CH 633 798 A5

(19) SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: C 07 D 487/04

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

(12) **PATENTSCHRIFT** A5

(11) **633 798**

(21) Gesuchsnummer: 7260/77

(22) Anmeldungsdatum: 13.06.1977

(24) Patent erteilt: 31.12.1982

(45) Patentschrift veröffentlicht: 31.12.1982

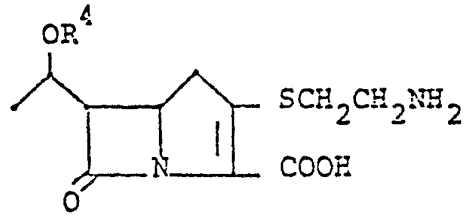
(73) Inhaber:
Merck & Co., Inc., Rahway/NJ (US)

(72) Erfinder:
Burton Grant Christensen, Metuchen/NJ (US)
William Joseph Leanza, Berkeley Heights/NJ (US)

(74) Vertreter:
E. Blum & Co., Zürich

(54) Verfahren zur Herstellung von Aetherderivaten des Thienamycins.

(57) Es werden Äther von Thienamycin der Formel

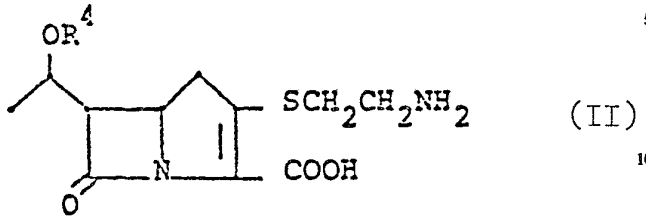


und ihrer nicht toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Salze, worin R^4 einen Ätherrest bedeutet sowie Salze dieser Verbindungen hergestellt. Die genannten Äther werden aus Thienamycin, in welchem die Säuregruppe sowie die Aminogruppe geschützt sind, durch entsprechende Verätherung erhalten. Anschliessend werden die Schutzgruppen entfernt.

Die erhaltenen Äther können als Antibiotika verwendet werden.

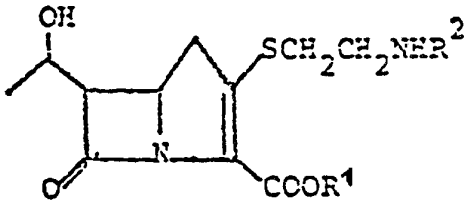
PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen der Formel



(II)

und ihrer nicht toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Salze, worin R^4 einen Ätherrest bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der Formel



worin R^1 und R^2 leicht entfernbare Schutzgruppen darstellen, entsprechend veräthert, die Schutzgruppen entfernt, und dass man erhaltene Verbindungen gegebenenfalls in die entsprechenden Salze überführt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^4 einen gegebenenfalls substituierten Alkylrest, Aryl-, Aralkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Cycloalkyl-, Heteroaryl- oder Heteroaralkylrest bedeutet.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^4 ein Rest der Formel

$$-(CH_2)_n\overset{\bullet}{Z}R''$$

ist, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 4 ist, R'' Wasserstoff, Amino, Mercapto, Hydroxy, Alkylamino, Dialkylamino, Alkyl, Alkylthio, Arylthio, Alkoxy, Aryloxy, Alkenyl, Alkinyl, Aryl, Aralkyl, Acylcycloalkyl, Heteroaryl oder Heteroaralkyl bedeutet und Z Sauerstoff, Schwefel, Stickstoff oder Carbonyl ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^4 ein Rest der Formel

$$-CHR'''R''''$$

ist, worin R''' Wasserstoff, Amino, Mercapto, Hydroxy, Alkylamino, Dialkylamino, Alkyl, Alkylthio, Arylthio, Alkoxy, Aryloxy, Alkenyl, Alkinyl, Aryl, Aralkyl, Cycloalkyl, Heteroaryl oder Heteroaralkyl bedeutet und R'''' Amino, Hydroxy, Azido, Carbamoyl, Guanidino, Acyloxy, Halogen, Sulfamino, Tetrazolyl, Sulfo, Carboxy, Carbalkoxy, Phosphono, Alkoxy oder Alkylthio ist.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^4 ein Rest der Formel

$$-(CH_2)_m-A-(CH_2)_n-Y$$

ist, worin m und n Null oder 1 bis 5 bedeuten, A ist O, NR' (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1-6 C-Atomen) oder S oder A eine einfache Bindung darstellt und Y aus einer der folgenden Gruppen ausgewählt ist:

1.) Amino oder substituiertes Amino:

$$-N(R)_2 \text{ und } -\overset{\oplus}{N}(R)_3$$

worin die Werte für R unabhängig aus der folgenden Gruppe ausgewählt sind: Wasserstoff, $N(R')_2$ (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1-6 C-Atomen), Niederalkyl oder Niederalkoxy mit je 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Niederalkoxyniederalkyl, worin der Alkoxyteil 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist, und der Alkylteil 2 bis 6 Kohlenstoffatome enthält; Cycloalkyl und Cycloalkylalkyl, worin der Cycloalkylteil 3-6 Kohlenstoffatome aufweist, und der Alkylteil 1 bis 3 Kohlenstoffatome enthält; 2 Gruppen R können zusammen mit dem Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind, einen Ring mit 3 bis 6 Atomen bilden;

2.) Amidino und substituiertes Amidino:

$$-N=C(R)-N(R)_2$$

worin R unabhängig voneinander aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Wasserstoff; $N(R')_2$ (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1-6 C-Atomen); Niederalkyl oder Niederalkoxy mit je 1-6 Kohlenstoffatomen, Niederalkoxyniederalkyl, wobei der Alkoxyteil 1-6 Kohlenstoffatome und der Alkylteil 2-6 Kohlenstoffatome enthält (falls der Niederalkoxyniederalkyl-Rest an das Kohlenstoffatom gebunden ist, so enthält der Alkylteil 1-6 Kohlenstoffatome); Cycloalkyl und Cycloalkylalkyl, worin der Alkylteil 1-3 Kohlenstoffatome enthält, zwei Gruppen R zusammen mit den Atomen, an welche sie gebunden sind, einen Ring mit 3-6 Atomen bilden können;

3.) Guanidino und substituiertes Guanidino:

$$-NH-C(=NR)-N(R)_2$$

worin R wie weiter oben unter 2.) definiert ist;

4.) Guanyl und substituiertes Guanyl:

$$-C(=NR)-N(R)_2$$

worin R weiter oben unter 2.) definiert ist;

5.) Stickstoff enthaltende mono- und bicyclische Heterocyclen (aromatische und nicht aromatische) mit 4-10 Kernatomen, worin das Heteroatom oder die Heteroatome zusätzlich zu Stickstoff auch Sauerstoff und Schwefel sein können.

6. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass R^4 einer der folgenden Reste ist:

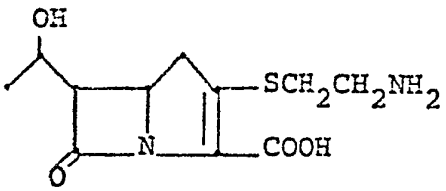
Benzyl, p-Hydroxybenzyl, 4-Amino-4-carboxybutyl, Methyl, Cyanomethyl, 2-Pentenyl, n-Amyl, n-Heptyl, Äthyl, 3- und 4-Nitrobenzyl, Phenäthyl, β,β-Diphenyläthyl, Methyldiphenylmethyl, Triphenylmethyl, 2-Methoxyphenyl, 2,6-Dimethoxyphenyl, 2,4,6-Trimethoxyphenyl, 3,5-Dimethyl-4-isoxazolyl, 3-Butyl-5-methyl-4-isoxazolyl, 5-Methyl-3-phenyl-4-isoxazolyl, 3-(2-Chlorphenyl)-5-methyl-4-isoxazolyl, 3-(2,6-Dichlorphenyl)-5-methyl-4-isoxazolyl, D-4-Amino-4-carboxybutyl, D-4-N-Benzoylamino-4-carboxy-n-butyl, p-Aminobenzyl, o-Aminobenzyl, m-Ami-

nobenzyl, p-Dimethylaminobenzyl, (3-Pyridyl)methyl, 2-Äthoxy-1-naphthyl, 3-Carboxy-2-chinoxalinyl, 3-(2,6-Dichlorphenyl)-5-(2-Furyl)-4-isoxazolyl, 3-Phenyl-4-isoxazolyl, 5-Methyl-3-(4-guanidinophenyl)-4-isoxazolyl, 4-Guanidinomethylphenyl, 4-Guanidinomethylbenzyl, 4-Guanidinobenzyl, 4-Guanidinophenyl, 2,6-Dimethoxy-4-guanidinophenyl, o-Sulfobenzyl, p-Carboxymethylbenzyl, p-Carbamoylmethylbenzyl, m-Fluorbenzyl, m-Brombenzyl, p-Chlorbenzyl, p-Methoxybenzyl, 1-Naphthylmethyl, 3-Isothiazolylmethyl, 4-Isothiazolylmethyl, 5-Isothiazolylmethyl, Guanylthiomethyl, 4-Pyridylmethyl, 5-Isoxazolylmethyl, 4-Methoxy-5-isoxazolylmethyl, 4-Methyl-5-isoxazolylmethyl, 1-Imidazolylmethyl, 2-Benzofuranylmethyl, 2-Indolylmethyl, 2-Phenylvinyl, 2-Phenyläthinyl, 1-Aminocyclohexyl, 2- und 3-Thienylaminomethyl, 2-(5-Nitrofuranyl)-vinyl, Phenyl, o-Methoxyphenyl, o-Chlorphenyl, o-Phenylphenyl, p-Aminomethylbenzyl, 1-(5-Cyanotriazolyl)-methyl, Difluormethyl, Dichlormethyl, Dibrommethyl, 1-(3-Methylimidazolyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Carboxymethylthienyl)-methyl, 2- oder 3-(4-Carbamoylthienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Methylthienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Methoxythienyl)-methyl, 2- oder 3-(4-Chlorthienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Sulfothienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Carboxythienyl)-methyl, 3-(1,2,5-Thiadiazolyl)-methyl, 3-(4-Methoxy-1,2,5-thiadiazolyl)-methyl, 2-Furylmethyl, 2-(5-Nitrofuryl)-methyl, 3-Furylmethyl, 2-Thienylmethyl, 3-Thienylmethyl, Tetrazolylmethyl, Benzamidinomethyl und Cyclohexylamidinomethyl.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von Ätherderivaten des Thienamycins, nämlich von Sauerstoffderivaten der sekundären Alkoholgruppe des antibiotischen Thienamycins.

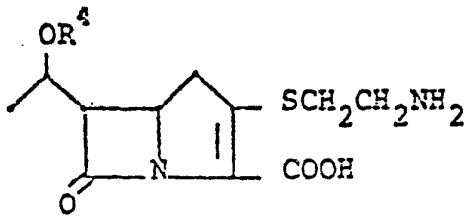
Derartige Derivate stellen nützliche Antibiotika dar.

Zur Herstellung der erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen stellt Thienamycin das Ausgangsmaterial dar. Die genannte Verbindung wurde im U.S.-Patent Nr. 3 950 357 beschrieben. In diesem Patent ist die Herstellung sowie auch Isolierung von Thienamycin angegeben. Thienamycin weist die folgende Strukturformel auf:



(I)

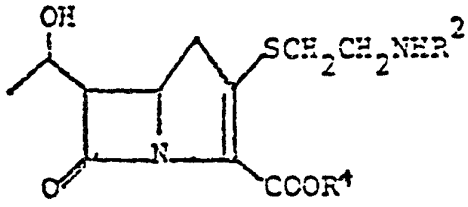
Die erfindungsgemäss herstellbaren Verbindungen weisen die folgende Formel auf



(II)

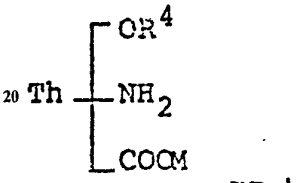
worin R^4 einen Ätherrest bedeutet.

Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung der Äther ist dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der Formel



worin R^1 und R^2 leicht entfernbare Schutzgruppen darstellen, entsprechend veräthert, die Schutzgruppen entfernt, und dass man erhaltene Verbindungen gegebenenfalls in die entsprechenden Salze überführt.

Auf einfache Weise können die erfindungsgemäss herstellbaren Verbindungen durch die folgende Formel



IIA

dargestellt werden.

In dieser Formel stellt «Th» den bicyclischen Kern von Thienamycin dar und die Hydroxy-, Amino- und Carboxylgruppen von Thienamycin sind angeführt. M ist Wasserstoff oder kann auch ein Salzkation sein, ausgewählt aus der Gruppe von Alkali- oder Erdalkalimetallen oder ein Aminsalz und R^4 ist ein Ätherrest, R^4 bedeutet Alkyl, Aryl, Aralkyl und ähnliche Reste, wie sie nachfolgend näher definiert werden, so dass die Gruppe OR^4 als Äther bezeichnet werden kann.

Es besteht ein fortlaufendes Bedürfnis für neue Antibiotika, da leider keine statische Wirksamkeit für ein bekanntes Antibiotikum wegen seiner weit verbreiteten Anwendung besteht und sich widerstandsfähige Stämme von Pathogenen gebildet haben. Zusätzlich weisen die bekannten Antibiotika den Nachteil auf, dass sie nur einer bestimmten Art von Mikroorganismen gegenüber wirksam sind. Aus diesem Grund geht die Suche nach neuen Antibiotika weiter.

Unerwarteterweise wurden nun die Äther-Verbindungen gefunden, die ein breites antibiotisches Spektrum aufweisen und sowohl bei der Behandlung von Tieren und Menschen als auch für nicht belebte Systeme verwendet werden können.

Der Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung einer neuen Klasse von Antibiotika zur Verfügung zu stellen, die die basische nukleare Struktur des antibiotischen Thienamycins aufweisen, aber durch die entsprechenden Sauerstoff-Derivate des Thienamycins, nämlich die Äther, gekennzeichnet sind. Diese Antibiotika sind in hochgradiger Weise wirksam, das Wachstum eines weiten Bereiches von Pathogenen zu hemmen, die repräsentativ sowohl gram-positive Bakterien, wie z.B. S. aureus, S. pyogenes und B. subtilis umfassen. Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf die Herstellung der nichttoxischen pharmazeutisch annehmbaren Salze der genannten Verbindungen.

