

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

SYNTHESE NEUER CARBAPENEM-ANTIBIOTIKA

von

SUSANNE SCHLAF

aus München

2008

ERKLÄRUNG

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 der Promotionsordnung vom
29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. H. R. Pfaendler betreut.

EHRENWÖRTLICHE VERSICHERUNG

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 29.10.2008

A handwritten signature in black ink that reads "Susanne Schlaf". The script is cursive and fluid, with the first name "Susanne" and the last name "Schlaf" clearly legible.

SUSANNE SCHLAF

Dissertation eingereicht am 31.10.2008

1. Gutachter: PROF. DR. H. R. PFAENDLER
2. Gutachter: PROF. DR. M. HEUSCHMANN

Mündliche Prüfung am 27.11.2008

NICOLE RUBIN

**30.03.1976 – †9.01.2003*

Die vorliegende Arbeit wurde auf Vorschlag und unter Anleitung von
HERRN PROF. DR. H. R. PFAENDLER
am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München
im Zeitraum von März 2005 bis August 2008 durchgeführt.

DANKSAGUNG

Meinem verehrten Doktorvater danke ich für seinen erfahrenen, wissenschaftlichen Rat und für die vielen Anregungen, mit Kreativität neue, auch fachübergreifende Problemstellungen zu lösen. Die angenehme Arbeitsatmosphäre und die engagierte Betreuung werden mir in wertvoller Erinnerung bleiben.

Herrn Prof. Dr. Heuschmann danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Kollegen Herrn Rainer Hartung, Herrn Gregor Golz und Herrn Emanuel Schumi für ihre Hilfsbereitschaft, das tolle Arbeitsklima und die humorvolle Zusammenarbeit. Ein ganz besonderer Dank gilt der Stüberl-Crew für die tatkräftige, wissenschaftliche, technische und vor allem persönliche Unterstützung. Ich werde mich immer wieder gerne an unsere Diskussionsrunden mit chemischen Fragen und kulinarischen Hochgenüssen erinnern! Frau Ulla Hülsmann danke ich zudem für unsere wunderbaren und wertvollen Gespräche bei einem Kaffee. Danke für die sehr schöne Zeit!

Bei meinen Forschungspraktikanten Daniel Benker, Gerhard Kuhn, Matthias Schneider, Tobias Mayer und Stephan Schlamp bedanke ich mich für ihre engagierte Mitarbeit.

Danken möchte ich auch den Mitarbeitern der analytischen Abteilung am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München, sowie allen Leuten, die mich in dieser Zeit in irgendeiner Art und Weise unterstützt haben und somit zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

Ein besonderer Dank geht an meine Freunde - die Besten, die man sich wünschen kann – dafür, dass sie immer für mich da sind.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie danken:

Meinen Eltern, die mich nicht nur während meiner Promotion, sondern Zeit meines Lebens unterstützt haben. Ohne sie wäre all dies (einschließlich mir) nicht möglich gewesen.

Meinem Mann Henrik für seine Liebe und seinen Glauben an mich, seine allgegenwärtige Hilfe und sein Zuspruch in allen Lebenslagen.

*Keine Zukunft vermag gut zu machen,
was du in der Gegenwart versäumst.*

Albert Schweitzer

Inhaltsverzeichnis

Allgemeiner Teil	1
1 Einleitung	1
2 Verschiedene β -Lactam-Grundstrukturen.....	3
3 Carbapeneme.....	4
4 Wirkungsmechanismus der β -Lactam-Antibiotika	7
4.1 Aufbau der Bakterienzellwand	7
4.2 Biosynthese der Bakterienzellwand	10
4.3 Hemmung der Zellwandsynthese.....	12
5 β -Lactam-Antibiotikaresistenz	13
5.1 Resistenzarten	13
5.2 Resistenzmechanismen	15
5.3 β -Lactamasen	15
5.3.1 Einteilung der β -Lactamasen	16
5.3.2 Wirkung der β -Lactamasen.....	17
5.3.3 β -Lactamase-Inhibitoren	18
5.3.4 Chromosomale und plasmidische β -Lactamasen.....	19
6 Struktur-Wirkungsbeziehung.....	20
Spezieller Teil	23
1 Forschungsziel.....	23
1.1 Problemkeim <i>Staphylococcus aureus</i>	23
1.2 Aufgabenstellung.....	25
2 Synthese der (<i>N</i> -Heterozyklyl-methylsulfanyl)-Carbapeneme 4a-g.....	26
2.1 Auswahlkriterien der Reste R.....	26
2.2 Syntheseplanung	31
2.2.1 Darstellung der 1 β -Methyl-Carbapeneme	31
2.2.2 Darstellung der Thiole	33
2.2.3 Darstellung der Chloride.....	34

2.3	Synthese	35
2.3.1	Synthese der Chloride.....	35
2.3.2	Synthese der Thiole	45
2.3.3	Synthese der 1 β -Methyl-Carbapeneme	50
3	Synthese des (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenems 4j.....	53
3.1	Auswahlkriterium	53
3.2	Syntheseplanung	54
3.3	Synthese	58
3.3.1	Acetamidoxim (9)	58
3.3.2	3-Methyl-4 <i>H</i> -[1,2,4]oxadiazol-5-on (5j).....	59
3.3.3	4-Hydroxymethyl-3-methyl-4 <i>H</i> -[1,2,4]oxadiazol-5-on (6j).....	60
3.3.4	Thioessigsäure- <i>S</i> -(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-ylmethyl)ester (8j)	62
3.3.5	4-Mercaptomethyl-3-methyl-4 <i>H</i> -[1,2,4]oxadiazol-5-on (2j)	63
3.3.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-(3-methyl-5-oxo- [1,2,4]oxadiazol- 4-yl-methylsulfanyl)-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept- 2-en-2-carbonsäure-4-nitro-benzylester (3j)	64
3.3.7	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3-(Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-6-[(1' <i>R</i>)-1-hydroxy- ethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure (4j).....	65
4	Synthese des Thioessigsäure- <i>S</i> -iodmethylesters (13)	66
4.1	Syntheseplanung	66
4.2	Synthese	66
4.2.1	Thioessigsäure- <i>S</i> -hydroxymethylester (11).....	66
4.2.2	Thioessigsäure- <i>S</i> -chlormethylester (12).....	67
4.2.3	Thioessigsäure- <i>S</i> -iodmethylester (13).....	67
5	Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems (4k)	68
5.1	Auswahlkriterium	68
5.2	Syntheseplanung	69
5.3	Synthese	72
5.3.1	Testansatz: Acetonyl-geschütztes Penicillin G	72
5.3.2	Testansatz: Spaltung des Acetonyl-geschützten Penicillin G	72
5.3.3	3-Chlormethoxypropin (7k)	73
5.3.4	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran- 2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro- benzylester (14)	74

5.3.5	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydro- pyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (15)	74
5.3.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydro- pyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo- propylester (16)	75
5.3.7	Silber-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-2-(2-oxo- propoxy-carbonyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-3-thiolat (17).....	75
5.3.8	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(prop-2-inyloxy- methyl-sulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo- propylester (18)	76
5.3.9	Natrium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3- (prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en- 2-carboxylat (4k)	76
6	Diskussion und zusammenfassender Vergleich der synthetisierten Carbapeneme	77
	Experimenteller Teil.....	84
1	Allgemeine Arbeitstechnik.....	84
1.1	Physikalische Messgeräte und Methoden	84
1.2	Reagenzien und Lösungsmittel.....	87
1.3	Präparative Methodik.....	87
1.4	Chromatographische Verfahren.....	88
1.5	Bestimmung der Hydrolyse-Halbwertszeiten	88
1.6	Plattendiffusionstests.....	92
2	Synthese des (2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4c	94
2.1	1-Chlormethyl-pyrrolidin-2-on (7c)	94
2.2	Thioessigsäure- <i>S</i> -(2-oxo-pyrrolidin-1-ylmethyl)-ester (8c).....	95
2.3	1-Mercaptomethyl-pyrrolidin-2-on (2c).....	97
2.4	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl- methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro- benzylester (3c)	98
2.5	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo- pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en- 2-carboxylat (4c).....	100

3	Synthese des ((<i>S</i>)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)- Carbapenems 4a	102
3.1	Kohlensäure-4-nitrobenzylester-(<i>S</i>)-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester (5h).....	102
3.2	Kohlensäure-(<i>S</i>)-(1-hydroxymethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (6h).....	104
3.3	Kohlensäure-(<i>S</i>)-(1-chlormethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (7h).....	105
3.4	Thioessigsäure- <i>S</i> -[(<i>S</i>)-4-(4-nitrobenzyloxycarbonyloxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl- methyl]-ester (8h)	107
3.5	Kohlensäure-(<i>S</i>)-(1-mercaptomethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (2h).....	108
3.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-[(<i>S</i>)-4-(4-nitrobenzyloxy- carbonyl-oxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-7-oxo-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3h).....	110
3.7	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-3-[(<i>S</i>)-4-hydroxy-2-oxo- pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4a)	112
4	Synthese des ((<i>R</i>)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)- Carbapenems 4b	114
4.1	Kohlensäure-4-nitrobenzylester-(<i>R</i>)-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester (5i).....	114
4.2	Kohlensäure-(<i>R</i>)-(1-hydroxymethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (6i)	116
4.3	Kohlensäure-(<i>R</i>)-(1-chlormethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (7i).....	117
4.4	Thioessigsäure- <i>S</i> -[(<i>R</i>)-4-(4-nitrobenzyloxycarbonyloxy)-2-oxo-pyrrolidin-1- ylmethyl]-ester (8i).....	119
4.5	Kohlensäure-(<i>R</i>)-(1-mercaptomethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitro- benzylester (2i).....	120
4.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-[(<i>R</i>)-4-(4-nitrobenzyloxy- carbonyl-oxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-7-oxo-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3i).....	122
4.7	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-3-[(<i>R</i>)-4-hydroxy-2-oxo- pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4b)	124

5	Synthese des (2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4d	126
5.1	1-Hydroxymethyl-pyrrolidin-2,5-dion (6d).....	126
5.2	1-Chlormethyl-pyrrolidin-2,5-dion (7d).....	127
5.3	Thioessigsäure-S-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-ylmethyl)-ester (8d).....	128
5.4	1-Mercaptomethyl-pyrrolidin-2,5-dion (2d)	130
5.5	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3-(2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxy-ethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro-benzylester (3d).....	131
5.6	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxy-ethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4d)	133
6	Synthese des (2-Oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4e.....	135
6.1	3-Hydroxymethyl-oxazolidin-2-on (6e)	135
6.2	3-Chlormethyl-oxazolidin-2-on (7e)	136
6.3	Thioessigsäure-S-(2-oxo-oxazolidin-3-ylmethyl)-ester (8e)	137
6.4	3-Mercaptomethyl-oxazolidin-2-on (2e).....	139
6.5	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro-benzylester (3e).....	140
6.6	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4e)	142
7	Synthese des (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4f.....	144
7.1	3 <i>H</i> -[1,3,4]Oxadiazol-2-on (5f).....	144
7.2	3-Hydroxymethyl-3 <i>H</i> -[1,3,4]oxadiazol-2-on (6f).....	145
7.3	3-Chlormethyl-3 <i>H</i> -[1,3,4]oxadiazol-2-on (7f).....	146
7.4	Thioessigsäure-S-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-ylmethyl)-ester (8f)	148
7.5	3-Mercaptomethyl-3 <i>H</i> -[1,3,4]oxadiazol-2-on (2f)	149
7.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro-benzylester (3f).....	151
7.7	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4f)	153

8	Synthese des (2-Oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4g	155
8.1	1-Hydroxymethylazetidin-2-on (6g)	155
8.2	1-Chlormethylazetidin-2-on (7g)	156
8.3	Thioessigsäure-S-(2-oxo-azetidin-1-ylmethyl)-ester (8g)	157
8.4	Mercaptomethylazetidin-2-on (2g)	159
8.5	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3g)	160
8.6	Natrium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4g)	162
9	Synthese des (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenems 4j	164
9.1	Acetamidoxim (9)	164
9.2	3-Methyl-4 <i>H</i> -[1,2,4]oxadiazol-5-on-Natriumsalz (10)	165
9.3	Thioessigsäure-S-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-ylmethyl)ester (8j)	166
9.4	4-Mercaptomethyl-3-methyl-4 <i>H</i> -[1,2,4]oxadiazol-5-on (2j)	168
9.5	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-yl-methylsulfanyl)-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3j)	169
9.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3-(Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure (4j)	171
10	Synthese des Thioessigsäure-S-iodmethylesters (13)	173
10.1	Thioessigsäure-S-hydroxymethylester (11)	173
10.2	Thioessigsäure-S-chlormethylester (12)	174
10.3	Thioessigsäure-S-iodmethylester (13)	175
11	Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems 4k	177
11.1	3-Chlormethoxypropin (7k)	177
11.2	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-yl-sulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (14)	178
11.3	Kalium-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (15)	180

11.4	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran- 2-yl-sulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (16).....	181
11.5	Silber-(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-2-(2-oxo-propoxy-carbonyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-3-thiolat (17).....	184
11.6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1' <i>R</i>)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(prop-2-inyloxy-methyl-sulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (18).....	185
	Zusammenfassung	187
1	Synthese der (<i>N</i> -Heterozyklyl-methylsulfanyl)-Carbapeneme 4a-g.....	188
2	Synthese des (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenems 4j.....	191
3	Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems 4k.....	192
	Anhang.....	195
1	Einkristall-Strukturanalysen.....	195
2	Abkürzungsverzeichnis	200
3	Strukturverzeichnis	201
4	Literaturverzeichnis	210

Allgemeiner Teil

1 Einleitung

Carbapeneme sind die wirksamste Klasse der β -Lactam-Antibiotika. Die Bezeichnung „ β -Lactam“ weist auf das gemeinsame Strukturmerkmal dieser Antibiotikaklasse hin: den viergliedrigen β -Lactamring.



Abbildung 1: β -Lactamring

Antibiotika sind chemische Verbindungen, die infektiöse Organismen abtöten oder in ihrem Wachstum hemmen, ohne auf den Menschen toxisch zu wirken. Der Begriff leitet sich aus dem Griechischen ab und bedeutet annähernd: „gegen etwas Lebendes“ (anti = gegen, biotikos = zum Leben gehörig).¹

Man unterscheidet zwischen *Bakteriziden* (= Bakterien tötende Antibiotika) und *Bakteriostatika* (= wachstumshemmende Antibiotika). *Bakterizide* blockieren einen lebensnotwendigen Stoffwechselfvorgang in den Bakterien. *Bakteriostatika* hingegen töten primär keine Zellen, sondern hindern sie daran, sich zu vermehren. An der Wachstumshemmung sterben sie dann ebenfalls.¹

Ursprung der β -Lactam-Antibiotika ist das Penicillin. Die Entdeckung dieses ersten Antibiotikums im September 1928 war das Ergebnis eines Zufallsbefundes. Der britische Bakteriologe Alexander Fleming (1881-1955) entdeckte auf einem mit Staphylokokken kultivierten Nährboden, der mit einem Schimmelpilz der Gattung *Penicillium notatum* verunreinigt war, dass in einem nahezu kreisrunden Bereich um die Pilzkolonie herum kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte. Fleming schloss aus seiner Beobachtung, dass es eine vom Pilz produzierte Substanz geben müsse, die dem Bakterienwachstum entgegenwirkt und überimpfte die Pilzkolonie auf ein flüssiges Nährmedium, um den Hemmstoff genauer zu untersuchen.

