



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 251 751 A5

4(51) C 07 D 499/70  
 C 07 D 501/20  
 C 07 D 499/12  
 C 07 D 501/06

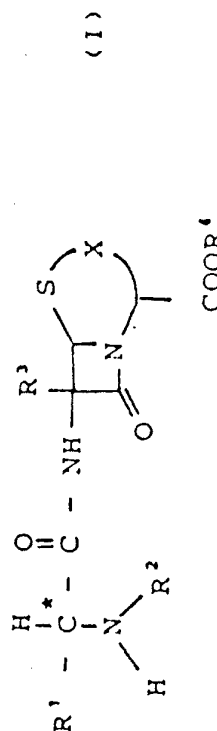
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

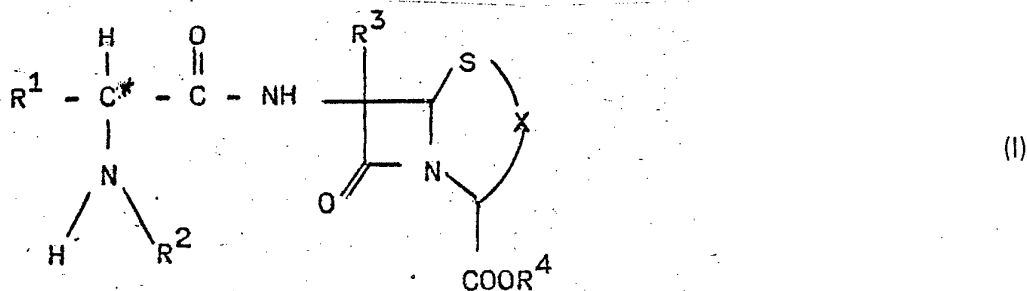
|      |                                                                                        |      |          |      |          |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|------|----------|------|----------|
| (21) | AP C 07 D / 287 635 5                                                                  | (22) | 06.03.86 | (44) | 25.11.87 |
| (31) | P3508258.5                                                                             | (32) | 08.03.85 | (33) | DE       |
| (71) | siehe (73)                                                                             |      |          |      |          |
| (72) | Schmidt, Gunter, Dr. Dipl.-Chem.; Zeiler, Hans-Joachim, Dr.; Metzger, Karl G., Dr., DE |      |          |      |          |
| (73) | Bayer AG, 5090 Leverkusen, DE                                                          |      |          |      |          |

(54) Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Lactamverbindungen

(57) Die Erfindung betrifft  $\beta$ -Lactamantibiotika der allgemeinen Formel I, in welcher X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> die in der Beschreibung angegebene Bedeutung haben, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung als und in Arzneimitteln, insbesondere als antibakterielle, oral wirksame Antibiotika. Formel (I)

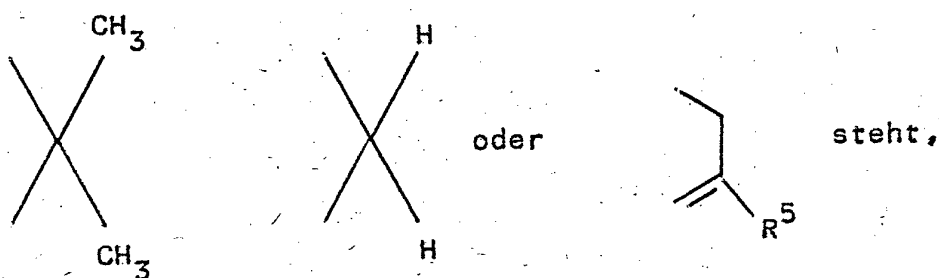


## Erfindungsanspruch:

1. Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Lactamverbindungen der allgemeinen Formel (I)

in welcher

X — für einen Rest der Formel

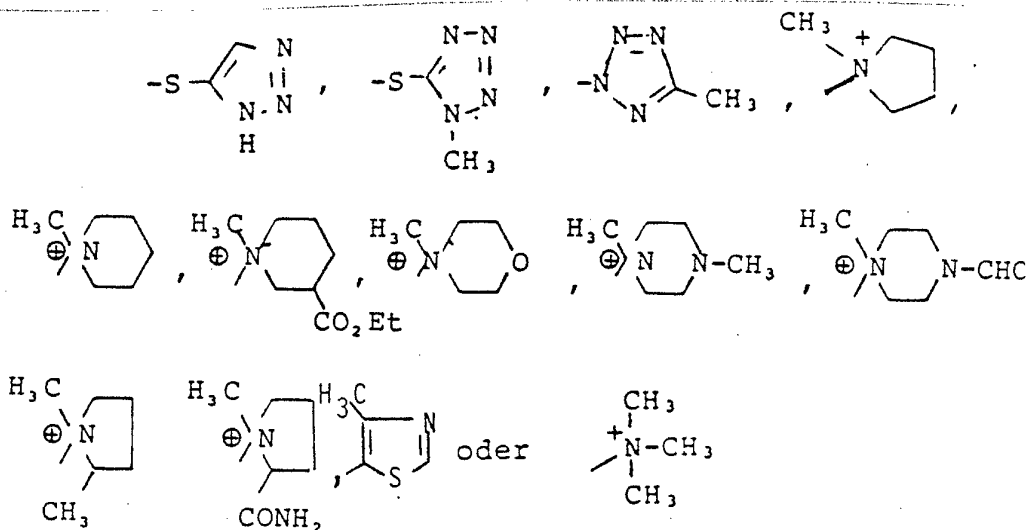


worin

 $R^5$  — für Wasserstoff,

— für Halogen, Azido oder

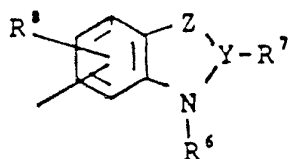
— für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 7 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Halogen,  $C_1$ - $C_5$ -Alkoxy,  $C_1$ - $C_5$ -Alkylthio,  $-OCONH_2$ ,  $C_2$ - $C_{10}$ -Acyloxy durch einen Pyridiniumrest, der ein oder mehrfach substituiert sein kann, oder durch einen Rest der Formel



oder

— für Alkoxy, Alkylthio (bis  $C_5$ ) steht,

$R^1$  — für den Rest



steht.

wobei

$Y$  — für N oder  $CR^9$  steht, oder  $Y-R^7$  für  $>C=O$  oder  $>C=N-R^7$  steht,

$Z$  — für O, S oder  $NR^{10}$  steht,

$R^6$  — für Wasserstoff,

— für Hydroxy oder Amino steht, oder

— für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes, gegebenenfalls durch Halogen, gegebenenfalls substituiertes Amino, Hydroxy, Cyano oder Aryl substituiertes Alkyl mit bis zu 10 C-Atomen steht, oder

— für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,

$R^7$  — für Wasserstoff steht,

— für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 10 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Halogen, Hydroxy, Alkoxy oder Alkoxycarbonyl mit jeweils 1 bis 10 C-Atomen, Cyan, Carboxy, gegebenenfalls substituiertes Aryl,  $SO_3H$  oder durch eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe, oder

— für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht, oder

$R^6$  und  $R^7$  gemeinsam eine Doppelbindung vervollständigen,

$R^8$  — für Wasserstoff,

— für Alkyl, Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 8 C-Atomen,

— für Trifluormethyl, Trifluormethoxy,

— für Hydroxy, Mercapto, Nitro, Cyano,

— für Halogen oder

— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe steht, und wobei

$R^9$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^7$  und außerdem

— für Halogen,

— für  $C_1$ - $C_8$ -Alkoxy,  $C_1$ - $C_8$ -Alkylthio,

— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe,

— für  $SO_2$ - $C_1$ - $C_8$ -Alkyl,  $-PO(OH)_2$ ,

— für  $SO_3H$  oder  $SO_2NH_2$  steht,

— für SH, OH, S-Phenyl, oder O-Phenyl,

— für Guanidino, Amidino,  $-NHNH_2$  oder  $NHOH$ ,

— für gegebenenfalls substituiertes Heterocyclyl

oder

— für O-Heterocyclyl, S-Heterocyclyl steht,

$R^{10}$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^6$ , jedoch nicht mit  $R^7$  eine Doppelbindung vervollständigt, oder

$R^9$  und  $R^{10}$  gemeinsam für eine gegebenenfalls durch Sauerstoff oder Schwefel unterbrochene  $C_2$ - $C_4$ -Methylenkette steht,

$R^2$  — für Wasserstoff oder

— für eine Aminoschutzgruppe steht,

$R^3$  — für Wasserstoff,

— für Alkoxy, Alkylthio mit jeweils bis zu 5 C-Atomen,

— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe oder

— für  $NHCHO$  steht,

und

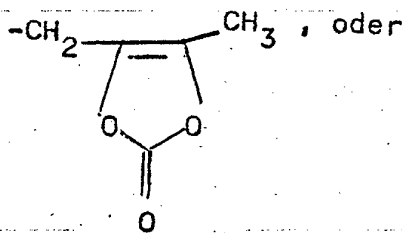
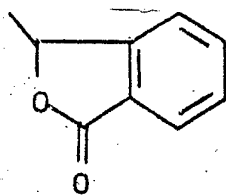
$R^4$  — für Wasserstoff,

— für eine Carboxyschutzgruppe,

— für  $-CH_2-O-CO-C(CH_3)_3$ ,

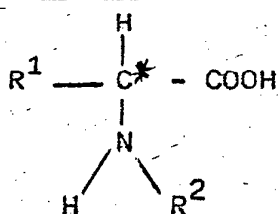
— für  $-CH(CH_3)-O-CO-O-C_2H_5$ ,  $CH_2-O-CO-CH_3$ ,

— für den Rest der Formel



oder

— für Alkali- oder Ammoniumionen steht,  
gekennzeichnet dadurch, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel II



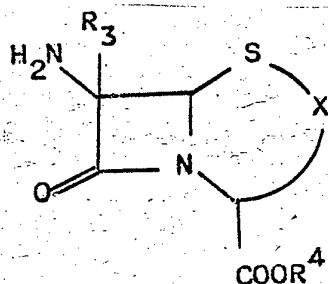
(II)

in welcher

$\text{R}^1$  die oben angegebene Bedeutung hat und in welcher

$\text{R}^2$  für eine Aminoschutzgruppe steht,

nach Aktivierung der Carboxylgruppe durch Überführung in ein gemischtes Anhydrid, nach Überführung in das Mesylat oder nach Überführung in einen aktivierten Ester mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)

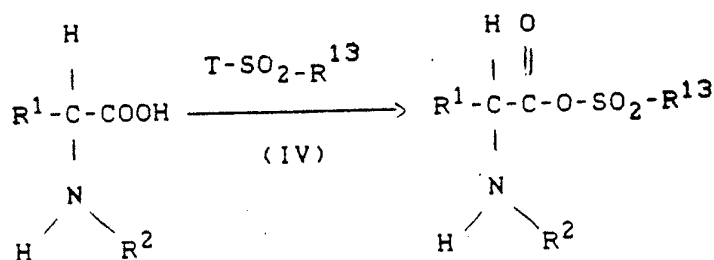


(III)

in welcher

$\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  und  $\text{X}$  die oben angegebenen Bedeutungen haben, zur Umsetzung bringt, dann gegebenenfalls Schutzgruppen abspaltet und die gewünschten Salze oder aus Salzen die freien Säuren herstellt.

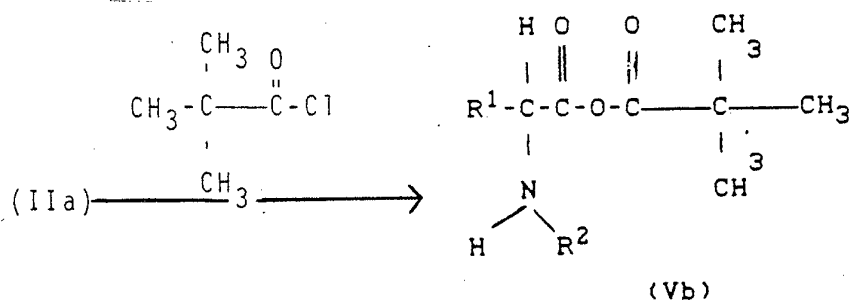
2. Verfahren nach Punkt 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man für die Kupplung der Aminosäuren der Formel (II) an  $\beta$ -Lactame der Formel (III) aus der Cephalosporin- bzw. Penicillinchemie bekannte Methoden verwendet.
3. Verfahren nach den Punkten 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß man Aminosäuren der allgemeinen Formel (II) aktiviert und dann mit  $\beta$ -Lactamen der allgemeinen Formel (III), die als Salze mit einem Amin in Lösung gebracht werden, kuppelt.
4. Verfahren nach Punkt 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die Aktivierung mit Pivalinsäurechlorid oder Sulfonsäurederivaten der Formel (IV) zu Anhydriden der Formel (V) nach dem Schema



(IIa)

(Va)

oder



in welchen

- $\text{R}^1$  — die oben angegebene Bedeutung hat,  
 $\text{R}^2$  — für eine Aminoschutzgruppe steht,  
 $\text{T}$  — für einen Rest  $\text{R}^{13}-\text{SO}_2-\text{O}$  oder Halogen steht, und  
 $\text{R}^{13}$  — für  $\text{C}_1-\text{C}_{10}$ -Alkyl steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Fluor, Chlor, Cyano, Phenyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkoxy oder  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylthio, oder  
 — für gegebenenfalls durch Fluor, Chlor, Brom, Cyano,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkoxy,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylthio,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylcarbonyl, Nitro, Trifluormethyl substituiertes Phenyl steht, durchführt.

5. Verfahren nach den Punkten 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die Umsetzungen bei Temperaturen zwischen  $-80^\circ\text{C}$  und Raumtemperatur, bevorzugt zwischen  $-60^\circ\text{C}$  und  $0^\circ\text{C}$  durchführt.

#### Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Lactamverbindungen mit wertvollen pharmakologischen Eigenschaften.  
 Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen werden angewandt als Arzneimittel, insbesondere als antibakterielle, oral wirksame Antibiotika.

#### Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist bekannt, daß verschiedene Vertreter der 7- $\alpha$ -Aminoacylcephalosporine mit unterschiedlichen Substituenten in der 3-Stellung des Moleküls antibiotisch wirken, so zum Beispiel Cephalexin (7-[D- $\alpha$ -Phenylglycylamido]-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure), Cefaclor (7-[D- $\alpha$ -Phenylglycylamido]-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure) (vgl. GB-PS 1 174 335; DE-OS 24 08 698 und 27 28 578).

Weiterhin ist eine Reihe antibiotisch wirksamer  $\alpha$ -Aminopenicillansäuren bekannt, z. B. Ampicillin (GB-Patentanmeldung 938.321) und Amoxicillin (GB-Patentanmeldung 1.339.605).

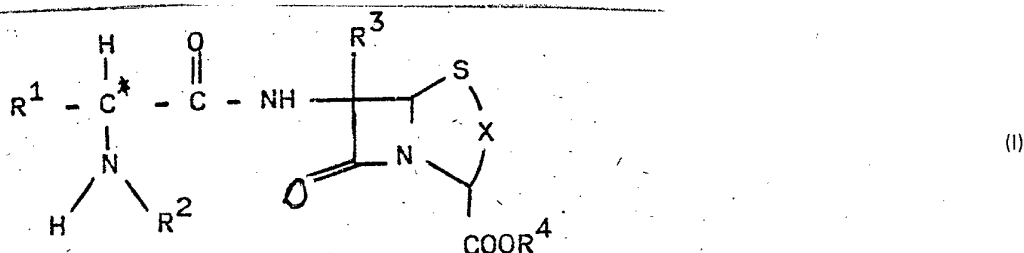
#### Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung neuer  $\beta$ -Lactamverbindungen mit breitem antibakteriellem Spektrum gegen gram-positive und gram-negative Keime sowie geringe Toxizität.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

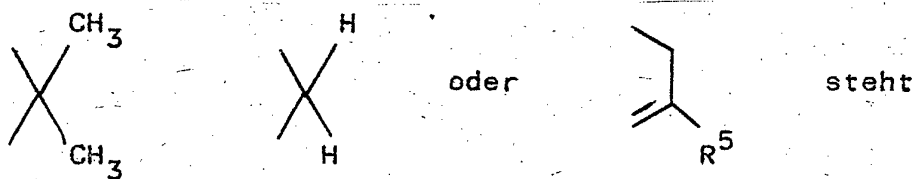
Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue  $\beta$ -Lactamverbindungen mit den gewünschten Eigenschaften und Verfahren zu ihrer Herstellung aufzufinden.

Erfindungsgemäß werden  $\beta$ -Lactamverbindungen der allgemeinen Formel I:



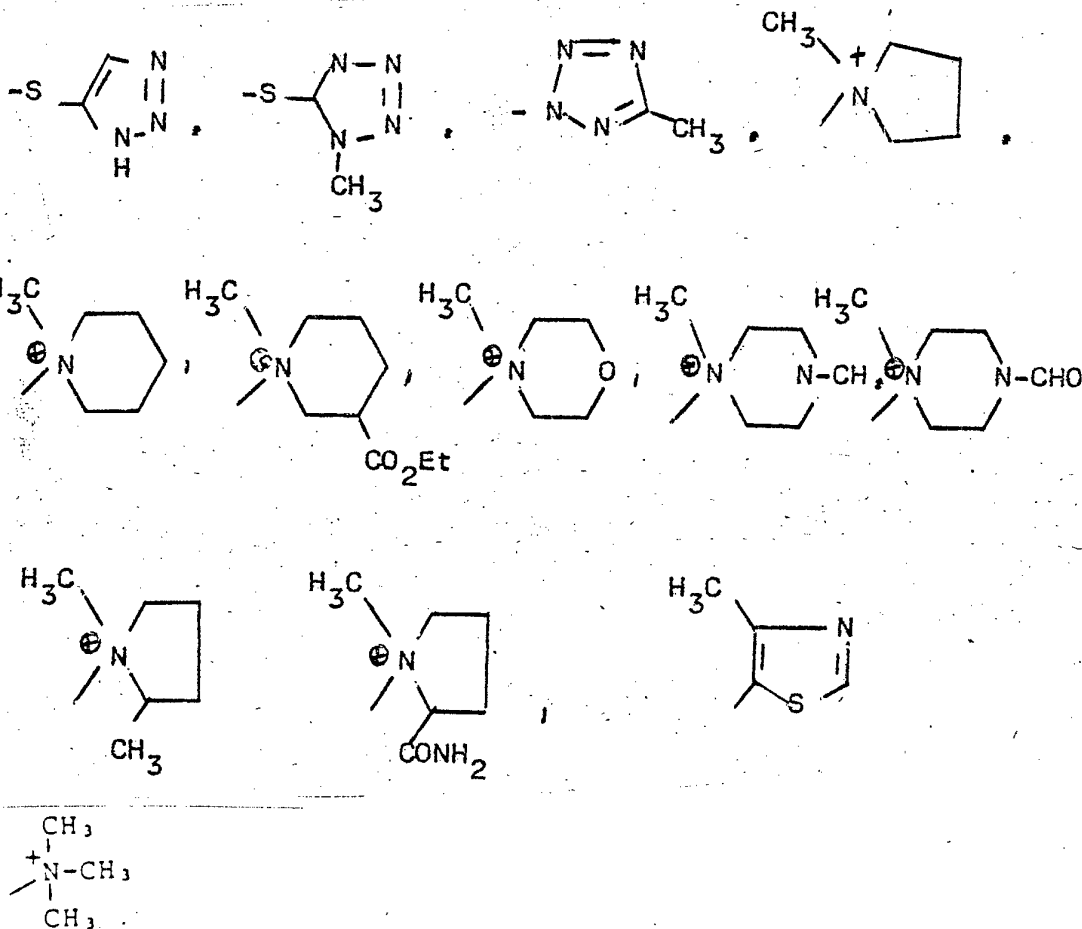
hergestellt, in welcher

X — für einen Rest der Formel



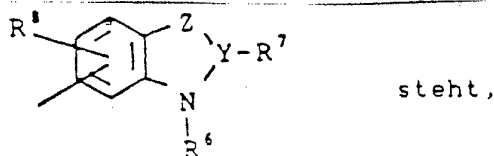
worin

- $R^5$  — für Wasserstoff,  
 — für Halogen, Azido oder  
 — für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 7 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Halogen,  $C_1$ - $C_5$ -Alkoxy,  $C_1$ - $C_5$ -Alkylthio,  $-OCONH_2$ ,  $C_2$ - $C_{10}$ -Acyloxy, durch einen Pyridiniumrest, der ein oder mehrfach substituiert sein kann, oder durch einen Rest der Formel



oder

- für  $C_1$ - $C_5$ -Alkoxy oder  $C_1$ - $C_5$ -Alkylthio steht,  
 $R^1$  — für den Rest



wobei

- Y — für N oder  $CR^8$  steht, oder  $Y-R^7$  für  $C=O$  oder  $C=N-R^7$  steht,  
 Z — für O, S oder  $NR^{10}$  steht,  
 $R^6$  — für Wasserstoff,  
 — für Hydroxy oder Amino steht, oder  
 — für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes, gegebenenfalls durch Halogen, gegebenenfalls substituiertes Amino, Hydroxy, Cyano oder  $C_6$ - $C_{10}$ -Aryl substituiertes Alkyl mit bis zu 10 C-Atomen steht, oder  
 — für gegebenenfalls substituiertes  $C_6$ - $C_{10}$ -Aryl steht,

- $R^7$  — für Wasserstoff steht,  
 — für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 10 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Halogen, Hydroxy, Alkoxy oder Alkoxy-carbonyl mit jeweils 1 bis 6 C-Atomen, Cyano, Carboxy, gegebenenfalls substituiertes Aryl,  $SO_3H$  oder durch eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe, oder  
 — für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,

oder

$R^6$  und  $R^7$  gemeinsam eine Doppelbindung vervollständigen,

- $R^8$  — für Wasserstoff,  
 — für Alkyl, Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 8 C-Atomen,  
 — für Trifluormethyl, Trifluormethoxy,  
 — für Hydroxy, Mercapto, Nitro, Cyano,  
 — für Halogen oder  
 — für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe steht,

$R^9$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^7$  und außerdem

- für Halogen,  
 — für  $C_1-C_8$ -Alkoxy,  $C_1-C_8$ -Alkylthio,  
 — für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe,  
 — für  $SO_2-C_1-C_8$ -Alkyl,  $-PO(OH)_2$ ,  
 — für  $SO_3H$  oder  $SO_2NH_2$  steht,  
 — für SH, OH, S-Phenyl, oder O-Phenyl,  
 — für Guanidino, Amidino,  $-NHNH_2$  oder  $NHOH$ ,  
 — für gegebenenfalls substituiertes Heterocyclyl,

oder

- für O-Heterocyclyl, S-Heterocyclyl steht,

$R^{10}$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^8$ , jedoch nicht mit  $R^7$  eine Doppelbindung vervollständigt,

oder

$R^9$  und  $R^{10}$  gemeinsam für eine gegebenenfalls durch Sauerstoff oder Schwefel unterbrochene  $C_2-C_4$ -Methylenkette steht,

- $R^2$  — für Wasserstoff oder  
 — für eine Aminoschutzgruppe steht,

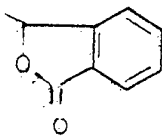
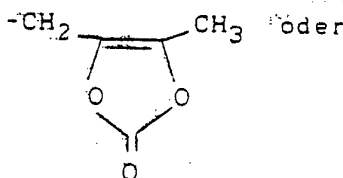
- $R^3$  — für Wasserstoff,  
 — für Alkoxy, Alkylthio mit jeweils bis zu 5 C-Atomen,  
 — für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe

oder

- für  $NHCHO$  steht,

und

- $R^4$  — für Wasserstoff,  
 — für eine Carboxyschutzgruppe,  
 — für  $-CH_2-O-CO-C(CH_3)_3$ ,  
 — für  $-CH_2-O-CO-CH_3$ ,  $-CH(CH_3)-O-CO-O-C_2H_5$   
 — für den Rest der Formel

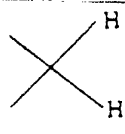
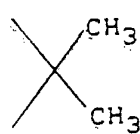


oder

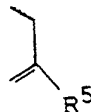
- für Alkali- oder Ammoniumionen steht.

