

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

PATENTSCHRIFT 145 099

Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

Int. Cl.³

(11) 145 099

(44) 19.11.80

3(51) C 07 C 103/737
C 07 C 103/46
C 07 C 147/02
C 07 C 149/243
C 07 D 307/16

(21) AP C 07 C / 214 582

(22) 24.07.79

(31) 927 212
050 233

(32) 24.07.78
22.06.79

(33) US

(71) siehe (73)

(72) Graham, Donald W.; Rogers, Edward F.; Kahan, Frederick M., US

(73) Merck & Co., Inc., New Jersey, US

(74) Internationales Patentbüro Berlin, 1020 Berlin, Wallstraße 23/24

(54) Verfahren zur Herstellung von Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionaten

(57) Ziel der Erfindung ist, selektiv den Stoffwechsel von Dipeptidase (E.C.3.4.13.11) zu hemmen und damit die Inaktivierung wertvoller Antibiotika der Thienamycin-Klasse zu unterbinden. Erfindungsgemäß werden Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionate der allgemeinen Formel I hergestellt, worin beispielsweise R¹ Wasserstoff, niedrig-Alkyl (C₁₋₆) oder Dialkylaminoalkyl oder ein pharmazeutisch annehmbares Kation; R² und R³ Kohlenwasserstoffreste mit 3 bis 10 bzw. 1 bis 15 Kohlenstoffatomen bedeuten, wobei 1 bis 6 Wasserstoffatome in jeder dieser Ketten substituiert sein können. Die Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionate werden in Kombination mit Antibiotika der Thienamycin-Klasse verabreicht. — Formel I —

Berlin, den 13.2.1980

214502

- 1 -

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Verfahren zur Herstellung von Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionaten

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue chemische Verbindungen, die selektiv den Stoffwechsel von Dipeptidase (E.C.3.4.13.11) hemmen und die daher in Kombination mit antibakteriellen Produkten geeignet sind. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionate.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

In neuerer Zeit ist eine neue Antibiotika-Klasse mit kondensiertem Ring- β -Lactam beschrieben worden, zu der Thienamycin und seine halbsynthetischen Derivate, Epi-thienamycine und Olivansäuren gehören. Diese Verbindungen, die weiter unten genauer definiert werden, werden hierin als "Verbindungen der Thienamycinklasse" bezeichnet. Diese Verbindungen haben eine hohe antibakterielle Aktivität, sind aber bei Säugetieren erheblichem Stoffwechsel unterworfen.

Es hat sich gezeigt, daß die Niere die primäre Stelle des Stoffwechsels ist. Aus Nierenextrakten ist ein Enzym isoliert worden, das die Inaktivierung von Thienamycin durch Hydrolyse des β -Lactams katalysiert. Durch solche Kriterien, wie die cytologische Lokalisierung, die Substratspezifität und die Empfindlichkeit gegenüber Enzyminhibitoren, ist dieses Enzym der weit untersuchten Nierendipeptidase (E.C.3.4.13.11) sehr ähnlich, wenn nicht damit identisch. Letztere wird in der Literatur als "Dehydropeptidase-I" be-

214502 - 2 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

schrieben. Die β -Lactamase-Aktivität wird jedoch nur gegenüber der Thienamycinklasse von Verbindungen gezeigt. Tatsächlich liegt noch kein Beispiel für den Säugetierstoffwechsel auf dem Wege über eine β -Lactamspaltung irgendeiner repräsentativen Substanz der klassischen β -Lactam-Antibiotika, der Penicilline und der Cephalosporine vor.

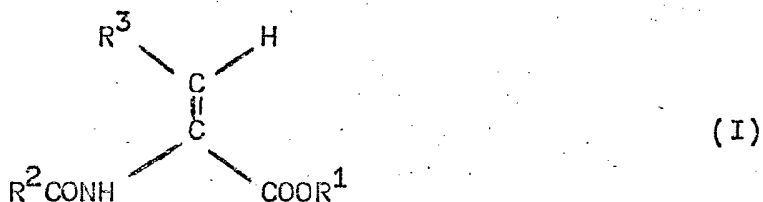
Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Herstellung von chemischen Substanzen, die selektiv den Stoffwechsel der Dipeptidase (E.C.3.4.13.11) hemmen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, geeignete Verbindungen mit den gewünschten Eigenschaften, die auch als "Dipeptidaseinhibitoren" bezeichnet sind, sowie Verfahren zu ihrer Herstellung aufzufinden.

Derartige Verbindungen schließen chemische Verbindungen ein, die Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionate der allgemeinen Formel



sind, in der R^2 und R^3 für Kohlenwasserstoffreste mit 3 bis 10 bzw. 1 bis 15 Kohlenstoffatomen stehen. Bei jedem dieser

214502 - 3 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Kohlenwasserstoffreste R^2 und R^3 können bis zu 6 Wasserstoffatome durch Halogene ersetzt sein, oder eine nicht-endständige Methylengruppe kann durch Sauerstoff oder Schwefel ersetzt sein, mit Einschluß von oxidierten Formen des letzteren.

Ein endständiges Wasserstoffatom in R^3 kann auch durch eine Hydroxyl- oder Thiolgruppe, die acyliert, z. B. mit einer Alkanoylsäure mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen, oder carbamoyliert mit Einschluß von Alkyl- und Dialkylcarbamaterivaten sein kann, ersetzt sein, oder das Wasserstoffatom kann durch eine Aminogruppe, die derivatisiert sein kann, wie z. B. in einer Acylamino-, Ureido-, Amidino-, Guanidino- oder Alkyl- oder substituierten Alkylaminogruppe mit Einschluß von quaternären Stickstoffgruppierungen, ersetzt sein, oder alternativ kann ein Ersatz durch Säuregruppen, wie Carbonsäure-, Phosphonsäure- oder Sulfonsäuregruppen oder Ester oder Amide davon, sowie Cyanogruppen oder Kombinationen davon, wie eine endständige Aminosäuregruppierung, erfolgt sein.

R^2 steht vorzugsweise für einen verzweigten Alkyl- oder Cycloalkylrest (C_{3-10}), mit der Einschränkung, daß das Kohlenstoffatom, das an die Carbonylgruppe angrenzt, nicht tertiär sein kann. R^1 steht für Wasserstoff, niedrig-Alkyl (C_{1-6}) oder Dialkylaminoalkyl [z. B. $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{N}(\text{CH}_3)_2$].

Einige der Verbindungen der Formel I haben asymmetrische Formen. Racemische Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensäure ist gespalten worden. Die Aktivität liegt in dem rechtsdrehenden Isomeren, das S-Konfiguration hat.

214502 - 4 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

In die Definition von R^2 sind die folgenden Untergruppen eingeschlossen:

- R^4 (I A),

worin R^4 für einen geradkettigen, verzweigten oder cyclischen Kohlenwasserstoffrest mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen steht, der, wie oben im Zusammenhang mit der Definition von R^2 angegeben, substituiert sein kann;

- R^5R^6 (I B),

wobei R^5 für einen Cycloalkylrest mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht und R^6 entweder für einen oder zwei Alkylsubstituenten steht, die miteinander unter Bildung eines weiteren Rings auf der Cycloalkylgruppe verbunden sein können, oder R^5 und R^6 , wie oben im Zusammenhang mit R^2 angegeben, substituiert sein können;

- R^7R^8 (I C),

wobei R^7 für eine Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen steht und R^8 für Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht, das, wie oben im Zusammenhang mit R^2 und R^3 angegeben, substituiert sein kann.

In diese Untergruppen fallen die folgenden Einzelverbindungen:

I A: Z-2-Isovaleramido-2-pentensäure; Methyl-Z-2-isovaleramido-2-butenolat; Z-2-Isovaleramido-2-butensäure; Z-2-Benzamido-2-butensäure; Z-2-(3,5,5-Trimethylhexanamido)-2-butensäure; Z-2-Cyclobutancarboxamido-2-butensäure;

214502 - 5 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Z-2-Cyclopropan-carboxamido-2-pentensäure; Z-2-(3-Methylvaleramido)-2-butensäure; Z-2-Cycloheptan-carboxamido-2-butensäure; Z-2-Nonanamido-2-butensäure; Z-2-Cyclohexan-carboxamido-2-butensäure; Z-2-(4-Methylvaleramido)-2-butensäure; Z-2-t-Butylacetamido-2-butensäure; Z-2-Octanamido-2-butensäure; Z-2-Butyramido-2-butensäure; Z-2-Valeramido-2-butensäure; Z-2-Valeramido-2-pentensäure; Z-2-Cyclopentan-carboxamido-2-butensäure; Z-2-(6-Methylheptanamido)-2-butensäure; Z-2-Hexanamido-2-butensäure; Z-2-(3,7-Dimethyloctanamido)-2-butensäure; Z-2-(3,7-Dimethyl-6-octenamido)-2-butensäure; Z-2-(5-Chlorvaleramido)-2-butensäure; Z-2-(3-Chlorbenzoylamido)-2-butensäure; Z-2-(2-Chlorbenzamid)-2-butensäure; Z-2-Nonanamido-2-butensäure; Z-2-(6-Bromhexanamido)-2-butensäure; Z-2-(3,3-Dimethylpropenamido)-2-butensäure; Z-2-Benzamido-2-zimtsäure; Z-2-Benzamido-2-pentensäure; Z-2-Benzamido-5-methoxy-2-pentensäure; Z-2-Benzamido-2-hexendisäure; Z-2-Isovaleramido-2-octensäure; Z-2-Isovaleramido-2-zimtsäure; Z-2-Isovaleramido-2-hexendisäure; Z-2-Cyclopropan-carboxamido-2-zimtsäure; Z-2-Cyclopropan-carboxamido-2-hexendisäure; Z-2-(5-Methoxy-3-methylvaleramido)-2-butensäure; Z-2-Ethylthioacetamido-2-butensäure; Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropan-carboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2-Ethylhexanamido)-2-butensäure; Z-2-Di-n-propylacetamido-2-butensäure;

I B: Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-butensäure; (+)-Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-hexensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-zimtsäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-5-methoxy-2-pentensäure;

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

214502 - 6 -

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-4,4,4-trifluor-2-butensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-3-(2-chlorphenyl)-propensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-hexendisäure; Z-2-(2-Ethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2,2-Diethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2,2-Diethylcyclopropanecarboxamido)-2-pentensäure; Z-2-(2-Isopropyl-2-methylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2-Methylcyclohexanecarboxamido)-2-butensäure; Z-5-Cyano-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-pentensäure; Z-5-(N,N-Dimethylcarbamoyl)-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-5-methansulfonyl-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-5-ethoxycarbonyl-2-pentensäure; Z-2-(2-Methylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Methyl-Z-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-butenolat; Ethyl-Z-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-butenolat; 2-Dimethylaminoethylester von Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; 3-Diethylaminopropylester von Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-pentensäure; Z-2-(2,3-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(3,3-Dimethylcyclobutanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2-Spirocyclopentancarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2-~~5~~-Butyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-4-methyl-2-pentensäure; Z-2-(2-t-Butylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-2-(2-Phenylcyclopropanecarboxamido)-2-butensäure; Z-3-Cyclohexyl-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-propensäure; Z-5-Carboxy-5-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-4-pentenamidin; Z-5-Dimethylamino-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-pentensäure; Z-3-Cyclopropyl-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-propensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2,5-

214582 - 7 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

hexadiensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-4-phenyl-2-butensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-6-mercapto-2-hexensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-5-methylthio-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-5-phosphono-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-heptensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-5-phenyl-2-pentensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-nonensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-decensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-tridecensäure; Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-6-methoxy-2-hexensäure (und -5-methoxy-2-pentensäure); Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-6-methyl-2-heptensäure; Z-4-Cyclohexyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensäure;

I C: Z-2-Cyclobutylacetamido-2-butensäure; Z-2-Cyclopentylacetamido-2-butensäure; Z-2-Cyclohexylacetamido-2-butensäure; Z-2-(4-Cyclohexylbutyramido)-2-butensäure; Z-2-Cyclopropylacetamido-2-butensäure; Z-2-Cyclopropylacetamido-2-pentensäure; Z-2-(3-Cyclopentylpropionamido)-2-butensäure; Z-2-(3-Cyclohexylpropionamido)-2-butensäure; Z-2-[4-(2-Thienyl)-butyramido]-2-butensäure; Z-2-(4-Phenylbutyramido)-2-butensäure-(D,L- α -lipoamido)-2-pentensäure; Z-2-(D,L- α -lipoamido)-2-zimtsäure; Z-2-[3-(2-Tetrahydrofuryl)-propionamido]-2-butensäure.

Besonders bevorzugte Substituenten innerhalb der Definition von R^2 sind z. B. die 2,2-Dimethylcyclopropyl- und die 2,2-Dichlorcyclopropylgruppe.

Innerhalb der Definition von R^3 sind besonders bevorzugte Gruppen von Verbindungen z. B. N-Alkyl- (1 bis 9 Kohlenstoff-

214502 - 8 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

atome) und N-Methyl- (1 bis 9 Kohlenstoffatome) Verbindungen, die einen endständigen Substituenten haben, der ein quaternäres Stickstoffatom, ein Aminoderivat oder eine von einer Aminosäure abgeleitete Gruppe ist.