Dabei stellte er fest, dass die vom Pilz abgegebene Substanz löslich ist. Die so angereicherte Nährlösung wirkte sich ebenfalls hemmend auf das Wachstum bestimmter Bakterien aus, zeigte aber keinen Einfluss auf tierische Zellen.²

Flemings Forschungsergebnisse, in denen er die antibakterielle Wirkung der von ihm als "Penicillin" bezeichneten Substanz beschreibt und auf ihre mögliche Bedeutung für die Behandlung bakterieller Infektionen hinweist, wurden erstmalig im Juni 1929 veröffentlicht. Seine Entdeckung fand jedoch zunächst kaum Beachtung.^{2,3}

Erst ca. 12 Jahre später, also um 1940, erarbeiteten die Arbeitsgruppen um Florey und Chain, ausgehend von Flemings Beobachtungen, applizierbare Medikamente. 1941 wurden Penicillinpräparate erstmals therapeutisch eingesetzt. 1945 erhielt Fleming zusammen mit zwei anderen Wissenschaftlern den Nobelpreis für Physiologie und Medizin für die Entdeckung des Penicillins.^{2,4}

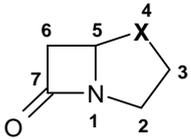
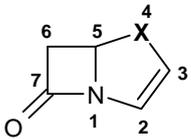
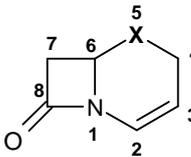
Aufgrund bakterieller Resistenzentwicklung wurden seit der Einführung des Penicillins, als erstes β -Lactam-Antibiotikum, zahlreiche weitere β -Lactam-Verbindungen entwickelt und zum Teil für die Therapie nutzbar gemacht. Dadurch war es nötig, eine systematische Klassifizierung für β -Lactam-Antibiotika einzuführen.

2 Verschiedene β -Lactam-Grundstrukturen⁵

Wie in der Einführung erläutert, liegt allen β -Lactam-Antibiotika der β -Lactam-Ring zu Grunde. Die Einteilung dieser Antibiotika in verschiedene Gruppen erfolgt nun durch die Art der an diesem Ring anellierten Fünf- oder Sechsringe.

In der folgenden Aufstellung sind die verschiedenen Grundstrukturen abgebildet und nach IUPAC nummeriert und benannt. Hinter den systematischen Bezeichnungen der Verbindungen sind die Trivialnamen aufgelistet, die bevorzugt verwendet werden.⁶

Tabelle 1: β -Lactam-Grundstrukturen

	X = S	4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-7-on	Penam
	X = CH ₂	1-Azabicyclo[3.2.0]heptan-7-on	Carbapenam
	X = O	4-Oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-7-on	Oxapenam
	X = S	4-Thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-7-on	Penem
	X = CH ₂	1-Azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-7-on	Carbapenem
	X = O	4-Oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-7-on	Oxapenem
	X = S	5-Thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-8-on	Cephem
	X = CH ₂	1-Azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-8-on	Carbacephem
	X = O	5-Oxa-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-8-on	Oxacephem

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt die Benennung der Substanzen im Experimentellen Teil nach der IUPAC-Nomenklatur, im Speziellen Teil und in sonstigen Textpassagen werden die Trivialnamen verwendet.

Das ursprünglich aus dem Schimmelpilz der Gattung *Penicillium notatum* isolierte Penicillin erwies sich als Gemisch aus fünf verschiedenen Penam-Verbindungen. Von diesen fünf Penicillinen der ersten Stunde sind heute nur noch Penicillin G und Penicillin V von praktischer Bedeutung. Aus ihnen kann durch chemische oder enzymatische Spaltung die 6-Aminopenicillansäure (6-APA) hergestellt werden, die den Ausgangspunkt für tausende von Penicillin-Derivaten darstellt.⁷

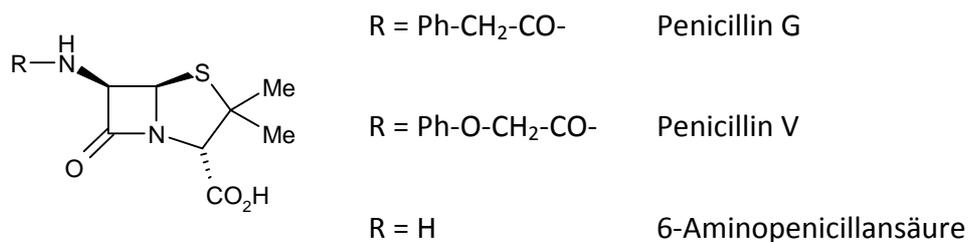


Abbildung 2: Bestandteile des isolierten Penicillins aus *Penicillium notatum*

3 Carbapeneme

Einen wesentlichen Fortschritt in der Antibiotika-Therapie stellt die Gruppe der Carbapeneme dar. Bei dieser Klasse wurde der Schwefel des Bicyclus durch ein Kohlenstoffatom ersetzt und eine Doppelbindung in Position 2 eingeführt.

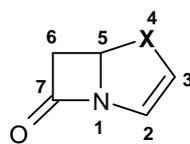


Abbildung 3: Carbapenem-Grundkörper

Die Carbapeneme vereinigen in sich die Breitbandwirkung von Penicillinen und Cephalosporinen.⁸ Ihr Wirkungsspektrum umfasst damit sowohl Gram-positive als auch Gram-negative Erreger bei verbesserter Stabilität gegenüber β -Lactamase-Enzymen.⁹ Diese Enzyme werden von zahlreichen Bakterien gebildet, und sind in der Lage die β -Lactam-Bindung hydrolytisch zu spalten und dadurch das Antibiotikum zu inaktivieren. Damit spielen sie eine bedeutende Rolle bei der Bildung von Resistenzen von Bakterien (siehe S. 13).¹⁰

Thienamycin war das erste isolierte Carbapenem. Es handelt sich um ein hochaktives Fermentationsprodukt von *Streptomyces cattleya*.⁶

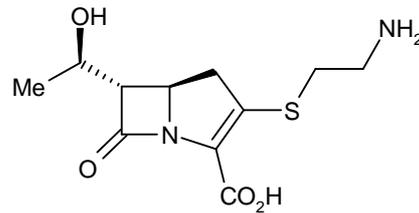


Abbildung 4: Thienamycin

Die Verbindung weist, im Unterschied zu den natürlich vorkommenden Penicillinen, eine 5,6-*trans*-Verknüpfung auf. Am C6-Kohlenstoff des Bicyclus befindet sich eine (1'*R*)-Hydroxyethylgruppe.

Thienamycin besitzt eine hohe und breite antibiotische Aktivität gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien.⁶ Auch gegen β -Lactamase-produzierende Bakterien zeigt es hohe Aktivität.¹¹ Allerdings findet in wässriger Lösung bei höheren Konzentrationen leicht eine intermolekulare Öffnung des β -Lactamrings durch die freie Aminogruppe der Cysteamin-Seitenkette statt.¹²

Imipenem (Formimidoylthienamycin) stellt eine Weiterentwicklung des Thienamycins dar.

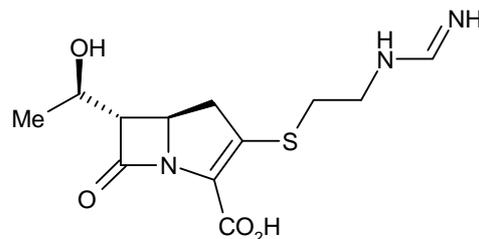


Abbildung 5: Imipenem

Die stärker basische Amidinfunktion liegt im Bereich des physiologischen pH-Wertes protoniert vor. Dadurch wird ein nukleophiler Angriff verhindert.

Aufgrund der hohen chemischen Stabilität und der breiten antibiotischen Wirksamkeit knüpfte man hohe Erwartungen an die Verbindung im klinischen Bereich. Allerdings stellte sich heraus, dass im menschlichen Körper ein rascher Abbau durch Dehydropeptidase-1 (DHP-1) erfolgt.¹²

Es handelt sich dabei um ein körpereigenes Enzym, welches für den Abbau der verabreichten Antibiotika in den Nieren verantwortlich ist.¹³

Durch Kombination von Imipenem mit dem DHP-1-Hemmer Cilastatin, ein Heptancarbonsäure-Derivat, kann ein schneller metabolischer Abbau unterbunden werden. Das handelsübliche Imipenem besteht aus gleichen Teilen Imipenem und Cilastatin. Cilastatin selbst ist unwirksam gegen Bakterien.

Mitte der 90er Jahre kam mit Meropenem das erste Carbapenem der „zweiten Generation“ auf dem Markt. Meropenem kann ohne weitere Zusatzstoffe verabreicht werden. Durch Einführen einer β -Methyl-Gruppe in Position 4 des Bicyclus konnte die Stabilität gegen die menschliche DHP-1 deutlich erhöht werden.³⁶

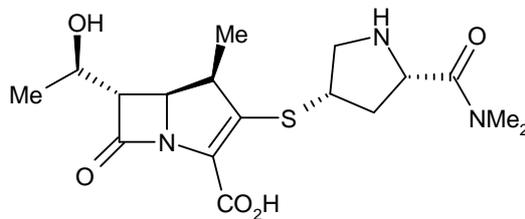


Abbildung 6: Meropenem

Meropenem besitzt ähnlich wie Imipenem eine hohe und breite antibiotische Aktivität gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien, mit Ausnahme von *MRSA*, *Enterococcus faecium* und *Stenotrophomonas maltophilia*.⁶ Im Vergleich zu Imipenem weist Meropenem bei aeroben Gram-negativen Bakterien eine bessere Wirksamkeit auf, bei aeroben Gram-positiven Bakterien hingegen eine schlechtere.

Die Präparate Imipenem/Cilastatin und Meropenem werden häufig zur Behandlung schwerer bakterieller Infektionen durch mehrere und/oder unbekannte Keime eingesetzt. Die Applikation erfolgt intravenös, da beide Verbindungen eine schlechte orale Resorbierbarkeit vorweisen.

4 Wirkungsmechanismus der β -Lactam-Antibiotika^{14,15,16,17,18}

In der Einleitung wurde bereits darauf eingegangen, dass Antibiotika anhand ihrer Wirkungsweise in Bakteriostatika und Bakterizide eingeteilt werden können. Da die β -Lactam-Antibiotika Bakterien abtöten (und primär nicht an der Vermehrung hindern \rightarrow Bakteriostatika), zählen sie zur Gruppe der Bakterizide. Ihre Wirkung beruht auf der Blockierung eines Enzyms, welches für die Ausbildung einer neuen Zellwand bei den in der Teilungsphase befindlichen Bakterien notwendig ist. Die für den Zellwandabbau beteiligten Enzyme werden dabei nicht gehemmt. Durch den verstärkten Abbau der Zellwand kann die Zelle von autolysierenden Enzymen angegriffen werden. Es folgt die Lyse, die Auflösung der Zelle.

Um den Wirkungsmechanismus der β -Lactam-Antibiotika genauer beschreiben zu können, ist es notwendig näher auf den Aufbau der Bakterien einzugehen.

4.1 Aufbau der Bakterienzellwand^{14,15,16,17,18,19}

Bei der Betrachtung des Zellwandaufbaus muss zunächst zwischen Gram-positiven (z.B. Gattungen der Staphylokokken und Streptokokken) und Gram-negativen Bakterien (z.B. Gonokokken [Gonorrhö] und Meningokokken [Meningitis]) unterschieden werden. Beide Bakteriengruppen weisen als tragendes Element der Zellwand die Mureinschicht auf. Gram-negative Bakterien besitzen aber im Vergleich zu Gram-positiven Bakterien eine viel dünnere Schicht, welche von einer zusätzlichen zweiten Lipid-Membran bedeckt wird. Dieser abweichende Aufbau bedingt auch eine unterschiedliche Durchlässigkeit gegenüber verschiedenen organischen Substanzen. Während bei Gram-positiven Bakterien sowohl lipophile als auch hydrophile Substanzen relativ leicht ins Zellinnere eindringen können, ist die äußere Membran bei Gram-negativen Bakterien schwerer zu überwinden. Der Transport in die Zelle erfolgt über bestimmte Transportkanäle, den Porinen, die für polare Substanzen besser durchgängig sind.

Auf dem unterschiedlichen Aufbau der Zellwand der Bakterien beruht der von Gram, einem dänischen Arzt und Bakteriologen, entwickelte Färbetest und die daraus resultierende Einteilung in Gram-positive und Gram-negative Bakterien.

Das Prinzip der Gramfärbung basiert auf einem alkohollöslichen Lack (aus Kristallviolett, Phenol und Iod), der in die Mureinschicht der Zellwand der Bakterien interkaliert. Die Gram-positiven wie auch Gram-negativen Bakterien erscheinen nach dem Anfärben dunkelblau. Durch anschließendes Behandeln mit Ethanol werden die Gram-negativen Bakterien entfärbt, während die Färbung der Gram-positiven Bakterien erhalten bleibt. Der Alkohol wirkt hierbei lipidlösend, so dass bei Gram-negativen Bakterien die dünne Mureinhülle unter der zweiten Lipid-Membran freigelegt wird. Dadurch lässt sich der Farbstoffkomplex mit Ethanol leicht auswaschen. Um die Gram-negativen Bakterien sichtbar zu machen, werden diese mit einer Lösung von Fuchsin und Phenol behandelt, worauf sie rot erscheinen.¹⁹

Der Mureinsacculus (lat. „gemauerter Sack“)²⁰ ist ein Peptidoglykan aus kurzen Peptid- und längeren Zuckerketten (Glykan). Die Zuckerketten bestehen aus den β -1,4-glykosidisch verknüpften Aminozuckern: *N*-Acetylglukosamin (GlcNAc) und *N*-Acetylmuraminsäure (MurNAc). Die Verknüpfung der einzelnen Glykanstränge erfolgt über die Peptidketten (siehe Abbildung 7).

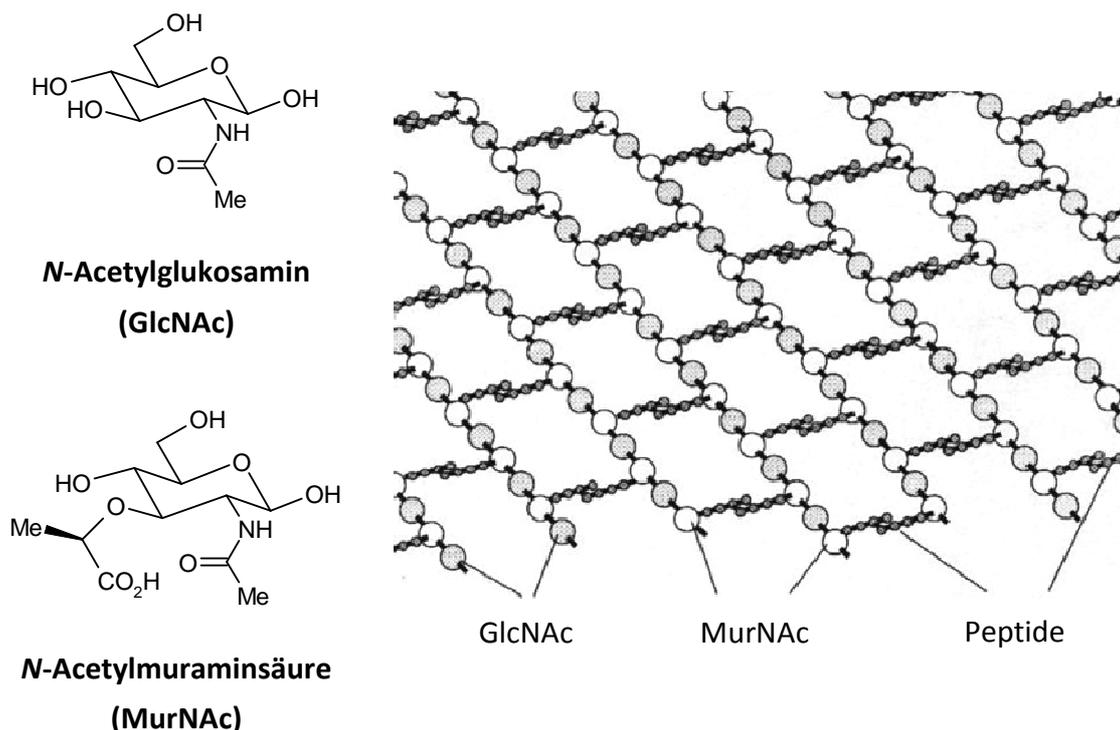


Abbildung 7: Peptidoglykan von Bakterien, schematische Darstellung

An die *N*-Acetylmuraminsäure sind kovalent Tetrapeptide aus D- und L-Aminosäuren gekoppelt. Diese Aminosäuren können bei den einzelnen Gattungen und Arten von Bakterien differieren.

