědá gumovitá hmota. Produkt se čistí chromatografií na kolóně, (silikagel, směs cyklohexanu a ethylacetátu 3:1 a pak 1:1). Získá se tak mírně znečištěný produkt. Opakovanou chromatografií ve stejném systému se získá požadovaný produkt (e11) (1,56 g).

I. Č. (film): 1 805, 1 750, 1 698 cm^{-1}

N. M. R. (CDCl_3): 8,02 (1H, dublet, J 17Hz), 3,45 (1H, dvojitý dublet, J 17Hz a 3Hz), 4,01 (2H, singlet), 4,14 (2H, dublet, J 7Hz), 4,70 (1H, triplet s jemným spojováním, Jtrip7Hz), 5,06 (1H, singlet), 5,14 (2H, singlet), 5,66 (1H, singlet s jemným spojováním), 3,28 (5H, singlet).

P ř í k l a d 12

Příprava sodné soli 9-(0-kyanomethyl)clavulanátu



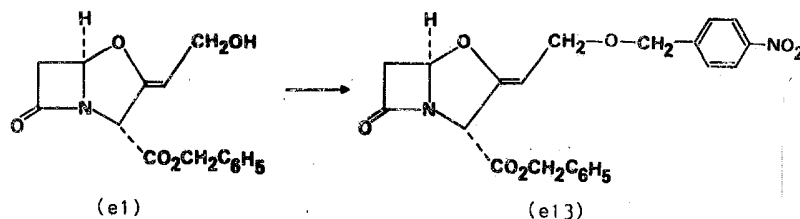
Směs benzyl-9-(0-kyanomethyl)clavulanátu (e11) (1,56 g) a sodná sůl hydrogenuhličitanu sodného (0,399 g) v tetrahydrofuranu a vodě (30 ml směsi 5:1 směsi tetrahydrofuranu a vody) se hydrogenuje na 10% Pd na uhlí (0,5 g) při teplotě místnosti a atmosférickém tlaku, až se spotřebuje požadované množství vodíku. Směs se pak filtruje a katalyzátor se promyje vodou. Spojené filtráty se zbaví destilací převážné části tetrahydrofuranu. Zbýlý vodný roztok se promyje ethylacetátem a mrazovou sublimací se získá požadovaný produkt (e12) (913 mg) ve formě hnědé pevné látky. Vzorek (535 mg) se proleje krátkým sloupcem silikagelu ve směsi n-butanol, voda a ethanol (4:1:1) a získá se (e12) (213 mg) ve formě světle žluté pevné látky.

N. M. R. (D_2O): 8,324 (1H, dublet, J 16 Hz), 3,66 (1H, dvojitý dublet, J 16Hz a 3Hz), 4,30 (2H, dublet, J 7Hz), 4,40 (2H, singlet), 4,91 (1H, triplet s jemným spojováním, J 7Hz), 5,00 (1H, singlet), 5,78 (1H, dublet, 3Hz).

I. Č. (KBr disk): 1 780, 1 610 (široký) cm^{-1} .

P ř í k l a d 13

Příprava benzyl-9-(0-/4-nitrobenzyl/)clavulanátu



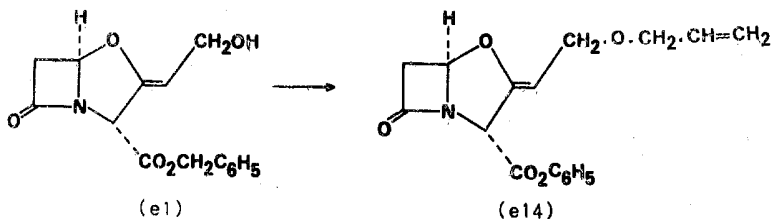
Roztok benzylclavulanátu (e1) (4,33 g) v methylenchloridu (50 ml) se suší molekulárními síty 4A po dobu 30 minut. Roztok se pak filtruje a ochladí na -30°C . Pak se přidá bortrifluoridetherát (0,8 ml). K míchanému roztoku se při -30°C přikape během jedné hodiny roztok 4-nitrofenyldiazomethanu (7,34 g) v methylenchloridu (150 ml). Směs se pak ohřeje na -10°C a míchá se jednu hodinu. Roztok se pak promyje roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (3x150 ml), vysuší se síranem hořečnatým a odpaří se. Opakovanou chromatografií (dvakrát směsí cyklohexanu a ethylacetátu 1:1 a jednou methylenchloridem jako elučním činidlem) na silikagelu H se získá čistý ether (e13) (230 mg).

I. Č. (film): 1 800, 1 750, 1 700, 1 520 cm^{-1} .

N. M. R. (CDCl_3): 2,98 (1H, dublet, J 17 Hz), 3,44 (1H, dvojitý dublet, J 17Hz a 3Hz), 4,09 (2H, dublet, J 7Hz), 3,45 (2H, singlet), 4,8 (1H, triplet s jemným spojováním, J 7Hz), 5,05 (1H, singlet), 5,14 (2H, singlet), 5,63 (1H, dublet s jemným spojováním), 7,27 (5H, singlet), 7,38 (2H, dublet, J 9Hz), 8,11 (2H, dublet, J 9Hz).

P ř í k l a d 14

Příprava benzyl-9-(0-allyl)clavulanátu



i) N-Nitroso-N-allylbenzamid

Roztok kyslíčnicku dusičitého (24,1 g) v chloridu uhličitém (150 ml) se přidá k míchané směsi bezvodého octanu sodného (45 g) a chloridu uhličitého (150 ml) při teplotě -20°C . K míchané směsi se při -5°C přidá N-allylbenzamid (28,4 g) v chloridu uhličitém (150 ml) a směs se míchá 30 minut při 0°C . Reakční směs se promyje vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (2x400 ml), vysuší se a odpařením se získá N-nitroso-N-allylbenzamid (28,5 g). ν_{max} (kapalný film): 1 710, 1 650, 1 600, 1 570, 1 355, 1 285, 1 155, 1 040 a 920 cm^{-1} . δ (CDCl_3): 7,83 - 7,20 (5H, m, ArH), 6,03 - 4,83 (3H, m, $=\text{CH}$), a 4,33 (2H, široký d, J 4Hz).

ii) 3-Diazo-1-propen

Pyrrolidin (4,52 ml) se přidá k roztoku N-nitroso-N-allylbenzamidu (9,5 g) v methylenchloridu (100 ml) při teplotě -20°C a směs se míchá 15 minut při -20°C a získá se roztok 3-diazo-1-propenu.

$\nu_{\max}(\text{CH}_2\text{Cl}_2)$: 2 030 cm^{-1} . Tento roztok se pak skladuje při 0 °C až do použití.

