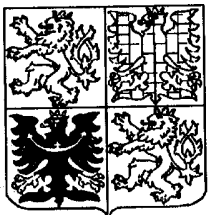


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 23.08.94
(32) 24.08.93, 31.05.94
(31) 93/2511, 94/1687
(33) CH, CH
(40) 15.03.95

(21) 2039-94

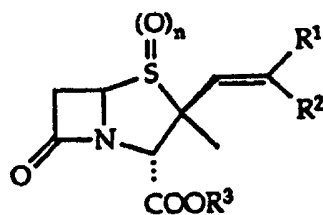
(13) A3

6(51)

C 07 D 499/86

// A 61 K 31/43

- (71) F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, Basle, CH;
(72) Hubschwerien Christian, Durmenach, FR;
Richter Hans, Grenzach-Wyhlen, DE;
Specklin Jean-Luc, Kembs-Loechle, FR;
(54) 3beta-alkenylpenamové deriváty, způsob jejich výroby, léčiva na jejich bázi a meziprodukty pro výrobu těchto derivátů



(I)

- (57) b-Alkenylpenamované deriváty a jejich farmaceuticky vhodné soli, způsob jejich výroby, léčiva na bázi a meziprodukty pro výrobu těchto derivátů. Tyto deriváty mají strukturu odpovídající obecnému vzorci I, kde ze symbolů R^1 a R^2 jeden je $-\text{COR}^4$, kyano, $-\text{CH}_2\text{R}^5$, halogen, $-\text{CH}=\text{CHR}^6$ nebo Q a druhý je H nebo nižší alkyl nebo oba dohromady tvoří gamma-laktomový kruh; R^3 je H, nižší alkyl, arylalkyl, allyl nebo zbytek odštěpitelný in vivo; R^4 je H, nižší alkyl, nižší alkoxy, benzoloxo, amino, nižší alky-lamino nebo nižší alkyl - nižší alkoxyamino; R^5 je OH, $-\text{OCONHR}^7$, $-\text{OCONH}_2$ nebo 5- nebo 6-členný heteroaromatický zbytek s N, S a/nebo O, který je připojen přes N; R^6 je CN nebo CHO; R^7 je $-\text{COCH}_2$; Q je 5- nebo 6-členný heteroaromatický zbytek s N, S a/nebo O, a n je 0,1 nebo 2. Tyto sloučeniny jsou dobrými blokátory b-laktamasy. Může se jich používat popřípadě společně s b-laktamovým antibiotikem pro profylaxi nebo léčbu bakteriálních infekcí.

R⁴ představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, nižší alkoxy skupinu, benzyloxy skupinu, aminoskupinu, nižší alkylaminoskupinu nebo nižší alkyl-nižší alkoxyaminoskupinu;

- R⁵ představuje hydroxyskupinu, skupinu -CONHR⁷, skupinu -CONH₂ nebo pětičlenný nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující dusík, síru a/nebo kyslík, který je připojen přes atom dusíku;
- R⁶ představuje kyanoskupinu nebo aldehydickou skupinu;
- R⁷ představuje skupinu -COCH₂Cl;
- Q představuje pětičlenný nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující dusík, síru a/nebo kyslík; a
- n představuje číslo 0, 1 nebo 2;
- a jejich farmaceuticky vhodné soli.

Tyto sloučeniny jsou nové a vyznačují se terapeuticky cennými vlastnostmi. Mají zejména výrazné účinky blokující β -laktamasu a lze jich proto použít v kombinaci s β -laktamovými antibiotiky, jako jsou peniciliny a cefalosporiny, při potlačování původců chorob vytvářejících β -laktamasu.

Tyto sloučeniny dále vykazují vlastní antibakteriální účinnost proti jednotlivým kmenům bakterií, jako například *Acinetobacter*.

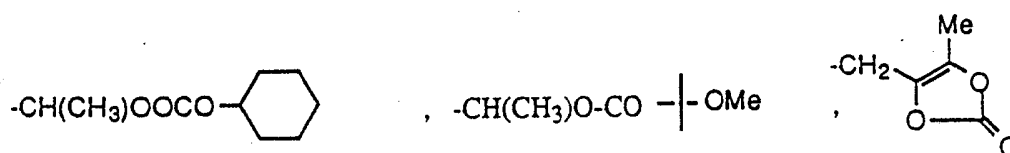
Pod označením "nižší alkylskupina", ať již se ho používá samotného nebo v kombinaci, jako je například nižší alkoxy skupina nebo nižší alkylaminoskupina, se rozumí nasycený uhlovodíkový zbytek s přímým nebo rozvětveným řetězcem obsahující nejvýše 7 a přednostně nejvýše 4 atomy uhlíku, jako je methylskupina, ethylskupina, isopropylskupina nebo terc.butylskupina.

Pod označením "arylalkylskupina" se rozumí benzylskupina, benzhydrylskupina, p-methoxybenzylskupina nebo p-nitrobenzylskupina.

Pod označením "halogen" se rozumí fluor, chlor, brom nebo jod.

Pod označením "pětičlenný nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující dusík síru a/nebo kyslík" se přednostně rozumí 2-pyridylskupina, 1-methylpyridin-2-ylskupina, 1,3-thiazol-2-ylskupina, 1,2,4-oxadiazol-3-ylskupina apod.

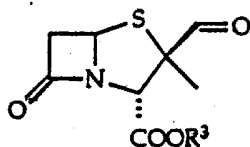
Pod označením "zbytek odštěpitelný in vivo" se rozumí zbytek, který se hodí pro orální podávání a který přednostně obsahuje esterovou skupinu, jako je například zbytek vzorce $-\text{CH}_2\text{OCC}(\text{CH}_3)_3$,



nebo $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OCO}-\text{CH}_3$.

Předmětem vynálezu jsou 3β -alkenylpenamové deriváty obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodné soli, jako takové a jako farmaceuticky účinné látky, způsob výroby těchto sloučenin a dále léčiva obsahující sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl a popřípadě přidavně též β -laktamové antibiotikum. Předmětem vynálezu je i způsob výroby takových léčiv a použití sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodných solí při potlačování nebo profylaxi chorob, zejména bakteriálních infekcí a dále též použití těchto látek pro výrobu odpovídajících léčiv.

Předmětem vynálezu jsou dále také sloučeniny obecného vzorce II



(II)

kde R³ má výše uvedený význam.

Sloučeniny obecného vzorce II jsou důležitými meziprodukty pro výrobu sloučenin obecného vzorce I.

Obzvláštní přednost se dává sloučeninám obecného vzorce I, kde R¹ představuje kyanoskupinu, halogen nebo skupinu vzorce COR⁴, přičemž R⁴ představuje aminoskupinu, methylskupinu, nižší alkoxy skupinu nebo benzyloxyskupinu a R² představuje atom vodíku, například sloučeninám zvoleným ze souboru zahrnujícího:

benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodnou sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodnou sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodnou sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a

sodnou sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(3-oxo-but-1-enyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

Ke sloučeninám, kterým se dává obzvláštní přednost, náleží dále tyto sloučeniny:

benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxy-karbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxy-karbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

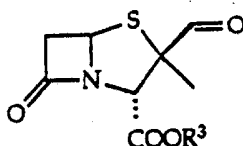
benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxy-karbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxy-karbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a

sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny.

3 β -alkenylpenamové deriváty obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodné soli se mohou podle vynálezu vyrobit tak, že se

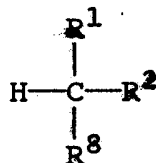
a) sloučenina obecného vzorce II



(II)

kde R^3 má výše uvedený význam,

nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce



kde R^1 a R^2 mají výše uvedený význam a R^8 představuje skupinu vzorce $P^+(\text{aryl})_3$, $PO(\text{O-alkyl})_2$ nebo $Si(\text{alkyl})_3$ nebo atom halogenu,

za přítomnosti aktivačního činidla, nebo se

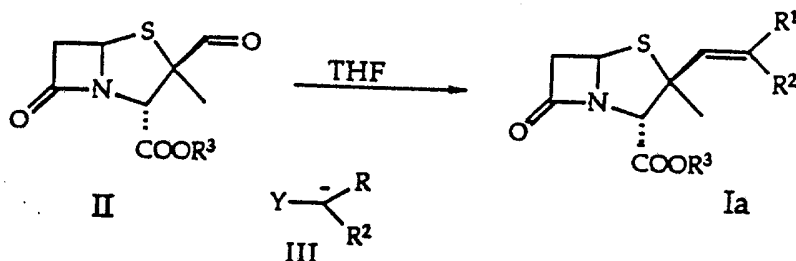
b) oxiduje sloučenina obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0, nebo se

c) sloučenina obecného vzorce I, kde R^3 je odlišný od vodíku, převede na odpovídající volnou kyselinu a

d) popřípadě se kyselá sloučenina obecného vzorce I převede na svou farmaceuticky vhodnou sůl.

Dva známé způsoby provádění alternativy a) způsobu podle vynálezu ukazuje schema 1 (Wittigova nebo Hornerova reakce).

S c h e m a 1



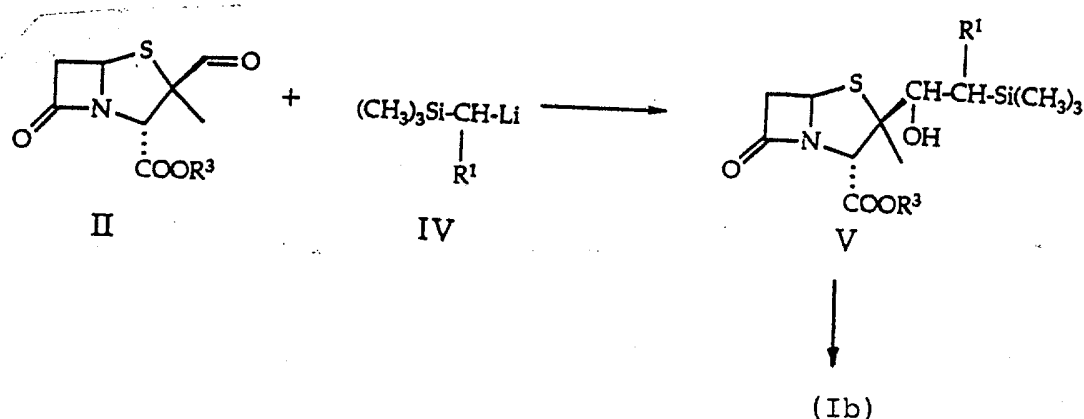
kde substituenty R^1 , R^2 a R^3 mají výše uvedený význam.

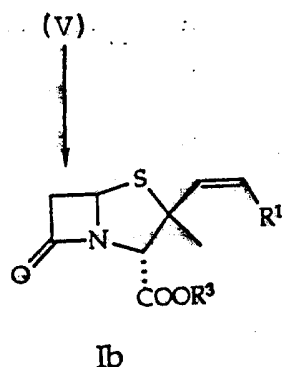
Aldehyd obecného vzorce II se převádí přímou reakcí s alkylidentrifenyfosforanem (III; $Y = P^+(aryl)_3$, Wittigova reakce) nebo alkylfosfonátem (III; $Y = (alkyl-O)_2PO$, Hornerova reakce) za přítomnosti aktivačního činidla, například báze, jako je triethylamin, methoxid sodný, lithiumdiisopropylamin nebo DBU (1,5-diazabicyklo[4.3.0]-non-5-en) na alkenylsubstituovaný penam obecného vzorce Ia. Jako rozpouštědlo pro tuto reakci se hodí například tetrahydrofuran, toluen, dichlormethan, acetonitril nebo benzen. Reakční teplota se podle použitého rozpouštědla může měnit v rozmezí od - 30 do 80 °C.