Bevorzugte Verbindungen der Formel I sind solche, in welchen

X — für einen Rest der Formel



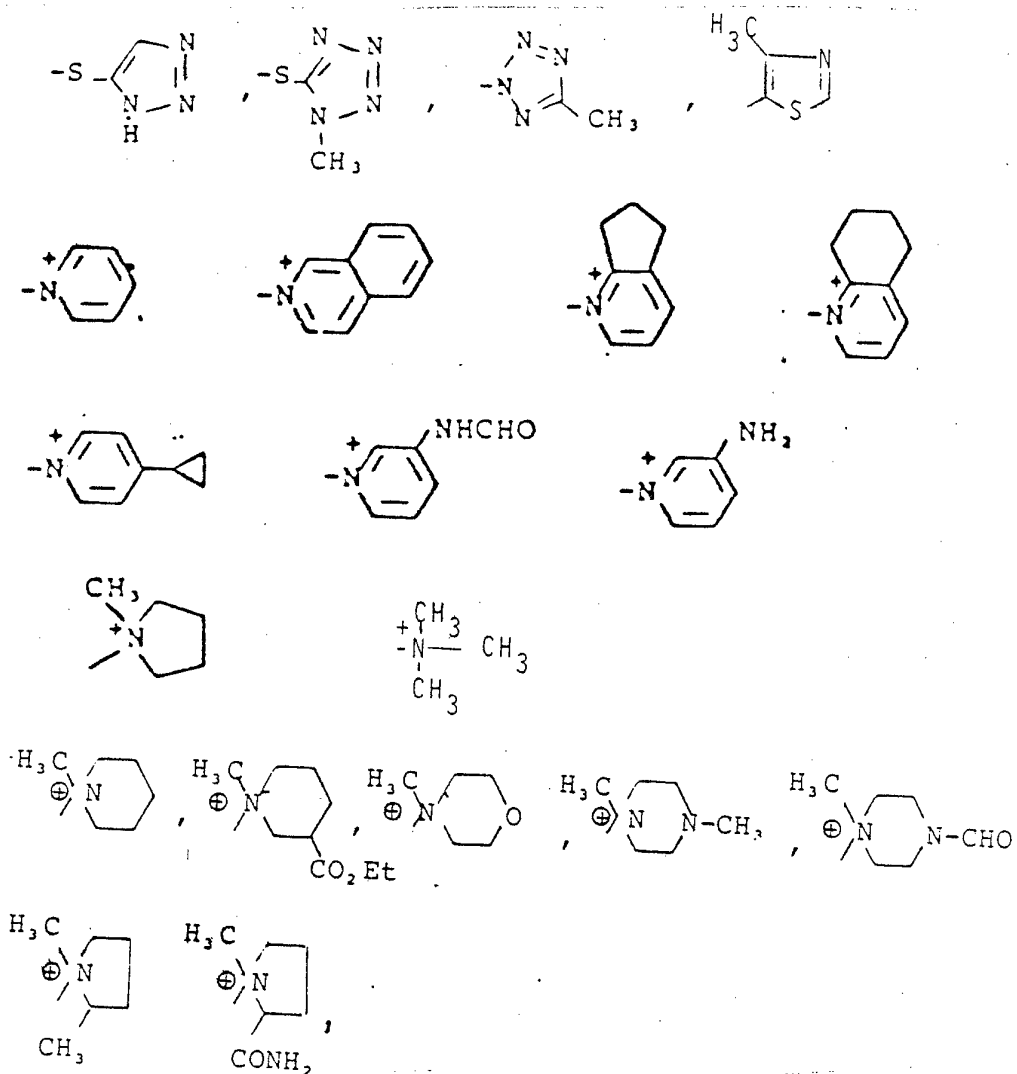
oder



steht,

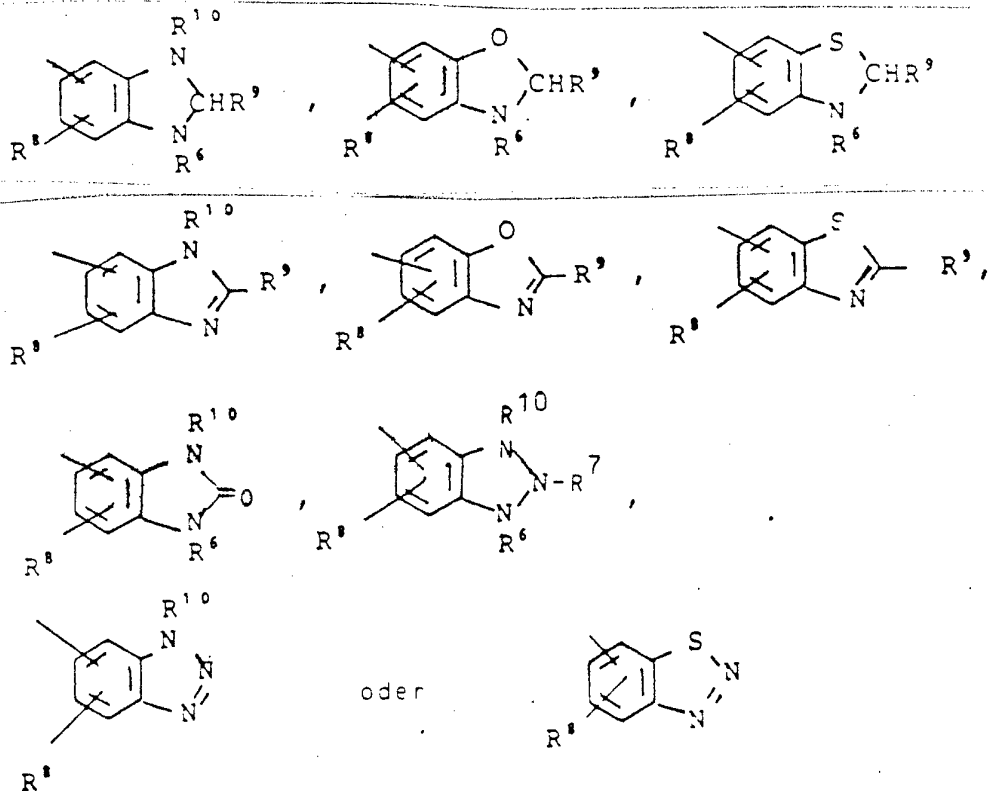
worin

- $R_5$  — für Wasserstoff,  
 — für Fluor, Chlor, Brom,  
 — für geradkettiges oder verzweigtes, gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 5 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch ein oder mehrere Fluor, Chlor, Brom, Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 3 C-Atomen, Carbamoyloxy, Acetyloxy, Benzoyloxy, oder durch einen Rest der Formel



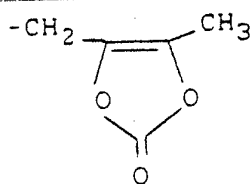
— oder für C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkylthio steht.

$R^1$  — für einen Rest der Formel

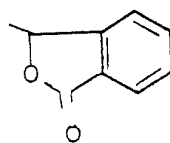


steht, wobei

- $R^6$  — für Wasserstoff,  
— für Hydroxy oder Amino steht, oder  
— für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes, gegebenenfalls durch ein oder mehrere Fluor, Chlor, Brom, gegebenenfalls substituiertes Amino, Hydroxy oder Phenyl substituiertes Alkyl mit bis zu 8 C-Atomen steht, oder  
— für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,
- $R^7$  — für Wasserstoff, oder  
— für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches, gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 8 C-Atomen steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch ein oder mehrere Fluor, Chlor, Brom,  $C_1$ - $C_4$ -Alkoxy, Hydroxy, Carboxy, Phenyl,  $SO_3H$  oder eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe, oder  
— für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,
- $R^8$  — für Wasserstoff,  
— für Alkyl, Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 6 C-Atomen,  
— für Trifluormethyl, Trifluormethoxy  
— für Hydroxy, Mercapto, Nitro, Cyano  
— für Fluor, Chlor, Brom oder  
— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe steht,
- $R^9$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^7$  und außerdem  
— für Fluor, Chlor, Brom,  
— für  $C_1$ - $C_6$ -Alkoxy,  $C_1$ - $C_6$ -Alkylthio steht,  
— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe,  
— für  $-SO_2-C_1-C_6$ -Alkyl,  $-PO(OH)_2$ ,  
— für  $-SO_3H$  oder  $-SO_2NH_2$  steht,  
— für SH, OH, S-Phenyl oder O-Phenyl,  
— für Guanidino,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$ ,  
— für gegebenenfalls substituiertes Heterocyclyl oder  
— für O-Heterocyclyl, S-Heterocyclyl steht,
- $R^{10}$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^6$ , jedoch nicht mit  $R^7$  eine Doppelbindung vervollständigt,  
oder  
 $R^9$  und  $R^{10}$  gemeinsam für eine gegebenenfalls durch Schwefel unterbrochene  $C_2$ - $C_4$ -Methylenkette stehen,
- $R^2$  — für Wasserstoff oder  
— für eine Aminoschutzgruppe steht,
- $R^3$  — für Wasserstoff,  
— für Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 3 C-Atomen,  
— für eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe oder  
— für  $NHCHO$  steht,
- und
- $R^4$  — für Wasserstoff,  
— für eine Carboxyschutzgruppe,  
— für  $-CH_2-O-CO-C(CH_3)_3$ ,  
— für  $-CH(CH_3)-O-CO-O-C_2H_5$ ,  $-CH_2-O-CO-CH_3$ ,  
— für den Rest der Formel



oder



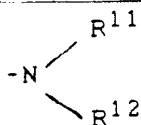
steht,

oder

- für  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $K^+$  oder  $NH_4^+$  steht.

Gegebenenfalls substituiertes Aryl steht in der obigen Definition für ein- bis dreifach, bevorzugt für ein- bis zweifach gleich oder unterschiedlich substituiertes Phenyl, wobei als Substituenten Alkyl, Alkylthio, Alkoxy mit jeweils 1 bis 4, bevorzugt 1 bis 2 C-Atomen, Halogen, bevorzugt Fluor, Chlor, Brom, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, Trifluormethyl, Trifluormethylthio oder Trifluormethoxy in Frage kommen.

Eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe steht in der Definition für die Gruppe



wobei

- $R^{11}$ ,  $R^{12}$  — gleich oder verschieden sind und  
— für Wasserstoff,  
— für Aryl, bevorzugt Phenyl,  
— für  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl, bevorzugt  $C_1$ - $C_5$ -Alkyl,

- für C<sub>7</sub>-C<sub>14</sub>-Aralkyl, bevorzugt Benzyl, oder
- für C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-Acyl, bevorzugt Acetyl oder Benzoyl stehen.

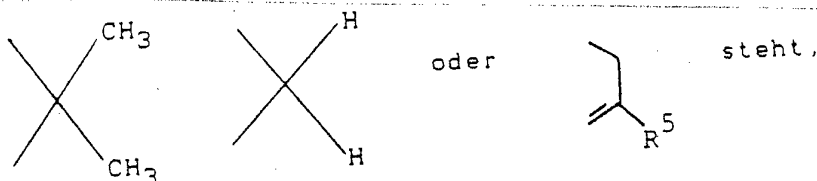
Wenn R<sup>2</sup> für eine Aminoschutzgruppe steht, dann bevorzugt für eine leicht abspaltbare Aminoschutzgruppe wie z. B. tert.-Butoxycarbonyl (Boc), Trityl (Trt), Benzyloxycarbonyl (Z), Formyl, Chloracetyl oder 1-Methyl-2-ethoxycarbonyl-vinyl. Wenn R<sup>4</sup> eine Carboxyschutzgruppe ist, dann bevorzugt eine in der β-Lactamchemie übliche Schutzgruppe, bevorzugt tert.-Butyl, Decyl, 2,2,2-Trichlorethyl, Benzyl, 4-Methoxybenzyl, 4-Nitrobenzyl, Tri- bzw. Diphenylmethyl, Acetoxymethyl, Allyl oder Trimethylsilyl.

Der Begriff Heterocyclyl steht für gesättigte und ungesättigte Heterocyclen mit ein bis vier Stickstoff- und/oder Sauerstoff- und/oder Schwefelatomen, bevorzugt für Pyrrolyl, Pyrrolidinyl, Pyrazolyl, Imidazolyl, Pyridyl, Pyridazinyl, Pyrimidyl, Pyrazinyl, Chinolyl, Isochinolyl, Indolyl, Chinoxalyl, Chinazolyl, Piperidinyl, Morpholinyl, Piperazinyl, Thiomorpholinyl, Furyl, Thienyl, Oxazolyl, Thiazolyl, Isoxazolyl, Thiadiazolyl, Triazolyl oder Tetrazolyl.

Sind die Heterocyclen substituiert, dann ein- bis dreifach, bevorzugt ein- bis zweifach gleich oder verschieden durch Alkyl, Alkylthio, Alkoxy mit jeweils 1 bis 4, bevorzugt 1 bis 2 C-Atomen, Halogen (bevorzugt Fluor, Chlor, Brom), Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, Trifluormethyl, Trifluormethoxy oder Trifluormethylthio.

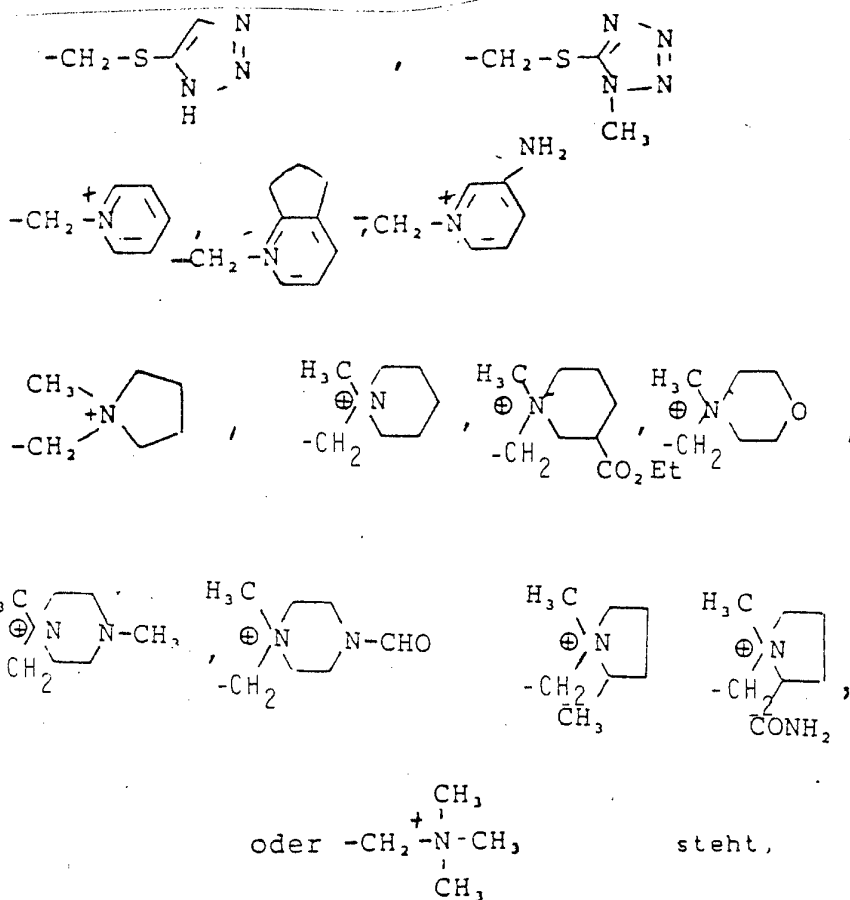
Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel I, in welcher

X — für einen Rest der Formel

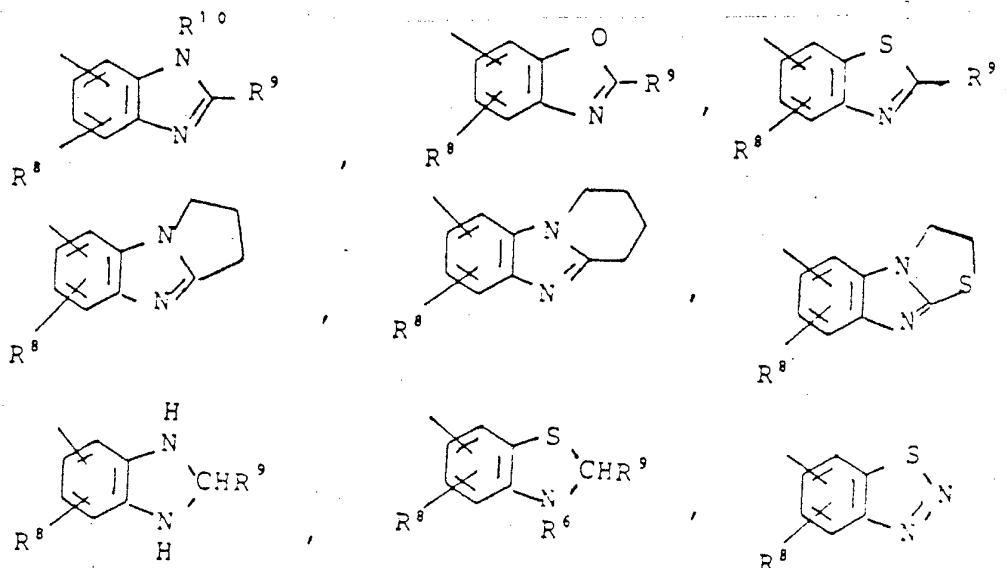


worin

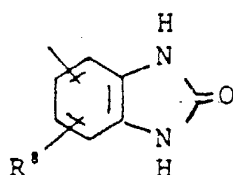
- R<sup>5</sup> — für Wasserstoff,  
 — für Chlor, Fluor,  
 — für Methyl, Methoxy, Methylthio,  
 — für Trifluormethyl, Vinyl, Methoxymethyl,  
 — für Carbamoyloxymethyl,  
 — für Acetyloxymethyl,  
 — für cis-Propenyl, 3-Chloro-1-propenyl, 3-Jodo-1-propenyl, 3-Pyridino-1-propenyl, 3-(1-Methylpyrrolidino)-1-propenyl, 3-(1-H-1,2,3-triazol-5-yl)-thio-1-propenyl, 3-(4-Methyl-thiazol-5-yl)-1-propenyl oder  
 — für einen Rest der Formel



R<sup>1</sup> — für einen Rest der Formel



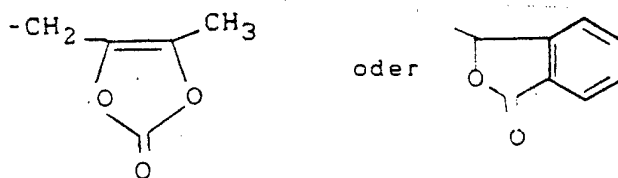
oder



steht,

wobei

- $R^6$  — für Wasserstoff,
- für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches gesättigtes oder ungesättigtes, gegebenenfalls durch ein oder mehrere Fluor, Amino, Hydroxy oder Phenyl substituiertes Alkyl (bis  $C_6$ ) steht, oder
- für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,
- $R^8$  — für Wasserstoff,
- für Alkyl, Alkoxy, Alkylthio mit jeweils 1 bis 4 C-Atomen,
- für Trifluormethyl, Trifluormethoxy,
- für Hydroxy, Nitro, Cyano,
- für Fluor, Chlor oder
- für Amino, Phenylamino, Dimethylamino oder Acetylamino steht,
- $R^9$  — für Wasserstoff oder
- für geradkettiges, verzweigtes oder cyclisches gesättigtes oder ungesättigtes Alkyl mit bis zu 6 C-Atomen, das gegebenenfalls substituiert ist durch ein oder mehrere Fluor, Chlor,  $C_1$ - $C_2$ -Alkoxy, Hydroxy, Carboxy, Phenyl,  $SO_3H$ , Amino,  $C_1$ - $C_3$ -Alkylamino, Dialkylamino mit jeweils 1 bis 3 C-Atomen, Phenylamino, Benzylamino, Acetylamino, oder
- für Fluor, Chlor, Brom,
- für  $C_1$ - $C_4$ -Alkoxy,  $C_1$ - $C_4$ -Alkylthio steht,
- für gegebenenfalls substituiertes Aryl steht,
- für Amino,  $C_1$ - $C_3$ -Alkylamino, Dialkylamino mit jeweils 1 bis 3 C-Atomen, Phenylamino, Benzylamino oder Acetylamino,
- für  $-SO_2-C_1-C_4$ -Alkyl,
- für  $SO_3H$  oder  $SO_2NH_2$  steht,
- für OH, SH, O-Phenyl, oder S-Phenyl,
- für Guanidino,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$  oder
- für Pyrrol, Pyrrolidinyl, Pyrazolyl, Imidazolyl, Pyridyl, Chinolyl, Isochinolyl, Furyl, Thienyl, Morpholinyl, Piperidinyl, Piperazinyl oder Pyrimidyl steht, die gegebenenfalls substituiert sein können durch Fluor, Chlor, Methyl, Nitro, Cyano, Hydroxy, Trifluormethyl, Methoxy oder Amino, oder
- für S-Pyridyl, O-Pyridyl,
- $R^{10}$  — die gleiche Bedeutung hat wie  $R^6$ ,
- $R^2$  — für Wasserstoff,
- für eine Aminoschutzgruppe steht,
- $R^3$  — für Wasserstoff,
- für Methoxy, Methylthio,
- für Amino,  $C_1$ - $C_3$ -Alkylamino, Dialkylamino mit jeweils 1 bis 3 C-Atomen, Phenylamino, Benzylamino oder Acetylamino oder
- für  $NHCHO$  steht,
- und
- $R^4$  — für Wasserstoff,
- für eine Carboxyschutzgruppe,
- für  $-CH_2-O-CO-C(CH_3)_3$ ,
- für  $-CH(CH_3)-O-CO-O-C_2H_5$ ,
- für einen Rest der Formel



oder

— für  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  oder  $\text{NH}_4^+$  steht.

Die Begriffe Aminoschutzgruppe, Carboxyschutzgruppe haben die bereits oben angegebene Bedeutung.

Die Verbindungen der Formel I können als freie Säuren, Ester, als innere Salze oder als nicht-toxische pharmazeutisch verträgliche Salze der sauren Carboxylgruppen, wie Natrium-, Kalium-, Magnesium-, Calcium-, Aluminium- oder Ammoniumsalze und nicht-toxische substituierte Ammoniumsalze, mit Aminen wie Di-, Tri-niedrig-alkylaminen, Procain, Dibenzylamin, N,N'-Dibenzylethylendiamin, N-Benzyl- $\beta$ -phenyl-ethylamin, N-Methyl- und N-Ethylmorpholin, 1-Ephenamin, Dehydroabietylamin, N,N'-Bis-dehydroabietylethylendiamin, N-Niedrigalkylpiperidin und anderen Aminen, die zur Bildung von Salzen von Penicillinen und Cephalosporinen verwendet werden können, vorliegen.

Wegen der Anwesenheit des mit \* bezeichneten asymmetrischen Kohlenstoffatoms schließen die neuen  $\beta$ -Lactamantibiotika - der Formel I die D-, L- und D,L-Formen ein. Bevorzugt sind die D-Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Sowohl die Diastereomeregemische als auch die D-Form und L-Form der erfindungsgemäßen Verbindungen können zur Behandlung bakterieller Infektionskrankheiten eingesetzt werden.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I erhält man, wenn man Verbindungen der allgemeinen Formel IIa



in welcher  $\text{R}^1$  die oben angegebene Bedeutung hat und in welcher  $\text{R}^2$  für eine Aminoschutzgruppe steht, nach Aktivierung der Carboxylgruppe durch Überführung in ein gemischtes Anhydrid, beispielsweise mit Pivaloylchlorid, Chlorameisensäureethyl- oder isobutylester, nach Überführung in das Mesylat mittels Methansulfonsäurechlorid oder nach Überführung in einen aktivierten Ester, z. B. mit 1-Hydroxybenzotriazol und Dicyclohexylcarbodiimid, mit Verbindungen der allgemeinen Formel III

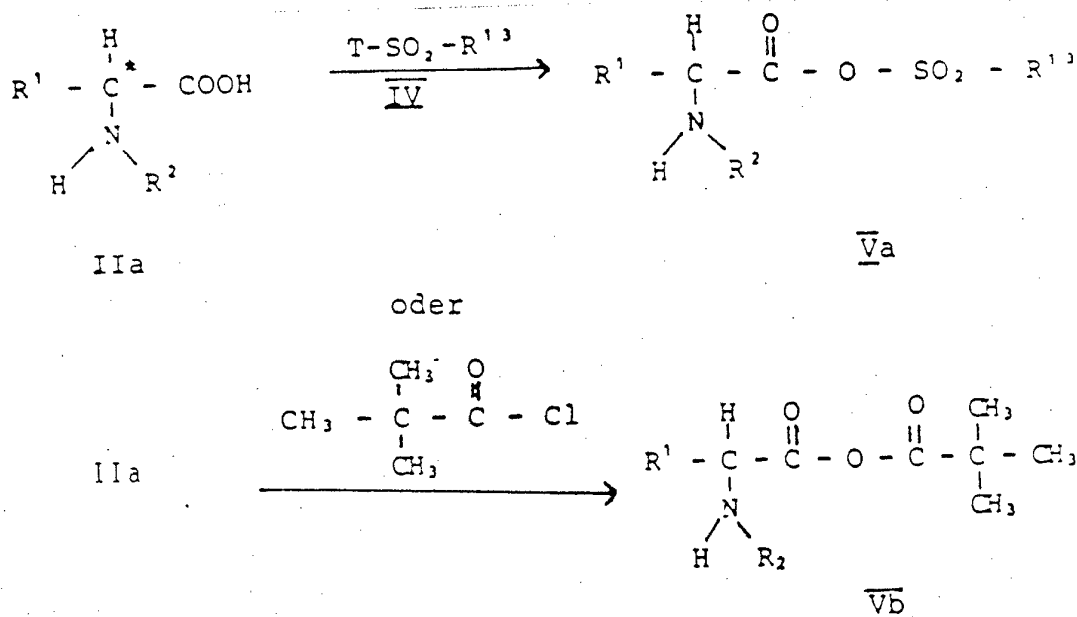


in welcher  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  und X die oben angegebene Bedeutung haben, zur Umsetzung gebracht werden, dann gegebenenfalls Schutzgruppen abgespalten werden und die gewünschten Salze oder aus Salzen die freien Säuren hergestellt werden.

