



NORGE

(19) [NO]

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) Nr. 166860

(51) Int. Cl.⁸ C 07 D 417/12

(83)

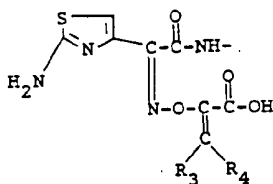
(21) Patentsøknad nr.	870031	(86) Internasjonal søknad nr.	-
(22) Inngivelsesdag	05.01.87	(86) Internasjonal inngivelsesdag	-
(24) Løpedag	05.01.87	(85) Videreforingsdag	-
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.		(41) Alment tilgjengelig fra	07.07.87
		(44) Utlegningsdag	03.06.91
(71)(73) Søker/Patenthaver	E.R. SQUIBB & SONS INC, Lawrenceville-Princeton Road, Princeton, NJ, US	(72) Oppfinner	JOSEPH EDWARD SUNDEEN, Yardley, PA, US

(74) Fullmektig Cand.mag. Johan H. Gørbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 06.01.86, US, nr 816475.

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte for fremstilling av
terapeutisk aktive monosulfaktamer.

(57) Sammendrag Antibakteriell aktivitet oppvises av monocykliske β -laktam
antibiotika som i 1-stilling har en $-O-SO_3H$ aktiverende gruppe og
i 3-stilling har en acylaminogruppe med formelen:



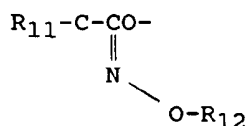
hvor R₃ og R₄ uavhengig av hverandre er hydrogen eller alkyl.

Fremgangsmåter for fremstilling av forbindelsene er
beskrevet.

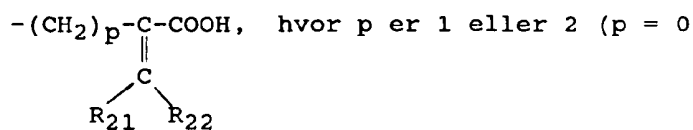
(56) Anførte publikasjoner Europeisk (EP) patentsøknad, publ. nr. 51381.

I US-patent 4.533.660 beskrives β -lactam-antibiotika som inneholder en β -lactam-kjerne med en 3-acylamino-substituent og en $-O-SO_3^-M^+$ -substituent i 1-stilling (M^+ er hydrogen eller et kation). Med hensyn til acylgruppen er det i patentet angitt at "eksempler på acylgrupper er de acylgrupper som har vært anvendt tidligere for acylering av β -lactam-antibiotika...".

I Europeisk patent 127.992 beskrives cefalosporin-antibiotika med en 7-acylamino-substituent. Blant de acylgrupper som beskrives, er de som har formelen



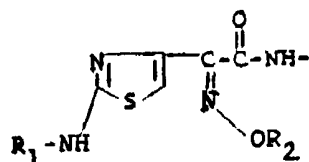
hvor R_{11} blant annet kan være 2-aminotiazol-4-yl, og R_{12} kan blant annet være



er ikke angitt) og R_{21} og R_{22} er hver hydrogen eller alkyl.

US-patent 4.423.213 beskriver 7-acylamino-3-vinyl-cefalosporiner med antimikrobiell aktivitet. Blant de beskrevne acylgrupper er de med formelen R_1-A-CO , hvor R_1 kan være en amino-substituert heterocyklisk gruppe, A er lavere alkylen som kan være substituert med en gruppe med formelen $=N \sim OR^4$, og R^4 kan blant annet være "lavere alkenyl substituert med karboksy eller en beskyttet karboksy-gruppe".

US-patent 4.399.131 beskriver cefalosporin-antibiotika med en 7-acylamino-substituent med formelen



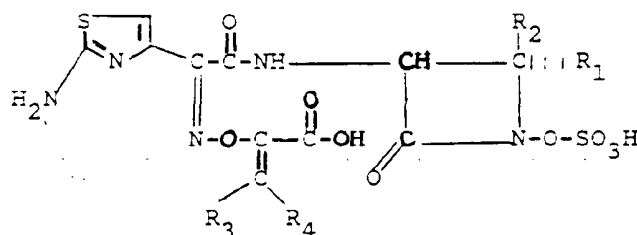
hvor R_1 blant annet er hydrogen, og R_2 er blant annet eventuelt substituert alkenyl. Karboksy er en av de beskrevne substituent-ter. I spalte 51-52 i patentet er R_2 beskrevet som $-CH_2-CH=CH-CO_2H$.

166860

2

Forbindelser med formelen:

I



og farmasøytisk akseptable salter derav, har antibakteriell virkning. I formel I og forøvrig i denne beskrivelse har symbolene den nedenfor angitte betydning.

R_1 og R_2 er like eller forskjellige og er hver hydrogen eller C_1 - C_4 -alkyl, eller R_1 og R_2 danner tilsammen $-(CH_2)_n$ hvor n er 2, 3, 4, 5 eller 6; og

R_3 og R_4 er like eller forskjellige og er hver hydrogen eller alkyl med 1-3 karbonatomer.

Uttrykket "alkyl" står om intet annet er angitt, for både rettkjedede og forgrenede grupper.

Forbindelsene fremstillet i henhold til denne oppfinnelse danner basiske salter med uorganiske og organiske baser, og fremstilling av disse faller også innenfor oppfinnelsens ramme. Slike salter er for eksempel ammoniumsalter, alkalimetallsalter, jordalkalimetallsalter og salter med organiske baser så som dicykloheksylamin, benzatin, N-metyl-D-glukamin, hydrabamin og lignende.

De nye forbindelsene er avbildet som syrer. De kan imidlertid også forekomme som zwitter-ioner (interne eller indre salter) og disse innbefattes også av "farmasøytisk akseptable salter".

β -laktamene med formel I og deres farmasøytisk akseptable salter har virkning overfor grampositive og gramnegative organismer. Forbindelsene fremstillet i henhold til oppfinnelsen kan benyttes som midler for å bekjempe bakterielle infeksjoner (innbefattet urinveisinfeksjoner og infeksjoner i åndedrettsorganene) hos pattedyr, så som husdyr (f.eks. hunder, katter, storfe, hester og lignende) og mennesker.

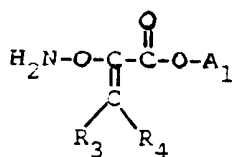
166860

3

For å bekjempe bakterielle infeksjoner kan de nye forbindelsene gis til pasienten i mengder på ca. 1,4-350 mg/kg/dag, fortrinnsvis 14-100 mg/kg/dag. Administrasjonsmåter som i senere tid er benyttet for å tilføre penicilliner og cefalosporiner til infeksjonsstedet, kan også benyttes ved bruk av β -laktamene fremstillet i henhold til oppfinnelsen. Oral, intravenøs, intramuskulær administrasjon og suppositorie-tilførsel kan således benyttes.

Forbindelsene i henhold til oppfinnelsen kan fremstilles fra en forbindelse med formel:

II



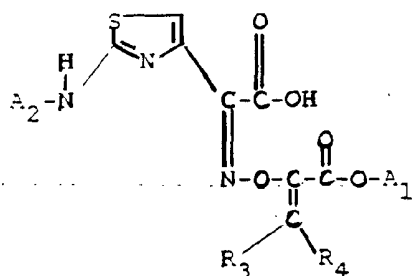
hvor "A₁" er en karboksyl-beskyttende gruppe. Karboksyl-beskyttende grupper er velkjent på fagområdet og benyttes for å hindre at karboksylgruppen deltar i etterfølgende reaksjoner. Eksempler på karboksyl-beskyttelsesgrupper er beskrevet i US-patent 4.144.333 av 13. mars, 1979. Foretrukne grupper er t-butyl, difenylmetyl og fenylmetyl. Fjerning av en karboksyl-beskyttelsesgruppe kan oppnås ved å benytte kjente fremgangsmåter som vil variere med den aktuelle beskyttelsesgruppe. Er for eksempel beskyttelsesgruppen t-butyl, kan den fjernes ved bruk av trifluoreddiksyre, diklormetan og anisol, trifluoreddiksyre og tioanisol eller trimetylsilyljodid og en syrefanger så som N-metyl-N-(trimetylsilyl)trifluoracetamid. Dersom beskyttelsesgruppen er difenylmetyl, kan den fjernes ved bruk av trifluoreddiksyre, diklormetan og anisol. Er beskyttelsesgruppen fenylmetyl, kan den fjernes med trifluoreddiksyre og tioanisol eller med trimetylsilyljodid og en syrefanger så som N-metyl-N-(trimetylsilyl)trifluoracetamid. Forbindelsene med formel II er nye og utgjør som sådan en integrert del av foreliggende oppfinnelse.