Sloučeniny obecného vzorce I se popřípadě mohou také vyrábět reakcí odpovídajícím způsobem substituovaného trifenyfosfoniumhalogenidu s 1,2-butylenoxidem jako bází a rozpouštědlem. Přednostní reakční teplota přitom leží v rozmezí od 50 do 70 °C. Získají se tak sloučeniny obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0.

Další možností jak provést alternativu a) způsobu podle vynálezu, představuje Petersonova olefinace a Reformatského syntéza. Při Petersonově olefinaci se nechává reagovat lithná sůl tetraalkylsilanu se sloučeninou obecného vzorce II. Schema 2 ukazuje reakci s odpovídajícím substituovaným lithiumtrimethylsilylmethylderivátem obecného vzorce IV, kde R^1 a R^3 mají výše uvedený význam.

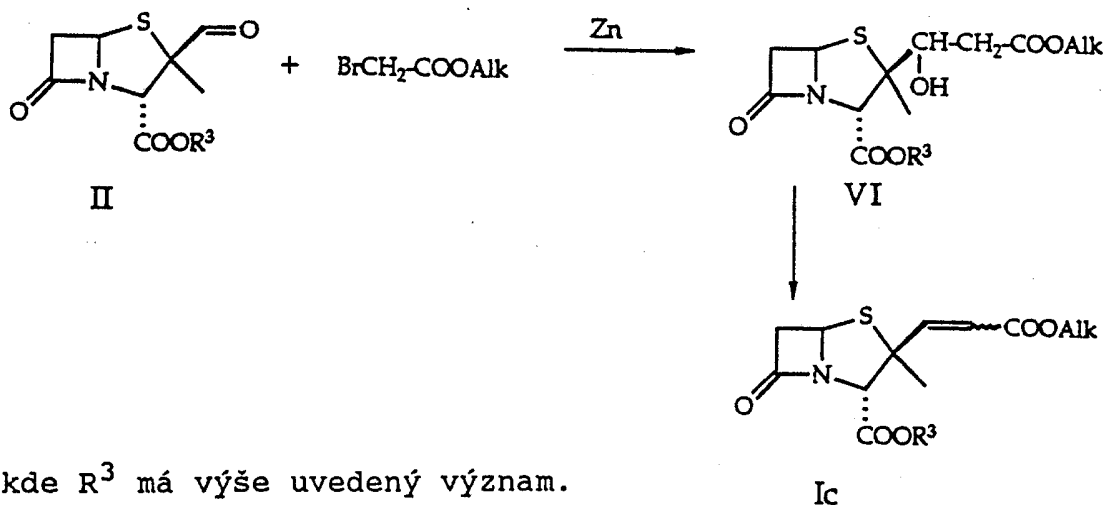
S c h e m a 2





3 β -alkenylpenamové deriváty obecného vzorce Ib vznikají ze sloučenin obecného vzorce V spontánní dehydratací. Získají se sloučeniny obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0 a R² představuje atom vodíku. Při Reformatského syntéze se kondenzuje sloučenina obecného vzorce II s organozinečnatým derivátem α -halogenesteru. Přitom vzniká odpovídající β -hydroxyester obecného vzorce VI a z něho pak odštěpením vody sloučenina obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0, R¹ představuje skupinu vzorce COR⁴, R⁴ představuje nižší alkylskupinu a R² představuje atom vodíku. Tato reakční sekvence je znázorněna ve schématu 3.

S c h e m a 3



Oxidace sulfidové skupiny na sulfoxidovou nebo sulfonovou skupinu probíhá o sobě známými způsoby. Jako obzvláště vhodná se ukázala reakce sloučenin obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0, ve dvoufázovém systému s tetroxidem rutheničelým nebo s vodným roztokem manganistanu draselného, jakož i roztokem peroxidu vodíku.

Penamsulfony se také mohou vyrábět za použití jiných oxidačních činidel, jako je wolframan sodný nebo peroxokyselina. Jako rozpouštědlo se obzvláště hodí dichlormethan.

Sloučeniny obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0, se účelně rozpouštějí v dichlormethanu a přidávají k vodné suspenzi, která se skládá z (meta)jodistanu sodného, hydrogenuhlíčitanu sodného a oxidu rutheničitého. Po skončení reakce se organická fáze oddělí, přečistí a vysuší.

Zda při této oxidaci vznikne sulfoxid nebo sulfon, závisí na druhu a/nebo množství oxidačního činidla.

Převedení sloučeniny obecného vzorce I, kde R^3 nepředstavuje atom vodíku, na volnou kyselinu a převedení volné kyseliny na farmaceuticky vhodnou sůl se může provádět o sobě známými postupy, podle okolností, v jednom jediném pracovním stupni.

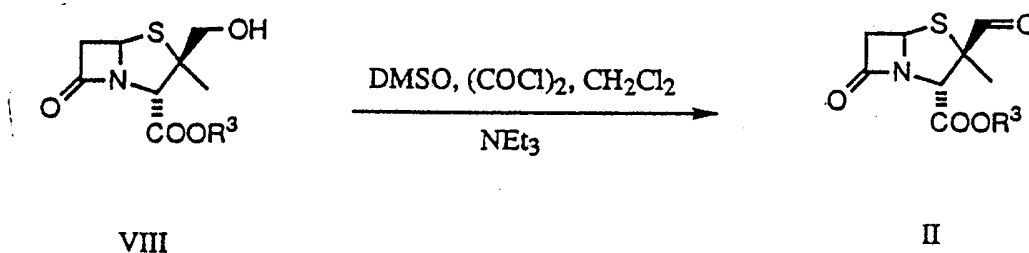
Esterové skupiny, například benzylskupina, p-nitrobenzylskupina, benzhydrylskupina, p-methoxybenzylskupina nebo allylskupina, se mohou odštěpovat následujícími způsoby.

Benzylskupina a p-nitrobenzylskupina se může odštěpovat hydrogenací na paladiovaném uhlíku přibližně při teplotě v rozmezí od 0 do 80 °C, v organickém rozpouštědle,

jako je ethylacetát, methanol nebo voda, nebo hydrolyzou za přítomnosti sulfidu sodného, přibližně při teplotě v rozmezí od 0 °C do teploty místnosti, v rozpouštědle, jako je například dimethylformamid. Allylskupina se může odštěpovat transalkylací katalyzovanou paladiem v oxidačním stavu 0 za přítomnosti sodné nebo draselné soli 2-ethylkapronové kyseliny. Benzhydrylskupina se může odštěpovat působením m-kresolu při teplotě asi 50 °C, v průběhu 4 až 5 hodin.

Sloučeniny obecného vzorce II, kterých se používá jako výchozích látek, se mohou vyrobit podobným způsobem, jako je způsob popsáný v Tetrahedron 43, č. 5, str. 1003 až 1012 (1987), z odpovídajících alkoholů. Tento postup je znázorněn ve schématu 4.

S c h e m a 4



kde R³ má výše uvedený význam.

Jako výhodná se ukázala reakce s oxalylchloridem v dichlormethanu, která se účelně provádí následujícím způsobem: dichlormethan a oxidační činidlo se ochladí přibližně na teplotu - 60 °C, přidá se dimethylsulfoxid a sloučenina obecného vzorce VIII a přibližně po 3 hodinách reakce a po přidání triethylaminu se chladicí lázeň odstaví. Takto získaný aldehyd obecného vzorce II se může přečistit obvyklými způsoby.

Podobně se získají sloučeniny obecného vzorce II oxidací pomocí komplexu pyridinu a chlorchromátu (PCC), Dess-Martinova reakčního činidla, oxidu manganického apod.

Jak již bylo uvedeno výše, vykazují sloučeniny podle vynálezu obecného vzorce I a farmaceuticky vhodné soli těchto sloučenin s bázemi výrazné účinnosti při blokování β -laktamasy pocházející z různých kmenů bakterií. Tyto terapeuticky cenné vlastnosti je možno potvrdit in vitro na izolovaných β -laktamasách následujícím způsobem.

A. Izolace β -laktamas

Různé β -laktamasy je možno izolovat z kmenů bakterií vykazujících resistenci vůči penicilinu nebo cefalosporinu, jako je *Klebsiella pneumoniae* NCTC 418, *Proteus vulgaris* 1028, *Bacillus licheniformis* 749/C, *Escherichia coli* SN01 a *Citrobacter freundii* 1203. Pro tento účel se odpovídající kmeny kultivují v sojovém nálevu "Tryptic Soy Broth (Difco) a sklídí se odstředěním v pozdní logaritmické fázi růstu (pokud je to nutné, přidá se k médiu koncem log-fáze 50 až 100 mg/l ampicilinu pro indukci β -laktamasy). Takto získaná bakteriální hmota se smísí s 20mM Tris-HCl puforem (pH 7,0) a za chlazení se buňky rozbíjí ve "francouzském lisu". Potom se hmota odstředí (frekvence otáčení 20000 min^{-1} , 20 až 30 minut) a tak se získá čirý surový extrakt. Přečištění proteinu se provádí způsobem popsáným v Cartwright, S. J. a Waley, S. G. Biochem. J. 221, 505 až 512 (1980) a v případě B. *licheniformis*, způsobem popsáným v Ellerby, L. M. et al., Biochemistry 29, 5797 až 5806 (1990).

B. Stanovení aktivity β -laktamasy

Stanovení aktivity izolované β -laktamasy se může provést podle metody popsané v O'-Callaghan, C. H. et al., Antimicrob. Agents Chemother 1, 283 až 288 (1972) za použití chromogenního cefalosporinu, nitrocefínu (87/312, výrobek firmy Glaxo). Potřebná násada pro pokus obsahuje v 1 ml vody: 50 mM fosfátového pufru (pH 7,0), 0,1 mM nitrocefínu a dostatečné množství enzymu, aby se dosáhlo hodnoty Δ A/min přibližně 0,1. Štěpení substrátu, které je spojeno se změnou barvy, se provádí při 37 °C a kvantitativně se sleduje spektrofotometricky při 482 nm.

C. Stanovení blokovací účinnosti sloučenin obecného vzorce I na β -laktamasy

Výše popsané štěpení chromogenního substrátu β -laktamasami (pokus B) se může blokovat (inhibovat) přidavkem sloučenin obecného vzorce I (inhibitorů). Poněvadž se ukázalo, že inhibitory nevratně inaktivují β -laktamasu při reakci, která je závislá na čase, zahájí se reakce (štěpení substrátu) přidavkem substrátu, vždy po předinkubační době β -laktamasy s inhibitorem (15 minut). Měřítkem afinity každého zkoušeného inhibitoru vůči β -laktamase, která je měřítkem síly inhibitoru, je koncentrace IC_{50} [nM], která za výše popsaných pokusných podmínek (pokus B) z 50 % blokuje štěpení substrátu (nitrocefínu) za nepřítomnosti inhibitoru. Stanovení hodnoty IC_{50} se provádí grafickou cestou.

Výsledky získané při výše popsaném pokusu (pokus C) jsou uvedeny v následujících tabulkách 1 až 3.

Měřítkem blokování β -laktamasy je hodnota IC_{50} , udávaná v μ M. Hodnota IC_{50} 5 μ M nebo nižší je považována za signifikantní.