Für die Kupplung der Aminosäuren der Formel II an  $\beta$ -Lactame der Formel III kann eine große Zahl von aus der Cephalosporin- bzw. Penicillinchemie bekannten Methoden verwendet werden.

Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, Aminosäuren der allgemeinen Formel II zu aktivieren und dann mit  $\beta$ -Lactamen der allgemeinen Formel III, die als Salze mit einem Amin in Lösung gebracht wurden, zu koppeln.

Besonders vorteilhaft ist die Aktivierung mit Pivalinsäurechlorid oder Sulfonsäurederivaten der Formel IV zu Anhydriden der Formel Va und Vb.



in welchen

- $\text{R}^1$  — die oben angegebene Bedeutung hat,  
 $\text{R}^2$  — für eine Aminoschutzgruppe steht,  
 $\text{T}$  — für einen Rest  $\text{R}^{13}-\text{SO}_2-\text{O}$  oder Halogen steht, und  
 $\text{R}^{13}$  — für  $\text{C}_1-\text{C}_{10}$ -Alkyl steht, das gegebenenfalls substituiert ist durch Fluor, Chlor, Cyano, Phenyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkoxy oder  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylthio, oder  
 — für gegebenenfalls durch Fluor, Chlor, Brom, Cyano,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkyl,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkoxy,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylthio,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ -Alkylcarbonyl, Nitro, Trifluormethyl substituiertes Phenyl steht.

Wenn  $\text{R}^{13}$  substituiert ist, sind vorzugsweise 1–3 Substituenten, vorzugsweise die genannten vorhanden.

Ganz besonders bevorzugt stellt  $\text{R}^{13}$  einen Methyl- oder p-Tolylrest dar.

Die gemischten Anhydride der Formel Va werden hergestellt, indem man die Säuren der Formel II und 1 bis 1,4-Äquivalente eines Amins in einem Lösungsmittel löst und mit 1 bis 1,2 Äquivalenten eines Sulfonsäurederivates der Formel IV reagieren läßt.

Als Lösungsmittel eignen sich alle Solventien, die unter den Reaktionsbedingungen stabil sind, wie z. B. Diethylether, Tetrahydrofuran, Acetonitril, Aceton, Methylenchlorid, Chloroform oder Dimethylformamid.

Als Amin eignen sich tertiäre Amine wie z. B. Triethylamin oder Tributylamin, aber auch sterisch gehinderte sekundäre Amine, wie z. B. Diisopropylamin.

Die Umsetzungen können bei Temperaturen zwischen  $-80^\circ\text{C}$  und Raumtemperatur durchgeführt werden, bevorzugt zwischen  $-60^\circ\text{C}$  und  $0^\circ\text{C}$ . Vorteilhaft wird die Aktivierung mit  $\text{Cl}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$  in Dimethylformamid bei  $-40^\circ\text{C}$  bis  $-60^\circ\text{C}$  innerhalb von 0,2 bis 24 Stunden, vorzugsweise 0,5 bis 5 Stunden, durchgeführt.

Zum Lösen der Verbindungen der Formel III können die bei der Herstellung der Verbindungen der Formel V genannten Lösungsmittel sowie als Base die dort genannten Amine verwendet werden.

Besonders vorteilhaft ist auch eine Aktivierung der Säuren der allgemeinen Formel II durch Überführung in einen aktivierten Ester mit beispielsweise N-Hydroxysuccinimid und Dicyclohexylcarbodiimid oder 1-Hydroxybenztriazol und Dicyclohexylcarbodiimid.

Als Lösungsmittel eignen sich alle Solventien, die sich auch für die Herstellung von Anhydriden der Formel V eignen.

Die Umsetzungen können bei Temperaturen zwischen  $-30^\circ\text{C}$  und  $+100^\circ\text{C}$  durchgeführt werden. Vorteilhaft wird mit 1-Hydroxybenztriazol und Dicyclohexylcarbodiimid in Dimethylformamid bei Raumtemperatur 2 bis 6 Stunden aktiviert, dann vom ausgefallenen Dicyclohexylharstoff abgesaugt und mit einer Verbindung der Formel III in Form einer Lösung ihres Aminalsatzes innerhalb von 2 bis 24 Stunden umgesetzt. Zum Lösen der Verbindungen der Formel III können die bei der Herstellung der Verbindungen der Formel V genannten Lösungsmittel sowie als Base die dort genannten Amine verwendet werden.

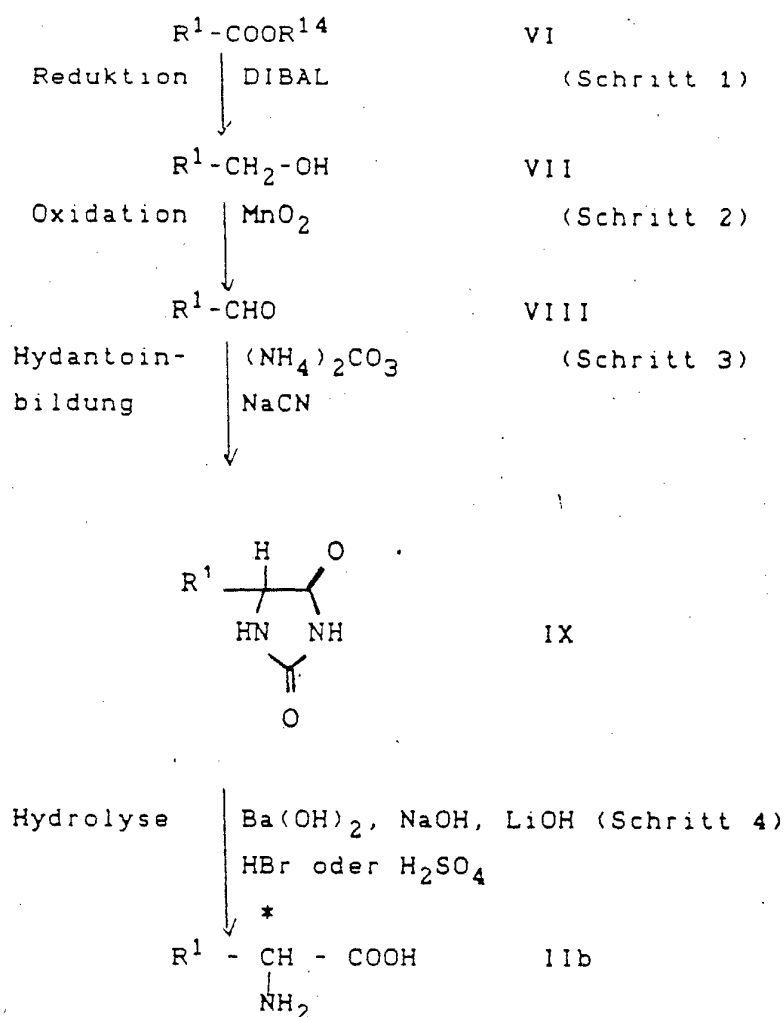
Literatur für Amino- und Carboxylschutz und Carboxyl-Aktivierung: M. Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, 1984, E. Gross, J. Meienhofer, The Peptides Vol. 2, Academic Press, 1980.

Die stereochemisch einheitlichen D- bzw. L-Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I erhält man, wenn man die Diastereomeregemische beispielsweise an HPLC-Säulen trennt.

Andererseits erhält man die reine D- bzw. L-Form (bevorzugt die D-Form), wenn man bereits auf der Stufe der racemischen Aminosäure der Formel II eine chemische Racematspaltung, z. B. mit Dehydroabietylamin, Phenylethylamin oder Camphersulfonsäure, oder eine Racemat-Spaltung z. B. über N-Acetyl-aminosäurederivate, z. B. mit Subtilisin, Penicillinacylase oder Schweinenierenacylase, vornimmt und anschließend die stereochemisch einheitlichen D- bzw. L-Formen der Verbindungen der Formel II in angegebener Weise umsetzt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel II sind nur zum Teil bekannt. Die Verbindungen der Formel II können nach literaturbekannten Verfahren, wie es im Schema 1 dargestellt wird, synthetisiert werden, wobei die Verbindungen der Formel VI die wichtigsten Schlüsselverbindungen für die neuen Aminosäuren der Formel II darstellen.

## Schema 1



$\text{R}^1$  hat die oben angegebene Bedeutung,

$\text{R}^{14}$  steht für  $\text{C}_1\text{--C}_4\text{-Alkyl}$ .

Die Reduktion von Estern mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL) und Natrium-bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydrid (Red-Al) zu Alkoholen (Schritt 1) ist in der Literatur beschrieben: E. Winterfeld, *Synthesis* **1975**, 617; A. E. G. Miller et al., *J. Org. Chem.* **24**, 627 (1959).

Die Oxidation primärer Alkohole mit Mangan(IV)-oxid oder Pyridiniumchromat zu Aldehyden (Schritt 2) ist in der Literatur bekannt:

Methoden der Organischen Chemie, Houben-Weyl, Bd. 4/1 b; G. Piancatelli et al., *Synthesis* **1982**, 245.

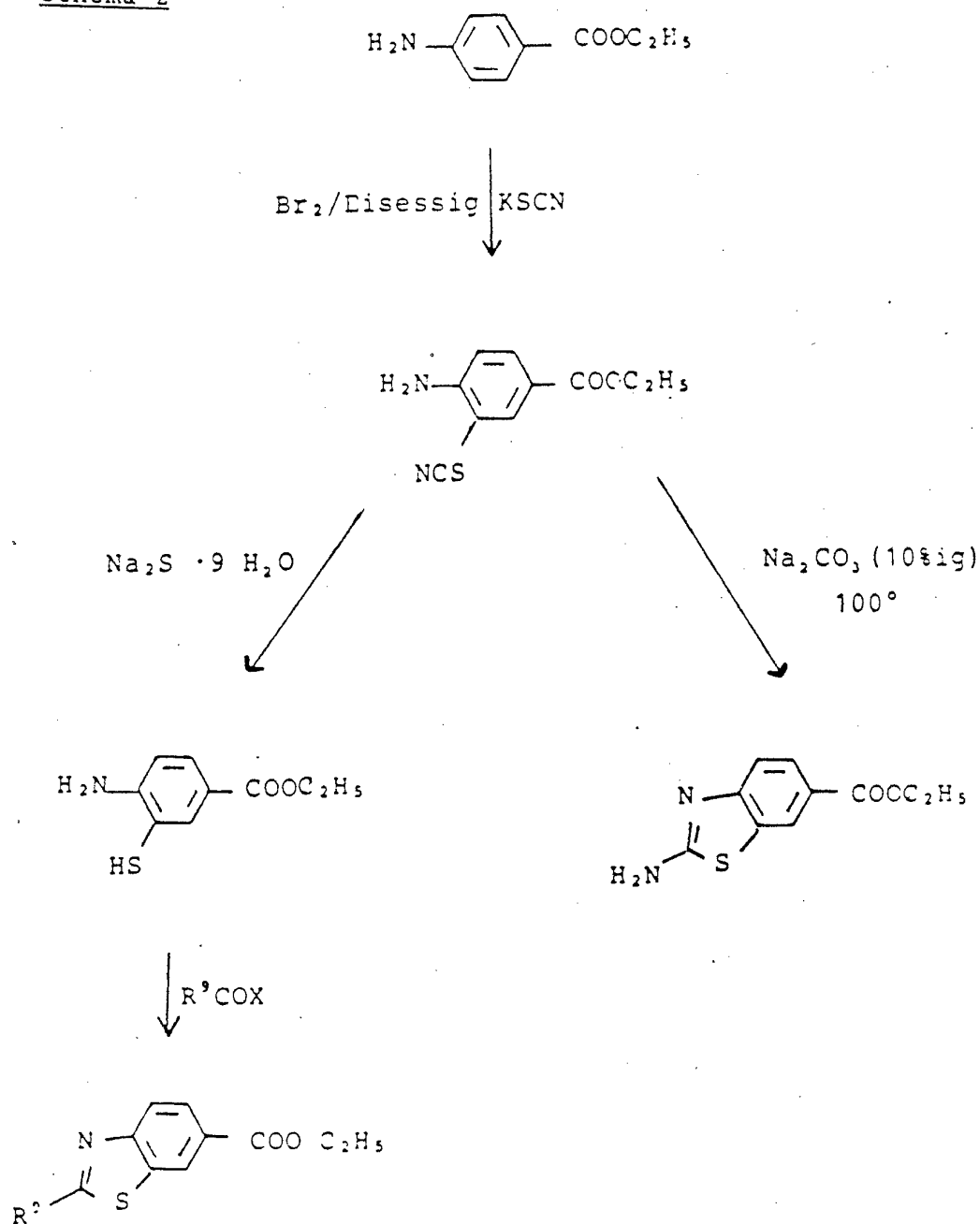
Die neuen Aminosäuren der Formel IIb erhält man, wenn man die Aldehyde mit Natriumcyanid und Ammoniumcarbonat nach literaturbekannten Verfahren (E. Ware, *Chemical Reviews* **46**, 403, [1950]) umsetzt (Schritt 3) und anschließend mit 10%iger Natronlauge, 48%iger Bromwasserstoffsäure, Bariumhydroxid- oder Lithiumhydroxidlösung hydrolysiert (Schritt 4).

Im folgenden wird beispielhaft die Darstellung einiger neuer Aminosäuren der allgemeinen Formel II bzw. deren Vorstufen beschrieben, wobei  $\text{R}^3\text{--R}^{14}$  die oben angegebene Bedeutung haben:

1) **Benzthiazolyl-glycine:**

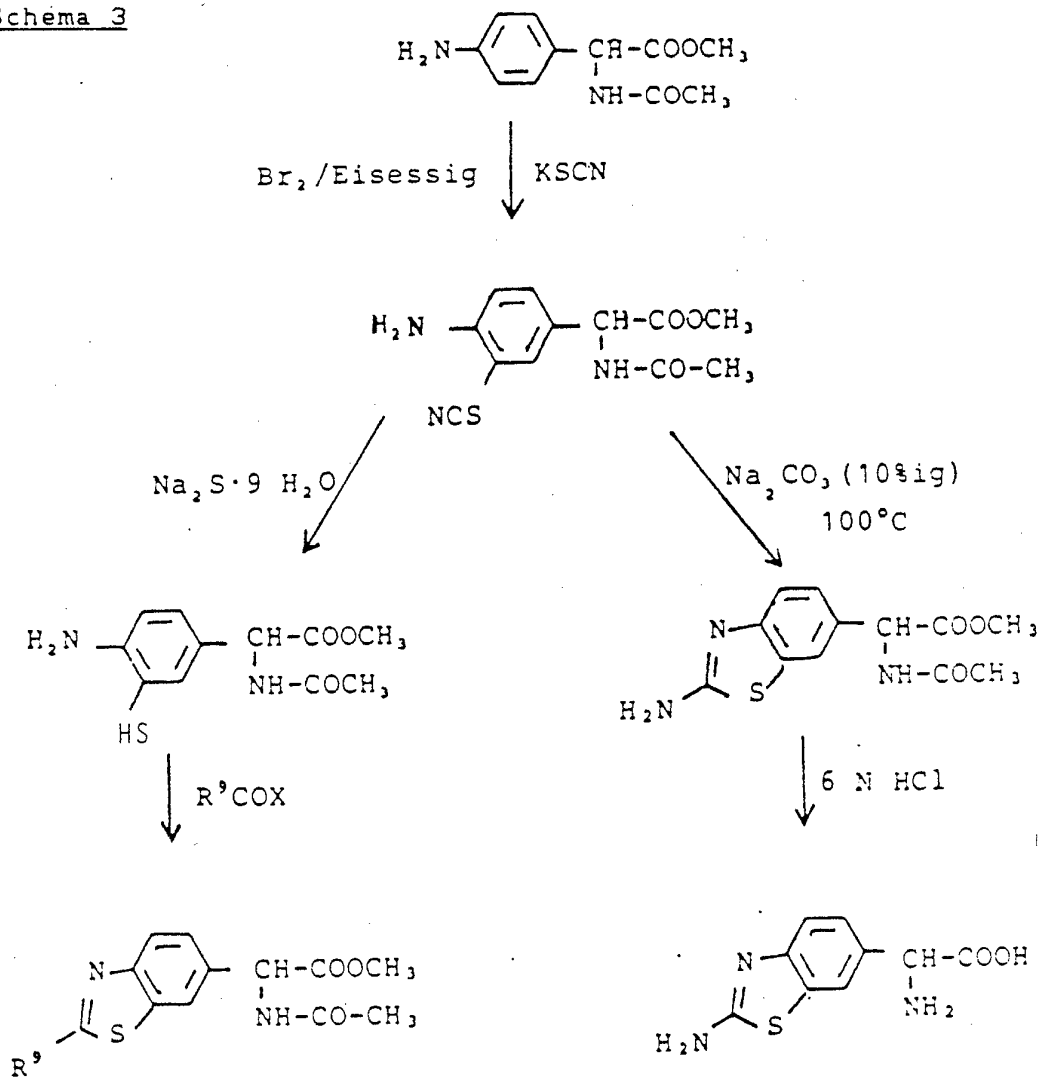
Ausgangsmaterial für die Synthese von substituierten Benzthiazolyl-glycinderivaten ist o-, m- oder p-Aminobenzoesäureester. Benzthiazol-carbonsäurederivate werden beispielsweise nach folgendem Syntheschema hergestellt:

Schema 2



Literatur: J. L. Wood, Substitution and Addition Reactions of Thiocyanogen, Organic Reactions, Vol. III, 240 (1946); M. T. Bogert et al., J. Am. Chem. Soc. **47**, 3078 (1925); M. T. Bogert, J. Am. Chem. Soc. **57**, 1529 (1935); J. M. Sprague et al., Thiazoles and Benzothiazoles, Heterocyclic Compounds, Vol. 5, 484 (1957), J. Wiley & Sons. Ausgangsmaterial für die Synthese von substituierten Benzthiazolyl-glycin-derivaten ist auch  $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(p-aminophenyl)-essigsäureester:

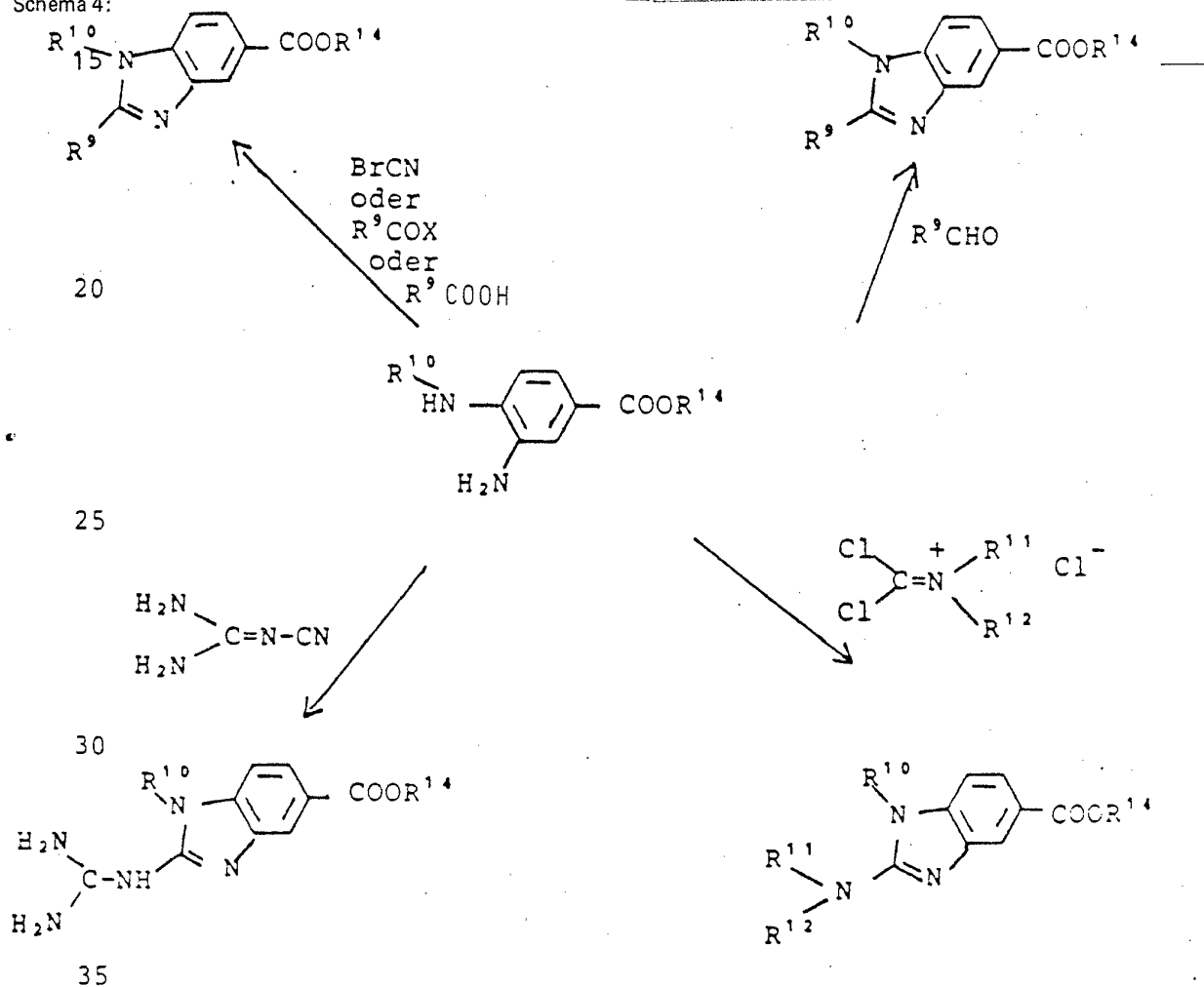
Scheme 3



## 2) Benzimidazolyl-glycine

Ausgangsmaterial für die Synthese von substituierten Benzimidazolyl-glycinderivaten ist z. B. 3,4-Diaminobenzoessäure. Die substituierten Benzimidazolcarbonsäureester werden beispielsweise nach folgendem Syntheschema dargestellt:

Schema 4:

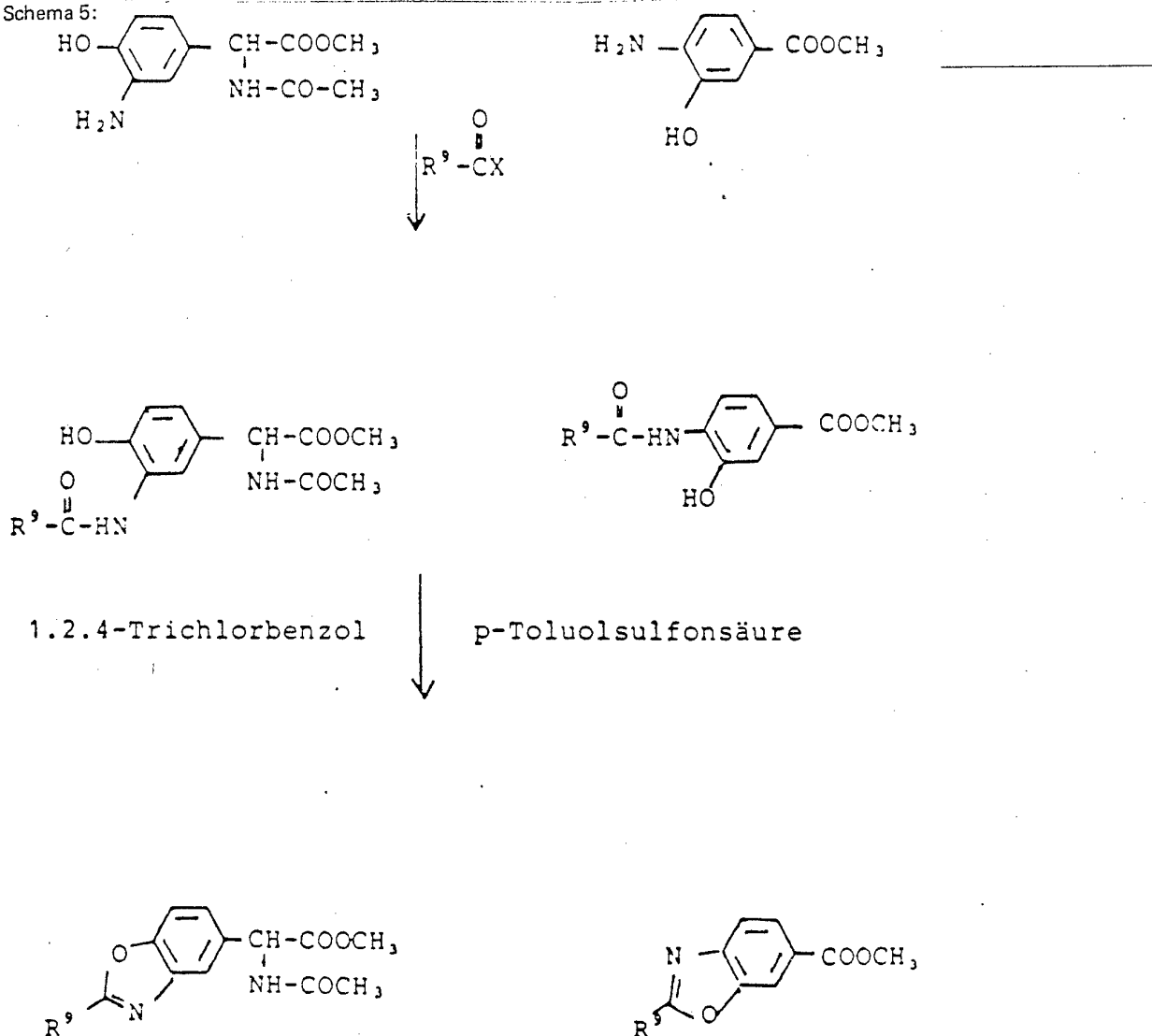


Literatur: P. N. Preston, Chemical Reviews 74, 279 (1974); R. Rastogi et al., Synthesis 1983, 861; P. N. Preston, Benzimidazoles and Congeneric Tricyclic Compounds, Heterocyclic Compounds, Vol. 40, I and II, J. Wiley & Sons (1980, 1981).