Unter der Bezeichnung "quaternärer Stickstoff" soll ein tetrasubstituiertes oder heteroaromatisches Stickstoffatom verstanden werden, das positiv geladen ist. Eine Ammoniumgruppierung, die mit Kohlenwasserstoffgruppen mit 1 bis 7 Kohlenstoffatomen, die gleich oder verschieden sein können, substituiert ist, ist bedeutungsvoll.

Unter der Bezeichnung "Aminoderivat" ist eine Gruppe, wie eine Amino-, Acylamino-, Ureido-, Amidino-, Guanidino- oder Alkylderivatgruppe davon, zu verstehen.

Unter der Bezeichnung "sich von einer Aminosäure ableitende Gruppe" soll eine Gruppierung, wie z. B. Cysteinyll [-SCH₂CH(NH₂)COOH] oder Carcosyl [-N(CH₃)CH₂COOH], verstanden werden, bei der ein Wasserstoffatom, das an O, N oder S der bekannten Aminosäuren gebunden ist, ersetzt worden ist.

Besonders bevorzugte Verbindungen der am meisten bevorzugten Gruppen der Substituenten R² und R³ sind solche, bei denen R² 2,2-Dimethylcyclopropyl oder 2,2-Dichlorcyclopropyl bedeutet und R³ für eine Kohlenwasserstoffkette mit 3 bis 7 Kohlenstoffatomen ohne einen endständigen Substituenten oder mit einem endständigen Substituenten, der Trimethylammonium, Amidino, Guanidino, 2-Amino-2-carboxyethylthio oder Ureido ist, steht. Spezifische Beispiele für diese Verbindungen sind z. B.:

214502 - 9 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-trimethyl-
ammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz;
Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropanecarboxamido)-8-trimethyl-
ammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz;
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-amidino-2-
octensäure;
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-guanidino-2-
octensäure;
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-ureido-2-
octensäure;
Z-8-(L-2-Amino-2-carboxethylthio)-2-(2,2-dimethyl-
cyclopropanecarboxamido)-2-octensäure;
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-octensäure
(racemische und rechtsdrehende Formen); und
Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropanecarboxamido)-2-octensäure.

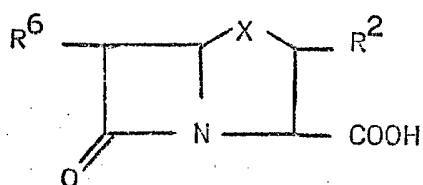
Die Z-Konfiguration [J. E. Blackwood et al, J. Am. Chem.
Soc., 90, S. 509 (1968)] wird den obigen Verbindungen
aufgrund ihrer NMR-Spektren analog den Arbeiten von A.
Srinivasan et al [Tetrahedron Lett., 891 (1976)] zugeschrie-
ben.

Obgleich diese Verbindungen der Formel I, wenn R¹ für H
steht, als freie Säuren beschrieben und benannt werden,
wird für den Fachmann ersichtlich, daß verschiedene pharma-
zeutisch annehmbare Derivate, z. B. die Alkali- und Erd-
alkalimetall-, Ammonium- oder Aminsalze oder dgl., als
Äquivalente hierzu verwendet werden können. Salze, wie die
Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Tetramethylammoniumsalze,
sind geeignet.

Wie oben beschrieben, sind die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen Dipeptidase (E.C.3.4.13.11)-Inhibitoren, und sie können in Kombination mit antibakteriellen Verbindungen, die einem Abbau in der Niere unterworfen sind, verwendet worden. Die Gruppe von Antibiotika, die derzeit von primärer Wichtigkeit zur Verwendung in Kombination mit den erfindungsgemäß hergestellten Z-2-Acylamino-3-monosubst.-propionaten sind, sind die Verbindungen der Thienamycinklasse.

Die Bezeichnung "Verbindungen der Thienamycinklasse" wird dazu verwendet, um eine Anzahl von natürlich vorkommenden, halbsynthetischen oder synthetischen Derivaten oder analogen Verbindungen mit einem kondensierten Ring- β -Lactam-Kern zu identifizieren. Diese Verbindungen können gattungsgemäß als 6- und (gegebenenfalls) 2-subst.-Pen-2-em-3-carbonsäuren und 1-Carbadethia-pen-2-em-3-carbonsäuren oder 1-Aza-bicyclo [3.2.0] hept-2-en-7-on-2-carbonsäuren bezeichnet werden.

Spezielle Verbindungen, die für die Erfindung besonders gut geeignet sind, werden ihrer Struktur nach durch die folgende Formel II



(II),

in der X für CH_2 oder S stehen kann, R^2 für Wasserstoff, $-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHR}^3$, wobei R^3 die Bedeutung Wasserstoff, Acetyl, Formimidoyl, Acetimidoyl hat, $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}=\text{CHNHCOCH}_3$ oder

214502 - 11 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

-S-CH=CHNHCOCH₃ stehen kann, und R⁶ für -CHCH₃ steht, wobei
R⁷

R⁷ die Bedeutung Wasserstoff, Hydroxy oder Sulfonyloxy hat, oder R⁶ für H steht, angegeben. Alle möglichen stereoisomeren Formen sollen unter die obige Strukturdefinition fallen.

Alle diese Verbindungen der Formel II sind bereits in der Literatur beschrieben. Wenn X für CH₂ und R² für SCH₂CH₂-NH₂ und R⁶ für CH(OH)CH₃ steht, dann ist die Verbindung als Thienamycin bekannt, das ein Antibiotikum ist, welches durch Fermentation von *S. cattleya* (hinterlegt als NRRL 8057 bei Northern Regional Research Laboratories US-Department of Agriculture, Peoria, Illinois, USA, am 18. November 1974) hergestellt wird, wie es in der US-PS 3 950 357 beschrieben wird. Die N-substituierten Derivate von Thienamycin, d. h., Verbindungen der Formel II, bei denen R³ eine andere Bedeutung als Wasserstoff hat, werden in schwebenden US-Anmeldungen und ihren entsprechenden Auslandsanmeldungen beschrieben. Das Fermentationsprodukt N-Acetylthienamycin [R⁶ = CH(OH)CH₃; und R³ = Acetyl], das auch als 924A bezeichnet wird, ist in der BE-PS 848 346 beschrieben. Die N-Imidoylderivate werden in der BE-PS 848 545 beschrieben. Die Verbindung, die die ungesättigte Seitenkette enthält und die auch als N-Acetyl-dehydrothienamycin oder 924A₅ bezeichnet wird, ist ein Fermentationsprodukt von *S. cattleya* (NRRL 8057), beschrieben in der US-PA SN 788 491 (DE-OS) vom 18. April 1977 und auch in der BE-PS 866 035. Epimere Formen von N-Acetylthienamycin, die auch als 890A und 890A₃ bezeichnet werden, sowie Desacetyl-890A und Desacetyl-890A₃ werden in

214502 - 12 -

13.2.1980

AP C 07. C/214 582

55 967/12

der FR-OS 763 887 und in der BE-PS 848 349 beschrieben. Epimere Formen des ungesättigten Thienamycins, auch als $890A_2$ und $890A_5$ bezeichnet, werden in der FR-OS beschrieben. Die eine 6-Sulfonyloxygruppe enthaltenden N-Acetylverbindungen, auch als $890A_9$ oder $890A_{10}$ bezeichnet, werden in den FR-OS 7 734 456 und 7 734 457 beschrieben. Desacetyl-Analoga von $890A_9$ und $890A_{10}$ werden in der US-PA SN 767 723 vom 11. Februar 1977 (DE-OS 28 05 701) und ihrer Cip-Anmeldung SN 860 665 vom 15. Dezember 1977 (DE-OS) und auch in der US-PA SN 767 920 vom 11. Februar 1977 (DE-OS 28 05 724) und ihrer Cip-Anmeldung US-SN 006 959 vom 25. Januar 1979 (DE-OS) und auch in der FR-PA 7 803 667 beschrieben. Einige der letzteren Verbindungen in der $890A_9$ - und $890A_{10}$ -Reihe sind auch als Derivate von Olivansäure bekannt (vergl. Corbett et al, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1977, Nr. 24, Seiten 953 - 54) Verbindungen der obigen Formel I, bei denen R^2 für Wasserstoff steht, die auch als DescysteaminyI-thienamycine bezeichnet werden, sind in der US-PA SN 668 898 vom 22. März 1976 (DE-OS) und ihrer Cip-US-Anmeldung SN 847 297 vom 31. Oktober 1977 (DE-OS 28 20 055) sowie in der BE-PS 867 227 beschrieben.

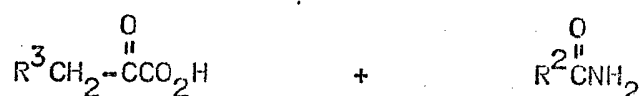
Wenn R^6 für Wasserstoff und X für CH_2 steht, dann sind diese Verbindungen in der US-PA SN 843 171 vom 1. Januar 1977 (DE-OS 2 751 624.1) beschrieben.

Als Antibiotikum vom Thienamycintyp, bei dem R^2 für $-SCH_2CH_2NHAc$ und R^6 für C_2H_5 steht, ist schon die Substanz PS-5 beschrieben worden, die von K. Okaimura et al in J. Antibiotics 31, S. 480 (1978), beschrieben worden ist; vgl. auch BE-PS 865 578.

Die Verbindungen, bei denen X für S steht und die auch als "Penem-Verbindungen" bezeichnet werden, werden von R. B. Woodward in "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics", J. Elks (Ed.), The Chemical Society, London, 1977, S. 167; R. B. Woodward, Abstracts of Uppsala University 500 Years Symposium on Current Topics in Drug Research, Uppsala, Schweden, Oktober 1971, 1977: Acta Pharm. Suecica, Band 14, Supplement, S. 23, sowie in der US-PS 4 070 477 beschrieben.

Die Verbindungen der Formel I werden in der Weise hergestellt, daß man

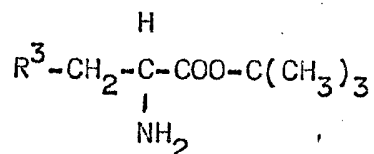
(a) eine 2-Ketosäure oder einen niedrig-Alkylester davon mit einem Amid



kondensiert, wobei die allgemeinen Bedingungen die Vermischung von ungefähr 1 bis 4:1 Teilen Ketosäure oder Ester zu Amid in einem inerten Lösungsmittel, wie Toluol oder Methylisovalerat, Erhitzen am Rückfluß und azeotrope Entfernung von Wasser während 3 bis 48 h, vorzugsweise 5 bis 24 h, einschließen, oder

(b) ein Säurechlorid $\text{R}^2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCL}$

mit einem t-Butylester einer α -Aminosäure



214502 - 1 4 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

in Gegenwart einer Base umgesetzt und anschließend eine oxidative Addition von Natriummethoxid und Behandlung des resultierenden Zwischenproduktes mit wasserfreier Salzsäure durchführt, wobei R^2 und R^3 die angegebenen Bedeutungen haben.

Besonders bevorzugte Glieder in der Thienamycinklasse von Verbindungen sind die N-Formimidoyl- und N-Acetamidoyl-derivate von Thienamycin. Die kristalline Form von N-Formimidoylthienamycin, die vor kurzem beschrieben worden ist, ist ebenfalls für die Durchführung dieser Erfindung geeignet. Ein bevorzugter Weg zur Herstellung dieser Verbindung wird in dem folgenden Beispiel beschrieben.

Beispiel

Kristallines N-Formimidoylthienamycin

Stufe A: Benzylformimidat-hydrochlorid

Ein 3-l-Dreihalskolben, der mit einem Zugabetrichter, einem Kopfrührer und einem Rückflußkühler versehen war, wurde mit einem Gemisch aus Benzylalkohol (125 g, 1,15 Mol), Formamid (51 g, 1,12 Mol) und wasserfreiem Ether (1200 ml) beschickt. Das Gemisch wurde heftig bei Raumtemperatur (20 bis 25 °C) unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt, und Benzoylchlorid (157 g, 1,12 Mol) in 50 ml wasserfreiem Ether wurde tropfenweise unter Verwendung des Zugabetrichters zugesetzt. Die Zugabe erforderte etwa 50 min.

Das Reaktionsgemisch wurde weitere 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Ether wurde durch Dekantieren entfernt, und 300 ml Essigsäureanhydrid in 500 ml wasserfreiem Ether wurden zugesetzt. Das Gemisch wurde 30 min bei Raumtemperatur

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

214502 - 15 -

gerührt. Den Niederschlag ließ man sich absetzen, und das Ether-Essigsäureanhydrid-Gemisch wurde erneut durch Dekantieren entfernt. Der Feststoff wurde durch Filtrieren gesammelt, mit 500 ml Ether gewaschen und im Vakuum über KOH bei 25 °C während 2 h getrocknet, wodurch 130 g (67 %) Benzylformimidat-hydrochlorid als weißer Feststoff erhalten wurde.

Das Produkt wurde durch NMR δ (DMSO) 5,7 (s, 2H, OCH_2), 7,5 (s, 5H, O), 9,0 (s, 1H, HC=N) analysiert. Das Produkt ist thermisch instabil. Es zersetzt sich in Formamid und Benzylchlorid bei 0 °C und darüber. Jedoch wurde bei zweimonatiger Lagerung bei -20 °C keine nennenswerte Zersetzung festgestellt.