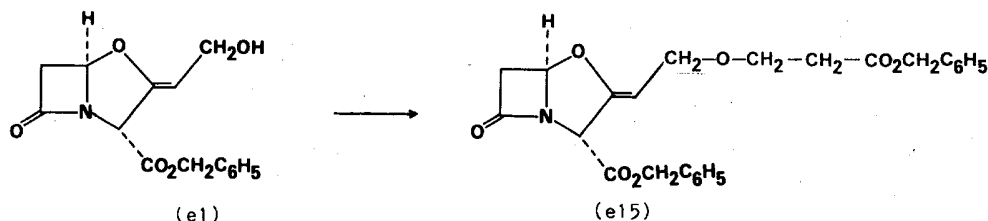
iii) Benzyl-9-(0-allyl)clavulanát

Bortrifluoridetherát (1 ml) se přidá k roztoku benzylclavulanátu (2,89 g) v methylenchloridu (150 ml) při teplotě -30 °C. Roztok 3-diazo-1-propenu, připravený výše, se při -30 °C přidá ke směsi a roztok se míchá jednu hodinu při -30 °C až -10 °C. Reakční směs se promyje vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (2x200 ml), vysuší se a odpařením se získá surový produkt ve formě oleje, který se chromatografuje na silikagelu (50 g). Elucí kolony směsí cyklohexanu a ethylacetátu se získá benzyl-9-(0-allyl)clavulanát (e14) (0,92 g) ve formě bezbarvé kapaliny, $[\alpha]_D^{20} +45,3^\circ$ (CHCl_3 , d_4 1,0), $\nu_{\max}$ (kapalný film): 1 800, 1 750, 1 695, 1 300, 1 175, 1 030, 1 010, 995 cm^{-1} .

$\delta(\text{CDCl}_3)$: 7,37 (5H, s, Ar-H), 6,05 - 5,70 (1H, m, $\text{C}-\text{C}(\text{H})$), 5,60 (1H, d, $\underline{J}$, 2,5Hz, 5-CH), 5,30 - 5,10 (2H, m, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{H})$), 5,13 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 5,03 (1H, m, 3-CH), 4,79 (1H, široký t, $\underline{J}$, 8Hz, 8-CH), 4,01 (2H, d, $\underline{J}$ 8Hz, 9-CH₂), 3,86 (2H, široký d, $\underline{J}$ 7Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 3,41 (1H, dd, $\underline{J}$ 18Hz, $\underline{J}'$ 2,5Hz, 6 α -CH), 2,98 (1H, d, $\underline{J}$ 18Hz, 6 β -CH).
(nalezeno: C 65,85, H 5,65, N 4,45 % pro $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_5$
vypočteno: C 65,65, H 5,8, N 4,25 %).

P ř i k l a d 15

Příprava benzyl-9-0-(2-benzyloxykarbonyl)ethyl)clavulanátu



i) Benzyl-N-nitroso-N-benzyloxykarbonyl-beta-alanát

Roztok kysličníku dusičitého (6,9 g) v chloridu uhličitém (40 ml) se přidá k míchanému roztoku bezvodného octanu sodného (12,3 g) a chloridu uhličitého (40 ml) při teplotě -20 °C. K míchané směsi se při -5 °C přidá benzyl-N-benzyloxykarbonyl-beta-alanát (12,95 g) v chloridu uhličitém (50 ml) a směs se míchá 30 minut při 0 °C. Reakční směs se promyje vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (2x100 ml) a roztok chloridu uhličitého se vysuší, odpaří a získá se benzyl-N-nitroso-N-benzyloxykarbonyl-beta-alanát (12,5 g) ve formě oleje.

$\nu_{\max}(\text{CCl}_4)$: 1 745, 1 705, 1 520, 1 400, 1 350, 1 175, 1 140, 1 095, 960 cm^{-1} ,
 $\delta(\text{CDCl}_3)$: 7,30 (10H, s, Ar-H), 5,46 (2H, s, CH_2Ph), 4,90 (2H, s, CH_2Ph), 3,92 (2H, t, $\underline{J}$ 7Hz). NMR spektrum udává že výchozí materiál a tento olej jsou pouze z 73 % čisté.

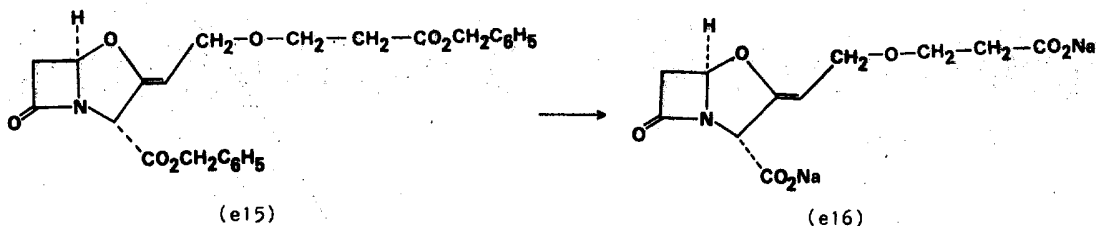
ii) Benzyl-9-(0-/2-benzyloxykarbonyl)ethyl)clavulanát

K roztoku benzyl-N-nitroso-N-benzyloxykarbonyl-beta-alanátu (3,24 g) v methylenchloridu (25 ml) se přidá pyrrolidin (0,58 ml) při teplotě -20 °C a směs se míchá 15 minut při -20 °C a získá se roztok benzyl 3-diazopropionátu, který se udržuje při 0 °C pro další stupeň.

K roztoku benzylclavulanátu (1 g) v methyldichloridu 150 ml se přidá bortrifluorid-etherát (0,5 g) při teplotě -30°C . Roztok benzyl-3-diazopropionátu, připravený výše, se přidá ke směsi při -30°C a roztok se míchá jednu hodinu při -30°C až -10°C . Reakční směs se promyje vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (2x50 ml), vysuší se a odpařením se získá surový produkt ve formě oleje, který se chromatografuje na silikagelu (30 g). Elucí kolony směsí cyklohexanu a ethylacetátu se získá benzyl 9-(0-/2-benzyloxykarbonyl-ethyl-)-clavulanát (e15) (0,21 g) ve formě bezbarvé kapaliny, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} 29,3^{\circ}$ (CHCl_3 , c, 1,0), v_{max} (kapalný film): 1 805, 1 740, 1 700, 1 240, 1 170, 1 100, 1 040 a 1 020 cm^{-1} , δ (CDCl_3): 7,28 (1H, s, Ar-H), 5,60 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 2,5 Hz, 5-CH), 5,14 (2H, s, CH Ph), 5,09 (2H, s, CH_2 Ph), 5,02 (1H, m, 3-CH), 4,74 (1H, široký t, $\underline{\text{J}}$ 8 Hz, 8-CH), 4,01 (2H, široký d, $\underline{\text{J}}$ 8 Hz, 9- CH_2), 3,60 (2H, t, $\underline{\text{J}}$ 7 Hz), 3,41 (1H, dd, $\underline{\text{J}}$ 18 Hz, $\underline{\text{J}}'$ 2,5 Hz 6 α -CH), 2,99 (1H, d, 18 Hz, 6 β -CH), a 2,57 (2H, t, $\underline{\text{J}}$ 7 Hz). M^+ 451,1626, $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_7$ vypočteno M^+ 451,1631.