### 3) Benzoxazolyl-glycine

Für die Synthese von substituierten Benzoxazolyl-glycinderivaten verwendet man als Ausgangsmaterial 3-Amino-4-hydroxybenzoesäure, 3-Hydroxy-4-aminobenzoessäure und D- $\alpha$ -Amino-(3-amino-4-hydroxyphenyl)essigsäuremethylester. Die neuen anellierten Phenylglycinderivate und substituierten Benzoxazolcarbonsäurederivate werden beispielsweise nach folgendem Syntheschema dargestellt:

Schema 5:

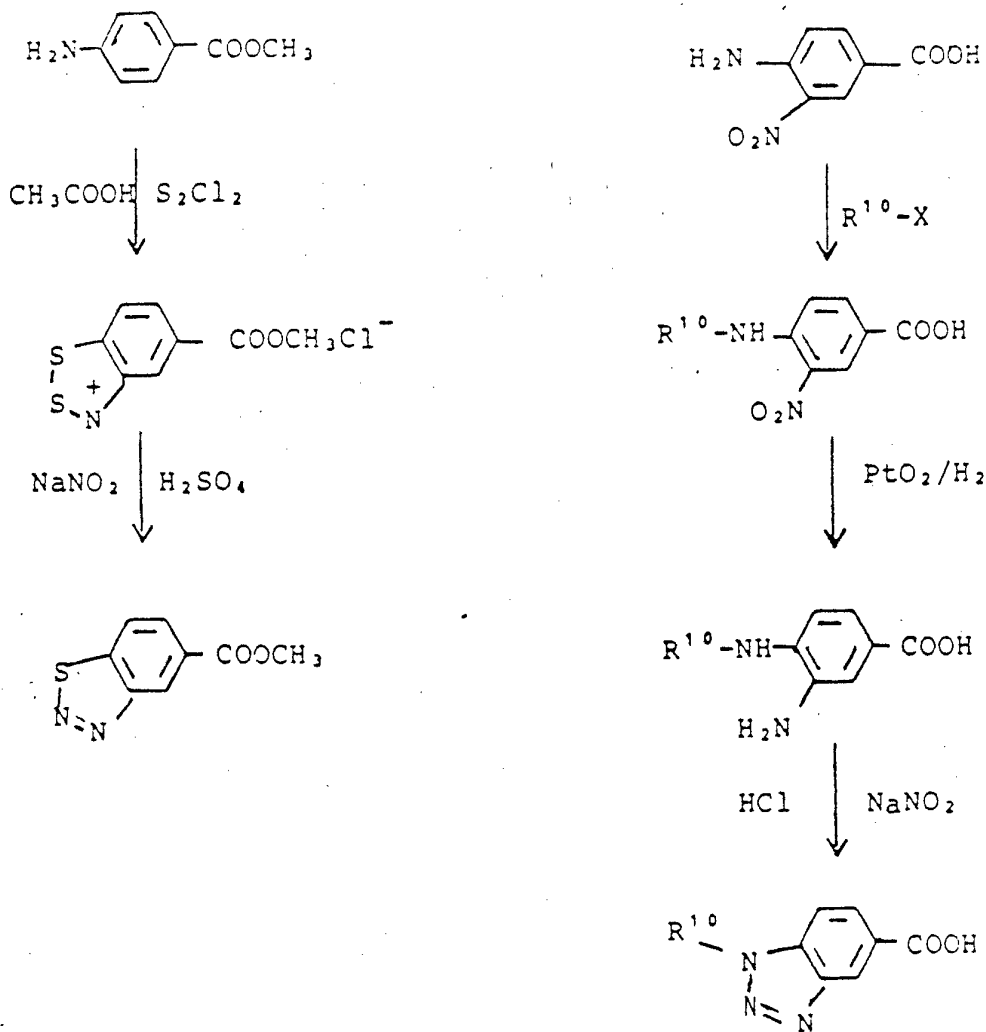


Literatur: J.W. Cornforth, Benzoxazoles and Related Systems, Heterocyclic Compounds, Vol. 5, 418, J. Wiley & Sons (1957); R. Lakham et al., Advances in Oxazole Chemistry, Advances in Heterocyclic Chemistry, Vol. 17, 99, Academic Press (1974).

#### 4) Benztriazolyl- und Benzthiadiazolyl-glycine

Für die Synthese von substituierten Benztriazolyl- und Benzthiadiazolylglycinen verwendet man 3,4-Diaminobenzoesäure und p-Aminobenzoesäureethylester als Ausgangsmaterial. Die neuen benzokondensierten Carbonsäuren bzw. -ester werden beispielsweise nach folgendem Syntheschema hergestellt:

Schema 6:



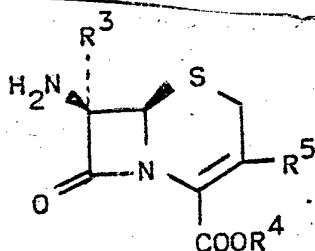
Literatur: J. B. Carr, J. Heterocyclic Chem. 9, 1149 (1972)

Die folgenden Penicillin- und Cephalosporin-Grundkörper der Formel III werden zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I eingesetzt.

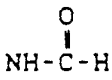
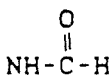
(R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> haben die oben angegebene Bedeutung).

##### 1) Cephalosporin-Grundkörper (III a)

Die verwendeten Cephalosporin-Grundkörper, Derivate von 7-Amino-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure (7-ACCA), 7-Amino-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (7-ACCA), 7-Amino-3-methoxy-3-cephem-4-carbonsäure, die in J. Med. Chem. 12, 310 (C. W. Ryan et al., 1969), US-PS 3994884 und DE-OS 2606196 beschrieben sind, werden durch folgende Formeln dargestellt:

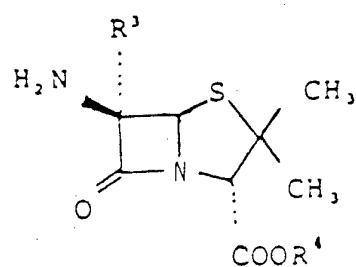


(III a)

| R <sup>3</sup>                                                                    | R <sup>4</sup>                                                                                                                                                              | R <sup>5</sup>                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| H                                                                                 | H                                                                                                                                                                           | CH <sub>3</sub>                |
| H                                                                                 | t-Butyl                                                                                                                                                                     | CH <sub>3</sub>                |
| H                                                                                 | H                                                                                                                                                                           | Cl                             |
| H                                                                                 | -CH- <br> | Cl                             |
| H                                                                                 | H                                                                                                                                                                           | H                              |
| CH <sub>3</sub> O                                                                 | Trimethylsilyl                                                                                                                                                              | Br                             |
| H                                                                                 | Allyl                                                                                                                                                                       | OCH <sub>3</sub>               |
|  | H                                                                                                                                                                           | Cl                             |
|  | t-Butyl                                                                                                                                                                     | CH <sub>3</sub>                |
| CH <sub>3</sub> S                                                                 | t-Butyl                                                                                                                                                                     | CH <sub>3</sub>                |
| H                                                                                 | H (bzw. Benzhydryl)                                                                                                                                                         | CH=CH <sub>2</sub>             |
| H                                                                                 | H (bzw. Benzhydryl)                                                                                                                                                         | CH=CH-CH <sub>3</sub><br>(cis) |

## 2) Penicillin-Grundkörper (IIIb)

Neben der 6-Aminopenicillinsäure mit ihren typischen Abwandlungen werden 6-β-Aminobisnorpenicillinsäure (Britisches Patent 1546622) und 6-α-Formamidopenicillin (P. H. Milner et al., J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1984, 1335) für die Herstellung der neuen Verbindungen der Formel I verwendet:



IIIB

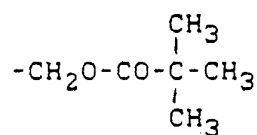
R<sup>3</sup>

R<sup>4</sup>

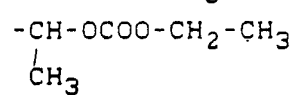
H

H

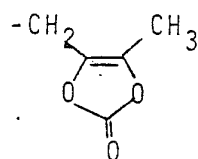
H



H



H



OCH<sub>3</sub>

Allyl

SCH<sub>3</sub>

Trimethylsilyl

NH-C(=O)-H

H

Ganz besonders bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen der Formel I sind in den Herstellungsbeispielen und in den folgenden Tabellen angeführt:

a) Cephalosporine (Tab. 1, 2)

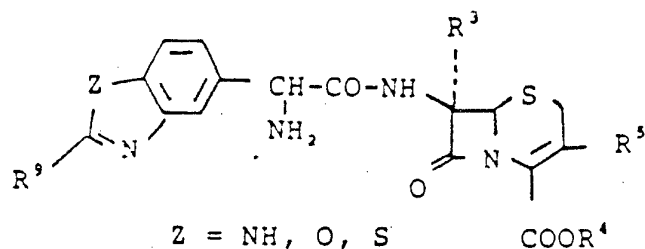
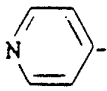
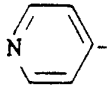
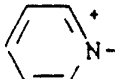
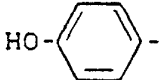
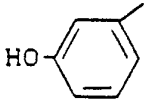
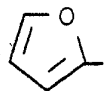
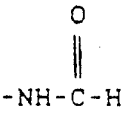
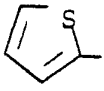
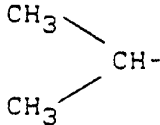


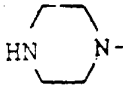
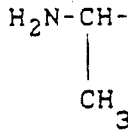
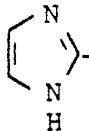
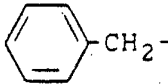
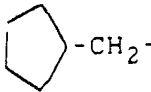
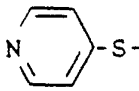
Tabelle 1

| $R^3$ | $R^4$ | $R^5$          | $R^9$                                                                               |
|-------|-------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| H     | H     | Cl             |  |
| H     | H     | $\text{CH}_3$  |  |
| H     | H     | $\text{OCH}_3$ |  |
| H     | H     | Cl             | $\text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}-$<br>$\parallel$<br>$\text{H}_2\text{N}$     |
| H     | H     | $\text{OCH}_3$ | $\text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}-$<br>$\parallel$<br>$\text{H}_2\text{N}$     |

Tabelle 1 (Fortsetzung)

| R <sup>3</sup>                                                                       | R <sup>4</sup> | R <sup>5</sup>      | R <sup>9</sup>                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H                                                                                    | H              | CH <sub>3</sub>     | $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \diagdown \\ \text{C}-\text{NH}- \\ \diagup \text{HN} \end{array}$ |
| $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{NH}-\text{C}-\text{H} \end{array}$ | Na             | Cl                  | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown \\ \text{N}- \\ \diagup \text{CH}_3 \end{array}$                |
| H                                                                                    | H              | OCH <sub>3</sub>    | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown \\ \text{N}- \\ \diagup \text{CH}_3 \end{array}$                |
| H                                                                                    | H              | CH <sub>3</sub>     | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown \\ \text{N}- \\ \diagup \text{CH}_3 \end{array}$                |
| H                                                                                    | H              | -CH=CH <sub>2</sub> | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown \\ \text{N}- \\ \diagup \text{CH}_3 \end{array}$                |
| $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{NH}-\text{C}-\text{H} \end{array}$ | H              | Cl                  |                      |
| H                                                                                    | t-Butyl        | OCH <sub>3</sub>    |                      |

| R <sup>3</sup>                                                                      | R <sup>4</sup> | R <sup>5</sup>      | R <sup>9</sup>                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| H                                                                                   | H              | CH <sub>3</sub>     |    |
| H                                                                                   | H              | S-CH <sub>3</sub>   |    |
| H                                                                                   | Allyl          | Cl                  |    |
| H                                                                                   | H              | Cl                  |    |
| H                                                                                   | H              | OCH <sub>3</sub>    |    |
| H                                                                                   | H              | -CH=CH <sub>2</sub> |   |
|  | H              | Cl                  |  |
| H                                                                                   | H              | OCH <sub>3</sub>    |  |
| H                                                                                   | H              | Cl                  |  |

| $R^3$ | $R^4$ | $R^5$            | $R^9$                                                                                |
|-------|-------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| H     | H     | Cl               |     |
| H     | H     | OCH <sub>3</sub> | H <sub>2</sub> N-CH <sub>2</sub> -                                                   |
| H     | H     | Cl               |     |
| H     | H     | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> O-CH <sub>2</sub> -                                                  |
| H     | H     | Cl               |    |
| H     | H     | OCH <sub>3</sub> |  |
| H     | H     | Cl               | CH <sub>3</sub> S-                                                                   |
| H     | H     | CH <sub>3</sub>  |  |
| H     | H     | Cl               |  |

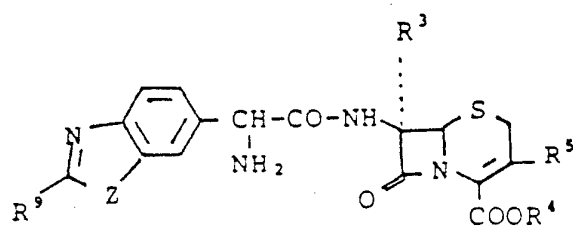


Tabelle 2

| $R^3$                                             | $R^4$  | $R^5$            | $R^9$                                                                               |
|---------------------------------------------------|--------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| H                                                 | H      | Cl               | CH <sub>3</sub>                                                                     |
| $\begin{array}{c} O \\    \\ -NH-C-H \end{array}$ | H      | Cl               | CH <sub>3</sub>                                                                     |
| OCH <sub>3</sub>                                  | Allyl- | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>                                                                     |
| H                                                 | H      | Cl               | H                                                                                   |
| H                                                 | H      | OCH <sub>3</sub> | H                                                                                   |
| H                                                 | H      | Cl               | H <sub>2</sub> N-                                                                   |
| H                                                 | H      | Cl               |  |
| $\begin{array}{c} O \\    \\ -NH-C-H \end{array}$ | H      | CH <sub>3</sub>  |  |
| H                                                 | H      | OCH <sub>3</sub> |  |

| $R^3$ | $R^4$       | $R^5$     | $R^9$                                                                                               |
|-------|-------------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H     | Benzyhydryl | $CH_3$    |                    |
| H     | H           | Cl        |                    |
| H     | H           | Cl        |                    |
| H     | H           | $OCH_3$   |                    |
| H     | H           | $CH=CH_2$ |                    |
| H     | H           | Cl        |                    |
| H     | H           | $CH_3$    |                   |
| H     | H           | Cl        | $\begin{array}{c} \text{HN} \\ \parallel \\ \text{C-NH-} \\   \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$    |
| H     | H           | Cl        | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH-} \end{array}$                               |
| H     | H           | $CH_3$    | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH-} \end{array}$                               |
| H     | Benzhydryl  | $CH_3$    | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH-} \\   \\ \text{CH}_3\text{NH-} \end{array}$ |

| $R^3$ | $R^4$ | $R^5$               | $R^9$                              |
|-------|-------|---------------------|------------------------------------|
| H     | H     | Cl                  | HO-                                |
| H     | H     | CH <sub>3</sub>     | CH <sub>3</sub> S-                 |
| H     | H     | Cl                  | CH <sub>3</sub> -SO <sub>2</sub> - |
| H     | H     | -CH=CH <sub>2</sub> | HO <sub>3</sub> S-                 |
| H     | H     | Cl                  | HO <sub>3</sub> S                  |

b) Penicilline (Tab. 3,4)

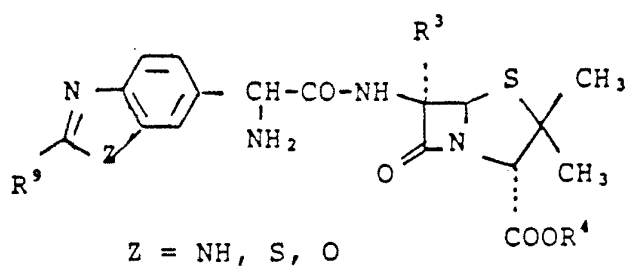
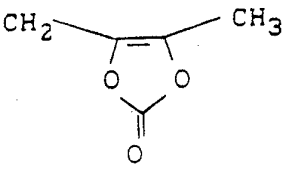
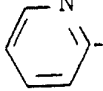
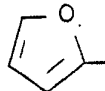
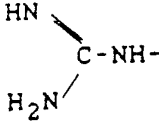
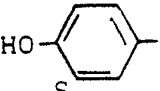


Tabelle 3

| $R^3$                                                                        | $R^4$ | $R^9$             |
|------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------|
| H                                                                            | H     | H                 |
| $\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{NH}-\text{C}-\text{H} \end{array}$ | H     | CH <sub>3</sub> - |

| R <sup>3</sup>   | R <sup>4</sup>                                                                                                    | R <sup>9</sup>                                                                      |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| H                | $\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{O}-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ | CH <sub>3</sub> -                                                                   |
| H                | OCH <sub>3</sub>                                                                                                  |    |
| H                |                                  |    |
| H                | H                                                                                                                 |    |
| H                | H                                                                                                                 |    |
| H                | H                                                                                                                 |   |
| OCH <sub>3</sub> | H                                                                                                                 |  |
| H                | H                                                                                                                 |  |
| H                | H                                                                                                                 |  |
| H                | H                                                                                                                 |  |

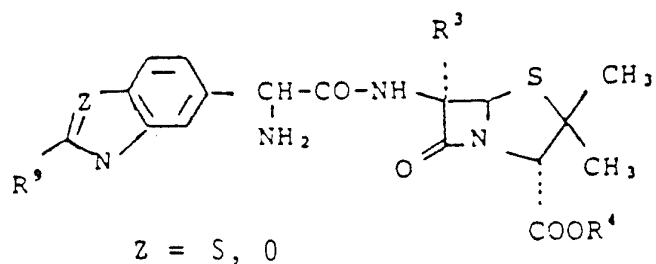
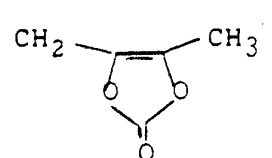
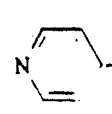
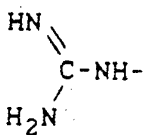
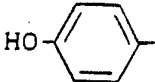


Tabelle 4

| $R^3$                                            | $R^4$                                                                               | $R^9$                                                                               |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| H                                                | H                                                                                   | H                                                                                   |
| $\begin{array}{c} O \\    \\ NH-C-H \end{array}$ | H                                                                                   | $CH_3-$                                                                             |
| H                                                | $\begin{array}{c} -CH-O-CO-O-C_2H_5 \\   \\ CH_3 \end{array}$                       | $CH_3-$                                                                             |
| H                                                | $OCH_3$                                                                             |  |
| H                                                |  |  |
| H                                                | H                                                                                   |  |

| $R^3$            | $R^4$ | $R^9$                                                                              |
|------------------|-------|------------------------------------------------------------------------------------|
| H                | H     |   |
| H                | H     |   |
| OCH <sub>3</sub> | H     |   |
| H                | H     |   |
| H                | H     |   |
| H                | H     |  |

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I weisen bei geringer Toxizität ein breites antibakterielles Spektrum gegen gram-positive und gram-negative Keime auf, insbesondere gegen Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken und Haemophilus influenzae.

Bei parenteraler oder insbesondere oraler Verabreichung sind die neuen Verbindungen gegen Mikroorganismen wie Staphylokokken, z. B. *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*; Streptokokken wie z. B. *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecalis*, Enterobakteriaceen, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, z. B. *Proteus mirabilis*, sehr gut wirksam.

Diese Eigenschaften ermöglichen ihre Verwendung als chemotherapeutische Wirkstoffe in der Human- und Tiermedizin. In der folgenden Tabelle sind die minimalen Hemmkonzentrationen (MHK-Werte,  $\mu\text{g/ml}$ ) für die dort aufgeführten erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I im Vergleich mit Cefaclor (M. Gorman et al., Cefaclor, *Chronicles of Drug Discovery*, Vol. 2, 49, J. Wiley & Sons [1983]) angegeben. Die MHK-Werte werden durch den Agarverdünnungstest mit Hilfe eines Multipoint-Inokulators bestimmt, wobei diese Ablesung nach 18 bis 24-stündiger Bebrütung bei 37°C erfolgt. Als Wachstumsmedium wird Isosensitest-Agar verwendet.

[illegible]

| Keime                | Beispiele |       |        |       |       |       |       |       |
|----------------------|-----------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Prot. vulg. 9 023    | 128       | 64    | > 128  | 128   | > 128 | 128   | > 256 | 64    |
| Prot. vulg. 1 017    | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | 128   | > 128 |
| Prot. vulg. N 6      | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | 4     | > 128 |
| Prot. rett. 10 007   | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Prot. mir 1 235      | 1         | 2     | 4      | 8     | 8     | 2     | 4     | 4     |
| Staph. 1 756         | 128       | 128   | 128    | > 128 | 128   | 128   | > 256 | > 128 |
| Staph. 133           | 0,5       | 0,5   | 2      | 4     | 2     | 1     | 1     | 2     |
| Staph. 25 022        | 0,5       | 0,5   | 2      | 4     | 4     | 1     | 2     | 4     |
| Staph. 25 470        | 128       | 64    | > 128  | > 128 | 128   | > 128 | > 256 | > 128 |
| Staph. E 25 185      | 0,06      | 0,125 | 64     | 0,5   | 8     | 0,25  | 2     | 16    |
| Strept. faec. 27 101 | 16        | 128   | 128    | > 128 | 64    | 128   | > 256 | 64    |
| Strept. faec. 113    | 16        | 32    | 64     | 128   | 120   | 64    | > 256 | 128   |
| Enterococ. 9 790     | 8         | 32    | 32     | 64    | 32    | 64    | > 256 | 64    |
| Enterococ. 27 158    | 2         | 16    | 32     | 32    | 8     | 64    | > 256 | 32    |
| Psdm. F 41           | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Psdm. Walter         | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Psdm. 7 035          | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Psdm. 7 451          | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Enterob. cl. 5 605   | > 128     | > 128 | > 128  | > 128 | > 128 | > 128 | > 256 | > 128 |
| Enterob. cl. 5 744   | 128       | 32    | 8      | 64    | 64    | 16    | > 256 | 8     |
| Achrob. 2 005        | 0,25      | 0,5   | < 0,06 | 2     | 0,25  | 0,5   | 0,5   | 0,25  |

#### MHK-Werte von oralwirksamen Cephalosporinen

Beispielsweise können lokale und/oder systematische Erkrankungen behandelt und/oder verhindert werden, die durch die oben genannten Erreger oder durch deren Mischungen verursacht werden. Als Krankheiten, die durch die erfindungsgemäßen Verbindungen verhindert, gebessert und/oder geheilt werden können, seien beispielsweise genannt:

Erkrankungen der Atemwege und des Rachenraumes; Otitis; Pharyngitis; Pneumonie; Peritonitis; Pyelonephritis; Cystitis; Endocervicitis; Systeminfektionen; Bronchitis; Arthritis; lokale Infektionen.