T a b u l k a 1

Blokační účinnost sloučenin obecného vzorce I na β -laktamasu

Příklady sloučenin vzorce I, včetně referenční sloučeniny	IC ₅₀ [μ M]	IC ₅₀ [μ M]
	<i>C. freundii</i> 1982	<i>E. coli</i> CF 102
Tazobactam (Referenční sloučenina)	0,900	0,015
6c (cis-Amid)	4,340	0,130
6c (trans-Amid)	2,250	0,054
5c (trans-Nitril)	0,696	0,681
5c (cis-Nitril)	0,210	0,126
2c (trans-Ethylester)	0,370	0,456
4c (trans-Benzylester)	0,478	0,444
8c (cis-Chlor)	0,590	0,055
9c (trans-COCH ₃)	0,147	0,417
11c (trans-1,2,4- oxadiazol-3-yl)	0,490	0,217
12c (trans-2-thiazolyl)	0,410	0,054
12c (cis-2-thiazolyl)	1,270	0,160
13c (trans-2-pyridinyl)	1,010	0,092
14c (trans- CONMe(OMe))	2,490	0,181
15 (trans-2-pyridinylio)	3,100	0,087
17b (trans-CH=CH- CN(Z))	3,300	0,420
18c (gamma-Laktam)	14,250	0,320
20c (trans-CH ₂ OH)	6,92	0,590

22c (trans-CH ₂ OCONH ₂)	0,479	0,763
23c (trans-CH ₂ -pyridinium)	15,700	0,142

T a b u l k a 2

Blokační účinnost kombinace sloučenin obecného vzorce
I s ceftriaxonem na β -laktamasu
(1 díl ceftriaxonu + 4 díly blokátoru)

Příklady sloučenin vzorce I, včetně referenční sloučeniny	MHK [μ g/ml] C. freundii 1982	MHK [μ g/ml] E. coli CF 102
Ceftriaxon	128	8
Ceftriaxon + Tazobactam (Referenční sloučenina)	8	0,25
Ceftriaxon + 6c (cis- Amid)	4	0,12
Ceftriaxon + 6c (trans- Amid)	NA	0,12
Ceftriaxon + 5c (trans- Nitril)	2	0,25
Ceftriaxon + 5c (cis- Nitril)	1	0,25
Ceftriaxon + 2c (trans- Ethylester)	4	0,25
Ceftriaxon + 4c (trans- Benzylester)	16	2,00
Ceftriaxon + 8c (cis- Chlor)	4	0,25
Ceftriaxon + 9c (trans- COCH ₃)	1	0,25
Ceftriaxon + 11c (trans- 1,2,4-oxadiazol-3-yl)	4	0,5

Ceftriaxon + 12c (trans-2-thiazolyl)	8	1
Ceftriaxon + 12c (cis-2-thiazolyl)	16	0,5
Ceftriaxon + 13c (trans-2-pyridinyl)	8	1
Ceftriaxon + 14c (trans-CONMe(OMe))	8	0,5
Ceftriaxon + 15 (trans-2-pyridinylio)	4	0,25
Ceftriaxon + 17b (trans-CH=CH-CN(Z))	8	0,5
Ceftriaxon + 18c (gamma-Laktam)	16	1
Ceftriaxon + 20c (trans-CH ₂ OH)	8	0,5
Ceftriaxon + 22c (trans-CH ₂ OCONH ₂)	2	1
Ceftriaxon + 23c (trans-CH ₂ -Pyridinium)	8	0,25

MHK znamená minimální blokační koncentraci

T a b u l k a 3

In vitro - účinnost kombinací penamsulfonových derivátů 5c s vybranými antibiotiky proti kmenům vykazujícím nadprodukcí β -laktamasy

(konstantní koncentrace blokátoru: 4 mg/l)

	MHK E. cloacae P99	MHK C. freundii 1982	MHK Ps. aeru- ginosa 18SH	MHK E. coli CF-102
Ceftriaxon	>64	64	>64	16
Ceftriaxon + 5c (cis-Nitril)	4	2	16	$\leq 0,12$
Ceftriaxon + Tazobactam	64	32	>64	$\leq 0,12$
Ceftazidim	>64	>64	32	32,00
Ceftazidim + 5c (cis-Nitril)	4	8	2	0,5
Ceftazidim + Tazobactam	64	64	8	0,5
Piperacillin	>128	>128	>64	>64
Piperacillin + 5c (cis-Nitril)	8	8	16	4
Piperacillin + Tazobactam	128	64	64	4
Apalcillin	>128	>128	64	>64
Apalcillin + 5c (cis-Nitril)	16	8	4	2
Apalcillin + Tazobactam	>128	64	NA	2

Produktů podle vynálezu se může používat jako léčiv, například ve formě farmaceutických přípravků. Tyto přípravky obsahují sloučeniny podle vynálezu nebo jejich soli ve směsi s farmaceutickými organickými nebo anorganickými inertními nosičovými látkami, vhodnými pro parenterální nebo enterální podávání. Jako příklady takových nosičových látek je možno uvést vodu, želatinu, arabskou gumu, mléčný cukr, škrob, stearan hořečnatý, mastek, rostlinné oleje, polyalkylenglykoly, vazelínu atd. Farmaceutické přípravky mohou mít pevnou podobu, například tablet, dražé, čípků nebo kapslí nebo kapalnou podobu, například roztoků, suspenzí nebo emulzí. Tyto přípravky jsou popřípadě sterilizovány a mohou obsahovat pomocné látky, jako jsou konzervační činidla, stabilizátory, smáčedla nebo emulgátory, soli pro změnu osmotického tlaku, anestetika nebo pufry. Sloučeniny obecného vzorce I a jejich soli přicházejí přednostně v úvahu pro parenterální aplikaci a k tomuto účelu se jich přednostně používá v podobě lyofilizátů nebo suchých prášků, které se dodatečně ředí obvyklými činidly, jako je voda nebo isotonický roztok chloridu sodného.

Jak již bylo uvedeno výše, může se sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodných solí podle vynálezu používat při potlačování nebo profylaxi chorob, zejména při potlačování původců chorob vytvářejících β -laktamasy, v kombinaci s β -laktamovými antibiotiky, tj. antibiotiky obsahujícími β -laktamový kruh, jako jsou například peniciliny, jako je například piperacilin, mezlocilin, azlocilin, apalcilin, benzylpenicilin, fenoxymethylpenicilin, karbenicilin, methicilin, propicilin, tikarcilin, ampicilin, amoxicilin nebo mecilinam a cefalosporiny, jako ceftriaxon, ceftazidim, cefetamet, cefetamet pivoxil, cefotaxim, cefmenoxim, ceftizoxim, cefuroxim, cefaloridin, cefalotin, cefazolin, cefalexin,

cefoxitin, cefacetril, cefamandol, cefapirin, cefradin, cefaloglycin, cefpirom nebo cefepim, jakož i penemy a karbapenemy, jako je imipenem nebo meropenem. Přitom se mohou sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s bázemi podávat současně s β -laktamovými antibiotiky nebo po nich. Pokud se produkty podle vynálezu podávají současně s β -laktamovým antibiotikem, může se tak dít buď tak, že se podávají ve formě ad-hoc kombinace nebo ve formě farmaceutické kombinace obsahující sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl s bází a β -laktamové antibiotikum. Takové farmaceutické kombinace jsou rovněž předmětem tohoto vynálezu.

Dávkování sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodných solí s bázemi se může měnit v širokých mezích a přirozeně je zapotřebí je přizpůsobit v každém jednotlivém případě individuálním okolnostem a tomu, jaký původce choroby produkující β -laktamasu má být potlačován. Obecně by měla být denní dávka přibližně v rozmezí od 0,1 do 2,0 g. Poměr inhibitoru β -laktamasy (sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli s bází) k β -laktamovému antibiotiku může rovněž ležet v širokém rozmezí a je třeba jej přizpůsobit individuálním okolnostem každého jednotlivého případu. Obecně by měl tento poměr ležet přibližně v rozmezí 1:20 do 1:1.

Jak již bylo uvedeno výše, jsou předmětem tohoto vynálezu také léčiva obsahující sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl. Dále je též předmětem vynálezu způsob výroby takového léčiva, jehož podstata spočívá v tom, že se jedna nebo více sloučenin obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodných solí a popřípadě jedna nebo více jiných terapeuticky účinných látek převede na galenickou aplikační formu. V této souvislosti je třeba ještě jednou poukázat na výše uvedené farmaceutické

kombinace, které jsou rovněž předmětem tohoto vynálezu. Předmětem vynálezu jsou zejména farmaceutické kombinace obsahující sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl a β -laktamové antibiotikum, například penicilin, jako je piperacilin, mezlocilin, azlocilin, apalcilin, benzylpenicilin, fenoxymethylpenicilin, karbenicilin, methicilin, propicilin, tikarcilin, ampicilin, amoxicilin nebo mecilinam nebo cefalosporin, jako je ceftriaxon, ceftazidim, cefetamet, cefetamet pivoxil, cefotaxim, cefmenoxim, ceftizoxim, cefuroxim, cefaloridin, cefalotin, cefazolin, cefalexin, cefoxitin, cefacetril, cefamandol, cefapirin, cefradin, cefaloglycin, cefpirom nebo cefepim, jakož i penem a karbapenem, jako je imipenem nebo meropenem. Tyto kombinace se hodí pro potlačování původců chorob produkujících β -laktamasy.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují. IR znamená infračervené spektrum, MS hmotnostní spektrum a ^1H -NMR spektrum protonové magnetické rezonance.

Příklady provedení vynálezu

P ř í k l a d 1

Benzhydrylester (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

100 ml dichlormethanu se pod argonovou atmosférou smíchá s 0,84 ml (9,60 mmol) oxalylchloridu a směs se ochladí na - 60 °C. K této směsi se přidá po kapkách 0,73 ml (10,25 mmol) dimethylsulfoxidu a potom 2,50 g (6,52 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-hydroxymethyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové

kyseliny rozpuštěného ve 100 ml dichlormethanu. Směs se míchá při stejné teplotě 3 hodiny a potom se k ní přidá 3,2 ml (23,0 mmol) triethylaminu. Chladicí lázeň se odstaví a směs se nechá zahřát na teplotu místnosti. Oranžový roztok se nalije do 1000 ml 0,2N roztoku kyseliny chlorovodíkové a vodná fáze se ještě 2x extrahuje dichlormethanem. Organické fáze se promyjí vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem sodným, přefiltrují a odpaří v rotačním odpařováku. Takto získaný produkt (2,50 g, 100 %) se může zpracovat bez dalšího čištění nebo překrystalovat z diethyletheru.

Výtěžek: 2.00 g (80 %), bílý krystalický prášek, teplota tání 111,8 až 112,8 °C

IR (KBr): 2720, 1788, 1743, 1718 cm^{-1}

MS: (M-CH₂CO) 339

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,26(s,3H), 3,06(dd,1H,J=16,2Hz, 2Hz, 6-H), 3,54(dd,1H,J=16,2Hz,4Hz,6-H), 5,34(s,1H,2-H), 5,42(dd,1H,J=2Hz, 4Hz,5-H), 6,95(s,1H,CHPh₂), 7,30-7,38(m,10H,Ph), 9,20(s,1H).

P ř í k l a d 2

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

500 mg (1,30 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí ve 20 ml tetrahydrofuranu a ke vzniklému roztoku se přidá 500 mg (1,40 mmol) ethoxykarbonylmethylentrifenylfosforanu. Vzniklý žlutý roztok se 75 minut míchá při 50 °C a potom se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu

(o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylesteru a hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 520 mg (88 %), žlutooranžové pryskyřice,

IR (Film): 1783, 1747, 1717, 1650 cm^{-1}

MS: (M-CONH) 406, (M-CHPh₂) 284

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,31(t,3H,J=7Hz), 1,34(s,3H), 3,13(dd,1H,J=2Hz, 16Hz,6-H), 3,57(dd,1H,J=4Hz, 16Hz,6-H), 4,22(q,2H,J=7Hz), 4,78(s,1H,2-H), 5,30(dd,1H,J=4,2Hz,5-H), 5,97(d,1H,J=15Hz,=CH), 6,94(s,1H,CHPh₂), 7,07(d,1H,J=15Hz,=CH), 7,30-7,38(m,10H,Ph).