P ř í k l a d 16

Příprava disodné soli 9-(0-/2-karboxyethyl-)-clavulanátu

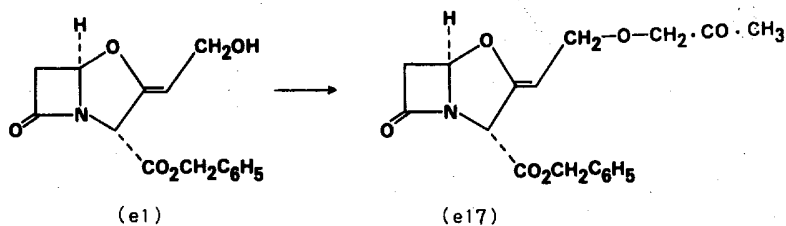


Směs benzyl 9-(0-/2-benzyloxykarbonyl-ethyl-)-clavulanátu (e15) (0,17 g) a hydrogenuhlčitanu sodného (0,063 g) se hydrogenuje ve směsi tetrahydrofuranu a vody 5:1 (12 ml) v přítomnosti 10% paládia na uhlí (0,1 g) při teplotě místnosti po dobu 0,5 hodin. Směs se filtruje a odpařením filtrátu se získá disodná sůl 9-(0-/2-karboxyethyl-)-clavulanátu (e16) (0,084 g).

v_{max} (KBr): 1 780, 1 690, 1 620, 1 390, 1 310, 1 195, 1 155, 1 085, 1 040 a 895 cm^{-1} .
 δ (D_2O): 5,65 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 2,5 Hz, 5-CH), 4,87 (1H, s, 3-CH), 4,81 (1H, široký t, $\underline{\text{J}}$ 8 Hz, 8-CH), 4,06 (2H, d, $\underline{\text{J}}$ 8 Hz, 9- CH_2), 3,63 (3H, t, $\underline{\text{J}}$ 7 Hz), 3,51 (1H, dd, $\underline{\text{J}}$ 18 Hz, $\underline{\text{J}}'$ 2,5 Hz, 6 α -CH), 3,05 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 18 Hz, 6 β -CH), a 2,49 (3H, t, $\underline{\text{J}}$ 7 Hz).

P ř í k l a d 17

Příprava benzyl-9-acetonilclavulanátu

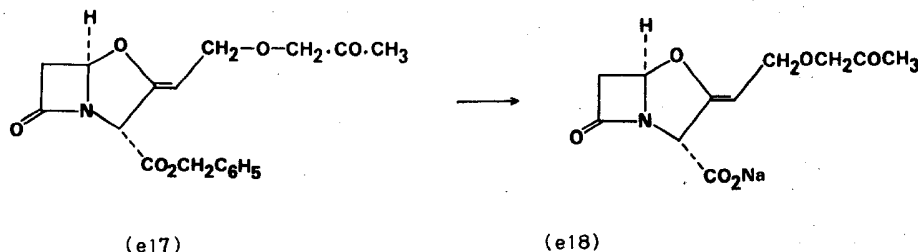


K roztoku benzylclavulanátu (e1) (1,0 g) a diazoacetonu (1,4 g) v methyldichloridu (30 ml) se přidá bortrifluoridetherát (20 kapek) a roztok se míchá dvě hodiny při -10°C . Reakční směs se rozloží zředěným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného. Organický extrakt se promyje roztokem chloridu sodného, vysuší se siranem hořečnatým a odpaří se. Chromatografií na silikagelu (elucí směsí ethylacetátu a cyklohexanu) se získá sloučenina uvedená v nadpisu (e17) (190 mg) ve formě bezbarvého oleje.

I. Č. (CHCl_3): 1 800, 1 730 - 1 760, 1 695 cm^{-1} ,
 NMR (CDCl_3): 2,10 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2,96 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,36 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 3,99 (2H, d, J 7Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2$), 4,68 (1H, t, J 17Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2$), 5,03 (1H, široký s, 3-CH), 5,20 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 5,70 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 7,33 (5H, s, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).
 M (hmotová spektrometrie) 345.

Příklad 18

Příprava sodné soli 9-acetonylethylclavulanátu

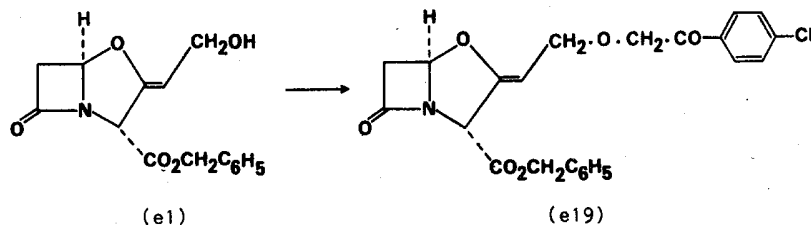


Benzylesteracetonylether clavulanové kyseliny (e17) (80 mg) se hydrogenuje ve směsi tetrahydrofuranu a vody (5:1) v přítomnosti hydrogenuhlíčitanu sodného (5 mg) a 10% paládia na uhlí (30 mg). Po dvaceti minutách se katalyzátor odfiltruje. Filtrát se zředí vodou a extrahuje ethylacetátem, načež se mrazově sublimuje. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě téměř bílé pevné látky.

I. Č. (KBr): 1 780, 1 720, 1 690, 1 610 cm^{-1} ,
 NMR (CDCl_3): 2,09 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3,00 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,45 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 4,08 (2H, d, J 8Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2$), 4,18 (2H, s, $\text{CH}_2\text{C O}$), 4,80 (1H, t, J 8Hz, $=\text{CH}$), 4,90 (1H, s, 3-CH), 5,65 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH).

Příklad 19

Příprava benzyl-9-(4-chlorfenacyl)clavulanátu



Benzylclavulanát (e1) (500 mg) se rozpustí v methylenchloridu (25 ml) a nechá se reagovat s alfa-diazo-p-chloreacetofenonem (0,90 g). K míchanému roztoku se při -20°C přidá bortrifluoridetherát (0,1 ml). Roztok se míchá dvě hodiny při -20°C až -10°C , promyje se zředěným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (2x) a organický extrakt se vysuší síranem hořečnatým. Odpařením rozpouštědla a chromatografií na silikagelu (elucí chloroformem) se získá sloučenina uvedená v nadpisu (e19) (130 mg).

I. Č. (CHCl_3): 1 805, 1 750, 1 695 cm^{-1} ,
 NMR (CDCl_3): 3,10 (1H, d, J 17Hz, 6 β -CH), 3,60 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,5Hz, 6 α -CH), 4,36 (2H, s, J 7Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2\text{O}-$), 4,74 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{C}(=\text{O})-$), 5,00 (1H, t, J 7Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2$), 5,26 (1H, široký s, 3-CH), 5,37 (2H, s, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5,82 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH), 7,48 - 8,12 (9H, m, aryl).

Příkl ad 20

Biologický účinek

a) Při aplikaci myším nevykazují sloučeniny podle vynálezu vysokou hladinu toxicity, například při podkožní aplikaci sloučeniny podle příkladů 5 a 12 mají LD_{50} větší než 250 mg/kg.