Zur vorliegenden Erfindung gehören pharmazeutische Zubereitungen, die neben nichttoxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen einen oder mehrere erfindungsgemäße Verbindungen enthalten oder die aus einem oder mehreren erfindungsgemäßen Wirkstoffen bestehen sowie Verfahren zur Herstellung dieser Zubereitungen.

Zur vorliegenden Erfindung gehören auch pharmazeutische Zubereitungen in Dosierungseinheiten. Dies bedeutet, daß die Zubereitungen in Form einzelner Teile, z. B. Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Suppositorien und Ampullen vorliegen, deren Wirkstoffgehalt einem Bruchteil oder einem Vielfachen einer Einzeldosis entsprechen. Die Dosierungseinheiten können z. B. 1, 2, 3 oder 4 Einzeldosen oder  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{3}$  oder  $\frac{1}{4}$  einer Einzeldosis enthalten. Eine Einzeldosis enthält vorzugsweise die Menge Wirkstoff, die bei einer Applikation verabreicht wird und die gewöhnlich einer ganzen, einer halben oder einem Drittel oder einem Viertel einer Tagesdosis entspricht.

Unter nichttoxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen sind feste, halbfeste oder flüssige Verdünnungsmittel, Füllstoffe oder Formulierungshilfsmittel jeder Art zu verstehen.

Als bevorzugte pharmazeutische Zubereitungen seien Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Granulate, Suppositorien, Lösungen, Suspensionen und Emulsionen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotions, Puder und Sprays genannt.

Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen und Granulate können den oder die Wirkstoffe neben den üblichen Trägerstoffen enthalten, wie (a) Füll- und Streckmittel, z. B. Stärke, Milchzucker, Rohrzucker, Glukose, Mannit und Kieselsäure, (b) Bindemittel, z. B.

Carboxymethylcellulose, Alginate, Gelatine, Polyvinylpyrrolidon, (c) Feuchthaltemittel, z. B. Glycerin, (d) Sprengmittel, z. B.

Agar-Agar, Calciumcarbonat und Natriumcarbonat, (e) Lösungsverzögerer, z. B. Paraffin und (f) Resorptionsbeschleuniger, z. B. quaternäre Ammoniumverbindungen, (g) Netzmittel, z. B. Cetylalkohol, Glycerinmonostearat, (h) Adsorptionsmittel, z. B. Kaolin und Bentonit und (i) Gleitmittel, z. B. Talkum, Calcium- und Magnesiumstearat und feste Polyethylenglykole oder Gemische der unter (a) bis (i) aufgeführten Stoffe.

Die Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen und Granulate können mit den üblichen gegebenenfalls Opakisierungsmitteln enthaltenen Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt sein, daß sie den oder die Wirkstoffe nur oder bevorzugt in einem bestimmten Teil des Intestinaltraktes gegebenenfalls verzögert abgeben, wobei als Einbettungsmassen z. B.

Polymersubstanzen und Wachse verwendet werden können.

Der oder die Wirkstoffe können gegebenenfalls mit einem oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Suppositorien können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen wasserlöslichen oder wasserunlöslichen Trägerstoffen enthalten, z. B. Polyethylenglykole, Fette, z. B. Kakaofett und höhere Ester (z. B.  $C_{14}$ -Alkohol mit  $C_{16}$ -Fettsäure) oder Gemische dieser Stoffe.

Salben, Pasten, Cremes und Gele können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, z. B. tierische und pflanzliche Fette, Wachse, Paraffine, Stärke, Tragant, Cellulosederivate, Polyethylenglykole, Silicone, Bentonite, Kieselsäure, Talkum und Zinkoxid oder Gemische dieser Stoffe.

Puder und Sprays können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, z. B. Milchzucker, Talkum, Kieselsäure, Aluminiumhydroxid, Calciumsilikat und Polyamidpulver oder Gemische dieser Stoffe. Sprays können zusätzlich die üblichen Treibmittel z. B. Chlorfluorkohlenwasserstoffe enthalten.

Lösungen und Emulsionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie Lösungsmittel, Lösungsvermittler und Emulgatoren, z. B. Wasser, Ethylalkohol, Isopropylalkohol, Ethylcarbonat, Ethylacetat, Benzylalkohol, Benzylbenzoat, Propylenglykol, 1,4-Butylenglykol, Dimethylformamid, Öle, insbesondere Baumwollsaatöl, Erdnußöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Ricinusöl und Sesamöl, Glycerin, Glycerinformal, Tetrahydrofurfurylalkohol, Polyethylenglykole und Fettsäureester des Sorbitans oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Zur parenteralen Applikation können die Lösungen und Emulsionen auch in steriler und blutisotonischer Form vorliegen. Suspensionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie flüssige Verdünnungsmittel, z. B. Wasser, Ethylalkohol, Propylenglykol, Suspendiermittel, z. B. ethoxylierte Isostearylalkohole, Polyoxyethylensorbit- und Sorbitanester, mikrokristalline Cellulose, Aluminiummetahydroxid, Bentonit, Agar-Agar und Tragant oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Die genannten Formulierungsformen können auch Färbemittel, Konservierungsstoffe sowie geruchs- und geschmacksverbesserte Zusätze, z. B. Pfefferminzöl und Eukalyptusöl und Süßmittel, z. B. Saccharin, enthalten.

Die therapeutisch wirksamen Verbindungen sollen in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-% der Gesamt Mischung vorhanden sein.

Die oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer den erfindungsgemäßen Verbindungen auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten.

Die Herstellung der oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen erfolgt in üblicher Weise nach bekannten Methoden, z. B. durch Mischen des oder der Wirkstoffe mit dem oder den Trägerstoffen.

Die Wirkstoffe oder die pharmazeutischen Zubereitungen können lokal, oral, parenteral, intraperitoneal und/oder rectal, vorzugsweise oral oder parenteral wie intravenös oder intramuskulär appliziert werden.

Im allgemeinen hat es sich sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen, den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe in Gesamtmengen von etwa 5 bis 1 000, vorzugsweise 10 bis 200 mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, gegebenenfalls in Form mehrerer Einzelgaben, zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu verabreichen. Eine Einzelgabe enthält den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe, vorzugsweise in Mengen von etwa 1 bis etwa 250, insbesondere 3 bis 60 mg/kg Körpergewicht. Es kann jedoch erforderlich sein, von den genannten Dosierungen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von der Art und dem Körpergewicht des zu behandelnden Objekts, der Art und der Schwere der Erkrankung, der Art der Zubereitung und der Applikation des Arzneimittels sowie dem Zeitraum bzw. Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der obengenannten Menge Wirkstoff auszukommen, während in anderen Fällen die oben angeführte Wirkstoffmenge überschritten werden muß. Die Festlegung der jeweils erforderlichen optimalen Dosierung und Applikationsart der Wirkstoffe kann durch jeden Fachmann aufgrund seines Fachwissens leicht erfolgen.

Im Falle der Anwendung als Futterzusatzmittel können die neuen Verbindungen in den üblichen Konzentrationen und Zubereitungen zusammen mit dem Futter bzw. mit Futterzubereitungen oder mit dem Trinkwasser gegeben werden. Dadurch kann eine Infektion durch gramnegative oder grampositive Bakterien verhindert, gebessert und/oder geheilt werden und ebenso eine Förderung des Wachstums und eine Verbesserung der Verwertung des Futters erreicht werden.

Die neuen Verbindungen zeichnen sich durch starke antibakterielle Wirkungen, die in vivo und in vitro geprüft wurden, und durch orale Resorbierbarkeit aus.

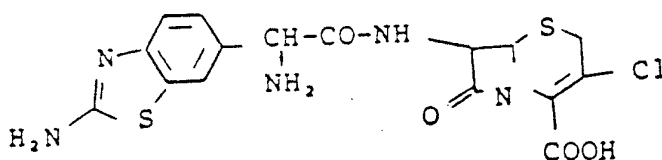
Die erfindungsgemäßen Verbindungen können zum Zwecke der Erweiterung des Wirkungsspektrums und um eine Wirkungssteigerung zu erreichen auch mit anderen antimikrobiell aktiven Verbindungen und Lactamaseinhibitoren, z. B. mit Clavulansäure und Penicillinen, die besonders penicillinase-resistent sind, oder mit Aminoglykosidantibiotika, wie z. B. Aminoglykosidantibiotika, wie z. B. Gentamicin, Sisomicin, Kanamycin, Amikacin oder Tobramycin kombiniert werden.

### Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele weiter erläutert.

#### Beispiel 1

DL-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



#### a) 2-Amino-6-hydroxymethyl-benzothiazol (1a)

50 g (0,225 mol) 2-Amino-benzothiazol-carbonsäure-6-ethylester werden in 1000 ml THF suspendiert, auf  $-70^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 562,5 ml (0,675 mol) Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL, 20%ig in Toluol, 1,2 molar) unter Stickstoff langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei  $-70^{\circ}\text{C}$  bis  $-40^{\circ}\text{C}$  und anschließend noch 3 Std. ohne Kühlung gerührt. Danach kühlt man auf  $-70^{\circ}\text{C}$ , tropft 61,5 ml Wasser hinzu (stark exotherme Reaktion) und läßt auf Raumtemperatur kommen. Man gibt 305 ml gesättigte Kochsalzlösung hinzu und rührt 1 Stunde bei  $20^{\circ}\text{C}$ . Ausgefallenes Aluminiumhydroxid wird abgesaugt, mit THF nachgewaschen und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft (36g). Der Rückstand wird in siedendem Ethanol gelöst, von etwas Unlöslichem abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft.

Ausbeute: 25,5 g (63%)

$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$  (180,2)

NMR (DMSO):  $\delta = 4,5$  (d, 2H), 5,13 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,3 (d, 1H), 7,4 (s, 2H), 7,59 (s, 1H) ppm.

## b) 2-Aminobenzothiazol-6-carboxaldehyd (1b)

110,5 g (0,613 mol) 1a werden in 200 ml THF mit 319,8 g 63,678 mol) Mangan (IV)-oxid 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird filtriert, der Filtrerrückstand mit THF gewaschen und das Filtrat i. Vak. eingeeengt.

Ausbeute: 74 g (68%)

$C_8H_6N_2OS$  (178,1)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 7,48 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,8 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,08 (s, 2H), 8,26 (s, 1H), 9,92 (s, 1H) ppm.

## c) 5-(2-Aminobenzothiazol-6-yl)-2,4-imidazolidindion (1c)

22,5 g (0,126 mol) 1b gelöst in 400 ml Methanol werden zu einer Lösung von 50,9 g (0,531 mol) Ammoniumcarbonat und 9,6 g (0,196 mol) Natriumcyanid in 400 ml Wasser zugetropft und 20 Std. bei 60°C gerührt. Nach Abdestillieren des Methanols i. Vak. wird die Restlösung bei 0°C mit 2 N HCl auf pH 2 angesäuert, danach mit 2 N Natronlauge auf pH 4 zurückgestellt und das ausgefallene Produkt abgesaugt.

Ausbeute: 20,5 g (65%)

$C_{10}H_8N_4O_2S$  (248,3)

Ber.: C 48,38 H 3,25 N 22,56 S 12,91

Gef.: C 48,4 H 3,5 N 21,2 S 12,3

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,17 (s, 1H), 7,17 (q, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 8,4 (s, 1H), 10,6–10,82 breites s, 1H) ppm.

d) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäure (DL-6-Amino-benzothiazolyglycin, 1d)

20 g (0,081 mol) 1c werden mit 19,4 g (0,81 mol) Lithiumhydroxid in 400 ml Wasser unter Rühren 24 Std. auf 100°C erhitzt. Die Lösung wird heiß filtriert, der Filtrerrückstand mit heißem Wasser nachgewaschen und das Filtrat bei Eiskühlung mit konz. HCl auf pH 2 angesäuert. Man rührt 15 Minuten bei 0°C und stellt die Lösung mit dem ausgefallenen Produkt auf pH 4,5 zurück. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser/Aceton nachgewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 10,4 g (56%)

$C_9H_9N_3O_2S \cdot 1/2 H_2O$  (232,3)

Ber.: C 45,05 H 4,20 N 17,51 S 13,36

Gef.: C 45,3 H 4,6 N 15,5 S 13,4

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 5,11 (s, 1H), 7,8 (s, 2H), 8,11 (s, 1H) ppm.

e) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-t-butyloxycarbonylamino-benzothiazol-6-yl)essigsäure (di-Boc-Derivat) und DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäure (Mono-Boc-Derivat) (1e).

20 g (0,0896 mol) 1d werden in 100 ml Wasser, 130 ml Dioxan suspendiert und mit 140 ml 2 N Natronlauge in Lösung gebracht. Anschließend werden 78,1 g (0,358 mol) Di-t-butylidicarbonat in 30 Minuten zugetropft und über Nacht gerührt. Dioxan wird abdestilliert, die Restlösung mit  $H_2O$  verdünnt und mit Essigester/Petrolether gewaschen. Die wäßrige Phase wird bei Eiskühlung mit 2 N HCl auf pH 2 angesäuert und zweimal mit Essigester/THF (1:1) extrahiert. Nach Waschen mit Kochsalzlösung, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Einengen der organischen Phase erhält man ein Gemisch von Mono- und Di-Boc-Derivat.

Ausbeute: 24,7 g

Die Chromatographie erfolgt an Kieselgel (Merck, 0,04–0,063 mm) mit Laufmitteln in folgender Reihenfolge:

1. 2000 ml  $CH_2Cl_2$  2. 4000 ml  $CH_2Cl_2$ /Methanol (10:0,5) 3.  $CH_2Cl_2$ /Methanol (10:1) 4.  $CH_2Cl_2$ /Methanol (1:1),

## Di-Boc-Derivat (1e)

Ausbeute: 8,7 g (26%)

$C_{19}H_{25}N_3O_6S$  (423,5)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,37 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 5,12 (d, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,65 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H) ppm.

## Mono-Boc-Derivat

Ausbeute: 9,2 g (32%)

$C_{14}H_{17}N_3O_4S$  (323,4)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,36 (s, 9H), 4,98 (d, 1H), 7,2–7,3 (q, 2H), 7,48 (s, 2H), 7,54 (s, 1H) ppm.

## f) DL-7-[2-(t-Butyloxycarbonylamino)-2-(2-t-butyloxycarbonylamino-benzothiazol-6-yl)acetamido]-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (1f)

## Aktivierung der Precursorsäure

5,1 g (12 mmol) 1e werden in 40 ml DMF gelöst, mit 1,69 ml (12 mmol) Triethylamin versetzt, bei –40°C 1,48 ml (12 mmol) Pivaloylchlorid tropfenweise zugespritzt und 3 Std. bei –30°C bis –15°C gerührt.

## Zubereitung der Aminkomponente

2,83 g (12 mmol) 7-Amino-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (7-ACCA) werden in 20 ml THF und 10 ml Wasser suspendiert und mit konz. Triethylamin in Lösung gebracht (pH 8,3). Danach werden 5 ml DMF zugegeben, um eine Phase zu bekommen.

## Kupplung und Isolierung

Die 7-ACCA-Lösung wird zum gebildeten Anhydrid bei –40°C zugespritzt und im Kältebad gerührt. Nach 1 Std. gibt man 10–20 ml  $H_2O$  hinzu und stellt den pH mit 10% Triethylamin/THF auf 7,3 ein. Nach weiteren 2 Std. gibt man 200 ml  $H_2O$  hinzu, versetzt unter Rühren mit Essigester/THF (2:1) und säuert bei 0°C auf pH 1,7 an. Die organische Schicht wird abgetrennt, mit Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet, bis auf 30 ml eingeeengt, in Petrolether eingerührt, ausgefallenes Produkt abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 6,2 g (81%), Gehalt: 66% nach HPLC.

$C_{26}H_{30}ClN_5O_8S_2$  (640,1)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,39 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 3,5–4,02 (breites m, 2H), 5,1–5,24 (dd, 1H), 5,38 (d, 1H), 5,62–5,8 (dd, 1H), 7,42–7,543 (m, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,98 (s, 1H) ppm.

g) DL-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (1 g)  
 8,4 g (13,1 mmol) 1f werden in 50 ml Methylenchlorid gelöst, bei 0°C 0,5 ml Anisol und 50 ml Trifluoressigsäure (TFE) zugegeben und 15 Minuten ohne Kühlung gerührt. Anschließend wird das Trifluoressigsäure-Methylenchlorid-Gemisch i. Vak. abdestilliert und der ölige Rückstand mit Ether versetzt. Das Trifluoracetat wird abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet.  
 Ausbeute: 6,5 g (89%)  
 $C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot CF_3COOH$  (553,9)  
 HPLC-Gehalt: (Hibar 250-4, RP8, 10  $\mu$ m, 254 nm, 3 ml/min, Laufmittel: 1000 ml H<sub>2</sub>O-40 ml Acetonitril-1 ml TFE)  
 Retention: 1,10 (1 d, 10,8%), 3,08 (L-Form, 46,5%), 3,82 (D-Form, 38,5%).

## Beispiel 2

D-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure und L-Form

### A) Chromatographische Trennung

2,3 g 1g werden in 50 ml Laufmittel (1000 ml H<sub>2</sub>O-50 ml Acetonitril-1 ml TFE) und 4 Tropfen TFE gelöst, 20 Minuten gerührt, unlösliches Material abgesaugt, das Filtrat nochmals mit einer Spritze (Millex-GS, 0,22  $\mu$ m, Millipore) filtriert und in 10 ml Portionen (460 mg) langsam auf eine präparative Säule (Hibar 250-25, RP 18, 7  $\mu$ m, Fluß 15 ml/min) 10–15 Minuten gepumpt.

### D-Form (Peak II)

Ausbeute 350 mg Trifluoracetat

Insgesamt 4,3 g Trifluoracetat werden in 500 ml Wasser gelöst und auf eine Säule mit 25 ml Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) gegeben und mit 1,5 l Wasser (dest.) eluiert. Das Eluat wird bis auf 1000 ml eingeeengt und über ein 0,45  $\mu$ m Millipore-Filter abgesaugt und lyophilisiert.

Ausbeute: 3,0 g (75%)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot 3H_2O \cdot 0,5CH_3COOH$  (523,9)

Ber.: C 38,97 H 4,23 N 13,36 S 12,24 Cl 6,76

Gef.: C 38,9 H 4,0 N 13,6 S 12,0 Cl 6,8

HPLC-Gehalt: 97,4% Hibar 250-4, RP8, 10  $\mu$ m, 254 nm, 3 ml/min, 0,5 mg/ml, Laufmittel: 1000 ml H<sub>2</sub>O-30 ml CH<sub>3</sub>COOH).

NMR (D<sub>2</sub>O)  $\delta$  = 3,58 (d, J = 18 Hz, 1 H), 3,94 (d, J = 18 Hz, 1 H), 5,32 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,94 (d, J = 5 Hz, 1 H), 7,84 (s, 2 H), 8,12 (s, 1 H) ppm.

### L-Form (Peak I)

Ausbeute 400 mg Trifluoracetat

Insgesamt 2,01 g Trifluoracetat werden in 500 ml Wasser gelöst, auf eine Säule mit 30 ml Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) gegeben und mit 1,5 l H<sub>2</sub>O (dest.) eluiert. Das Eluat wird bis auf 1000 ml eingeeengt und lyophilisiert.

Ausbeute: 1,08 g (60%)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot 3H_2O$  (493,9)

Ber.: C 38,90 H 4,08 N 14,17

Gef.: C 38,6 H 3,7 N 13,3

HPLC-Gehalt: 94,5% (Hibar 250-4, RP8, 10  $\mu$ m, 254 nm, 1,8 ml/min, Laufmittel: 930 ml H<sub>2</sub>O-20 ml Puffer pH 7/50 ml Acetonitril).

NMR (D<sub>2</sub>O)  $\delta$  = 3,78 (d, J = 17,5 Hz, 1 H), 4,03 (d, J = 17,5 Hz, 1 H), 5,4 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5,8 (s, 1 H), 5,92 (d, J = 5 Hz, 1 H), 7,87 (s, 2 H), 8,2 (s, 1 H) ppm.

## B) D-Phenylglycin als Ausgangsmaterial für D-7-(2-Amino-benzothiazol-6-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure

### a) D- $\alpha$ -Acetamido- $\alpha$ -phenylessigsäure (2a)

500 g (3.31 mol) D- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -phenylessigsäure werden in 6 Liter Wasser suspendiert, auf 10°C gekühlt und mit 132 g (3.31 mol) NaOH, gelöst in 1000 ml Wasser, versetzt. Nach 15 Minuten werden zu der klaren Lösung bei 0°C 675 g (6.62 mol)

Essigsäureanhydrid und danach 397 g (9.93 mol) NaOH — gelöst in 1000 ml Wasser — unter schnellem Rühren zugegossen. Die Temperatur steigt dabei von 0°C auf 30°C an. Die Lösung wird noch 20 Minuten bei pH 9 bis 10 im Eis-Kochsalz-Bad gerührt, danach mit konz. Salzsäure (ca. 1 Liter) bis auf pH 1 angesäuert. Man rührt 10 Minuten nach, saugt die auf 10°C abgekühlte Suspension ab und wäscht mit 10 Liter Wasser. Das Produkt wird über KOH i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 553 g (87%)

$C_{10}H_{11}NO_3$  (193,2)

Fp. 190–191°C

$[\alpha]_{589}^{20} = -218,6^\circ$  (C = 1, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

### b) D- $\alpha$ -Acetamido- $\alpha$ -(4-nitrophenyl)essigsäure und D- $\alpha$ -Acetamido- $\alpha$ -(3-nitrophenyl)essigsäure als Isomerengemisch (2b)

227 g (1.17 mol) 2a werden langsam in 570 ml konz. Schwefelsäure bei 40°C bis 50°C gegeben. Nach der Zugabe läßt man noch 5 Minuten bei 40°C nachrühren und kühlt danach auf 0°C ab. Innerhalb von 30 bis 45 Minuten werden bei –5°C bis 0°C 111,5 ml (2.39 mol) 95%ige Salpetersäure (d = 1.5) langsam zugetropft. Anschließend rührt man 30 Minuten bei –5°C bis –10°C nach, schüttet die Reaktionslösung auf 8 Liter Eis, saugt das ausgefallene Produkt ab und wäscht mit viel Wasser nach.

Ausbeute: 276,1 g (98%)

$C_{10}H_9N_3O_5$  (239,2)

$[\alpha]_{589}^{20} = -193,9^\circ$  (C = 1, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

### c) D- $\alpha$ -(4-aminophenyl)essigsäure (2c)

240 g (1.0 mol) Isomerengemisch 2b werden in 3 Liter 95% Ethanol gelöst und in Gegenwart von 10 g Palladium auf Aktivkohle (10%) 2 Std. bei 23°C und 10 at hydriert. Die erhaltene Suspension wird mit 2,4 Liter Wasser versetzt, zum Rückflußkochen erhitzt und danach über Kieselgur abgesaugt. Die über Nacht aus dem Filtrat ausgefallene feinkristalline gelbe Masse abgesaugt, mit wenig Ethanol-Wasser (3:1) gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 67.2 g

$C_{10}H_{12}N_2O_3$  (208.2)

Fp. 208°C–211°C

$[\alpha]_{589}^{20} = -186.1^\circ$  (C = 1, 1 N HCl)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1.8 (s, 3H); 5.05 (d, 1H), 6.52 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 8.35 (d, 1H) ppm.

d) D- $\alpha$ -Acetamido- $\alpha$ -(4-aminophenyl)essigsäuremethylester (2d)

67.7 g (0.33 mol) 2c werden in 400 ml Methanol suspendiert und unter Rühren bei –10°C bis –5°C mit 34.9 ml (0.487 mol)

Thionylchlorid tropfenweise versetzt, wobei eine klare orange Lösung entsteht. Man läßt die Temperatur der Lösung über Nacht auf 25°C ansteigen und dampft danach i. Vak. bis zur Trockene ein. Der Rückstand wird in 1000 ml Essigester und 800 ml 10%iger  $NaHCO_3$ -Lösung verteilt und mit 2 N Natronlauge auf pH 7.5 gestellt. Die Essigesterphase wird abgetrennt, die wäßrige Phase noch zweimal mit Essigester extrahiert und die vereinigten Extrakte mit Kochsalzlösung gewaschen. Nach Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels erhält man 48.1 g (67%).