Die Quervernetzung der Glykanstränge im Murein erfolgt über eine Peptidbindung zwischen einer Aminogruppe einer basischen Aminosäure (z. B. L-Lysin oder L,L-Diaminopimelinsäure als dritte Aminosäure des Tetrapeptids) und der freien Carboxylgruppe des terminalen D-Alanin-Restes eines anderen Muraminsäure-Tetrapeptids. Neben dieser direkten Isopeptidbindung können Tetrapeptidketten, vor allem bei Gram-positiven Bakterien, auch über ein Pentaglycin-Brückenpeptid quervernetzt sein.

Bei *Escherichia coli* bestehen die Tetrapeptide aus folgenden Aminosäuren: L-Alanin, D-Glutaminsäure, L,L-Diaminopimelinsäure und D-Alanin. Die Quervernetzung der einzelnen Peptidoglykanstränge erfolgt über eine direkte Peptidbindung (siehe Abbildung 8).

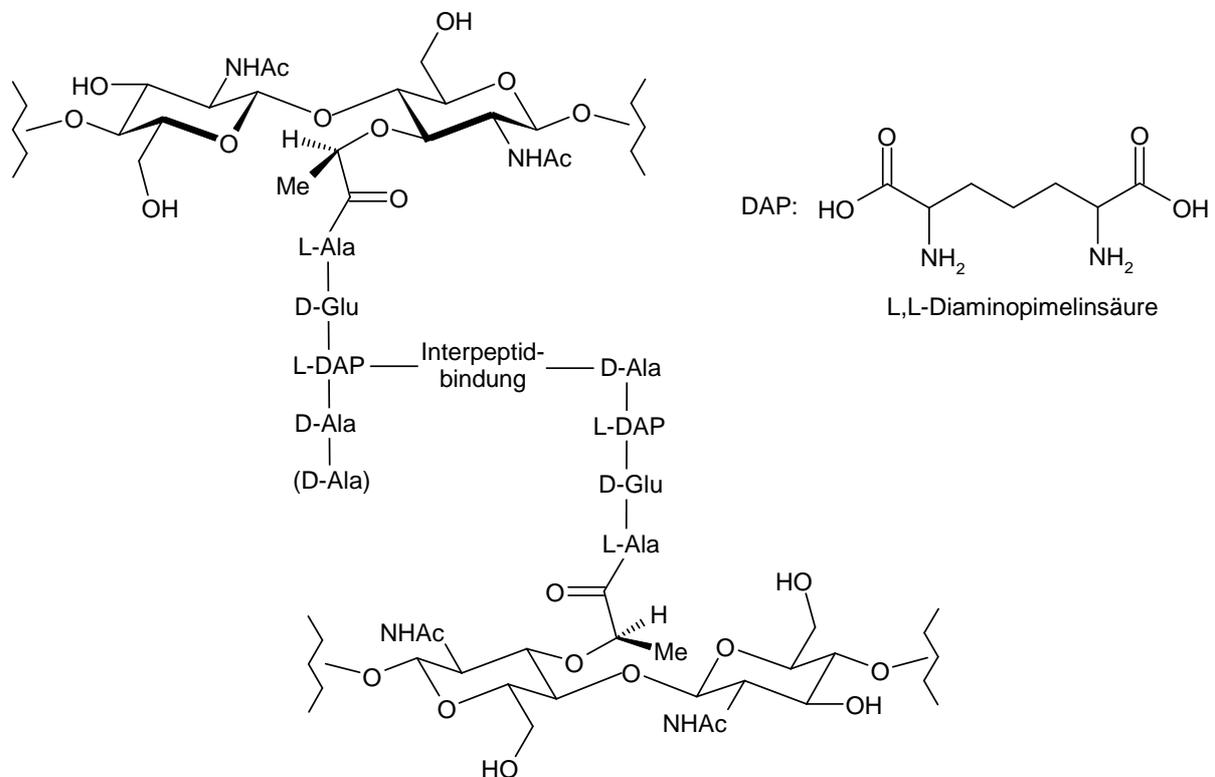


Abbildung 8: Baueinheit des Mureins von *Escherichia coli*²¹

4.2 Biosynthese der Bakterienzellwand^{14,15,16,17,18}

Die Vermehrung Gram-positiver und -negativer Bakterien geschieht durch Zellteilung. Hierzu wird das Mureinnetz der Bakterienzelle vergrößert und anschließend in zwei intakte Hälften gespalten.

Bei Auf- und Umbauvorgängen des Mureingerüsts - im Rahmen der Zellteilung und des Zellwachstums - ist die genaue Abfolge der einzelnen Schritte der Zellwandsynthese für das Bakterium lebenswichtig. Wegen des in der Bakterienzelle herrschenden Überdrucks von mehreren Atmosphären, müssen zunächst die neuen Peptidoglykan-Stränge gebildet werden. Erst dann können alte Stränge mittels des Enzyms Mureinhydrolase geöffnet werden. Nur so behält die Zellwand eine ausreichende Stabilität.

Bei der Mureinsynthese werden zunächst im Zytoplasma an Uridindiphosphat *N*-Acetylmuraminsäure, einzelne Aminosäuren und danach das Dipeptid D-Alanyl-D-Alanin angelagert (**A**). Anschließend erfolgt die Reaktion der *N*-Acetylmuraminsäure mit UDP-Acetylglukosamin und es entsteht das substituierte Disaccharid (**B**), an welches sich die Aminosäuren der Peptidbrücke anlagern (**C**). Der hydrophile Baustein bindet über eine Diphosphatbrücke an ein Lipid (sogenanntes C₅₅-Lipid), mit dessen Hilfe es an die Außenseite der Zytoplasmamembran gelangt (**D**). Dort entsteht mittels des Enzyms Transglykosylase, unter Abspaltung des Diphosphates, das Glykanpolymer (**E**).

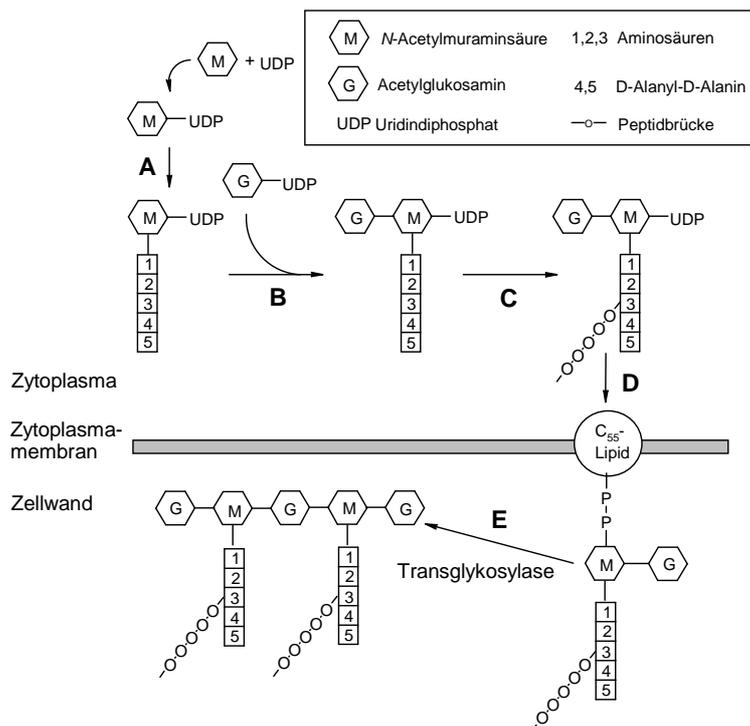


Abbildung 9: Zellwandsynthese

Im letzten Schritt erfolgt die Quervernetzung der einzelnen Peptidoglykanstränge (siehe Abbildung 10). Dazu bindet die terminale Aminosäure des Oligopeptids an die vorletzte Aminosäure, das D-Alanin, des Pentapeptids eines anderen Peptidoglykanstranges. Dabei erfolgt die Abspaltung des endständigen D-Alanins. Aus dem ursprünglichen Pentapeptid entsteht dadurch ein Tetrapeptid. Diese Reaktion wird durch sogenannte Transpeptidasen katalysiert.

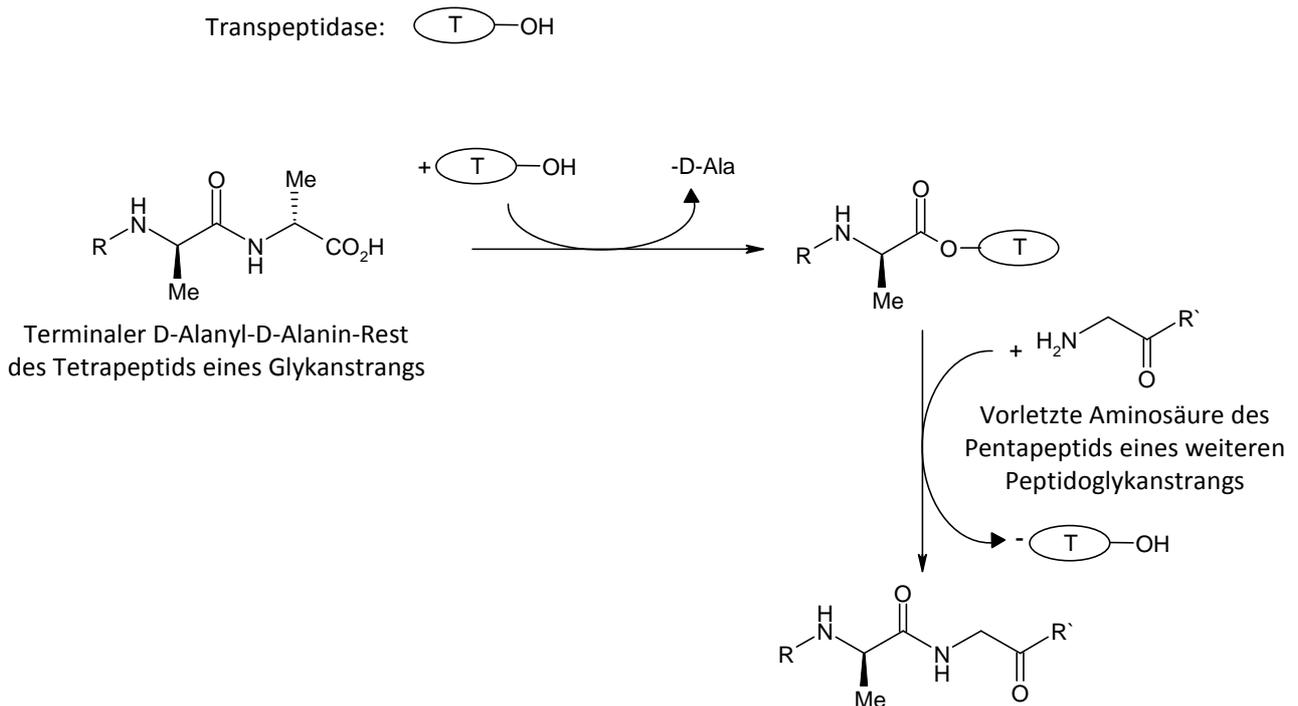


Abbildung 10: Transpeptidierung

Neben den Transglykosylasen (Verknüpfung neuer Bausteine über glykosidische Bindungen) und Transpeptidasen (Quervernetzung der Peptidseitenketten) sind noch weitere Enzyme an der bakteriellen Zellwandsynthese beteiligt: Carboxypeptidasen regulieren den Vernetzungsgrad des Peptidoglykans; Endopeptidasen spalten die Isopeptidbrücken zwischen zwei alten Strängen um Platz für neusynthetisierte Stränge zu schaffen.

4.3 Hemmung der Zellwandsynthese^{14,15,16,17,18}

Der Wirkungsmechanismus der β -Lactam-Antibiotika besteht in einer Hemmung der Transpeptidase und damit des letzten Schritts der Peptidoglykan-Synthese.

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit des D-Alanyl-D-Alanin-Rests des Glykanstrangs und dem Antibiotikum greift die Hydroxygruppe des in der Transpeptidase enthaltenen Serins irrtümlicherweise den Carbonylkohlenstoff des β -Lactam-Rings unter Öffnung an (Abbildung 11).

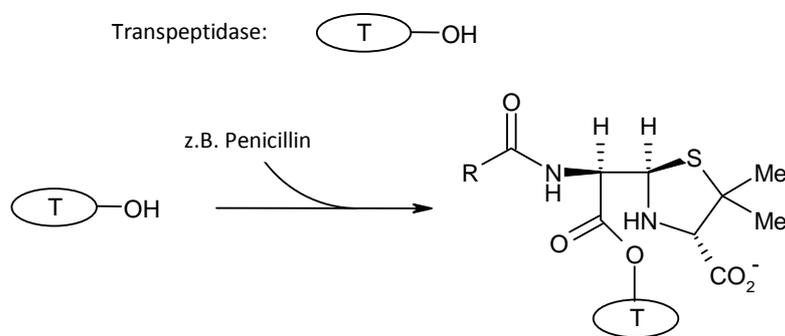


Abbildung 11: Kovalente Bindung eines β -Lactam-Antibiotikums an eine Transpeptidase²²

Da die geknüpfte Serinesterbindung zu dem β -Lactam-Antibiotikum nur sehr langsam hydrolysiert, kommt es zu einer langanhaltenden Inhibition der Transpeptidase-Aktivität und somit zu einer Hemmung der Zellwandsynthese. Gleichzeitig werden die für den Ab- oder Umbau der Zellwand benötigten Enzyme bei gleichbleibender Antibiotikum-Konzentration nahezu nicht gehemmt. Dadurch kommt es zu einem verstärkten Zellwandabbau mit der Folge einer Zytolyse.

In gleicher Weise reagieren auch die Carboxypeptidasen mit den β -Lactam-Antibiotika, allerdings spielt diese Reaktion für die antibakterielle Wirkung nur eine untergeordnete Rolle.

Die Enzyme Transpeptidase und Carboxypeptidase zählen zu den sogenannten Penicillin-bindenden-Proteinen (PBP von penicillin binding protein). Von mindestens sieben dieser Proteine, die an der inneren Membran der Bakterien lokalisiert sind, ist das Vorkommen gesichert.¹⁶ Die PBPs variieren bei den unterschiedlichen Bakterienarten.

Ähnlich der Struktur und Wirkung der PBPs sind die sogenannten β -Lactamasen. Es handelt sich hierbei um Enzyme, die von einer Reihe von Bakterien gebildet werden und in der Lage sind die β -Lactambindung des Antibiotikums hydrolytisch zu spalten. Dadurch wird das Antibiotikum inaktiviert.

Die Produktion von β -Lactamasen zählt zu den häufigsten Resistenzmechanismen.

5 β -Lactam-Antibiotikaresistenz^{16,18,23,24}

Nach der anfänglichen Euphorie über die Entdeckung von Penicillin als Waffe gegen bakterielle Erkrankungen wurden bereits zum Ende des Zweiten Weltkrieges, also kurze Zeit nach erfolgreicher klinischen Einführung von Benzylpenicillin, die ersten penicillin-resistenten Bakterienstämme beobachtet. Seit diesem Zeitpunkt hat man sich intensiv mit verschiedenen Resistenzarten- und -mechanismen sowie deren Aufklärung beschäftigt.

5.1 Resistenzarten

Folgende Resistenzarten stehen im Vordergrund:

Natürliche Resistenz bedeutet die Unempfindlichkeit einer Bakterienspezies gegen bestimmte Antibiotika. Die Erreger liegen damit außerhalb des Wirkungsspektrums des Antibiotikums. Enterokokken besitzen beispielsweise eine natürliche Resistenz gegenüber Cephalosporinen.

Erworbene Resistenz meint das Vorhandensein einer Resistenz bei „natürlich“ empfindlichen Stämmen einer Bakterienspezies. Dabei unterscheidet man zwischen

primärer Resistenz, d. h. die Resistenz des Erregers besteht bereits vor der Antibiotikatherapie und

sekundärer Resistenz, die Resistenz des Erregers entwickelt sich erst während der Antibiotikatherapie.