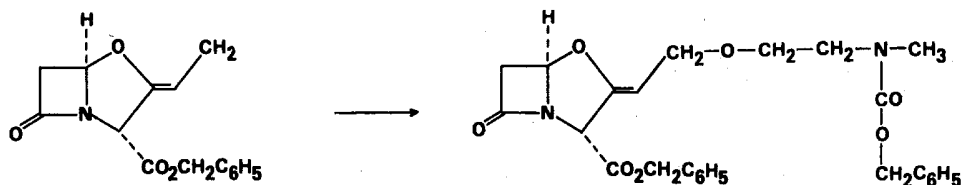
b) Při testování standardními MIC testy v kombinaci s ampicilinem sloučeniny podle vynálezu zvyšují účinek penicilinu proti různým gram pozitivním a gram negativním organismům, jako jsou kmeny *Staphylococcus aureus* Russell, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus mirabilis* a *Escherichia coli*: například MIC hodnoty proti různým kmenům *Staphylococcus aureus* Russell pro ampicilin v přítomnosti 1 μ g/ml určitých sloučenin podle vynálezu jsou:

sloučenina podle příkl. č.	3	5	9	10	11	14	15	16
MIC (μ g/ml)	2	0,3	1,6	3	1,25	1,25	1	1

Ampicilin bez přítomnosti synergicky účinné látky neinhibuje růst testovaných organismů při koncentraci 250 μ g/ml. Žádná ze synergicky účinných látek neinhibuje růst testovaného organismu při koncentraci 5 μ g/ml.

Příkl ad 21

Příprava benzyl-9-0-(2'-N-benzyloxykarbonyl-N-methyl/aminoethyl)clavulanátu



i) N-Methyl-N'-nitroso-N,N'-dibenzyloxykarbonyl-1,2-diaminoethan

K chloridu uhličitému (90 ml), míchanému při teplotě -5 až -10 °C, se přidá bezvodý octan sodný (27,8 g) a pak roztok kysličníku dusičitého (15,6 g) v chloridu uhličitém (90 ml), takovou rychlostí, aby teplota nepřestoupila -5 °C. Roztok N-methyl-N,N'-dibenzyloxykarbonyl-1,2-diaminoethanu (29 g) v chloridu uhličitém (90 ml) se pak přidá během 40 minut k míchanému roztoku tak, aby se teplota udržovala na -10 °C. Po skončení přidávání se směs nechá míchat dvě hodiny. Směs se promyje přebytkem roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného, vodná fáze se extrahuje chloridem uhličitým a spojené organické fáze se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Výtěžek 29,8 g produktu čistoty 80 %.

ii) N-Methyl-N,N'-dibenzyloxykarbonyl-1,2-diaminoethan

K míchanému roztoku N-methyl-1,2-diaminoethanu (7,4 g) a triethylaminu (20,2 g) v chloroformu (50 ml) se při 0 °C přikape během 30 minut benzylchlorformiát (34,1 g). Směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti během jedné hodiny. Organický roztok se pak promyje vodou, roztokem kyseliny citrónové, roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a nakonec znovu vodou. Chloroformový roztok se vysuší síranem hořečnatým a odpařením se získá žlutý olej (29,6 g).

iii) Benzyl 9-0-(2'-N-benzyloxykarbonyl-N-methyl/aminoethyl)clavulanát.

K míchanému roztoku N-methyl-N'-nitroso-N,N'-dibenzyloxykarbonyl-1,2-diaminoethanu (3,71 g) v methylenchloridu (10 ml), ochlazenému na -30 °C, se přidá pyrrolidin (0,71 g).

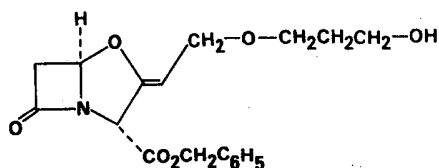
Směs se míchá při -25°C až -30°C po dobu 30 minut, načež se použije způsobem popsaným níže.

Roztok benzylclavulanátu (1,0 g) v methylenchloridu (10 ml) se ochladí na -30°C a přidá se bortrifluoridetherát (0,5 ml). Roztok diazosloučeniny připravené výše se pak přidává k míchanému roztoku takovou rychlostí, aby se teplota udržovala pod -25°C . Směs se pak míchá 1 hodinu a postupně se teplota nechá vystoupit na -10°C . Pak se přidá přebytek ledem ochlazeného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a organická fáze se oddělí. Vodná fáze se extrahuje methylenchloridem a spojené organické fáze se promyjí vodou, vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Opakovanou chromatografií zbytku se získá požadovaný ether výše uvedeného vzorce.

IC (film) (nevykazuje absorpci pro OH skupinu), 1 800, 1 745 a 1 700 cm^{-1} . Vlastnosti při chromatografii na tenké vrstvě jsou v soulasu s předpokládanou strukturou.

P ř í k l a d 22

Příprava benzyl-9-0-(3'-hydroxypropyl)clavulanátu



i) N,0-Bis-(benzyloxykarbonyl)-3-aminopropanol

Benzylchlorformiát (47 ml) se přikape k míchanému roztoku 3-aminopropanolu (11,4 ml) v pyridinu (150 ml) při teplotě 0°C . Směs se pak míchá přes noc při teplotě místnosti. Po nalití do směsi ledu a vody (300 ml) se provede extrakce ethylacetátem (3x200 ml). Organický extrakt se promyje kyselinou chlorovodíkovou (5M, 3x400 ml), vysuší bezvodým uhličitánem sodným a síranem hořečnatým a odpařením se získá požadovaná sloučenina ve formě oleje, která je znečištěna malým množstvím dimethylkarbonátu (30,23 g).

ii) N-Nitroso-N,0-bis-(benzyloxykarbonyl)-3-aminopropanol

Bezvodý octan sodný (45 g) se přidá k chloridu uhličitému (150 ml) při teplotě 0°C , směs se vychladí na -20°C a přidá se roztok kysličníku dusičitého (24,1 g) v chloridu uhličitém (150 ml). K míchané směsi se při -5°C přidá roztok N,0-bis-benzyloxykarbonyl-3-aminopropanolu (30,23 g) v chloridu uhličitém (150 ml) a v míchání se pak pokračuje 30 minut při 0°C . Reakční směs se promyje vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2x400 ml), vysuší se a odpařením se získá požadovaná sloučenina ve formě oleje (31,23 g). IC v_{max} (kapalný film): 1 750, 1 510, 1 400, 1 260, 1 125 a 1 035 cm^{-1} .

iii) Benzyl-9-0-(3'-benzyloxykarbonyloxypropyl)clavulanát

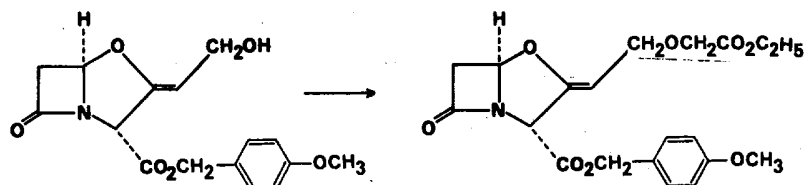
Pyrrolidin (4,94 ml) se přidává k roztoku N-nitroso-N,0-bis-(benzyloxykarbonyl)-3-aminopropanolu (31,22 g, 0,056 mol ve směsi) v methylenchloridu (100 ml) při teplotě -20°C po dobu 15 minut a získá se roztok 3-diazo-0-benzyloxykarbonylpropanolu v_{max} (CH_2Cl_2) 2 030 cm^{-1} . Tento roztok se skladuje při 0°C pro další stupeň.