$C_{11}H_{14}N_2O_3$  (222.2)

$[\alpha]_{589}^{20} = -222.2^\circ$  (C = 1,  $C_2H_5OH$ )

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1.85 (s, 3H); 3.55 (s, 3H), 5.1 (d, 1H), 5.15 (s, 2H); 6.52 (d, J = 9 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 9 Hz, 2H); 8.45 (d, 1H) ppm.

e) D- $\alpha$ -Acetamido- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäuremethylester (2e)

47.8 g (0.206 mol) 2d werden in 620 ml Eisessig suspendiert und 80 g (0.823 mol) KSCN fest zugegeben. Nach 45 Minuten Rühren bei Raumtemperatur bildet sich eine klare Lösung, die auf 10°C abgekühlt und tropfenweise mit 11.6 ml (0.226 mol) Brom — gelöst in 100 ml Eisessig — in 15 Minuten versetzt wird. Anschließend wird 1 Std. bei 10°C bis 15°C gerührt. Aus dem gebildeten Kristallbrei wird i. Vak. Eisessig abdestilliert, der Rückstand in 1000 ml Wasser suspendiert und mit  $Na_2CO_3$  auf pH 6.3 eingestellt. Man rührt anschließend 2 Std. bei 70°C bis 80°C, extrahiert mehrmals mit Essigsäure, wäscht die vereinigten Essigesterphasen mit Kochsalzlösung und trocknet über  $Na_2SO_4$ .

Ausbeute: 33.8 g (59%)

$C_{12}H_{13}N_3O_3S$  (279.3)

Ber.: C 51.5 H 4.7 N 15.0 S 11.5

Gef.: C 52.0 H 5.5 N 14.2 S 11.0

$[\alpha]_{589}^{20} = -126.0^\circ$  (C = 1,  $C_2H_5OH$ )

NMR (DMSO):  $\delta$  = 2.19 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 5.35 (d, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.54 (s, 2H), 7.65 (d, 1H), 8.67 (d, 1H) ppm.

f) D- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäure-dihydrochlorid (2f)

70 g (0.251 mol) 2e werden in 700 ml 6 N Salzsäure 40 Minuten bei 40°C gerührt. Die dabei entstandene klare Lösung wird weitere 1½ Std. bei 110°C gerührt, danach auf 0°C gekühlt und bis auf 200 ml eingeeengt. Der gebildete Kristallbrei wird mit 1000 ml Aceton versetzt, der Niederschlag abgesaugt, mit Aceton gewaschen und über  $P_4O_{10}$  getrocknet.

Ausbeute: 34.9 g (47%)

$C_9H_9N_3O_2S \cdot 2HCl$  (296.2)

Ber.: C 36.4 H 3.75 N 14.1 S 10.8 Cl 23.9

Gef.: C 35.5 H 4.1 N 13.5 S 10.9 Cl 23.5

$[\alpha]_{589}^{20} = -84.4^\circ$  (C = 1, 1 N HCl)

NMR ( $D_2O$ ):  $\delta$  = 5.25 (s, 1H); 7.58 (t, 2H), 7.88 (s, 1H) ppm.

Durch Einengen der Mutterlauge und Digerieren des entstandenen Kristallbreis mit Aceton läßt sich weiteres Produkt gleicher Reinheit gewinnen

Ausbeute: 20 g (27%)

$[\alpha]_{589}^{20} = -78.7^\circ$  (C = 1, 1 N HCl)

g) D- $\alpha$ -t-Butoxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäure (2g)

20 g (0.0675 mol) 2f werden in 310 ml 10%iger Lithiumhydroxidlösung und 210 ml Dioxan mit 36.3 g (0.166 mol), 2.45 equ.)

Di-t-butylidicarbonat versetzt und dann über Nacht bei pH 10 gerührt. Das ausgefallene Lithiumcarbonat wird abgesaugt und mit warmem Wasser (300 ml) nachgewaschen. Das Filtrat wird bis auf 150 ml eingeeengt, mit 2 N HCl auf pH 3.5 angesäuert und zweimal mit Essigester/THF (10:1) extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Kochsalzlösung gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet, die Lösung bis auf 100 ml eingeeengt und mit 500 ml n-Hexan versetzt. Das ausgefallene Produkt wird abgesaugt, mit n-Hexan gewaschen und i. Vak. über KOH getrocknet.

Ausbeute: 15.9 g

$C_{14}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$  (341.3)

Ber.: C 49.3 H 5.6 N 12.3 S 9.4

Gef.: C 48.2 H 5.3 N 11.3 S 10.0

$[\alpha]_{589}^{20} = -130.9^\circ$  (C = 1,  $CH_3OH$ )

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1.4 (s, 9H); 5.1 (d, 1H); 7.25–7.34 (dd, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.98 (s, 2H) ppm.

h) D-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (2h)

15.5 g (0.0479 mol) 2g werden in 220 ml DMF analog Beispiel 1f mit 6.78 ml (0.0479 mol) Triethylamin und 5.89 ml (0.0479 mol)

Pivaloylchlorid umgesetzt. Das gemischte Anhydrid gibt man innerhalb von 15 Minuten bei –10°C tropfenweise zur Triethylammoniumsalz-Lösung von 7-ACCA hinzu, die durch Verrühren von 11.24 g (0.0479 mol) 7-ACCA in 110 ml THF und 110 ml  $H_2O$  durch tropfenweise Zugabe von Triethylamin hergestellt wird. Während der Zugabe des gemischten Anhydrids wird gleichzeitig mit Triethylamin gelöst in Wasser/THF (1:1) der pH-Wert bei 7.5 konstant gehalten.

Die Isolierung des Boc-geschützten Cephalosporins und die Deblockierung erfolgt analog Beispiel 1f.

Ausbeute: 13.4 g (51%, Rohprodukt)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot CF_3COOH$  (553.9)

Nach präparativer HPLC-Trennung des Rohproduktes an einer Whatman-Säule (Magnum M40, 400 × 40, Partisil ODS-3, 50 µm) mit 2%iger Essigsäure als Laufmittel erhält man 4,3 g.

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot 2H_2O \cdot 1/3CH_3COOH$  (495,9)

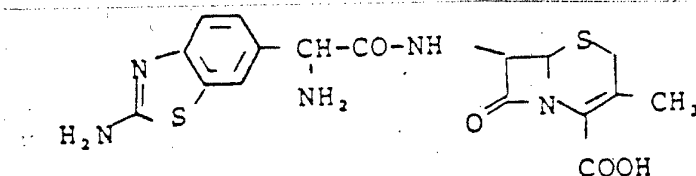
Ber.: C 40,36 H 3,93 N 14,12 S 12,9

Gef.: C 40,5 H 3,9 N 12,9 S 12,0

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,58 (d, J = 18 Hz, 1 H); 3,94 (d, J = 18 Hz, 1 H); 5,32 (d, J = 5 Hz, 1 H); 5,75 (s, 1 H); 5,94 (d, J = 5 Hz, 1 H); 7,84 (s, 2 H); 8,12 (s, 1 H) ppm.

### Beispiel 3

DL-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure



Zu einer auf  $-50^\circ\text{C}$  gekühlten Lösung von 4,0 g (12,4 mmol) 1 e (Mono-Boc-Derivat) in 30 ml DMF/30 ml THF werden nacheinander 2,16 ml (12,4 mmol) Ethyldiisopropylamin und 0,96 ml (12,4 mmol) Methansulfonylchlorid langsam zugespritzt. Man rührt 45 Minuten bei  $-50^\circ\text{C}$  und tropft eine Lösung ( $0^\circ\text{C}$ ) von 3,35 g (12,4 mmol) 7-Amino-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure-t-butylester und 2,16 ml (12,4 mmol) Ethyldiisopropylamin in 25 ml THF und 25 ml Methylenchlorid zu. Es wird 15 Minuten bei  $-50^\circ\text{C}$  und anschließend noch 45–60 Minuten ohne Kühlung nachgerührt. Danach wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 300 ml Essigester gelöst.

#### L-Form (Peak I)

Man erhält nach dem Eluieren zunächst die L-Form als Peak I.

Ausbeute: 110 mg.

Das Trifluoracetat wird in 50 ml  $H_2O$  gelöst, auf eine Säule mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) gegeben und mit 200 ml  $H_2O$  eluiert und lyophilisiert.

Ausbeute: 55 mg

$C_{17}H_{17}N_5O_4S_2$  (419,5)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 2,26 (s, 3 H), 3,48 (d, J = 18 Hz, 1 H), 3,62 (d, J = 18 Hz, 1 H), 5,26 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5,78 (s, 1 H), 5,82 (d, J = 5 Hz, 1 H), 7,84 (q, 2 H), 8,18 (s, 1 H) ppm.

#### D-Form (Peak II)

Durch weiteres Eluieren mit 0,1 % Trifluoressigsäure-Methanol erhält man die D-Form als Peak II.

Ausbeute: 71 mg.

Das Trifluoracetat wird mittels Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) in das Betain überführt.

Ausbeute: 47,3 mg

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 2,19 (s, 3 H), 3,3 (d, J = 18 Hz, 1 H), 3,5 (d, J = 18 Hz, 1 H), 5,2 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,86 (d, J = 5 Hz, 1 H), 7,84 (s, 2 H), 8,16 (s, 1 H) ppm.

mit 0,1 N Salzsäure, Kochsalzlösung,  $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man 3,2 g (45 %).

1,5 g (2,6 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden in 30 ml  $CH_2Cl_2$  gelöst, bei  $0^\circ\text{C}$  0,5 ml Anisol und 30 ml TFE zugegeben und 1 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das TFE/ $CH_2Cl_2$ -Gemisch i. Vak. abdestilliert und der ölige Rückstand mit Ether versetzt. Das Trifluoracetat wird abgesaugt, mit Ether gewaschen, getrocknet, anschließend in 200 ml Wasser aufgenommen und auf eine Säule mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) gegeben. Man wäscht mit 200 ml Wasser nach und lyophilisiert das Eluat.

Ausbeute: 764 mg

$C_{17}H_{17}N_5O_4S_2$  (419,5)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 2,16 (d, 3 H), 3,2–3,64 (m, 2 H), 5,18–5,26 (dd, 1 H), 5,72–5,85 (m und d, 2 H), 7,32 (m, 2 H), 8,16 (d, 1 H) ppm.

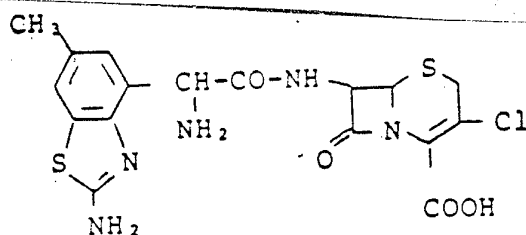
### Beispiel 4

D-7-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure (4a) und L-Form (4b)

400 mg werden an einer präparativen Zorbax-Säule (DuPont 250-21, ODS, 8 µm, 230 nm, Laufmittel 93 %  $H_2O$  — 7 % Methanol) in die D- und L-Form getrennt.

### Beispiel 5

DL-7-(2-Amino-6-methylbenzothiazol-4-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



a) 2-Amino-6-methylbenzothiazolcarbonsäure-4-methylester (5a)

50 g (0,303 mol) 2-Amino-5-methyl-benzoesäuremethylester werden in 300 ml Eisessig gelöst und 120,6 (1,24 mol) Kaliumrhodanid — gelöst in 200 ml Eisessig — zugegeben. Bei 10°C läßt man 17,42 ml (0,335 mol) Brom zutropfen und rührt anschließend noch 2 Std. ohne Kühlung. Die Suspension wird unter Rühren in 3 l Eiswasser geschüttet, das ausgefallene Produkt abgesaugt, mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen. Der Filterkuchen wird in H<sub>2</sub>O aufgeschlämmt, über Nacht bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen saugt man das Produkt ab, wäscht mit H<sub>2</sub>O und trocknet bei 40°C i. Vak.

Ausbeute: 60 g (89%)

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (222,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 2,35 (s, 3H), 3,8 (s, 3H), 7,5 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,81 (s, 2H) ppm.

b) 2-Amino-4-hydroxymethyl-6-methyl-benzothiazol (5b)

30 g (0,135 mol) 5a werden analog Beispiel 1a mit 337,7 ml (0,405 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol) reduziert.

Ausbeute: 21,2 g (81%)

C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>OS (194,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 2,35 (s, 3H), 4,72 (d, 1H), 5,05 (t, 2H), 7,12 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,41 (s, 2H) ppm.

c) 2-Amino-6-methyl-benzothiazol-4-carboxaldehyd (5c)

67,6 g (0,348 mol) 5b werden analog Beispiel 1b mit 241 g (2,77 mol) Mangan (IV)-oxid behandelt.

Ausbeute: 33,6 g (50%)

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>OS (192,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 2,39 (s, 3H), 7,45 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 8,01 (s, 2H), 10,6 (s, 1H) ppm.

d) 5-(2-Amino-6-methylbenzothiazol-4-yl)-2,4-imidazolidindion (5d)

36,2 g (0,188 mol) 5c werden analog Beispiel 1c mit 75,9 g (0,791 mol) Ammoniumcarbonat und 14,3 g (0,292 mol) Natriumcyanid zur Reaktion gebracht.

Ausbeute: 25,5 g (52%)

C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S (262,3)

Ber.: C 50,37 H 3,84 N 21,36 S 12,22

Gef.: C 51,2 H 5,0 N 21,0 S 11,2

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 2,28 (s, 3H), 5,87 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,64 (s, 2H) ppm.

e) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-Amino-6-methyl-benzothiazol-4-yl)essigsäure (5e)

25,5 g (97,2 mmol) 5d werden in 500 ml Bromwasserstoffsäure (48%) 24 Std. unter Rückfluß erhitzt. Danach wird die Reaktionslösung bis zur Trockne eingedunstet, der Rückstand in H<sub>2</sub>O aufgenommen, zweimal mit Essigsäure gewaschen und die wäßrige Phase i. Vak. bis zur Trockne eingedunstet.

Ausbeute: 38,1 g

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S · 2HBr · 2H<sub>2</sub>O (435,1)

Ber.: C 27,60 H 3,94 N 9,65 S 7,36 Br 36,73

Gef.: C 26,9 H 3,9 N 10,2 S 6,5 Br 40,8

f) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-amino-6-methyl-benzothiazol-4-yl)essigsäure (5f)

34,7 g (0,09 mol) 5e werden analog Beispiel 1e mit 98,2 g (0,45 mol) Di-t-butyldicarbonat 4 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Rohausbeute: 19,8 g (50%), 6 g nach Umkristallisation aus Methanol.

C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S (337,4)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,37 (s, 3H), 5,57 (d, 1H), 7,0 (s, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,52 (s, 2H) ppm.

g) DL-7-(2-Amino-6-methylbenzothiazol-4-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (5g)

3,37 g (0,01 mol) 5f werden analog Beispiel 1f mit 1,4 ml (0,01 mol) Triethylamin, 1,23 ml (0,01 mol) Pivaloylchlorid und 2,34 g (0,01 mol) 7-ACCA umgesetzt.

Das Boc-geschützte Cephalosporin wird analog Beispiel 1g deblockiert. Zur Entfernung von TFE wird die Substanz mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) behandelt und lyophilisiert.

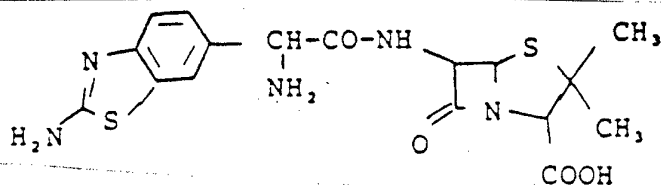
Ausbeute: 830 mg (16%)

C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O (507,9)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 2,49 (d, 3H), 3,58–4,02 (m, 2H), 5,36 (dd, 1H), 5,83–5,94 (m, 2H), 7,56 (m, 1H), 7,84 (m, 1H) ppm.

## Beispiel 6

DL-6-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-penicillansäure



a) DL- $\alpha$ -Benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-yl)essigsäure (6a)

5g (16,9 mmol) Dihydrochlorid 1 d werden in 100 ml Wasser suspendiert und mit 4,25 g (50,7 mmol) Natriumbicarbonat auf 100°C erwärmt. Anschließend wird noch 2 N Natronlauge bis pH 9 zugegeben. 4,8 g (17,7 mmol) Benzyl-p-nitrophenyl-carbonat — gelöst in 100 ml Dioxan — werden zugegeben und 3 Std. bei 100°C gerührt. Die Lösung wird heiß filtriert, das Filtrat i. Vak. von Dioxan befreit und zweimal mit Essigester gewaschen. Die wäßrige Phase wird bei 10°C mit 2 N HCl auf pH 3,8 angesäuert, das ausgefallene Produkt abgesaugt, bei 40°C getrocknet, danach in siedendem Aceton digeriert und bei 20°C mit Ether versetzt und abgesaugt.

Ausbeute: 3 g (50%)

$C_{17}H_{15}N_3O_4S$  (357,4)

NMR (DMSO):  $\delta = 5,07$  (s, 2H), 5,18 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,36 (m, 7H), 7,73 (s, 1H), 7,96 (s, 2H), 8,08 (d, 1H), 8,08 (d, 1H) ppm.

b) Allyl-DL-6-[ $\alpha$ -Benzylloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)]-penicillan (6b)

Zu einer auf -50°C gekühlten Lösung von 2,0 g (5,6 mmol) 6a in 32 ml THF werden nacheinander 0,98 ml (5,6 mmol) Ethyldiisopropylamin und 0,44 ml (5,6 mmol) Methansulfonylchlorid langsam zugespritzt. Man rührt 45 Minuten bei -50°C und tropft eine Lösung von 2,52 g (5,88 mmol) p-Toluolsulfonsäuresalz des Allyl-6-amino-penicillans und 1,02 ml (5,88 mmol) Ethyldiisopropylamin in 32 ml THF zu. Es wird 15 Minuten bei -50°C und danach noch 45–60 Minuten ohne Kühlung gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 300 ml Essigester aufgenommen, mit 0,1 N HCl, Kochsalzlösung,  $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels erhält man 2,2 g (66%) 4b.

$C_{28}H_{29}N_5O_6S_2$  (595,7)

NMR (DMSO):  $\delta = 1,32$ –1,60 (mm, 6H), 4,4 (d, 1H), 4,67 (d, 2H), 5,05 (d, 2H), 5,3 (dd, 1H), 5,39–5,57 (mm, 4H), 5,95 (mm, 1H), 7,3 (m, 7H), 7,5 (d, 2H), 7,7 (d, 1H), 7,98 (m, 1H), 9,03 (q, 1H) ppm.

c) DL-6-[ $\alpha$ -Benzylloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)]-penicillansäure (6c)

Zu einer Lösung von 2,1 g (3,53 mmol) 6b in 12 ml  $CH_2Cl_2$  werden unter Stickstoff nacheinander 10,6 ml (5,3 mmol) 0,5 M Natriumcaprylat-Lösung in Essigester zugespritzt und 92,6 mg (0,353 mmol, 0,1 eq.) Triphenylphosphin zugegeben. Nach 2 Minuten gibt man 93,6 mg (0,081 mmol, 2,3 Mol-% von 2b) Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium (0) hinzu und rührt 20 Minuten bei Raumtemperatur, wobei das Natriumsalz auskristallisiert. Man versetzt mit Aceton, saugt ab, wäscht mit Aceton und Ether nach.

Ausbeute: 1,8 g (87%)

$C_{25}H_{24}NaN_5O_6S_2$  (577,6)

NMR (DMSO):  $\delta = 1,42$ –1,6 (q, 6H), 3,88 (d, 1H), 5,08 (s, 2H), 5,32 (d, 1H), 5,42 (d, 1H), 5,54 (d, 1H), 7,4 (m, 7H), 7,57 (s, 2H), 7,75 (s, 1H) ppm.

d) Natrium-DL-6-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-penicillan (6d)

5,4 g (9,35 mmol) 6c werden in 200 ml  $H_2O$  unter Zusatz von 15 ml n-Butanol gelöst und in einer vorhydrierten wäßrigen Lösung über 30 g Palladium-Mohr hydrogenolytisch in 60 Minuten entacyliert. Nach Abtrennen vom Katalysator und Abdestillieren von n-Butanol wird das wäßrige Filtrat lyophilisiert.

Ausbeute: 3,4 g (83%)

$C_{17}H_{18}NaN_5O_4S_2$  (443,5)

NMR (DMSO):  $\delta = 1,47$ –1,62 (q, 6H), 3,97 (d, 1H), 5,0 (breites d, 1H), 5,4 (d, 1H), 5,48 (d, 1H), 7,28 (s, 2H), 7,51 (s, 2H), 7,68 (s, 1H) ppm.

#### Beispiel 7

D-6-(2-Aminobenzothiazol-6-ylglycylamido)-penicillansäure

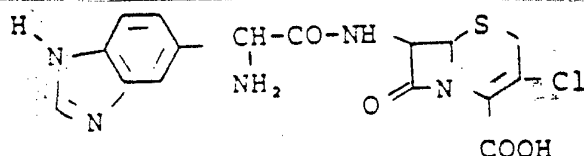
3,4 g 6d werden an einer präparativen Zorbax Säule (DuPont 250-21, ODS, 8  $\mu$ m, 240 nm) in die D- und L-Form getrennt. Als mobile Phase verwendet man 9 g  $NaH_2PO_4$  in 1000 ml Wasser-Methanol (86:14). Man destilliert aus dem Eluat (Peak II) Methanol ab, gibt die Restlösung zur Entsalzung auf eine Lobar-Säule (Größe B, RP-8) und eluiert zunächst mit Wasser. Anschließend wird die Säule um 180°C gedreht, mit Acetonitril gespült und das Eluat i. Vak. bis zur Trockne eingengt.

Ausbeute: 120 mg

NMR (DMSO):  $\delta = 1,38$  (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 4,22 (s, 1H), 5,01 (s, 1H), 5,31 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,4 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,3 (m, 2H), 7,64 (s, 2H), 7,72 (s, 1H) ppm.

#### Beispiel 8

DL-7-(Benzimidazol-5 (6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



a) (6)-Hydroxymethyl-benzimidazol (8a)

40 g (0,227 mol) Benzimidazolcarbonsäure-5(6)-methylester werden analog Beispiel 1a in THF mit 1150,3 ml (1,38 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol, Schering) bei 0°C versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 22,5 g (67%)

$C_8H_8N_2O$  (148,2)

NMR (DMSO):  $\delta = 4,61$  (s, 2H), 5,22 (breites s, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,56 (d, 2H), 8,2 (s, 1H), 12,42 (s, 1H) ppm.

## b) Benzimidazol-5(6)-carboxaldehyd (8b)

42,3 g (0,285 mol) 8a werden in 130 ml THF und 1300 ml DMF 48 Std. bei Raumtemperatur mit 175 g (2,01 mol) Mangan (IV)-oxid gerührt, danach vom Braunstein über Seitz-Filter abgesaugt und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wird in Petrolether verrührt, abgesaugt, mit Petrolether gewaschen und i. Vak. bei 60°C getrocknet.

Ausbeute: 37,3 g (89%)

$C_8H_6N_2O$  (146,1)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 7,78 (d, 2H), 8,22 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 10,05 (s, 1H) ppm.

## c) 5-(Benzimidazol-5(6)-yl)-2,4-imidazolidindion (8c)

45,8 g (0,313 mol) 8b werden analog Beispiel 1c in Ethanol/Wasser mit 23,03 g (0,47 mol) Natriumcyanid und 120,3 g (1,25 mol) Ammoniumcarbonat 20 Stunden bei 60°C gerührt.

Ausbeute: 36,4 g (54%)

$C_{10}H_8N_4O_2$  (216,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,44 (s, 1H), 7,53 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,88 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,63 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 10,93 (s, 1H) ppm.

d) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(benzimidazol-5(6)-yl)essigsäure (DL-Benzimidazol-5(6)-ylglycin, (8d))

20 g (0,093 mol) 8c und 105,7 g (0,335 mol, 3,6 eq.) Bariumhydroxid in 1000 ml Wasser werden 24 Std. bei 100°C gerührt. Anschließend verdünnt man die Suspension mit 50 ml  $H_2O$ , leitet 2 Std. bei 100°C  $CO_2$  ein, saugt das ausgefallene Bariumcarbonat heiß ab und wäscht mit kochendem Wasser nach. Das Filtrat wird bis zur Trockene eingeeengt.