R^4 ist vorzugsweise ein substituierter oder unsubstituierter geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Alkenyl oder Alkinyl mit je vorzugsweise 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, Aryl, wie z.B. Phenyl, Aralkyl, wie z.B. Benzyl, Cycloalkyl mit vorzugsweise 3 bis 6 Kohlenstoffatomen oder ein Heteroaryl- oder Heteroaralkylrest (mono- oder bicyclisch), worin der Alkylteil vorzugsweise 1 bis 3 Kohlenstoffatome aufweist und der heterocyclische Ring ins-

besondere 4 bis 10 Atome besitzt und die Heteroatome aus der Gruppe Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel ausgewählt sind; die weiter oben genannten Gruppen können unsubstituiert oder substituiert sein durch Reste wie z.B. OH, SH, SR^3 (R^3 ist Niederalkyl oder Aryl wie Phenyl), Alkyl oder Alkoxy mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Halogen, wie z.B. Chlor, Brom, Fluor und Jod, Cyano, Carboxy, Sulfamino, Carbamoyl, Sulfonyl, Azido, Amino, substituiertes Amino, wie z.B. Alkylamino, einschliesslich von quaternärem Ammonium, worin der Alkylrest 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist, Halogenalkyl, wie z.B. Trifluormethyl, Carboxyalkyl, Carbamoylalkyl, mit Stickstoff substituiertes Carbamoylalkyl, wobei die vorher genannten Alkylteile in allen Resten vorzugsweise 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweisen, Amidino, Guanidino, mit Stickstoff substituiertes Guanidino, Guanidinoniederalkyl und ähnliche. Bevorzugte Beispiele für derartige Ätherreste können solche sein, worin R^4 die folgende Bedeutung hat: Benzyl, p-Hydroxybenzyl, 4-Amino-4-carboxybutyl, Methyl, Cyanomethyl, 2-Pentenyl, β,β-Diphenyläthyl, Methyldiphenylmethyl, Triphenylmethyl, 2-Methoxyphenyl, 2,6-Dimethoxyphenyl, 2,4,6-Trimethoxyphenyl, 3,5-Dimethyl-4-isoxazolyl, 3-Butyl-5-methyl-4-isoxazolyl, 5-Methyl-3-phenyl-4-isoxazolyl, 3-(2-Chlorphenyl)-5-methyl-4-isoxazolyl, 3-(2,6-Dichlorphenyl)-5-methyl-4-isoxazolyl, D-4-Amino-4-carboxybutyl, D-4-N-Benzoylamino-4-carboxy-n-butyl, p-Aminobenzyl, o-Aminobenzyl, m-Aminobenzyl, p-Dimethylaminobenzyl, (3-Pyridyl)-methyl, 2-Äthoxy-1-naphthyl, 3-Carboxy-2-chinoxalinyl, 3-(2,6-Dichlorphenyl)-5-(2-furyl)-4-isoxazolyl, 3-Phenyl-4-isoxazolyl, 5-Methyl-3-(4-guanidinophenyl)-4-isoxazolyl, 4-Guanidinomethylphenyl, 4-Guanidinomethylbenzyl, 4-Guanidinophenyl, o-Sulfobenzyl, p-Carboxymethylbenzyl, p-Carbamoylmethylbenzyl, m-Fluorbenzyl, m-Brombenzyl, p-Chlorbenzyl, p-Methoxybenzyl, 1-Naphthylmethyl, 3-Isothiazolylmethyl, 4-Isothiazolylmethyl, 5-Isothiazolylmethyl, Guanylthiomethyl, 4-Pyridylmethyl, 5-Isoxazolylmethyl, 4-Methoxy-5-isoxazolylmethyl, 4-Methyl-5-Isoxazolylmethyl, 1-Imidazolylmethyl, 2-Benzofuranylmethyl, 2-Indolylmethyl, 2-Phenylvinyl, 2-Phenyläthynyl, 1-Aminocyclohexyl, 2- und 3-Thienylaminomethyl, 2-(5-Nitrofuranyl)-vinyl, Phenyl, o-Methoxyphenyl, o-Chlorphenyl, o-Phenylphenyl, p-Aminomethylbenzyl, 1-(5-Cyanotrizolyl)-methyl, Difluormethyl, Dichlormethyl, Dibrommethyl, 1-(3-Methylimidazolyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Carboxymethylthienyl)-methyl, 2 oder 3-(4-Carbamoylthienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Methylthienyl)-methyl, 2- oder 3-(Methoxythienyl)-methyl, 2- oder 3-(4-Chlorthienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Sulfothienyl)-methyl, 2- oder 3-(5-Carboxythienyl)-methyl, 3-(1,2,5-Thiadiazolyl)-methyl, 3-(4-Methoxy-1,2,5-thiadiazolyl)-methyl, 2-Furylmethyl, 2-(5-Nitrofuryl)-methyl, 3-Furylmethyl, 2-Thienylmethyl, 3-Thienylmethyl, Tetrazolylmethyl, Benzamidinomethyl und Cyclohexylamidinomethyl.

Die Äthergruppe kann auch einen Rest der folgenden Formel bedeuten:

$$-(CH_2)_nZR''$$

worin n 1–4 bedeutet, Z Sauerstoff, Schwefel, Carbonyl oder Stickstoff ist X und R'' die folgende Bedeutung hat: Wasserstoff, Amino, Mercapto, Hydroxy, Alkylamino, Dialkylamino, Alkyl, Alkylthio, Anylthino, Alkoxy, Anylony, Alkenyl, Alkinyl, Aryl, Aralkyl, Acylcycloalkyl, Heteroaryl oder Heteroaralkyl.

Die Äthergruppe kann aber auch einen Rest der folgenden Formel bedeuten:

$$-CHR'''R''''$$

worin R''' Wasserstoff, Amino, Mercapto, Hydroxy, Alkylamino, Dialkylamino, Alkyl, Alkylthio, Arylthio, Alkoxy, Aryloxy, Alkenyl, Alkinyl, Aryl, Aralkyl, Cycloalkyl, Heteroaryl oder Heteroaralkyl bedeutet und R'''' Amino, Hydroxy, Azido, Carbamoyl, Guanidino, Acyloxy, Halogen, Sulfamino, Tetrazolyl, Sulfo, Carboxy, Carbalkoxy, Phosphono, Alkoxy oder Akylthio ist.

Beispiele für diese Gruppe sind:
α-Aminobenzyl, α-Amino-(2-thienyl)-methyl, α-(Methylamino)-benzyl, α-Amino-methylmercaptopropyl, α-Amino-3- oder 4-Chlorbenzyl, α-Amino-3- oder 4-Hydroxybenzyl, α-Amino-2,4-dichlorbenzyl, α-Amino-3,4-dichlorbenzyl, D(–)-α-Hydroxybenzyl, α-Carboxybenzyl, α-Amino-(3-thienyl)-methyl, D-(–)-α-Amino-3-chlor-4-hydroxybenzyl, α-Amino-(cyclohexyl)-methyl, α-(5-Tetrazolyl)-benzyl, 2-Thienyl-carboxymethyl, 3-Thienyl-carboxymethyl, 2-Furylcarboxymethyl, 3-Furylcarboxymethyl, α-Sulfaminobenzyl, 3-Thienyl-sulfaminomethyl, α-(N-Methylsulfamino)-benzyl, D(–)-2-Thienylguanidinomethyl, D(–)-α-Guanidinobenzyl, α-Guanylureidobenzyl, α-Hydroxybenzyl, α-Azidobenzyl, α-Fluorbenzyl, 4-(5-Methoxy-1,3-oxadiazolyl)-aminomethyl, 4-(5-Methoxy-1,3-oxadiazolyl)-hydroxymethyl, 4-(5-Methoxy-1,3-sulfadiazolyl)-hydroxymethyl, 4-(5-Chlorthienyl)-aminomethyl, 2-(5-Chlorthienyl)-hydroxymethyl, 2-(5-Chlorthienyl)-carboxy-methyl, 3-(1,2-Thiazolyl)-aminomethyl, 3-(1,2-Thiazolyl)-hydroxymethyl, 3-(1,2-Thiazolyl)-carboxymethyl, 2-(1,4-Thiazolyl)-aminomethyl, 2-(1,4-Thiazolyl)-hydroxymethyl, 2-(1,4-Thiazolyl)-carboxymethyl, 2-Benzothienyl-aminomethyl, 2-Benzothienylhydroxymethyl, 2-Benzothienyl-carboxymethyl, α-Sulfobenzyl, α-Phosphonobenzyl, α-Diäthyl-phosphono und α-Monoäthylphosphono.

Eine besonders bevorzugte Klasse von Ätherresten sind endständig substituierte Gruppen, in welchen der Substituent einen basischen Rest darstellt, der substituiert oder unsubstituiert ist, wie z.B. Amino, Amidino, Guanidino, Guanyl und stickstoffhaltige mono- und bicyclische Heterocyclen (aromatische und nicht-aromatische), worin das Heteroatom oder die Heteroatome zusätzlich zum Stickstoff auch Sauerstoff und Schwefel sein können. Derartige bevorzugte substituierte Ätherreste können durch die folgende Formel dargestellt werden.

$$-(CH_2)_m-A-(CH_2)_n-Y$$

worin m und n 0 oder eine ganze Zahl von 1 bis 5 bedeuten, A Sauerstoff, NR' (R' ist Wasserstoff oder ein Niederalkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen) oder Schwefel oder A eine einfache Bindung bedeutet, und Y eine der nachfolgenden Bedeutungen haben kann:

1.) Amino oder substituiertes Amino:

$$-N(R)_2 \text{ und } -\overset{\oplus}{N}(R)_3$$

worin die Werte für R unabhängig aus der folgenden Gruppe ausgewählt sind: Wasserstoff; $N(R')_2$ (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen); Niederalkyl und Niederalkoxy mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen; Niederalkoxyniederalkyl, worin der Alkoxyteil 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist und der Alkylteil 2 bis 6 Kohlenstoffatome besitzt; Cycloalkyl und Cycloalkylalkyl, worin der Cycloalkylring 3 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist und der Alkylteil 1 bis 3 Kohlenstoffatome besitzt; zwei Gruppen R können zusammen mit dem Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind, einen Ring mit 3 bis 6 Atomen bilden.

2.) Amidino und substituiertes Amidino:

worin der Wert für den Substituenten R unabhängig aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Wasserstoff; $N(R')_2$ (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen); Niederalkyl oder Niederalkoxy mit je 1 bis 6 Kohlenstoffatomen; Niederalkoxyniederalkyl, worin der Alkoxyteil 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist und der Alkylteil 2 bis 6 Kohlenstoffatome besitzt (falls der Niederalkoxyniederalkylrest an das Kohlenstoffatom gebunden ist, so weist der Alkylteil 1 bis 6 Kohlenstoffatome auf); Cycloalkyl und Cycloalkylalkyl, worin der Alkylteil 1 bis 3 Kohlenstoffatome aufweist; zwei Gruppen R können zusammen mit den Atomen, an welche sie gebunden sind, einen Ring mit 3 bis 6 Atomen bilden.

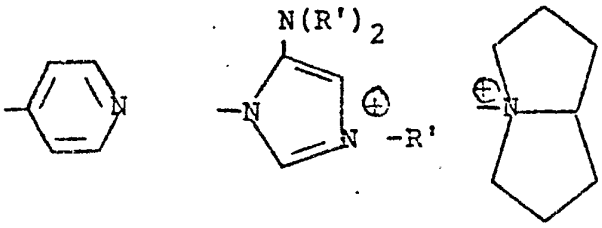
3.) Guanidino und substituiertes Guanidino:

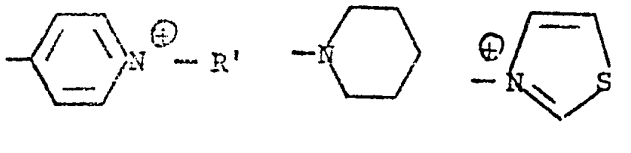
worin der Substituent R weiter oben unter 2.) definiert ist.

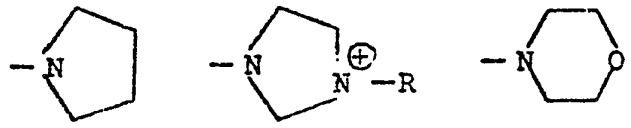
4.) Guanyl und substituiertes Guanyl:

worin der Substituent R weiter oben unter 2.) definiert ist.

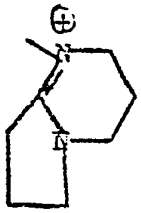
5.) Stickstoff enthaltende mono- und bicyclische Heterocyclen (aromatische und nicht-aromatische) mit 4 bis 10 Kernatomen, worin das Heteroatom oder die Heteroatome zusätzlich zum Stickstoff auch noch Sauerstoff oder Schwefel sein können. Derartige Heterocyclen, welche bevorzugt werden, sind nachfolgend zusammengestellt (R' ist Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen:





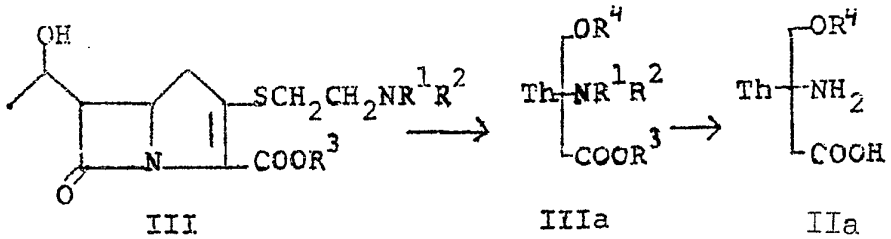






Die erfindungsgemäss herstellbaren Äther werden durch die weiter oben angegebene Strukturformel II umfasst, und bevorzugte Äther-Derivate von Thienamycin sind solche, welche ein verhältnismässig niedriges Molekulargewicht aufweisen und sich auch hydrophil verhalten. So sind z.B. in bezug auf die erfindungsgemäss erhältlichen Äther die folgenden Reste bevorzugt und repräsentativ: Methoxymethyl, Hydroxymethyl, Methoxyäthyl, Dimethylaminomethyl, Dimethylaminoäthyl, Methylthioäthyl, Amidinoäthyl, Guanidinoäthyl und ähnliche.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäss erhältlichen Antibiotika aus Thienamycin-Ausgangsverbindungen der Formel III hergestellt, in welchen alle Reste durch Schutzgruppen geschützt sind:



III IIIa IIa

In diesen Verbindungen sind die Reste R^1 und R^2 übliche Stickstoffschutzgruppen (gewöhnlich bedeuten R^1 oder R^2 Wasserstoff) und R^3 ist eine allgemein bekannte Carboxylschutzgruppe. Die Herstellung der am Stickstoffatom und an der Säuregruppe Schutzgruppen aufweisenden Verbindungen der Formel III ist nachfolgend sowie auch in den Präparaten ausführlich beschrieben. Die einzige Einschränkung für die Schutzgrupen R^1, R^2 und R^3 beruht darauf, dass

sie die gewünschte Reaktion nicht nachteilig beeinflussen und dass sie schliesslich leicht entfernbar sind, um Verbindungen der Formel II herzustellen. Die hier verwendeten Definitionen für die «Schutzgruppen» sind die gleichen, wie sie in dem U.S.-Patent Nr 3 697 515 ausführlich beschrieben sind.