K roztoku benzylclavulanátu (3 g) v methylenchloridu (150 ml) se při -30°C přidá bortrifluoridetherát (1 ml). K této směsi se při -30°C přidá roztok 3-diazo-0-benzyloxykarbonylpropanolu, připravený výše, a roztok se míchá jednu hodinu při -30°C až -10°C . Po promytí vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2x200 ml), vysušení a odpaření se získá olej, který se chromatografuje na silikagelu (80 g). Elucí kolony směsí cyklohexanu a ethyl-

acetátu se získá sloučenina uvedená v nadpisu (1,5 g), δ (CDCl₃) 7,36 (10H, s, ArH), 5,70 (1H, d, J = 2,5 Hz, 5-CH), 5,18 (4H, s, CH₂Ph), 5,13 (1H, m, 3-CH), 4,84 (1H, široký t, J = 8 Hz, 8-CH), 4,26 (1H, t, J = 6 Hz, CH₂CH₂OCBz), 4,06 (1H, d, J = 8 Hz, 9-CH₂), 3,60 - 3,26 (4H, m, O-CH₂CH₂ a 6 α -CH), 3,02 (1H, d, J = 18 Hz, 6 β -CH) a 1,86 (1H, m, CH₂CH₂CH₂).

Příklad 23

Příprava p-methoxybenzyl-9-O-ethoxykarbonylmethylclavulanátu

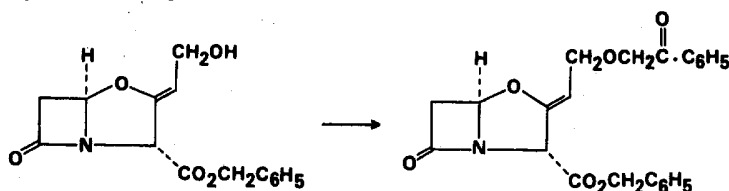


Roztok p-methoxybenzylclavulanátu (9,6 g) v bezvodém dichlormethanu (200 ml) se míchá při -30 °C. Přidá se redestilovaný bortrifluoridetherát (1 ml) a pak ethyldiazoacetát (16 ml). Teplota se pomalu nechá vystoupit na -10 °C a pak se míchá tři hodiny při této teplotě. Přidá se nasycený vodný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného (dvě dávky po 200 ml) směs se protřepe, oddělí a získaná organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a odpaří. Zbylý sirup se chromatografuje na koloně silikagelu a eluuje směsí ethylacetátu a cyklohexanu v poměru 1:3 až 1:2. Frakce obsahující produkt (podle chromatografie na tenké vrstvě) se spojí a odpaří. Výtěžek požadovaného materiálu 5,5 g.

IC (film) 1 805 cm⁻¹ (beta-laktam c = 0), 1 750 cm⁻¹ (ester c = 0), 1 700 cm⁻¹ (C=C).

Příklad 24

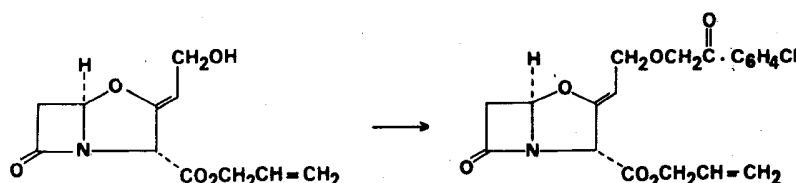
Příprava benzyl-9-O-fenacylclavulanátu



Benzylclavulanát (0,83 g) a diazoacetofenon (1,45 g) se rozpustí v methylenchloridu (20 ml) a směs se míchá při -20 °C. Přidá se bortrifluoridetherát (0,15 ml) a roztok se míchá dvě hodiny při -10 °C. Reakce se pak ukončí přidáním zředěného roztoku hydrogenuhlíčitanu. Organická fáze se promyje roztokem hydrogenuhlíčitanu, roztokem chloridu sodného a pak se vysuší síranem hořečnatým. Produkt (206 mg) se izoluje ve formě bezbarvého oleje, který po dvojnásobné chromatografii na silikagelu (eluze ethylacetát-petrolether) vykazuje $\nu_{\max}$ (CHCl₃): 1 805, 1 735 - 1 755, 1 705 cm⁻¹; δ (CDCl₃) 2,97 (1H, d, J 17 Hz, 6 β -CH), 3,47 (1H, dd, J 17 Hz, J' 2,5 Hz, 6 α -CH), 4,28 (2H, d, J 7 Hz, 9-CH₂), 4,72 (2H, s, -OCH₂CO), 4,93 (1H, t, J 7 Hz, 8-CH), 5,17 (1H, s, 3-CH), 5,26 (2H, s, CO₂CH₂Ph), 5,70 (1H, d, J 2,5 Hz, 5-CH), 7,35 - 8,10 (10H, m, aryl).

P ř í k l a d 25

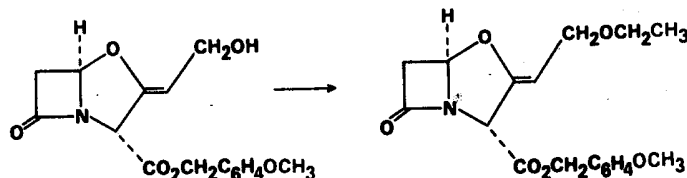
Příprava allyl-9-0-(p-chlorfenacyl)-clavulanátu



Allyl clavulanát (0,55 g) a alfa-diazo-p-chloracetofenon (0,77 g) se rozpustí v methylenchloridu (25 ml). Přidá se bortrifluorid etherát (25 kapek) a roztok se dvě hodiny míchá při -20°C až -10°C . Reakce se přeruší přidáním zředěného roztoku hydroxidu sodného a oddělená organická fáze se promyje vodou. Roztok se vysuší síranem sodným, přefiltruje a odpaří. Chromatografií na silikagelu (elucí chloroformem) se získá požadovaný produkt (200 mg). ν_{max} (CHCl_3) 1 800, 1 745, 1 690, 1 590 cm^{-1} ; δ (CDCl_3): 2,94 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 17Hz, 6 β -CH), 3,42 (1H, dd, $\underline{\text{J}}$ 17Hz, $\underline{\text{J}}$ 2,5Hz, 6 α -CH), 4,17 (2H, d, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, 9-CH₂), 4,72 (2H, s, OCH₂CO), 4,57 (2H, d, $\underline{\text{J}}$ 6Hz, CO₂CH₂), 4,82 (1H, t, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, 8-CH), 5,02 (1H, s, 3-CH), 5,25 (2H, m, =CH₂), 5,61 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 2,5Hz, 5-CH), 5,6 - 6,1 (1H, m, CH₂-CH=CH₂), 7,2 - 7,85 (4H, m, aryl).

P ř í k l a d 26

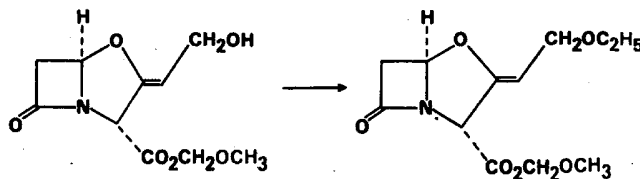
p-Methoxybenzyl-9-0-ethyl clavulanát



Opakuje se postup podle příkladu 2 za použití p-methoxybenzylclavulanátu místo benzylclavulanátu a diazoethanu místo diazomethanu. Získaný ethylether ve formě světle žlutého oleje vykazuje následující vlastnosti: IČ (kapalný film) 1 805 (beta-laktam C=O), 1 750 (ester C=O), 1 700 cm^{-1} (C=C); NMR (CDCl_3) 1,17 (3H, t, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, CH₃CH₂), 3,79 (3H, s, OCH₃), 2,96 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 17Hz, 6 β -CH), 3,41 (2H, q, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, CH₃CH₂-), 3,47 (1H, dd, $\underline{\text{J}}$ 17 a 3Hz, 6 α -CH), 3,79 (3H, s, OCH₃), 4,03 (2H, d, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, -CH₂O), 4,82 (1H, t, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, CH=), 5,04 (1H, s, 3-CH), 5,11 (2H, s, PhCH₂).