Stufe B: Derivatisierung von Thienamycin

Thienamycin (in Form eines Konzentrats von 6 l einer wäßrigen Lösung mit einem pH-Wert von 6,5 von der Fermentationsbrühe, enthaltend 28 g Thienamycin) wurde in ein großes Becherglas (12 l) gegeben und auf 0 °C abgekühlt. Das Becherglas war mit einem pH-Meter und einem wirksamen Hochgeschwindigkeitsrührer ausgerüstet. Der pH-Wert wurde auf 8,5 durch sorgfältige Zugabe von 3N KOH erhöht (das KOH wurde tropfenweise mittels einer Spritze in die gerührte Lösung eingegeben). Die Lösung wurde mit 6 Äquiv. von festem Benzylformimidat-hydrochlorid (~ 100 g) in Portionen behandelt, während der pH-Wert bei $8,5 \pm 0,3$ durch Zugabe von 3N KOH (200 ml) unter Verwendung einer Spritze gehalten wurde. Die Zugabe erforderte 3 bis 5 min. Das Reaktionsgemisch wurde 6 min bei 0 °C gerührt und sodann durch Flüssigkeitschromatographie untersucht, um die Vervollstän-

214502

- 16 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

digung der Reaktion zu gewährleisten. Die Lösung wurde mit 1N HCl auf einen pH von 7 eingestellt. Das Volumen des Reaktionsgemisches wurde gemessen, und die Lösung wurde durch UV analysiert. Das neutralisierte Reaktionsgemisch wurde in einer Umkehrosmoseeinheit bei $<10^{\circ}\text{C}$ auf 15 g/l konzentriert. Das Volumen des Konzentrats wurde gemessen, und der pH-Wert wurde erforderlichenfalls auf 7,2 bis 7,4 eingestellt. Das Konzentrat wurde durch einen Sinterglas-trichter mittlerer Porosität filtriert, um irgendwelche Feststoffe, die nach der Konzentration noch vorhanden waren, zu entfernen.

Stufe C: Chromatographie mit Dowex 50W x 2

Das Konzentrat (750 bis 1000 ml, 15 bis 20 g) wurde bei 0°C auf eine vorgekühlte 18-l-Säule von Dowex 50W x 2 im Kaliumzyklus (Harz mit 200 bis 400 Mesh) aufgegeben, und die Säule wurde bei 0 bis 5°C mit destilliertem, ent-ionisiertem Wasser mit einer Fließgeschwindigkeit von 90 ml/min und einem Kopfdruck von 0 bis 3,16 atü (45 psig) eluiert.

Vorfraktionen von 4 l, 2 l und 1 l wurden gesammelt. Dann wurden 18 Fraktionen mit jeweils 450 ml und eine Endfraktion mit 2 l gesammelt. Jede Fraktion wurde durch UV-Licht analysiert (1/100 Verdünnung, NH_2OH -Extinktion wurden we-gelassen). Die Gesamtmenge an NFT in jeder Fraktion wurde errechnet. Die Anfangs- und Endfraktionen wurden auf die Flüssig-Chromatographiereinheit untersucht, und die ge-wünschten, reichen Schnittfraktionen wurden kombiniert. Der pH-Wert der kombinierten, reichen Schnittfraktionen wurde sowohl mit einem pH-Meter als auch mit Bromthymol-

214582 - 17 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

blau-Indikationslösungen bestimmt, und er wurde erforderlichenfalls auf pH 7,2 bis 7,4 eingestellt. Die kombinierten, reichen Schnittfraktionen (3 bis 4 l) wurden sodann durch UV-Licht analysiert, und der gesamte Formamidingehalt wurde bestimmt; 15 bis 16 g, 75 % Ausbeute von der Säule. Die reichen Schnittfraktionen wurden in der Umkehrosmoseeinheit bei $< 10^{\circ}\text{C}$ so weit wie möglich konzentriert, und sodann wurde die Konzentrierung auf 33 g/l auf einem Drehverdampfer bei weniger als 28°C vervollständigt. Ein Gesamtvolumen von etwa 500 ml Konzentrat wurde erhalten.

Stufe D: Kristallisation von N-Formimidoylthienamycin

Das Konzentrat der vorhergegangenen Stufe wurde erforderlichenfalls auf 7,3 eingestellt, und der N-Formimidoylthienamycingehalt, bestimmt durch UV-Analyse, betrug etwa 85 bis 90 %. Das Konzentrat wurde durch einen Sinterglas-trichter (mittlere Porosität) in einen großen Erlenmeyerkolben filtriert. Fünf Volumina (~ 2200 ml) 3A Ethanol wurden in das Konzentrat eingefiltert, und die Lösung wurde bei Raumtemperatur 10 min und bei 0°C 12 bis 24 h gerührt.

Die Kristalle wurden abgesaugt und mit 0,1 Volumen (~ 250 ml) 0°C 80 % 3A Ethanol, gefolgt von 1/25 Volumen (100 ml) 3A Ethanol von Raumtemperatur gewaschen. Die Kristalle wurden im Vakuum 12 bis 24 h getrocknet, wodurch ungefähr eine Gesamtausbeute von 40 % an N-Formimidoylthienamycin (10 bis 12 g) erhalten wurde.

Die Analysenergebnisse eines 50 g-Gemisches von N-Formimidoylthienamycin, hergestellt wie oben beschrieben, sind wie folgt:

214502

- 18 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

C	Theorie	45,42 %	gefunden	45,82 %
H	"	6,03 %	"	5,72 %
N	"	13,24 %	"	13,10 %
S	"	10,10 %	"	10,14 % .

Verbrennungsrückstand, vorhergesagt 0,5, gefunden 0,47 %;
 $[\alpha]_D^{25} = 89,4^\circ$; T.G. = 6,8 %; UV $\lambda_{\max}$ 300 MM, E % = 328.

Wie oben ausgeführt, wird die Verbindung vom Thienamycin-Typ in Kombination mit dem Dipeptidase-Inhibitor verwendet. Das Kombinationsprodukt wird in der parallelen Anmeldung AP A 61 K/214 580 beschrieben.

Die Kombination der neuen chemischen Inhibitoren gemäß der Erfindung und der Verbindung der Thienamycinklasse kann in Form einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die die zwei Verbindungen in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger enthält, verabreicht werden. Die zwei Substanzen können in solchen Mengen verwendet werden, daß das Gewichtsverhältnis von Verbindung der Thienamycinklasse zu Inhibitor 1:3 bis 30:1 und vorzugsweise 1:1 bis 5:1 beträgt.

Die Komponenten können auch gesondert verabreicht werden. So kann z. B. die Verbindung der Thienamycinklasse intramuskulär oder intravenös in Mengen von 1 bis 100 mg/kg/Tag, vorzugsweise 1 bis 20 mg/kg/Tag, oder 1 bis 5 mg/kg/Tag in aufgeteilten Dosierungsformen, z. B. drei- oder viermal täglich, verabreicht werden. Der Inhibitor kann gesondert oral, intramuskulär oder iv. in Mengen von 1 bis 100 mg/kg/Tag vorzugsweise 1 bis 30 mg/kg/Tag, oder 1 bis 5 mg/kg/Tag verabreicht werden. Die Mengen der zwei Komponenten, die während eines Tages verabreicht werden, liegen idealerweise

214502 - 19 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

innerhalb der oben angegebenen Grenzen.

Die am meisten bevorzugte Dosierung, die derzeit bekannt ist, ist die Dosierung in einer einzigen Dosis der zwei kristallinen Verbindungen, wobei die eine N-Formimidoylthienamycin und die andere (+)-Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure ist und wobei die Verabreichung in einer sterilen, wäßrigen iv.-Injektionsform (Natriumsalz) mit einem Gehalt von 150 mg Thienamycin und entweder 75 oder 150 mg Octensäure erfolgt. Diese Dosis wird Menschen (angenommen jeweils ein Körpergewicht von etwa 80 kg) ein- bis viermal täglich verabreicht. Es können auch 2 bis 8 mg/kg/Tag Verbindung der Thienamycinklasse und 1 bis 8 mg/kg/Tag Inhibitor verabreicht werden.

Die Komponenten, ungeachtet ob sie gesondert oder miteinander verabreicht werden, werden in pharmazeutisch annehmbaren Trägern verwendet, z. B. herkömmlichen Trägern für die orale Verabreichung, wie Kapseln, Tabletten oder flüssige Lösungen oder Suspensionen. Die Komponenten können gesondert oder zusammen auch in einem Träger aufgelöst werden, der für die Verabreichung durch Injektion geeignet ist. Geeignete Zubereitungen für die orale Verabreichung können Verdünnungsmittel, Granulierungsmittel, Konservierungsmittel, Bindemittel, Aromatisierungsmittel und Beschichtungsmittel enthalten. Ein Beispiel für eine Zusammensetzung für die orale Verabreichung ist eine Kombination der Wirkstoffe oder der Säurekomponente allein, vermischt im trockenen, pulverförmigen Zustand mit Gelatine, Stärke, Magnesiumstearat und Alginsäure und verpreßt zu einer Tablette.

Wie oben ausgeführt, ist die derzeit bevorzugte Methode die parenterale Verabreichung der Verbindung der Thien-

amycinklasse und entweder eine co-parenterale Verabreichung oder eine orale Verabreichung der Inhibitorverbindung.

Nachstehend werden Testmethoden der Kombination des antibakteriellen Mittels beschrieben.

Wie bereits ausgeführt, haben Dispositionsuntersuchungen mit Thienamycin, seinen natürlichen Analogen und seinen halbsynthetischen Derivaten bei den verschiedenen untersuchten Arten (Maus, Ratte, Hund, Schimpanse, Rhesusaffe) ergeben, daß die Entfernung dieser Verbindungen zum größeren Teil durch metabolischen Abbau erfolgt. Das Ausmaß dieses metabolischen Abbaus spiegelt sich in einer niedrigen Rückgewinnung aus dem Urin und kurzen Plasmahalbwertszeiten wider. Die Natur dieses Abbaus als Lactamspaltung durch renale Dipeptidase (E.C.3.4.13.11) wurde erstmals von Bergmann und H. Schleich, Z. Physiol. Chem., 205, 65 (1932), beschrieben; vgl. auch J. P. Groenstien, Advances in Enzymology, Band VIII, Wiley-Interscience (1948), New York, und B. J. Campbell, Y. C. Lin, R. V. Davis und E. Ballew, "The Purification and Properties of Particulate Renal Dipeptidase", Biochim. Biophys. Acta, 118, 371 (1966).

Um die Fähigkeit der Verbindungen der Formel I, die Wirkung des renalen Dipeptidaseenzym zu unterdrücken, zu zeigen, wurde eine in vitro Screen-Methode angewendet. Bei dieser wurde die Fähigkeit der Verbindungen gemessen, die Hydrolyse von Glycyldehydrophenylalanin (GDP) durch eine solubili-sierte Präparation von Dipeptidase, isoliert aus Schweinen, zu hemmen. Es wird wie folgt verfahren: Zu einem 1-ml-System, enthaltend 50 mM "MOPS" [3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure]-Puffer, pH 7,1, werden 5 µg lyophili-

siertes Enzym und die Testverbindung mit einer Endkonzentration von 0,1 mM gegeben. Nach einer 5minütigen Inkubation bei 37 °C wird GDP zu einer Endkonzentration von 0,05 mM zugesetzt. Die Inkubation wird 10 min bei 37 °C weitergeführt, und die Hydrolyse von GDP wird durch Veränderung der optischen Dichte mit der Zeit bei 275 nm gemessen. Die Inhibierung des Enzyms wird durch Vergleich mit einem Standardversuch ohne Inhibitor gemessen und als Inhibitor-Bindekonstante, K_i , ausgedrückt. Dies ist die Konzentration des Inhibitors, die eine 50%ige Inhibierung des Enzyms bewirkt.

Das Substrat GDP wird bei diesem Screenversuch gegenüber Thienamycin bevorzugt angewendet, da es eine höhere maximale Hydrolysegeschwindigkeit durch die renale Dipeptidase hat, wodurch die Menge des erforderlichen Enzyms vermindert wird. Sowohl GDP als auch Thienamycin haben eine ähnliche Affinität für renale Dipeptidase. Dazu kommt noch, daß die K_i -Werte der getesteten Inhibitoren für die zwei Substrate identisch sind.

Zusätzlich zu dieser in vitro Screen-Methode wurde eine in vivo Screen-Methode durchgeführt, um die Fähigkeit der Testverbindungen zu messen, den Stoffwechsel, ausgedrückt als Erhöhung der Rückgewinnung von Thienamycin aus dem Urin der Maus, zu inhibieren. Hierbei erfolgte eine gemeinsame intravenöse oder subkutane Verabreichung von 10 bis 100 mg/kg der Testverbindung und 10 mg/kg Thienamycin. Die Thienamycinrückgewinnung aus dem Urin über einen Zeitraum von 4 h wird sodann mit der Gewinnung in einer Kontrollgruppe ohne Verabreichung der Testverbindung verglichen.

214502 - 22 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Die Urinrückgewinnung von Thienamycin wurde in allen Fällen mit einer Zylinder- oder Scheiben-Diffusionsanalyse gemessen, welche gemäß der US-PS 3 950 357 vorgenommen wurde. Dieser Bioassay, bei dem *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 als Testorganismus verwendet wird, hat einen verwertbaren Beantwortungsbereich von 0,04 bis 3,0 µg/ml.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird in den Ausführungsbeispielen erläutert.