Die bevorzugten Stickstoff-Schutzgruppen in dem Ausgangsmaterial der Formel III sind insbesondere: Carbobenzyloxy, ringsubstituiertes Carbobenzyloxy, wie z.B. o- und p-Nitrocarbobenzyloxy, p-Methoxycarbobenzyloxy, Chloracetyl, Bromacetyl, Phenylacetyl, t-Butoxycarbonyl, Trifluoracetyl, Bromäthoxycarbonyl, 9-Fluorenylmethoxycarbonyl, Dichloracetyl, o-Nitrophenylsulfenyl, 2,2,2-Trichloräthoxycarbonyl, Brom-t-butoxycarbonyl, Phenoxyacetyl; Schutzgruppen für andere als Acylgruppen sind z.B. Alkylidene wie Benzyliden, Salicyliden und ähnliche.

Bevorzugte Beispiele für geeignete Blockierungsester R^3 für die Ausgangsmaterialien der Formel III sind nachfolgend angeführt:

(i) $R^3=CR^aR^bR^c$ worin mindestens einer der Substituenten R^a, R^b und R^c einen Elektronendonator darstellt, wie z.B. p-Methoxyphenyl, 2,4,6-Trimethylphenyl, 9-Anthryl, Methoxy, CH_2SCH_3, Tetrahydrofur-2-yl, Tetrahydropyran-2-yl oder Fur-2-yl. Die restlichen Substituenten R^a, R^b und R^c können Wasserstoff oder einen organischen Substituenten darstellen. Geeignete Estergruppen dieser Art sind z.B. p-Methoxybenzyloxycarbonyl und 2,4,6-Trimethylbenzyloxycarbonyl.

(ii) $R^3=CR^aR^bR^c$, worin mindestens einer der Substituenten R^a, R^b und R^c eine Elektronen anziehende Gruppe darstellt, wie z.B. Benzol, p-Nitrophenyl, 4-Pyridyl, Trichlormethyl, Tribrommethyl, Jodmethyl, Cyanomethyl, Äthoxycarbonylmethyl, Arylsulphonylmethyl, 2-Dimethylsulphoniumethyl, o-Nitrophenyl oder Cyano. Geeignete Ester dieser Art sind unter anderem Benzoylmethoxycarbonyl, p-Nitrobenzyloxycarbonyl, 4-Pyridylmethoxycarbonyl, 2,2,2-Trichloräthoxycarbonyl und 2,2,2-Tribromäthoxycarbonyl.

(iii) $R^3=CR^aR^bR^c$, worin mindestens zwei der Substituenten R^a, R^b und R^c einen Kohlenwasserstoffrest bedeuten, wie Alkyl, z.B. Methyl oder Äthyl oder Aryl, wie z.B. Phenyl, und der restliche Substituent R^a, R^b und R^c, falls vorhanden, Wasserstoff ist. Geeignete Ester dieser Art umfassen z.B. t-Butyloxycarbonyl, t-Amyloxycarbonyl, Diphenylmethoxycarbonyl und Triphenylmethoxycarbonyl.

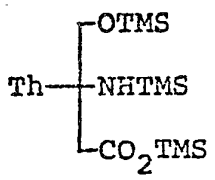
(iv) $R^3=R^d$, worin R^d Adamantyl, 2-Benzyloxyphenyl, 4-Methylthiophenyl oder Tetrahydropyran-2-yl bedeutet.

Silylester, die zu dieser Kategorie der Schutzgruppen gehören, kann man üblicherweise aus einem Halogensilan oder einem Silazan der folgenden Formel herstellen $R^4{}_3SIX'$; $R^4{}_2SIX'$; $R^4{}_3Si.NR^4{}_2$; $R^4{}_3Si.NH.COR^4$; $R^4{}_3Si.NH.CO.NH.SiR^4{}_3$; $R^4NH.CO.NR^4.SiR^4{}_3$; oder $R^4C(OSiR^4{}_3)$; $HN(SiR^4{}_3)_2$ worin X' ein Halogenatom bedeutet, wie Chlor oder Brom und die verschiedenen Reste R^4, die gleich oder verschieden sind, Wasserstoff oder Alkyl bedeuten, wie z.B. Methyl, Äthyl, n-Propyl, Isopropyl, Aryl wie Phenyl oder Aralkyl, wie z.B. Benzylreste.

In diesem Zusammenhang wird festgestellt, dass bevorzugte Schutzgruppen R^3 solche Gruppen umfassen, die unter die oben angeführten Definitionen fallen, wie z.B. Aralkyl, Haloalkyl, Alkanoyloxyalkyl, Alkoxyalkyl, Alkenyl, substituiertes Alkyl oder Aralkoxyalkyl sowie auch Alkylsilyl, worin Alkyl 1 bis 10 Kohlenstoffatome aufweist. So sind z.B. bevorzugte «Blockierungsgruppen» R^3 Benzyl, Phenacyl, p-Nitrobenzyl, Methoxymethyl, Trichloräthyl. Trimethylsilyl, Tributylzinn, p-Methoxybenzyl oder Benzhydryl. Diese Schutzgruppen sind allgemein dafür bekannt, dass man sie in Cephalosporin- und Penicillin-Verbindungen leicht entfernen kann.

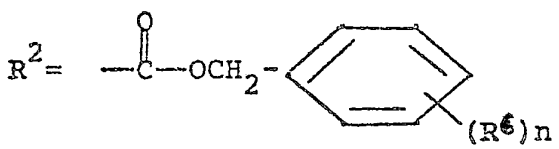
Im allgemeinen setzt man die Verbindungen der Formel III zuerst mit N-Acylierungsmitteln um, um die stickstoffhaltige Gruppe zu schützen und erst dann wird die Schutzgruppe für den Carbonsäurerest eingeführt; es ist jedoch auch möglich, die Substituenten R^1/R^2 und R^3 gleichzeitig durch eine gemeinsame Reaktion, falls möglich, einzuführen. Die Entfernung der Schutzgruppen wird vorzugsweise in einem einzigen Schritt durchgeführt, der allgemein gut bekannt ist, jedoch kann man auch, abhängig von der Art der Substituenten R^1/R^2 und R^3, die Schutzgruppen durch Durchführung mehrerer Schritte entfernen.

Die Einführung der gewünschten Schutzgruppen kann durchgeführt werden, indem man das freie Thienamycin der Formel I entsprechend umsetzt oder indem man ein bereits geschütztes Derivat von Thienamycin, wie z.B. Tris-Silylatthienamycin



umsetzt, worin TMS einen Triorganosilylrest bedeutet, wie z.B. Trimethylsilyl; die Herstellung derartiger Verbindungen ist ausführlich nachfolgend beschrieben.

Die bevorzugten Stickstoff-Schutzgruppen R^1 und R^2 sind solche, worin R^1 Wasserstoff ist und R^2 einen substituierten oder einen unsubstituierten Carbobenzyloxyrest der Formel



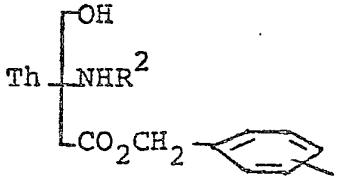
bedeutet, worin n 0, 1 oder 2 ist (wenn n 0 bedeutet, ist R^6 Wasserstoff) und R^6 Niederalkoxy oder Nitro ist. Eine weitere, insbesonders bevorzugte Stickstoff-Schutzgruppe ist der Brom-t-butoxycarbonyl-Rest.

Eine bevorzugte Säureschutzgruppe R^3 ist der Benzylrest oder substituierte Benzylgruppen, wie z.B. p-Nitrobenzyl:

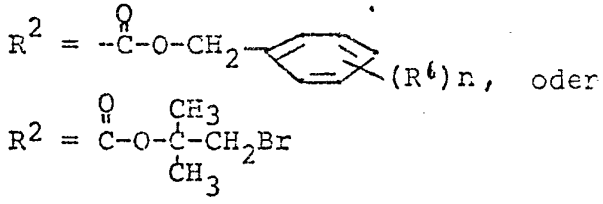


worin n 0, 1 oder 2 ist (n ist 0 wenn R' Wasserstoff ist) und R^6 Niederalkoxy oder Nitro bedeutet.

Ein bevorzugtes Ausgangsmaterial der Formel III kann durch die folgende Formel angegeben werden:

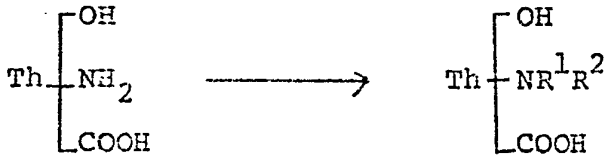


(III)



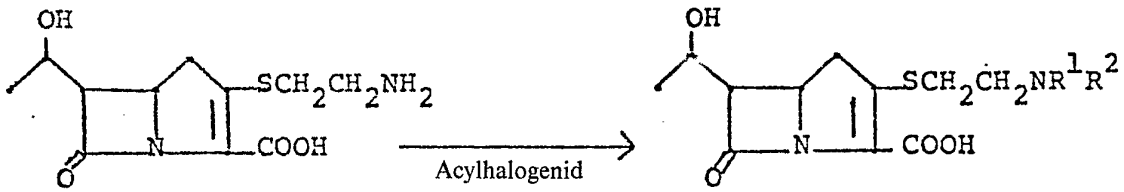
Im allgemeinen kann eine Verbindung der Formel III hergestellt werden, indem man Thienamycin in Wasser oder in einer Mischung aus Wasser und einem polaren organischen Lösungsmittel, wie z.B. Oxan, in Gegenwart einer Base mit einem Acylhalogenid behandelt, wie z.B. Carbobenzyloxychlorid. Das erhaltene N-Acyl-Thienamycin-Derivat kann nach bekannten Verfahren isoliert werden. Die Säureschutzgruppe wird üblicherweise in einer zweiten Stufe eingeführt, wobei man das N-blockierte Thienamycin mit einem aktivierten Halogenid umsetzt, wie z.B. Benzylbromid, und zwar in einem Lösungsmittel wie Hexamethylphosphoramid oder ähnlichen in einem Temperaturbereich von 0 bis 60°C, wobei die Umsetzung einige Minuten bis 4 Stunden lang dauern kann. Die erhaltenen Verbindungen der Formel III, die sowohl N- als auch Säureschutzgruppen aufweisen, werden dann in die Zwischenverbindungen der Formel IIIa übergeführt; dieses Verfahren wird später beschrieben. In den Zwischenverbindungen der Formel IIIa werden die Schutzgruppen anschliessend entfernt, wobei man die Verbindungen der Formel II gemäss der Erfindung nach gut bekannten Verfahren erhält, einschliesslich der Hydrolyse und Hydrierung. Wenn man bevorzugte N- und Säureschutzgruppen anwendet, beruht das bevorzugte Verfahren zur Entfernung der Schutzgruppen auf der Hydrierung; dabei hydriert man die Zwischenverbindungen der Formel IIIa, die sich in einem Lösungsmittel wie einem niederen Alkanol befinden, in Gegenwart eines Hydrierungskatalysators, wie z.B. Platin oder Palladium oder deren Oxyde.

Bei der Herstellung von Verbindungen der Formel II können die N-geschützten Verbindungen der nachfolgenden Formel (1) zuerst folgendermassen hergestellt werden:



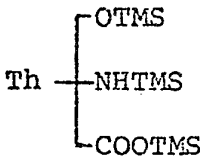
1

Im allgemeinen werden die N-geschützten Verbindungen der obigen Formel 1, worin R^1 und R^2 Wasserstoff oder Acyl bedeuten, hergestellt, indem man Thienamycin der Formel I mit einem Acylierungsmittel umsetzt, wie z.B. einem Acylhalogenid oder Säureanhydrid, wie aliphatische, aromatische, heterocyclische, araliphatische oder heterocyclische aliphatische Carbonsäurehalogenide oder die entsprechenden Anhydride. Man kann auch andere Acylierungsmittel verwenden, z.B. gemischte Carbonsäureanhydride und insbesondere niedere Alkylester gemischter Carboxyl-Carbonsäureanhydride; ebenfalls kann man carbocyclische Säuren in Gegenwart von Carbodiimid einsetzen, wie z.B. 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid, und einen aktivierten Ester, und einen aktivierten Ester einer Carbonsäure, wie z.B. p-Nitrophenylester. Die Acylierung wird gewöhnlich in einem Temperaturbereich von etwa −20°C bis etwa 100°C durchgeführt, insbesondere in einem Bereich von −8°C bis 25°C. Man kann beliebige Lösungsmittel, in welchen die Ausgangsmaterialien löslich sind, und sich der Reaktion gegenüber inert verhalten, verwenden, wie z.B. polare Lösungsmittel, wie Wasser, Alkohole und polare organische Lösungsmittel im allgemeinen solche wie Methylformamid (DMF), Hexamethylphophoramid (HMPA), Aceton wie Oxan, Tetrahydrofuran (THF), Acetonitril, heterocyclische Amine, wie z.B. Pyridin, Äthylacetat, wässrige Mischungen der genannten Lösungsmittel sowie auch halogenierte Lösungsmittel, wie z.B. Methylenchlorid und Chloroform. die Umsetzung kann etwa 5 Minuten lang bis maximal 3 Stunden dauern, aber im allgemeinen ist eine Reaktionszeit von etwa einer halben Stunde bis einer Stunde ausreichend. Die folgende Gleichung zeigt dieses Verfahren unter Anwendung eines Carbonsäurehalogenids; es ist selbstverständlich anzunehmen, dass man das genannte Halogenid durch ein Carbonsäureanhydrid oder durch ein anderes funktionell äquivalentes Acylierungsmittel ersetzen kann, wobei man das gleiche Produkt erhält.

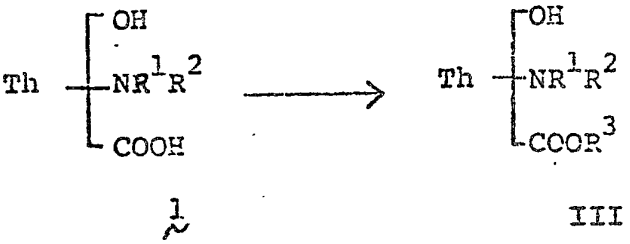


Im allgemeinen, wenn man die weiter oben angeführten Acylierungsmittel einsetzt, nämlich Säurehalogenide (geeignete Halogenide leiten sich von Chlor, Jod oder Brom ab) oder entsprechen der Anhydride, wird die Umsetzung in Wasser oder einer wässrigen Mischung aus einem polaren organischen Lösungsmittel, wie z.B. Aceton, Dioxan, THF, DMF, Acetonitril oder ähnlichen in Gegenwart eines geeigneten Baseakzeptors, wie z.B. $NaHCO_3$, MgO, NaOH, K_2HPO_4 und ähnliche ausgeführt.