P ř í k l a d 27

Příprava methoxymethyl-0-ethylclavulanátu



Postup podle příkladu 26 se opakuje za použití methoxymethylclavulanátu místo p-methoxybenzylclavulanátu.

Produkt se chromatografuje na koloně silikagelu elucí směsí ethylacetátu a methylcyklopentanu (1:3) a pak ethylacetátem a cyklohexanem gradientem od 2:1 až po čistý ethylacetát. Nejprve se eluuje požadovaný produkt a pak malé množství nezreagovaného výchozího materiálu.

IČ (film): 1 805 (beta-laktam C=O), 1 755 (ester C=O), 1 700 (C=C).

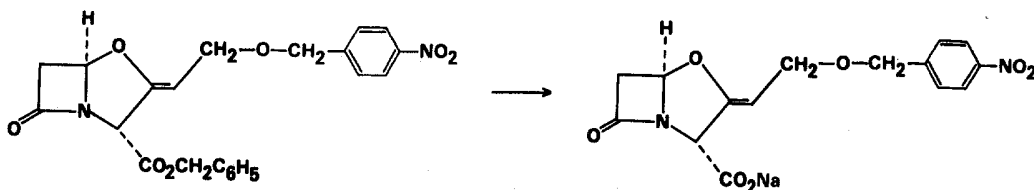
NMR (CDCl₃) 1,18 (3H, t, $\underline{J}$ 7Hz, CH₃CH₂), 3,02 (1H, d, $\underline{J}$ 17Hz, 6- β -CH), 3,42 (2H, q, $\underline{J}$ 7Hz, CH₃CH₂), 3,44 (1H, dd, $\underline{J}$ 17 a 3Hz, 6- α -CH), 3,45 (3H, s, OCH₃), 4,04 (2H, d, 7Hz, CH₂CH=), 4,86 (1H, bt, $\underline{J}$ 7Hz, CH₂-CH=), 5,04 (1H, bs, 3CH₃), 5,23, 5,30 (2H, ABq, $\underline{J}$ 5Hz, OCH₂O), 5,65 (1H, d, $\underline{J}$ 3Hz, 5-CH).

Odpovídající methoxymethyl O-methylclavulanát se může připravit stejným způsobem.

(Výchozí materiál se může připravit reakcí clavulanátu sodného a methyloxymethylchloridu v dimethylformamidu běžným způsobem.)

P ř í k l a d 28

Příprava sodné soli 9-O-(p-nitrobenzyl)-clavulanové kyseliny



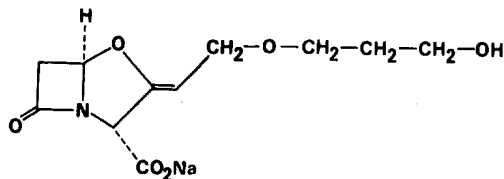
Roztok benzyl 9-(0-/4-nitrobenzyl)/clavulanátu (110 mg) a hydrogen uhličitanu sodného (21,7 g) v tetrahydrofuranu a vodě (5:1, 8 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (68 mg) po dobu 15 minut. Roztok se pak přefiltruje přes celit a pevná látka se promyje vodou. Spojené filtráty se odpaří, aby se odstranila převážná část tetrahydrofuranu a zbylý vodný roztok se promyje ethylacetátem. Vodný roztok se pak odpaří a zbylý gumovitý odparek se čistí na koloně (silikagel H, n-butanol-voda-ethanol 4:1:1). Získá se tak produkt (39 mg) ve formě žluté pevné látky (čistota 70 %).

IČ (KBr) 1 790, 1 605 (široký) cm⁻¹

NMR (DMSO) 2,83 (1H dublet, $\underline{J}$ 17Hz), 3,41 (1H, dd, $\underline{J}$ 17Hz a 3Hz), 3,88 (2H, d, $\underline{J}$ 7Hz), 4,4 (2H, s), 4,52 (1H, s), 4,67 (1H, mt), 5,57 (1H, s), 6,46 (2H, d, $\underline{J}$ 9Hz), 6,89 (2H, d, $\underline{J}$ 9Hz).

P ř í k l a d 29

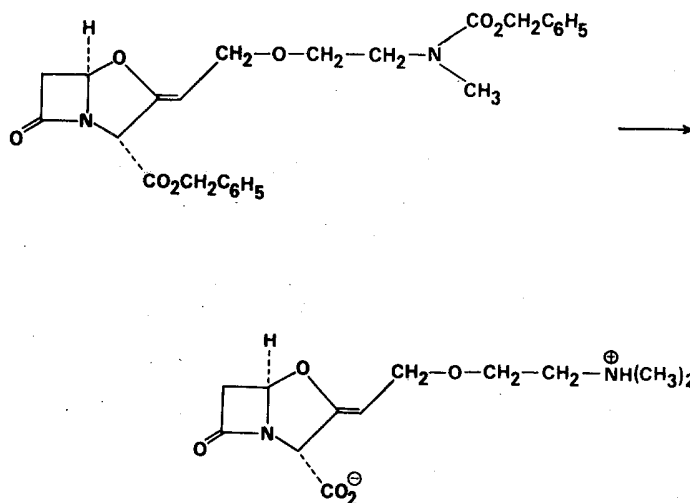
Příprava sodné soli 9-O-(3'-hydroxypropyl)clavulanové kyseliny



Směs benzyl-9-O-(3-benzyloxykarbonyloxypropyl)clavulanátu (0,5 g) a hydrogenuhlíčitanu sodného (0,05 g) ve směsi tetrahydrofuranu a vody (5:1, 12 ml) se hydrogenuje při teplotě místnosti za normálního tlaku v přítomnosti 10% paládium na uhlí (0,3 g) po dobu 15 minut. Směs se filtruje a odpařením filtrátu se získá olej, který se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Vodná frakce se odpaří mrazovou sublimací a získá se sloučenina uvedená v nadpisu, jejíž NMR je v soulase s uvedenou strukturou.

P ř í k l a d 30

9-O-(2'-N,N-dimethyl/aminoethyl)clavulanát



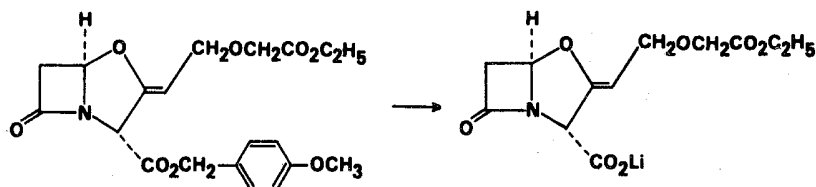
Roztok benzylesteru (90 mg) v tetrahydrofuranu (5 ml) a vodě (1 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (30 mg) po dobu 15 minut. Katalyzátor se odfiltruje a promyje vodou. Spojené filtráty se odpaří tak, aby se odstranil tetrahydrofuran a vodný roztok se dvakrát extrahuje ethylacetátem. Vodný roztok se odpaří a odparek se čistí chromatografií na koloně. (Whatman celulosový prášek CC 31 směsí butanol:voda:ethanol 4:1:1). Získá se tak požadovaný produkt ve výtěžku 15 mg.