Omsetning av en forbindelse med formel II med 2-amino-4-tiazolylglykoksylsyre (eller et amino-beskyttet derivat derav) fører til en forbindelse med formelen

166860

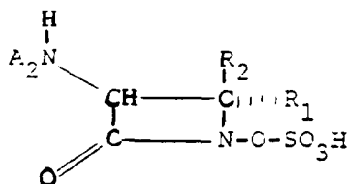
4.

III



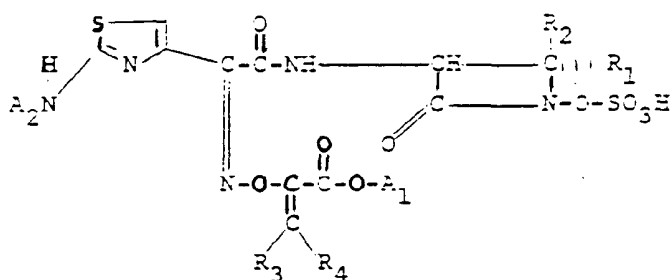
hvor A_2 er hydrogen eller en amino-beskyttende gruppe. Amino-beskyttende grupper er velkjente og benyttes for å hindre at aminogruppen deltar i etterfølgende reaksjoner. Eksempler på amino-beskyttende grupper er aromatiske acylgrupper, så som p-nitrobenzyl og p-tert-butylbenzoyl; alifatiske acylgrupper så som formyl, acetyl, propionyl, monokloracetyl, dikloracetyl, trikloracetyl og trifluoracetyl; forestrede karboksylgrupper så som metoksykarbonyl, etoksykarbonyl, t-butoksykarbonyl, isopropoksykarbonyl, 2-cyanoetoksykarbonyl, β, β, β -trikloretoksykarbonyl, benzyloksykarbonyl, p-nitrobenzyloksykarbonyl, p-metoksybenzyloksykarbonyl, difenylmetyloksykarbonyl, metoksymetyloksykarbonyl, acetylmetyloksykarbonyl, isobornyloksykarbonyl og fenyloksykarbonyl; metylengrupper så som (heksahydro-1H-azepin-1-yl)-metylen; sulfonylgrupper så som 2-amino-2-karboksyetyl-sulfonyl; og amino-beskyttende grupper utenom acylgruppen, så som trityl, 2-nitrofenyltio, di- eller trialkylsilyl, benzyl og p-nitrobenzyl. Karboksylsyren med formel III er en ny forbindelse.

Kobling av en karboksylsyre III med et β -laktam med formel IV



fører til den korresponderende forbindelse med formel

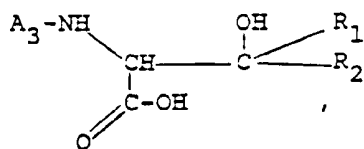
V



Reaksjonen skjer lettest dersom karboksylsyren er i en aktivert form. Aktiverte former av karboksylsyrer er velkjente og innbefatter syrehalogenider, syreanhydrider (innbefattet blandede anhydrider), aktiverte syreamider og aktiverte syreestere. Avspaltning av beskyttelsesgruppen (deblokkering) av en forbindelse V etter kjente fremgangsmåter fører til det korresponderende produkt med formel I.

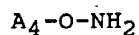
β -laktamene med formel IV kan fremstilles ved at en forbindelse med formel

VIII



hvor A_3 er en amino-beskyttende gruppe, fortrinnsvis t-butoksykarbonyl eller benzyloksykarbonyl, først kobles med et O-beskyttet hydroksylamin med formel

IX

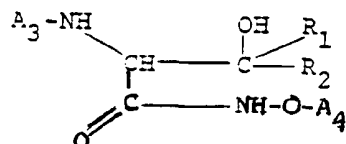


hvor A_4 er en beskyttende gruppe så som benzyl, trityl eller pivaloyl, hvilket fører til den korresponderende forbindelse med formel

166860

6

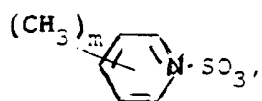
X



Reaksjonen foregår i nærvær av et koblingsmiddel (f.eks., 1-etyl-3-(dimetylaminopropyl)karbodiimid, dicykloheksylkarbodiimid eller dicykloheksylkarbodiimid/N-hydroksybenzotriazol).

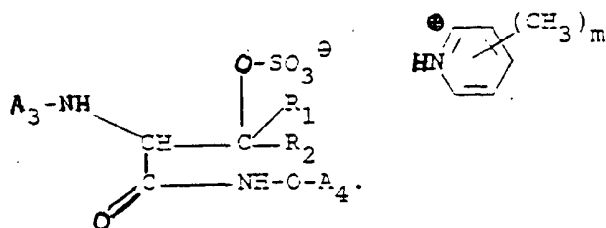
Omsetningen av en forbindelse med formel X med pyridin- (eventuelt substituert)-svoveltrioksyd-kompleks med formel

XI



hvor m er 0, 1, 2 eller 3, fører til den korresponderende forbindelse med formel

XII



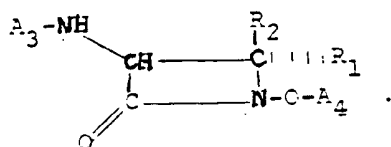
Sulfoneringsreaksjonen kan foretas i et organisk oppløsningsmiddel (f.eks. pyridin, mono-, di- eller trimetylpyridin, diklormetan, 1,2-dikloretan, acetonitril, dimetylformamid eller dioksan).

166860

7

Cyklisering av en forbindelse med formel XII kan oppnås ved behandling med en base, hvilket fører til den korresponderende forbindelse med formel

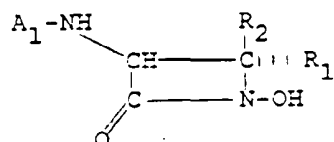
XIII



Basen er fortrinnsvis en uorganisk base, så som et alkalimetallkarbonat, og reaksjonen kan foretas i en blanding av vann og et organisk oppløsningsmiddel (f.eks. etylacetat, metylbutylketon, pyridin eller mono-, di- eller trimetylpyridin).

Fjerning av A₄ beskyttelsesgruppen fra en forbindelse med formel XIII fører til den korresponderende forbindelse med formel

XIV



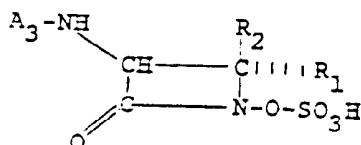
og fjerningen kan skje ved kjent teknikk. Dersom A₄ er benzyl kan avblokkeringen for eksempel skje ved katalytisk hydrogenering. Om A₄ er pivaloyl, kan deblokkering oppnås ved behandling med en base så som natriumsulfid eller natriumhydroksyd. Er A₄ trityl, kan avblokkering oppnås ved behandling med 80% vandig eddiksyre.

En forbindelse med formel XIV kan behandles med et pyridin- (eventuelt substituert)-svoveltrioksyd-kompleks med formel XI for å gi pyridiniumsaltet med den korresponderende forbindelse med formel

166860

8

XV



Reaksjonen kan utføres i et oppløsningsmiddel så som pyridin- (eventuelt substituert), diklormetan eller i 1,2-dikloretan. Ved bruk av konvensjonelle teknikker (f.eks. ionebytter-resiner) kan det ovenfor oppnådde pyridiniumsalt omdannes til andre salter og til den frie syre.

Forbindelser med formel IV hvor A_2 er hydrogen, oppnås ved avblokkering av den korresponderende forbindelse XV. Hvilken avblokkeringsmetode som benyttes vil avhenge av den aktuelle beskyttelsesgruppe. Er beskyttelsesgruppen t-butoksykarbonyl, kan for eksempel trifluoreddiksyre benyttes for å frigjøre amino-gruppen. Dersom beskyttelsesgruppen er benzyloksykarbonyl, kan katalytisk hydrogenering benyttes.