Für den Fall, dass das Acylierungsmittel Wasser gegenüber empfindlich ist, ist es manchmal von Vorteil, die Acylierung in einem nicht wässrigen Lösungsmittel durchzuführen. Triorganosilyl- oder Zinnderivate von Thienamycin sind häufig für diesen Zweck geeignet. Die Silylierung von Thienamycin verläuft schnell und man erhält Tristriorganosilylderivate, wie z.B. Tris-trimethylsilyl-thienamycin Th $(TMS)_3$:



Solche Derivate, welche leicht in organischen Lösungsmitteln löslich sind, werden zweckmässigerweise durch Umsetzung von Thienamycin mit einem Überschuss an Hexamethyldisilazan und einer stöchiometrischen Menge von Trimethylchlorsilan bei einer Temperatur von 25°C umgesetzt, wobei man heftig in einer Stickstoffatmosphäre rührt. Das entstandene Ammoniumchlorid wird dann durch Zentrifugieren entfernt, und man entfernt das Lösungsmittel durch Verdampfen, wobei man dann das gewünschte Silylderivat erhält. Im allgemeinen kann das Ausgangsmaterial der Formel III aus Stickstoff geschützten Verbindungen der Formel I nach dem folgenden Reaktionsschema hergestellt werden:



worin alle Substituenten weiter oben definiert sind. Gewöhnlich wird die Umwandlung von I→III nach bekannten Verfahren durchgeführt. Derartige Verfahren umfassen die folgenden Methoden:

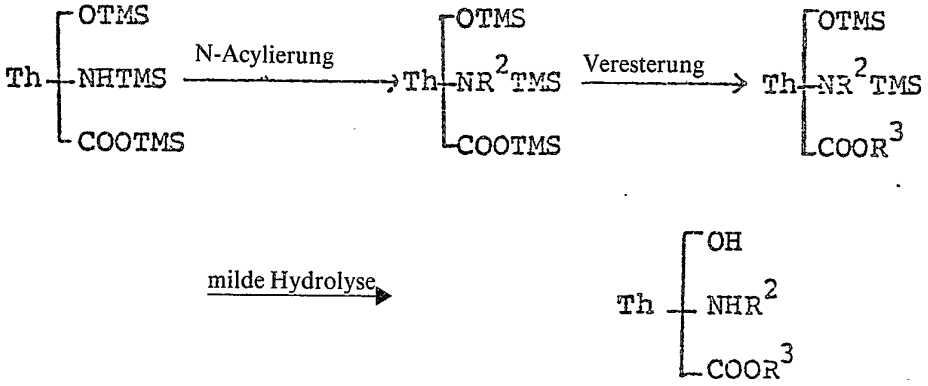
1.) Umsetzung einer Verbindung der Formel I mit einem Diazoalkan, wie z.B. Diazomethan, Phenyldiazomethan, Diphenyldiazomethan und ähnliche, in einem Lösungsmittel, wie z.B. Dioxan, Äthylacetat, Acetonitril und ähnliche, bei einer Temperatur von 0 bis zur Rückflusstemperatur von 2 Minuten lang bis zu 2 Stunden.

2.) Umsetzung eines Alkalimetallsalzes einer Verbindung der Formel I mit einem aktivierten Alkylhalogenid, wie z.B. Methyljodid, Benzylbromid oder m-Phenoxybenzylbromid, p-t-Butylbenzylbromid, Pivaloyloxymethylchlorid und ähnliche. Geeignete Reaktionsbedingungen umfassen Lösungsmittel, wie z.B. Hexamethylphosphoramid und ähnliche, und man arbeitet in einem Temperaturbereich von 0 bis 60°C während einigen Minuten bis zu 4 Stunden.

3.) Umsetzung der Verbindung der Formel I mit einem Alkohol, wie z.B. Methanol, Äthanol, Benzylalkohol und ähnlichen. Die Umsetzung kann in Gegenwart eines Carbodiimids als Kondensationsmittel umgeführt werden, wie z.B. Cyclohexylcarbodiimid und ähnliche. Geeignete Lösungsmittel sind unter anderem $CHCl_3$, CH_3CH, CH_2Cl_2 und ähnliche und man arbeitet bei Temperaturen von 0°C bis zur Rückflusstemperatur 15 Minuten lang bis zu 18 Stunden.

4.) Umsetzung eines stickstoff-acylierten Säureanhydrids von I hergestellt durch die Umsetzung der freien Säure der Formel III, mit einem Säurechlorid, wie z.B. Äthylchlorformiat, Benzylchlorformiat und ähnliche, mit einem Alkohol, wie sie unter 3.) angegeben sind, wobei man die gleichen Reaktionsbedingungen, wie unter 3.) angeführt, verwendet. Das Anhydrid wird hergestellt, indem man eine Verbindung der Formel III mit dem Säurechlorid in einem Lösungsmittel, wie z.B. Tetrahydrofuran (THF), CH_2Cl_2 und ähnliche bei einer Temperatur von 25°C bis zur Rückflusstemperatur 15 Minuten bis zu 10 Stunden lang umsetzt.

5.) Umsetzung von labilen Estern des Thienamycins der Formel (I) wie z.B. Trimethylsilylester, Dimethyl-t-butylsilylester oder ähnliche mit RX', worin X' Halogen bedeutet, wie z.B. Brom oder Chlor, und R weiter oben definiert ist, in einem Lösungsmittel, wie z.B. THF, CH_2Cl_2 und ähnliche bei einer Temperatur von 0°C bis zur Rückflusstemperatur 15 Minuten bis 16 Stunden lang. Die Umsetzung kann z.B. nach dem folgenden Schema verlaufen:



worin TMS ein Triorganosilylrest ist, wie z.B. Trimethylsilyl und die anderen Substituenten schon weiter oben definiert sind.

Die weiter oben angeführten Reaktionsschemata sind für die verwandten bicyclischen antibiotischen β-Lactame gut bekannt, und bei allen durchzuführenden organischen Synthesen gibt es im allgemeinen keine kritischen Reaktionsparameter bei der Herstellung von N-Acyl- und Carboxylthienamycin (Ausgangsmaterialien der Formel III).

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäss herstellbaren Verbindungen nach gut bekannten Verätherungsreaktionen (III→III a) an der sekundären Alkoholgruppe des Thienamycins der Formel III, welches Schutzgruppen aufweist, durchgeführt. (Die Entfernung der Schutzgruppen (IIIa→II) ergibt dann die genannten Verbindungen, die weiter oben diskutiert wurden.) Derartige Verfahren (III→IIIa) umfassen:

1.) Für die Herstellung der entsprechenden Äther führt man vorzugsweise eine mit Säure katalysierte Umsetzung von Verbindungen der Formel III in einem Diazoalkan, wie z.B. Diazomethan, Phenyldiazomethan, Diphenyldiazome-

than und ähnliche, in einem inerten Lösungsmittel, wie z.B. Dioxan, Tetrahydrofuran (THF), Halogenkohlenwasserstoffen, wie z.B. CH_2Cl_2, Äthylacetat und ähnlichen, in Gegenwart einer katalytischen Menge einer starken Säure oder einer Lewis-Säure, wie z.B. Toluolsulfonsäure, Trifluoressigsäure, Fluorborsäure, Bortrifluorid und ähnlichen, bei einer Temperatur von -78° bis 25°C einige Minuten lang bis zu 2 Stunden aus.

2.) Zur Herstellung der entsprechenden genannten Äther führt man die Umsetzung von Verbindungen der Formel III vorzugsweise mit einem Alkylierungsmittel, wie z.B. einem aktiven Halogenid, wie Methyljodid, Benzylbromid, m-Phenoxybenzylbromid und ähnliche, Alkylsulphonate, wie z.B. Dimethylsulfat, Diäthylsulphat, Methylfluorsulfonat und ähnliche in Gegenwart einer starken Base, die dazu fähig ist, das Alkoholat einer starken Base, die dazu fähig ist, das Alkoholatanion einer Verbindung der Formel III zu bilden, aus. Geeignete Basen sind unter anderem Alkali- und Erdalkalimetalloxide und -hydroxyde, Alkalimetallalkoxide, wie z.B. Kalium-tertiäres-Butoxid, tertiäre Amine, wie z.B. Triäthylamin, Alkalimetallalkyl- und -arylverbindungen wie z.B. Phenyllithium, sowie Alkalimetallamide, wie z.B. Natriumamid. Geeignete Lösungsmittel sind beliebige inerte wasserfreie Lösungsmittel, wie z.B. t-Butanol, Dimethylformamid (DMF), THF, Hexamethylsphosphoramid, (HMPA), Dioxan und ähnliche, und man arbeitet bei einer Temperatur von -78 bis 25°C einige Minuten lang bis 4 Stunden.

Die erfindungsgemäss erhaltenen Verbindungen der Formel II können die verschiedensten pharmakologisch annehmbaren Salze mit anorganischen sowie auch organischen Basen bilden; diese umfassen z.B. Metallsalze, die sich von Alkalimetall- oder Alkalierdmetallhydroxyden ableiten, Carbonate oder Bicarbonate und Salze, welche sich von primären, sekundären oder tertiären Aminen ableiten, wie z.B. Monoalkylamine, Dialkylamine, Trialkylamine, niedere Alkanolamine, Diniederalkanolamine, niedere Alkylendiamine, N,N-diaralkyl- oder -alkylendiamine, Aralkylamine, aminosubstituierte niedere Alkanole, mit N,N-di-niederalkylamino substituierte niedere Alkanole, mit amino-, polyamino- und guanidino-substituierte niedere Alkansäuren sowie auch Stickstoff enthaltende heterocyclische Amine. Repräsentative Beispiele sind Salze, die sich von Natriumhydroxid, Natriumcarbonat, Natriumbicarbonat, Kaliumcarbonat, Kaliumhydroxyd, Kalziumcarbonat, Trimethylamin, Triäthylamin, Piperidin, Morpholin, Quinin, Lysin, Protamin, Arginin, Procain, Äthanolamin, Morphin, Benzylamin, Äthylendiamin, N,N'-Dibenzyläthylendiamin, Diäthanolamin, Piperazin, Dimethylaminoäthanol, 2-Amino-2-methyl-1-propanol, Theophyllin, N-Methylglucamin und ähnliche ableiten. Man kann ebenfalls Säureadditionssalze herstellen, die auch pharmakologisch wirksam sind, wie z.B. Salze mit Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Toluol-p-sulfonsäure und Methansulfonsäure.

Die Salze können Monosalze sein, wie z.B. das Mononatriumsalz, welches in der Regel erhalten wird, indem man 1 Äquivalent Natriumhydroxyd mit einem Äquivalent der Verbindung der Formel II umsetzt. Es können aber auch gemischte Salze sein, die man erhält, indem man 1 Äquivalent eines Monosalzes mit 1 Äquivalent einer verschiedenen Base behandelt. Es besteht aber auch die Möglichkeit, Salze herzustellen, indem man 1 Äquivalent einer Base, die ein zweiwertiges Kation enthält, wie z.B. Kalziumhydroxid, mit einem Äquivalent des Produktes der Formel II zu behandeln. Zusätzlich fallen in den Rahmen der vorliegenden Erfindung gemischte Salze und Ester die erhalten werden konnten, indem man die Verbindung der Formel II mit einem Äquivalent Natriumhydroxid und anschliessend mit einem Äquivalent Milchsäure umsetzte. Die erfindungsgemäss erhältlichen Salze stellen alle pharmakologisch annehmbare, nicht toxische Derivate dar, die man als aktive Zusätze in geeigneten Einheitsdosierungen pharmazeutischer Art einsetzen kann. Man kann die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen auch zusammen mit anderen aktiven Verbindungen verabreichen, um ein weiteres Wirkungsspektrum zu erhalten. Zusätzlich dazu können die vorliegenden Salze und ebenfalls die entsprechenden Ester- und Amidderivate als Zwischenprodukte bei der Herstellung der Carbonsäureverbindung der weiter oben angeführten Formel II dienen.

Die erfindungsgemäss erhaltenen Thienamycin-Derivate stellen wertvolle antimikrobielle Substanzen dar, die sich gegenüber den verschiedensten gram-positiven und gram-negativen Pathogenen, wie z.B. Bacillus subsilis, Salmonella schottmuelleri und Proteus vulgaris, aktiv verhalten. So sind z.B. die freie Säure und insbesondere ihre Salze, wie z.B. Amin- und Metallsalze, vorzugsweise die Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalze, nützliche Bakterizide und sie können dazu verwendet werden, um empfindliche Pathogene von zahnärztlichen und medizinischen Vorrichtungen zu entfernen, zur Abtrennung von Mikroorganismen und für die therapeutische Verwendung bei Menschen und Tieren. Für den zuletzt genannten Zweck kann man pharmakologisch annehmbare Salze mit anorganischen und organischen Basen, wie sie bei der Verabreichung von Penicillinen und Cephalosporinen allgemein bekannt sind, einsetzen. So z.B. werden bevorzugt Salze von Alkalimetallen und Erdalkalimetallen verwendet und ebenfalls auch Salze primärer, sekundärer und tertiärer Amine. Diese Salze kann man mit pharmazeutisch annehmbaren flüssigen und festen Trägerstoffen zu geeigneten Dosierungseinheiten in Form von Pillen, Tabletten, Suppositorien, Sirups, Elixieren und ähnlichem, vereinigen, die alle nach allgemein bekannten Verfahren hergestellt werden.

Die neuen erfindungsgemäss erhaltenen Verbindungen stellen wertvolle Antibiotika dar, welche sich gegenüber den verschiedensten gram-positiven und gram-negativen Bakterien aktiv verhalten und daher bei der menschlichen Therapie sowie auch bei Tieren verwendet werden können. Die genannten Verbindungen kann man daher als antibakterielle Medikamente zur Behandlung von Infektionen verwenden, die durch gram-positive oder gram-negative Bakterien verursacht wurden, wie z.B. gegen Staphyloccus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Bacillus subtilis, Salmonella typhosa, Pseudomonas und Bacterium proteus. Die erfindungsgemäss erhaltenen antibakteriellen Mittel kann man weiter als Zusatzstoffe für Tierfutter, als Konservierungsmittel für Lebensmittel und als Desinfektionsmittel verwenden. Es kann z.B. in wässrigen Mitteln in Konzentrationen von 0,1 bis 100 Teilen Antibiotikum pro Million Teile Lösung verwendet werden, um das Wachstum von schädlichen Bakterien auf ärztlichen und zahnärztlichen Geräten zu zerstören oder zu hemmen; ferner können solche Mittel als Bakterizide für technische Anwendungszwecke, z.B. in Anstrichfarben auf wässriger Basis oder in dem Siebwaser von Papierfabriken, verwendet werden, um das Wachstum schädlicher Bakterien zu unterdrücken.