Die sekundäre Resistenz kann durch Mutation - sogenannte chromosomale Resistenz - oder durch Übertragung - extrachromosomale Resistenz - erfolgen.

Chromosomale Resistenz ist durch spontane Mutationen, Deletionen (Verlust von genetischem Material) oder Insertionen (Einbau von zusätzlichen Nukleotiden) chromosomaler DNS bedingt. Sie verbreitet sich durch Zellteilung und ist damit artgebunden.

Extrachromosomale Resistenz verbreitet sich über mobile genetische Elemente: Plasmide (kleine ringförmige DNS-Moleküle) und Transposons (springendes Gen).

Die Übertragung der Plasmide erfolgt durch Konjugation oder Transduktion.

Bei Gram-negativen Bakterien steht die Konjugation im Vordergrund. Dabei wird das Plasmid zwischen zwei Zellen über eine Proteinröhre transportiert. Durch Konjugation kann die Resistenz auch auf eine andere Bakterienart übertragen werden.

Als Transduktion wird in der Genetik die Genübertragung zwischen Bakterien und Viren bezeichnet. Bei Staphylokokken beispielsweise werden die Plasmide über sogenannte Bakteriophagen übertragen. Bakteriophagen sind eine Gruppe von Viren, die ausschließlich Bakterien befallen können. Zunächst werden die Plasmide in das Phagengenom eingebaut, dann mit diesem in eine andere Zelle überführt und schließlich dort wieder freigesetzt. Da Phagen speziesspezifisch sind, ist die Transduktion an die Spezies gebunden.

Ein weiterer Mechanismus zur Übertragung von Resistenzen besteht in dem Transfer von Transposons. Bei einem Transposon handelt es sich um ein bewegliches genetisches Element, das seine Position innerhalb des Genoms verändern kann. Transposons sind also nicht wie normale Gene an bestimmten Stellen fixiert, sondern können von einer Stelle auf eine andere Stelle versetzt (transponiert) werden. Innerhalb einer Zelle können sie leicht von Plasmiden auf andere Plasmide oder zwischen einem Chromosom und einem Plasmid übertragen werden. Somit verfügen Donor und Akzeptor über die genetische Information. Mit den Plasmiden gelangen sie dann in andere Zellen. Liegen die Resistenzgene dort zusammen mit der kodierenden Gensequenz für das Enzym Integrase (→ zuständig für Einbau viraler DNS-Stränge in die Chromosomen der Wirtszelle) vor, erfolgt ein besonders rascher Transfer der genetischen Information. Die Übertragung kann sowohl innerhalb einer Spezies als auch zwischen verschiedenen Bakterienarten erfolgen.

5.2 Resistenzmechanismen

Mechanistisch lassen sich drei Wege der Resistenzentwicklung gegen β -Lactam-Antibiotika unterscheiden, die teilweise allein, teilweise aber auch in Kombination zur Entwicklung von klinisch relevanter Resistenz geführt haben:

- Veränderung der Zielstrukturen von β -Lactam-Antibiotika
Die Struktur der PBPs wird so verändert, dass sie eine geringere oder keine Affinität mehr zu β -Lactam-Antibiotika aufweisen.
- Reduktion der intrazellulären Antibiotikumkonzentration durch

Veränderung der Zellpermeabilität:

Durch eine Strukturveränderung der Porine, die für den Stoffaustausch durch die Membran unverzichtbar sind, wird das Eindringen der Antibiotika erschwert.

Ausschleusung der β -Lactam-Antibiotika durch Effluxpumpen:

Effluxpumpen sind Membran-assoziierte Strukturen, die über die Zellmembran aktiv toxische Substanzen aus dem Zellinneren heraus transportieren.

- Bildung von β -Lactamasen
Diese, von Bakterien gebildeten Enzyme können das Antibiotikum durch Hydrolyse des β -Lactamringes inaktivieren.

Die β -Lactamasenbildung ist die klinisch bedeutsamste Ursache der bakteriellen Resistenz gegen Penicilline und andere β -Lactame.

5.3 β -Lactamasen^{16,18,25,26}

Seit der Entdeckung des Penicillins wurden die Strukturen der β -Lactam-Antibiotika zur Verbesserung der Pharmakokinetik, zur Erweiterung des Wirkungsspektrums und vor allem zur Umgehung bestehender Resistenzen laufend modifiziert. Problematischer Weise führte dieser ausgeübte Selektionsdruck auch zu einer Weiterentwicklung der sogenannten β -Lactamasen. Diese von Bakterien gebildeten Enzyme binden irreversibel an die β -Lactam-Antibiotika und hemmen sie dadurch. Derzeit sind über 400 verschiedene bakterielle β -Lactamasen beschrieben.²⁵

5.3.1 Einteilung der β -Lactamasen

Aufgrund der Molekülstruktur unterscheidet man zwischen β -Lactamasen vom Typ der Serinproteasen und dem der Metalloproteasen. Als Proteasen werden allgemein Enzyme bezeichnet, die andere Enzyme, Proteine und Polypeptide hydrolytisch spalten können. Ihre Einteilung bezieht sich auf das aktive Zentrum, also dem Teil des Enzyms, der an der Katalyse der chemischen Reaktion beteiligt ist. Bei den Serinproteasen befindet sich im aktiven Zentrum die Aminosäure Serin, wohingegen das aktive Zentrum der Metalloproteasen aus einem gebundenen Zinkion gebildet wird.

Die β -Lactamasen werden nach Ambler (1980) anhand der Übereinstimmung der Aminosäuresequenz in die Klassen A, B, C und D eingeteilt.

Tabelle 2: Einteilung der β -Lactamasen nach Ambler

Klasse nach Ambler	Typ der β-Lactamase
A	Penicillinasen, Cephalosporinasen
B	Metallo- β -Lactamasen
C	Cephalosporinasen
D	Oxacillinasen

Die β -Lactamasen vom Typ der Serinproteasen gehören zu den Klassen A, C und D. Klasse B vereint die Metallo- β -Lactamasen.

Die Klassifizierung von Bush, Jacoby und Medeiros (1995) lehnt sich an eine ältere Einteilung von Bush aus dem Jahre 1989 an. Hierbei erfolgt die Einordnung der β -Lactamasen nach dem Substratprofil, sowie dem Verhalten gegenüber β -Lactamase-Inhibitoren (siehe S. 18).

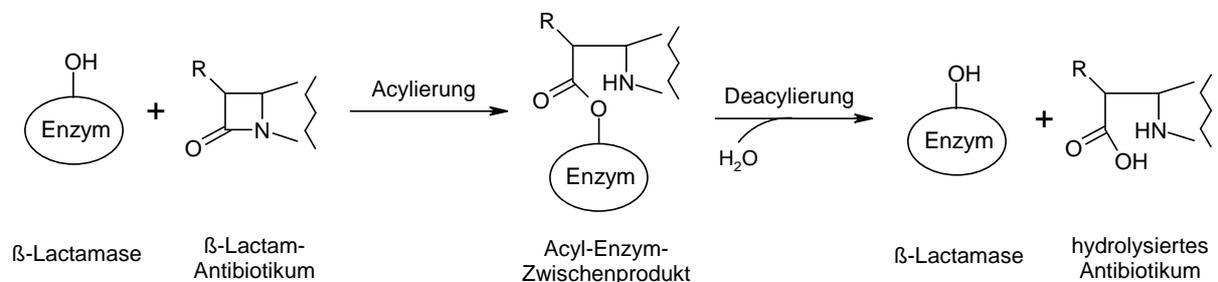
Tabelle 3: Einteilung der β -Lactamasen nach BJM – Bush, Jacoby, Medeiros

BJM-Gruppe	Substrat	Hemmung
1	Cephalosporine	Unzureichende Hemmung durch Clavulansäure
2	Penicilline Cephalosporine	Hemmung durch Clavulansäure
3	Penicilline Cephalosporine Carbapeneme	Keine Hemmung durch β -Lactam-Inhibitoren
4	Enzyme, die nicht in andere Gruppen passen	

Die Gruppe 2 nach Bush, Jacoby und Medeiros beinhaltet weitere 8 Untergruppen, auf die im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden soll.

5.3.2 Wirkung der β -Lactamasen²⁶

Die Inaktivierung der β -Lactam-Antibiotika erfolgt durch einen nukleophilen Angriff der β -Lactamasen am Carbonylkohlenstoff des β -Lactam-Ringes. Bei den β -Lactamasen vom Typ der Serinproteasen bildet die Hydroxylgruppe des Serins, im aktiven Zentrum des Enzyms, die nukleophile Gruppe. Bei den Metalloenzymen hingegen wird an das Zinkion im aktiven Zentrum ein Wassermolekül angelagert, welches dann als nukleophile Gruppe den Carbonylkohlenstoff angreifen kann. Im zweiten Schritt erfolgt die Hydrolyse des Acyl-Enzym-Zwischenprodukts und der Carbonsäureanteil des Substrats wird freigesetzt, sodass anschließend wieder das freie Enzym vorliegt.

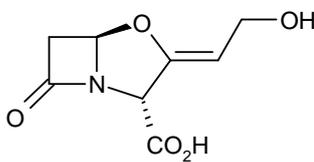
Abbildung 12: Hydrolyse des β -Lactam-Antibiotikums durch eine β -Lactamase

Der Wirkort der β -Lactamasen ist bei Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien unterschiedlich. Während Gram-positive Keime ihre β -Lactamasen nach außen an das umgebene Medium abgeben (Gruppenschutz), befinden sich bei Gram-negativen Bakterien diese Enzyme im periplasmatischen Raum, dem engen Spalt zwischen Zellwand und Zytoplasma (Individualschutz).

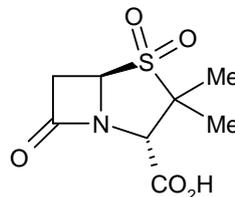
Zur Vermeidung der Wirkstoff-Hydrolyse durch β -Lactamasen bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten. Zunächst kann versucht werden, die Struktur der β -Lactam-Antibiotika so zu verändern, dass sie keine Empfindlichkeit gegenüber diesen β -Lactamasen aufweisen. Meist geht dies allerdings mit einer Verschlechterung der antibiotischen Wirksamkeit einher. Die andere Möglichkeit besteht in der Verwendung sogenannter β -Lactamase-Inhibitoren.

5.3.3 β -Lactamase-Inhibitoren²⁵

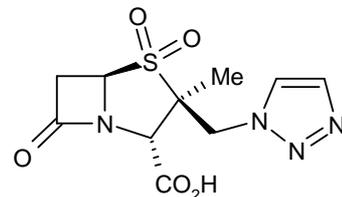
Die Verbindungen Clavulansäure, Sulbactam und Tazobactam zählen zu den sogenannten β -Lactamase-Inhibitoren.



Clavulansäure



Sulbactam



Tazobactam

Die Inhibitoren besitzen selbst keine oder nur eine geringe antibakterielle Wirksamkeit. Ihre Wirkung beruht auf der irreversiblen Hemmung der β -Lactamase-Enzyme durch Bildung eines inaktiven Enzymkomplexes, weshalb sie in Kombination mit β -Lactam-Antibiotika eingesetzt werden.

Allerdings zeigen die β -Lactamase-Inhibitoren bei nicht allen β -Lactamasen Wirkung. Metallo- β -Lactamasen können beispielsweise durch die bekannten Inhibitoren nicht inaktiviert werden. Ein großes Problem stellt auch das Auftreten veränderter β -Lactamasen dar. So weisen mittlerweile zahlreiche klinische Isolate von *Escherichia coli* Inhibitor-resistente TEM- β -Lactamasen auf.²⁷

Eine weitere Strategie der β -Lactamase produzierenden Keime besteht in der Überproduktion der Enzyme. Dadurch wird die Kapazität der Inhibitoren überfordert.

5.3.4 Chromosomale und plasmidische β -Lactamasen

Die Produktion von β -Lactamasen kann sowohl chromosomal als auch Plasmid vermittelt erfolgen (siehe S. 14).

Chromosomale β -Lactamasen kommen bei fast allen Enterobakterien vor. Die Produktion dieser Enzyme erfolgt induzierbar oder konstitutiv. Die induzierbare Produktion ist auf Umwelteinflüsse angepasst, d. h. dass die Produktion der β -Lactamasen unter Einfluss bestimmter β -Lactam-Antibiotika stark erhöht wird. Beispielsweise aktiviert Ampicillin bei Gram-negativen Stäbchenbakterien die β -Lactamase-Produktion. Durch die vermehrte Bildung der β -Lactamasen wird das Antibiotikum inaktiviert. Die konstitutive Produktion beinhaltet hingegen eine gleich hoch bleibende bakterielle β -Lactamase-Produktion, unabhängig von äußeren Einflüssen.

Die Plasmid vermittelte β -Lactamase-Produktion besitzt große klinische Bedeutung. Durch den Austausch "beweglicher Gene" entstehen qualitativ neuwertige β -Lactamasen, die in der Lage sind bis dahin stabile Wirkstoffe zu inaktivieren, wie z. B. TEM 1 und 2. Dabei handelt es sich um eine durch Punktmutation veränderte TEM- β -Lactamase, gebildet von gewissen *Escherichia coli* Bakterien. Man spricht in diesem Zusammenhang von sogenannten ESBL (Extended-Spectrum Beta Lactamase), also Enzymen mit breitem Wirkungsspektrum. Carbapeneme werden von ESBL nicht zerstört.

Die Bildung von β -Lactamasen ist der häufigste Resistenzmechanismus bei β -Lactam-Antibiotika. Neben dem Auftreten neuer β -Lactamasen sind vor allem die Effizienzsteigerung bekannter Enzyme und die erleichterte Übertragbarkeit gemeinsam mit anderen Resistenzen durch mobile genetische Elemente besorgniserregend. Erschwerend kommt die Kombination verschiedener Resistenzmechanismen hinzu.

Wichtig im Kampf gegen Antibiotikaresistenzen ist die Eindämmung der Resistenzentstehung und -ausbreitung. Für den klinischen Bereich bedeutet dies verstärkte hygienische und infektionskontrollierende Maßnahmen zur Vermeidung von Erregerübertragungen. Weiterhin ist ein maßvoller Einsatz von Antibiotika erstrebenswert, d. h. Antibiotika sollten nur bei therapeutisch gerechtfertigten Fällen angewendet werden. Darüber hinaus ist vor allem die Entwicklung neuer Wirkstoffe und Kombinationspräparaten aus Antibiotika und β -Lactamase-Inhibitoren unabdingbar. Mit zunehmendem Verständnis der Resistenzmechanismen können neue Wirkstoffe gezielt synthetisiert und so die bakterieneigene Abwehr gehemmt werden.

6 Struktur-Wirkungsbeziehung

β -Lactam-Antibiotika hemmen, wie unter 4.3 beschrieben wurde, die Zellwandsynthese durch Acylierung der aktiven Zentren der PBPs. Entscheidend für die Wirkung eines β -Lactam-Antibiotikums ist somit das Acylierungsvermögen und damit die Reaktivität der Carbonylgruppe des β -Lactam-Rings.

In offenkettigen Säureamiden bzw. großen Lactam-Ringen können aufgrund der Planarität der Amidgruppe die p-Orbitale des Stickstoffs mit denen der Carbonylgruppe überlappen. Die C-N-Bindung erhält dadurch Doppelbindungscharakter und der Bindungswinkel am Stickstoff wird auf Werte größer 109° aufgeweitet.