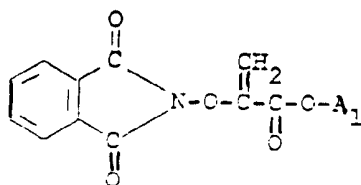
8-laktamene IV kan også fremstilles ved å benytte metodikk beskrevet i US-patent 4.337.197 av 29. juni 1982. Ved å benytte acetyleringsteknikkene beskrevet i patentet, kan forbindelsen med formel VI også fremstilles.

Aminosyrene VIII er enten kjente forbindelser eller forbindelser som lett oppnås ved bruk av kjente fremgangsmåter; se for eksempel J. Org. Chem., 44, 3967 (1979); J. Org. Chem., 46, 2809 (1981); Z. Chem., 10, 393 (1970); Tetrahedron, 39, 2085 (1983); Liebigs Annalen der Chem., 763, 1 (1972); Synthesis, 216 (1979); Bull. Chem. Soc. Japan, 39, 2287 (1966). Disse fremgangsmåtene innbefatter omsetning (en aldolkondensasjon) av beskyttet glycin (både amino- og karboksylgruppene er beskyttet) med det passende keton

(R₁-C^O-R₂), og påfølgende fjerning av karboksyl-beskyttelses-gruppen.

Forbindelsene med formel II hvor "A₁" er t-butyl og R₃ og R₄ begge er hydrogen kan fremstilles ved å behandle en forbindelse med formel

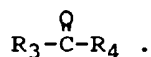
XVI



med hydrazin eller metylhydrazin. Forbindelsen XVI hvor A_1 er t-butyl, er kjent; se for eksempel Belgisk patent 866.422. Ved hjelp av kjente fremgangsmåter kan t-butylgruppen fjernes og erstattes med en annen beskyttelsesgruppe så som difenylmetyl eller fenylmetyl.

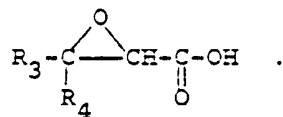
En forbindelse med formel II kan fremstilles fra et keton eller aldehyd med formelen

XVII



Omsetningen av en forbindelse med formel XVII med en α -halogenacetatester (f.eks. etylkloracetat) i nærvær av en sterk base (f.eks. kalium-t-butoksyd) og påfølgende hydrolyse av den resulterende glycidinester (se J. Org. Chem., 26:3176 (1961)) fører til et salt av den korresponderende forbindelse med formel

XVIII

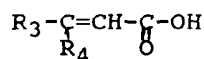


En forbindelse med formel XVIII kan alternativt fremstilles fra et salt av en forbindelse med formel

166860

10

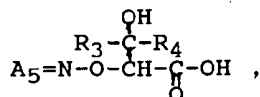
XIX



ved behandling med vandig hydrogenperoksyd i nærvær av katalytisk virkende natriumvolframmat (se J. Org. Chem., 50:1979 (1985)).

Behandling av en forbindelse XVIII med et reagens som acetonoksim, benzaldehydoksim, p-metoksybenzaldehydoksim eller t-butyl-N-hydroksykarbammat i nærvær av base (f.eks. et alkali-metallhydroksyd) i et oppløsningsmiddel (f.eks. vann, vann/-dioksan, vann/dimetylsulfoksyd, vann/etanol, etanol, dimetylformamid eller dimetylsulfoksyd) fører til en forbindelse med formel

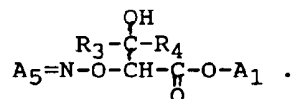
XX



hvor A₅ er isopropyliden, benzyliden eller p-metoksybenzyliden eller "A₅=N-" er t-butoksykarbonylamino. Hvis A₅ er isopropyliden, benzyliden eller p-metoksybenzyliden, kan omdannelse av en forbindelse XX til en forbindelse med en annen beskyttelsesgruppe (f.eks. A₅ er ftaloyl eller gruppen "A₅=N-" er t-butoksykarbonylamino) oppnås ved å fjerne beskyttelsesgruppen med en mineralsyre i nærvær av vann og erstatte den med den alternative beskyttelsesgruppe i henhold til kjent teknikk. Hvis "A₅=N-" er t-butoksykarbonylamino, kan omdannelsen av en forbindelse XX til en forbindelse med en alternativ beskyttelsesgruppe oppnås ved å fjerne beskyttelsesgruppen med trifluoreddiksyre og anisol og erstatte den med den alternative beskyttelsesgruppe ved hjelp av kjent teknikk.

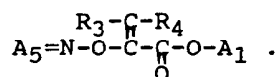
Forestring av en forbindelse med formel XX (eller en korresponderende forbindelse med en annen beskyttelsesgruppe) med en karboksyl-beskyttelsesgruppe A₁, fører til den korresponderende forbindelse med formel

XXI



Dehydrering av en forbindelse med formel XXI ved å benytte en av de kjente teknikker, fører til den korresponderende forbindelse med formel

XXII



Dehydrering kan for eksempel oppnås ved behandling av en forbindelse XXI med metansulfonylchlorid i nærvær av to eller flere ekvivalenter trietylamin. Alternativt, fører behandling av en forbindelse XXI med metansulfonylchlorid i nærvær av én ekvivalent trietylamin, isolering av det korresponderende mesylat og avsluttende eliminering ved behandling med en uorganisk base (så som kaliumkarbonat) i et organisk oppløsningsmiddel (så som dimetylformamid) til en forbindelse med formel XXII. Alternativt, kan forbindelse XXI omdannes til en forbindelse med formel XXII ved å benytte reagenser så som tionylchlorid/pyridin, fosgen/-pyridin eller dietylaminosvoveltrifluorid/pyridin.

Selektiv avblokkering av en forbindelse med formel XXII for å gi den ønskede forbindelse II kan oppnås ved å benytte kjente teknikker.

I de ovenfor beskrevne syntesemetoder for fremstilling av en forbindelse med formel II eller III vil en forbindelse med formel XVIII hvor R_4 befinner seg i trans-stilling til karboksylgruppen, resultere i en forbindelse med formel I hvor R_4 er cis i forhold til karboksylgruppen.

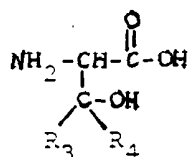
Alternativt, kan en forbindelse med formel II (hvor én av

166860

12

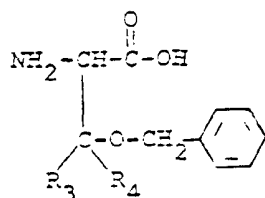
R₃ og R₄ er hydrogen og den andre er alkyl med 1-3 karbonatomer)
fremstilles fra en aminosyre med formel

XXIII



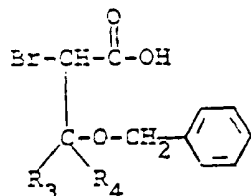
Omdannelse av en forbindelse med formel XXIII til den kor-
responderende benzyleter kan oppnås ved å benytte konvensjonell
teknikk og fører til en forbindelse med formel

XXIV



Omsetning av en forbindelse med formel XXIV med salpeter-
syrling i nærvær av bromidioner fører til den korresponderende
forbindelse med formel

XXV

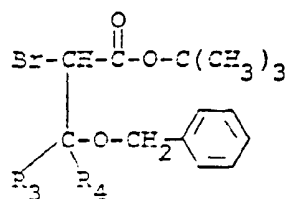


En forbindelse med formel XXV kan forestres med f.eks. en
t-butylgruppe ved hjelp av konvensjonell teknikk for å gi den
korresponderende forbindelse med formel

166860

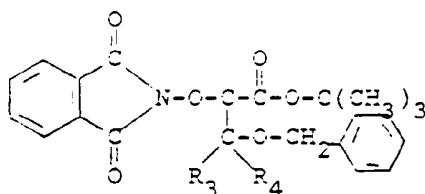
13

XXVI



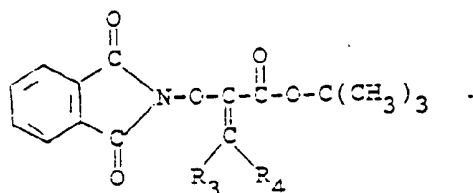
Omsetning av en forbindelse med formel XXVI med N-hydroksy-ftalimid i nærvær av en base så som kaliumkarbonat i dimetylformamid fører til en forbindelse med formel

XXVII



Fjerning av benzyl-beskyttelsesgruppene ved hydrogenolyse etterfulgt av dehydrering fører til en forbindelse med formel

XXVIII



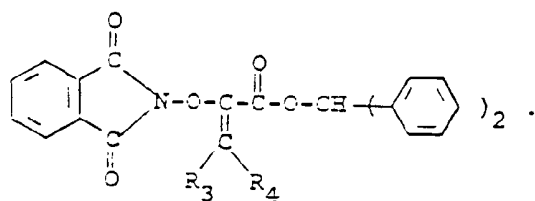
Ved å benytte kjente fremgangsmåter kan t-butylgruppen i en

166860

14

forbindelse XXVIII erstattes med en annen beskyttelsesgruppe så som difenylmetyl for å gi en forbindelse med formel

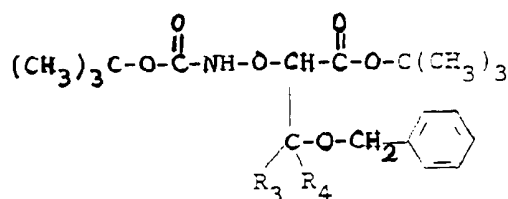
XXIX



Behandling av en forbindelse med formel XXIX med hydrazin eller metylhydrazin fører til den korresponderende forbindelse med formel II hvor A₁ er difenylmetyl. Standard avblokkerings- og beskyttelsesteknikker kan benyttes for å omdanne denne forbindelse til andre forbindelser med formel II.