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

250 mg (0,55 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí v 10 ml dichlormethanu a ke směsi se přidá 6,5 ml ledové kyseliny octové. Ke vzniklému žlutému roztoku se přikape 260 mg (1,66 mmol) manganistanu draselného ve 25 ml vody. Po skončení přidavku se směs ještě 30 minut míchá a potom se ke hnědé reakční směsi přidává 30% roztok peroxidu vodíku tak dlouho, dokud se nevytvoří bezbarvá dvoufázová směs. V dělicí nálevce se oddělí fáze a vodná fáze se ještě 2x extrahuje dichlormethanem. Organická fáze se promyje vodou, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem sodným, přefiltruje a odpaří. Zbývající olej se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylesteru a hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 170 mg (60 %), bezbarvé pěny,

IR (KBr): 1802, 1757, 1721, 1653, 1331, 960 cm^{-1}

MS: (M-H) 482.4

^1H -NMR (250MHz, CDCl_3): $\delta[\text{ppm}] = 1,26(\text{s}, 3\text{H}), 1,35(\text{t}, 3\text{H}, J=7\text{Hz}), 3,44-3,59(\text{pseudo-m}, 2\text{H}, 6\text{-H}), 4,29(\text{q}, 2\text{H}, J=7\text{Hz}), 4,60(\text{dd}, 1\text{H}, J=4\text{Hz}, 2\text{Hz}, 5\text{-H}), 4,61(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H}), 5,99(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH}), 6,94(\text{s}, 1\text{H}, \text{CHPh}_2), 7,07(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH}), 7,23-7,40(\text{m}, 10\text{H}, \text{Ph}).$

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

170 mg (0,35 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí ve 3 ml m-kresolu a roztok se 4,5 hodiny míchá při 50 °C. Potom se k němu přidá 12,5 ml isobutylmethylketonu a žlutooranžový roztok, který vznikne, se 3x extrahuje vždy 3 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Vodná fáze se 2x promyje vždy 5 ml isobutylmethylketonu, přefiltruje přes složený filtr a potom se její pH nastaví koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na 1. Směs se extrahuje ethylacetátem, organická fáze se promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem sodným, přefiltruje a odpaří v rotačním odpařováku. Zbývající žlutá pryskyřice se rozpustí v 0,5 ml ethylacetátu a smíchá se 108 μl sodné soli 2-ethylkapronové kyseliny (2N roztok v ethylacetátu). Směs se zkoncentruje a ke zbytku se přidá 1,5 ml vody. Směs se jednou extrahuje n-hexanem a potom se vodná fáze chromatografuje na polymerním hydrofobním gelu za použití vody jako elučního činidla. Frakce obsahující produkt se spojí, přečistí a lyofilizují.

Výtěžek: 60 mg (50 %) bezbarvého lyofilizátu

IR (KBr): 1782, 1715, 1627, 1396, 1192 cm^{-1}

MS: (M-Na)⁻ 316,1

¹H-NMR (250MHz, D₂O): $\delta[\text{ppm}] = 1,31(\text{t}, 3\text{H}, J=7\text{Hz}), 1,66(\text{s}, 3\text{H}), 3,46(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 2\text{Hz}, 6\text{-H}), 3,71(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 4\text{Hz}, 6\text{-H}), 4,28(\text{q}, 2\text{H}, J=7\text{Hz}), 4,62(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H}), 5,15(\text{dd}, 1\text{H}, J=2\text{Hz}, 4\text{Hz}, 5\text{-H}), 6,35(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH}), 7,10(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH}).$

P ř í k l a d 3

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-methoxykarbonyl-vinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 200 mg (0,52 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny nechá reagovat se 193 mg (0,58 mmol) methoxykarbonylmethylentrifenylfosforanu, přičemž se získá benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-methoxykarbonyl-vinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

Výtěžek: 209 mg (91 %) bezbarvé pěny

IR (Film): 1782, 1745, 1724, 1651 cm^{-1}

MS: (M+NH₄⁺) 455,3

P ř í k l a d 4

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonyl-vinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

763 mg (2,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí pod argonem v 15 ml tetrahydrofuranu, k roztoku se přidá 821 mg (2,0 mmol) benzyl-oxykarbonylmethylentrifenylfosforanu a vzniklý oranžový roztok se 2 hodiny míchá při 50 °C. Potom se nechá zchladnout na teplotu místnosti, rozpouštědlo se odpaří v rotačním odpařováku a červenohnědý olej se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 800 mg (78 %) oranžové pěny

IR (Film): 1782, 1746, 1721, 1649, 985 cm⁻¹

MS: (M+H)⁺ 514.3

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ[ppm] = 1,33(s,3H), 3,11(dd,1H,J=16Hz, 1,6Hz,6-H), 3,56(dd,1H,J=16Hz, 4,2Hz,6-H), 4,78(s,1H,2-H), 5,20(s,2H), 5,36(dd,1H, J=1,6Hz, 4,2Hz,5-H), 6,01(d,1H,J=15Hz,=CH), 6,93(s,1H,CHPh₂), 7,12(d,1H,J=15Hz, =CH), 7,30-7,43(m,15H,Ph).

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 800 mg (1,56 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny podrobí oxidaci.

Výtěžek: 255 mg (30 %) bezbarvé pěny

IR(KBr): 1802, 1757, 1723, 1650, 1332 cm⁻¹

MS: (M-H)⁻ 544.2

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta[\text{ppm}] = 1,25(\text{s}, 3\text{H})$, $3,47(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 2\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,55(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,66(\text{dd}, 1\text{H}, J=2\text{Hz}, 4\text{Hz}, 5\text{-H})$, $4,81(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,26(\text{s}, 2\text{H})$, $6,02(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,93(\text{s}, 1\text{H}, \text{CHPh}_2)$, $7,22(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $7,13\text{-}7,14(\text{m}, 15\text{H}, \text{Ph})$.

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 250 mg (0,46 mmol) benzhydylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 54 mg (30 %) béžového lyofilizátoru

IR (KBr): 1781, 1719, 1626, 1322, 1189, 979 cm^{-1}

MS: (M-H) $^-$ 378.2

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, D_2O): $\delta[\text{ppm}] = 1,65(\text{s}, 3\text{H})$, $3,45(\text{dd}, 1\text{H}, J=17\text{Hz}, 2\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,71(\text{dd}, 1\text{H}, J=17\text{Hz}, 4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,63(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,14(\text{dd}, 1\text{H}, J=4\text{Hz}, 2\text{Hz}, 5\text{-H})$, $5,29(\text{s}, 2\text{H})$, $6,42(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $7,13(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $7,42\text{-}7,55(\text{m}, 5\text{H}, \text{Ph})$.

P ř í k l a d 5

a) Benzhydylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Metoda A

946 mg (3,14 mmol) kyanomethylentrifenyfosforanu se pod argonem přidá k 1,0 g (2,62 mmol) benzhydylesteru (2S,3S,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-

[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a 30 ml toluenu. Hnědá suspenze se 1 hodinu míchá a potom zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 3:1 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 1,0 g (94 %) isomerní směsi v poměru E:Z 3:1.

Spektroskopická data směsi:

IR (Film): 2224, 1781, 1744 cm^{-1}

MS: (M+Na⁺) 427.2

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) (E-Isomer): δ [ppm] = 1,32(s,3H), 3,13(dd,1H,J=16Hz, 1,6Hz, 6-H), 3,63(dd,1H,J=16Hz,4,4Hz,6-H), 4,74(s,1H,2-H), 5,41(dd,1H,J=4,4Hz,1.6Hz,5-H), 5,54(d,1H,J=15Hz,=CH), 6,82(d,1H,J=15Hz,=CH), 6,95(s,1H,CHPh₂), 7,30-7,44(m,10H,Ph).

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃) (Z-Isomer): δ [ppm] = 1,61(s,3H), 3,18(dd,1H,J=16Hz,1,5Hz,6-H), 3,64(dd,1H,J=16Hz,4,6Hz,6-H), 4,86(s,1H,2-H), 5,41(d,1H,J=12Hz,=CH), 5,44(dd,1H,J=1,5Hz, 4,6Hz,5-H), 6,63(d,1H,J=12Hz,=CH), 6,95(s,1H,CHPh₂), 7,30-7,44(m,10H,Ph).

Metoda B

Suspenze 2,88 g (9,56 mmol) kyanomethylentrifenylofosforanu ve 24 ml roztoku chloristanu lithného (0,4M roztok v acetonitrilu) se pod argonovou atmosférou ochladí na - 20 °C. Ke vzniklému roztoku se přikape roztok 3,32 g (8,70 mmol) benzhydylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny ve 30 ml acetonitrilu. Směs se 4 hodiny míchá při stejné teplotě a potom se rozpouštědlo odpaří v rotačním odpařováku. Zbytek se vyjme do 100 ml ethylacetátu, extrakt se vytřepe 3x vodou a 1x nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a odpaří. Zbývající olej se chromatografuje na silikagelu (zrnění

0,040 až 0,063 mm) za použití methylenchloridu jako mobilní fáze.

Výtěžek: 3,34 g (94 %) isomerní směsi, E:Z 1:4

b) Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se vyrobí způsobem popsáným v příkladu 2 oxidací 1,02 g (2,51 mmol) benzhydrylesteru (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Oba isomery se přitom mohou rozdělit chromatografií na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze. Jako první složka se eluuje Z-isomer.

Výtěžek: Z: 76 mg (7 %) bezbarvý olej
E: 253 mg (23 %) bezbarvá pěna

Spektroskopická data E-isomeru:

MS: (M+NH₄)⁺ 454,2

IR (KBr): 2228, 1802, 1758, 1334, 1192, 990 cm⁻¹

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ[ppm] = 1,24(s,3H), 3,50(dd,1H,J=16Hz,2,2Hz,6-H), 3,60(dd,1H,J=16Hz,4Hz,6-H), 4,65(dd,1H,J=2Hz,4Hz,5-H), 4,75(s,1H,2-H), 5,37(d,1H,J=16Hz,=CH), 6,85(d,1H,J=16Hz,=CH), 6,98(s,1H,CHPh₂), 7,25-7,45(m,10H,Ph).

Spektroskopická data Z-isomeru:

MS: (M-H)⁻ 435.3

IR (KBr): 2220, 1801, 1757, 1333, 1190 cm⁻¹

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ[ppm] = 1,67(s, 3H), 3,48(dd, 1H, J=16Hz, 2,4Hz, 6-H), 3,64(dd, 1H, J=16Hz, 4,6Hz, 6-H), 4,72(dd, 1H, J=2,4Hz, 4,6Hz, 5-H), 4,85(s, 1H, 3-H), 5,90(d, 1H, J=12Hz, =CH), 6,41(d, 1H, J=12Hz, =CH), 6,97(s, 1H, CHPh₂), 7,26-7,44(m, 10H, Ph).

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 215 mg (0,5 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 110 mg (82 %), bílý lyofilizát

IR (KBr): 2240, 1782, 1629, 1397, 1141 cm⁻¹

MS: (M-Na)⁻ 269,0

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ[ppm] = 1,64(s, 3H), 3,47(dd, 1H, J=16Hz, 2Hz, 6-H), 3,72(dd, 1H, J=16Hz, 4Hz, 6-H), 4,62(s, 1H, 2-H), 5,15(dd, 1H, J=2Hz, 4Hz, 5-H), 6,07(d, 1H, J=16Hz, =CH), 7,08(d, 1H, J=16Hz, =CH).

Sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

95 mg (0,2 mmol) benzhydrylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí ve 3 ml m-kresolu a směs se 45 hodin míchá při 50 °C. K reakční

směsi se přidá 10 ml isobutylmethylketonu a 120 μ l sodné soli 2-ethylkapronové kyseliny (2N roztok v ethylacetátu, 1,1 ekvivalentu). Směs se 2x extrahuje vždy 3 ml vody, spojené vodné fáze se promyjí 10 ml isobutylmethylketonu a lyofilizují. Žlutý lyofilizát se rozpustí v 1,3 ml vody a chromatografuje na polymerním hydrofobním gelu.

Výtěžek: 50 mg (80 %), benzbarvý lyofilizát.

IR (KBr): 2222, 1782, 1626, 1395, 1323, 1141 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, D_2O): $\delta[\text{ppm}] = 1,94(\text{s}, 3\text{H})$, $3,47(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 1,6\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,73(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 4,4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,80(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,19(\text{dd}, 1\text{H}, J=1,6\text{Hz}, 4,4\text{Hz}, 5\text{-H})$, $6,15(\text{d}, 1\text{H}, J=12\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,68(\text{d}, 1\text{H}, J=12\text{Hz}, =\text{CH})$.

P ř í k l a d 6

a) Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

2,60 g (6,86 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a 2,15 g (6,86 mmol) karbamoylmethylentrifenylfosforanu se pod argonovou atmosférou suspenduje v 60 ml tetrahydrofuranu a směs se 45 minut míchá při 50 °C. Nerozpustné látky se odsají na nuči a filtrát se odpaří v rotačním odpařováku. Hnědý olej se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 1:1 jako mobilní fáze. Tím se oddělí oba isomery. Z isomer se eluuje před E isomerem a oba je možno získat v podobě krystalických pevných látek krystalizací ze směsi dichlormethanu a n-hexanu.

Z-isomer:

Výtěžek: 217 mg (7,5 %), bezbarvá pevná látka

IR (KBr): 3441, 1777, 1743, 1677, 986 cm^{-1}

MS (M-CHPh₂) 255

Teplota tání: 188 až 189 °C

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,58(s,3H), 3,11(dd,1H,J=16Hz, 1,60Hz,6-H), 3,57(dd,1H,J=16Hz, 4,40Hz,6-H), 5,23(s,1H,2-H), 5,36(dd,1H,J=4,40Hz, 1,60Hz,5-H), 5,58(pseudo-d,2H,NH₂), 5,75(d,1H,J=12Hz,=CH), 6,24(d,1H,J=12Hz,=CH), 6,92(s,1H,CHPh₂), 7,29-7,43(m,10H, Ph).

E-isomer:

Výtěžek: 347 mg (12 %), krystalická pevná látka

IR (KBr): 3444, 1775, 1728, 1671 cm^{-1}

MS (M+H)⁺ 423,4

Teplota tání: 142 °C (rozklad).

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ = 1,36(s,3H), 3,11(dd,1H,J=16Hz, 2,0Hz,6-H), 3,56(dd,1H,J=16Hz, 4,2Hz,6-H), 4,83(s,1H,2-H), 5,37(dd,1H,J=2,0Hz, 4,2Hz,5-H), 5,55(s,br,2H,NH₂), 5,97(d,1H,J=15Hz,=CH), 6,94(s,1H,CHPh₂), 6,95(d,1H,J=15Hz,=CH), 7,28-7,40(m,10H,Ph).

b) Benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se oxiduje 370 mg (0,875 mmol) benzhydylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylviny)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Jako mobilní fáze se použije směs ethylacetátu a n-hexanu v poměru 1:1.

Výtěžek: 225 mg (57 %), bezbarvá pěna

IR (KBr): 1799, 1750, 1678, 1326, 1188, 1140 cm^{-1}

MS (M+H)⁺ 455,2

¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,50(s,3H), 3,45(dd,1H,J=16Hz, 2Hz,6-H), 3,56(dd,1H,J=16Hz,4Hz,6-H), 4,67(dd,1H,J=4Hz,2Hz,5-H), 5,28(s,1H,2-H), 5,63(s,br,1H,NH₂), 5,84(d,1H,J=13Hz,=CH), 6,69(s,br,1H,NH₂), 6,39(d,1H,J=13Hz,=CH), 6,93(s,1H,CHPh₂), 7,29-7,41(m,10H,Ph).

Benzhydylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylviny)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

0,64 g (1,51 mmol) benzhydylesteru (E)-(2S,3R,5R)-3-(2-karbamoylviny)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí v 30 ml methylenchloridu a ochladí na 0 °C. K roztoku se přikape 1,86 g (7,55 mmol) m-chlorperoxobenzoové kyseliny (obsah: 70 až 75%, 5 ekvivalentů) v 30 ml methylenchloridu. Po skončení přidavku se odstaví chladicí lázeň a směs se 6 hodin míchá při teplotě místnosti. Reakční roztok se protřepe roztokem siřičitanu sodného (3% roztok v nasyceném vodném roztoku hydrogenuhličitanu sodného) a promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Potom se roztok vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zbaví rozpouštědla v rotačním

odpařováku. Zbytek se vykrystaluje ze směsi methylenchloridu a n-hexanu.

Výtěžek: 210 mg (30 %) bezbarvá pevná látka

IR (KBr): 1799, 1756, 1686, 1329, 1143, 1191 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{H}^+)$ 455,3

teplota tání: 186 až 188 °C

^1H -NMR (250MHz, CDCl_3): $\delta[\text{ppm}] = 1,30(\text{s}, 3\text{H})$, $3,47(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 3,0\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,61(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 4,4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,67(\text{dd}, 1\text{H}, J=3,0\text{Hz}, 4,4\text{Hz}, 5\text{-H})$, $4,82(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,53(\text{s}, \text{br}, 2\text{H}, \text{NH}_2)$, $6,03(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,98(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,94(\text{s}, 1\text{H}, \text{CHPh}_2)$, $7,26\text{-}7,40(\text{m}, 10\text{H}, \text{Ph})$.

c) Sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 135 mg (0,30 mmol) benzhydrylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 67 mg (70 %), bezbarvý lyofilizát

IR (KBr): 3434, 1781, 1668, 1626, 1397, 1317, 1139 cm^{-1}

MS: $(\text{M}-\text{Na})^-$ 287,2

^1H -NMR (250MHz, D_2O): $\delta[\text{ppm}] = 1,76(\text{s}, 3\text{H})$, $3,44(\text{dd}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 1,2\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,69(\text{s}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, 4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,68(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,10(\text{dd}, 1\text{H}, J=4\text{Hz}, 1,2\text{Hz}, 5\text{-H})$, $5,94(\text{d}, 1\text{H}, J=13\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,53(\text{d}, 1\text{H}, J=13\text{Hz}, =\text{CH})$.

Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 2 se 350 mg (0,78 mmol) benzhydylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 190 mg (80 %)

IR (KBr): 1782, 1684, 1622, 1398, 1318, 1140 cm^{-1}

MS: (M-Na)⁺ 287,1

¹H-NMR (250MHz, D₂O): $\delta[\text{ppm}] = 1,66(\text{s}, 3\text{H})$, $3,46(\text{dd}, 1\text{H}, J=17\text{Hz}, 1,4\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,71(\text{dd}, 1\text{H}, J=17\text{Hz}, 4,0\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,62(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,14(\text{dd}, J=1,4\text{Hz}, 4,0\text{Hz}, 5\text{-H})$, $6,46(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$, $6,88(\text{d}, 1\text{H}, J=16\text{Hz}, =\text{CH})$.

P ř í k l a d 7

a) Benzhydylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylpropenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

286 mg (0,75 mmol) benzhydylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod atmosférou argonu rozpustí ve 12 ml tetrahydrofuranu a smíchá s 271 mg (0,75 mmol) (1-ethoxykarbonylethyliden)trifenylfosforanu. Žlutý roztok se 6 hodin míchá při 70 °C a potom se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 157 mg (45 %) bledě žluté pevné látky

IR (Film): 1788, 1754, 1704, 1642 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4^+)$ 483,4

^1H -NMR (400MHz, CDCl_3): $\delta[\text{ppm}] = 1,32(\text{t}, 3\text{H}, J=7,1\text{Hz})$, $1,38(\text{s}, 3\text{H})$, $2,03(\text{d}, 3\text{H}, J=1,5\text{Hz})$, $3,05(\text{dd}, 1\text{H}, J=1,8\text{Hz}, 16\text{Hz}, 6\text{-H})$, $3,57(\text{dd}, 1\text{H}, J=4,3\text{Hz}, 16\text{Hz}, 6\text{-H})$, $4,23(\text{q}, 2\text{H}, J=7,1\text{Hz})$, $4,89(\text{s}, 1\text{H}, 2\text{-H})$, $5,29(\text{dd}, 1\text{H}, J=4,3, 1,8\text{Hz}, 5\text{-H})$, $6,94(\text{s}, 1\text{H}, \text{CHPh}_2)$, $7,20(\text{d}, 1\text{H}, J=1,5\text{Hz}, =\text{CH})$, $7,30\text{-}7,36(\text{m}, 10\text{H}, \text{Ph})$.

P ř í k l a d 8

a) Benzhydrylester (E,Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-
3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-
karboxylové kyseliny

Suspenze 1,37 g (4,40 mmol) chlormethylentrifenylfosforanu ve 25 ml diethyletheru se ochladí na 0 °C a přidá se k ní 1,60 g (4,20 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Odstaví se chladicí lázeň a směs se ještě 3 hodiny míchá při teplotě místnosti. Oranžová suspenze se přefiltruje a filtrát se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 1:2 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 1,20 g (69 %), žlutá směs isomerů, E:Z 7:9

Spektroskopická data směsi:

IR (Film): 1782, 1747, 1590, 1496, 1251 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4^+)$ 413

b) Benzhydrylester (E,Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-
3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-
karboxylové kyseliny

Pod argonovou atmosférou se rozpustí 2,98 g
(14,05 mmol) metajodistanu sodného ve 30 ml vody a roztok se
ochladí na 0 °C. K tomuto roztoku se přidá 0,93 g
(11,17 mmol) hydrogenuhličitanu sodného, potom 45 ml
acetonitrilu a 60 ml methylenchloridu. Ke vzniklé dvoufázové
směsi se přidá 9 mg (0,070 mmol) oxidu rutheničitého a potom
roztok 1,20 g (2,90 mmol) benzhydrylesteru (E/Z)-(2S,3S,5R)-
3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-
heptan-2-karboxylové kyseliny. Chladicí lázeň se odstaví a
reakční směs se míchá tak dlouho, dokud výchozí látka úplně
nezreaguje (kontrola chromatografií na tenké vrstvě). Potom
se přidají 2 g aktivního uhlí a 20 ml nasyceného roztoku
chloridu sodného, směs se 5 minut dále míchá a potom se
odsaje přes Dikalit. Fáze se oddělí v dělicí nálevce, vodná
fáze se 2x extrahuje methylenchloridem a spojené organické
extrakty se promyjí vodou a nasyceným roztokem chloridu
sodného. Potom se extrakty vysuší síranem hořečnatým za
přítomnosti bělicí hlinky, přefiltrují a odpaří v rotačním
odpařováku. Olejovitý zbytek se chromatografuje na
silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi
ethylacetátu a hexanu v poměru 1:2 jako mobilní fáze,
přičemž se oddělí oba isomery. Jako první složka se eluuje
Z-isomer.

Výtěžek: Z: 495 mg (38 %), bezbarvá pěna
E: 385 mg (38 %), bezbarvá pěna

Spektroskopická data E-isomeru:

MS: $(M+NH_4)^+$ 463,4

IR (KBr): 1800, 1756, 1612, 1331, 1143, 700 cm^{-1}

Spektroskopická data Z-isomeru:

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 463,4

IR (KBr): 1800, 1755, 1630, 1330, 1143, 700 cm^{-1}

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

385 mg (0,86 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod atmosférou argonu rozpustí ve 2,3 ml m-kresolu a směs se 4 hodiny míchá při 50 °C. K reakční směsi se přidá 15 ml isobutylmethylketonu a 0,50 ml sodné soli 2-ethylkapronové kyseliny (2N roztok v ethylacetátu). Směs se 3x extrahuje vždy 8 ml vody, spojené vodné fáze se promyjí 10 ml isobutylmethylketonu a lyofilizují. Získaný lyofilizát se chromatografuje na polymerním hydrofobním gelu za použití vody jako elučního činidla.