Im β -Lactam-Ring beträgt der Innenwinkel 90° . Dadurch wird dem Lactam-Stickstoff sp^3 -Charakter aufgezwungen. Dies hat eine erhebliche Störung der Amidresonanz und damit eine Schwächung der Lactambindung zur Folge. Diese Schwächung spiegelt sich auch in den IR-Spektren der entsprechenden Verbindungen wieder. Die C-O-Streckschwingung verlagert sich hin zu größeren Wellenzahlen, da mit der Verlängerung der C-N-Bindung (Schwächung der Bindung) eine Verringerung des C-O-Abstandes (Stärkung der Bindung) einhergeht. Die Wellenzahlen steigen von 1630 cm^{-1} – 1680 cm^{-1} für offenkettige, monosubstituierte Amide auf etwa 1750 cm^{-1} bei monocyclischen Lactamen.²⁸

Durch einen anellierten Fünf- oder Sechsring entsteht ein Bicyklus mit gefalteter Struktur. Die erhöhte Ringspannung bewirkt eine zunehmend pyramidale Form am Stickstoff. Dieser Effekt kann durch Einführen einer Doppelbindung zwischen dem C2- und C3-Kohlenstoff noch verstärkt werden. Der steigende sp^3 -Charakter der Stickstoff-Hybridisierung verursacht eine Einschränkung der Amidresonanz und damit eine Steigerung der Acylierungskraft.

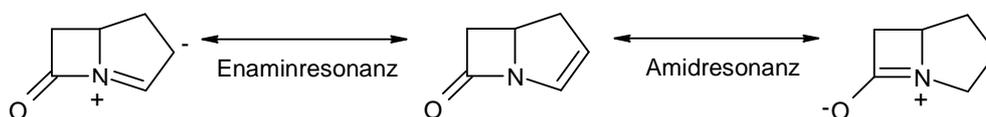


Abbildung 13: Enamin - und Amidresonanz am Carbapenem-Grundkörper

Strukturmerkmale von Carbapenemen

Bei der Synthese von β -Lactam-Antibiotika ist es wichtig zwischen der Stabilität und der Acylierungskraft der Verbindung abzuwägen. Betrachtet man die gesamte Gruppe der β -Lactam-Antibiotika, ausgehend von den Penamen und Penemen über die Carbapeneme hin zu den Oxapenemen, bewirkt die Abnahme der Bindungslänge von C-S über C-C zu C-O eine Verkleinerung des anellierten Rings und damit eine Erhöhung der Ringspannung. Die Acylierungskraft nimmt folglich von den Penamen und Penemen zu den Oxapenemen hin zu. Allerdings weisen die Verbindungen mit gesteigerter Aktivität auch eine zunehmende Empfindlichkeit auf. Problematisch ist damit, neben der Hydrolyse der Substanzen vor Erreichen des Wirkortes, auch die Herstellung und Lagerung der Verbindungen.

Die Carbapeneme stellen einen Kompromiss zwischen Stabilität und Acylierungskraft eines β -Lactam-Antibiotikums dar.

Für eine antibiotische Aktivität müssen die Carbapeneme folgende Eigenschaften aufweisen:

- Gute Permeation durch die äußeren Schichten der Zellwand;
Nur lipophile Substanzen können die bakterielle Zellwand von Gram-positiven Bakterien leicht durchdringen. Deshalb geht die Wirksamkeit gegen diese Art von Erregern eher von lipophilen Verbindungen aus. Im Vergleich dazu zeigen hydrophilere Verbindungen höhere Aktivität gegen Gram-negative Spezies.
- Hohe Stabilität gegenüber desaktivierenden Enzymen (z. B. β -Lactamasen);
- Hohe Affinität zu den an der Zellwandsynthese beteiligten Enzymen (PBPs).

Diese Eigenschaften können durch das Substitutionsmuster und die Konfiguration der Stereozentren der Carbapenem-Verbindung beeinflusst werden.

Als besonders vorteilhaft haben sich folgende Strukturmerkmale erwiesen:

- Eine β -Methylgruppe in Position 4 des Bicyklus verbessert die Stabilität gegenüber DHP-1 (siehe S. 5)⁶ und erhöht die Halbwertszeit bei gleichbleibender antibiotischer Wirksamkeit und Verträglichkeit.
- Eine (1'*R*)-Hydroxyethylgruppe in Position 6 ist für eine sehr gute antibiotische Aktivität und β -Lactamase-Stabilität ausschlaggebend.²⁹
- Eine Kombination von 6*R* und 5H/6H-*trans*-Verknüpfung oder 6*S* und 5H/6H-*cis*-Verknüpfung ist entscheidend für eine hohe antibiotische Wirksamkeit mit gleichzeitiger Stabilität gegen TEM- β -Lactamasen.⁶

Spezieller Teil

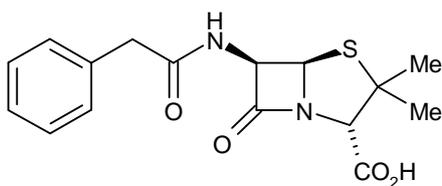
1 Forschungsziel

1.1 Problemkeim *Staphylococcus aureus*

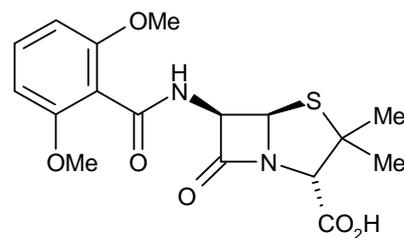
Bei *Staphylococcus aureus* (*S. aur.*) handelt es sich um Gram-positive Kokken (Kugelbakterien), die sich zumeist zu einem Haufen bzw. einer Traube (griechisch: Staphylos) anordnen.³⁰ Das Bakterium besiedelt vor allem Nasenhöhlen, Schleimhäute und die Leistenregion. Der hauptsächliche Übertragungsweg von *Staphylococcus aureus* ist die Schmierinfektion, maßgeblich der Hautkontakt über die Hände. Auch Selbstinfektion von kolonisierten Bereichen auf andere Bereiche der Haut ist häufig. *S. aur.* verursacht verschiedene Infektionen z. B. Lungenentzündung, Meningitis, Infektionen der Schleimhäute und Harnwegsinfektionen. Trotzdem ist etwa jeder dritte Mensch zumindest zeitweise Träger von *S. aur.*^{30,31}

Als Penicillin G (Benzylpenicillin) in den Londoner Krankenhäusern eingeführt wurde, konnten kurz darauf erste Penicillin G-resistente Stämme der Spezies *S. aur.* isoliert werden.³² Die Stämme produzierten Penicillinase, eine β -Lactamase, die das Antibiotikum unwirksam machte. Damit war die Synthese eines penicillinasefesten Antibiotikums unumgänglich.

Mitarbeiter der Firma Beecham entwickelte daraufhin 1959 Methicillin. Sie modifizierten die Struktur von Penicillin G, indem sie zwei Methoxy-Gruppen am Aromaten einführten und diesen direkt an den Carbonylkohlenstoff der Amid-Seitenkette knüpften. Dies führte zu einer sterischen Abschirmung des β -Lactam-Rings, wodurch der Angriff durch die Penicillinase erschwert wird.³³



Penicillin G



Methicillin

Problematischer Weise wurde bereits zwischen 1960 und 1963 ein Zuwachs an Methicillin-resistenten Stämmen von 5% beobachtet. In Dänemark war 1967 bereits die Hälfte der isolierten *S. aur.*-Stämme Methicillin-resistent.³² Diese Resistenz beruht auf der Ausbildung eines veränderten PBPs (siehe S. 12) des Bakteriums.

In Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen hat die Kombination von massiver Antibiotikaaanwendung, anfälligen Wirten, mangelnder Hygiene und leichter Übertragbarkeit durch Hautkontakt zur Selektion und Verbreitung des Methicillin-resistenten *S. aur.*, kurz *MRSA* geführt.³⁴ Dieser Problemkeim zählt heutzutage zu den wichtigsten Erregern von nosokomialer (im Krankenhaus erworbenen) Infektionen.³⁰

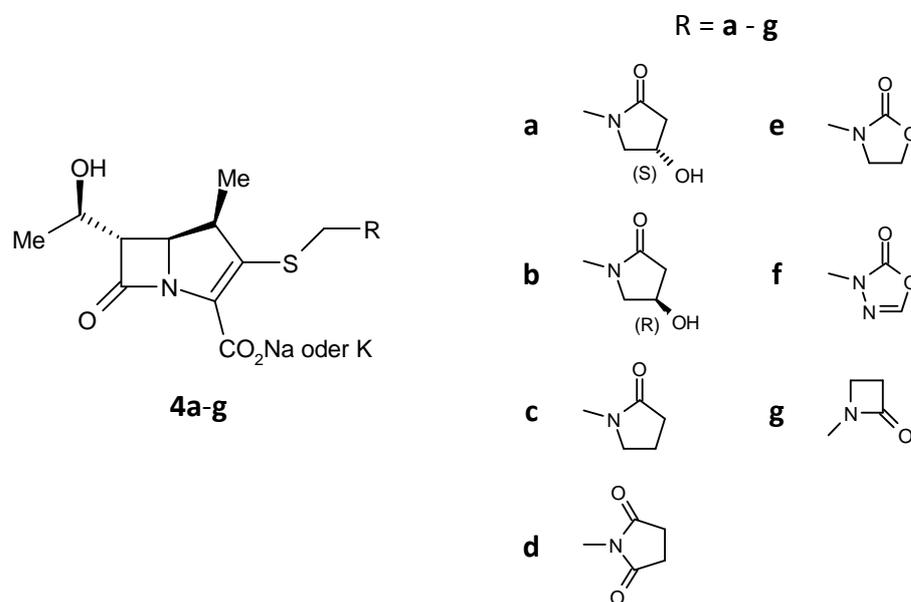
Durch das veränderte PBP des *MRSA* und die dadurch verminderte Affinität des Proteins zu β -Lactamen sind β -Lactam-Antibiotika gegen *MRSA* unwirksam.³⁵ Das Ausweichen auf andere antibiotisch wirksame Verbindungsklassen war allerdings auch nur kurzzeitig erfolgreich: Mitte der 70er Jahre wurde in Australien der erste Methicillin- und Aminoglykosid (Oligosaccharid-Antibiotikum)-resistente Stamm beschrieben.³²

MRSA-Infektionen werden heutzutage mit sogenannten Reserveantibiotika behandelt. Es handelt sich hierbei um Antibiotika die gegen „normale“ Infektionen nicht eingesetzt werden, um so die Entwicklung einer Antibiotikaresistenz zu vermeiden. Hierzu zählen beispielsweise Vancomycin (Glykopeptid-Antibiotikum) und Linezolid (Oxazolidinon-Antibiotikum).³⁶ Linezolid wird auch gegen den multiresistenten Problemkeim *Enterococcus faecium* eingesetzt. Seit 1987 sind allerdings auch Vancomycin-resistenten Enterokokken bekannt.³⁷ Es ist also dringend notwendig die Lücken im Wirkungsspektrum der Antiinfektiva zu schließen.

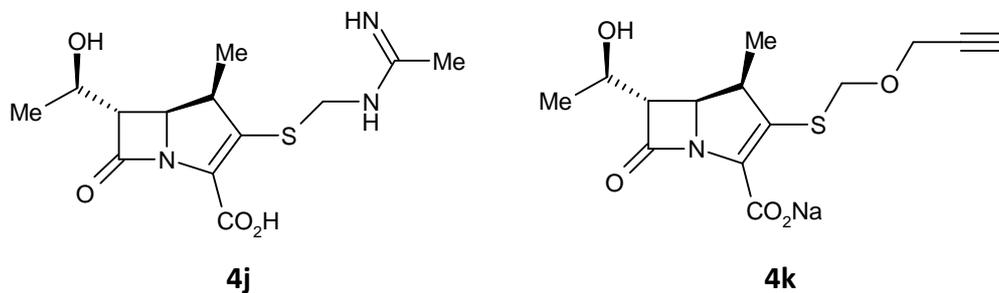
1.2 Aufgabenstellung

Da die Wirkstoffklasse der Carbapeneme nahezu das gesamte Erregerspektrum erfasst, ist es das Ziel Carbapeneme zu entwickeln, die auch gegen multiresistente Keime aktiv sind.

Im Kapitel 6 (siehe S. 20) wurden die vorteilhaften Strukturmerkmale von Carbapenem-Antibiotika aufgezeigt. Diese Merkmale finden sich im Grundkörper des Meropenems wieder. Ausgehend davon soll nun versucht werden die Meropenem-Derivate **4a-g** zu synthetisieren und ihre antibiotische Wirksamkeit zu untersuchen.



Desweiteren sollen die 1 β -Methyl-Carbapeneme **4j** und **4k** dargestellt werden.



Aufgrund der strukturellen Abweichung ihrer Seitenkette werden sie gesondert im Kapitel 3 und 5 behandelt.

2 Synthese der (*N*-Heterozyklyl-methylsulfanyl)-Carbapeneme 4a-g

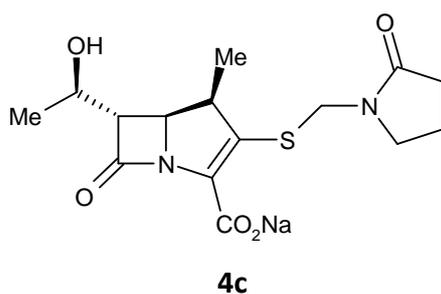
2.1 Auswahlkriterien der Reste R

Als gemeinsames Strukturelement enthalten die 1 β -Methyl-Carbapeneme **4a-g** einen Heterozyklus in ihrer C3-Seitenkette. Der einfachsten Vertreter ist hierbei Verbindung **4c**, mit einem 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-Rest. Die anderen Carbapeneme stellen Modifikationen dieser Verbindung dar.

Die Reste R sollen, analog zu zahlreichen Imipenem-Derivaten,³⁸ über eine Methylsulfanyl-Gruppe an die C3-Position des Meropenem-Grundgerüsts eingeführt werden. Grund hierfür ist die Annahme, dass die Methylengruppe zwischen dem Schwefel- und Stickstoffatom die orale Verfügbarkeit der Verbindungen erhöht.⁴⁷

(2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem 4c

Sankyo Co. in Japan synthetisierten zur Entwicklung eines oral wirksamen Carbapenems zahlreiche 1 β -Methyl-Carbapeneme. Dabei zeigte sich, dass einige Derivate mit einer Amidfunktion in der Seitenkette ein breites Wirkungsspektrum bei gleichzeitiger DHP-1-Stabilität aufweisen.³⁹ Aufgrund dessen entstand die Idee, das (2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4c** zu synthetisieren und die Auswirkung der modifizierten Reste R der Seitenkette auf die antibiotische Wirksamkeit der Verbindungen zu untersuchen.

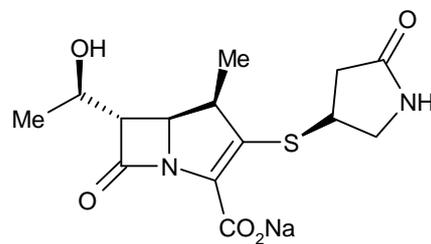


Synthese des ((S)- und (R)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems

4a und 4b

Auf der Suche nach einem Carbapenem mit guter Bioverfügbarkeit stellten die Mitarbeiter von Sankyo Co zusätzlich fest, dass die Konfiguration einer optisch aktiven Seitenkette an der C3-Position des Meropenem-Grundkörpers ebenfalls einen positiven Einfluss auf die Wirksamkeit haben kann.³⁹

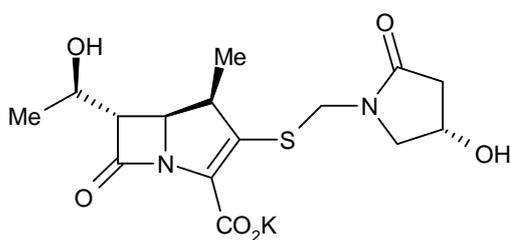
Als besonders effektiv erwies sich hierbei die Verbindung R-83201, deren Seitenkette ausgehend von (R)-4-Hydroxy-2-oxopyrrolidin dargestellt wurde.



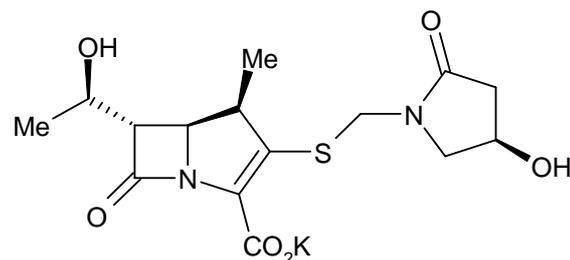
R-83201

Die Verbindung R-83201 zeigt im Vergleich zu ihrem (S)-Isomer eine verbesserte antibiotische Wirksamkeit und erhöhte Stabilität gegen DHP-1 in Mäusen.³⁹

Auf Grund dieser Beobachtung, sollte versucht werden die Carbapeneme **4a** und **4b** mit optisch aktiven Resten R in der Seitenkette zu synthetisieren.