Die erfindungsgemäss erhaltenen Produkte kann man allein oder auch in Kombination mit einem oder mehreren anderen aktiven Bestandteilen in pharmazeutischen Präparationen verwenden. Diese Antibiotika können in Form von Kapseln, Tabletten, Pulvern, in flüssigen Lösungen oder in Form von Suspensionen oder Elexieren eingesetzt werden. Man kann sie oral, intravenös oder intramuskulär verabreichen.

Die pharmazeutischen Präparate liegen vorzugsweise in einer solchen Form vor, dass sie sich für die Absorption im gastrointestinalen System eignen. Tabletten und Kapseln für die orale Verabreichung können in Einheitsdosierungsform vorliegen und übliche Streckmittel enthalten, wie z.B. Bindemittel z.B. Sirup, Akazienharz, Gelatine, Sorbit, Tragacanthharz oder Polyvinylpyrrolidon; Füllstoffe wie z.B. Lactose, Zucker, Maisstärke, Kalziumphosphat, Sorbit oder Glycerin; Gleitmittel, wie z.B. Magnesiumstearat, Talkum, Polyäthylenglykol und Kieselsäure; den Zerfall beschleunigende Mittel, wie z.B. Kartoffelstärke; oder auch annehmbare Netzmittel, wie z.B. Natriumlaurylsulfat. Die Tabletten können in an sich bekannter Weise beschichtet sein. Oral dazureichende flüssige Präparate können in Form von wässrigen Suspensionen, Ölsuspensionen, Lösungen, Emulsionen, Sirupen, Elexieren usw. vorliegen oder als trockenes Produkt zum Anmachen mit Wasser oder anderen geeigneten Trägern vor der Verwendung bereitgestellt werden. Solche flüssigen Präparate können übliche Zusatzstoffe, wie z.B. Suspendiermittel, wie Sorbitsirup, Methylcellulose, Glucosezuckersirup, Gelatine, Hydroxyäthylcellulose, Carboxymethylcellulose, Aluminiumstearatgel oder hydrierte Speisefette, wie z.B. Mandelöl, fraktioniertes Kokosnussöl, ölförmige Ester, Propylenglykol oder Äthylalkohol enthalten; weiter können sie Konservierungsmittel aufweisen, wie z.B. Methyl- oder Propyl-p-hydroxybenzoate oder Sorbinsäure. Suppositorien enthalten in der Regel übliche Zäpfchengrundstoffe, wie z.B. Kakaobutter oder andere Glyceride.

Mittel für die Injektionen können in Einheitsdosierungsform in Ampullen oder in mehreren Dosen enthaltenden Behältern mit Zusatz eines Konservierungsmittels zur Verfügung gestellt werden. Die Mittel können als Suspensionen, Lösungen, Emulsionen in öligen oder wässrigen Trägermaterialien vorliegen und sie können Formulierungsmittel, wie Suspendier-, Stabilisier- und/oder Dispergiermittel, enthalten. Der Wirkstoff kann auch in Form eines Pulvers vorliegen, das vor der Verwendung mit einem geeigneten Träger, z.B. sterilem, pyrogen-freiem Wasser, vor der Verwendung angemacht wird.

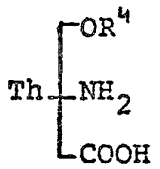
Die Mittel können auch in für die Absorption durch die Schleimhäute der Nase oder des Halses oder des Bronchialgewebes geeigneter Form hergestellt werden, wobei sie als pulverförmige oder flüssige Sprüh- oder Inhaliermittel, Pastillen, Halspinselmittel usw. in der Regel bereitgestellt werden. Für die Behandlung von Augen und Ohren können die Mittel in Form einzelner Kapseln, in flüssiger oder halbfester Form bereitgestellt werden oder auch Tropfen usw. eingesetzt werden. Für die lokale Anwendung können sie in hydrophoben oder hydrophilen Grundstoffen als Salben, Cremen, Lösungen, Farben, Pulvern usw. formuliert werden.

Ausser einem Träger können die erfindungsgemäss erhaltenen Verbindungen andere Bestandteile, wie Stabilisiermittel, Bindemittel, Antioxidationsmittel, Konservierungsmittel, Gleitmittel, Suspendiermittel, Verdicker oder geschmackgebende Mittel und dergleichen, enthalten. Zusätzlich können auch andere aktive Bestandteile in den Mitteln vorhanden sein, damit ein breiteres Spektrum der antibiotischen Aktivität erzielt wird.

In der Veterinärmedizin können die Mittel z.B. als in die Brust einzuspritzende Präparate entweder mit Langzeitwirkung oder mit schneller Freigabe hergestellt werden. Die zu verabreichende Dosierung richtet sich weitgehend nach dem Zustand und dem Gewicht des zu behandelnden Tieres, der Art der Infektion, dem Weg und der Häufigkeit der Verabreichung, wobei die parenterale Verabreichung für allgemeine Infektionen und die orale Verabreichung für intestinale Infektionen bevorzugt werden. Im allgemeinen besteht eine tägliche orale Dosierungsmenge aus etwa 15 bis 600 mg des aktiven Bestandteiles pro kg Körpergewicht, wobei man vorzugsweise die Dosen unterteilt, und ein oder mehrere Male täglich verabreicht. Eine bevorzugte tägliche Dosierungsmenge für erwachsene Menschen liegt in einem Bereich von etwa 80 bis 120 mg des aktiven Bestandteiles pro kg Körpergewicht.

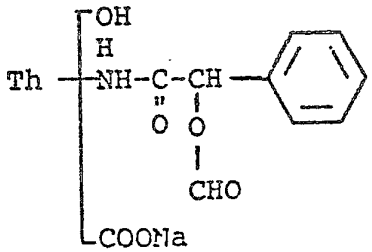
Die vorliegenden Präparate können in verschiedenen Einheitsdosierungsformen eingesetzt werden, wie z.B. in fester oder flüssiger oraler verdaubarer Dosierungsform. Die Präparate pro Einheit der Dosierung, gleich ob fest oder flüssig, können 0,1% bis 99% des aktiven Materials enthalten, wobei ein Bereich von etwa 10 bis 60% bevorzugt wird. Die Präparate werden im allgemeinen etwa 15 mg bis etwa 1500 mg des aktiven Bestandteiles aufweisen, obwohl man im allgemeinen bevorzugt, eine Dosierungsmenge zu verwenden, die in einem Bereich von etwa 250 mg bis 1000 mg liegt. Bei der parenteralen Verabreichung ist die Einheitsdosierung gewöhnlich die reine Verbindung in einer leicht angesäuerten sterilen Wasserlösung oder auch in Form eines löslichen Pulvers, der für eine Lösung bestimmt ist.

In den nachfolgenden Beispielen werden bevorzugte Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens beschrieben. Wie schon weiter oben erwähnt, werden die erfindungsgemäss herstellbaren Verbindungen durch die nachfolgende Formel dargestellt



in welcher Formel die drei funktionellen Gruppen angegeben sind.

Präparat 1



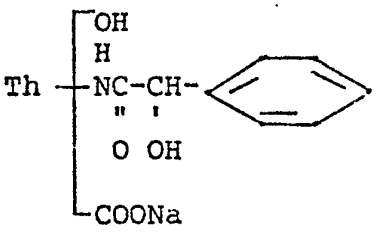
Herstellung des Natriumsalzes von N-(O-Formyl)-D-mandeloylthienamycin

Zu 40 mg Thienamycin in 10 ml Wasser gibt man der Reihe nach bei einer Temperatur von 0°C 124 mg Natriumbicarbonat, 8 ml Dioxan und dann werden mit dieser Mischung eine Minute lang 1,2 Äquivalente N-(O-Formyl)-1-mandeloyl-chlorid gerührt. Nach 6 Minuten der gesamten Reaktionszeit wird die erhaltene Mischung dreimal mit kaltem Äthyläther extrahiert. Die Elektrophorese eines wässrigen Teils (0,05M, pH 7, wässriger Phosphat-Puffer, 50 V/cm., 20 Minuten zeigt eine Konservierung von 67% zu dem gewünschten Produkt. Dann wird der pH-Wert durch Zugabe einer 1-molaren Phosphorsäurelösung auf 2,2 eingestellt und man extrahiert die Lösung dreimal mit Äthylacetat. Die Äthylacetatlösung (EtOAc) wird über Magnesiumsulfat getrocknet und zweimal mit 2 Äquivalenten einer Natriumbicarbonatlösung extrahiert. Der wässrige Extrakt

enthält nach dem Lyophilisieren 164 optische Dichteeinheiten (ODU) bei 302 nm durch UV-Analyse bei pH 7,0, wovon 95% nach der Behandlung mit Hydroxylamin während einer Stunde ausgelöscht werden. Die Ausbeute beträgt 53%. Die Elektrophorese zeigt wie schon vorher einen Fleck durch Bioautographie, 4 cm in Richtung zur Anode.

NMR (δD_2O) 1,30 (d, J= 6Hz, $\underline{CH_3}CH$); 2,8–3,7 (m, CH_2), 4,0–4,5 (m, CH β-Lactam), 4,73, $\underline{HDO}$; 5,97 (s, $C_6H_5\underline{CH}OCHO$), 7,53 (s, C_6H_5), 8,30 (s, $C_6H_5CHOCHO$).

Präparat 2



Herstellung des Natriumsalzes von N-D-Mandeloylthienamycin

Die im Titel genannte Verbindung wird nach dem Verfahren von Präparat 1 hergestellt, aber vor der Extraktion mit Äthylacetat lässt man den wässrigen Extrakt eine Stunde lang bei einer Temperatur von 25°C stehen. Elektrophorese (50 V/cm., 20 Min., pH 7, wässriges Phosphat, 0,05 M) zeigt einen Fleck durch Bioautographie, 4 cm in Richtung zu der Anode.

NMR (δD_2O) 1,50 (d, J=6 Hz, $\underline{CH_3}CH$; 2,8–3,8 (m, CH_2), 4,2–4,6 (m, CH β-Lactam); 4,96 (s, $\underline{HDO}$); 5,40 (s, $C_6H_5\overset{OH}{\underset{\underline{CH}}{}}$).

Präparat 3

Natriumsalz von N-Propionylthienamycin

Zu 25 mg Thienamycin in 6 ml Wasser bei 0°C gibt man der Reihe nach 38,6 mg Natriumbicarbonat, 5 ml Oxan und dann unter Rühren 1 Äquivalent Propionsäureanhydrid während einer Zeitperiode von 3 Minuten. Nach 10 Minuten wird die Mischung 3mal mit kaltem Äthyläther extrahiert. Elektrophorese des wässrigen Extraktes ergibt (0,05M, pH 7, Phosphat-Puffer, 50 V/cm., 20 Min.) und zeigt dass kein freies Thienamycin anwesend ist. Der wässrige Extrakt wird dann auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt und enthält 600 ODU bei 302 nm durch UV-Analyse, wovon 95% nach der Behandlung mit Hydroxylamin während einer Stunde ausgelöscht werden.

NMR (δ, D_2O) 1,42 (m, $CH_2\underline{CH_3}$, $\underline{CH_3}CH$); 2,48 (q, $CH_2\underline{CH_3}$); 2,86–2,90 (m, CH_2), 4,30–4,70 (m, CH β-Lactam), 4,86 (HDO).

Präparat 4

Natriumsalz von N-(Methoxyacetyl)-thienamycin

Zu 55 mg Thienamycin in 6 ml Wasser bei 0°C gibt man der Reihe nach 68 mg Natriumbicarbonat, 6 ml Dioxan und unter Rühren 1,1 Äquivalente Methoxyacetylchlorid während einer Zeitperiode von 1½ Minuten. Die Mischung wird dann noch zusätzlich 10 Minuten lang gerührt. Man extrahiert die Mischung dreimal in kaltem Äthyläther. Elektrophorese des wässrigen Extraktes ergibt (0,05 M, pH 7 Phosphat-Puffer, 50 V/cm., 20 Min.) und zeigt, dass kein freies Thienamycin anwesend ist. Der wässrige Extrakt wird auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt und enthält 105 ODU bei 302 nm durch UV-Analyse, wovon 95% nach der Behandlung mit Hydroxylamin während 1 Stunde ausgelöscht werden.

NMR (δ, D_2O) 1,56 (m, $CH\underline{CH_3}$), 2,84–3,60 (CH_2), 3,72 (s, $O\underline{CH_3}$), 4,29 (s, $O\underline{CH_2}$), 4,98 (s, HDO).

Präparat 5

Lithiumsalz von N-(p-Nitrobenzyloxycarbonylthienamycin

Zu 220 mg Thienamycin in 60 ml Wasser bei 0°C gibt man der Reihe nach 679 mg Natriumbicarbonat, 60 ml Dioxan und dann unter Rühren 1,1 Äquivalente p-Nitrobenzylchlorformiat während einer Zeitperiode von 1½ Minuten. Die Mischung wird dann zur Umsetzung 10 Minuten lang stehen gelassen und schliesslich wird dreimal mit kaltem Äthyläther extrahiert. Elektrophorese (0,05 M, pH 7, Phosphat-Puffer, 50 V/cm., 20 Minuten) beweist, dass kein freies Thienamycin anwesend ist. Der wässrige Extrakt wird auf einen pH-Wert von 2,2 durch Zugabe einer 1-molaren Phosphorsäurelösung eingestellt und dann dreimal mit Äthylacetat extrahiert. Man trocknet den Äthylacetatextrakt über Magnesiumsulfat, filtriert und gibt 0,1-normales Lithiumhydroxyd bis zu einem pH-Wert von 8,2 hinzu. Der endgültige pH wird dann mit 1-molarer Phosphorsäure auf 7,0 eingestellt und die Probe wird lyophilisiert. Die Ausbeute beträgt 205 mg (54%).

Präparat 6

Herstellung von N-(p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-Thienamycin p-t-butylbenzylester

205 mg des Lithiumsalzes von N-(p-nitrobenzyloxycarbonyl)-Thienamycin in 2 ml Hexamethylphosphoramid werden 2½ Stunden lang mit 0,1625 ml p-t-Butylbenzylbromid umgesetzt. Das Ausgangsprodukt ist in Hexamethylphosphoramid unlöslich, geht aber nach 30 Minuten in Lösung.

Man verdünnt die Reaktionsmischung mit Äthylacetat, wäscht der Reihe nach mit Wasser, wässrigem K_2HPO_4, Wasser, gesättigtem wässrigem Natriumchlorid, trocknet über Magnesiumsulfat, filtriert, dampft ein, unterwirft der präparativen Dünnschichtchromatographie an Silicagel; man eluiert mit 1:2 $CHCl_3$:EtOAc.

Ausbeute 160 mg (58%), Rf 0,38, IR (μ Film) 2,98 NH und OH 5,63, β-Lactam; 5,86 breiter Ester und Urethan; NMR (δ, $CDCl_3$), 1,24 (s, $CHCH_3$, t-Butyl), 2,59–3,27 (m, CH_2) 3,83–4,47 (m, CH β-Lactam), 5,15 (s$OCH_2C_6H_4NO_2$), 5,22 (s $OCH_2C_6H_4$ t-Butyl), 7,45 und 8,12 (AB Quartett, J=8 Hz $C_6H_4NO_2$).