Beispiel 1

in vitro-Testwerte

Ein 1 ml-System von 50 mM "MOPS"-Puffer, pH 7,1, wird verwendet. Hierzu werden 5 µg Schweinerenalenenzym und eine Menge der Testverbindung, daß die Endkonzentration auf 0,1 mM gebracht wird, gegeben. Nach 5minütiger Inkubation bei 37 °C wird eine Menge an DDP zugesetzt, um die Endkonzentration auf 0,05 mM zu bringen. Das System wird erneut 10 min bei 37 °C inkubiert. Die Hydrolyse von GDP wird durch Veränderung der optischen Dichte mit der Zeit bei 275 nm gemessen. Die Hemmung des Enzyms wird durch Vergleich mit einem Standardversuch ohne Inhibitor gemessen und als Prozentuale Hemmung ausgedrückt. Der K_i -Wert ist eine Konstante, die diejenige Konzentration des Inhibitors darstellt, die erforderlich ist, um eine 50%ige Hemmung des Enzyms zu bewirken. Sie ist ein errechneter Wert, erhalten durch mehrfache Durchführung der in vitro-Analysen, wie oben beschrieben, bei Konzentrationen, die zu einer Inhibierung unterhalb und oberhalb des 50 % Hemmungspunktes resultieren. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt.

214502

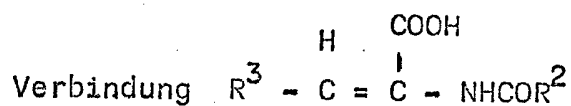
- 23 -

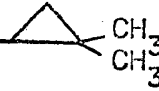
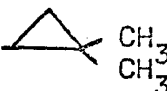
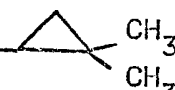
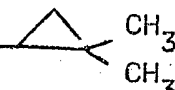
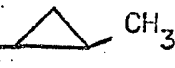
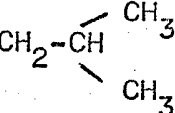
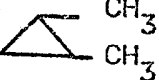
13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I



Dipeptidase-Inhibitor	R^3	R^2	% Hemmung bei 10^{-4}M	K_i (μM)
1	CH_2CH_3		98	0,18
2 ⁺	CH_3		98	0,39
2a ⁺	CH_3		100	0,12
2b ⁺	CH_3			19,8
3	CH_3		92	1,7
4	CH_2CH_3		87	3,2
5	CH_3	$-\text{CH}_2\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$	81	4,4
6	CH_3		83	4,6

⁺ Die Verbindungen 2, 2a und 2b sind die racemische, rechtsdrehende bzw. linksdrehende Form.

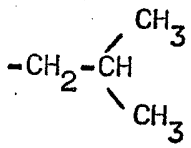
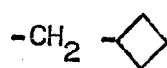
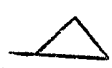
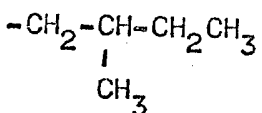
214502 - 24 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

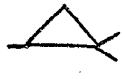
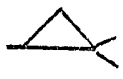
Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
7	CH ₃		91	6
8	CH ₃		80	6,2
9	CH ₃		83	6,6
10	CH ₃		97	9
11	CH ₃		82	10

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
12	-(CH ₂) ₄ CH ₂	 Cl Cl		.03
13	-(CH ₂) ₅ N ⁺ (CH ₃) ₃	 Cl Cl		
14	-(CH ₂) ₅ N ⁺ (CH ₃) ₃	 CH ₃ CH ₃		1,11
15	-(CH ₂) ₅ -NH-C(=NH) CH ₃	 CH ₃ CH ₃		
16	-(CH ₂) ₅ -NH-C-N ⁺ (CH ₃) ₂ NH	 CH ₃ CH ₃		
17	-(CH ₂) ₂ -S-CH ₂ -C-COO ⁻ H NH ₃ ⁺	 CH ₃ CH ₃		0,21
18	CH ₃	-CH ₂ C(CH ₃) ₃	75	20
19	CH ₃	-(CH ₂) ₆ CH ₃	72	26
20	CH ₃	-(CH ₂) ₂ CH ₃	69	30
21	CH ₃	-(CH ₂) ₃ - 	68	30
22	CH ₃	-CH ₂ - 	64	22

214502 - 26 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
23	CH ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃	64	32
24	CH ₃		59	30
25	CH ₃	-(CH ₂) ₄ CH(CH ₃) ₂	57	
26	CH ₃	-CH ₂ CH ₂ - 	56	
27	CH ₃	-CH ₂ CH ₂ - 	54	
28	CH ₃	-CH ₂ -(CH ₂) ₃ CH ₃	54	39
29	CH ₃	-(CH ₂) ₅ CH ₃	49	
30	CH ₃	-CH(CH ₂ CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	33	
31	CH ₃	-CH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	13	
32	CH ₃	-CH(CH ₃) ₂	31	
33	HOO-CH ₂ CH ₂		90	5
34	CH ₃	-CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ CH ₂ OCH ₃	88	9
35	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Br	70	19
36	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Cl	64	20

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
37	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ - 	72	11
38	CH ₃	 C(CH ₃) ₃	90	6,5
39	CH ₃ (CH ₂) ₄	CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	95	2,6
40	CH ₃	 CH ₂ CH ₃ CH ₃	100	0,45
41	(CH ₃) ₂ CH	 CH ₃ CH ₃	98	0,54
42	CH ₃	 CH ₂ CH ₃ CH ₂ CH ₃	98	0,86
43	CH ₃	 CH ₂ CH ₃	96	1,6
44	CH ₃	 CH(CH ₃) ₂ CH ₃	95	3
45	CH ₃ CH ₂	 CH ₃ CH ₃	98	0,18

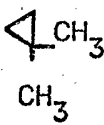
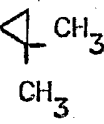
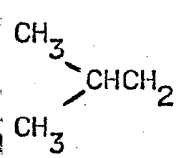
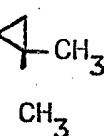
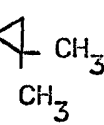
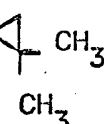
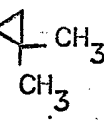
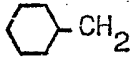
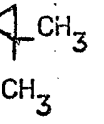
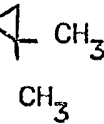
214502 - 28 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
46	Ph		100	0,62
47	CH ₃ CH ₂ CH ₂		98	0,11
48			97	0,23
49	CH ₃ (CH ₂) ₃		100	0,11
50	CH ₃ (CH ₂) ₄		100	0,17
51	HOOCCH ₂ CH ₂		98	0,145
52	 CH ₂		100	0,15
53	PhCH ₂ CH ₂		96	0,33

214502

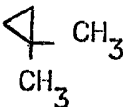
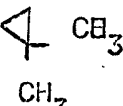
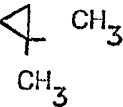
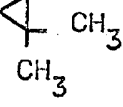
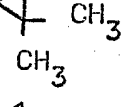
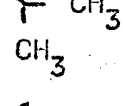
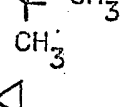
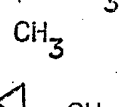
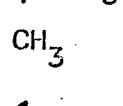
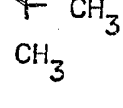
- 29 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

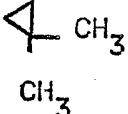
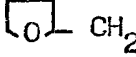
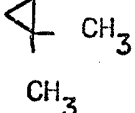
Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
54	CH ₃ SCH ₂ CH ₂	 CH ₃	99	0,12
55	CH ₃ SO ₂ CH ₂ CH ₂	 CH ₃	96	0,5
56	CH ₃ (CH ₂) ₅	 CH ₃	98	0,149
57	CH ₃ (CH ₂) ₆	 CH ₃	99	0,092
58	CH ₃ (CH ₂) ₉	 CH ₃	96	0,14
59	PhCH ₂	 CH ₃	98	0,44
60	CH ₃ O(CH ₂) ₃	 CH ₃		0,28
61	CH ₃ OCH ₂ CH ₂	 CH ₃	98	0,32
62	(CH ₃) ₃ CCH ₂	 CH ₃		0,34
63	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂	 CH ₃	98	0,15

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle I (Fortsetzung)

Dipeptidase Inhibitor	R ³	R ²	% Hemmung bei 10 ⁻⁴ M	K _i (μM)
64	H ₂ OC(CH ₂) ₃	 CH ₃	99	0,048
65	 CH ₂	 CH ₃		0,39

Beispiel 2in vivo-Testwerte

Eine in vivo-Untersuchung bei der Maus wurde wie folgt durchgeführt: Weibliche Charles-River-CD-Mäuse mit 20 g erhielten durch subkutane Injektion die ausgewählte Dosis des chemischen Inhibitors. Etwa 2 min später wurde intravenös die Dosis von Thienamycin verabreicht. Eine Kontrolle von Thienamycin wie oben wurde gleichfalls durchgeführt. Der Gehalt an Thienamycin im Urin, ausgedrückt als Prozent der Dosis, wurde nach einer Bioassaytechnik gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt. Die Nummern der zwei Testverbindungen sind diejenigen der Tabelle I. Die Verbindung 7 ist 2-Isovaleramido-2-buten-säure, und die Verbindung 10 ist Z-2-Cyclopropylcarboxamido-2-butensäure.

214582 - 31 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Tabelle II

Verbin- dung	Dosis, mg/kg Verbindung	Dosis, mg/kg Thienamycin	% Urin-Wiedergewin- nung von Thienamycin
7	50	10	53
7	10	10	53
10	50	10	56
Vergleich	-	10	25 - 30

Beispiel 3

Die Verbindungen 2-Isovaleramido-2-butensäure, Verbindung 7, und Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensäure wurden genauer in vivo in Kombination mit Thienamycin (THM) bei der Maus untersucht. Die allgemeine Testmethode war ähnlich wie in Beispiel 2. Die Ergebnisse sind in den Tabellen III und IV zusammengestellt.

Tabelle III

Effekt der gemeinsamen Verabreichung von 2-Isovaleramido-butensäure (Verbindung 7) auf die Urin-Wiedergewinnung von Thienamycin bei der Maus (a)

Weg (b)		mg/kg Dosis		Urin-Wiederge- winnung v. THM, %
Verbindung 7	THM	Verbindung 7	THM	
-	iv od. sc	-	10	30±5
Sc	sc	0,3	10	33
sc	iv	2	10	42
sc	sc	2	10	47
sc	iv	10	10	53
sc	sc	50	10	54
sc	iv	50	10	53
sc	sc	80	10	59
sc	sc	100	10	81

214502 - 32 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

(a) weibliche Charles-River-CD₁-Mäuse mit 20 g

(b) gemeinsame Verabreichung

Tabelle IV

Effekt der gemeinsamen Verabreichung von Z-2-(2,2-Dimethyl-cyclopropancarboxamido)-butensäure (Verbindung 2) auf die Urin-Wiedergewinnung von Thienamycin bei der Maus (a)

Weg (b)		mg/kg Dosis		Urin-Wiedergewinnung von THM, %
Verbind. 2	THM	Verbind. 2	THM	
-	sc	-	10	30±5
sc	sc	0,1	10	35
sc	sc	0,3	10	40
sc	sc	1	10	46
sc	sc	10	10	60
sc	sc	30	10	73

(a) weibliche Charles-River-CD₁-Mäuse mit 20 g

(b) gemeinsame Verabreichung

Beispiel 4

Bei einer weiteren Untersuchung bei der Maus wurde die systemische antibakterielle Aktivität von Thienamycin ungefähr dreifach verstärkt, indem 2-Isovaleramido-2-buten-säure gemeinsam damit verabreicht wurde; vgl. Tabelle V.

Tabelle V

Effekt der gemeinsamen Verabreichung von 2-Isovaleramido-2-buten-säure auf die systemische Wirksamkeit von Thienamycin bei der Behandlung von Infektionen mit *Staphylococcus aureus*

		ED ₅₀ , mg/kg
THM	allein	0,2
	+ 100 mg/kg Inhibitor	0,06

214502 - 33 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Beispiel 5

Ein männlicher kleiner Spürhund wurde bei einer Untersuchung des Effekts von Dipeptidase-Inhibitoren auf die Urin-Wiedergewinnung von N-Formimidoyl-thienamycin verwendet. Bei der Kontrolluntersuchung erhielt der Hund 5 mg/kg iv von N-Formimidoyl-thienamycin ohne Inhibitor. Bei einem zweiten Versuch wurde die gleiche Menge von N-Formimidoyl-thienamycin verwendet, jedoch wurde auch Z-2-Isovaleramido-2-butensäure in drei Dosen, die jeweils 20 mg/kg der Verbindung ergaben, verabreicht. Die erste Dosis wurde gerade nach der Injektion von N-Formimidoyl-thienamycin verabreicht; die zweite erfolgte nach 40 min und die dritte nach 60 min. Bei der dritten Untersuchung wurde eine einzige Dosis (2 mg/kg) von Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensäure verwendet, welche gerade vor der Injektion von N-Formimidoyl-thienamycin verabreicht wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle VI zusammengestellt.