Som et alternativ kan en forbindelse med formel XXVI omdannes til den korresponderende forbindelse med formel

XXX



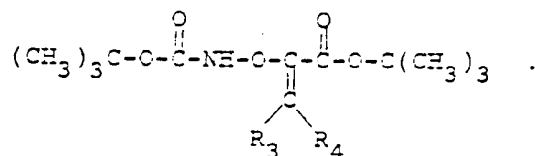
ved behandling med t-butyl-N-hydroksykarbamat i nærvær av en base så som natriumhydrid i et oppløsningsmiddel som dimetylformamid.

Fjerning av benzyl-beskyttelsesgruppen fra en forbindelse med formel XXX ved hydrogenolyse og påfølgende dehydrering fører til en forbindelse med formel

166860

15

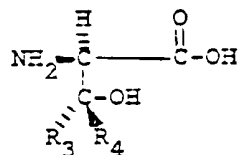
XXXI



Standard avblokkerings- og beskyttelsesteknikker kan benyttes for å omdanne en forbindelse med formel XXXI til en forbindelse med formel II.

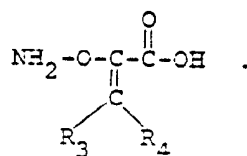
Ved bruk av den ovenfor angitte metodikk vil en forbindelse med følgende geometri

XXXII



føre til en forbindelse med geometrien

XXXIII

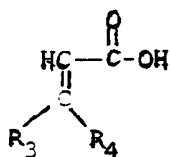


Alternativt kan en forbindelse med formel

166860

16

XXXIV



hvor én av R_3 og R_4 er hydrogen og den andre er alkyl med 1-3 karbonatomer, omdannes til en forbindelse med formel XXVIII ved en metodikk som er analog med den benyttet i fremstillingen av forbindelser med formel XVI og beskrevet i Belgisk patent 866.422.

En forbindelse med geometrien til formel XXXIV hvor R_4 er cis til karboksylgruppen, vil bli omdannet til en forbindelse med formel XXXIII hvor R_4 er cis til karboksylgruppen.

Forbindelsene med formel I har minst ett chiralt senter - karbonatomet (i β -laktamkjernens 3-stilling) som amino- eller acylaminosubstituenten er knyttet til. Foreliggende oppfinnelse er rettet mot de ovenfor beskrevne β -laktamer, hvor de stereo-kjemiske forhold i det chirale senter i β -laktamkjernens 3-stilling er de samme som konfigurasjonen ved karbonatomet i 6-stillingen hos naturlig forekommende penicilliner (f.eks. penicillin G).

Forbindelsene med formel I inneholder gruppen $\text{R}_3 - \underset{\text{-C-}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{R}_4$

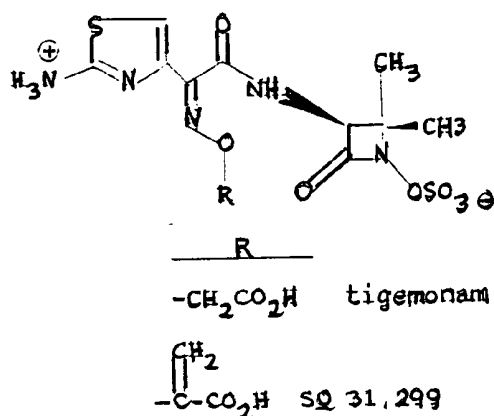
og kan, dersom R_3 og R_4 er forskjellige, forekomme som syn- eller anti-isomeren eller som en blanding av isomerer. Samtlige av disse isomere former omfattes av foreliggende oppfinnelse.

Forbindelsene med formel I har iminosubstituenten $\text{-C-} \underset{\text{N}}{\overset{\text{H}}{\parallel}}$

og kan derfor forekomme som syn- eller anti-isomeren eller som en blanding av isomerer. Samtlige av disse isomere formene omfattes av foreliggende oppfinnelse. I alminnelighet har imidlertid syn-isomeren av en forbindelse med formel I størst aktivitet.

166860

17



Minimum hemmende konsentrasjoner (MIC) ble bestemt ved agar-fortynning. Antibiotika ble tilberedt og fortynnet i agarmedium som dobbelte seriefortynninger. Bakterie-inokulater ble derefter anbragt på overflaten av agaren under anvendelse av en flerpunkt-inokulator som leverte et kjent volum (Denley Instr. or Mast System Ltd.). Plater ble inkubert ved 37°C i 18-24 timer under passende atmosfære. De anvendte agarmedier var gjær-kjøttagar (Difco).

Bakterie-inokulater ble fremstilt ved fortynning natten over av næringskulturer (antibiotisk prøveweske nr.3, BBL) eller frosne lagerløsninger til passende titer. Mikroorganisme-stammene ble undersøkt ved 1×10^{-4} CFU pr. flekk. MIC for amoxicillin-clavulansyre (amox-clav, 1:2 vekt/vekt) ble uttrykt som konsentrasjoner av amoxicillin. Tilsvarende ble trimetoprim-sulfametoksazol (SXT; 1:19 vekt/vekt trimetoprim:sulfametoksazol) MIC verdier uttrykt som sulfametoksazol-konsentrasjoner. Resultatene var som det fremgår av den følgende tabell.

SC*	Organisme	SQ 31,299	Tigemonam	MIC (μ /ml)					Norfloxacin	Ofloxacin	SXT
				Amox-Clav	Cefaclor	Cefixime					
1216	<i>S. aureus</i>	>100	>100	0.1	0.8	12.5	1.6	0.1	0.1	0.8	
2199	<i>S. aureus</i>	>100	>100	0.2	0.4	12.5	1.6	0.4	0.4	1.6	
2400	<i>S. aureus</i>	>100	>100	0.8	0.8	12.5	0.8	0.4	0.4	25	
10165	<i>S. aureus</i>	>100	>100	1.6	6.3	>100	1.6	0.8	0.8	12.5	
9011	<i>S. faecalis</i>	50	>100	0.4	12.5	6.3	3.1	1.6	1.6	3.1	
9281	Grp. B. strep	0.8	6.3	<0.05	<0.05	0.2	3.1	1.6	1.6	12.5	
8291	<i>E. coli</i>	0.4	0.4	6.3	1.6	0.8	0.4	0.2	0.2	25	
10851	<i>E. coli</i>	<0.05	0.2	0.8	0.8	0.4	0.4	0.4	0.4	3.1	
10896	<i>E. coli</i>	0.1	0.2	12.5	1.6	3.1	0.1	0.1	0.1	3.1	
10440	<i>Klebsiella</i>	0.2	0.4	1.6	0.8	0.2	0.2	0.1	0.1	100	
3855	<i>Proteus</i>	<0.05	<0.05	0.4	0.8	<0.05	0.2	0.4	0.4	1.6	
1195	<i>Salmonella</i>	<0.05	<0.05	0.4	0.4	<0.05	0.2	0.1	0.1	1.6	
8236	<i>Enterobacter</i>	0.1	0.2	25	12.5	0.8	0.4	0.4	0.4	100	
10018	<i>Enterobacter</i>	0.2	0.4	25	25	1.6	0.8	0.8	0.8	100	
9183	<i>Serratia</i>	<0.05	0.1	25	>100	0.2	0.8	0.8	0.8	12.5	
8329	<i>P. aeruginosa</i>	25	50	>100	>100	12.5	0.8	0.8	0.8	100	
8333	<i>Acinetobacter</i>	100	>100	6.3	25	50	12.5	0.8	0.8	3.1	

* SC = Squibb Collection; som identifierer nummeret på prøveorganismene i samlingen til
E.R. Squibb & Sons, Inc., Princeton, New Jersey, USA

Eksempel 1

(±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre

A) 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre

En oppløsning av 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, t-butylester (1,75 g, 5,7 mmol) i metylenklorid (10 ml) og anisol (10 ml) ble behandlet med trifluoreddiksyre (5 ml). Etter omrøring over natten ved romtemperatur ble toluen tilsatt og reaksjonsblandingen konsentrert i vakuum. Residuet ble utgnidd to ganger med heksan for å gi 1,54 g av tittelforbindelsen.