IČ (CHCl_3) 1 790 a 1 620 cm^{-1}

NMR (D_2O) v soulase s předpokládanou strukturou.

P ř í k l a d 31

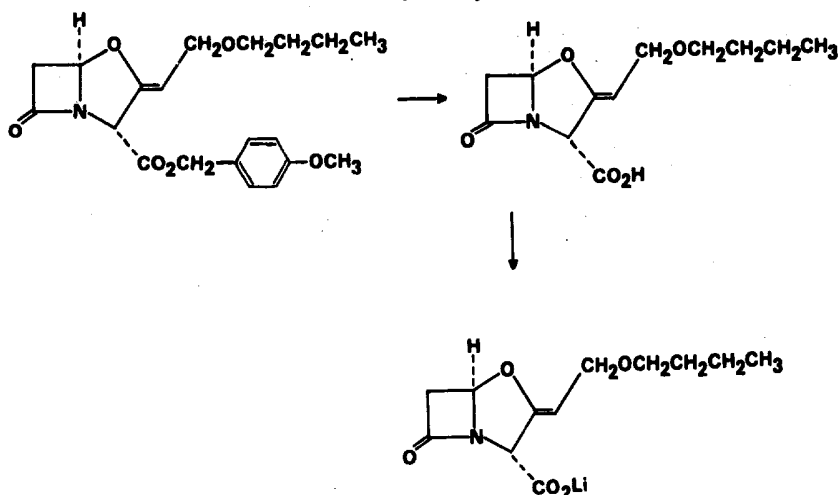
Příprava lithné soli 9-O-ethoxykarbonylmethylclavulanové kyseliny



p-Methoxybenzyl 9-O-ethoxykarbonylmethylclavulanát (4 g) v redestilovaném tetrahydrofuranu (40 ml) obsahujícím vodu (0,1 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (1,2 g) 30 minut při teplotě místnosti, kdy podle chromatografie na tenké vrstvě dojde k vymizení výchozího materiálu. Katalyzátor se pak odstraní filtrací, filtrát se přidá k vodě (50 ml) a filtruje na pH 7,0, 1,0M roztokem hydroxidu lithného (spotřeba 7,5 ml, teorie 10 ml, mírný rozdíl způsoben rozpouštědlem ve výchozím materiálu). Roztok se odpaří ve vakuu, získaný světle žlutý sirup se rozmělní s acetonem (50 ml) a vykřystaluje. Produkt se odfiltruje, promyje acetonem a etherem, vysuší na vzduchu a získá se 1,6 g téměř bezbarvé krystalické pevné látky.

IČ: 1 795 (beta-laktam C=O), 1 735 (ester C=O), 1 695 (C=C), 1 620 cm^{-1} (CO_2^-) (nujol).

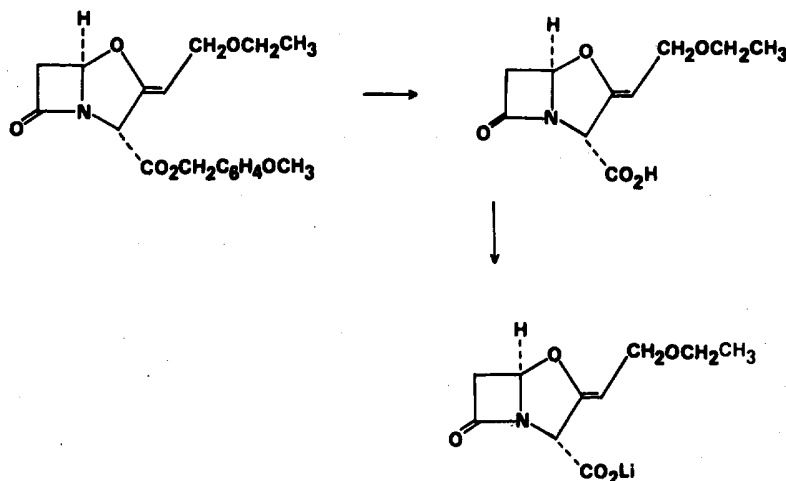
Příprava lithné soli 9-0-butylclavulanové kyseliny



Roztok p-methoxybenzyl 9-0-butylclavulanátu (80 mg) v tetrahydrofuranu (6 ml) obsahujícím vodu (0,02 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (40 mg) po dobu 15 minut, kdy chromatografie na tenké vrstvě vykazuje nepřítomnost výchozího materiálu. Katalyzátor se pak odstraní filtrací a získá se roztok clavulanylbutyletheru. Tento roztok se zředí vodou (20 ml) a titruje na pH 7,5 0,1 M roztokem hydroxidu lithného. Roztok se odpaří ve vakuu na polopevný zbytek, který rozmělněním s acetonem vykřystaluje. Krystalický produkt se odfiltruje, promyje etherem a vysuší na vzduchu. Výtěžek 40 mg krystalické lithné soli 9-0-(n-butyl)clavulanové kyseliny.

IČ (nujol) 1 768 (beta-laktam C=O), 1 698 (C=C), 1 618 cm^{-1} (CO_2^-),
 NMR (D_2O) δ 0,73 (3H, t, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$), 0,95 - 1,60 (4H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,94 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 17Hz, 6- $\beta\text{-CH}$), 3,36 (2H, t, $\underline{\text{J}}$ 7Hz, OCH_2CH_2), 3,43 (1H, dd, $\underline{\text{J}}$ 17 a 3Hz, 6- $\alpha\text{-CH}$), 3,97 (2H, d, $\underline{\text{J}}$ 8Hz, $=\text{CHCH}_2$), 4,76 (1H, t, $\underline{\text{J}}$ 8Hz, CH=), 4,84 (1H, s, 3-CH), 5,99 (1H, d, $\underline{\text{J}}$ 3Hz, 5-CH).

Lithná sůl 9-0-ethylclavulanátu



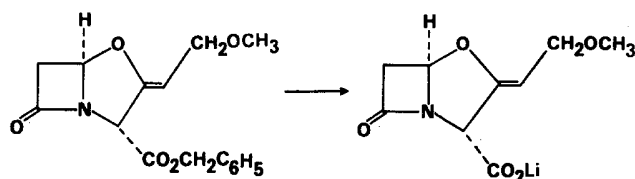
p-Methoxybenzyl-9-0-ethylclavulanát (2,5 g) v tetrahydrofuranu (25 ml) obsahujícím vodu (0,1 ml) se hydrogenuje na 10% paládium na uhlí (0,8 g). Po 2 hodinách je podle chromatografie na tenké vrstvě prokazatelná nepřítomnost výchozího materiálu. Katalyzátor se odfiltruje přes vrstvu jemně rozptýleného silikagelu, filtrát se zředí stejným objemem vody a titruje se na pH 7,0 1M roztokem hydroxidu lithného. Odpařením rozpouštědel a rozmělněním odparu v acetonu se získá lithná sůl ve formě světle krémové krystalické pevné látky (1,05 g).

(Sodná sůl se připraví identickým způsobem použitím 1M roztoku hydroxidu sodného, výtěžek 0,85 g.)