Präparat 7

Herstellung von N-(p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-Thienamycin m-Phenoxybenzylester

Nach dem Verfahren von Präparat 6 stellt man die im Titel genannte Verbindung her, man verwendet aber eine äquivalente Menge von m-Phenoxybenzylbromid anstelle von p-t-Butylbenzylbromid, wie in Beispiel 6.

Die Ausbeute beträgt 11%, IR (μ Film) 3,0 NH_2 und OH 5,63 β-Lactam; 5,86 breiter Peak Ester und Urethan; nmr (δ $CHCl_3$) 1,33 (d $CHCH_3$ J=6); 2,60–3,62 (m, CH_2), 7,45 und 8,13 (AB Quartett, J=8, $C_6H_4NO_2$); 7,26 (s $C_6H_4OC_6H_5$) M.S. m/e 589, 559, 547, 183.

Präparat 8

Herstellung von:

1.) N-(O-Formyl-D-mandeloyl-Thienamycin-p-t-butylbenzylester

2.) N-(O-Formyl)-D-mandeloyl-Thienamycin-m-phenoxybenzylester

3.) N-D-Mandeloyl-Thienamycin-p-t-butylbenzylester

4.) N-D-Mandeloyl-Thienamycin-m-phenoxybenzylester
5.) N-Propionyl-Thienamycin-p-t-butylbenzylester
6.) N-Propionyl-Thienamycin-m-phenoxybenzylester
7.) N-Methoxyacetyl-Thienamycin-p-t-butylbenzylester
8.) N-Methoxyacetyl-Thienamycin-m-phenoxybenzylester

Nach dem Verfahren der Präparate 6 und 7 können die Verbindungen 1, 3, 5. 7 bzw. 2, 4, 6 und 8 hergestellt werden, wenn das entsprechende N-Acyl-Thienamycin Ausgangsmaterial der Präparate 1 bis 4 in äquivalenter Menge das Ausgangsmaterial N-(p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin der Präparate 6 und 7 ersetzt.

Präparat 9

Herstellung von N-(p-Methoxybenzyloxycarbonyl)-thienamycin-p-t-butylbenzylester

Stufe A: Natriumsalz von N-(p-Methoxybenzyloxycarbonyl)-thienamycin (I) und Lithiumsalz (II)

Zu 20 mg Thienamycin in 5 ml Wasser bei 0°C gibt man 105 mg Natriumcarbonat (20 Äquivalente), 5 ml Dioxan und anschliessend tropfenweise unter Rühren während einer Minute 10 Äquivalente p-Methoxybenzylchlorformiat. Nach 15 Minuten wird der pH-Wert durch Zugabe von 1-molarer Phosphorsäure auf 7,5 eingestellt und die Lösung wird dreimal mit Äther extrahiert. Im wässrigen Teil stellt man bei 0°C den pH-Wert auf 2,2 ein und extrahiert dreimal mit Äthylacetat. Der Äthylacetatextrakt wird schnell über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und mit einigen ml Wasser extrahiert, welches 6,3 mg Natriumbicarbonat enthält. Der wässrige Extrakt, der lyophilisiert wurde, enthält 172 ODU bei 303 nm durch UV-Analyse in H_2O bei pH 7,0, wobei 95% nach der Behandlung mit Hydroxylamin während einer Stunde ausgelöscht wurden. Die Ausbeute beträgt 16 mg. Elektrophorese (50 V/cm, 20 Min., pH 7 wässriges Phosphat, 0,05M) zeigt einen Fleck durch Bioautographie 4 cm in Richtung der Anode.

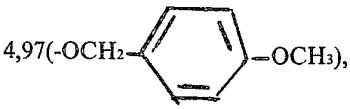
NMR (δ, D_2O): 1,49 (d, J=6Hz CH_3CH); 2,8–3,7 (m, CH_2); 3,99 (s, OMe); 4,0–4,6 (m, β-Lactam CH); 4,92 (s, HDO); 5,20 (s, OCH_2); 7,13 (d, J=8Hz C_6H_4).

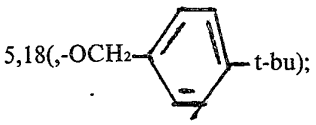
Das Lithiumsalz II wird auf die gleiche Weise hergestellt, aber man extrahiert die Äthylacetatlösung mit 0,1-normalem Lithiumhydroxid zu einem pH-Wert von 7,8 (anstelle von wässrigem Bicarbonat) und lyophilisiert anschliessend. Die spektralen sowie auch die elektrophoretischen Eigenschaften von II sind die gleichen wie der Verbindung I.

Stufe B: N-(p-Methoxybenzyloxycarbonyl)-thienamycin-p-t-benzylester

37 mg des Lithiumsalzes von Stufe A in 0,4 ml Hexamethylphosphoramid werden 2½ Stunden lang mit 0,033 ml p-t-Butylbenzylbromid umgesetzt. Das Lithiumsalz ist in Hexamethylphosphoramid unlöslich, geht aber nach 15 Reaktionszeit in Lösung.

Die Reaktionsmischung wird mit Äthylacetat verdünnt, nacheinander zweimal mit Wasser, wässrigem K_2HPO_4, Wasser und konzentrierter Salzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, verdampft und der präparativen Dünnschichtchromatographie an Silicagel unterworfen, mit 1:2 $CHCl_3$-EtOAc eluiert, wobei man 47 mg der reinen Verbindung II erhält, Rf = 0,3. IR (μ, Film): 3,0, NH; 5,63, β-Lactam; 5,87 breit, Ester und Urethan. NMR (δ, $CDCl_3$): 1,21 (s, Me und t-Butyl); 2,6–3,6 (m, CH_2); 3,72 (s, OMe); 3,8–4,4 (m, β-Lactam CH);





6,84 und 7,20 (AB Quartett, C_6H_4OMe); 7,32 (s, C_6H_4-t-Bu). MS: 582, 538, 496.

Präparat 10

Herstellung von N-(p-Methoxybenzyloxycarbonyl)-thienamycinbenzylhydrylester

Zu 23,5 g Thienamycin in 5 ml Wasser gibt man der Reihe nach 4 ml Dioxan, 62 mg Natriumbicarbonat und anschliessend in Portionen bei 0°C unter Rühren 4 Äquivalente p-Methoxybenzylchlorformiat während 4 Minuten. Nach 10 Minuten gesamter Reaktionszeit stellt man den pH-Wert durch Zugabe von 1-molarer Phosphorsäure auf 7,0 ein und extrahiert die Mischung dreimal mit Äther. Elektrophorese des wässrigen Teils (0,05 M pH 7 wässriger Phosphat-Puffer, 50 V/cm, 20 Minuten zeigt eine 50%ige Umwandlung in N-(p-Methoxybenzyloxycarbonyl)-thienamycin.

Durch Zugabe von 1-molarer Phosphorsäure bei 0°C stellt man die wässrige Lösung auf einen pH-Wert von 2,2 ein und extrahiert dreimal mit Äthylacetat. Die Äthylacetatlösung wird mit 50 mg Diphenyldiazomethan behandelt, eingedampft und in CH_3CN aufgenommen. Man gibt mehr Diphenyldiazomethan hinzu, um eine dauernde purpurne Farbe zu erzielen. Nach einer halben Stunde wird die Lösung eingedampft und an Silicagel chromatographiert, und mit 1:2 $CHCl_3$-EtOAc eluiert. Man erhält 10 mg der reinen Titelverbindung Rf 0,25. IR (μ, Film): 3,0, NH; 5,63, β-Lactam; 5,85, 5,89, Ester und Urethan.

NMR (δ, $CDCl_3$); 1,23 (s, OH); 1,30 (d, J=6Hz, CH_3CH); 2,6–3,6 (m, CH_2); 3,78 (s, OMe); 5,02 (s OCH_2); 3,8–4,4 (m, β-Lactam CH); 6,9 und 7,35 (AB Quartett, J=9Hz, C_6H_4), 7,3s $CHPh_2$.

Präparat 11

Herstellung von N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycinbenzylester

Stufe A: Natriumsalz des N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycins

Man gibt 43 mg Thienamycin bei 0°C zu 10 ml 1:1-Tetrahydrofuran (Tetrahydrofuran:Wasser). Die Mischung wird dann schnell gerührt während man 102 mg Natriumbicarbonat (10 Äquivalente) hinzufügt und dann werden tropfenweise unter Rühren während 2 Minuten 4 Äquivalente o-Nitrobenzylchlorformiat hinzugefügt. Nach 30 Minuten wird der pH-Wert durch Zugabe wässriger 25%iger Phosphorsäure auf 7 eingestellt und man extrahiert die Lösung dreimal mit Äther. Die wässrige Schicht wird bei 25°C im Vakuum eingedampft und dann bei 0°C auf einen pH-Wert von 2,2 eingestellt. Man fügt festes Natriumchlorid hinzu und dann wird die kalte saure Lösung dreimal mit kaltem Methylacetat extrahiert. Die Äthylacetatextrakte werden vereinigt und schnell nochmals mit kalter gesättigter Salzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abermals mit 10 ml Wasser extrahiert, welches 1,75 Äquivalente an festem Natriumbicarbonat enthält. Der Extrakt wird im Vakuum bei 25°C lyophilisiert, wobei man die im Titel genannte Verbindung erhält.

Stufe B: N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-Thienamycinbenzylester

Das Produkt von Stufe A in 7,5 ml Äthylacetat (aus der pH 2,2 Extraktion) wird dann mit einem Überschuss an Phenyldiazomethan (4 ml der Lösung, die 20 mg/ml Äther enthält) bei 4°C 2,3 Stunden lang behandelt. Man konzentriert die Mischung bei 20°C unter vermindertem Druck zu einem nassen Rückstand. Die gewünschte Verbindung wird durch Dünnschichtchromatographie isoliert, Äthylacetat:Äther (9:1) und man erhält 17,5 mg N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-benzylester.

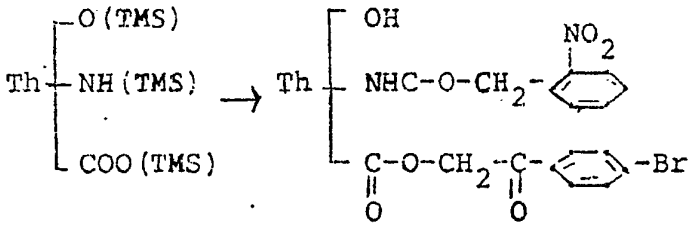
Präparat 12

Herstellung von N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-p-methoxybenzylester

Zu 70 mg N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin in 8 ml Äthylacetat gibt man 4 ml p-Methoxyphenyldiazomethan (9 mg/ml Acetonitril) bei 4°C. Die Mischung wird 1½ Stunden lang bei 4°C gerührt und dann unter reduziertem Druck bei einer Temperatur von 20°C zu einer feuchten Paste konzentriert. Durch Dünnschichtchromatographie an Silicagel und durch Eluieren mit Äthylacetat:Äther (9:1) erhält man 42 mg der im Titel genannten Verbindung.

Präparat 13

Herstellung von N-(o-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-p-brom-phenacylester



I II

worin TMS den Trimethylsilylrest bedeutet.

Zu 24 mg Th $(TMS)_3$, Verbindung der Formel I, die nach dem Verfahren von Präparat 17 hergestellt wird, in 0,8 ml trockenem Tetrahydrofuran gibt man 23 mg o-Nitrocarbobenzyloxychlorid, gefolgt von 0,015 ml Triäthylamin. Nach dem Vibrationsmischen während 30 Minuten bei 25°C wird die erhaltene Mischung mit einem trockenen Stickstoffstrom zu einem pastenartigen Rückstand konzentriert und dann dreimal mit Petroleumäther gewaschen. Man suspendiert den Rückstand in 1 ml trockenem Tetrahydrofuran und gibt 14 mg p-Bromphenacylbromid hinzu, gefolgt von der Zugabe von 0,03 ml Triäthylamin. Nach dem Vibrationsmischen während 30 Minuten bei 25°C wird die erhaltene Mischung bei Temperatur von 20°C im Vakuum zur Trockne eingedampft. Man löst den Rest in 2 ml Äthylacetat und schüttelt mit 0,3 ml eines pH-4 Puffers 5 Minuten lang. Die organische Schicht wird über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, zu einem pastenartigen Rückstand eingedampft und anschliessend isoliert man das gewünschte Produkt (44 mg) durch präparative Dünnschichtchromatographie an Silicagel und eluiert mit Äthylacetat:Chloroform (7:3).

Präparat 14

Herstellung von N-(Trichloräthoxycarbonyl)-thienamycinbenzylester

Stufe A: Lithiumsalz von N-(Trichloräthoxycarbonyl)-thienamycin

Zu 40 mg Thienamycin in 18 ml 1:1 Tetrahydrofuran-Wasser bei 0°C gibt man unter Rühren 225 mg Natriumcarbonat (15,2 Äquivalente) und anschliessend werden tropfenweise unter Rühren während 2 Minuten 1,8 Äquivalente Trichloräthylchlorformiat, gelöst in 0,6 ml Tetrahydrofuran, hinzugefügt. Nach 6 Minuten wird der pH-Wert durch Zugabe von wässriger 25%iger Phosphorsäure auf 7,2 eingestellt und dann wird die Lösung mit Äther extrahiert. Der wässrige Teil, nach der Entfernung von Äther mit auch Spuren von Äther im Vakuum wird dann bei 0°C auf einen pH-Wert von 2,5 eingestellt und mit kaltem Äthylacetat extrahiert. Die Äthylacetat-Extrakte werden vereinigt, schnell nochmals in kalter Salzlösung gewaschen über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abermals mit 0,01-normalem Lithiumhydroxyd zu einem pH-Wert von 6,8 extrahiert. Der wässrige Extrakt wird im Vakuum von Äthylacetat und auch von Spuren an Äthylacetat befreit und lyophilisiert. Der Rückstand enthält 936 ODu (39,7%) UV-Analyse bei 302 nm, was nach der Behandlung mit Hydroxylamin während einer Stunde in einem 0,05-molarem Phosphat-Puffer (pH-Wert 7) ausgelöscht wird. Die Ausbeute beträgt 32 mg. Elektrophorese (50 volts/cm. 20 Min., pH 7, wässriges Phosphat 0,05M) zeigt eine Zone durch Autobiographie bei (MB 108, staph. aureus), 2,4 cm in Richtung der Anode. Flüssig-Chromatographie C_{18} Bondapak (Waters Assoc.) in wässrigem 10%igem Tetrahydrofuran ergibt ein Hauptmaximum, das frei von nicht umgesetztem Thienamycin ist.