B) 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, difenylmetylester

2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre (1,54 g, 4,8 mmol) ble oppløst i 25 ml acetonitril og dråpevis tilsatt en oppløsning av difenyldiazometan (1,17 g, 5,94 mmol/50 ml acetonitril). Etter at ca. 1,1 ekv. difenyldiazometan var blitt tilsatt, var det ifølge TLC intet av utgangsmaterialet tilbake. Overskuddet av difenyldiazometan ble dekomponert ved tilsetning av litt eddiksyre. Reaksjonsoppløsningen ble konsentrert til et residuum som ble oppløst i etylacetat, vasket med 1N natriumbikarbonat og deretter med saltvann, tørket over vannfritt magnesiumsulfat og inndampet til et faststoff. Etter utgnidning med heksan ble 1,9 g av tittelforbindelsen oppnådd.

C) 2-amino-α-[[[1-(difenylmetoksy)karbonyl]etenyl]oksy]imino]-4-tiazoleddiksyre

Til en oppløsning av 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, difenylmetylester (0,8 g, 2 mmol) i 50 ml metylenklorid som ble holdt under argon ved 0°C, ble tilsatt hydrazinhydrat (100 mg, 2 mmol i 1 ml absolutt etanol). Reaksjonsblandingen ble langsomt oppvarmet fra 0°C til romtemperatur i løpet av 1 time og ble deretter omrørt ved romtemperatur i ytterligere 2 timer. Det hvite bunnfallet ble frafiltrert og oppløsningen fortynnet med dietyleter og filtrert på nytt. De

166860

20

flyktige forbindelsene ble deretter fjernet fra filtratet for å gi 2-aminooksy-2-propensyre som et residuum. 2-aminooksy-2-propensyren ble deretter oppløst i etanol (6 ml) og vann (4 ml), hvorpå 2-aminotiazol-4-glykoksylsyre (0,31 g, 1,8 mmol) ble tilsatt til oppløsningen. Etter omrøring ved romtemperatur i 17 timer, viste TLC at reaksjonen var ufullstendig. Mer etanol og vann og litt dimetylformamid ble tilsatt for å løse opp reaktantene. Etter omrøring i 72 timer, viste TLC at intet 2-aminooksy-2-propensyre var tilbake. Inndampning førte til den rå tittelforbindelse som ble kromatografert på en HP-20 kolonne under eluering med en acetonitril/vann gradient (0 til 80%). Produktholdige fraksjoner ble konsentrert for å fjerne acetonitril. Filtrering av den resulterende vandige oppslemming ga tittelforbindelsen som et bunnfall. Etter tørking i vakuum over natten ble 167 mg av tittelforbindelsen oppnådd.

D) N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-D,L-3-hydroksyvalinamid

En oppløsning av 24,84 g (106,6 mmol) N-t-butyloksykarbonyl-D,L-3-hydroksyvalin og 16,33 g (106,6 mmol) hydroksybenzotriazol monohydrat i 500 ml tørr tetrahydrofuran ble avkjølt til -10°C og tilsatt 22 g (106,6 mmol) dicykloheksylkarbodiimid. Blandingen ble omrørt under nitrogen i 1 time ved 0°C. Deretter ble en oppløsning av 13,13 g (106,6 mmol) O-benzylhydroksylamin i 250 ml tørr tetrahydrofuran tilsatt i løpet av 15 minutter til den aktiverte esterblandingen, hvorpå den resulterende blanding ble omrørt under nitrogen i 1 time ved 0°C. Det uløselige materialet ble frafiltrert og filtratet inndampet til et skum i vakuum. Skummet ble ekstrahert med etylacetat og mer uløselig materiale frafiltrert. Filtratet ble vasket to ganger med 5% natriumbikarbonatoppløsning. Den organiske fase ble tørket (natriumsulfat) og inndampet til en sirup som ble krystallisert fra 130 ml isopropyleter for å gi 24,7 g av tittelforbindelsen, smp. 76-78°C.

E) N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-D,L-3-(sulfooksy)valinamid, pyridiniumsalt

Tørr pyridin (8,08 ml, 0,10 mol) ble anbrakt i en 500 ml rundkolbe og avkjølt til -10°C under nitrogen. Trimetylsilylklorsulfonat (15,6 ml, 0,10 mol) ble dråpevis tilsatt (kraftig

magnetring) hvorpå den meget tykke reaksjonsblanding (som følge av utfelling av produkt) ble omrørt i 0,5 timer ved 0°C. Klor-trimetylsilan ble fjernet i vakuum, hvorefter 15 g av pyridin-svoveltrioksydkomplekset ble oppnådd.

N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-D,L-3-hydroksy-valinamid (16,92 g, 50 mmol) ble oppløst i 200 ml tørr pyridin og tilsatt 9,87 g (62,5 mmol) pyridin-svoveltrioksyd-kompleks. Blandingen ble omrørt ved 55°C under nitrogen i 2 timer. En ny porsjon (790 mg, 5 mmol) pyridin-svoveltrioksyd-kompleks ble tilsatt og omrøringen fortsatt i 1 time til. Reaksjonsblandingen ble inndampet i vakuum til en olje. Oljen ble dampet inn fra acetonitril tre ganger i vakuum for å gi den rå tittelforbindelse som et skum. Utbyttet syntes kvantitativt.

F) (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-1-(fenylmetoksy)-2-azetidinon

Kolben inneholdende rå N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-D,L-3-(sulfooksy)valinamid, pyridiniumsalt (ca. 50 mmol) ble anbrakt i et isbad og tilsatt 400 ml etylacetat og deretter under kraftig omrøring en oppløsning av 42,8 g (0,31 mol) kaliumkarbonat i 90 ml vann. Den resulterende blanding ble kraftig omrørt under tilbakeløpskjøling i 2 timer under nitrogen. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og fasene separert. Den vandige fase ble ekstrahert med 2 x 200 ml etylacetat, og samtlige organiske faser ble kombinert, tørket (natriumsulfat) og inndampet i vakuum. Oljen ble tatt opp i 40% etylacetat/heksan (125 ml) og hurtig filtrert gjennom et 350 ml lag (10 cm) Mallinkrodt SillicAR CC-7 ved bruk av 3-4 liter 40% etylacetat/heksan. Filtratet ble inndampet i vakuum til et faststoff (12,2 g). Krystallisasjon fra 50 ml isopropyleter ga 7,15 g tittelforbindelse, smp. 110°C.

G) (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-1-hydroksy-4,4-dimetyl-2-azetidinon

(±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-1-(fenylmetoksy)-2-azetidinon (8,07 g, 25 mmol) ble hydrogenert i 2 timer ved atmosfæretrykk og romtemperatur i 40 ml metanol og med 0,6 g 10% palladium-på-kull som katalysator. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom et lag av Celite og filtratet konsentrert for å gi 5,78 g av tittelforbindelsen som et faststoff.

166860

22

H) (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, tetrabutylammoniumsalt

En oppløsning av klorsulfonsyre (12,27 g, 0,105 mol) i 210 ml diklormetan ble dråpevis behandlet ved -40°C under argon med 20,5 g (0,26 mol) pyridin i løpet av 10 minutter. Blandingen ble omrørt i 10 minutter til ved 0°C og 10 minutter ved 25°C. En oppslemming av (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-1-hydroksy-4,4-dimetyl-2-azetidinon i 20 ml diklormetan ble tilsatt og blandingen omrørt ved 25°C i 3,5 timer. Den nesten homogene oppløsning ble deretter behandlet med 250 ml vann og 17 g (0,05 mol) tetrabutylammoniumhydrogensulfat. Blandingen ble grundig mikset og det organiske lag fraskilt og tørket over natriumsulfat. Inndampning i vakuum ga et skum som ble ytterligere rensed ved oppløsning i etylacetat, fjerning av uløselig materiale og inndampning for å oppnå tittelforbindelsen som et skum, 30 g.