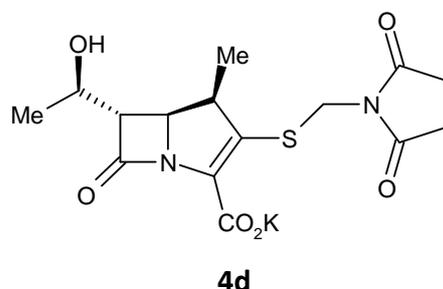
4a



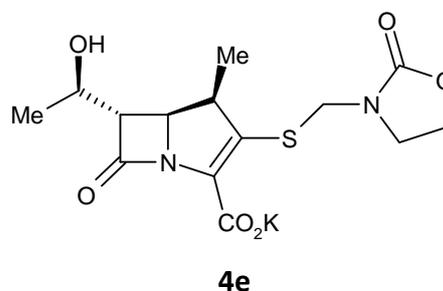
4b

(2,5-Dioxy-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem 4d

Ersetzt man im 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-Rest, dass dem Stickstoffatom direkt benachbarte Kohlenstoffatom durch eine Carbonylgruppe, erhält man einen Heterozyklus mit Imid-funktion.

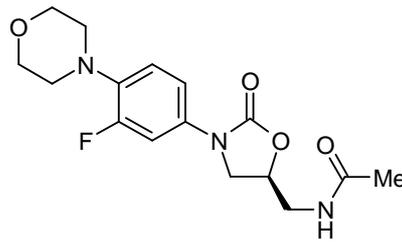
Synthese des (2-Oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem 4e

Bei Verbindung **4e** und der nachfolgenden Verbindung **4f** sollte untersucht werden wie sich eine Verringerung der Anzahl von Kohlenstoffatomen des Restes R auf die antibakterielle Aktivität auswirkt. Ersetzt man das C3-Kohlenstoffatom des 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-Rests durch ein Sauerstoffatom erhält man einen Heterozyklus mit einer Carbamatgruppe.



Diese Verbindung ist auch von Interesse, da der 2-Oxazolidinon-Ring den Grundstein zahlreicher antibiotischer Verbindungen, den sogenannten Oxazolidinonen bildet. Es handelt sich dabei um eine neue Klasse oral aktiver Antibiotika.⁴⁰

Der erste kommerziell verfügbare Wirkstoff war Linezolid im Jahre 2002.

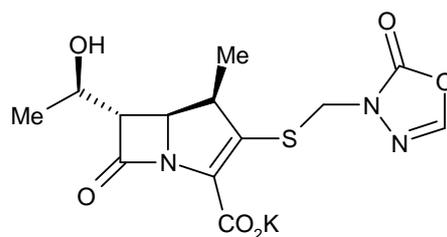


Linezolid

Linezolid wird als sogenanntes Reserveantibiotikum eingesetzt (siehe S. 24).

Synthese des (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems **4f**

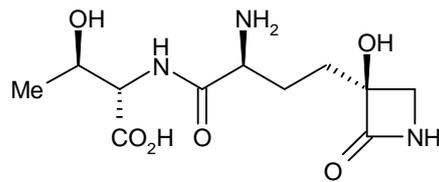
Ersetzt man im 2-Oxo-oxazolidin-3-yl-Rest formal das C4-Kohlenstoffatom durch ein Stickstoffatom und führt eine Doppelbindung zwischen N4 und C5 ein, erhält man einen konjugierten Heterozyklus. Diese Heterozyklen verzeichnen auf der Suche nach biologisch aktiven Substanzen zunehmendes Interesse. Der 5-gliedrige Thiadiazol-Ring, das Schwefelanaloga der Oxadiazole, fungiert beispielsweise oft als Baustein für antimikrobielle Medikamente.⁴¹



4f

Synthese des (2-Oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems **4g**

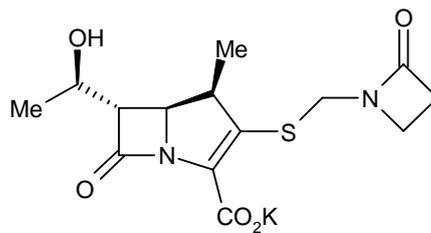
Mitte der 70er Jahre wurden erstmals monocyclische β -Lactame beschrieben, wie beispielsweise Tabtoxin, welches auf Tabakpflanzen durch den Bakterienstamm *Pseudomonas tabaci* produziert wird.^{42,43} Diese Verbindungen bestehen aus einem β -Lactam-Ring ohne zusätzlich anelliertem Ring, wie beispielsweise bei Penicillinen, Cephalosporinen oder Carbapenemen.

**Tabtoxin**

Da diesen β -Lactamen keine offensichtliche Bedeutung zukam, wurden sie zunächst als Kuriosität am Rande der Naturstoffchemie behandelt. Erst die Entwicklung moderner Methoden zur Auffindung neuer Antibiotika-Strukturen⁴⁴ ermöglichte die Entdeckung einer neuen Wirkstoffklasse: der monocyclischen β -Lactam-Antibiotika.

Die natürlichen monocyclischen β -Lactame besitzen eine lediglich schwache antibiotische Wirksamkeit, zeichnen sich aber durch eine gute β -Lactamasen-Stabilität aus.⁴⁵

Mittlerweile wurden zahlreiche monocyclischen β -Lactam-Antibiotika mit unterschiedlichen Substituenten an den Positionen N1, C3 und C4 synthetisiert und ihre antibiotische Wirksamkeit überprüft. Dabei zeigte sich, dass Substituenten am Lactam-Stickstoff N1 den β -Lactam-Ring aktivieren, aber vor allem die antibiotische Wirksamkeit beeinflussen.⁴⁵ Auf Grund dessen sollte versucht werden, den β -Lactam-Ring über eine Methylsulfanyl-Gruppe als Seitenkette für ein neues Meropenem-Derivat **4g** einzufügen. Die Verbindung stellt ein Homologes zu Verbindung **4c** dar.

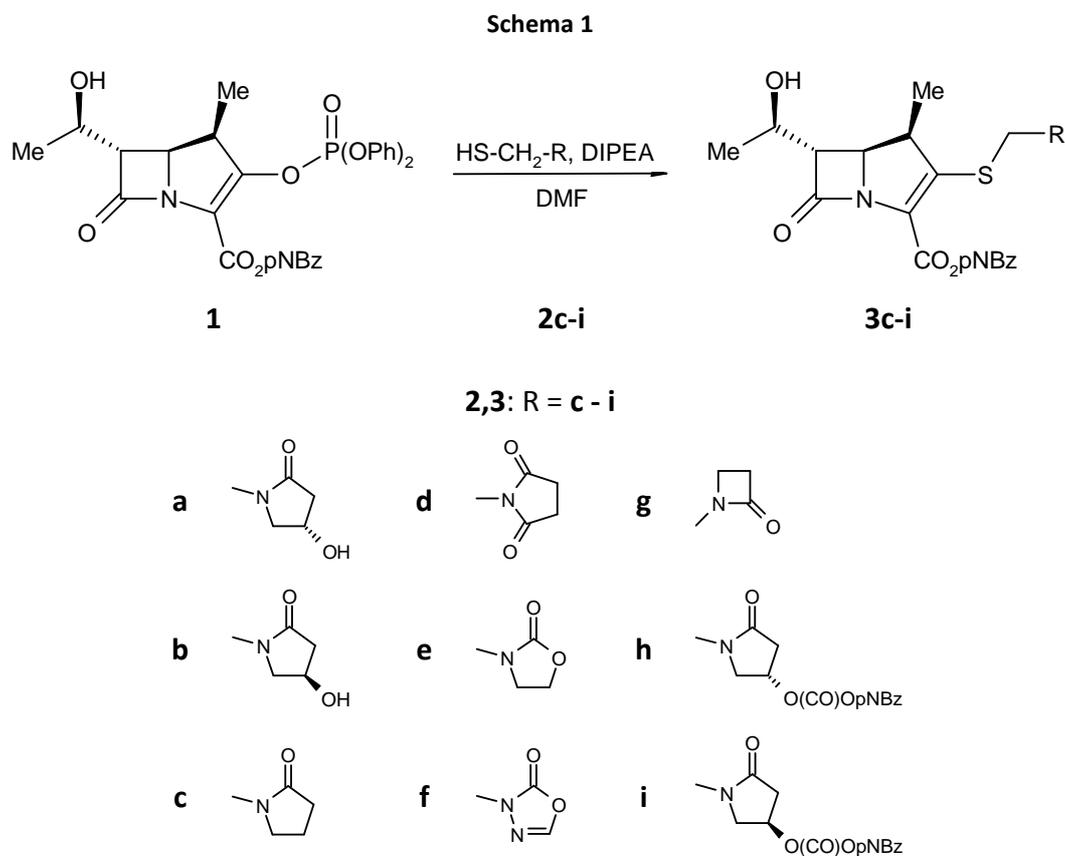
**4g**

2.2 Syntheseplanung

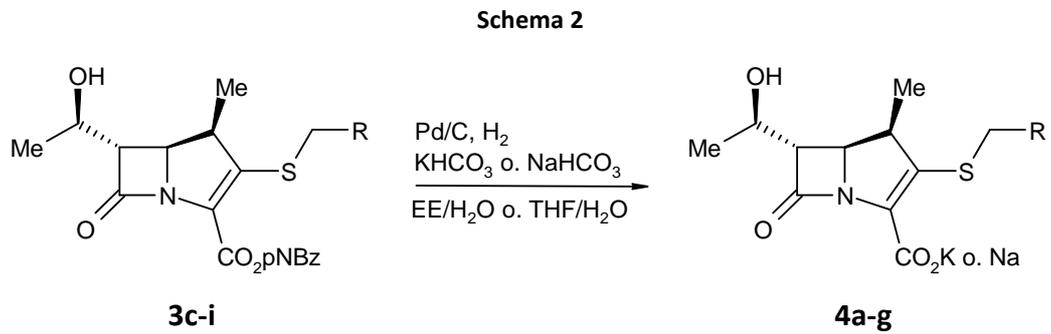
2.2.1 Darstellung der 1 β -Methyl-Carbapeneme

Die Verbindung (4*R*,5*R*,6*S*)-3-(Diphenoxy-phosphoryloxy)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (**1**), das sogenannte Enolphosphat stellt eine Schlüsselverbindung für die Synthese von Meropenem-Derivaten dar. Es wurde im Arbeitskreis bereits mehrfach zur Synthese schwefelsubstituierter Carbapeneme eingesetzt.⁴⁶ Die Darstellung der gewünschten Verbindungen **4a-i** ist in Schema 1 dargestellt. Hierzu soll Enolphosphat **1** mit den synthetisierten Thiolen HS-CH₂-R **2c-i** in Gegenwart von Base nukleophil substituiert werden. Ähnliche Reaktionen wurden bereits in einer Patentvorschrift beschrieben.⁴⁷

Bei den Resten **h** und **i** handelt es sich um die geschützten Reste **a** und **b**. Der Schutz der Hydroxylgruppen der Verbindungen war zur Synthese der beiden Thiole notwendig (siehe S. 34).

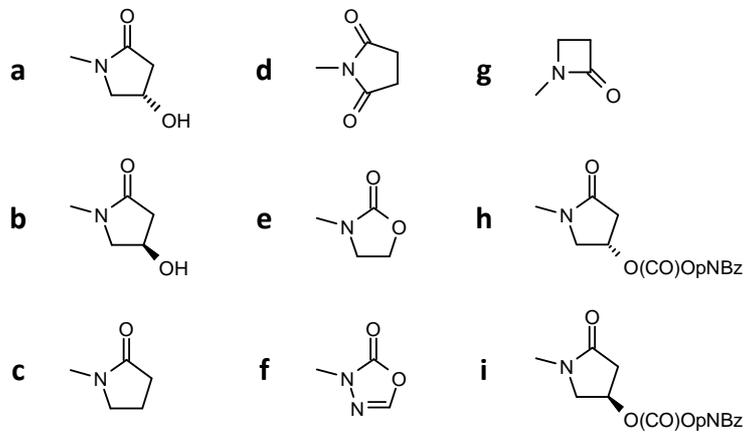


Im letzten Schritt (Schema 2) erfolgt die Abspaltung der 4-Nitrobenzylschutzgruppe der Verbindungen **3c-i** mittels Hydrogenolyse an Palladium auf Aktivkohle.



3: R = c - i

4: R = a - g

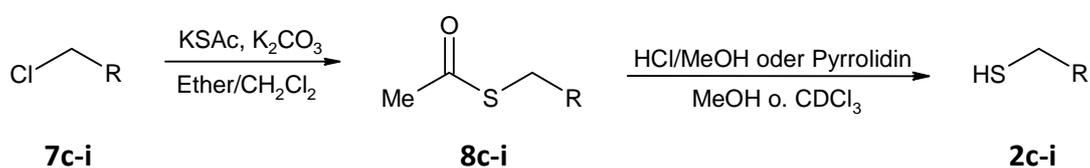


2.2.2 Darstellung der Thiole

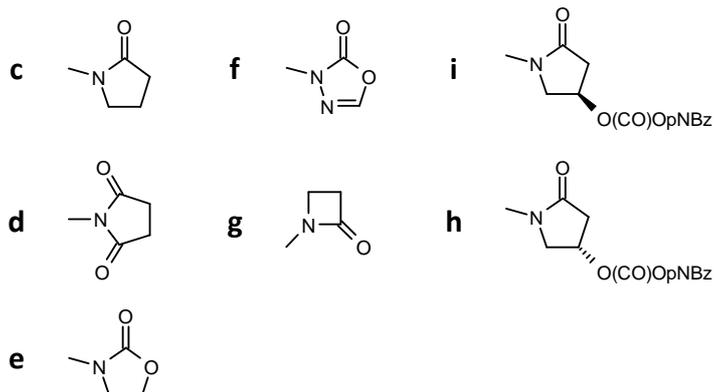
Die Thiole **2c-i** sollen gemäß einer Patentvorschrift⁴⁷ ausgehend von den Chloriden **7c-i** dargestellt werden. Der Syntheseweg ist in Schema 3 aufgezeigt.

Dazu werden die Verbindungen **7c-i** mit Kaliumthioacetat in Anwesenheit von Kaliumcarbonat umgesetzt um die jeweiligen Thioessigsäureester **8c-i** zu erhalten. Die Spaltung zu den gewünschten Thiolen **2c-i** erfolgt mit methanolischer HCl-Lösung oder Pyrrolidin.