Stufe B: N-(Trichloräthoxycarbonyl)-thienamycinbenzylester

32 mg der in Stufe A erhaltenen Verbindung in 2 ml trokkenem destilliertem Dimethylformamid, welches 7% Hexamethylphosphoramid enthält (trocken, pH-Wert 6,3), werden mit 0,015 ml Benzylbromid 2 Stunden lang bei 15°C umgesetzt, wobei man zulässt, dass sich die Reaktionsmischung im Verlaufe der Reaktion bei zu einer Temperatur von 25°C erwärmt. Die Reaktionsmischung wird dann mit Äthylacetat verdünnt, nacheinander mit kaltem Wasser, 1%igem wässrigem Natriumbicarbonat, Wasser und kalter gesättigter wässriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, eingedampft und der präparativen Dünnschichtchromatographie an Silicagel unterworfen und dann mit 1% CH_3CN in EtOAc eluiert, wobei man 10 mg der Titelverbindung erhält, RF = 0,63; IR (μ $CHCl_3$) 5,63, β-Lactam; 5,78 und 5,88 breiter Ester und Urethan. NMR (δ $CDCl_3$) 1,35 (d, Me); 2,8–3,7 (m CH_2); 3,51 und 4,27 (dd, J=6Hz, β-Lactam CH); 4,79 (s, $O\underline{C}H_2CCl_3$) 5,42 s($O\underline{C}H_2C_6H_5$); und 7,41 (m, C_6H_5).

Präparat 15

Herstellung der Methyl- und Benzylester von N-Bromacetylthienamycin

Stufe A: N-Bromacetyl-thienamycin

Zu einer gekühlten Lösung von 28,8 mg Thienamycin und

0,3 g Natriumcarbonat in 10 ml Wasser und 8 ml Dioxan gibt man unter Rühren eine Lösung aus 0,25 g Bromessigsäureanhydrid in 2 ml Dioxan während einer Zeitperiode von 20 Minuten. Der pH-Wert wird bei 8,0 gehalten. Die Mischung wird dann zusätzlich noch 5 Minuten lang gerührt und anschliessend durch Zugabe von 10 ml Äther in Schichten aufgeteilt und schliesslich stellt man den pH-Wert durch Zugabe von 8% der Phosphorsäure auf 7 ein. Man trennt die Ätherschicht ab und extrahiert die wässrige Schicht zweimal wieder mit Äther. Die wässrige Schicht wird dann unter vermindertem Druck auf 0,5 ml eingedampft, mit 2 ml Wasser verdünnt und auf 50 ml XAD-2-Harz gegeben. Die Kolonne wird mit Wasser eluiert. Man verwirft die ersten 80 ml und sammelt dann die nächsten 100 ml. Man wechselt das Lösungsmittel in 10%iges Tetrahydrofuran um und sammelt zusätzliche 100 ml. Die vereinigten Eluate werden auf einen pH-Wert von 7 eingestellt, auf 5 ml unter reduziertem Druck eingedampft, dann gefriergetrocknet, wobei man das Natriumsalz von N-Bromacetyl-thienamycin mit 60%iger Ausbeute erhält.

$UV\lambda_{max}$302 mμ.

Stufe B: Methyl- und Benzylester von N-Bromacetylthienamycin

Die wässrige Lösung des Natriumsalzes wird durch Zugabe von Äthylacetat bei 0°C in Schichten aufgeteilt und auf einen pH-Wert von 2 eingestellt. Man trennt die Äthylacetatphase ab und extrahiert die wässrige Phase mit Äthylacetat. Die vereinigten Äthylacetatlösungen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und dann mit einer Lösung von Diazomethan behandelt. Man dampft die Lösungsmittel ab und der Rest wird an Silicagel-Platten chromatographiert. R_f = 0,11 in 2:1 Äthylacetat-Chloroform. Das Produkt hat einen Schmelzpunkt von 118 bis 120°C. Das Massenspektrum zeigt die folgenden Eigenschaften: M^+ bei m/e 406 und bedeutende Fragmente bei m/e 362, 320, 183 und 164.

Der entsprechende Benzylester wird auf ähnliche Weise aus Phenyldiazomethan hergestellt und er hat einen Schmelzpunkt von 142 bis 143°C.

IR-Spektrum: 5,65 μ, 5,89 μ und 6,1 μ. Massenspektrum M^+ m/e 482 auch m/e 438, 316, 259 und 164.

Präparat 16

Herstellung von N-(Bromo-t-butoxycarbonyl)-thienamycin-p-bromophenacylester

Stufe A: Herstellung des N-Bromo-t-butoxycarbonyl-O-TMS-thienamycin-TMS-esters

16 mg $Th(TMS)_3$ werden in 0,4 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst, zu welchem man 20 μl (28 mg, 0,13 mMol) Brom-t-butylchlorformiat hinzugefügt hatte (Siedepunkt 35°C/0,9 mm) und 8 μ (5,67 mg, 0,057 mMol) Triäthylamin (von Bariumoxyd wieder abdestilliert). Die Mischung wird bei einer Temperatur von 25°C 20 Minuten lang geschüttelt. Dann dampft man das Lösungsmittel und den Überschuss an Ausgangsmaterialien ab und erhält das rohe gewünschte Produkt. $UV\lambda CH_3CO_2CH_2CH_3$ 320 nm (E9,000).

Stufe B: Herstellung von N-(Brom-t-butoxycarbonyl)-thienamycin

3 mg des Produktes von Stufe A werden in 0,5 ml eines Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 und 0,1 ml Tetrahydrofuran gelöst und dann lässt man die Lösung 20 Minuten lang bei 25°C stehen. Die Lösung wird dann in einer Kolonne (5 ml) von Dowes 50×8 (Na^+ Form) gegeben und man registriert die Eluatfraktionen durch U.V. Die gewünschten und richtigen Fraktionen werden gereinigt und gefriergetrocknet, wobei man das gewünschte Produkt erhält.

$UV\lambda_{max}^{Puffer}$ 304 nm (ε = 9,300); Elektrophorese bei 50 V/cm 20 Min. in einem pH 7,0 Puffer zeigt eine einzige bioaktive Zone, die sich 31,5 mm in Richtung der Anode bewegt.

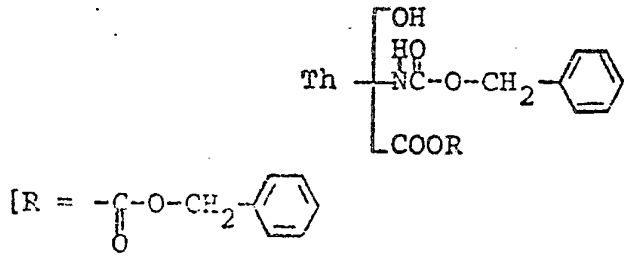
Stufe C: Herstellung von N-(Brom-t-butoxycarbonyl)-thienamycin-p-bromphenacylester

Das Produkt von Stufe B (13 mg, 0,022 mMol) wird in 0,4 ml Tetrahydrofuran gelöst. Zu dieser Lösung gibt man p-Bromphenacylbromid (9,6 mg, 0,035 mMol) und 20 μl (14,4 mg, 0,14 mMol) Triäthylamin. Die Mischung wird bei einer Temperatur von 25°C 30 Minuten lang geschüttelt und dann zur Trockne eingedampft. 10 ml Äther werden zu dem Rest zugefügt und dann setzt man die Mischung mit 0,2 ml eines 0,1 molaren Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7,0 um.

Die organische Schicht wird abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet, bis zu 0,5 ml konzentriert und dann auf zwei 20×20 cm, 250 μ Silicagel-GF-Dünnschichtchromatographie-Platten angewendet, die man mit 20%igem Äthylacetat in Chloroform entwickelt. Das gewünschte Produkt wird in einer Menge von 6,7 mg isoliert, also eine Ausbeute von 42% und es hat einen (R_f = 0,65).

Präparat 17

Herstellung von N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin und N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylcarbonsäureanhydrid



Eine Lösung von 16,6 mg Thienamycin in 4 ml eines 0,05M Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 und 2 ml Dioxan, welche sich in einem Dreihalskolben befindet, der mit einem Rührer, einem Thermometer, einer pH-Elektrode und mit einer Abzugsöffnung eines automatischen Titrators versehen ist, wird in einem Methanol-Eisbad auf eine Temperatur von −8°C abgekühlt. Durch Zugabe von 0,2-normalem Natriumhydroxid in 50%igem wässrigem Dioxan wird der pH-Wert auf 8,2 eingestellt und dann fügt man eine Lösung von 0,015 ml Carbobenzyloxychlorid in 2 ml Chloroform zu der Lösung. Man rührt die Mischung bei einer Temperatur von −6°C und einem pH-Wert von 8,2 10 Minuten lang, anschliessend wird sie durch Zugabe von Äther in Schichten aufgeteilt und man stellt den pH-Wert durch Zugabe von normaler Chlorwasserstoffsäure auf 7 ein. Die Schichten werden durch Zentrifugieren getrennt und man extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Äther. Die wässrige Phase wird durch Zugabe von Äthylacetat abgeschieden und dann auf einen pH-Wert von 2 angesäuert. Man trennt das Äthylacetat ab und dann wird die wässrige Schicht abermals mit Äthylacetat extrahiert. Die vereinigten Äthylacetatschichten werden mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und dann filtriert. Man rührt das Filtrat mit Wasser und stellt den pH-Wert durch Zugabe einer verdünnten Natriumbicarbonatlösung auf 7 ein. Die wässrige Phase wird abgetrennt und gefriergetrocknet, wobei man das Natriumsalz von N-Benzyloxycarbonyl-thiena-

mycin erhält (10 mg, 46%). Durch das UV-Spektrum, λ_{max}303 mμ, E% 147 (E 6,290) wird eine Reinheit von etwa 80% bestätigt. Elektrophorese bei 50 V/cm während 20 Minuten bei einem pH-Wert von 7, gefolgt von der Bioautographie an S. aureus ergibt eine Inhibitionszone bei +2,5 cm.

Die ätherischen Extrakte der Reaktionsmischung enthalten das gewünschte Produkt, nämlich das N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylcarbonsäureanhydrid.

UVλ_{max}335 mμ.

Präparat 18

Herstellung des Benzylesters von N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin

Das N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin (Präparat 17) in Äthylacetatwird auf die gleiche Weise behandelt, wie es in Präparat 17 beschrieben ist, aber mit der Ausnahme, dass man eine äquivalente Menge Phenyldiazomethan zu der trokkenen Äthylacetatlösung, die von der Extraktion bei einem pH-Wert von 2 stammt, hinzufügt, und dann die Lösung 2 Stunden lang bei 4°C stehen lässt. Durch die Eindampfung zur Trockne erhält man den rohen N-Benzyloxycarbonyl-thienamycinbenzylester, welcher dünnschichtchromatographisch isoliert werden kann und einen Wert R_f = 0,24 aufweist, 3:1 Äthylacetat:Chloroform. Das erhaltene Produkt wird aus Äther kristallisiert.

IR 5,63 μ (Lactam-carbonyl); Schulter 5,8 μ (Ester); 5,88 μ (Urethancarbonyl). UV, Dioxan, λ_{max}318 mμ, E% (ε = 10,900) m/e M^+ 496.

Präparat 19

Herstellung von N-Carbomethoxy-thienamycin-p-pivaloyloxybenzylester

Stufe A: N-Carbomethoxythienamycin

Thienamycin (49 mg, 148 μ Mol) wird in 14 ml eines 0,05M Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 gelöst und in einem Eisbad abgekühlt. Unter Rühren stellt man den pH-Wert auf 8,2 ein, wobei man eine automatische Bürette verwendet. Eine Lösung von Methylchlorformiat (46 μl, 600 μMol) in p-Dioxan (580 μl) wird auf einmal zu der homogenen Lösung gegeben. Anschliessend hält man den pH-Wert bei 8,2 unter Verwendung einer automatischen Bürette. Nach 10 Minuten wird die Lösung auf einen pH-Wert von 7 eingestellt, indem man eine verdünnte Phosphorsäurelösung verwendet und schliesslich wäscht man dreimal mit gleichen Volumina an Diäthyläther. Die wässrige Lösung wird dann auf 4,5 ml konzentriert und anschliessend an einer XAD-2-Harz-Kolonne chromatographiert. Das Produkt wird mit einer wässrigen 5%igen Tetrahydrofuranlösung eluiert (nach dem Eluieren mit Wasser) und schliesslich gefriergetrocknet und man erhält 28,9 mg des Produktes.

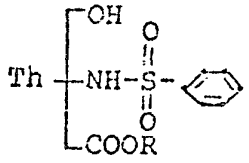
UV (pH 7 Phosphat-Puffer 0,1N). λ_{max} 303 nm (e 6,450) Elektrophorese (20 Min., 0,1N pH 7 Phosphat-Puffer, 50V/cm Beweglichkeit 3,5 cm zur Kathode.

Stufe B: N-Carbomethoxy-thienamycin-p-pivaloyloxybenzylester

Nach dem Verfahren von Präparat 16, Stufe C und durch Ersatz äquivalenter Mengen an: N-Carbomethoxy-thienamycin (in Form seines Natriumsalzes) und p-Pivaloyloxybenzylchloridbromid erhält man den N-Carbomethoxy-thienamycin-p-pivaloyloxybenzylester.

Präparat 20

Herstellung von N-Benzolsulfonyl-thienamycin-2-methyl-2-propen-1-yl-ester



R= $-O-CH_2-\underset{CH_3}{\underset{|}{C}}=CH_2$

Stufe A: N-Benzolsulfonyl-thienamycin

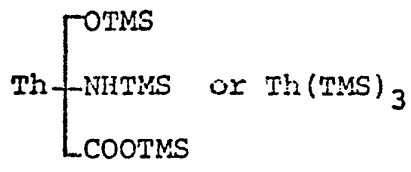
Thienamycin (52mg 148μMol) wird in 25ml eines 0,1-normalen Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 gelöst und anschliessend mit einem magnetischen Rührer in einem Eisbad gerührt. Der pH-Wert wird durch Zugabe von 2,5-normalem Natriumhydroxid auf 8,2 eingestellt, wobei man eine automatische Bürette verwendet, und dann werden auf einmal Benzolsulfonylchlorid (227 μl, 226 μMol) in 500 ml p-Dioxan hinzugefügt. Der pH-Wert wird 30 Minuten lang bei 8,2 gehalten, unter Verwendung einer automatischen Bürette und dann wird dieser Wert durch Zugabe verdünnter wässriger Phosphorsäure auf 7,0 eingestellt. Man konzentriert die Reaktionslösung auf 15 ml und chromatographiert sie an XAD-2-Harz (50 cc). Die Kolonne wird mit Wasser eluiert, dann mit 10%igem wässrigem Tetrahydrofuran, dass das Produkt eluiert. Das 10%ige wässrige Tetrahydrofuran-Eluat wird dann auf ein Drittel des Volumens konzentriert und gefriergetrocknet, wobei man 28 mg erhält. Die elektrophoretische Beweglichkeit des Produktes (50 V/cm, 20 Min., pH 7 0,05N Phosphat-Puffer) ist 3,5 cm in Richtung der Kathode.