I) (±)-3-amino-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat

En oppløsning av 30 g (0,05 mol) (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, tetrabutylammoniumsalt i 125 ml diklormetan og 10 ml anisol ble ved -5°C under argon, dråpevis behandlet med 50 ml trifluoreddiksyre i løpet av 10 minutter. Etter omrøring i 2,5 timer ved -5°C til 0°C ble blandingen fortynnet med 50 ml etylacetat og filtrert. Faststoffet ble vasket med diklormetan og deretter med etylacetat og tørket i vakuum for å gi 9,4 g av tittelforbindelsen som et hvitt granulært faststoff.

J) (±)-(Z)-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester

Til en oppløsning av 2-amino-α-[[[1-(difenylmetoksy)-karbonyl]etenyl]oksy]imino]-4-tiazoleddiksyre (167 mg, 0,4 mmol) og trietylamin (56 µl, 1,0 ekv.) under argon ble det ved -30°C tilsatt difenylklorfosfat (107 mg, 0,4 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved -30°C i 1 time for å danne det blandede anhydrid. (±)-3-amino-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat (126 mg, 0,6 mmol) ble oppløst i dimetylformamid ved 0°C, hvorpå oppløsningen og trietylamin (71 µl, 0,85 ekv.) ble

tilsatt samtidig til den blandede anhydridoppløsning ved -30°C . Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1/2 time ved -30°C og deretter langsomt oppvarmet til 0°C i løpet av 1 time. Reaksjonsblandingen ble konsentrert i vakuum, tatt opp i aceton/vann og justert til pH 6,5 med 1N kaliumbikarbonat. Den ble sendt gjennom en Dowex AG50 (K^+) kolonne som ble eluert med 30% aceton/vann. Passende fraksjoner ble kombinert og konsentrert og den gjenværende vandige oppløsning ble overført til en HP20 kolonne. Kolonnen ble eluert med vann og deretter med en gradient av aceton og vann (0-100%). Passende fraksjoner ble kombinert og lyofilisert for å gi tittelforbindelsen som i sin helhet ble benyttet i neste trinn.

K) $(\pm)$ -(Z)-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre

Til kolben som inneholdt $(\pm)$ -(Z)-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester ble det tilsatt metylenklorid (10 ml) og anisol (10 ml). Etter avkjøling til -5°C ble trifluoreddiksyre (8 ml) tilsatt, hvorefter reaksjonsblandingen ble omrørt ved -5 til 0°C under argon i 45 minutter. Toluen ble tilsatt og reaksjonsblandingen inndampet til et residuum. Dette ble tilsatt vann og heksan, hvorefter lagene ble separert. Det vandige lag ble justert til pH 2,5 med 10% kaliumbikarbonat. Det ble sendt gjennom en HP20 kolonne som ble eluert med vann og deretter med en aceton/vann gradient. Passende fraksjoner ble kombinert og lyofilisert for å gi tittelforbindelsen som et hvitt faststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (1:1 $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{CN}$): δ 1,57 (s, 3H); 1,75 (s, 3H); 5,09 (s, 1H); 5,75 (d, $J=2,3\text{Hz}$, 1H); 5,86 (d, $J=2,3\text{Hz}$, 1H); 7,42 (s, 1H).

Eksempel 2

[3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre

A) 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre

En oppløsning av 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, t-butylester (49,9 g, 0,173 mol) i metylenklorid

166860

24

(300 ml) og anisol (150 ml) ble behandlet med trifluoreddiksyre (300 ml). Etter omrøring over natten ved romtemperatur ble 800 ml tørr toluen tilsatt og reaksjonsblandingen konsentrert i vakuum. Residuet ble utgnidd to ganger med heksan for å gi 39,6 g av tittelforbindelsen.

B) 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, difenylmetyler

2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre (39,9 g, 0,17 mol) ble oppløst i 800 ml acetonitril og dråpevis tilsatt en oppløsning av difenyldiazometan (43,4 g, 0,224 mol/1000 ml acetonitril) i løpet av 3 timer ved 0°C. Reaksjonsoppløsningen ble inndampet til et faststoff som ble utgnidd med heksan. Det resulterende faststoff ble oppløst i diklormetan og filtrert gjennom et lag av silikagel (Kieselgel 60). Tilsetning av heksan førte til 47,7 g av tittelforbindelsen.

C) 2-amino- α -[[[1-(difenylmetoksy)karbonyl]etenyl]oksy]imino]-4-tiazoleddiksyre

Til en oppløsning av 2-[(1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)oksy]-2-propensyre, difenylmetyler (6,07 g, 15,2 mmol) i 375 ml metylenklorid under argon, ble det ved 0°C tilsatt hydrazinhydrat (0,76 g, 15,2 mmol) i 4 ml absolutt etanol. Etter 1 time ved 0°C ble blandingen inndampet til tørrhet ved +10°C og utgnidd med etyleter. Filtrering og konsentrering av filtratet ga 2-amino-oksy-2-propensyre, difenylmetyler som et residuum. Forbindelsen ble deretter behandlet ved 20°C med en oppløsning av 2-amino-4-tiazolglyoksylsyre (2,61 g, 15,2 mmol) i dimetylformamid (50 ml) og deretter med 5 ml vann. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 20°C i 20 timer og ble deretter avkjølt og fortynnet med 250 ml vann. Omrøring av den resulterende gummi ga et granulært faststoff som ble frafiltrert, vasket med vann og deretter azeotropisk inndampet med acetonitril til tørrhet. Det tørre faststoffet ble oppslemmet med 100 ml acetonitril, filtrert og tilslutt vasket suksessivt med acetonitril, etyleter og heksan. Lufttørring ga 1,97 g av tittelforbindelsen.

D) N-(t-butyloksykarbonyl)-L-3-hydroksyvalin, α -metylbenzylaminsalt

En oppløsning av N-t-butyloksykarbonyl-D,L-3-hydroksyvalin (7,02 g, 30 mmol) i 250 ml etyleter ble behandlet med 3,63 g (30 mmol) S-(-)- α -metylbenzylamin. Etter 8 timer ble det resulterende faststoff frafiltrert. Tre omkrystallisasjoner fra acetonitril ga 5,80 g av tittelforbindelsen, smp. 146-147°C, $[\alpha]_D = -4,5^\circ$ (c = 2,0, metanol).

E) N-(t-butyloksykarbonyl)-L-3-hydroksyvalin

En blanding av 204,6 g (0,577 mol) N-(t-butyloksykarbonyl)-L-3-hydroksyvalin, α -metylbenzylaminsalt, etylacetat (3 liter) og en oppløsning av 100 g kaliumbisulfat og 150 g natriumklorid i 1 liter vann ble ristet, hvorpå lagene ble separert og den organiske fase vasket med vann og tørket over magnesiumsulfat. Konsentrering av den organiske oppløsning og utgnidning med 800 ml heksan ga 136 g av tittelforbindelsen, smp. 120-121°C, $[\alpha]_D = +7,81^\circ$.

F) N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-L-3-hydroksyvalinamid

Ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 1, del D, men benytte N-(t-butyloksykarbonyl)-L-3-hydroksyvalin i stedet for N-(t-butyloksykarbonyl)-D,L-3-hydroksyvalin ble tittelforbindelsen oppnådd.