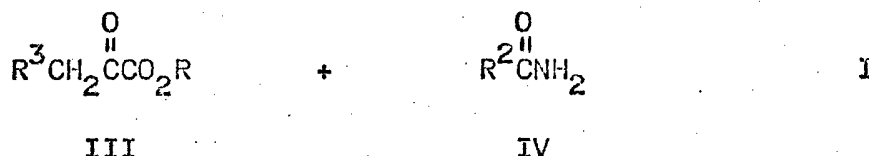
Tabelle VI

Urin-Wiedergewinnung 3 h nach der Verabreichung von N-Formimidoyl-thienamycin (5 mg/kg iv) an männliche kleine Spürhunde

<u>Testverbindung</u>	<u>% Urin-Wiedergewinnung</u>
N-Formimidoyl-thienamycin	7,8
plus Z-2-Isovaleramido-2-butensäure	46
plus Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-butensäure	53

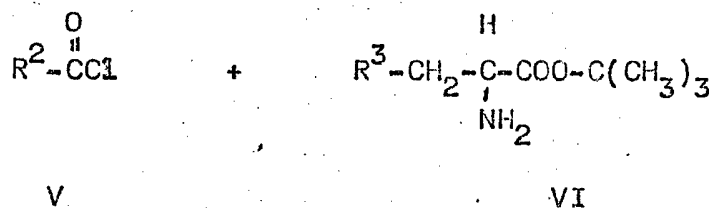
Nachfolgend wird die chemische Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen beschrieben.

Die Inhibitorverbindungen werden dadurch hergestellt, daß man direkt die entsprechende 2-Ketosäure oder Ester mit einem Amid kondensiert:



R^2 und R^3 haben die oben angegebenen Bedeutungen, während R für Wasserstoff oder Alkyl steht. Die allgemeinen Reaktionsbedingungen sehen die Vermischung von etwa 1 bis 4:1 Teilen Säure zu Amid in einem inerten Lösungsmittel, wie Toluol oder Methylisovalerat, und das Erhitzen am Rückfluß unter azeotroper Entfernung von Wasser über 3 bis 48 h, vorzugsweise 5 bis 24 h, vor. Die Lösung ergibt, wenn sie normal abgekühlt wird, das Produkt in kristalliner Form. Das Produkt kann aber auch unter Anwendung eines Basenextraktionsprozesses isoliert werden. Das Produkt kann durch allgemein bekannte Techniken umkristallisiert werden. Die Kondensationen von Ketoestern erfordern die Verwendung einer geringen Menge von p-Toluolsulfonsäure als Katalysator. Der Katalysator trägt auch für einige Kondensationen mit Keto-säuren bei.

Bei einem weiteren Weg zu den neuen Inhibitorverbindungen wird ein t-Butylester einer α -Aminosäure mit einem Säurechlorid umgesetzt:



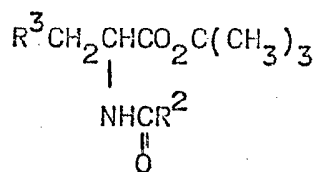
214582 - 35 -

13.2.1980

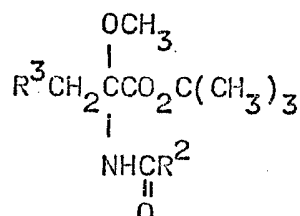
AP C 07 C/214 582

55 967/12

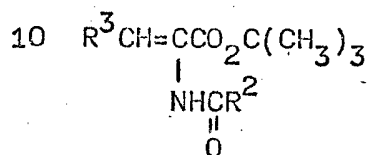
Diese Reaktion erfolgt in Gegenwart einer Base, wie Triethylamin, in einem Lösungsmittel, wie Methylenchlorid. Das resultierende, N-acylierte Produkt (VII) wird sodann durch Behandlung mit t-Butylhypochlorid oxidiert, und hierauf wird Natriummethoxid zugesetzt. Dies ergibt das 2-Methoxyderivat (VIII) und/oder sein Eliminierungsprodukt, den α,β -ungesättigten Ester (IX). Die weitere Behandlung mit wasserfreier Salzsäure wandelt entweder VIII oder IX (oder das Gemisch von beiden Substanzen) in die gewünschte α,β -ungesättigte freie Säure (II) um.



VII



VIII



IX

Einige Verbindungen, bei denen R^3 einen endständigen Substituenten, der Amino, quaternärer Stickstoff, Thioderivat, Alkoxy, Guanidino, Acyloxy oder Cyano ist, bedeutet, können sehr zweckmäßig aus einem Zwischenprodukt mit einem endständigen Bromatom hergestellt werden. Derivatisiertes Amino, wie Formamidono, Ureido oder Acylamido (Acetamido),

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

können aus den Verbindungen mit einer Aminogruppe hergestellt werden, indem man mit Benzylformimidat HCl, Kaliumcyanat und dem entsprechenden Acylanhydrid (Essigsäureanhydrid) umsetzt.

Nähere Einzelheiten über die Herstellung finden sich in den folgenden Beispielen.

Beispiel 6

Z-2-Isovaleramido-2-butensäure

Eine Lösung von 1,07 g (10,5 mMol) von 2-Ketobuttersäure und 0,71 g (7,0 mMol) Isovaleramid in 15 ml Toluol wurde am Rückfluß gerührt, wobei H_2O in einer kleinen Dean-Stark-Falle gesammelt wurde. Nach 5 h wurde die Lösung abgekühlt, woraus eine ziemlich heftige Kristallisation resultierte. Nach dem Stehenlassen wurde der Feststoff auf einem Filter gesammelt und mit Toluol und sodann mit CH_2Cl_2 gewaschen. Ausbeute an weißen Kristallen = 0,47 g Fp. 172 bis 174 °C (geringe vorläufige Erweichung). Das Material wurde aus Diisopropylketon umkristallisiert. Die TLC (4:1 Toluol-AcOH) zeigte nun eine schwache Spur des anderen Isomeren. Ausbeute an weißen Kristallen = 0,32 g (25 %), Fp. 175 °C (geringe vorläufige Erweichung). Das NMR zeigte im wesentlichen ausschließlich das Z-Isomere.

Analyse ($C_9H_{15}NO_3$)

berechnet: C 58,36 % H 8,16 % N 7,56 %

gefunden: 58,59 8,55 7,43.

214582 - 37 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Beispiel 7

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-pentensäure

Eine Lösung von 1,74 g (16 mMol) 2-Ketovaleriansäure und 1,13 g (10 mMol) 2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid in 20 ml Toluol wurde unter Rühren am Rückfluß gekocht, wobei H_2O in einer kleinen Dean-Stark-Falle gesammelt wurde. Nach 20 h wurde die Lösung abgekühlt und mit einem mäßigen Stickstoffstrom behandelt. Vor dem Verdampfen eines erheblichen Teils des Lösungsmittels wurde die Kristallisation durch Kratzen eingeleitet. Nach dem Stehenlassen wurde der Feststoff auf einem Filter gesammelt und mit Toluol und etwas Et_2O gewaschen. Ausbeute an weißen Kristallen = 0,63 g (30 %), Fp. 154,5 bis 155,5 °C (geringe vorläufige Erweichung). Die TLC (4:1 Toluol-AcOH) zeigte nur eine extrem schwache Spur des anderen Isomeren. Das NMR stand mit der Z-Konfiguration im Einklang.

Analyse ($C_{11}H_{17}NO_3$)

berechnet: C 62,53 % H 8,11 % N 6,63 %

gefunden: 62,86 8,27 6,75.

Beispiel 8

Z-2-(3-Cyclopentylpropionamido)-2-butensäure

Eine Lösung von 1,41 g (10 mMol) 3-Cyclopentylpropionamid und 1,53 g (15 mMol) 2-Ketobuttersäure wurde unter einer kleinen Dean-Stark-Falle gerührt und am Rückfluß erhitzt. Nach 8 h wurde die Lösung abgekühlt, wodurch eine heftige Kristallisation erfolgte. Der Feststoff wurde auf einem Filter gesammelt und mit Toluol und CH_2Cl_2 gewaschen.

214582 - 38 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Ausbeute an weißen Kristallen = 1,44 g, Fp. 180,5 bis 182 °C (vorläufige Erweichung). Das Material wurde aus Methylethylketon umkristallisiert. Ausbeute an weißen Nadeln = 0,63 g (28 %), Fp. 184 bis 185 °C (geringe vorläufige Erweichung). Die TLC (4:1 Toluol-AcOH) zeigte nun einen einzigen Flecken. Das NMR zeigte im wesentlichen reines Z-Isomeres.

Analyse ($C_{12}H_{19}NO_3$)

berechnet: C 63,97 % H 8,50 % N 6,22 %
gefunden: 63,99 8,67 6,27.

Beispiel 9

Z-2-(2-Ethylhexanamido)-2-butensäure

10 g 2-Ethylhexanoylchlorid wurden tropfenweise unter Rühren zu 25 ml kalter konzentrierter NH_4OH -Lösung gegeben, wodurch eine sofortige Ausfällung stattfand. Das Gemisch wurde 2 h gerührt und sodann filtriert und an der Luft getrocknet, wodurch 6,5 g des Amids erhalten wurden. 1,4 g (10 mmol) der obigen Verbindung und 1,5 g Ketobuttersäure (15 mmol) wurden in 25 ml Toluol 15 h unter Entfernung von Wasser am Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde abgekühlt und teilweise mit einem Strom von N_2 eingedampft. Die Kristallisation des Produkts erfolgte nach 3stündigem Stehenlassen. Die Kristalle wurden gesammelt, dreimal mit Toluol gewaschen und an der Luft getrocknet. Es wurden 1,13 g (50 %) Produkt, Fp. 160 bis 162 °C, isoliert. Das NMR stand im Einklang mit der zugeschriebenen Struktur und zeigte < 5 % E-Isomeres an. TLC (4:1 Toluol-AcOH) zeigte einen einzigen Flecken.

Analyse ($C_{12}H_{21}NO_3$)

berechnet: C 63,40 % H 9,30 % N 6,16 %
gefunden: 63,63 9,43 5,88.

214582

- 39 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Beispiel 10

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensäure

1,53 g (15 mmol) 2-Ketobuttersäure, 1,13 g (10 mmol) 2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid und 20 ml Toluol wurden 10 h am Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der auskristallisierte Feststoff abfiltriert und mit Toluol (3 x 10 ml) gewaschen und getrocknet, wodurch 1,06 g Produkt, Fp. 140 bis 141 °C, erhalten wurden. TLC (4:1, Toluol-AcOH) zeigte im wesentlichen einen Flecken, und das NMR-Spektrum stimmte mit der gewünschten Struktur überein.

Die Umkristallisation aus EtOAc lieferte nach dem Trocknen 0,533 g des Produktes, Fp. 142 bis 143,5 °C. Die TLC-Analyse zeigte, daß dieses homogen war.

Analyse ($C_{10}H_{15}NO_3$)

berechnet: C 60,90 % H 7,67 % N 7,10 %

gefunden: 60,92 7,71 7,38.

Beispiel 11

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexendisäure

Ein Gemisch aus 1,0 g 2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid, 2,4 g 2-Ketoadipinsäure und 25 ml Methylisovalerat wurde 4 h am Rückfluß erhitzt, wobei H_2O durch eine modifizierte Dean-Stark-Falle entfernt wurde, die Molekularsiebe (4A) enthielt. Nach Stehenlassen bei Raumtemperatur über Nacht wurde der kristalline Niederschlag filtriert, mit Ether gewaschen und aus Ethylacetat umkristallisiert, wodurch 0,23 g Produkt, Fp. 163 bis 165 °C, erhalten wurden. Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

214502

- 40 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Analyse ($C_{12}H_{17}NO_5$)

berechnet: C 56,46 % H 6,71 % N 5,49 %

gefunden: 56,20 6,83 5,32.

Beispiel 12

Z-2-(2,2-Diethylcyclopropancarboxamido)-2-butensäure

Ein Gemisch aus 2,3 g 2-Ketobuttersäure, 2,0 g 2,2-Diethylcyclopropancarboxamid und 25 ml Toluol wurde 16 h am Rückfluß erhitzt, wobei H_2O mit einer modifizierten Dean-Stark-Falle entfernt wurde, die Molekularsiebe (4A) enthielt. Nach dem Abkühlen fiel kein Produkt aus. Ether (25 ml) wurde zugesetzt, und das Gemisch wurde mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung (dreimal) extrahiert. Die kombinierten Extrakte wurden mit konz. HCl angesäuert. Der gummiartige Niederschlag kristallisierte beim Verrühren mit Wasser. Die Umkristallisation aus Ethylacetat lieferte 0,31 g Produkt, Fp. 129 bis 130 °C. Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse ($C_{12}H_{19}NO_3$)

berechnet: C 63,98 % H 8,50 % N 6,22 %

gefunden: 64,01 8,62 6,21.

Beispiel 13

2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexensäure

Stufe A: DL-Norleucin-t-butylester

Allgemeine Verfahrensweise von R. Roeske, J. Org. Chem. 28, 1251 (1963).