Schema 3

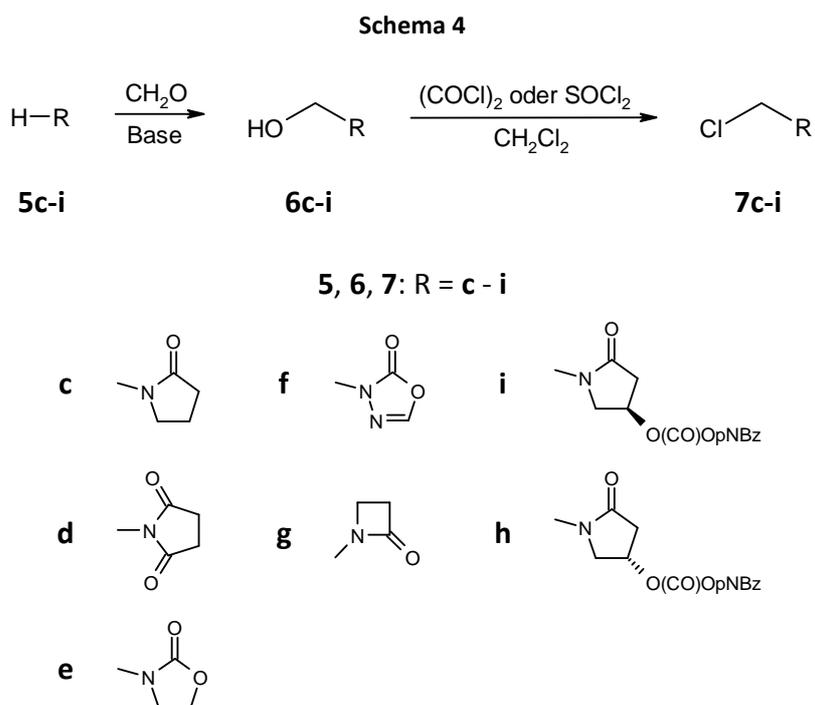


2, 7, 8: R = c - i

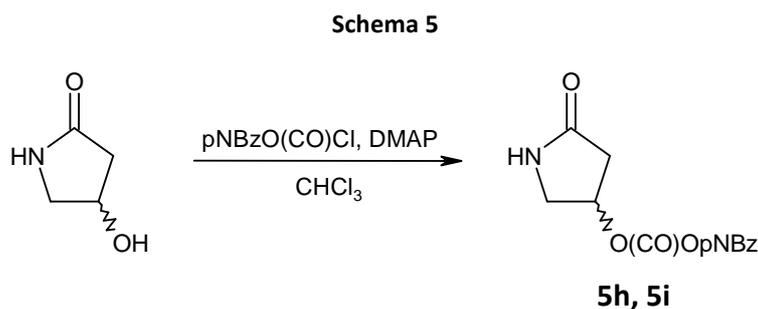


2.2.3 Darstellung der Chloride

Die Darstellung dieser Verbindungen erfolgt gemäß Schema 4 ausgehend von den Verbindungen R-H **5c-i**. Diese werden mit Formaldehyd und Natronlauge bzw. K_2CO_3 zu den Hydroxymethyl-Verbindungen **6c-i** umgesetzt.⁵² Durch Chlorierung mit Oxalylchlorid bzw. Thionylchlorid erhält man die entsprechenden Chlormethyl-Verbindungen **7c-i**.⁵³



Da auch im Molekül vorhandene Hydroxylgruppen mit Formaldehyd reagieren würden,⁴⁸ müssen diese bei den Edukten (*S*)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon und (*R*)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon geschützt werden. Als Schutzgruppe eignet sich die 4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Gruppe, da diese im letzten Schritt der Synthese, der Abspaltung der 4-Nitrobenzyl-Schutzgruppe mittels Hydrogenolyse, ebenso beseitigt wird.⁴⁹ Die Einführung der Schutzgruppe erfolgt durch Umsetzung von (*S*)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon und (*R*)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon mit Chlorameisen-4-nitrobenzylester und 4-Dimethylaminopyridin (Schema 5).

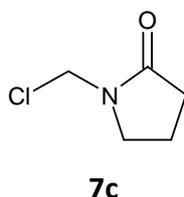


2.3 Synthese

2.3.1 Synthese der Chloride

Die Synthese der Chloride erfolgt gemäß Schema 4 (siehe S. 34) ausgehend von den Verbindungen R-H **5c-i**. Durch Umsetzung mit Formaldehyd erhält man die *N*-Hydroxymethyl-Verbindungen **6c-i**, welche mit Oxalylchlorid oder Thionylchlorid zu den entsprechenden Chlormethyl-Verbindungen **7c-i** reagieren.

2.3.1.1 1-Chlormethyl-pyrrolidin-2-on (**7c**)

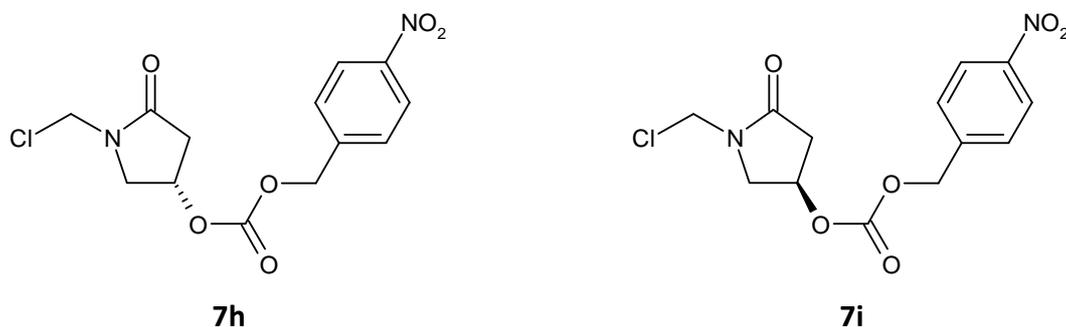


Die Durchführung der Reaktion erfolgte analog zu C. A. Zezza et al.⁵⁰ Hierbei wurde nach der Reaktion mit Paraformaldehyd auf eine Isolierung der Hydroxymethyl-Verbindung verzichtet und die Reaktionsmischung direkt mit Thionylchlorid weiter umgesetzt.

Dazu wurde 2-Pyrrolidinon mit 1 Äqu Paraformaldehyd 3 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0°C gekühlt. Innerhalb von 30 min wurden 1.2 Äqu Thionylchlorid langsam zugetropft (starke Gasentwicklung) und die Reaktionsmischung nach beendeter Zugabe bei RT gerührt. Nach 1 h war keine Gasentwicklung mehr erkennbar und das ¹H-NMR-Spektrum zeigte keine Edukt-Signale mehr. Das überschüssige Thionylchlorid wurde mit dem Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und nach fraktionierter Vakuum-Destillation erhielt man das reine Produkt als hellgelbes, stechend riechendes Öl.

Im ¹H-NMR-Spektrum erscheinen die Methylen-Protonen neben dem Stickstoff und dem Carbonylkohlenstoff je als Triplett-Signal bei 2.41 und 3.54 ppm. Die Methylen-Protonen zwischen den beiden CH₂-Gruppen spalten zu einem Triplett-Triplett-Signal bei 2.08 ppm auf. Die Protonen der Chlormethyl-Seitenkette ergeben ein Singulett-Signal bei 5.22 ppm. Charakteristisch für die Verbindung **7c** ist die Bande der Carbonylschwingung im IR-Spektrum bei 1660 cm⁻¹.

2.3.1.2 Synthese des (*S*)- und (*R*)-Isomers von Kohlensäure-(1-chlormethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (**7h**) und (**7i**)



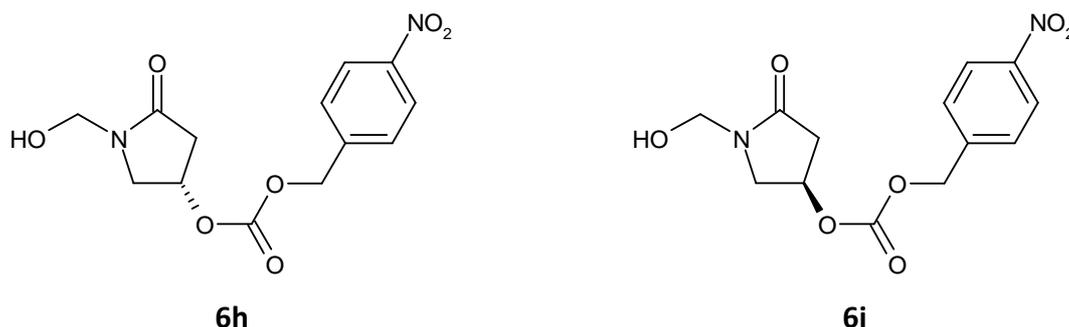
Da bei der Reaktion von (*S*)- und (*R*)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon mit wässriger Formaldehydlösung auch die Hydroxylgruppe der Verbindungen reagieren würde⁴⁸, mussten diese vor der Umsetzung geschützt werden.

Einführung der pNBz-Schutzgruppe

Die Einführung der Schutzgruppe orientierte sich an der Vorschrift von D. Cama und B. G. Christensen zum Schutz primärer Hydroxylgruppen (Schema 5, S. 34).⁵¹

Das entsprechende Enantiomer des 4-Hydroxy-2-pyrrolidinons wurde in tr. CHCl₃ vorgelegt und 1.36 Äqu Chlorameisensäure-4-nitrobenzylester, gelöst in tr. CHCl₃ zugespritzt. Die weiß-beige Suspension wurde mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C gekühlt und 1.36 Äqu 4-Dimethylaminopyridin in kleinen Portionen zugegeben. Nach 22 h bei -30°C zeigte das DC in EE/MeOH 9:1 kein Edukt mehr. Das isolierte Rohprodukt wurde mit Ether digeriert. Man erhielt weiß-beige Kristalle. Für die Elementaranalyse wurde eine kleine Menge des (*S*)- und (*R*)-Isomers mittels Säulenchromatographie mit einem Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 95:5 gereinigt.

Die diastereotopen Methylen-Protonen des Pyrrolidinonrings erscheinen im ¹H-NMR-Spektrum jeweils als zwei Dublett-Dublett-Signale. Das Proton am chiralen Kohlenstoff ergibt ein dddd-Signal. Die CH₂-Gruppe der Benzyl-Gruppe erscheint als Singulett bei 5.26 (**5h**) bzw. 5.27 (**5i**) ppm. Charakteristisch für die beiden Enantiomere ist im IR-Spektrum die Carbonylschwingung der Schutzgruppe bei 1695 (**5h**) bzw. 1690 (**5i**) cm⁻¹, sowie die Banden der Nitro-Gruppe bei 1515, 1345 cm⁻¹ (**5h**) bzw. 1510, 1340 cm⁻¹ (**5i**).

Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindungen **6h** und **6i**

Die Reaktion zu den Hydroxymethyl-Verbindungen **6h** und **6i** erfolgte in Anlehnung an die Vorschriften von A. Einhorn, E. Bischkopff und B. Szelinski.⁵²

Das entsprechende Enantiomer wurde mit 35%iger wässriger Formaldehydlösung (1.1 Äqu Formaldehyd) und einer katalytischen Menge an 1 N Natronlauge in THF versetzt und bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Nach 20 h zeigte das DC in EE/MeOH 9:1 noch Edukt. Daraufhin wurden weitere 0.5 Äqu wässrige Formaldehydlösung zugegeben und die Reaktionsmischung bei 40°C gerührt.

Das DC und ¹H-NMR-Spektrum der entstandenen gelben Lösung zeigten nach 2 h kein Edukt mehr. Nach Aufarbeitung und Trocknen am HV konnte das Rohprodukt als zähes gelbes Öl isoliert werden. Durch Reinigung mittels Säulenchromatographie erhielt man das Produkt als weißen Feststoff.

Charakteristisch für die Verbindungen sind die breiten OH-Banden im IR-Spektrum bei 3310 (**6h**) bzw. 3335 (**6i**) cm⁻¹. Die diastereotopen Protonen der Hydroxymethyl-Seitenkette ergeben im ¹H-NMR-Spektrum zwei Dublett-Signale bei 4.76 und 4.91 ppm für die Verbindung **6h**, sowie bei 4.75 und 4.90 ppm für **6i**.

Chlorierung von **6h** und **6i**

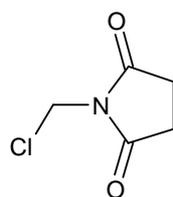
Die Darstellung der Chloride **7h** und **7i**, ausgehend von den Hydroxymethyl-Verbindungen orientierte sich an der Vorschrift von B. Rigo, J. Quillacq, E. Fossaert und N. Kolocouris.⁵³

Das entsprechende Enantiomer wurde in tr. CH₂Cl₂ vorgelegt und mit 3 Äqu Thionylchlorid versetzt. Es trat eine starke Gasentwicklung auf.

Nach Beendigung der Zugabe wurde die gelbe Lösung bei einer Ölbadtemperatur von 50°C gerührt. Nach 60 min war keine Gasentwicklung mehr erkennbar. Das DC in EE/MeOH 9:1 und das ^1H -Spektrum zeigten kein Edukt mehr. Das überschüssige Thionylchlorid wurde mit dem Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhielt man ein gelb-oranges viskoses Öl. Auf eine Reinigung wurde verzichtet, da die Reinheit der Rohprodukte für die nachfolgende Synthesestufe ausreichend war.

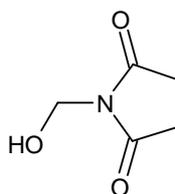
Im ^1H -NMR-Spektrum bewirkt die Substitution der Hydroxylgruppe durch das Chlor-Atom eine Verschiebung der beiden Dublett-Signale der benachbarten CH_2 -Gruppe ins Tieffeld.

2.3.1.3 Synthese von 1-Chlormethyl-pyrrolidin-2,5-dion (7d)⁵⁴



7d

Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung 6d



6d

Die Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung **6d** richtete sich nach der Vorschrift von E. Cherbuliez und G. Sulzer.⁵⁵ Als Edukt diente Succinimid.

Succinimid wurde mit wässriger Formaldehydlösung (1.1 Äqu Formaldehyd) und einer katalytischen Menge K_2CO_3 im Ölbad bei 35°C erhitzt. Nach 2 h wurde von der gelb-braunen Lösung eine NMR-Probe entnommen. Im ^1H -NMR-Spektrum waren keine Edukt-Signale mehr erkennbar. Durch Trocknen am HV und anschließendem Digerieren in wenig Ether erhielt man das Rohprodukt als beigen Feststoff. Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus Ether, wobei das Produkt in Form weißer Nadeln anfiel.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheinen die Methylen-Protonen des Pyrrolidin-2,5-dions als Singulett-Signal bei 2.68 ppm, das Singulett der Methylen-Protonen der Seitenkette bei 4.92 ppm. Das Proton der Hydroxylgruppe ergibt ein breites Signal bei 4.01 ppm.

Im IR-Spektrum ist die Verbindung durch die breite OH-Bande bei 3414 cm^{-1} und die sehr starke Carbonylbande bei 1682 cm^{-1} charakterisiert.

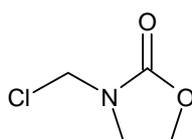
Chlorierung von 6d

Die Darstellung von 1-Chlormethyl-pyrrolidin-2,5-on (**7d**) ist literaturbekannt.⁷⁹

Dazu wurde die Hydroxymethyl-Verbindung **6d** in Ether suspendiert und mit 3 Äqu Thionylchlorid versetzt (starke Gasentwicklung). Die Suspension wurde im Ölbad bei 40°C gerührt, wobei das Edukt langsam in Lösung ging und ein gelber Niederschlag ausfiel. Nach 90 min zeigte das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Edukt-Signale mehr. Nach der Isolierung des Rohproduktes wurde dies mittels Säulenchromatographie gereinigt. Das Produkt fiel in Form gelber Kristalle an.

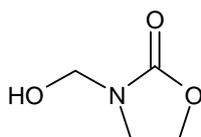
Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist das Singulett der Methyl-Protonen der Seitenkette im Vergleich zur Hydroxymethyl-Verbindung von 4.92 nach 5.24 ppm Tieffeld-verschoben.

2.3.1.4 Synthese von 3-Chlormethyl-oxazolidin-2-on (**7e**)



7e

Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung 6e



6e

Die Reaktion zur Hydroxymethyl-Verbindung **6e** erfolgte ausgehend von 2-Oxazolidinon in Anlehnung an die Darstellung von Verbindung **6h** und **6i**.

2-Oxazolidinon wurde mit 35%iger wässriger Formaldehydlösung (1.1 Äqu Formaldehyd) und einer katalytischen Menge 1 N Natronlauge versetzt und die Lösung bei RT gerührt. Nach 26 h zeigte das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Edukt-Signale mehr. Nach Aufarbeitung und Trocknen am HV konnte das Rohprodukt als weißer Feststoff isoliert werden. Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus Essigsäure-*n*-butylester. Man erhielt das Produkt in Form weißer Kristalle.