G) (3S)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-1-(fenylmetoksy)-2-azetidion

En oppløsning av 2-metylpyridin (296 ml, 3,0 mol) i metylisobutylketon (2700 ml) under argon ved -78°C ble dråpevis behandlet med klorsulfonsyre (80 ml, 1,2 mol) i 30 minutter. Etter tilsetningen ble blandingen brakt til 25°C i løpet av 30 minutter og holdt der i ytterligere 30 minutter. Til denne oppslemming ble det tilsatt N-(t-butyloksykarbonyl)-N²-(fenylmetoksy)-L-3-hydroksyvalinamid (338,4 g, 1,0 mol) og omrøringen fortsatt i 2 timer. Til blandingen ble det tilsatt metylisobutylketon (800 ml), K₂B₄O₇ · 4 H₂O (1222 g, 4,0 mol) og vann (2700 ml), hvorefter blandingen ble oppvarmet til 70°C. Under oppvarmingen ble 2N kaliumhydroksyd (1000 ml, 2 mol) dråpevis tilsatt til blandingen i løpet av 45 minutter, hvorefter blandingen ble oppvarmet i ytterligere 55 minutter. Lagene ble

166860

26

separert og den vandige fase ekstrahert med 500 ml metylisobutylketon. De kombinerte organiske lagene ble avkjølt til 0°C, vasket med 3 liter kald 20% kaliumbisulfat, 1 liter isvann og en oppløsning av 50 g natriumbikarbonat og 100 g natriumklorid i 1 liter vann. Det organiske lag ble tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble krystallisert fra 1,75 liter isopropyleter for å gi 161 g av tittelforbindelsen, smp. 121-122°C, $[\alpha]_D = +21,06^\circ$ ($c = 2,55$, CH_2Cl_2).

H) (3S)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-1-hydroksy-4,4-dimetyl-2-azetidinon

En oppløsning av 14,77 g (0,0461 mol) (3S)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-1-(fenylmetoksy)-2-azetidinon i 15 ml etanol og 85 ml etylacetat ble hydrogenert over 0,75 g 5% palladium-på-kull katalysator i 1,5 timer ved 1 atm. Reaksjonsblandingen ble filtrert og konsentrert for å gi et hvitt faststoff. Omkrystallisasjon fra etylacetat ga 8,82 g av tittelforbindelsen, smp. 148-149°C, $[\alpha]_D = +31^\circ$ ($c = 1$, etylacetat).

I) (3S)-3-(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, tetrabutylammoniumsalt

Ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 1 men benytte (3S)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-1-hydroksy-4,4-dimetyl-2-azetidinon i stedet for (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-1-hydroksy-4,4-dimetyl-2-azetidinon ble tittelforbindelsen oppnådd som et skum.

J) (3S)-3-amino-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat

Ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 1, del I, men benytte (3S)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, tetrabutylammoniumsalt i stedet for (±)-3-[(t-butyloksykarbonyl)amino]-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, tetrabutylammoniumsalt, ble tittelforbindelsen oppnådd. Omkrystallisasjon av en liten prøve fra etanol/vann ga tittelforbindelsen som et krystallinsk faststoff, smp. 140-142°C (dekomp.),

$[\alpha]_D = 74,8^\circ$ ($c = 1$, H_2O).

K) [3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester, tetrabutylammoniumsalt

Til en oppløsning av 2-amino- α -[[[1-(difenylmetoksy)-karbonyl]etenyl]oksy]imino]-4-tiazolediksyre (1,423 g,

3,36 mmol) og trietylamin (0,404 g, 3,88 mmol) under argon ved -30°C ble det tilsatt difenylklorfosfat (0,902 g, 3,36 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved -30°C i 1 time for å danne det blandede anhydrid. (3S)-3-amino-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat (0,706 g, 3,36 mmol) ble oppløst i 4 ml dimetylformamid ved 0°C og denne oppløsning og trietylamin (0,404 g, 3,88 mmol) ble samtidig tilsatt til den blandede anhydridoppløsningen ved -30°C . Reaksjonsblandingen ble langsomt oppvarmet til 0°C i løpet av 1 time. Reaksjonsblandingen ble behandlet med trietylamin (0,338 g, 3,36 mmol) og deretter konsentrert i vakuum. Residuet ble behandlet med vann for å gi en gummi som ble separert fra det vandige lag og vasket med mer vann. Gummien ble oppløst i 100 ml metylenklorid og ristet med en oppløsning av tetrabutylammoniumhydrogensulfat (1,14 g, 3,36 mmol) i 30 ml vann. Den organiske fase ble fraskilt og vasket tre ganger med vann, tørket over natriumsulfat og inndampet til et skum. Skummet ble oppløst i 30 ml metylenklorid og fortynnet til 120 ml med etylacetat. Tittelforbindelsen krystalliserte som 1,73 g av et hvitt faststoff, smp. $170-172^{\circ}\text{C}$.

L) [3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre

En oppløsning av [3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester, tetrabutylammoniumsalt (2,17 g, 2,54 mmol) i metylenklorid (24 ml) og anisol (1 ml) ble ved -12°C behandlet med trifluorediksyre (8 ml) og reaksjonsblandingen deretter omrørt ved -10°C under argon i 1 time. Blandingen ble dråpevis behandlet med 60 ml etylacetat og den gjenværende oppslemming omrørt i 20 minutter og deretter filtrert og vasket med etylacetat og heksan. Etter lufttørring ble faststoffet oppslemmet med 50 ml vann ved 20°C hvorved det innen få minutter dannet seg krystaller. Etter krystallisasjon ble oppløsningen filtrert og faststoffet vasket

166860

28

med vann og tørket i vakuum for å gi 0,9 g av tittelforbindelsen, smp. 140-170°C (decomp.).

Eksempel 3

(±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-okso-2-[[2-okso-1-(sulfo-
oksy)-1-azaspiro[3.3]hept-3-yl]amino]etyliden]amino]oksy]-2-
propensyre

A) N-(t-butoksykarbonyl)-α-(1-hydroksycyklobutyl)glycin,
benzylester

En oppløsning av diisopropylamin (9,7 ml, 70 mmol) i 150 ml tørr tetrahydrofuran ble ved -40°C under argon behandlet med 39 ml (64,5 mmol) 1,71N n-butyllitium i heksan og den blekgule oppløsning ble omrørt ved -40°C i 20 minutter. Oppløsningen ble avkjølt til -78°C og en oppløsning av 7,95 g (30 mmol) N-(t-butoksykarbonyl)glycin, benzylester i 30 ml tørr tetrahydrofuran ble dryppet inn i løpet av 5 minutter, hvilket resulterte i en mørk gul oppløsning, og, etter 20 minutter, en lett uklarhet. Etter 0,5 timer ble en oppløsning av 2,42 g (2,0 ml, 34,5 mmol) cyklobutanon i 30 ml tetrahydrofuran tilsatt. Den resulterende gule uklare blandingen ble omrørt ved -78°C i 15 minutter og deretter anbrakt i et 0°C isbad i 2 timer. Ved en innvendig temperatur på -25°C (1 time) ble oppløsningen klar og ved -15°C gikk den over i mørk purpur. Den ble omrørt ved 0°C i 0,5 timer og deretter behandlet med 3,96 g (66 mmol) iseddik i 15 ml tetrahydrofuran, hvilket ga en uklar, lysegul blanding. Denne ble helt over i 500 ml kaldt vann og ekstrahert to ganger med etylacetat. Ekstraktene ble vasket med 2% kaliumbisulfat, 5% natriumbikarbonat og saltvann, tørket (natriumsulfat) og inndampet til en tykk olje. Kromatografi på 800 ml LPS-1 i heksan:etylacetat (2:1) og kombinasjon av produktholdige fraksjoner ga 7,8 g produkt som en olje.

B) N-(t-butoksykarbonyl)-α-(1-hydroksycyklobutyl)glycin

N-(t-butoksykarbonyl)-α-(1-hydroksycyklobutyl)glycin, benzylester (7,8 g, 23,3 mmol) ble hydrogenert ved 1 atm. over 1,0 g 10% palladium-på-kull i 150 ml absolutt etanol i 4 timer ved 25°C. Katalysatoren ble frafiltrert og oppløsningsmidlet inndampet i vakuum. Benzen ble tilsatt og inndampet to ganger for å gi 5,0 g produkt som et hardt skum.

C) N-(benzyloksy)-N²-(t-butoksykarbonyl)- α -(1-hydroksyzyklobutyl)glycinamid

N-(t-butoksykarbonyl)- α -(1-hydroksyzyklobutyl)glycin (5,0 g, 20,4 mmol) ble oppløst i 150 ml tørr tetrahydrofuran under argon. Hydroksybenzotriazolhydrat (3,12 g, 20,4 mmol) ble tilsatt og blandingen avkjølt til 0°C og deretter behandlet med 4,20 g (20,4 mmol) dicykloheksylkarbodiimid. Etter 1,75 timer ved 0°C ble en oppløsning av O-benzylhydroksylamin i 15 ml tetrahydrofuran tilsatt og blandingen ble omrørt ved 0-25°C i 17 timer. Tetrahydrofuranblandingen ble deretter avkjølt til -10°C i 20 minutter og det resulterende faststoff frafiltrert og vasket med tørr tetrahydrofuran. Filtratet ble inndampet og residuet tatt opp i etylacetat og vasket raskt med 2% kaliumbisulfat, saltvann, 5% natriumbikarbonat og saltvann og deretter tørket (natriumsulfat) og inndampet til et skum. Utgnidning med isopropyleter ga 4,69 g produkt som et hvitt faststoff, smp. 95-97°C.