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

214502 - 41 -

Zu einer Suspension von 9,82 g (75 mMol) DL-Norleucin in 80 ml Dioxan in einer 500-ml-Druckflasche, die in einem Eisbad gekühlt war, wurden langsam (unter Umschwenken) 8 ml konz. H_2SO_4 gegeben. Das resultierende Gemisch wurde in einem Trockeneisbad gekühlt, und 80 ml flüssiges Isobutylen wurden zugesetzt. Man ließ das Gemisch sich auf Raumtemperatur erwärmen und schüttelte es unter autogenem Druck etwa 23 h. Nachdem der größte Teil des Isobutylen abgelaassen worden war, wurde die leicht trübe Lösung in Eis abgekühlt und hierauf zu einem kalten Gemisch von 400 ml 1N NaOH und 500 ml Et_2O gegeben. Nach Schütteln in einem Scheidetrichter wurden die Schichten voneinander getrennt, und die wäßrige Fraktion wurde mit weiteren 100 ml Et_2O gewaschen. Die Et_2O -Lösung wurde mit 150 ml 0,5N HCl geschüttelt. Die saure, wäßrige Fraktion wurde mit 2,5 N NaOH behandelt, bis sie stark basisch war, und sodann mit 250 ml Et_2O geschüttelt. Die Et_2O -Lösung wurde getrocknet (MgSO_4), filtriert und auf einem Drehverdampfer konzentriert. Nach verlängertem Pumpen im Hochvakuum über einem Dampfbad betrug die Endausbeute an einem klaren, farblosen, zurückbleibenden Öl 9,04 g (65 %). Das NMR zeigte nur eine Spur von Dioxan. TLC (9:1 CHCl_3 -MeOH) zeigte einen einzigen Flecken.

Stufe B: N-(2,2-Dimethylcyclopropancarbonyl)-DL-norleucin-t-butylester

Zu einer Lösung von 8,98 g (48 mMol) DL-Norleucin-t-butylester und 5,05 g (50 mMol) Triethylamin in 100 ml CH_2Cl_2 , die in einem Eisbad unter einem Trockenrohr gerührt wurde, wurde tropfenweise (im Verlauf von 75 min) eine Lösung von

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

214582 - 42 -

6,39 g (48 mMol) 2,2-Dimethylcyclopropanecarbonylchlorid [GB-PS 1 260 847] in 50 ml CH_2Cl_2 zugegeben. Die Ausfällung von $\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$ erfolgte während der Zugabe und insbesondere in Richtung auf das Ende. Beim allmählichen Schmelzen des Eises ließ man das Gemisch sich auf Raumtemperatur erwärmen. Nach 16 h wurde das Gemisch mit 200 ml 0,5N HCl geschüttelt. Die CH_2Cl_2 -Fraktion wurde mit weiteren 200 ml 0,5N HCl, hierauf mit 2 x 200 ml 0,5N NaOH und schließlich mit 200 ml Wasser gewaschen. Die CH_2Cl_2 -Fraktion wurde mit MgSO_4 getrocknet, mit Holzkohle behandelt und durch Celite filtriert. Das Filtrat wurde auf einem Drehverdampfer (am Schluß unter Hochvakuum) konzentriert. Ausbeute an hell-orangem, zurückbleibendem Öl = 11,93 g (88 %). Das TLC (2:1 Hexan-EtOAc) zeigte einen einzigen Flecken. Das NMR- und das IR-Spektrum standen mit der zugeschriebenen Struktur im Einklang. Nach mehrtägigem Stehenlassen kristallisierte der nichtverwendete Teil dieses Materials, Fp. 52 bis $>65^\circ\text{C}$.

Stufe C: t-Butyl-2-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-methoxyhexanoat

Nach der Verfahrensweise von H. Poisel und V. Schmidt, Chem. Ber., 108, 2547 (1975).

Zu einer Lösung von 6,37 g (22,5 mMol) N-(2,2-Dimethylcyclopropanecarbonyl)-DL-norleucin-t-butylester in 35 ml Et_2O , gerührt bei Raumtemperatur unter N_2 im Dunkeln, wurden 2,69 ml (2,45 g, 22,5 mMol) t-Butylhypochlorit gegeben. Nach 15 min wurde eine Lösung von Natriummethoxid, hergestellt durch Auflösen von 0,52 g (22,6 mMol) Natrium in 35 ml MeOH, zugesetzt. Unter N_2 wurde im Dunkeln bei Um-

214502 - 43 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

gebungstemperatur weitergerührt. Nach 16,5 h wurde das ausgefällte NaCl abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Et₂O verdünnt und nacheinander mit 3 x 50 ml 0,5N HCl, 50 ml gesättigter Na₂CO₃-Lösung und 2 x 50 ml Wasser gewaschen. Die Et₂O-Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Filtrat wurde auf einem Drehverdampfer konzentriert. Das helle, goldgelbe, zurückbleibende Öl (6,45 g) wurde einer präparativen Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie unterworfen, wodurch 273 mg und 496 mg der zwei Diastereomeren von t-Butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-methoxyhexanoat (jeweilige Fp-Punkte 114 bis 118 ° und 124 bis 125,5 °) sowie 1,97 g eines einzigen Isomeren (offenbar Z) von t-Butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexenoat (farbloses Öl) erhalten wurden.

Stufe D: 2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexensäure

Eine Lösung von 0,84 g (3,0 mmol) t-Butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexenoat in 10 ml Et₂O, gesättigt mit wasserfreiem HCl, wurde bei Raumtemperatur unter einem Trockenrohr stengelassen. Nach 17 h wurde die Lösung eingedampft, und der zurückgebliebene Gummi wurde in 10 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung aufgelöst. Diese Lösung wurde mit weiteren 15 ml 0,5N HCl gewaschen, sodann getrocknet (MgSO₄), filtriert und konzentriert, wodurch ein viskoses Öl erhalten wurde. Das Öl wurde aus Toluol kristallisiert. Ausbeute an weißen Kristallen = 0,32 g (47 %), Fp. 119 bis 122 °C. Das TLC (4:1 Toluol-AcOH) zeigte einen einzigen Flecken. Das NMR zeigte im wesentlichen reines Z-Isomeres an. [Bemerkung: Die Behandlung des Methanoladduktes, t-Butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-methoxyhexenoat, mit wasserfreiem HCl in Et₂O unter ähnlichen Bedingungen lieferte das gleiche Produkt.]

214502 - 44 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Beispiel 14

(+)-Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxylamido)-2-octensäure,
Natriumsalz

Die Reagenzien, (+)-2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid, 7,0 g; 2-Keto-octansäure-ethylester, 14,7 g; 50 mg p-Toluolsulfonsäure; und 100 ml Toluol, wurden in einen 250 ml-Dreihalskolben unter einer Dean-Stark-Falle eingebracht, der mehrere Molekularsiebpellets enthielt. Das Gemisch wurde 27 h heftig am Rückfluß erhitzt. Die resultierende hellgelbe Lösung wurde abgekühlt und im Vakuum bei einer Wasserbadtemperatur von 45 °C und in Gegenwart von Wasser, um die Entfernung von Toluol zu unterstützen, konzentriert. Der gummiartige Rückstand wurde in 230 ml 2N NaOH suspendiert und 3 h bei 30 °C gerührt. Sodann wurde die Temperatur weitere 2,5 h auf 35 °C erhöht, bis sich eine klare Lösung bildete. Die Lösung wurde sodann abgekühlt, mit 85 ml Methylenchlorid versetzt, und der pH-Wert wurde mit 4N HCl unter Rühren auf 8,5 eingestellt. Die organische Schicht wurde abgetrennt und verworfen. Die wäßrige Schicht (366 ml) wurde durch Flüssigkeitschromatographie analysiert, wobei festgestellt wurde, daß sie 37,2 mg/ml, 87 % Z-Isomeres enthielt. Ein weiterer 85-ml-Teil des CH₂Cl₂ wurde sodann zugesetzt, und der pH-Wert wurde unter Rühren auf 4,5 eingestellt. Die organische Schicht wurde abgetrennt, und die wäßrige Schicht wurde mit 50 ml CH₂Cl₂ re-extrahiert, wobei der pH-Wert erneut auf 4,5 eingestellt wurde. Die kombinierten organischen Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und zu einem Gummi konzentriert. Dieser Rückstand wurde in 150 ml Isopropanol und 15 ml Wasser aufgelöst, und der pH-Wert wurde mit 2N NaOH auf 8,2 ein-

214502 - 45 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

gestellt. Die resultierende Lösung wurde zu einem öligen Rückstand konzentriert, der mit Isopropanol gespült wurde, bis er sich zu einem kristallinen Feststoff umwandelte, was anzeigte, daß der größte Teil des Wassers entfernt worden war. Das Produkt wurde aus 120 ml Isopropanol (in Eis während 1 h gekühlt) kristallisiert, filtriert und mit 50 ml kaltem Isopropanol gewaschen und sodann mit reichlichen Mengen von Aceton. Das Produkt wurde bei 60 °C/0,1 mm/2h getrocknet, wodurch 10,74 g (63,2 %) kristallines Material erhalten wurden, das bei der Flüssigkeitschromatographie im wesentlichen einen einzigen Peak zeigte, Fp. 241 bis 243 °C

Das Ausgangsmaterial, (+)-2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid, wird am zweckmäßigsten durch Auflösung der D,L-Säure und anschließende Umsetzung mit Oxalylchlorid und hierauf mit Ammoniak, wodurch das aufgelöste Amid erhalten wird, hergestellt.

Ein Herstellungsweg des Ausgangsmaterials ist wie folgt: 23,1 g D,L-2,2-Dimethylcyclopropancarbonsäure wurden in 33 ml Wasser suspendiert, und der pH-Wert wurde unter Verwendung von etwa 10 ml 50%iger NaOH auf 8,0 eingestellt. Hierzu wurde eine Lösung von 38,4 g Chinin in einem Gemisch aus 60 ml Methanol und 30 ml Wasser gegeben, zu dem etwa 8 ml konz. HCl in weiteren 30 ml Wasser unter Erhalt eines pH-Wertes von 7,1 gegeben worden waren (dies stellte tatsächlich eine Lösung von Chininhydrochlorid dar).

Diese Lösungen wurden auf einmal unter Rühren zugesetzt. Das gummiartige, kristalline Material, das sich gebildet hatte, wurde erhitzt, wodurch zwei klare Schichten erhalten wurden, und erneut heftig unter Abkühlen gerührt, wodurch

214502

- 46 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

ein kristallines Produkt erhalten wurde. Dieses Produkt wurde 2 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen, Es wurde sodann filtriert, mit 2 x 10 ml Wasser und 2 x 10 ml 50%igem Methanol gewaschen und unter Saugen an der Luft getrocknet. Die Ausbeute an rohem Chininsalz betrug 44,8 g (48,7 % Ausbeute) Monohydrat, Fp. 113 bis 116 °C, mit $[\alpha]_D^{20} = -94,3^\circ$, $C = 1,0$; CHCl_3 . Dieses Material wurde aus Aceton umkristallisiert, wodurch 24,35 g, Fp. 127 bis 130 °C erhalten wurden. Dieses gereinigte Chininsalz wurde in die Säure durch Umsetzung mit wäßriger Base und Chlorkoform und anschließende Behandlung mit Säure umgewandelt. Es wurden 3,9 g (96 %) Produkt $[\alpha]_D^{20} = +146,0^\circ$ erhalten.

Diese Säure wurde wie folgt in das Amid umgewandelt: Eine Charge von 30,5 g (+)-Säure wurde im Verlauf von 5 bis 10 min durch einen Tropftrichter zu gekühltem (10 °C) Oxalylchlorid, 54 ml, das 1 Tropfen Dimethylformamid enthielt, gegeben. Das Gemisch wurde über Nacht bei Umgebungstemperatur gerührt. Es wurde eine klare Lösung erhalten, die zu 100 ml Methylenchlorid zur Verdünnung gegeben wurde. Überschüssiges Oxalylchlorid wurde durch Konzentrieren entfernt, und das Gemisch wurde zweimal mit Methylenchlorid gespült.

Die resultierende Lösung wurde mit einem gleichen Volumen an Methylenchlorid verdünnt und kontinuierlich durch einen Tropftrichter zu etwa 100 ml wasserfreiem, flüssigem Ammoniak gegeben, das mit 100 ml Methylenchlorid verdünnt war. Ein Trockeneis-Aceton-Kühlbad wurde während der Zugabe verwendet. Nachdem alles zugegeben worden war, wurde das Kühlbad weggenommen, und das Gemisch wurde etwa 1/2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde filtriert, um

214582

- 47 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

ausgefälltes Ammoniumchlorid zu entfernen, und zur Trockne konzentriert. Das Rohgewicht betrug 26,6 g (88 %). Das Produkt wurde in überschüssigem, heißem Ethylacetat wieder aufgelöst und durch einen vorerhitzten Sinterglastrichter filtriert, um Spuren von NH_4Cl abzutrennen. Überschüssiges Ethylacetat wurde unter Atmosphärendruck abdestilliert. Als das halbe Volumen zurückgeblieben war, wurden 130 ml Heptan zugesetzt, und das Ethylacetat wurde weiter abdestilliert, bis der Siedepunkt anzusteigen begann (auf nahezu 80°C , wobei ein großer Teil des Produkts sich bereits auskristallisiert hatte). Das Erhitzen wurde unterbrochen, und das Gemisch ließ man sich allmählich auf etwa 30°C abkühlen. Sodann wurde es in einem Eisbad auf 0 bis 5°C während etwa $\frac{1}{2}$ h gekühlt. Das Produkt wurde in Form von hübschen, silberweißen Kristallflocken erhalten. Es wurde mit 3 x Ethylacetat/Hexan-Gemisch, 1/1,5, gewaschen und an der Luft zum konstanten Gewicht getrocknet. Das Gewicht betrug 23,3 g (77,1 %) Gesamtausbeute, 87,6 % Ausbeute aus dem Rohprodukt), Fp. 135 bis 138°C (variiert entsprechend der Erhitzungsgeschwindigkeit). Der Drehwinkel wurde bestimmt, indem 0,0543 g in 10 ml Chloroform aufgelöst wurden; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +100,9^\circ$.