Výtěžek: 57 mg (32 %)

MS: $(\text{M}-\text{Na})^-$ 278,2

IR (KBr): 1780, 1626, 1564, 1417, 1329, 1145 cm^{-1}

Sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 400 mg (0,90 mmol) benzhydrylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlor-vinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 176 mg (65 %), bezbarvý lyofilizát

MS: (M-Na)⁻ 278,2

IR (KBr): 1779, 1626, 1398, 1321, 1142 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₉H₉ClNO₅Na (301,676)

Vypočteno: C 35,83; H 3,01; N 4,64

Nalezeno: C 35,72; H 3,04; N 4,65 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 5,53 %))

P ř í k l a d 9

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-(3-oxobut-1-enyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

381 mg (1,00 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí ve 12 ml tetrahydrofuranu a smíchá s 350 mg (1,10 mmol) acetylmethylentrifenylfosforanu. Směs se 6 dnů míchá při 50 °C a potom se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a methylenchloridu v poměru 95:5 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 221 mg (52 %), bílá pryskyřice

IR (Film): 1782, 1681, 1627, 1319, 1141, 980 cm^{-1}

MS: $(\text{M}-\text{Na})^-$ 286,1

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(3-oxobut-1-enyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 221 mg (0,49 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-(3-oxobut-1-enyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze a potom se nechá vykrystalovat ze směsi methylenchloridu a n-hexanu.

Výtěžek: 95 mg (40 %), bezbarvé krystaly

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 471,2

IR (KBr): 1798, 1760, 1682, 1627, 1330, 1193, 1142, 976 cm^{-1}

Teplota tání: 183 až 184 °C

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(3-oxobut-1-enyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 250 mg (0,55 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(3-oxobut-1-enyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 47 mg (27 %), bezbarvý lyofilizát

MS: $(M+Na)^+$ 286,1

IR (KBr): 1782, 1681, 1627, 1394, 1319, 1141, 980 cm^{-1}

P ř í k l a d 1 0

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-formylvinyl)-
3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-
karboxylové kyseliny

3,81 g (10,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí ve 40 ml methylenchloridu a smíchá s 3,34 g (11,0 mmol) formyl-methylentrifenylyfosforanu. Žlutý roztok se 3 dny míchá při teplotě místnosti a potom se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi terc.butylmethyletheru a n-hexanu v poměru 2:3 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 528 mg (13 %), bezbarvá pryskyřice

IR (Film): 2738, 1781, 1744, 1717, 1690, 1496, 1178,
986 cm^{-1}

MS: $(M+NH_4^+)$ 425,6

P ř í k l a d 1 1

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

1,14 g (3,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí v 15 ml 1,2-butylenoxidu, roztok se smíchá 1,38 g (3,6 mmol) (1,2,4-oxadiazol-3-yl)-methyltrifenylfosfoniumchloridu a 10 minut vaří pod zpětným chladičem. Potom se směs přefiltruje a filtrát se odpaří v rotačním odpařováku. Hnědý olejovitý zbytek se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití methylenchloridu jako mobilní fáze.

Výtěžek: 280 mg (21 %), bezbarvé krystaly

MS: $(M+NH_4)^+$ 465,3

IR (KBr): 1792, 1753, 1658, 1492, 1200, 991 cm^{-1}

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 280 mg (0,63 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze a potom se produkt nechá vykrystalovat ze směsi methylenchloridu a n-hexanu.

Výtěžek: 95 mg (40 %), bezbarvé krystaly

MS: $(M-H)^-$ 478,3

IR (KBr): 1805, 1758, 1650, 1334, 1196 cm^{-1}

Elementární analýza pro $C_{24}H_{21}N_3O_6S$ (479,507)

Vypočteno: C 60,12; H 4,41; N 8,76

Nalezeno: C 59,94; H 4,26; N 8,55

c) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)-vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina

355 mg (0,74 mmol) benzhydylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí ve 3 ml m-kresolu a směs se 4 hodiny míchá při 50 °C. Ke světle hnědému roztoku se přidá 20 ml n-hexanu, vysrážené krystaly se odsají a promyjí n-hexanem. Surový krystalizát se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a n-hexanu.

Výtěžek: 170 mg (73 %), bezbarvé krystaly

MS: (M-H)⁻ 312,2

IR (KBr): 2900 (široký), 1811, 1714, 1660, 1331, 1194, 980 cm⁻¹

Teplota tání: 161 °C (za rozkladu)

Elementární analýza pro $C_{11}H_{11}N_3O_6S$ (313,284)

Vypočteno: C 42,17; H 3,54; N 13,41

Nalezeno: C 42,41; H 3,64; N 13,18

d) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

K čirému roztoku 23 mg (0,27 mmol) hydrogenuhlíčitanu sodného v 10 ml vody se najednou přidá 85 mg (0,27 mmol) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny, směs se asi 10 minut míchá, přefiltruje a lyofilizuje.

Výtěžek: 90 mg (91 %), bezbarvý lyofilizát

MS: (M-Na)⁻ 312,2

IR (KBr): 1787, 1627, 1395, 1321, 1192, 970 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₁₁H₁₀N₃O₆SNa (335,266)

Vypočteno: C 39,41; H 3,01; N 12,53

Nalezeno: C 39,86; H 3,04; N 12,51 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 5,82 %)

P ř í k l a d 1 2

a) Benzhydrylester (E)- a (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

1,14 g (3,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí v 50 ml 1,2-butylenoxidu, k roztoku se přidá 1,53 g (3,86 mmol) (thiazol-2-yl)-methyltrifenylfosfoniumchloridu a směs se 40 hodin vaří pod zpětným chladičem. Potom se směs přefiltruje, filtrát se odpaří v rotačním odpařováku a zbývající hnědý zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 95:5 jako mobilní fáze. Přitom se od sebe oddělí oba isomery. Jako první složka se eluuje Z-isomer.

Z-isomer:

Výtěžek: 240 mg (17 %), žlutý olej

IR (Film): 1778, 1743, 1493, 1197, 986 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 463,5

E-isomer:

Výtěžek: 855 mg (62 %), žlutá pryskyřice

IR (KBr): 1779, 1746, 1492, 1292, 988 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 463,5

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 200 mg (0,43 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 95:5 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 72 mg (33 %), bezbarvá pěna

MS $(\text{M}+\text{H})^+$ 495,4

IR (KBr): 1799, 1756, 1329, 1192, 1142, 963 cm^{-1}

Benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 210 mg (0,45 mmol) benzhydrylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 95:5 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 72 mg (33 %), bezbarvá pěna

MS (M+H)⁺ 495,4

IR (KBr): 1793, 1754, 1490, 1328, 1184, 1142, 963 cm⁻¹

(E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina

Způsobem popsaným v příkladu 11 se 200 mg (0,40 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 53 mg (40 %), bezbarvé krystaly

MS (M+H)⁺ 329,4

IR (KBr): 2800 (široký), 1791, 1740, 1634, 1321, 1142, 965 cm⁻¹

Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 11 se 53 mg (0,16 mmol) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny převede na odpovídající sodnou sůl.

Výtěžek: 55 mg (98 %), bezbarvý lyofilizát

IR (KBr): 1778, 1627, 1392, 1318, 1192, 1141, 955 cm^{-1}

Elementární analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2\text{Na}$ (350,339)

Vypočteno: C 41,14; H 3,16; N 8,00

Nalezeno: C 40,73; H 3,51; N 7,92 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 5,9 %))

Sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 160 mg (0,32 mmol) benzhydrylesteru (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(2-thiazol-2-ylvinyl)-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny převede na odpovídající sodnou sůl.

Výtěžek: 60 mg (57 %), bezbarvý lyofilizát

IR (KBr): 1781, 1623, 1398, 1320, 1193, 1140, 950 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,52(s,3H), 3,42(dd,1H,J=16Hz, 1,2Hz,6-H), 3,58(dd,1H,J=16Hz, 4,1Hz,6-H), 5,04(dd,1H,J=1,2Hz, 4,1Hz,5-H), 5,19(s,1H,2-H), 6,06(d,1H,J=12,5Hz,=CH), 7,14(d,1H,J=12,5Hz,=CH), 7,75(ABSystém,2H,J=3,5Hz, Thiazol-H).

P ř í k l a d 1 3

- a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Suspenze 353 mg (1,0 mmol) (2-pikolyl)methylen-trifenylfosforanu a 381 mg (1,00 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny v 10 ml diethyletheru se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti pod atmosférou argonu. Přidá se 10 ml methylenchloridu, nerozpustná látka se odsaje na nuči a filtrát se zkoncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 95:5 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 128 mg (28 %), bezbarvá pěna

MS: (M⁺) 456

IR (KBr): 1779, 1747, 1634, 1291, 988 cm⁻¹

- b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 196 mg (0,43 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 95:5 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 130 mg (62 %), bezbarvá pěna

MS: $(M+H)^+$ 489,4

IR (KBr): 1799, 1756, 1580, 1490, 1327, 1184, 1141, 969 cm^{-1}

c) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina

Způsobem popsaným v příkladu 10 se 200 mg (0,41 mmol) benzhydylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 85 mg (65 %), světle béžový krystalický prášek

MS: $(M+H)^+$ 323,3

IR (KBr): 2700 (široký), 1790, 1720, 1621, 1318, 1140, 978 cm^{-1}

Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 10 se 83 mg (0,17 mmol) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny převede na odpovídající sodnou sůl.

Výtěžek: 89 mg (100 %), bezbarvý lyofilizát

IR (KBr): 1784, 1629, 1587, 1478, 1396, 1320, 1187, 1141 980 cm^{-1}

Elementární analýza pro $C_{14}H_{13}N_2O_5SNa$ (344,317)

Vypočteno: C 48,84; H 3,81; N 8,14

Nalezeno: C 49,18; H 4,23; N 8,17 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 6,86 %))

P ř í k l a d 1 4

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-[2-(methoxymethylkarbamoyl)vinyl]-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

Oranžový roztok 1,14 g (3,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a 1,14 g (3,15 mmol) (N-methoxymethylaminokarbonylmethylen)trifenylfosforanu se 3 dny míchá při teplotě místnosti pod atmosférou argonu. Rozpouštědlo se odstraní v rotačním odpařováku a zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 1:1 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 1,12 g (80 %), bezbarvá pěna

MS: $(M+H)^+$ 467,4

IR (KBr): 1781, 1744, 1662, 1629, 995 cm^{-1}

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-[2-(methoxymethylkarbamoyl)vinyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

0,69 g (1,48 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-[2-(methoxymethylkarbamoyl)vinyl]-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

se oxiduje způsobem popsaným v příkladu 8. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 3:2 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 405 mg (55 %), bezbarvá pěna

MS: $(M+H)^+$ 499,4

IR (KBr): 1807, 1753, 1662, 1624, 1318, 1140, 1000 cm^{-1}

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-[2-(methoxymethylkarbamoyl)vinyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny

200 mg (0,40 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-[2-(methoxymethylkarbamoyl)vinyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se způsobem popsaným v příkladu 8 zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 95 mg (67 %), bezbarvý lyofilizát

MS: $(M+H)^+$ 355,3

IR (KBr): 1785, 1650, 1626, 1390, 1322, 1191, 1141, 980 cm^{-1}

Elementární analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_7\text{SNa}$ (354,309)

Vypočteno: C 40,68; H 4,27; N 7,91

Nalezeno: C 40,37; H 4,35; N 7,84 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 2,74 %))

P ř í k l a d 1 5

(E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-(1-methylpyridin-2-yl)vinyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina

150 mg (0,31 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(2-pyridin-2-ylvinyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí ve 3 ml methylenchloridu, roztok se ochladí na 0 °C a přidá se k němu 56 μ l (0,51 mmol) methylesteru trifluormethylsulfonové kyseliny. Chladicí lázeň se odstaví a směs 2 dny míchá při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří v rotačním odpařováku a zbytek se vysuší za vysokého vakua. Takto získaný produkt (200 mg, 100 %), se bez čištění dále zpracuje. Hnědá pryskyřice, která se získá, se rozpustí ve 2 ml m-kresolu a roztok se 2 hodiny míchá při 50 °C. Potom se přidá 10 ml isobutylmethylketonu a 5 ml vody, směs se protřepe, oddělí se fáze a organická fáze se ještě 2x extrahuje 5 ml vody. Vodné fáze se 2x promyje vždy 10 ml isobutylmethylketonu, přefiltrují a lyofilizují. Nažloutlý lyofilizát se chromatografuje na polymerním hydrofobním gelu za použití vody jako elučního činidla.