Vlastnosti lithné soli: IČ (nujol) 1 785 (beta-laktam, C=O), 1 685 (C=C), 1 615 cm^{-1} (CO_2^-).

Příklad 34

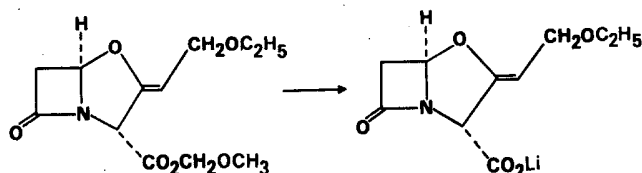
Příprava krystalické lithné soli 9-0-methylclavulanové kyseliny



Benzyl-9-0-methylclavulanát (0,52 g) a uhlíčitán lithný (0,063 g) ve směsi ethanol-voda (6:1, 17 ml) se hydrogenují při teplotě místnosti a atmosférickém tlaku na 10% paládium na uhlí (0,2 g) po dobu 30 minut. Po této době se směs filtruje, zahustí ve vakuu a mrazovou sublimací se získá amorfni pevná látka. Tato se rozpustí ve vodě (asi 1 ml) a k tomuto roztoku se přidá acetonitril (asi 30 ml). Směs se ochladí v lázni s ledem a tře se až do vzniku krystalického produktu (asi 30 minut). Bezbarvá pevná látka se odfiltruje a vysuší na požadovanou lithnou sůl clavulan-9-0-methyletheru ve formě mikrokrystallů (0,13 g).

Příklad 35

Příprava lithné soli 0-ethylclavulanové kyseliny



Methoxymethyl 0-ethylclavulanát (0,5 g) v tetrahydrofuranu (5 ml) se přidá k vodě (25 ml). Směs se udržuje na pH 8,5 - 9,0 přidáním 1,0 ml roztoku hydroxidu lithného za použití "Metrohm" pH-statů (spotřeba 1,8 ml). Vodný roztok se pak odpaří ve vakuu k suchu a rozmělněním s acetonem se získá světle žlutá krystalická pevná látka, která se odfiltruje, promyje etherem a vysuší na vzduchu. Získá se 0,25 g sloučeniny uvedené v nadpisu. Tato sloučenina vykazuje následující vlastnosti:

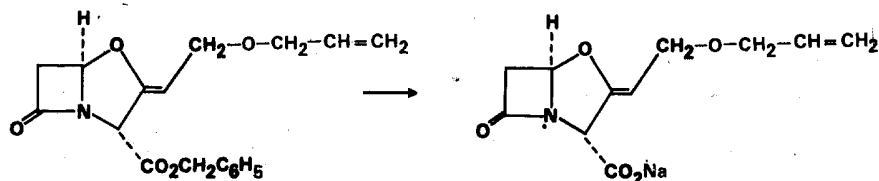
IČ (nujol) 1 785 (beta-laktam C=O), 1 685 (C=C), 1 615 cm^{-1} ($-\text{CO}_2^-$).

NMR (D_2O) 1,11 (3H, t, $\underline{J}$ 7Hz, CH_2CH_3), 3,05 (1H, d, $\underline{J}$ 17Hz, 6- β -CH), 3,48 (2H, q, $\underline{J}$ 7Hz, CH_2CH_3), 3,50 (1H, dd, $\underline{J}$ 17Hz a 3Hz, 6- α -CH), 4,04 (2H, d, $\underline{J}$ 7Hz, CH_2 -CH=), 4,82 (1H, t, $\underline{J}$ 7Hz, CH=), 4,88 (1H, s, 3-CH), 5,65 δ (1H, d, $\underline{J}$ 3Hz, 5-CH).

Odpovídající lithná sůl O-methyl-clavulanátu se může získat obdobným způsobem.

Příklad 37

Sodná sůl 9-O-allylclavulanové kyseliny

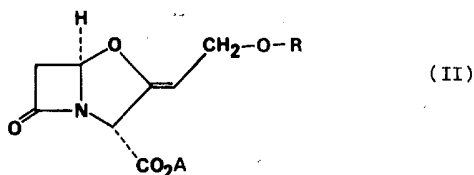


Roztok benzyl 9-O-allylclavulanátu (0,5 g) ve směsi tetrahydrofuranu a vody (1:4, 30 ml) se titruje do konstantního pH 10 při teplotě místnosti vodným roztokem hydroxidu sodného. Reakční směs se zředí vodou (30 ml) a neutrální organický materiál se odstraní kontinuální extrakcí etherem. Vodný roztok se odpaří mrazovou sublimací a pak chromatografuje na silikagelu. Elucí kolony směsí butanol-ethanol-voda (4:1:1,75) se získá sloučenina uvedená v nadpisu (0,01 g).

NMR (D_2O): 5,63 (1H, d, J 3Hz, 5-CH), 4,97 až 5,40 (3H, m, $-CH=CH_2$), 4,87 (1H, m, 3-CH), 4,83 (1H, široký t, J 8Hz, 8-CH), 4,19 (2H, d, J 8Hz, 9-CH₂), 3,91 (2H, široký d, J 6Hz, $-CH_2CH=CH_2$), 3,49 (1H, dd, J 18Hz, J' 3Hz, 6 α -CH), a 2,978 (1H, d, J 18Hz, 6 β -CH).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob přípravy etherů clavulanové kyseliny obecného vzorce II,

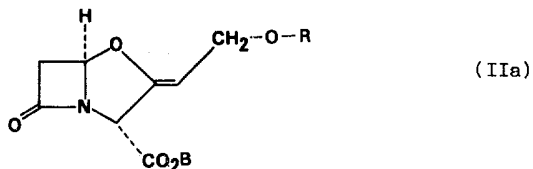


kde

R je alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenyl s 3 až 4 atomy uhlíku, benzyl, benzyl substituovaný nitroskupinou nebo alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku substituovaný karboxyskupinou ve formě soli, alkoxykarbonylskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxyly, benzyloxykarbonylskupinou, fenyلكarbonylskupinou, chlorfenylkarbonylskupinou, kyanoskupinou, hydroxyskupinou, aminoskupinou nebo aminoskupinou substituovanou alkylem s 1 až 4 atomy uhlíku a/nebo benzyloxykarbonylskupinou a

A je kation alkalického kovu,

vyznačený tím, že se deesterifikuje sloučenina obecného vzorce IIa,



kde B je alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenyl s 3 až 4 atomy uhlíku, benzyl nebo benzyl substituovaný alkoxyly s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku substituovaný alkoxyly s 1 až 4 atomy uhlíku, alkyلكarbonyloxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkyly

nebo alkoxykarbonylskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxyly, a získaná volná kyselina se převede reakcí s bází na odpovídající sůl.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se deesterifikace provádí hydrogenolýzou sloučeniny obecného vzorce IIa, kde B je benzyl nebo benzyl substituovaný alkoxyly s 1 až 4 atomy uhlíku, v přítomnosti katalyzátoru kovu přechodové skupiny.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se deesterifikace provádí mírnou zásadickou hydrolýzou.

4. Způsob podle bodu 3, vyznačený tím, že se mírnou zásadickou hydrolýzou deesterifikuje sloučenina obecného vzorce IIa, kde R je methyl a B je methyl.