Beispiel 15

Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamido)-2-butensäure

Stufe A: 2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid

Eine 7,1 g-Probe von 2,2-Dichlorcyclopropancarbonylchlorid (US-PS 3 301 896) wurde tropfenweise zu 75 ml konz. Ammoniumhydroxidlösung unter heftigem Rühren gegeben. Die Temperatur des Reaktionsgemisches wurde in einem Eisbad bei unterhalb 10°C gehalten. Das Gemisch wurde 30 min in einem

214502 - 48 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Eisbad und dann 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das wäßrige Ammoniak wurde bei vermindertem Druck abgedampft (Badtemperatur etwa 50 °C). Der feste Rückstand wurde mit heißem Ethylacetat (3 x 30 ml) extrahiert. Die Extrakte wurden auf 40 ml eingeeengt und mit 20 ml Hexan versetzt. Nach dem Abkühlen in Eis wurde der Feststoff abfiltriert, mit Ethylacetat-Hexan (1:1) gewaschen und getrocknet, wodurch 2,7 g 2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid, Fp. 144 bis 146 °C, erhalten wurden. Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse ($C_{12}H_5Cl_2NO$)

berechnet: C 31,20 % H 3,27 % N 9,10 % Cl 46,04 %

gefunden: 31,26 3,31 9,11 45,79.

Weitere 1,3 g Amid, Fp. 143 bis 145 °, könnten aus der Mutterlauge erhalten werden.

Stufe B: Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid)-2-butensäure

Ein Gemisch von 1,53 g (15 mMol) 2-Ketobuttersäure, 1,54 g (10 mMol) 2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid und 10 ml Toluol wurde 12 h am Rückfluß erhitzt, wobei das Wasser in einer modifizierten Dean-Stark-Falle entfernt wurde, die Molekularsiebe (4A) enthielt. Weitere 0,7 g 2-Ketobuttersäure wurden zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde weitere 12 h am Rückfluß erhitzt. Das Gemisch wurde abgekühlt, mit 20 ml Toluol verdünnt und mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (3 x 10 ml) extrahiert. Die Extrakte wurden kombiniert, mit Ether gewaschen und auf einen pH von 3 (pH-Meter) mit konz. Salzsäure angesäuert. Ein Gummi fiel aus, der sich bald

214582 - 49 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

verfestigte. Das Produkt wurde filtriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Nitromethan umkristallisiert, wodurch 423 mg Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid)-2-butensäure, Fp. 188 bis 189,5 °C, erhalten wurden. Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse ($C_8H_9Cl_2NO_3$)

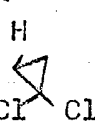
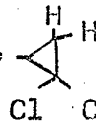
berechnet: C 40,36 % H 3,81 % N 5,88 % Cl 29,78 %

gefunden: 40,48 3,80 5,91 29,53.

Beispiel 16

Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamido)-2-octensäure

Ein Gemisch von 1,19 g (7,5 mMol) 2-Ketooctansäure, 0,77 g (5,0 mMol) 2,2-Dichlorcyclopropancarboxamid und 5 ml Toluol wurde wie im vorstehenden Beispiel umgesetzt. Das Rohprodukt (537 g) wurde durch Umwandlung in den Methylester (BF_3/CH_3OH), präparative TLC (Silikagel G, 4:1 Hexan-EtOAc) und Verseifung des reinen Z-Methylesters (0,3 M LiOH/ CH_3OH) gereinigt, wodurch 88 mg Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamido)-2-octensäure als teilweise kristalliner Gummi erhalten wurden. NMR-Spektrum ($DMSO-d_6$): δ 9,68 (s, 1H, NH), 6,50 δ (t, 1H, = H), 2,83 δ (t, 1H

δ 1,97 (d, 2H, , 1,97 δ (d, 2H, , 0,87 δ (t, 3H, CH_3).

Beispiel 17

Z-8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure

Zu einer Suspension aus 14,4 g (0,3 Mol) einer 50%igen NaH-Dispersion in 350 ml Toluol, gekühlt in einem Eisbad und in einer N_2 -Atmosphäre, wurde im Verlauf von 45 min

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

214582 - 50 -

eine Lösung aus 146 g (0,6 Mol) 1,6-Dibromhexan und 57,6 g (0,3 Mol) Ethyl-1,3-dithian-2-carboxylat in 120 ml DMF gegeben. Das Kühlbad wurde weggenommen, und das Gemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (3 x 120 ml) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingedampft, wodurch 179,5 g eines gelben Öls erhalten wurden, das das gewünschte anhydratisierte Dithian, 1,6-Dibromhexan und Mineralöl enthielt. Dieses Rohmaterial wurde in der nächsten Reaktion ohne Reinigung verwendet.

Zu einer Suspension von 426 g (2,4 Mol) N-Bromsuccinamid in 800 ml Acetonitril und 200 ml Wasser wurde im Verlauf von 45 min eine Lösung des rohen Dithians in 100 ml Acetonitril gegeben. Die Temperatur des Reaktionsgemisches wurde unterhalb 25°C mit einem Eisbad gehalten. Nach 10minütigem Rühren bei 20°C wurde das dunkelrote Reaktionsgemisch in 2 l Hexan- CH_2Cl_2 (1:1) gegossen. Die Lösung wurde mit gesättigter NaHSO_3 -Lösung (2 x 400 ml) und Wasser (1 x 500 ml) geschüttelt. Sodann wurden 400 ml gesättigte Na_2CO_3 -Lösung in kleinen Portionen zugesetzt (heftige CO_2 -Lösung). Nach Aufhören des Schäumens wurde der Trichter geschüttelt, und die wäßrige Phase wurde abgetrennt. Die organische Schicht wurde mit gesättigter Na_2CO_3 -Lösung (400 ml) und Wasser (500 ml) extrahiert und über MgSO_4 getrocknet. Die Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck lieferte 133,8 g rohen Bromketoester, enthaltend 1,6-Dibromhexan und Mineralöl. Dieses Rohmaterial wurde in der nächsten Reaktion ohne Reinigung verwendet.

Ein Gemisch aus 133,8 g rohem Bromketoester, 133 ml 50%iger Bromwasserstoffsäure und 267 ml Essigsäure wurde

214582 - 51 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

auf 90 °C (Innentemperatur) während 75 min erhitzt. Die dunkle Lösung wurde unter vermindertem Druck eingedampft, bis der größte Teil der Essigsäure entfernt worden war. Der Rückstand wurde in 500 ml Ether aufgelöst, mit Wasser (2 x 100 ml) gewaschen und mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (3 x 200 ml) extrahiert. Die kombinierten NaHCO_3 -Extrakte wurden mit Ether (2 x 100 ml) extrahiert und mit konz. HCl angesäuert. Das ausgefällte Öl wurde mit Ether (3 x 200 ml) extrahiert. Die Etherextrakte wurden mit Wasser (1 x 100 ml) und gesättigter Kochsalzlösung (1 x 100 ml) gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Die Entfernung des Ethers bei vermindertem Druck lieferte 46,2 g reine Bromketosäure. Homogen durch TLC (Silikagel, 4:1 Toluol-Essigsäure). Das NMR-Spektrum stand mit dem gewünschten Produkt im Einklang.

Ein Gemisch von 46,1 g (0,194 Mol) Bromketosäure, 17,6 g (0,156 Mol) 2,2-Dimethylcyclopropancarboxamid und 450 ml Toluol wurde 13 h am Rückfluß erhitzt, wobei das Wasser in einer kleinen Dean-Stark-Falle gesammelt wurde. Nach dem Abkühlen wurde das klare Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (4 x 100 ml) extrahiert. Die kombinierten Extrakte wurden mit Ether (2 x 100 ml) gewaschen, und sodann wurde der pH-Wert auf 3,5 (pH-Meter) durch Zugabe von konz. HCl eingestellt. Es fiel ein Öl aus, das bald kristallisierte. Der Feststoff wurde filtriert, gut mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die Umkristallisation aus Acetonitril ergab 22,5 g Z-8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure, Fp. 151 bis 153 °C. Homogen durch TLC (4:1 Toluol Essigsäure). Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

214502 - 52 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Analyse ($C_{14}H_{22}BrNO_3$)

berechnet: C 50,61 % H 6,67 % N 4,22 % Br 24,05 %

gefunden: 50,66 6,96 4,45 23,95.

Nach der gleichen Verfahrensweise wurden die folgenden ω -Bromverbindungen hergestellt:

Z-6-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-hexensäure;
Z-7-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-heptensäure;
Z-9-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-nonensäure;
Z-10-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-decensäure;
Z-8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-octensäure.

Beispiel 18

Z-8-Dimethylamino-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure

Eine Lösung von 664 mg (2 mmol) Z-8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure in 10 ml 40%iger wäßriger Dimethylamino-Lösung wurde 4 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Die Lösung wurde auf eine 3,5 x 20 cm Säule von Dowex 50W-x8 (100 bis 200 Mesh, H^+) mit einem Ionenaustauscherharz gegossen, und die Säule wurde mit Wasser eluiert, bis der Abstrom nicht länger sauer war (~ 200 ml). Die Säule wurde sodann mit 300 ml 2N Ammoniumhydroxid eluiert. Der Abstrom wurde bei vermindertem Druck abgedampft, wodurch 600 mg eines farblosen Glases erhalten wurden. Dieses Material wurde in 3 ml Ethanol aufgelöst, filtriert und tropfenweise zu 200 ml rasch gerührtem Aceton gegeben. Es fiel ein gummiartiger Feststoff aus, der sich nach zweitägigem Rühren kristallisierte. Der Feststoff wurde filtriert, mit Aceton gewaschen und getrocknet, wodurch

214502 - 53 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

445 mg Z-8-Dimethylamino-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensäure als farblose, hygroskopische Kristalle, Fp. 101 bis 112 °C, erhalten wurden. Homogen durch TLC (Silikagel, in BuOH, HOAc, H₂O 4:1:1). Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse (C₁₆H₂₈N₂O₃·H₂O)

berechnet: C 61,12 % H 9,62 % N 8,91 %

gefunden: 61,03 9,28 8,67.

Die folgenden 8-Aminoderivate wurden im wesentlichen nach der gleichen Verfahrensweise hergestellt. "DCC" bedeutet 2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido).

- Z-10-Dimethylamino-DCC-2-decensäure;
- Z-8-Amino-DCC-2-octensäure;
- Z-8-Dimethylamino-DCC-2-octensäure;
- Z-7-Dimethylamino-DCC-2-heptensäure;
- Z-DCC-7-(N-methylpiperazinyl)-2-heptensäure;
- Z-DCC-8-pyrrolidino-2-octensäure;
- Z-DCC-8-(N-methylpiperazinyl)-2-octensäure;
- Z-8-Allylamino-DCC-2-octensäure;
- Z-DCC-8-piperidino-2-octensäure;
- Z-DCC-8-propargylamino-2-octensäure;
- Z-8-N-[1-Deoxy-(1-methylamino)-D-glucityl]-DCC-2-octensäure;
- Z-8-(1-Adamantylamino)-DCC-2-octensäure;
- Z-8-Diallylamino-DCC-2-octensäure;
- Z-8-DCC-8-(2-hydroxyäthylmethylamino)-2-octensäure;
- Z-8-[(Carboxymethyl)-methylamino]-2-(2,2-DCC)-2-octensäure;

214502 - 54 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Z-2-(2,2-DCC)-8-diethylamino-2-octensäure;

Z-2-(2,2-DCC)-8-[tris-(hydroxymethyl)-methylamino]-2-octensäure;

Z-2-(2,2-DCC)-10-(N-methylpiperaziny)-2-decensäure;

Z-2-(2,2-DCC)-8-[1-(phosphono)-ethylamino]-2-octensäure.

Beispiel 19

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methylthio-2-octensäure

Man ließ einen Strom von CH_3SH -Gas durch eine Lösung von 162 mg (3 mMol) Natriummethoxid in 5 ml Methanol während 10 min unter Kühlen in einem Eisbad perlen, ließ die Lösung sich auf Raumtemperatur erwärmen und versetzte sie mit 332 mg (1 mMol) Z-8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure. Die Lösung wurde unter Rückfluß 30 min in einer N_2 -Atmosphäre erhitzt. Der größte Teil des Methanols wurde bei vermindertem Druck abgedampft, und der Rückstand wurde in 10 ml H_2O gelöst und mit 2,5N HCl angesäuert. Das ausgefällte Öl wurde mit Ether (3x) extrahiert. Die Etherextrakte wurden mit Wasser, gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Die Entfernung des Ethers bei vermindertem Druck lieferte ein farbloses Öl, das beim Stehenlassen kristallisierte. Das Produkt wurde aus Ether-Hexan umkristallisiert, wodurch 178 mg Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methylthio-2-octensäure, Fp. 82 bis 84 °C, erhalten wurden. Homogen durch TLC (Toluol-Essigsäure, 4:1). Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{S}$)

berechnet: C 60,18 % H 8,42 % N 4,68 % S 10,69 %

gefunden: 60,36 8,68 4,59 10,87.

Die folgenden Verbindungen wurden nach ähnlichen Methoden hergestellt. "DCC" bedeutet 2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido).