Výtěžek: 105 mg (72 %), oranžový lyofilizát

IR (KBr): 1778, 1627, 1377, 1185, 970 cm^{-1}

MS: (M^+) 337,4

P ř í k l a d 1 6

Benzhydrylester (1E,3E)-(2S,3S,5R)-3-(4-formylbuta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

Benzhydrylester (1E,3E)-(2S,3S,5R)-3-(4-formylbuta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny se vyrobí způsobem popsáným v příkladu 9 z 3,81 g (10,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a 4,55 g (15,0 mmol) formylmethylen-trifenylfosforanu. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu v poměru 98:2 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 347 mg (8 %), nažloutlá pryskyřice

MS: $(M+NH_4)^+$ 451,4

IR (KBr): 1779, 1745, 1680, 1637, 1201, 988 cm^{-1}

P ř í k l a d 1 7

a) Benzhydrylester (1E,3E) a (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyano-buta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Benzhydrylester (1E,3E) a (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se připraví způsobem popsáným v příkladu 4, metoda B z 815 mg (2,14 mmol) benzhydrylesteru (1E,3E)-(2S,3S,5R)-3-(4-formylbuta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Olejovitý zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 1:2 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 820 mg (89 %), isomerní směs, E:Z 2:3

Spektroskopická data směsi:

IR (Film): 2215, 1780, 1745, 1202, 989 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 448,5

b) Benzhydrylester (1E,3E) a (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyano-buta-1,3-dienyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 770 mg (1,79 mmol) benzhydrylesteru (1E,3E) a (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Oba isomery se mohou od sebe oddělit tak, že se surový produkt chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze. Jako první složka se eluuje Z-isomer.

Výtěžek: Z: 430 mg (52 %), bezbarvý olej

E: 280 mg (34 %), bezbarvá pěna

Spektroskopická data E-isomeru:

IR (KBr): 2219, 1800, 1756, 1329, 1191, 994 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 480,5

Spektroskopická data Z-isomeru:

IR (KBr): 2210, 1800, 1756, 1330, 1192, 993 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 435,3

c) Sodná sůl (1E,3E)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 250 mg (0,54 mmol) benzhydrylesteru (1E,3E)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 55 mg (41 %), nažloutlý lyofilizát

IR (KBr): 2221, 1781, 1631, 1397, 1319, 1139, 992 cm^{-1}

MS (M+Na)⁺ 341,2

Sodná sůl (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 230 mg (0,49 mmol) benzhydrylesteru (1E,3Z)-(2S,3S,5R)-3-(4-kyanobuta-1,3-dienyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 84 mg (58 %), nažloutlý lyofilizát

IR (KBr): 2219, 1780, 1625, 1396, 1316, 1138, 951 cm^{-1}

MS (M+H)⁺ 319,3

Elementární analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNa}$ (318,279)

Vypočteno: C 45,28; H 3,48; N 8,80

Nalezeno: C 45,29; H 3,63; N 8,82 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 6,93 %))

P ř í k l a d 1 8

- a) Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem podle příkladu 12 se 762 mg (2,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny nechá reagovat s 1,02 g (2,0 mmol) rac-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)-2-pyrrolidinyl]trifenylfosfoniumbromidu. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 763 mg (71 %), isomerní směs, E:Z 5:1

Spektroskopická data směsi:

IR (Film): 1782, 1748, 1702, 1664, 1158 cm^{-1}

MS: (M-CPh₂) 363

- b) Benzhydrylester (E) a (Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se oxiduje 763 mg (1,42 mmol) benzhydrylesteru (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Oba isomery se od sebe mohou vzájemně oddělit tak, že se směs se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040

až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 1:2 jako mobilní fáze.

Výtěžek: E: 192 mg (24 %), bezbarvá pěna

Z: 32 mg (4 %), bezbarvá pěna

Spektroskopická data E-isomeru:

IR (KBr): 1801, 1759, 1706, 1667, 1329, 1144 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 580,4

Spektroskopická data Z-isomeru:

IR (KBr): 1798, 1755, 1694, 1327, 1142 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 580,4

c) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)-pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina

Způsobem popsaným v příkladu 11 se 192 mg (0,34 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 78 mg (59 %), bezbarvý krystalický prášek

IR (KBr): 2800 (široký), 1790, 1729, 1674, 1646, 1321, 1166 cm^{-1}

MS $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 414,4

Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 11 se 50 mg (0,13 mmol) (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-[2-oxo-1-(2,2,2-trifluorethyl)pyrrolidin-3-ylidenmethyl]-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny převede na odpovídající sodnou sůl.

Výtěžek: 52 mg (98 %), bezbarvý lyofilizát

IR (KBr): 1780, 1699, 1628, 1478, 1396, 1323, 1140 cm^{-1}

Elementární analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{F}_3\text{SNa}$ (418,318)

Vypočteno: C 40,20; H 3,37; N 6,70

Nalezeno: C 39,80; H 3,28; N 6,62 (přepočteno na bezvodou látku (obsah vody 7,24 %))

P ř í k l a d 1 9

Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(1-cyklopropyl-2-oxo-pyrrolidin-3-ylidenmethyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 18 se 381 mg (1,0 mmol) benzhydrylesteru (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny nechá reagovat s 495 mg (1,1 mmol) rac-[1-cyklopropyl-2-oxo-3-pyrrolidiny]trifenylfosfoniumbromidem. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 362 mg (74 %), isomerní směr, E:Z 5:1

Spektroskopická data směsi:

IR (Film): 1780, 1750, 1692, 1661, 1195, 1118 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 489,4

P ř í k l a d 2 0

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(3-hydroxypropen-1-yl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

5,80 g (14,2 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-formylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí ve 240 ml toluenu a roztok se ochladí na 0 °C. Potom se k němu přikape 14,2 ml (21,3 mmol) 20% roztoku diisobutylaluminiumhydridu (v toluenu) a chladicí lázeň se odstaví. Směr se 6 hodin míchá při teplotě místnosti a potom se nalije do 150 ml nasyceného roztoku chloridu amonného a 3x extrahuje vždy 200 ml methylenchloridu. Spojené organické extrakty se 1x promyjí 300 ml vody a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem hořečnatým, přefiltrují a zbaví rozpouštědla v rotačním odpařováku. Olejovitý zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 1,90 g (32 %), bezbarvá pryskyřice

IR (Film): 3480 (široký), 1778, 1750, 1202, 1080, 988 cm^{-1}

MS ($M+NH_4$)⁺ 427,6

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(3-hydroxypropen-1-yl)-
3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-
karboxylové kyseliny

Způsobem popsaným v příkladu 8 se 500 mg
(0,95 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-
4,4,7-trioxo-3-[3-[(R)- a (S)-tetrahydropyran-2-yloxy]-
propenyl]-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové
kyseliny zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 165 mg (62 %), bezbarvý lyofilizát

MS: ($M-Na$)⁻ 274,3

IR (KBr): 3428, 1780, 1622, 1398, 1311, 1192, 1139,
1082 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₁₀H₁₂NO₆SNa (297,257)

Vypočteno: C 40,41; H 4,07; N 4,71

Nalezeno: C 40,44; H 4,48; N 4,79 (přepočteno na bezvodou
látku (obsah vody 8,73 %))

Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-[3-[(R)-
a (S)-tetrahydropyran-2-yloxy]propenyl]-4-thia-1-azabicyklo-
[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

620 mg (1,50 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,
5R)-3-(3-hydroxypropenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-aza-
bicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí
v 30 ml methylenchloridu a smíchá s 4,5 mg (0,024 mmol)
monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny. Potom se přidá
0,25 ml (2,70 mmol) 3,4-dihydro-2H-pyranu a směs se další
hodinu míchá. Rozpouštědlo se odstraní v rotačním odpařováku

a zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 700 mg (93 %), bezbarvý olej, směs diastereomerů (1:1)

IR (Film): 3031, 1782, 1749, 1257, 1134, 967 cm^{-1}

MS $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 511,6

Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-[3-[(R)- a (S)-tetrahydropyran-2-yloxy]propenyl]-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Způsobem podle příkladu 8 se oxiduje 585 mg (1,18 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-7-oxo-3-[3-[(R)- a (S)-tetrahydropyran-2-yloxy]propenyl]-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 525 mg (84 %), bezbarvá pěna, diastereomerní směs (1:1)

IR (KBr): 1800, 1756, 1327, 1189, 1141, 969 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 543,5

P ř í k l a d 2 1

a) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

300 mg (0,73 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(3-hydroxypropenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí v 10 ml tetrahydrofuranu a k roztoku se přidá 90 μ l (1,05 mmol) chloracetylisokyanátu. Směs se ještě 3 hodiny míchá, odpaří v rotačním odpařováku a zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 300 mg (77 %), bezbarvá pěna

IR (KBr): 3300 (široký), 1779, 1753, 1730, 1495, 1203 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 546,4

b) Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

Podobně jako v příkladu 8 se oxiduje 295 mg (0,57 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny. Surový produkt se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 9:16 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 216 mg (68 %), bezbarvá pěna

IR (KBr): 3413 (široký), 1798, 1758, 1730, 1705, 1326, 1198, 991 cm^{-1}

MS $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 578,4

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

195 mg (0,35 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se způsobem popsaným v příkladu 8 zbaví chránicí skupiny a převede na odpovídající sodnou sůl.

Výtěžek: 60 mg (49 %), bezbarvý lyofilizát

MS: $(M-COCH_2Cl-Na)^-$ 317,3

IR (KBr): 3435, 1781, 1721, 1622, 1533, 1396, 1314, 1192, 1139 cm^{-1}

1H -NMR (250MHz, D_2O): δ [ppm] = 1,61(s,3H), 3,42(dd,1H,J=16Hz, 1,6Hz, 6-H), 3,69(dd, 1H, J=16Hz, 4,0Hz, 6-H), 4,43(s,2H,CH₂Cl), 4,49(s,1H,2-H), 4,84(d,2H,J=4,4Hz,CH₂O), 5,08(dd,J=1,6Hz, 4,0Hz, 5-H), 6,08(d(br),1H,J=16Hz,=CH), 6,22(dt,1H,J=16Hz, 4,4Hz, =CH).