λ_{max}303 (3, 650) in pH 7 0,1N Phosphat-Puffer).

Stufe B: N-Benzolsulfonyl-thienamycin-2-methyl-2-propen-1-yl-ester

Nach einem bekannten Verfahren und unter Ersatz von äquivalenten Mengen N-Benzolsulfonyl-thienamycin (in Form seines Natriumsalzes) und 2-Methyl-2-propen-1-yl-chlorid für das Natriumsalz von N-Azidoacetyl-thienamycin bzw. p-t-Butylbenzylbromid erhält man die im Titel angeführte Verbindung.

Präparat 21

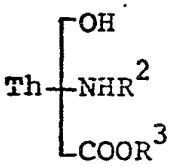


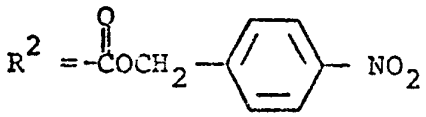
Herstellung von silyliertem Thienamycin

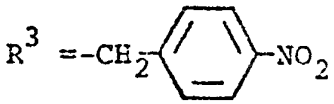
80,0 mg Thienamycin, suspendiert in 40 ml Tetrahydrofuran in einer Stickstoffatmosphäre werden auf ein Volumen von 10 ml konzentriert. Dann fügt man 1,0 ml Hexamethyldisilazan und 300 μl Trimethylchlorsilan hinzu. Die Mischung wird 20 Minuten lang bei einer Temperatur von 25°C unter heftigem Rühren umgesetzt. Schliesslich zentrifugiert man die erhaltene Suspension um das Ammoniumchlorid zu entfernen. Die dekantierte Flüssigkeit wird zu einem Öl in einem Stickstoffstrom für weitere Umsetzungen eingedampft.

Präparat 22

Herstellung von N-(p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-(p-nitrobenzyl)-ester







Eine Mischung aus 295 mg des p-Nitrobenzyloxy-carbonyl-thienamycin-lithiumsalzes von Beispiel 5 und 0,4 g p-Nitrobenzylbromid in 3 ml Hexamethylphosphoramid wird 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 25°C gerührt. Man verdünnt diese Lösung mit 50 ml Äthylacetat und extrahiert nacheinander mit Wasser (dreimal), mit einem Phosphat-Puffer, der einen pH-Wert von 7 aufweist und mit einer gesättigten Natriumchloridlösung. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und auf 5 ml eingedampft, wodurch verursacht wird, dass das Produkt kristallisiert. Die Kristalle werden gesammelt und mit Äthylacetat gewaschen, wobei man 160 mg des N-p-Nitrobenzyloxycarbonyl-thienamycin-p-nitrobenzylesters erhält, welcher einen Schmelzpunkt von 168 bis 170°C aufweist.

NMR ($CHCL_3$) 1,35 [(d), J=6 HZ], 4,0–4,3 und 2,8–3,5 (m), 5,16 [(s), (Carbamat OCH_2)]; 5,24 (AB Quartett, J=14) 7,42(d), 7,56(d), 8,16(d) (J=9, aromatisch) IR 5,64/μ (Lactam C=O).

Präparat 22a

Herstellung von N-Brom-t-butyloxycarbonyl-Thienamycin

Methode A: 190 mg Thienamycin werden in 15 ml eines 0,1-molaren Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7,0 und 15 ml Dioxan bei einer Temperatur von 0°C gehalten. Man stellt den pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 1-normalem Natriumhydroxid auf 8,5 bis 9,0 ein während man 480 mg Brom-t-butylchlorformiat während einer Zeitperiode von 5 Minuten hinzugibt. Die Mischung wird 30 Minuten lang gerührt, dann durch Zugabe von 1-normaler Chlorwasserstoffsäure bis zu einem pH-Wert von 7,0 neutralisiert und schliesslich mit Äther extrahiert. Man trennt die wässrige Schicht ab, konzentriert bis zu einem Volumen von 10 ml und chromatographiert an einer Dowex-50×8-(Na-Form)-Kolonne (1,5″×10″), die mit Wasser eluiert wird, wobei man 113 mg des gewünschten Produktes erhält. Durch Lyophilisierung der Lösung erhält man das feste Produkt.

Methode B: Man hält 95 mg Thienamycin in 10 ml eines 0,1-molaren Phosphatpuffers und 10 ml Dioxan bei einer Temperatur von 0°C. Die Lösung wird auf einen pH-Wert von 8,5 bis 9,0 eingestellt während man 240 mg Brom-t-butylchlorformiat hinzufügt. Die Mischung wird dann 30 Minuten lang gerührt und durch Zugabe von Phosphorsäure auf einen pH-Wert von 2,0 angesäuert. Die angesäuerte Lösung wird zweimal mit je 25 ml Äthylacetat extrahiert. Man trennt die organische Schicht ab und extrahiert sie nochmals mit 10 ml Natriumbicarbonatlösung, welche 30 mg Natriumbicarbonat enthält. Die wässrige Schicht enthält 30 mg des gewünschten Produktes und sie wird lyophilisiert, wobei man das feste Produkt erhält.

NMR (60 MHz, D_2O):λ1,26(d), 1,60(s), 2,65–3,50(m), 3,70(s) und 3,90–4,20(m). UV$\lambda_{max}^{D_2O}$ 303nm.

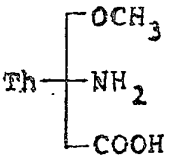
Herstellung von N-Brom-t-butyloxycarbonyl-thienamycin-p-nitrobenzylester

100 mg des lyophilisierten Natriumsalzes von N-Brom-t-butyloxycarbonyl-thienamycin werden bei 25°C zusammen mit 300 mg p-Nitrobenzylbromid in 2 ml Hexamethylphosphoramid eine Stunde lang gerührt. Man verdünnt die Mischung mit 10 ml Äthylacetat und wäscht sie anschliessend gut mit Wasser. Die organische Schicht wird abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und an zwei 250 μ Silicagel GF Dünnschichtchromatographie-Platten unter Verwendung von Äthylacetat als Lösungsmittel chromatographiert (R_f 0,45), wobei man 50 mg des gewünschten Produktes erhält. IR ($CDCl_3$): 1777 (β-Lactam) und 1711 cm^{-1} (Ester):

UVλ_{max}^{ETOH} 270 nm und 322 nm; NMR ($CDCl_3$, 60 MHz): δ1,38(d), 1,58(s), 2,60–3,80(m), 3,78(s), 3,90–4,20(m), 5,30(s), 7,55(d) und 8,30 ppm (d).

Beispiel 1

Herstellung von O-Methyl-thienamycin



Stufe A: O-Methyl-N-(p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-(p-nitrobenzyl)-ester

Zu einer Lösung von 135 mg N-p-Nitrobenzyloxycarbonyl-thienamycin-p-nitrobenzylester in 50 ml Methylenchlorid bei 0°C gibt man unter heftigem Rühren 0,5 ml 0,006 molarer Borflussäure in Äther-methylenchlorid (3:1), und anschliessend werden sofort 10 ml einer gekühlten Lösung von 0,6 molarem Diazomethan in Methylenchlorid hinzugefügt. Das Diazomethan wird innerhalb einer Minute entfernt. Die Lösung wird mit 10 ml eines 0,1 normalen Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 extrahiert, getrocknet und auf ein kleines Volumen eingedampft. Man wendet die Lösung auf zwei 8″×8″ 1000 μ-Silicagel-Platten an, die man mit 3:1 Äthylacetat-Chloroform entwickelt. Die Bande bei 3 bis 4,5 cm ergibt 12 mg des wiedergewonnenen Ausgangsmaterials. Die Bande weist 6 bis 8 cm ergibt 20 mg kristallinen O-Methyl-N-(p-nitrobenzyloxycarbonyl)-thienamycin-(p-nitrobenzyl)-ester, der einen Schmelzpunkt von 172 bis 174°C aufweist.

MS m/e 600 (M^+), 568, 542, 500, 447, 389, 304 und 59.

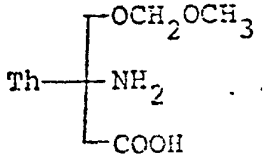
Stufe B: O-Methyl-thienamycin

Eine Lösung von 20 mg O-Methyl-N-p-nitrobenzyloxycarbonyl-thienamycin-p-nitrobenzylester in 2 ml Tetrahydrofuran und 1 ml Äthanol wird bei einem Druck von etwa 3,5 kg/cm^2 und einer Temperatur von 23°C in Gegenwart von 20 mg Platinoxid 2½ Stunden lang filtriert. Man filtriert den Katalysator ab und gibt 1 ml eines 0,1-normalen Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7 zu dem Filtrat. Die Lösung wird dann unter reduziertem Druck auf 2 ml eingedampft und man nimmt die Mischung in 5 ml Wasser und

5 ml Äthylacetat auf und zentrifugiert. Die Äthylacetatschicht wird entfernt und dann extrahiert man die wässrige Schicht nochmals mit Äthylacetat und mit Äther und filtriert anschliessend durch Cellit. Die wässrige Lösung wird dann auf einer Kolonne (20 ml) eines XAD-2-Harzes angewendet. Man eluiert die Kolonne zuerst mit Wasser und dann mit 10%igem Tetrahydrofuran. Das Tetrahydrofuraneluat wird dann konzentriert und lyophilisiert und man erhält im wesentlichen reines O-Methyl-Thienamycin.

Beispiel 2

Herstellung von O-(Methyoxymethyl)-thienamycin

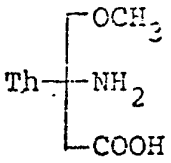


Stufe A: Eine Lösung von 58 mg p-Nitrobenzyloxycarbonyl-thienamycin-p-nitrobenzylester in 5 ml Tetrahydrofuran und 1 ml Hexamethylphosphoramid wird auf −78°C abgekühlt. Zu dieser Lösung gibt man unter Rühren eine 2-molare Lösung von Phenyllithium (0,1 ml) und anschliessend sofort 0,2 ml Methylchlormethyläther. Während einer Stunde erwärmt sich die Mischung auf eine Temperatur von 25°C. Man gibt 25 ml Methylenchlorid hinzu und die Lösung wird mit 25 ml eines 0,1 normalen Phosphatpuffers, der einen pH-Wert von 7 aufweist, extrahiert und dann viermal mit je 25 ml Wasser. Die Methylenchloridlösung wird eingedampft und man verreibt den Rest mit Hexan. Der in Hexan unlösliche Rückstand wird an Silicagel chromatographiert und man erhält O-Methoxymethyl-N-(p-nitrobenzyloxycarbonyl-thienamycin-(p-nitrobenzyl)-ester.

Stufe B: Nach dem Hydrierungsverfahren von Präparat 4, Stufe B, erhält man die im Titel genannte Verbindung wenn die angegebene Substitution durchgeführt wird.

Beispiel 3

Herstellung von O-Methyl-thienamycin



Stufe A: O-Methyl-N-benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylester

Eine Lösung von 5 mg N-Benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylester (Präparat 18) in 0,3 ml Methylenchlorid wird auf 0°C abgekühlt und dann gibt man 0,1 ml einer 0,006 molaren Lösung von Borflussäure in 5:1 Äther-Methylenchlorid hinzu, gefolgt von der unmittelbaren Zugabe von 0,5 ml 0,1 molarem Diazomethan in Methylenchlorid. Die Lösung entfärbt sich innerhalb einer Minute. Man rührt die Mischung mit Äther und einem Phosphatpuffer, der einen pH-Wert von 7 aufweist und die ätherische Phase wird eingedampft. Man chromatographiert den Rückstand zweimal an 8″ 250 µ-Silicagel-Platten in 35%igem Äthylacetat-Chloroform. Die Bande bei R_f 0,5 wird mit Äthylacetat eluiert. Die Messung der UV-Absorption bei 318 mµ zeigt eine Wiedergewinnung der ursprünglichen optischen Dichte von 13%. Die Massenspektroanalyse weist die folgenden Resultate auf m/e M^+ 510 und Fragmente bei m/e 410, 59, 333 sowie 478, die für O-Methyl-N-benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylester charakteristisch sind.

Alternative Stufe A: O-Methyl-N-benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylester

Eine Lösung von 5 mg N-Benzyloxycarbonyl-thienamycinbenzylester in 0,2 ml trockenem Tetrahydrofuran wird auf −78°C abgekühlt. Zu dieser Lösung gibt man 5 µl einer Phenyllithiumlösung (2-normal), gefolgt von der unmittelbaren Zugabe von 1 µl Methylfluorsulfonat. Die Mischung wird 20 Minuten lang bei −78°C gerührt und dann mit 2 ml Äther verdünnt und mit 2 ml eines 0,01-normalen Phosphatpuffers extrahiert, der einen pH-Wert von 7 aufweist. Man verdampft die ätherische Schicht und chromatographiert den Rückstand an einer 2″×8″-Dünnschichtchromatographie-Silicagel-Platte in 1:1 Äthylacetat-Chloroform. Die Bande bei R_f = 0,63 wird isoliert und gibt das gewünschte Produkt, nämlich O-Methyl-N-benzyloxycarbonyl-thienamycin-benzylester.

Stufe B: O-Methyl-thienamycin

Eine Lösung von 0,2 mg des weiter oben genannten Produktes in 0,5 ml Dioxan, welches 0,3% Essigsäure enthält, wird 3 Stunden lang in Gegenwart von 2 mg eines Palladiumoxyd-Katalysators bei einem Druck von etwa 3,2 kg/cm² und einer Temperatur von 25°C hydriert. Man schüttelt die Mischung mit 4 ml Äther und 1,4 ml Wasser. Die UV-Absorption der Ätherschicht (λ_{max}318) zeigt 50% Rückgewinnung und die UV-Absorption der wässrigen Schicht (λ_{max}285) 10% der Ausgangsabsorption. Elektrophorese einer Probe von 5 µl der wässrigen Schicht bei einem pH-Wert von 7, 50 V/cm für 20 Minuten gefolgt von der Bioautographie von Platten, die mit S. aureus beimpft wurden, zeigt zwei Inhibitionen: +0,5 cm (19 mm. Diameter) und +4 cm (25 mMol). Der sich langsamer bewegende Fleck ist O-Methyl-N-carbobenzyloxy-thienamycin. Wesentlich reines O-Methyl-thienamycin erhält man aus der wässrigen Phase durch Chromatographie oder mit XAD-2-Harz, unter Verwendung von 10%igem wässrigem Tetrahydrofuran als Eluierlösungsmittel.