Ausbeute: 20,1 g (80%)

$C_9H_9N_3O_2 \cdot 2H_2O \cdot 1/3 Ba CO_3$  (293,0)

Ber.: C 38,26 H 3,10 N 14,34 Ba 15,62

Gef.: C 40,6 H 3,9 N 15,5 Ba 14,7

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,71 (s, 1H), 7,94 (d, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,86 (s, 1H), 9,5 (s, 1H) ppm.

e) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(1-t-butyloxycarbonylbenzimidazol-5(6)-yl)essigsäure (8e)

12 g (0,044 mol) 8d werden analog Beispiel 1e mit 38,4 g (0,176 mol) Di-t-butyldicarbonat über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wird in 80 ml Essigester gelöst und in 600 ml Petrolether eingerührt.

Ausbeute: 14,6 g (84%)

$C_{19}H_{25}N_3O_6$  (391,4)

Ber.: C 58,30 H 6,44 N 10,73

Gef.: C 56,8 H 6,6 N 9,8

NMR (NaOD):  $\delta$  = 1,24 (s, 9H), 1,4 (s, 9H), 5,05 (s, 1H), 7,2 (d, 1H), 7,65 (s und d, 2H), 8,06 (s, 1H) ppm.

## f) DL-7-(Benzimidazol-5(6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure · Trifluoracetat (8f)

2,0 g (5,1 mmol) 8e werden analog Beispiel 1f mit 0,71 ml (5,1 mmol) Triethylamin, 0,628 ml (0,51 mmol) Pivaloylchlorid und 1,32 g (5,61 mmol) 7-ACCA zur Reaktion gebracht. 2,3 g (3,78 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 1g deblockiert. Das Trifluoracetat wird in  $H_2O$  gelöst, mit Essigester/Ether (1:1) zweimal gewaschen und die wäßrige Phase lyophilisiert.

Ausbeute: 1,5 g (76%)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S \cdot CF_3COOH$  (521,9)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 3,5-4,03 (m, 2H), 5,29-5,38 (dd, 1H), 5,88-5,96 (dd und s, 2H), 7,93-8,0 (t, 1H), 8,16-8,22 (t, 1H), 8,3 (s, 1H), 9,52 (m, 1H) ppm.

## Beispiel 9

D-7-(Benzimidazol-5(6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (9a) und L-Form (9b)

700 mg 8f werden an einer präparativen HPLC-Säule (Hibar 250-25, RP-18, 7  $\mu$ m, 220 nm, Laufmittel: 1000 ml  $H_2O$  — 5 ml Acetonitril — 1 ml Essigsäure) in die D- und L-Form getrennt. Jeweils 30 mg Protonen des DL-Gemisches 8f werden in 2 ml Laufmittelsystem gelöst, auf die Säule gegeben und bei einem Laufmittel-Fluß von 10 ml/min in 2 Fraktionen (Peak I und Peak II) getrennt.

## a) D-Form (Peak II):

Ausbeute: 18 mg

Analytisches HPLC: siehe L-Form

Retention: 8,14

## b) L-Form (Peak I)

Ausbeute: 42 mg

Analytisches HPLC: (Hibar 250-4, RP-8, 10  $\mu$ m, 255 nm, mobile Phase: 975 ml Phosphat-Puffer pH 7

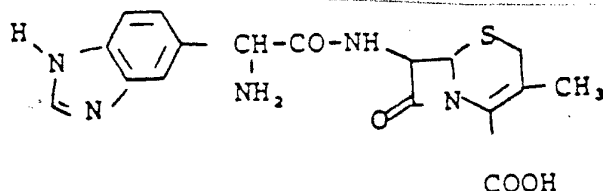
25 ml Acetonitril, Fluß: 1,5 ml/min)

Retention: 6,90

NMR (DMSO):  $\delta$  = 3,74 (d, J = 18,5 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 18,5 Hz, 1H), 5,35 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,86 (s und d, 2H), 7,96 (d, 1H), 8,16 (d, 1H), 9,5 (s, 1H) ppm.

## Beispiel 10

DL-7-(Benzimidazol-5(6)-ylglycylamido)-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure



3,5g (8,9mmol) 8e und 1,36g (8,9mmol) 1-Hydroxybenzotriazol werden unter Stickstoff in 15ml THF gelöst. Man gibt 1,84g (8,9mmol) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) gelöst in 10ml THF bei 10°C hinzu und rührt 2 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Zugabe von 2,41g (8,9mmol) 7-Amino-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure-t-butylester gelöst in 10ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> rührt man anschließend ohne Kühlung über Nacht. Der ausgefallene Harnstoff wird abgesaugt, mit THF gewaschen und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wird in Essigester gelöst, mit NaHCO<sub>3</sub>-Lösung/Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Filtrat i. Vak. bis zur Trockene eingeeengt (Ausbeute 3,7g). Nach Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Essigester (3:1) und Petrolether/Essigester (1:1) erhält man 1,3g reines Produkt (23%). 1,0g (1,55mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 3 deblockiert, TFE über Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) entfernt und die Lösung lyophilisiert

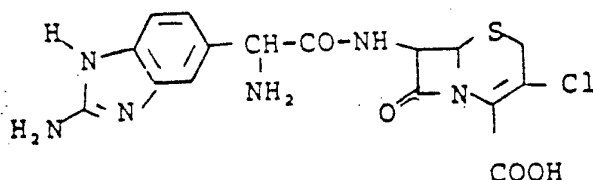
Ausbeute: 260mg (43%)

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S (387,4)

NMR (DCOOD): δ = 2,18 (s, 3H), 3,2-3,65 (m, 2H), 5,18-5,26 (dd, 1H), 5,78-5,88 (dd, 2H), 7,98 (d, 1H), 8,18 (t, 1H), 9,5 (d, 1H) ppm.

#### Beispiel 11

DL-7-(2-Amino-1H-benzimidazol-5(6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



#### a) 2-Amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazol (11 a)

132g (0,745mol) Methyl-2-amino-5(6)-benzimidazolcarboxylat werden unter Stickstoff in 2200ml THF suspendiert. Unter leichter Kühlung (Eisbad) tropft man 596ml (2,08mol) Natrium-bis-(2-methoxyethoxy)-aluminiumhydrid (Red-Al, 3,5 molare Lösung in Toluol) gelöst in 1000ml THF bei 25–32°C innerhalb von 2 Std. hinzu. Die Lösung wird anschließend 1 Std. ohne Kühlung gerührt und über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Das überschüssige Red-Al wird durch Zugabe von 160ml Wasser im Stickstoffstrom vorsichtig zersetzt, 1 Std. nachgerührt, Aluminiumhydroxid abgesaugt, mit 2l THF gewaschen und das Filtrat bis zu einem dunklen Öl eingeeengt. Der Rückstand wird in 500ml Essigester aufgenommen und dreimal mit je 500ml Wasser gewaschen. Die vereinigten H<sub>2</sub>O-Phasen werden dreimal mit je 200ml Essigester gewaschen, die Wasserphase filtriert und lyophilisiert.

Ausbeute: 74g (61%)

NMR (DMSO): δ = 4,46 (s, 2H), 6,24 (s, 2H), 6,82 (d, 1H), 7,03 (d, 1H), 7,09 (s, 1H) ppm.

#### b) 2-Amino-benzimidazol-5(6)-carboxaldehyd (11 b)

74g (0,453mol) 11 a werden in 2000ml Eisessig mit 248,4g (2,857mol, 6,3facher Überschuß) MnO<sub>2</sub> 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Braunstein wird abgesaugt, das Filtrat nochmals über Kieselgel filtriert und die Essigsäurelösung eingeeengt. Das zurückbleibende Öl wird in 1,5l Essigester digeriert, wobei Kristallisation eintritt. Das Kristallisat wird abgesaugt, mit Ether gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 119,7g (96%)

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> · 3H<sub>2</sub>O · CH<sub>3</sub>COOH (275,3)

Ber.: C 43,6 H 6,22 N 15,26

Gef.: C 44,2 H 4,9 N 11,0

#### c) 5-(2-Amino-1H-benzimidazol-5-yl)-2,4-imidazolidindion (11 c)

119,7g (0,435mol) 11 b werden analog Beispiel 1 c in 900ml Ethanol mit 219g (2,28mol) Ammoniumcarbonat und 41,4g (0,845mol) Natriumcyanid in 900ml H<sub>2</sub>O 20 Std. bei 60°C gerührt. Nach Abdestillieren von Ethanol wird die Suspension bei 0°C bis pH 2 angesäuert und danach auf pH 6,0 zurückgestellt, wobei ein schmieriges Produkt anfällt, das sich allmählich verfestigt.

Ausbeute: 57,6g (58%)

C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (231,2)

Ber.: C 51,94 H 3,92 N 30,28

Gef.: C 51,4 H 4,1 N 29,1

#### d) DL-α-t-Butyloxycarbonylamino-α-(2-t-butyloxycarbonyl-1H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (11 d)

41,2g (0,178mol) 11 c werden analog Beispiel 1 d mit 42,6g (1,781mol) Lithiumhydroxid in 1000ml H<sub>2</sub>O 2 Tage bei 100°C gerührt. Die Lösung wird heiß filtriert, das Filtrat bei 0°C auf pH 2 angesäuert und die wäßrige Phase mit Essigester extrahiert. Die wäßrige Lösung wird i. Vak. bis zur Trockne eingeeengt.

Ausbeute: 62,4g

NMR (NaOD, DMSO): δ = 4,12 (s, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 7,01 (s, 1H) ppm.

Der Rückstand wird mit 25,4 g (0,303 mol)  $\text{NaHCO}_3$  in 300 ml Wasser in Lösung gebracht und 66,1 g (0,303 mol) Di-*t*-butyldicarbonat zugetropft. Man rührt 2 Tage bei Raumtemperatur. Dioxan wird abdestilliert, die Restlösung mit  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt und mit Petrolether gewaschen. Die wäßrige Phase wird bei Eiskühlung mit 2 N HCl auf pH 2,5 angesäuert und mit Essigester extrahiert. Nach Waschen mit Kochsalzlösung, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Einengen der organischen Phase erhält man 17,9 g Rohprodukt, das aus THF/Petrolether umgefällt wird.

Ausbeute: 7,0 g

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_6$  (406,4)

NMR (NaOD):  $\delta = 1,42$  (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 6,98 (d, 1H), 7,28 (d, 2H) ppm.

**e) DL-7-(2-Amino-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (11 e)**

4,9 g (12,1 mmol) 11 d werden analog Beispiel 1 f mit 1,69 ml (12,1 mmol) Triethylamin, 1,49 ml (12,1 mmol) Pivaloylchlorid und 2,98 g (12,7 mmol) 7-ACCA umgesetzt.

Ausbeute: 3,0 g (40%; THF/Petrolether)

Das Boc-geschützte Cephalosporin wird analog Beispiel 1 g mit TFE/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1) behandelt.

Ausbeute: 2,35 g (91%)

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClN}_6\text{O}_4\text{S} \cdot \text{CF}_3\text{COOH}$  (536,9)

NMR (DCOOD):  $\delta = 3,52$ -4,0 (mm, 2H), 5,28-5,36 (dd, 1H), 5,70 (d, 1H), 5,84-5,92 (dd, 1H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,76 (d, 1H) ppm.

**Beispiel 12**

D-7-(2-Amino-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (12 a) und L-Form (12 b)

**Präparative HPLC-Trennung von 11 e:**

Säule: Hibar 250-25 (RP-18, 7  $\mu\text{m}$ , 254 nm)

Laufmittel: 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$  — 60 ml Acetonitril — 1 ml TFE

Aufgabe: 2,3 g; jeweils 200 mg gelöst in 2-3 ml Laufmittel pro Säulendurchgang.

Ausbeute: Peak I (L-Form): 430 mg

Peak II (D-Form): 220 mg

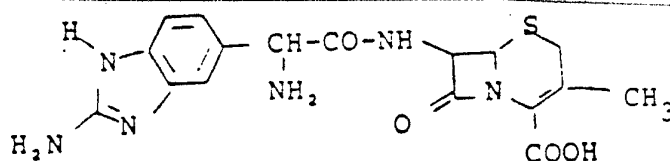
220 mg Peak II werden in 15 ml  $\text{H}_2\text{O}$  gelöst, auf eine Säule mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) gegeben und mit 200 ml  $\text{H}_2\text{O}$  nachgewaschen. Das Filtrat wird über Millex-GS (0,22  $\mu\text{m}$ ) mit einer Spritze filtriert und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 155 mg

NMR (DCOOD):  $\delta = 3,54$  (d, J = 18 Hz, 1H), 3,86 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,28 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,92 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,76 (s, 1H) ppm.

**Beispiel 13**

DL-7-(2-Amino-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure



4,0 g (9,84 mmol) 11 d werden analog Beispiel 3 mit 1,71 ml (9,84 mmol) Ethyldiisopropylamin, 0,76 ml (9,84 mmol) Methansulfonylchlorid und 2,7 g (9,84 mmol) 7-Amino-3-methyl-3-cephem-4-carbonsäure-*t*-butylester umgesetzt. Man erhält 3,0 g, die durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigester 1:1) gereinigt werden.

Ausbeute: 0,9 g

0,8 g Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 3 mit TFE und anschließend mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) behandelt.

Ausbeute: 420 mg

$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_4\text{S} \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  (447,5)

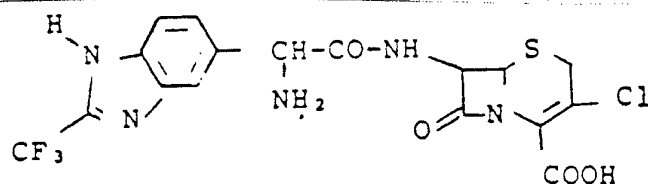
Ber.: C 45,63 H 5,18 N 18,78 S 7,16

Gef.: C 45,5 H 5,0 N 16,9 S 6,6

NMR (DCOOD):  $\delta = 2,2$  (s, 3H), 3,28-3,69 (mm, 2H), 5,21-5,3 (dd, 1H), 5,75 (d, 1H), 5,82-5,89 (dd, 1H), 7,62-7,74 (m, 2H), 7,82 (s, 1H) ppm.

**Beispiel 14**

DL-7-(2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



**a) 2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-carbonsäure (14 a)**

50 g (0,329 mol) 3,4-Diaminobenzoesäure gelöst in 300 ml 4 N HCl werden mit 40,5 g (0,355 mol) TFE 5 Std. unter Rückfluß erhitzt. Danach kühlt man die Lösung auf 0°C, saugt das ausgefallene Produkt ab, wäscht mit Wasser nach und trocknet i. Vak. bei 40°C.

Ausbeute: 59,7 g (73%)

$\text{C}_9\text{H}_5\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (248,2)

Ber.: C 43,56 H 2,84 N 11,28 F 22,98

Gef.: C 42,6 H 2,8 N 10,9 F 22,0

## b) 2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-carbonsäure-5-methylester (14b)

Durch eine Lösung von 59,7 g (0,241 mol) 14a in 1000 ml Methanol leitet man 2 Std. lang Chlorwasserstoffgas und kocht gleichzeitig unter Rückfluß. Anschließend destilliert man Methanol ab, löst den Rückstand in Essigester/Wasser und stellt mit 2N Natronlauge pH 7 ein. Die Essigesterphase wird abgetrennt, die wäßrige Phase zweimal mit Essigester extrahiert, die organische Phase mit Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeengt.

Ausbeute: 54,2 g (92%)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_2\text{F}_3$  (244,2)

Ber.: C 49,19 H 2,89 N 11,47 F 23,34

Gef.: C 49,6 H 3,1 N 11,3 F 22,4

NMR (DMSO):  $\delta$  = 4,9 (s, 3H), 7,82 (d, 1H), 8,0 (dd, 1H), 8,30 (s, 1H) ppm.

## c) 2-Trifluormethyl-5-hydroxymethyl-1H-benzimidazol (14c)

53,4 g (0,219 mol) 14b werden analog Beispiel 1a in 600 ml THF mit 728,9 ml (0,875 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol) bei  $-70^\circ\text{C}$  über Nacht gerührt.

Rohausbeute 45,4 g

$\text{C}_9\text{H}_7\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$  (216,2)

Ber.: C 50,0 H 3,26 N 12,96 F 26,37

Gef.: C 49,7 H 3,7 N 11,7 F 26,0

Nach Chromatographie an Kieselgel 60 (Merck, 0,04–0,063 mm) mit dem Laufmittel Toluol/Essigester (3:1), Toluol/Essigester (1:1), Toluol/Essigester (1:3) und Essigester erhält man 29,3 g (62%) Benzimidazol-alkohol.

NMR (DMSO):  $\delta$  = 4,64 (s, 2H), 5,32 (breites s, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,71 (d 1H) ppm.

## d) 2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-carboxaldehyd (14d)

29,3 g (0,136 mol) 14c werden analog Beispiel 1b in 1000 ml THF 48 Std. bei Raumtemperatur mit 71,4 g (0,821 mol) Mangan-(IV)-oxid gerührt.

Ausbeute: 23,8 g (82%)

$\text{C}_9\text{H}_5\text{N}_2\text{O}$  (214,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 7,87 (q, 2H), 8,32 (s, 1H), 10, 11 (s, 1H) ppm.

## e) 5-(2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-yl)-2,4-imidazolidindion (14e)

29,2 g (0,136 mol) 14d werden analog Beispiel 1c in Ethanol/Wasser mit 55 g (0,573 mol) Ammoniumcarbonat und 10,4 g (0,212 mol) Natriumcyanid umgesetzt. Nach Abdestillieren von Ethanol wird die Lösung bei  $0^\circ\text{C}$  mit 2N HCl bis pH 2 angesäuert, anschließend auf pH 4,5 zurückgestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigesterphasen werden mit Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingedampft.

Ausbeute: 31,2 g (80,6%)

$\text{C}_{11}\text{H}_7\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2$  (284,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,85 (s, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,77 (d, 1H), 8,5 (s, 1H), 10,83 (s, 1H) ppm.

f) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (14f)

35,7 g (0,126 mol) 14e werden analog Beispiel 5e mit 500 ml Bromwasserstoffsäure (48%) gespalten.

Ausbeute: 18,1 g (42%)

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HBr}$  (340,0)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,88 (s, 1H), 8,1 (d, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,46 (s, 1H) ppm.

g) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (14g)

23,6 g (0,069 mol) 14f werden in 150 ml 10%  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und in 150 ml Dioxan gelöst, mit 48,2 g (0,221 mol) Di-t-butylidicarbonat versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Man destilliert Dioxan ab, extrahiert die wäßrige Phase mit Petrolether und säuert bei  $0^\circ\text{C}$  in Gegenwart von Essigester mit 2N HCl auf pH 2 an. Die Essigesterphase wird abgetrennt, mit Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wird in Ether gelöst, von etwas Unlöslichem abfiltriert, in Petrolether eingerührt und abgesaugt.

Ausbeute: 10,8 g (43%)

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$  (359,3)

Ber.: C 50,14 H 4,49 N 11,69 F 15,86

Gef.: C 50,1 H 4,8 N 12,4 F 15,1

## b) DL-7-(2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (14h)

4,0 g (11,1 mmol) 14g werden analog Beispiel 1f mit 1,56 ml (11,1 mmol) Triethylamin, 1,4 ml (11,1 mmol) Pivaloylchlorid und 2,92 g (12,4 mmol) 7-ACCA umgesetzt.

Ausbeute: 5,1 g (89%)

Das Boc-geschützte Cephalosporin wird analog Beispiel 1g deblockiert und ins Betain verwandelt.

Ausbeute: 2,0 g (36%)

$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_4\text{S} \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  (502,9)

Ber.: C 40,61 H 3,20 N 13,93 S 6,37 F 11,34

Gef.: C 40,2 H 3,6 N 13,6 S 4,8 F 12,2

**Beispiel 15**

D-7-(2-Trifluormethyl-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (15a) und L-Form (15b)

**Präparative HPLC-Trennung von 14h**

Säule: Hibar 250-25 (RP-18, 7  $\mu\text{m}$ , 254 nm)

Laufmittel: 2500 ml  $\text{H}_2\text{O}$  — 250 ml Acetonitril — 2,5 ml TFE

Fluß: 10 ml/min.

**L-Form (Peak I):**

1,4g 14h werden in 20 ml Laufmittel suspendiert, wobei 400 mg unlösliches Material als reine L-Form zurückbleiben.

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,7 (d, 1 H), 3,93 (d, 1 H), 5,3 (d, 1 H), 5,78 (s und d, 2 H), 7,8 (d, 1 H), 8,05 (d, 1 H), 8,23 (s, 1 H) ppm.

**D-Form (Peak II):**

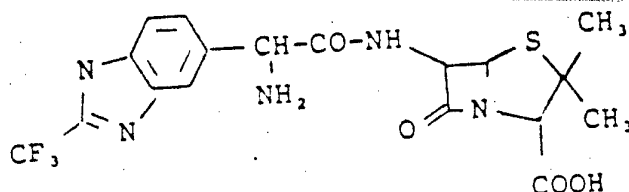
Das Filtrat wird durch ein Millex-Filter mit einer Spritze filtriert und auf die Säule mit 0,5 ml/min gepumpt. Das Eluat wird lyophilisiert.

Ausbeute: 300 mg

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,5 (d, J = 18,5 Hz, 1 H), 3,85 (d, J = 18,5 Hz, 1 H), 5,25 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5,78 (s, 1 H), 5,9 (d, J = 5 Hz, 1 H), 7,78 (d, 1 H), 8,06 (d, 1 H), 8,21 (s, 1 H) ppm.

**Beispiel 16**

DL-6-(2-Trifluormethyl-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)penicillansäure

**a) DL- $\alpha$ -Benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-trifluormethyl-1 H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (16a)**

9,2 g (27,1 mmol) 14f werden in 50 ml Wasser gelöst und mit 2 N Natronlauge auf pH 9 gestellt. Die klare Lösung wird auf 0–5°C gekühlt und 8,1 ml (0,0569 mol) Chlorameisensäurebenzylester werden innerhalb von 30 Minuten unter gleichzeitiger Zugabe von 2 N Natronlauge zugetropft (pH-Bereich 8–10). Nach 50 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wird einmal mit Ether/Essigester (1:1) extrahiert, die wäßrige Phase mit 2 N HCl auf pH 2 angesäuert und mit Essigester ausgezogen. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird der Rückstand aus Essigester/Petrolether umgefällt.

Ausbeute: 2,8 g (26%)

$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$  (393,3)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,09 (t, 2 H), 5,38 (d, 1 H), 7,34 (m, 5 H), 7,47 (d, 1 H), 7,73 (d, 1 H), 7,78 (s, 1 H), 8,23 (d, 1 H) ppm.

**b) Allyl-DL-6-[ $\alpha$ -Benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-trifluormethyl-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)]-penicillanat (16b)**

2,6 g (6,61 mmol) 16a werden analog Beispiel 6b mit 1,15 ml (6,61 mmol) Ethyldiisopropylamin, 0,512 ml (6,61 mmol) Methansulfonylchlorid und einer Lösung von 3,0 g (6,95 mmol) p-Toluolsulfonsäuresalz des Allyl-6-aminopenicillanats und 1,21 ml (6,95 mmol) Ethyldiisopropylamin in THF/DMF umgesetzt.

Ausbeute: 3,5 g (83%)

$\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$  (631,6)

**c) Natrium-DL-6-(2-Trifluormethyl-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)penicillanat (16c)**

3,5 g (5,54 mmol) 16b werden analog Beispiel 6d hydrogenolytisch entacyliert. 1,8 g (3,62 mmol) Allylester werden analog Beispiel 4c mit 10,7 ml (5,43 mmol) 0,5 M Natriumcaprylat, 95 mg (0,363 mmol) Triphenylphosphin und 96,2 mg (0,083 mmol) Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(O) in THF unter Stickstoff behandelt.

Ausbeute: 1,1 g (65%)

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{SNa}$  (479,4)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,43–1,58 (m, 6 H), 3,91 (d, 1 H), 4,53 (d, 1 H), 5,33–5,44 (m, 2 H), 7,05 (m, 1 H), 7,38 (d, 1 H), 7,5 (s, 1 H) ppm.

**Beispiel 17**

D-6-(2-Trifluormethyl-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-penicillansäure (17a) und L-Form (17b)

700 mg 16c werden an einer präparativen Hibar-Säule (Merck 250-25, 7  $\mu\text{m}$ , 254 nm, Laufmittel: 2250 ml Wasser — 125 ml Acetonitril — 125 ml Essigsäure) in 10 ml Laufmittel gelöst, auf die Säule gepumpt und in die D- und L-Form getrennt.

**L-Form (Peak I):**

Ausbeute: 110 mg

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_3\text{COOH}$  (513,5)

Ber.: C 42,10 H 4,58 N 13,64

Gef.: C 41,2 H 4,7 N 12,1

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,47 (s, 3 H), 1,58 (s, 3 H), 4,14 (s, 1 H), 4,9 (s, 1 H), 5,48 (t, 2 H), 7,47 (d, 1 H), 7,74 (d, 1 H), 7,82 (s, 1 H) ppm.