P ř í k l a d 2 2

Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(karbamoyloxypropenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

450 mg (0,80 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-[3-(2-chloracetylaminokarbonyloxy)propenyl]-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se pod argonovou atmosférou rozpustí v 5 ml tetrahydrofuranu a k roztoku se přidá 1,7 ml methanolu. Ke vzniklému roztoku se přidá 135 mg (1,61 mmol) hydrogenuhličitanu sodného ve 2,8 ml vody. Po skončení reakce (kontrola

chromatografií na tenké vrstvě) se rozpouštědlová směs odstraní odpařením v rotačním odpařováku a žlutý olejovitý zbytek se vyjme do 15 ml ethylacetátu a 15 ml nasyceného roztoku chloridu sodného, směs se protřepe a oddělí se fáze. Vodná fáze se ještě 2x reextrahuje 15 ml ethylacetátu a spojené organické extrakty se 1x promyjí 15 ml nasyceného roztoku chloridu sodného. Potom se extrakt vysuší síranem hořečnatým, zkoncentruje v rotačním odpařováku a olejovitý zbytek se chromatografuje na silikagelu (o zrnění 0,040 až 0,063 mm) za použití směsi ethylacetátu a n-hexanu v poměru 2:1 jako mobilní fáze.

Výtěžek: 200 mg (78 %) bezbarvá pěna

IR (KBr): 3481, 1799, 1749, 1731, 1601, 1329, 1191, 996 cm^{-1}

MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 484

c) Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(karbamoyloxypropenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny

190 mg (0,60 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(karbamoyloxypropenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se způsobem popsaným v příkladu 8 zbaví chránicí skupiny.

Výtěžek: 82 mg (62 %), bezbarvý lyofilizát

^1H -NMR (250MHz, D_2O): $\delta[\text{ppm}]$ = 1,61(s,3H), 3,42(dd,1H, J =17Hz,1,6Hz,6-H), 3,69(dd,1H, J =17Hz,4Hz,6-H), 4,48(s,1H,2-H), 4,70(d,2H, J =4,6Hz, CH_2), 5,08(dd,1H, J =4Hz,1,6Hz,5-H), 5,97(d,1H, J =16Hz,=CH), 6,19(dt,1H, J =16Hz,4,6Hz,=CH).

P ř í k l a d 2 3

a) (2S,3S,5R)-1-[3-(2-benzhydryloxykarbonyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-3-yl)allyl]-pyridiniumtrifluormethansulfonát

410 mg (1,0 mmol) benzhydrylesteru (E)-(2S,3S,5R)-3-(3-hydroxypropenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny se rozpustí v 6 ml methylenchloridu, roztok se ochladí na - 40 °C a přidá se k němu 250 µl (1,5 mmol) anhydridu trifluormethansulfonové kyseliny. Po 5 minutách se ke směsi přidá 200 µl (2,50 mmol) pyridinu, směs se další hodinu míchá při stejné teplotě a potom se chladicí lázeň odstaví. Rozpouštědlo se odpaří v rotačním odpařováku při teplotě místnosti, reakční směs se vyjme do 20 ml methylenchloridu a 2x promyje vždy 10 ml nasyceného roztoku chloridu sodného. Organický extrakt se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a odpaří v rotačním odpařováku. Zbývající červená pryskyřice se bez dalšího čištění oxiduje.

Výtěžek: 600 mg (97 %), červená pryskyřice

MS: (M^+) 471,6

IR (KBr): 1777, 1743, 1630, 1160, 987 cm^{-1}

b) (2S,3S,5R)-1-[3-(2-benzhydryloxykarbonyl-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-3-yl)-allyl]pyridiniumtrifluormethansulfonát

Způsobem popsáním v příkladu 8 se podrobí oxidaci 600 mg (0,97 mmol) (2S,3S,5R)-1-[3-(2-benzhydryloxykarbonyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-3-yl)-allyl]pyridiniumtrifluormethansulfonátu.

Výtěžek: 440 mg (70 %), zelená pryskyřice

MS: (M^+) 503,3

IR (KBr): 1797, 1753, 1632, 1167 cm^{-1}

(E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-4,4,7-trioxo-3-(3-pyridin-1-ylpropenyl)-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylát

Roztok 440 mg (0,67 mmol) (2S,3S,5R)-1-[3-(2-benzhydryloxykarbonyl-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-3-yl)allyl]pyridiniumtrifluormethansulfonátu v 3 ml m-kresolu se 1,5 hodiny míchá při 50 °C. Směs se zředí při teplotě místnosti 10 ml isobutylmethylketonu a 3x extrahuje vždy 8 ml vody. Spojené vodné extrakty se ještě 2x promyjí vždy 10 ml isobutylmethylketonu, přefiltrují přes papírový filtr a lyofilizují. Hnědý lyofilizát se potom chromatografuje na polymerním hydrofobním gelu za použití vody jako elučního činidla.

Výtěžek: 125 mg (55 %), béžový lyofilizát

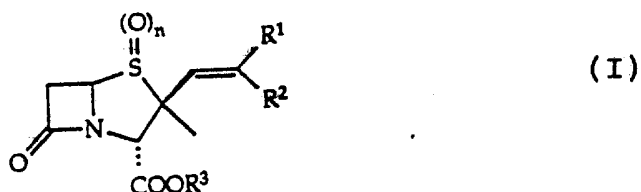
IR (KBr): 1780, 1625, 1485, 1372, 1312, 980 cm^{-1}

MS: $M+H^+$ 337,4



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. 3 β -alkenylpenamové deriváty obecného vzorce I



kde

ze symbolů

R¹ a R² jeden představuje skupinu -COR⁴, kyanoskupinu, skupinu -CH₂R⁵, halogen, skupinu -CH=CHR⁶ nebo Q a druhý představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu nebo oba dohromady představují gamma-laktamový kruh;

R³ představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, arylalkylskupinu, allylskupinu nebo zbytek odštěpitelný in vivo;

R⁴ představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, nižší alkoxy skupinu, benzyloxyskupinu, aminoskupinu, nižší alkylaminoskupinu nebo nižší alkyl-nižší alkoxyaminoskupinu;

R⁵ představuje hydroxyskupinu, skupinu -OCONHR⁷, skupinu -OCONH₂ nebo pětičlenný nebo šestičlenný heteroaromatický zbytek obsahující dusík, síru a/nebo kyslík, který je připojen přes atom dusíku;

R⁶ představuje kyanoskupinu nebo aldehydickou skupinu;

R⁷ představuje skupinu -COCH₂Cl;

Q představuje pětičlenný nebo šestičlenný hetero-
aromatický zbytek obsahující dusík, síru a/nebo
kyslík; a

n představuje číslo 0, 1 nebo 2;

a jejich farmaceuticky vhodné soli.

2. 3 β -alkenylpenamové deriváty podle nároku 1,
kde

ze symbolů

R¹ a R² jeden představuje skupinu -COR⁴, kyanoskupinu,
skupinu nebo -CH₂R⁵, a druhý představuje atom
vodíku nebo nižší alkylskupinu;

R³ představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, aryl-
alkylskupinu, allylskupinu nebo zbytek odštěpitelný
in vivo;

R⁴ představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, nižší
alkoxyskupinu, benzyloxyskupinu, aminoskupinu,
nebo nižší alkylaminoskupinu;

R⁵ představuje hydroxyskupinu nebo skupinu -CONH₂; a

n představuje číslo 0, 1 nebo 2;

a jejich farmaceuticky vhodné soli.

3. 3 β -alkenylpenamové deriváty podle nároku 1 nebo
2, kde R¹ představuje kyanoskupinu, halogen nebo skupinu
-COR⁴; R² představuje atom vodíku a R⁴ představuje methyl-
skupinu, nižší alkoxyskupinu, benzyloxyskupinu nebo amino-
skupinu.

4. 3 β -alkenylpenamové deriváty podle některého z nároků 1 až 3, kde n představuje číslo 0 nebo 2.

5. 3 β -alkenylpenamové deriváty podle některého z nároků 1 až 4, kde R³ představuje atom vodíku nebo benzhydrylskupinu.

6. Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

7. Benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

8. Benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

9. Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

10. Sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-kyanoethenyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

11. Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-chlorvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

12. Sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-methyl-3-(3-oxobut-1-enyl)-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

13. Benzhydrylester (E/Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoyl-vinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoyl-vinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoyl-vinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

sodná sůl (Z)-(2S,3S,5R)-3-(2-karbamoylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxy-karbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxy-karbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

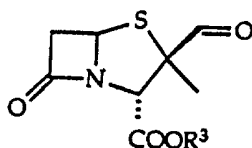
sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-ethoxykarbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxy-karbonylvinyl)-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny,

benzhydrylester (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxy-karbonylvinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny a

sodná sůl (E)-(2S,3S,5R)-3-(2-benzyloxykarbonyl-vinyl)-3-methyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]-heptan-2-karboxylové kyseliny.

14. Sloučeniny obecného vzorce II



(II)

kde R³ má význam uvedený v nároku 1.

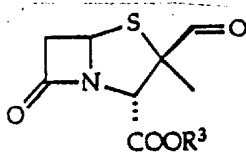
15. Benzhydrylester (2S,3R,5R)-3-formyl-3-methyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové kyseliny.

16. 3β-alkenylpenamové deriváty podle některého z nároků 1 až 13 pro použití jako terapeuticky účinné látky.

17. 3β-alkenylpenamové deriváty podle některého z nároků 1 až 13 pro použití jako blokátory β-laktamasy.

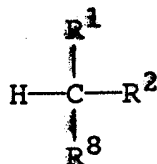
18. Způsob výroby 3β-alkenylpenamových derivátů podle některého z nároků 1 až 13, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se

a) sloučenina obecného vzorce II



(II)

kde R^3 má význam uvedený v nároku 1, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce



kde R^1 a R^2 mají význam uvedený v nároku 1 a R^8 představuje skupinu vzorce $P^+(\text{aryl})_3$, $PO(O\text{-alkyl})_2$ nebo $Si(\text{alkyl})_3$ nebo atom halogenu,

za přítomnosti aktivačního činidla, nebo se

b) oxiduje sloučenina obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0, nebo se

c) sloučenina obecného vzorce I, kde R^3 je odlišný od vodíku, převede na odpovídající volnou kyselinu a

d) popřípadě se kyselá sloučenina obecného vzorce I převede na svou farmaceuticky vhodnou sůl.

19. Léčivo, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje 3β -alkenylpenamový derivát podle některého z nároků 1 až 13.

20. Léčivo, blokující β -laktamasu, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje 3β -alkenylpenamový derivát podle některého z nároků 1 až 13.

21. Léčivo podle nároku 19 nebo 20, v y z n a č u j í c í s e t í m , že přídatně obsahuje β -laktamové antibiotikum.

22. Lékivo podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že jako β -laktamové antibiotikum obsahuje penicilin, cefalosporin, penem nebo karbapenem.

23. Lékivo podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje piperacilin, mezlocilin, azlocilin, apalcilin, benzylpenicilin, fenoxymethylpenicilin, karbenicilin, methicilin, propicilin, tikarcilin, ampicilin, amoxicilin, mecilinam, ceftriaxon, ceftazidim, cefetamet, cefetamet pivoxil, cefotaxim, cefmenoxim, ceftizoxim, cefuroxim, cefaloridin, cefalotin, cefazolin, cefalexin, cefoxitin, cefacetril, cefamandol, cefapirin, cefradin, cefaloglycin, cefpirom, cefepim, imipenem nebo meropenem nebo farmaceuticky vhodnou sůl některé z těchto sloučenin.

24. Lékivo podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje ceftriaxon nebo některou z jeho farmaceuticky vhodných solí.

25. Lékivo podle některého z nároků 21 až 24, jakožto kombinační přípravek pro současnou, oddělenou nebo časově odstupňovanou aplikaci při antibakteriální terapii.

26. Použití 3β -alkenylpenamových derivátů podle některého z nároků 1 až 13 při výrobě antibakteriálně účinných prostředků.

MP-1441-94-Ho