D) 1-(benzyloksy)-3-[(t-butoksykarbonyl)amino]-2-okso-1-azaspiro[3.3]heptan

N-(benzyloksy)-N²-(t-butoksykarbonyl)- α -(1-hydroksyzyklobutyl)glycinamid (3,50 g, 10 mmol) i 200 ml tørr tetrahydrofuran ved 0°C under argon ble behandlet med 2,4 ml (15 mmol) dietylazodikarboksylat og deretter med en oppløsning av trifenyfosfin (5,2 g, 20 mmol) i 50 ml tetrahydrofuran i løpet av 10 minutter, og blandingen ble omrørt ved 0°C i 1 time. Den gule farven holdt seg og 0,52 g (2 mmol) trifenyfosfin til ble derfor tilsatt. Etter 15 minutter ga inndampning i vakuum en olje. Utgnidning med 100 ml heksan:etylacetat (2:1) ga et hvitt faststoff som ble frafiltrert. Kromatografi av filtratet på 800 ml LPS-1 ga produktholdige fraksjoner [R_f = 0,8 i heksan:etylacetat (1:1)] forurenset med en nesten medløpende urenhet som ble fjernet ved utgnidning med isopropyleter, hvorved produktet ble oppnådd som et hvitt faststoff, 1,07 g, smp. 156-157°C.

E) 3-[(t-butoksykarbonyl)amino]-2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]heptan, mononatriumsalt

1-(benzyloksy)-3-[(t-butoksykarbonyl)amino]-2-okso-1-azaspiro[3.3]heptan (1,07 g, 3,22 mmol) ble hydrogenert ved 1 atm. i 30 ml absolutt etanol over 0,4 g 10% palladium-på-kull i 3 timer ved 25°C. Katalysatoren ble frafiltrert og oppløsnings-

166860

30

midlet fjernet i vakuum ved 10°C for å gi et faststoff. Faststoffet ble tatt opp i 19 ml tørr pyridin og behandlet med 1,44 g (9 mmol) pyridin-svoveltrioksyd ved 25°C under argon. Etter 4 timer ble de flyktige stoffer fjernet i vakuum, residuet tatt opp i vann og pH (5,40) justert til 6,45 med fortynnet natriumbikarbonat. Etter passasje gjennom en 40 ml Dowex AG50 (K⁺) kolonne i vann, eluerte produktet innen 300 ml. Lyofilisering ga et hvitt faststoff som ble kromatografert på HP-20, først i vann og deretter med en økende acetongradient (20%). Produktholdige fraksjoner ble lyofilisert for å gi 0,75 g produkt som et hvitt pulver.

F) 3-amino-2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]heptan

3-[(t-butoksykarbonyl)amino]-2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]heptan, mononatriumsalt (0,3 g, 0,87 mmol) ble oppslemmet i 2,5 ml tørr diklormetan og 1,0 ml anisol ved -10°C under argon, og deretter behandlet med 4,0 ml trifluoreddiksyre. Etter 0,5 timer var et faststoff dannet. Etter 1,5 timer ble 4 ml tørr toluen tilsatt, og blandingen ble inndampet i vakuum for å gi et faststoff, 3-amino-2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]heptan som ble utgitt to ganger med heksan og tørket i vakuum ved 25°C i 1 time.

G) (±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-okso-2-[[2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]hept-3-yl]amino]etyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester, tetrabutylammoniumsalt

Ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 2, del K, men benytte 3-amino-2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]heptan i stedet for (3S)-3-amino-4,4-dimetyl-2-okso-1-azetidinylsulfat, ble tittel-forbindelsen oppnådd.

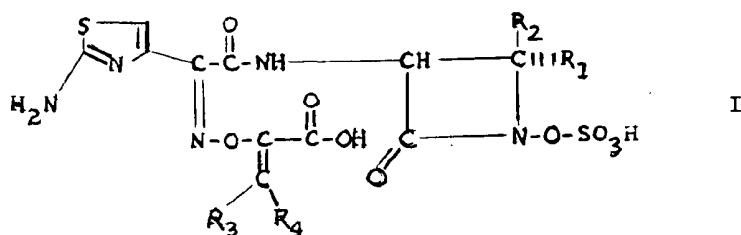
H) (±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-okso-2-[[2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]hept-3-yl]amino]etyliden]amino]oksy]-2-propensyre

Ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 2, del L, men benytte (±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-okso-2-[[2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]hept-3-yl]amino]etyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester, tetrabutylammoniumsalt i stedet for [3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-

1-(sulfooksy)-3-azetidinyl]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, difenylmetylester, tetrabutylammoniums salt og kromatograferer bunnfallet fra etylacetatfortynningen på HP-20 resin i stedet for omkrystallisasjon fra vann, ble tittelforbindelsen oppnådd, smp. 170-200°C. (dekomp.)

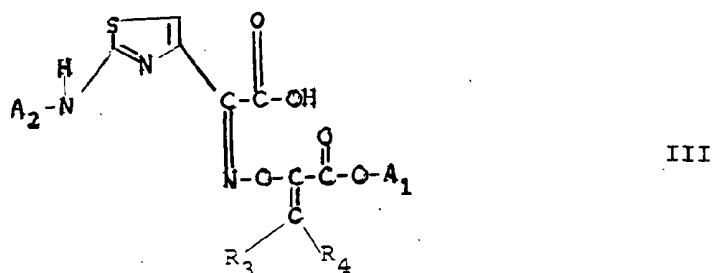
P a t e n t k r a v

1. Analogifremgangsmåte for fremstilling av en terapeutisk aktiv forbindelse med formelen:



hvor R_1 og R_2 er like eller forskjellige og er hver hydrogen eller C_1 - C_4 -alkyl eller R_1 og R_2 sammen danner $-(CH_2)_n-$ hvor n er 2, 3, 4, 5 eller 6; og

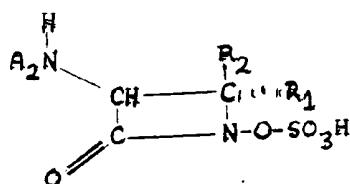
R_3 og R_4 er like eller forskjellige og er hver hydrogen eller alkyl med 1-3 karbonatomer, karakterisert ved at en forbindelse med formelen



hvor R_3 og R_4 er som angitt ovenfor, A_1 er en karboksyl-beskyttende gruppe, og A_2 er hydrogen eller en amino-beskyttende gruppe, kobles med et β -laktam med formelen

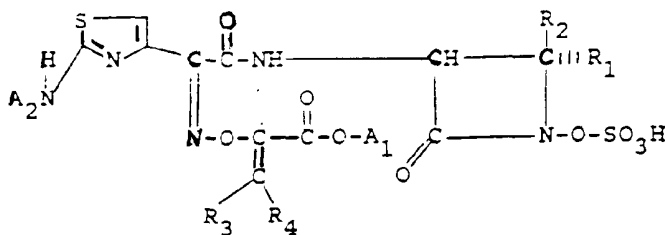
166860

32



IV

hvor R_1 , R_2 og A_2 er som ovenfor angitt, og beskyttelsesgruppen(e) fjernes fra den resulterende forbindelse med formelen:



V

hvor R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , A_1 og A_2 er som definert ovenfor.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, for fremstilling av [3S(Z)]-2-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-[[4,4-dimetyl-2-okso-1-(sulfooksy)-3-azetidiny]amino]-2-oksoetyliden]amino]oksy]-2-propensyre, karakterisert ved at man anvender tilsvarende utgangsmaterialer.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, for fremstilling av (±)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-tiazolyl)-2-okso-2-[[2-okso-1-(sulfooksy)-1-azaspiro[3.3]hept-3-yl]amino]etyliden]amino]oksy]-2-propensyre, karakterisert ved at man anvender tilsvarende utgangsmaterialer.