Z-DCC-8-ethoxythiocarbonylthio-2-octensäure;
Z-DCC-8-(1-methyl-5-tetrazolylthio)-2-octensäure;
Z-DCC-7- {[methoxycarbonyl]-methyl}-thio-2-heptensäure;
Z-8-Acetylthio-DCC-2-octensäure;
Z-7-[(2-Amino-2-oxoäthyl)-thio]-DCC-2-heptensäure;
6-(L-2-Amino-2-carboxyäthylthio)-2-(2,2-DCC-2-hexensäure;
Z-8-(Carbomethoxymethylthio)-2-(2,2-DCC)-2-octensäure;
Z-6-(Carbomethoxymethylthio)-2-(2,2-DCC)-2-hexensäure;
Z-2-(2,2-DCC)-6-(phosphonomethylthio)-2-hexensäure.

Beispiel 20

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-8-trimethyl-
ammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz

Eine Lösung von 996 mg (3 mmol) Z-8-Brom-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensäure in 15 ml 25%igem wäßrigem Trimethylamin wurde 3 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wurde auf eine 2 x 25 cm Säule von IRA-410 (50 bis 100 Mesh) OH⁻) Ionenaustauscherharz gegossen und mit Wasser eluiert, bis der Abstrom nicht länger basisch war. Der Abstrom wurde dann bei vermindertem Druck verdampft, wodurch 800 mg eines farblosen Glases erhalten wurden. Dieses Material wurde in 20 ml Ethanol aufgelöst, filtriert und mit 600 ml Aceton verdünnt. Nachdem das Gemisch über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen worden war, wurde der abgeschiedene, kristalline Feststoff

214502 - 56 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

abfiltriert, mit Aceton gewaschen und getrocknet, wodurch 720 mg Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-trimethylammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz in Form von hygroskopischen Kristallen, Fp. 220 bis 222 °C, erhalten wurden. Homogen durch TLC (Silikagel, in BuOH, HOAc, H₂O, 4:1:1). Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse (C₁₇H₃₀N₂O₃)

berechnet: C 65,77 % H 9,74 % N 9,02 %

gefunden: 65,78 9,98 8,92.

Andere quaternäre Derivate wurden im wesentlichen nach der gleichen Verfahrensweise hergestellt. Es handelte sich um:

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-trimethylammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-pyridiniumhydroxid-2-octensäure;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-(2-Hydroxyethyl)dimethylammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-10-trimethylammoniumhydroxid-2-decensäure-inneres Salz;

Z-8-(Benzyl)dimethylammoniumhydroxid-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure-inneres Salz;

Z-10-(Benzyl)dimethylammoniumhydroxid-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-decensäure-inneres Salz;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-9-trimethylammoniumhydroxid-2-nonensäure-inneres Salz;

Z-8-(2-Dimethylaminoethyl)dimethylammoniumhydroxid-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure-inneres Salz;

Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropancarboxamido)-8-trimethylammoniumhydroxid-2-octensäure-inneres Salz.

214502 - 57 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Beispiel 21

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-formamidino-2-octensäure

Eine 350 mg-Probe von Z-8-Amino-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure wurde in 10 ml Wasser aufgelöst, und der pH-Wert wurde mit 2,5N NaOH auf 8,5 eingestellt. Insgesamt 947 mg Benzylformimidat-hydrochlorid wurden bei Raumtemperatur in kleinen Portionen im Verlauf von 20 min zugesetzt, während der pH-Wert bei 8 bis 9 durch Zugabe von 2,5N NaOH gehalten wurde. Nach 30minütigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das trübe Reaktionsgemisch mit Ether (3x) extrahiert und auf eine 2 x 2,5 cm Säule von G50W-X4 (Na^+ , 200 bis 400 Mesh) Harz aufgegeben. Nach der Elution mit Wasser wurden die das Produkt enthaltenden Fraktionen gesammelt und bei vermindertem Druck eingedampft. Dieses Material wurde in Wasser aufgelöst und auf eine 2 x 25 cm-Säule aus GLX8 (HCO_3^- , 200 bis 400 Mesh) Harz aufgebracht. Nach der Elution mit Wasser wurden die das reine Produkt enthaltenden Fraktionen gesammelt und bei vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in einigen wenigen ml warmem Ethanol aufgelöst, filtriert und tropfenweise zu 200 ml Ether unter raschem Rühren gegeben. Das Filtrieren und Waschen mit Ether lieferte 243 mg Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-formamidino-2-octensäure in Form eines amorphen Feststoffes. Homogen durch TLC (n-BuOH, HOAc, H_2O , 4:1:1). Das NMR-Spektrum stand mit der gewünschten Struktur im Einklang.

Analyse ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$)

berechnet: C 59,69 % H 8,59 % N 13,92 %

gefunden: 60,04 8,64 13,57.

Die folgenden Amidinoverbindungen wurden nach ähnlichen Verfahrensweisen hergestellt:

Z-8-Acetamidino-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure;

Z-8-Benzylamidino-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-10-formamidino-2-decensäure;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-(2-imidazolyl-2-yl-amino)-2-octensäure.

Beispiel 22

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-guanidino-2-octensäure

Zu einer Lösung von 2 mMol Guanidin (hergestellt aus 432 g Guanidinsulfat und 630 mg Bariumhydroxid-octahydrat) in 7 ml Wasser wurden 332 mg (1 mMol) 8-Brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-octensäure zugesetzt, und die Lösung wurde 1 h bei 70 °C in Stickstoffatmosphäre erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf eine 2 x 25 cm Säule von Dowex 50W-X8 (H⁺, 100 bis 200 Mesh) aufgebracht. Nach der Eluierung mit Wasser wurden die das Produkt enthaltenden Fraktionen gesammelt und bei vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in mehreren ml warmem Ethanol aufgelöst und tropfenweise zu 100 ml Ether unter raschem Rühren zugegeben. Das Filtrieren und Waschen mit Ether lieferte 107 mg Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-guanidino-2-octensäure in Form eines amorphen, elektrostatischen Pulvers. Homogen durch TLC (n-BuOH, HOAc, H₂O, 4:1:1).

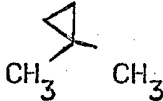
214502 - 59 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

NMR (D_2O , NaOD): 6,48 δ (T, 1H, =^H), 3,10 δ (M, 2H, CHN-),

2,10 δ (M, 2H, =^{CH₂}), 1,17 δ (S, 3H, ).

Die folgende Guanidinoverbindung wurde nach der gleichen
Verfahrensweise hergestellt:

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-(N,N-dimethyl-
guanidino)-2-octensäure.

Beispiel 23

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methyl-2-
octensäure

Zu einer Lösung von 2,43 mMol Natriummethoxid in 5 ml
Methanol gab man 332 mg (1 mMol) 8-Brom-2-(2,2-dimethyl-
cyclopropancarboxamido)-2-octensäure. Die Lösung wurde 1 h
in einer Stickstoffatmosphäre am Rückfluß erhitzt. Das
Reaktionsgemisch wurde bei vermindertem Druck eingedampft,
der Rückstand wurde in Wasser aufgelöst und mit 2,5N Salz-
säure angesäuert. Das ausgefällte Öl wurde mit Ether (3x)
extrahiert. Die Etherextrakte wurden mit Wasser und ge-
sättigter Kochsalzlösung gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet.
Die Entfernung des Ethers bei vermindertem Druck lieferte
ein farblöses Öl, das nach dem Stehenlassen kristallisierte.
Es wurde aus Ether-Hexan umkristallisiert, wodurch 140 mg
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methoxy-2-
octensäure, Fp. 71 bis 72 °C, erhalten wurden. Homogen durch
TLC (Toluol-HOAc, 4:1). Das NMR-Spektrum stand mit der
gewünschten Struktur im Einklang.

214502

- 60 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

Analyse ($C_{15}H_{25}NO_4$)

berechnet: C 63,58 % H 8,89 % N 4,94 %

gefunden: 63,54 9,12 5,16.

Nach ähnlichen Verfahrensweisen wurden die folgenden Verbindungen hergestellt:

Z-8-Cyano-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure;

Z-7-Cyano-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-heptensäure;

Z-9-Cyano-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-nonensäure;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-7-sulfo-2-heptensäure-natriumsalz;

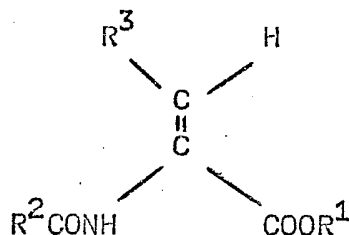
Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-sulfo-2-octensäure-natriumsalz;

Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-8-hydroxy-2-octensäure;

Z-8-Acetoxy-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensäure.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel



in der R^2 und R^3 für Kohlenwasserstoffreste mit 3 bis 10 bzw. 1 bis 15 Kohlenstoffatomen stehen, wobei in jeder dieser Kohlenwasserstoffketten R^2 oder R^3 1 bis 6 Wasserstoffatome durch Halogen ersetzt sein können oder eine nicht-endständige Methylengruppe durch Sauerstoff oder Schwefel mit Einschluß von oxidierten Formen des letzteren ersetzt sein kann, wobei weiterhin ein endständiges Wasserstoffatom in R^3 auch durch eine Hydroxyl- oder Thiolgruppe, die acyliert oder carbamoyliert sein kann, ersetzt sein kann, oder wobei das Wasserstoffatom durch eine Aminogruppe, die derivatisiert sein kann, wie z. B. in einer Acylamino-, Ureido-, Amidino-, Guanidino- oder Alkyl- oder substituierten Aminogruppe mit Einschluß von quaternären Stickstoffgruppierungen ersetzt sein kann oder wobei alternativ ein Austausch durch Säuregruppen, wie Carbonsäure-, Phosphonsäure- oder Sulfonsäuregruppen, oder Ester oder Amide davon sowie durch Cyanogruppen oder Kombinationen davon, wie eine endständige Aminosäuregruppierung, erfolgt sein kann; und R^1 für Wasserstoff oder niedrig-Alkyl (C_{1-6}) oder Dialkylaminoalkyl oder ein pharmazeutisch annehmbares Kation steht, mit der Maßgabe, daß R^2 nicht die Bedeutung Phenyl oder gerad-

214502 - 62 -

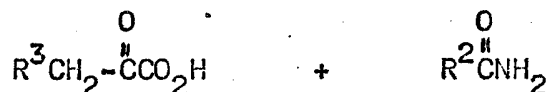
13.2.1980

AP C 07 C/214 582

55 967/12

kettiges niedrig-Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen hat, wenn R^3 für geradkettiges niedrig-Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen steht, gekennzeichnet dadurch, daß man

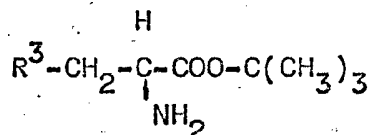
(a) eine 2-Ketokette oder einen niedrig-Alkylester davon mit einem Amid



kondensiert, wobei die allgemeinen Bedingungen die Vermischung von ungefähr 1 bis 4:1 Teilen Ketosäure oder Ester zu Amid in einem inerten Lösungsmittel, wie Toluol oder Methylisovalerat, Erhitzen am Rückfluß und azeotrope Entfernung von Wasser während 3 bis 48 h, vorzugsweise 5 bis 24 h, einschließen, oder

(b) ein Säurechlorid $R^2-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}Cl$

mit einem t-Butylester einer α -Aminosäure



in Gegenwart einer Base umgesetzt und anschließend eine oxidative Addition von Natriummethoxid und Behandlung des resultierenden Zwischenproduktes mit wasserfreier Salzsäure durchführt, wobei R^2 und R^3 die angegebenen Bedeutungen haben.

2. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß R^2 die Bedeutung R^4 , wobei R^4 für einen verzweigten oder cyclischen Kohlenwasserstoffrest mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen steht;

R^5 R^6 , wobei R^5 für Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht und R^6 für einen oder zwei Alkyl-

214502 - 63 -

13.2.1980

AP C 07 C/214 582

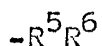
55 967/12

substituenten steht, die miteinander unter Bildung eines weiteren Rings auf der Cycloalkylgruppe verbunden sein können, oder R^6 für 1 oder 2 Chlorsubstituenten steht; oder

$-R^7 R^8$, wobei R^7 für Alkylen mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und R^8 für Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht, haben kann.

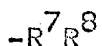
3. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß R^2 für eine geradkettige, verzweigte oder Cycloalkylgruppe mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen mit Einschluß von Alkylcycloalkyl und Dialkylcycloalkyl steht, mit der Maßgabe, daß das an die Carbonylgruppe angrenzende Kohlenstoffatom nicht tertiär sein kann.

4. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß R^2 die Bedeutung



hat, wobei R^5 für Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht und R^6 für 1 oder 2 Alkylsubstituenten steht, die unter Bildung eines weiteren Rings auf der Cycloalkylgruppe verbunden sein können.

5. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß R^2 die Bedeutung



hat, wobei R^7 für eine Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen steht und R^8 für Cycloalkyl mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen steht.

214502

- 64 -

6. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß man die Verbindung Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensäure herstellt.
7. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß man die Verbindung Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropan-carboxamido)-8-trimethylammonium-2-octensäure herstellt.
8. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß man die Verbindung Z-2-(2,2-Dichlorcyclopropan-carboxamido)-8-trimethylammonium-2-octensäure herstellt.
9. Verfahren nach Punkt 2, gekennzeichnet dadurch, daß man die Verbindung 6-(L-2-amino-2-carboxyäthylthio)-2-(2,2-dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-hexensäure herstellt.
10. Verfahren nach einem der Punkte 2 bis 8, gekennzeichnet dadurch, daß man die Verbindung in Form des Natrium- oder Kaliumsalzes herstellt.