Analytisches HPLC: Hibar 250-4, RP-8, 10  $\mu\text{m}$ , 254 nm, Laufmittel: 900 ml  $\text{H}_2\text{O}$  — 50 ml Acetonitril — 50 ml Essigsäure, Fluß: 3 ml/min, 1 mg/ml, Retention: 6,2 (Gehalt: 86,6%).

**D-Form (Peak II):**

Ausbeute: 129 mg

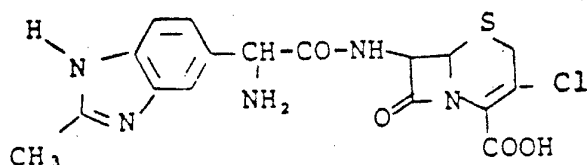
NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,38 (s, 3 H), 1,5 (s, 3 H), 4,1 (s, 1 H), 4,95 (s, 1 H), 5,39 (d, J = 4 Hz, 1 H), 5,5 (s, 1 H), 7,48 (d, 1 H), 7,74 (d, 1 H), 7,82 (s, 1 H) ppm.

Analytisches HPLC: Vergleiche L-Form

Retention: 9,11 (Gehalt: 93,5%)

**Beispiel 18**

DL-7-(2-Methyl-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure

**a) 2-Methyl-1H-benzimidazol-5-carbonsäure (18a)**

100g (0,657 mol) 3,4-Diaminobenzoesäure werden analog Beispiel 14a mit 47,3g (0,788 mol) Eisessig und 600 ml 4N HCl unter Rückfluß gekocht.

Ausbeute: 108,5g (72%)

$C_9H_8N_2O_2 \cdot 3H_2O$  (230,2)

Ber.: C 46,59 H 6,13 N 12,17

Gef.: C 46,7 H 4,0 N 12,2

**b) 2-Methyl-1H-benzimidazolcarbonsäure-5-methylester (18b)**

46,6g (0,202 mol) 18a werden analog Beispiel 14b mit Methanol und Chlorwasserstoffgas umgesetzt.

Ausbeute: 31,2g (81%)

$C_{10}H_{10}N_2O_2$  (190,2)

Ber.: C 63,18 H 5,30 N 14,73

Gef.: C 63,1 H 5,3 N 14,6

**c) 2-Methyl-5-hydroxymethyl-1H-benzimidazol (18c)**

27,8g (0,146 mol) 18b werden analog Beispiel 1a in 500 ml THF mit 365,4 ml (0,438 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol) über Nacht bei  $-70^\circ\text{C}$  behandelt. Das Rohprodukt wird in siedendem Essigester verrührt und nach Abkühlen auf  $20^\circ\text{C}$  das zurückbleibende Material abgesaugt.

Ausbeute: 10,2g (43%)

$C_9H_{10}N_2O$  (162,2)

NMR (DMSO):  $\delta = 2,51$  (s, 3H), 4,55 (s, 2H), 7,06 (d, 1H), 7,38 (s und d, 2H) ppm.

**d) 2-Methyl-1H-benzimidazol-5-carboxaldehyd (18d)**

24,4g (0,15 mol) 18c werden analog Beispiel 8b in 400 ml DMF mit 84,8g (0,975 mol) Mangan-(IV)-oxid 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 13,9g (58%)

$C_9H_8N_2O$  (160,2)

NMR (DMSO):  $\delta = 2,56$  (s, 3H), 7,61 (d, 1H), 7,71 (d, 1H), 8,06 (s, 1H), 10,02 (s, 1H) ppm.

**e) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-methyl-1H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (18e)**

22,7g (0,142 mol) 18d werden analog Beispiel 1c mit 57,2g (0,596 mol) Ammoniumcarbonat und 10,8g (0,22 mol) Natriumcyanid in Ethanol/Wasser 20 Std. bei  $60^\circ\text{C}$  umgesetzt.

Nach Abdestillieren von Ethanol wird die Lösung mit 2N HCl auf pH 2 angesäuert und anschließend mit 2N Natronlauge auf pH 4,5 zurückgestellt. Die klare Lösung wird zweimal mit Essigester extrahiert und die wäßrige Phase i. Vak. bis zur Trockene eingeeengt.

Ausbeute: 49,0g (enthält NaCl)

Das gesamte Material wird analog Beispiel 3c mit 500 ml Bromwasserstoffsäure (48%) gespalten.

Ausbeute: 56,8g

$C_{10}H_{11}N_3O_2 \cdot 2HBr$  (367,1)

NMR (DMSO):  $\delta = 5,82$  (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 8,22 (s, 1H) ppm.

**f) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(1-t-butyloxycarbonyl-2-methylbenzimidazol-5-yl)essigsäure (18f)**

63,1g (0,172 mol) 18e werden analog Beispiel 14g in  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Dioxan mit 112,6g (0,516 mol) Di-t-butyldicarbonat umgesetzt.

Ausbeute: 12,6g

$C_{20}H_{27}N_3O_6$  (405,4)

NMR (DMSO):  $\delta = 13,5$  (d, 9H), 1,65 (d, 9H), 5,22 (q, 1H), 7,36 (m, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,96 (d, 1H) ppm.

**g) DL-7-(2-Methyl-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (18g)**

4,2g (10,3 mmol) 18f werden analog Beispiel 1f mit 1,44 ml (10,3 mmol) Triethylamin, 1,27 ml (10,3 mmol) Pivaloylchlorid und 2,65g (11,4 mmol) 7-ACCA umgesetzt.

Ausbeute: 4,6g (72%)

$C_{27}H_{32}ClN_5O_8S$  (622,1)

4,0g (6,43 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 1g entacyliert.

Ausbeute: 2,9g (85%)

$C_{17}H_{16}ClN_5O_4S \cdot CF_3COOH$  (535,9)

NMR (DMSO):  $\delta = 3,02$  (s, 3H), 3,48-4,0 (m, 2H), 5,27-5,36 (dd, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,84-5,94 (dd, 1H), 7,86 (d, 1H), 8,02 (d, 1H), 8,16 (s, 1H) ppm.

**Beispiel 19**

D-7-(2-Methyl-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (19a) und L-Form (19b)

**Präparative HPLC-Trennung von 18q:**

Säule: Whatman Partisil-10, 500 × 22 mm, 10 µm (Magnum 20 CCS-RP-8), 254 nm

Laufmittel: 2500 ml H<sub>2</sub>O — 2,5 ml TFE

Fluß: 15 ml/min (Papiergeschwindigkeit 5 mm/min)

Aufgabe: 1100 mg 18g in 9 ml Laufmittel, filtriert durch Millex GS, 0,22 µm.

**L-Form (Peak I):**

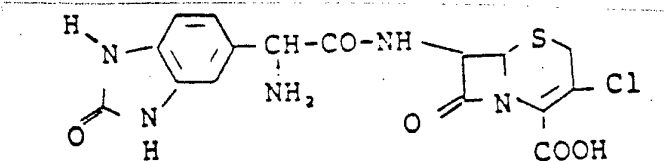
Ausbeute: 355 mg (Trifluoracetat)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,06 (s, 3H), 3,75 (d, J = 18 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,37 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,84 (s, 1H), 5,88 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,04 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,18 (s, 1H) ppm.**D-Form (Peak II):**

Ausbeute: 114 mg (Trifluoracetat)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,04 (s, 3H), 3,54 (d, J = 18 Hz, 1H), 3,87 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,29 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,94 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,86 (dd, 1H), 8,04 (d, 1H), 8,16 (s, 1H) ppm.**Beispiel 20**

DL-7-(2,3-Dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure

**a) 2,3-Dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazolcarbonsäure-5-methylester (20a)**

20 g (0,12 mol) 3,4-Diaminobenzoessäure-methylester und 24,8 g (0,12 mol) N,N'-Dicarbomethoxy-S-methylisothioharnstoff werden in 180 ml DMF 4 Std. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird DMF abdestilliert, der Rückstand mit Wasser verrührt, das ausgefallene Kristallat abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der Substanz i. Vak. bei 40°C wird das Produkt in Aceton suspendiert und danach abgesaugt.

Ausbeute: 21,9 g (95%)

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (192,2)NMR (DMSO):  $\delta$  = 3,8 (s, 3H), 7,01 (d, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,64 (d, 1H), 10,9 (s, 1H), 11,08 (s, 1H) ppm.**b) 2,3-Dihydro-2-oxo-5-hydroxymethyl-1 H-benzimidazol (20b)**

24,6 g (0,128 mol) 20a werden in THF suspendiert und analog Beispiel 1a mit 624,8 ml (0,768 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol) über Nacht bei -70°C gerührt.

Ausbeute: 16,2 g (77%)

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (164,2)NMR (DMSO):  $\delta$  = 4,48 (s, 2H), 5,12 (breites s, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,98 (s, 1H), 10,61 (breites s, 2H) ppm.**c) 2,3-Dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazol-5-carboxaldehyd (20c)**

25,7 g (0,157 mol) 20b werden analog Beispiel 8b in DMF mit 81,7 g (0,939 mol) Mangan-(IV)-oxid 2 Tage gerührt.

Ausbeute: 18,5 g (73%)

C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (162,1)NMR (DMSO):  $\delta$  = 7,1 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,59 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 9,44 (s, 1H), 11,02 (s, 1H), 11,20 (s, 1H) ppm.**d) 5-(2,3-Dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazol-5-yl)-2,4-imidazolidindion (20d)**

10,7 g (0,0659 mol) 20c werden analog Beispiel 1c in Methanol/Wasser mit 27,8 g (0,289 mol) Ammoniumcarbonat und 5,2 g (0,107 mol) Natriumcyanid umgesetzt.

Ausbeute: 10 g (65%)

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> (232,2)NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,11 (s, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,9 schwaches d, 2H), 8,36 (s, 1H), 10,68 (s, 3H) ppm.**e) DL- $\alpha$ -(t-Butyloxycarbonylamino)- $\alpha$ -(2,3-dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazol-5-yl)essigsäure (20e)**

8,8 g (0,0379 mol) 20d werden analog Beispiel 5e mit 100 ml Bromwasserstoffsäure (48%) gespalten.

Ausbeute: 10 g (79%)

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> · HBr (336,1)

10 g (29,7 mmol) Aminosäure-hydrobromid werden analog Beispiel 1e in 50 ml 2 N Natronlauge, 50 ml H<sub>2</sub>O und 100 ml Dioxan mit 19,4 g (89,1 mmol) Di-t-butylidicarbonat umgesetzt.

Ausbeute: 5,4 g (59%)

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (307,3)NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,4 (s, 9H), 5,08 (d, 1H), 6,9 (d, 1H), 6,99 (s und d, 2H), 7,5 (d, 1H), 10,67 (d, 2H) ppm.**f) DL-7-(2,3-Dihydro-2-oxo-1 H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure**

1,0 g (3,25 mmol) 20e werden analog Beispiel 1f mit 0,455 ml (3,25 mmol) Triethylamin, 0,4 ml (3,25 mmol) Pivaloylchlorid und 0,84 g (3,58 mmol) 7-ACCA umgesetzt.

Ausbeute: 1,2 g (71%)

C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S (523,9)

1,1 g (2,1 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 1 g in TFE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verrührt und mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) in Betain überführt.

Ausbeute: 340 g (35%)

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S · 2H<sub>2</sub>O (459,9)

NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 3,52-4,01 (m, 2H), 5,25-5,33 (dd, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,8-5,9 (dd, 1H), 7,39 (d, 2H), 7,51 (s, 1H) ppm.

#### Beispiel 21

D-7-(2,3-Dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (21 a) und L-Form (21 b)

##### Präparative HPLC-Trennung von 20f

Säule: Hibar 250-25, RP-18, 7 μm, 254 nm

Laufmittel: 925 ml H<sub>2</sub>O — 75 ml Acetonitril — 1 ml TFE

Aufgabe: 310 mg

##### L-Form (Peak I)

Ausbeute: 86 mg (Trifluoracetat)

NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 3,71 (d, J = 18 Hz, 1H), 3,95 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,31 (d, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,82 (d, 1H), 7,38 (s, 2H), 7,5 (s, 1H) ppm.

Analytisches HPLC: Hibar 250-4, RP-8, 10 μm, 254 nm,

Laufmittel: 925 ml H<sub>2</sub>O — 75 ml Acetonitril — 1 ml TFE,

Fluß: 1,5 ml/min, 0,5 mg/ml.

Retention: 4,5 (Gehalt 98%)

##### D-Form (Peak II):

Ausbeute: 144 mg (Trifluoracetat)

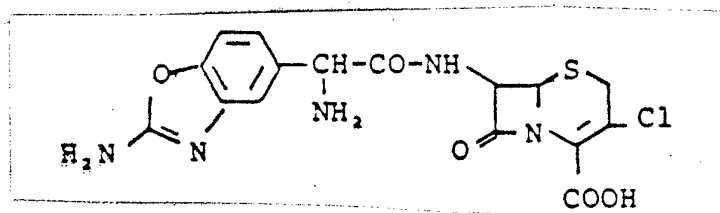
Analytisches HPLC: Vergleiche L-Form

Retention: 5,34 (Gehalt: 94,5%)

NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 3,57 (d, 1H), 3,91 (d, 1H), 5,3 (breites s, 1H), 5,63 (breites s, 1H), 5,92 (breites s, 1H), 7,41 (s, 2H), 7,55 (d, 1H) ppm.

#### Beispiel 22

D-7-(2-Aminobenzoxazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure



a) D-α-t-Butyloxycarbonylamino-α-(3-amino-4-hydroxy-phenyl)essigsäure (22 a)

Eine Lösung von 29,1 g (93,2 mmol) D-α-Butyloxycarbonylamino-α-(3-nitro-4-hydroxyphenyl)essigsäure in 300 ml CH<sub>3</sub>OH wird in Gegenwart von 2 g Palladium auf Aktivkohle (10% Pd) unter Druck 3 Std. hydriert. Das Hydriergemisch wird filtriert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird an einer Kieselgelsäule mit folgendem Lösungsmittelsystem Methylenchlorid/Methanol (10:1), Methylenchlorid/Methanol (1:1) und Methanol chromatographiert.

Ausbeute: 9,8 g (37%)

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (282,3)

NMR (DMSO): δ = 1,36 (s, 9H), 4,69 (d, 1H), 6,38 (d, 1H), 6,53-6,58 (s und d, 2H) ppm.

b) D-α-t-Butyloxycarbonylamino-α-(2-amino-benzoxazol-5-yl)essigsäure-hydrobromid (22 b)

5,5 g (19,5 mmol) 22 a werden in 40 ml Methanol gelöst, unter Rühren tropft man 2,2 g (20,5 mmol) Bromcyan gelöst in 20 ml CH<sub>3</sub>OH bei Raumtemperatur zu und rührt über Nacht. Man dampft das Reaktionsgemisch i. Vak. bis zur Trockne ein. Der Rückstand wird in THF gelöst, filtriert, in Petrolether eingerührt, das ausgefallene Produkt wird abgesaugt und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 4,5 g (57%)

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> · HBr · H<sub>2</sub>O (406,2)

NMR (DMSO): δ = 1,36 (s, 9H), 5,18 (d, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 8,98 (breites s, 1H) ppm.

c) D-7-(2-Aminobenzoxazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (22 c)

4,5 g (11 mmol) 22 b werden analog Beispiel 1 f mit 3,1 ml (22 mmol) Triethylamin, 1,35 ml (11 mmol) Pivaloylchlorid und 2,84 g (12,1 mmol) 7-ACCA, die in 30 ml THF und 12 ml H<sub>2</sub>O unter Zusatz von 10%iger Triethylaminlösung in THF in Lösung gebracht wird, umgesetzt.

Ausbeute: 2,2 g (38%)

1,3 g (2,5 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 1 g deblockiert und mittels Amberlite IRA-68 ins Betain überführt.

Ausbeute: 290 mg

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S · 2H<sub>2</sub>O (459,9)

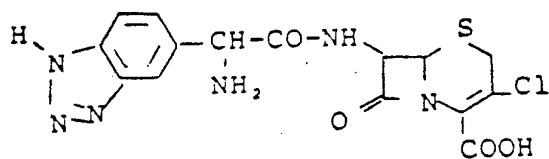
Das Rohprodukt wird an einer präparativen HPLC-Säule (Hibar-250-25, RP-18, 7 μm, Laufmittel: 1000 ml H<sub>2</sub>O — 5 ml Essigsäure) gereinigt.

Ausbeute: 83 mg (Gehalt: 99%)

NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 3,58 (d, J = 18 Hz, 1H), 3,91 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,31 (d, J = 5 Hz, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,93 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,83-7,88 (s und d, 2H) ppm.

**Beispiel 23**

DL-7-(Benzotriazol-5(6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure

**a) 5(6)-Hydroxymethyl-benzotriazol (23a)**

55,3 g (0,312 mol) Benzotriazol-carbonsäure-5-(6)-methylester werden analog Beispiel 1 g in 1300 ml THF mit 800 ml (0,936 mol) DIBAL (20%ige Lösung in Toluol) umgesetzt.

Ausbeute: 37,2 g (80%)

$C_7H_7N_3O$  (149,2)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 4,71 (s, 2H), 7,44 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,92 (d, 1H) ppm.

**b) Benzotriazol-5(6)-carboxaldehyd (23b)**

2,1 g (14,1 mmol) 23a werden analog Beispiel 1 b in 100 ml THF mit 8,4 g (96,6 mmol) Mangan (IV)-oxid 4 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 1,4 g (68%)

$C_7H_5N_3O$  (147,1)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 8,0–8,1 (dd, 2H), 8,7 (s, 1H), 10,12 (s, 1H), 12,03 (breites s, 1H) ppm.

**c) 5-(Benzotriazol-5(6)-yl)-2,4-imidazolidindion (23c)**

30,9 g (0,21 mol) 23b werden analog Beispiel 1 c in Ethanol und Wasser mit 15,9 g (0,325 mol) Natriumcyanid und 84,7 g (0,882 mol) Ammoniumcarbonat umgesetzt.

Ausbeute: 30 g (66%)

$C_9H_7N_5O_2$  (217,2)

Ber.: C 49,77 H 3,25 N 32,24

Gef.: C 49,0 H 3,6 N 31,2

**d) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(benzotriazol-5(6)-yl)essigsäure (23d)**

30 g (0,138 mol) 23c und 161,7 g (0,508 mol) Bariumhydroxid in 980 ml  $H_2O$  werden analog Beispiel 8 d 30 Std. unter Rückfluß gekocht.

Ausbeute: 16,8 g (63%)

$C_8H_8N_4O_2$  (192,2)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 5,76 (s, 1H), 7,86 (dd, 1H), 8,21 (d, 1H), 8,4 (s, 1H) ppm.

**e) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(benzotriazol-5(6)-yl)essigsäure (23e)**

12 g (62,5 mmol) 23d werden analog Beispiel 1 e mit 34 g (156 mmol) Di-t-butyldicarbonat in Dioxan und 2 N Natronlauge über Nacht gerührt. Kristallisation aus Essigester/Ether/Petrolether.

Ausbeute: 11,9 g (65%)

$C_{13}H_{16}N_4O_4$  (292,3)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,40 (s, 9H), 5,37 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,94 (breites s, 2H) ppm.

**f) DL-7-(Benzotriazol-5(6)-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (23f)**

4,0 g (13,7 mmol) 23e werden analog Beispiel 10 in THF mit 1,85 g (13,7 mmol) 1-Hydroxybenzotriazol, 2,82 g (13,7 mmol) DCC und 3,22 g (13,7 mmol) 7-ACCA, die mit 8,5 ml (34,4 mmol) N,O-Bis-(trimethylsilyl)-acetamid in THF in Lösung geht, zur Reaktion gebracht. Nach Absaugen von Dicyclohexylharnstoff wird das Filtrat zur Trockne eingedampft und der Rückstand in  $H_2O$  bei pH 7 gelöst. Nach Extrahieren mit Essigester wird die wäßrige Lösung mit 2 N HCl auf pH 2,5 gestellt und mit Essigester zweimal extrahiert. Die organische Phase wird neutral gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird aus Essigester/Petrolether umgefällt.

Ausbeute: 3,8 g (55%)

$C_{20}H_{21}ClN_6O_6S$  (508,9)

0,8 g (1,57 mmol) Boc-geschütztes Cephalosporin werden analog Beispiel 1 deblockiert und ins Betain überführt.

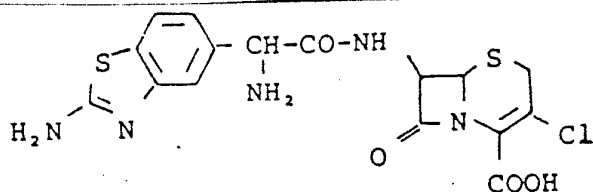
Ausbeute: 250 mg (36%)

$C_{15}H_{13}ClN_6O_4S \cdot H_2O$  (444,8)

NMR (DCOOD):  $\delta$  = 3,46–3,82 (mm, 2H), 5,25–5,32 (dd, 1H), 5,76–5,92 (dd und s, 2H), 7,87 (d, 1H), 8,22 (d, 1H), 8,92 (s, 1H) ppm.

**Beispiel 24**

D-7-(2-Aminobenzothiazol-5-ylglycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure

**a) DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-5-yl)essigsäure (24a)**

23,6 g (0,095 mol) 5-(2-Aminobenzothiazol-5-yl)-2,4-imidazolidindion werden analog Beispiel 1 d mit 22,7 g (0,95 mol) LiOH — gelöst in 1000 ml Wasser — gespalten.

Ausbeute: 11,3g (46%)

$C_9H_9N_3O_2S \cdot 2H_2O$  (259,3)

NMR (DMSO):  $\delta$  = 5,71 (s, 1H); 7,96–8,1 (dd, 2H); 8,2 (s, 1H) ppm.

b) DL- $\alpha$ -t-Butyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(2-aminobenzothiazol-5-yl)essigsäure (24b)

11,3g (0,0436 mol) 24a werden analog Beispiel 1e mit 14,3g (0,0654 mol, 1,5 equ.) Di-t-butyldicarbonat über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wird aus THF/Petrolether umkristallisiert.

Ausbeute: 6,5g (45%)

$C_{14}H_{17}N_3O_4S \cdot \frac{1}{2}H_2O$  (332,4)

Ber.: C 50,58 H 5,5 N 12,6 S 9,64

Gef.: C 50,0 H 5,2 N 11,2 S 9,2

NMR (DMSO):  $\delta$  = 1,37 (s, 9H), 5,11 (d, 1H); 7,04 (d, 1H); 7,36 (d, 1H), 7,59 (s, 2H); 7,63 (s, 1H) ppm.

c) D-7-(2-Aminobenzthiazol-5-yl-glycylamido)-3-chlor-3-cephem-4-carbonsäure (24c)

1,0g (3,09 mmol) 24b werden analog Beispiel 1f mit 0,433 ml (3,09 mmol) Triethylamin und 0,38 ml (3,09 mmol) Pivaloylchlorid in 10 ml DMF aktiviert und anschließend mit 0,726 g (3,09 mmol) 7-ACCA umgesetzt, die vorher in 7 ml THF, 3, ml Wasser und 2 ml DMF mit Triethylamin in Lösung gebracht werden.

Das Boc-geschützte Cephalosporin wird analog Beispiel 1g entacetyliert.

Ausbeute: 970 mg (57%)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot CF_3COOH$  (553,9)

Das Trifluoracetat wird in das Laufmittelsystem 1000 ml Wasser — 40 ml Acetonitril — 1 ml TFE aufgenommen, etwas Adsorberharz HP-20 AG (30–60 mesh, Diaion — Mitsubishi) zugesetzt und i. Vak. zu einem Kristallbrei eingeeengt.

Der Rückstand wird auf eine Säule — gefüllt mit HP-20 — gegeben und mit dem obengenannten Laufmittelsystem eluiert.

Ausbeuten: Peak I (L-Form): 115 mg

Peak I/II: 383 mg.

Aus der Mischfraktion (Peak I/II) erhält man nach HPLC-Chromatographie an einer Whatmansäule (Magnum 20, 500  $\times$  22, 10  $\mu$ m, CSS-RP-8) mit 0,1% TFE/1% Acetonitril in Wasser als Elutionsmittel reines D-Material (Peak II, das anschließend mit Amberlite IRA-68 (Acetat-Form) ins Betain überführt wird.

Ausbeute: 48 mg (HPLC-Gehalt: 94%)

$C_{16}H_{14}ClN_5O_4S_2 \cdot 3H_2O$  (493,9)

NMR (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 3,57 (d, J = 18 Hz, 1H), 3,9 (d, J = 18 Hz, 1H); 5,3 (d, J = 5 Hz, 1H); 5,73 (s, 1H), 5,91 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,7 (d, 1H), 7,9 (s, 1H), 8,04 (d, 1H) ppm.