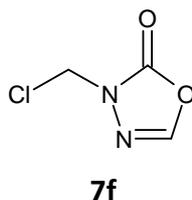
Charakteristisch für die Verbindung sind die breite OH-Bande im IR-Spektrum bei 3352 cm^{-1} und die starke Bande der Carbonylschwingung bei 1712 cm^{-1} . Die Protonen der Hydroxymethyl-Seitenkette ergeben im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum durch Kopplung mit dem Proton der Hydroxylgruppe ein Dublett-Signal bei 4.83 ppm. Das Proton der Hydroxylgruppe erscheint als Triplett-Signal bei 3.91 ppm. Die Methylen-Protonen des Oxazolidinon-Ringes ergeben durch Kopplung mit den Protonen der benachbarten CH_2 -Gruppe je ein Triplett mit einer Kopplung von 8.0 Hz. Die CH_2 -Gruppe neben dem Sauerstoff ist gegenüber der CH_2 -Gruppe am Stickstoff Tieffeld-verschoben.

Chlorierung von **6e**

3-Hydroxymethyl-oxazolidin-2-on (**6e**) wurde in tr. CH_2Cl_2 vorgelegt und mit einem Methanol-Eisbad auf -15°C gekühlt. Nach der vorsichtigen Zugabe von 1.2 Äqu Oxalylchlorid (starke Gasentwicklung) wurde die hellgelbe Lösung bei -10°C gerührt. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte nach 30 min keine Edukt-Signale mehr. Das überschüssige Oxalylchlorid und Lösungsmittel wurde abgezogen und man erhielt das Produkt als hellgelbes Öl. Auf eine Aufreinigung wurde verzichtet, da die Reinheit des Rohproduktes für die nachfolgende Synthesestufe ausreichend war.

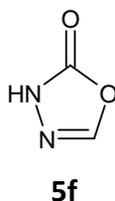
Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ergeben die Methylen-Protonen der Seitenkette ein Singulett-Signal bei 5.19 ppm, welches im Vergleich zur Hydroxymethyl-Verbindung um 0.36 ppm Tieffeld-verschoben ist.

2.3.1.5 Synthese von 3-Chlormethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (**7f**)



Zur Darstellung der Chlormethyl-Verbindung **7f** musste zunächst der 2-Oxadiazolon-Heterozyklus synthetisiert werden. Durch Umsetzung mit wässriger Formaldehydlösung und Oxalylchlorid erhielt man Verbindung **7f**.

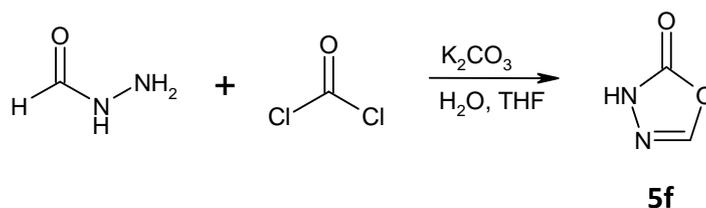
Synthese des 2-Oxadiazolon-Heterozyklus **5f**



Die Synthese des Heterozyklus **5f** richtete sich nach der Vorschrift von K. Rüfenacht.⁵⁶ Er entwickelte eine verbesserte Methode zur Herstellung von 3H-[1,3,4]Oxadiazol-2-onen.

Bei der ursprünglichen Methode von Dornow und Bruncken⁵⁷ werden Acylhydrazide in wässriger Lösung durch Einwirken von Phosgen umgesetzt. Problematischer Weise kommt es vor allem bei aliphatischen Hydraziden durch den entstehenden Chlorwasserstoff zur Spaltung. Die Ausbeuten sind gering und die Aufarbeitung wird durch auskristallisierendes Hydrazin-Hydrochlorid erschwert. Rüfenacht fand heraus, dass die Phosgenierung in soda-alkalischer Lösung wesentlich bessere Ausbeuten liefert (Schema 6).

Schema 6

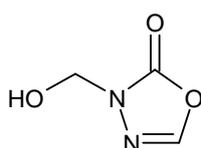


Die Darstellung von 3*H*-[1,3,4]Oxadiazol-2-on erfolgte in einem Dreihalsrundkolben mit KPG-Rührer, Thermometer mit Quickfit und Tropftrichter mit Druckausgleich und aufgesetztem Gasblasenzähler. Da Phosgen ein hochgiftiges Gas ist, wurde aus Sicherheitsgründen eine 20%ige Phosgen-Lösung in Toluol eingesetzt. Reste von Phosgen wurden mittels verdünnter Ammoniaklösung vernichtet.

Formylhydrazin wurde in THF vorgelegt und eine Lösung von 1.5 Äqu K_2CO_3 in dest. Wasser zugegeben. Unter Eiskühlung tropfte man 1.2 Äqu Phosgen in Toluol zu, wobei zu beachten war, dass die Innentemperatur zwischen 5 und 10°C lag. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionsmischung 15 min bei 7°C weitergerührt und anschließend wässrig aufgearbeitet. Zur Isolierung des Produktes wurde die wässrige Phase in einem Flüssig-Flüssig-Extraktor mit EE extrahiert. Man erhielt das Produkt in Form weißer Kristalle. Eine Aufreinigung des Produktes war für die weiteren Syntheseschritte nicht nötig.

Das 1H -NMR-Spektrum der Verbindung wurde in $CDCl_3$ und 0.1 ml DMSO aufgenommen. Im Spektrum erscheint das Methin-Proton als Singulett-Signal bei 7.55 ppm. Das Proton am Stickstoff ergibt ein breites Signal bei 11.9 ppm. Charakteristisch für die Verbindung sind im IR-Spektrum die Banden der N-H-Schwingung bei 3302 und 3246 cm^{-1} und die sehr starke Bande der Carbonylschwingung bei 1744 cm^{-1} .

Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung **6f**



6f

Die Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung **6f** erfolgte in Anlehnung an die Vorschrift von K. Rüfenacht.⁵⁶

Dazu wurde 3*H*-[1,3,4]Oxadiazol-2-on (**5f**) mit 30%iger wässriger Formaldehydlösung (1.1 Äqu Formaldehyd) und einer katalytischen Menge an 1 N Natronlauge versetzt und bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Nach 15 min wurde die Lösung aufgearbeitet. Das Rohprodukt konnte nach dem Trocknen am HV als zähes gelbes Öl isoliert werden. Die Reinheit des Rohproduktes war für die weitere Umsetzung ausreichend.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, aufgenommen in CDCl_3 und 0.1 ml DMSO, erscheinen die Methylen-Protonen der Seitenkette als Singulett-Signal bei 4.94 ppm. Das Proton der Hydroxyl-Gruppe ergibt ein breites Signal bei 5.92 ppm. Die OH-Schwingung des Moleküls erscheint im IR-Spektrum als charakteristisch breite Bande bei 3405 cm^{-1} .

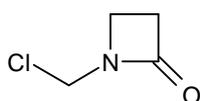
Chlorierung von 6f

Die Reaktion zum 3-Chlormethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (**7f**) erfolgte, entgegen der Vorschrift von K. Rüfenacht⁵⁶, mit Oxalylchlorid anstelle von Thionylchlorid. Dies brachte eine Verbesserung der Ausbeute von 56% auf 68%.

Die Hydroxymethyl-Verbindung **6f** wurde in tr. CH_2Cl_2 vorgelegt und bei -12°C über einen Zeitraum von 10 min mit 1.2 Äqu Oxalylchlorid versetzt. Es setzte eine starke Gasentwicklung ein, die nach 23 h bei RT beendet war. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte keine Edukt-Signale mehr. Nach der Isolierung des Rohproduktes erfolgte die Reinigung mittels fraktionierter Destillation am HV. Man erhielt ein leicht gelbliches viskoses Öl.

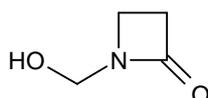
Die Substitution der Hydroxylgruppe durch das Chloratom bewirkt im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eine Tieffeld-Verschiebung der Methylen-Protonen der Seitenkette von 4.94 ppm auf 5.53 ppm. Im IR-Spektrum wandert die Bande der C=O-Schwingung von 1752 auf 1713 cm^{-1} .

2.3.1.6 1-Chlormethylazetidin-2-on (**7g**)



7g

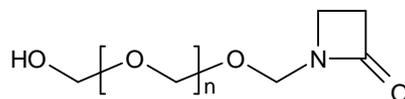
Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung 6g



6g

Die Darstellung der Hydroxymethyl-Verbindung **6g** sollte ausgehend von 2-Azetidinon nach der Vorschrift von E. Valente, J. R. B. Gomes, R. Moreira und J. Iley erfolgen.⁵⁸

Dazu wurde 2-Azetidinon mit 37%iger wässriger Formaldehydlösung (11 Äqu Formaldehyd) und einer katalytischen Menge K_2CO_3 umgesetzt. Nach 4 h zeigte das 1H -NMR-Spektrum zahlreiche Nebenproduktsignale. Vermutlich handelt es sich um mehrfach substituierte Verbindungen der Art:



Nebenprodukt

Die Reaktionsmischung wurde daraufhin verworfen.

Zur Vermeidung der Mehrfachsubstitution wurde die Reaktion mit nur 1.1 Äqu Formaldehyd durchgeführt. Nach 25 min bei RT zeigte das 1H -NMR-Spektrum keine Edukt-Signale mehr. Auch die Bildung von Nebenprodukten konnte nicht beobachtet werden. Nach Aufarbeitung und Trocknen am HV wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt. Man erhielt ein farbloses Öl.

Im 1H -NMR-Spektrum ergeben die beiden CH_2 -Gruppen des β -Lactamringes je ein Triplett bei 2.96 (CH_2-CO) und 3.42 ppm (CH_2-N). Die Methylen-Protonen der Seitenkette erscheinen als Singulett bei 4.66 ppm.

Charakteristisch für die Verbindung sind die breite Bande der Hydroxylgruppe bei 3363 cm^{-1} und die Bande der Carbonylfunktion bei 1715 cm^{-1} .

Chlorierung von **6g**

Die Darstellung des Chlorids **7g** erfolgte durch Umsetzung der Hydroxymethyl-Verbindung **6g** mit Oxalylchlorid. Bei dem Versuch die Reaktion mit Thionylchlorid durchzuführen, kam es zur Abspaltung von Paraformaldehyd.

1-Hydroxymethylazetidin-2-on (**6g**) wurde in tr. CH_2Cl_2 vorgelegt und mit einem Methanol-Eisbad auf $-15^\circ C$ gekühlt. Über einen Zeitraum von 20 min wurden 1.2 Äqu Oxalylchlorid zugetropft (starke Gasentwicklung) und die Reaktionsmischung anschließend bei $-15^\circ C$ gerührt. Nach 10 min zeigte das 1H -NMR-Spektrum keine Edukt-Signale mehr. Nach Abziehen des überschüssigen Oxalylchlorids und Lösungsmittels erhielt man das Produkt als farbloses Öl. Auf eine Aufreinigung wurde verzichtet, da die Reinheit des Rohproduktes für die nachfolgende Synthesestufe ausreichend war.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheint das Singulett-Signal der Methyl-Protonen auf Grund des Chlorsubstituenten um 0.41 ppm Tieffeld-verschoben.

2.3.2 Synthese der Thiole

Darstellung der Thioessigsäureester **8c-i**

Die Synthese der Thiole erfolgte ausgehend von den entsprechenden Thioessigsäureestern **8c-i**, welche durch Umsetzung der Chloride **7c-i** mit Kaliumthioacetat erhalten wurden (Schema 3, S. 33). Die Synthese der Thioessigsäureester richtete sich nach einer Patentvorschrift.⁴⁷

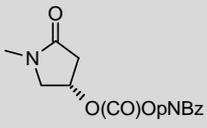
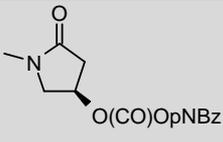
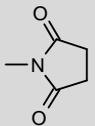
Dazu wurden die Chlormethyl-Verbindungen **7c-i** in tr. Ether oder einem Lösungsmittelgemisch Ether/ CH_2Cl_2 1:1 vorgelegt, da die Löslichkeit der meisten Chloride in reinem Ether zu niedrig war. Es wurden 1.1 Äqu tr. und frisch gemörsertes Kaliumthioacetat sowie eine katalytische Menge an Kaliumcarbonat zugesetzt und die beigen Suspensionen bei RT 20 – 22 h gerührt. Mit zunehmendem Reaktionsfortschritt trat durch ausfallendes KCl eine Verfärbung der Suspensionen von beige nach weiß auf. Die Lösungen verfärbten sich gelblich.

Der Reaktionsfortschritt konnte mittels Dünnschichtchromatographie und $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie verfolgt werden. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum lässt sich deutlich die Hochfeld-Verschiebung der Methylen-Protonen der Seitenketten beobachten.

Die Reinigung der isolierten Rohprodukte erfolgte mittels Säulenchromatographie. Die Ausbeuten lagen zwischen 50 und 80%.

In Tabelle 4 sind die Ausbeuten und charakteristischen spektroskopischen Daten der synthetisierten Thioessigsäureester aufgelistet.

Tabelle 4: Thioessigsäureester 8c-i

AcS-CH ₂ -R R =	Ausbeute [%]	¹ H-NMR δ [ppm] AcS-CH ₂ -R	¹ H-NMR δ [ppm] CH ₃ (CO)-S-	IR ν̄ [cm ⁻¹] C=O (Ring)	IR ν̄ [cm ⁻¹] C=O (AcS)
 8c	Orange Kristalle 80	4.81 (s)	2.38 (s)	1683 (vs)	1683 (vs)
 8h	Beiger Feststoff 63	4.77 (d) 4.87 (d)	2.39 (s)	1730 (vs)	1680 (vs)
 8i	Beiger Feststoff 69	4.77 (d) 4.87 (d)	2.39 (s)	1730 (vs)	1685 (vs)
 8d	Beiger Feststoff 76	4.96 (s)	2.35 (s)	1696 (vs)	1696 (vs)
 8e	Braunes Öl 60	4.75 (s)	2.35 (s)	1747 (vs)	1690 (vs)
 8f	Braunes Öl 60	5.26 (s)	2.44 (s)	1727 (vs)	1727 (vs)
 8g	Orange- rotes Öl 50	4.62 (s)	2.36 (s)	1741 (vs)	1689 (s)

Spaltung der Thioessigsäureester zu den Thiolen **2c-i**

Die Spaltung von Thioessigsäureestern zu den entsprechenden Thiolen erfolgt im Allgemeinen unter basischen oder sauren Bedingungen. Bevorzugt werden Natronlauge, Salzsäure, methanolische NaOMe-Lösung oder methanolische HCl-Lösung verwendet.⁴⁷

Eine Alternative hierzu ist die Umsetzung der Thioessigsäureester mit Pyrrolidin.

J. Mansson publizierte 1982 eine Methode zur Entschützung aromatischer Acetate zu den entsprechenden Alkoholen mit Pyrrolidin.⁵⁹ Einige Jahre später wurde im Zuge der Synthese von 3-Aryl-2-oxo-oxazolidinen die Spaltung eines aromatischen Thioacetats mittels Pyrrolidin zum Thiol veröffentlicht.⁶⁰ Da diese Methode auch auf aliphatische Thioacetate anwendbar ist, zählt die Spaltung mit Pyrrolidin im Arbeitskreis mittlerweile zu den Standardmethoden zur Darstellung von Thiolen. Der Vorteil dieser Methode liegt vor allem in der vereinfachten Aufarbeitung des Reaktionsansatzes. Die Reaktionsmischung kann ohne Neutralisation direkt an Kieselgel chromatographiert werden.

Die Spaltung der Thioessigsäureester **8c-i** erfolgte durch methanolische HCl-Lösung oder Pyrrolidin (Schema 3, S. 33).

Dazu wurden die Thioessigsäureester in tr. CHCl_3 (auch CDCl_3) vorgelegt und auf 0°C gekühlt. Es wurden langsam 1.1 Äqu Pyrrolidin zugetropft und die Lösungen bei RT gerührt. Der Reaktionsfortschritt konnte mittels Dünnschichtchromatographie (Produkte schmieren) verfolgt werden. Die Reaktionsmischung wurde zur Aufarbeitung und Reinigung direkt auf Kieselgel aufgetragen und säulenchromatographisch gereinigt.

Als weitere Methode zur Thioldarstellung wurde die saure Thioacetat-Spaltung mit methanolischer HCl-Lösung verwendet. Die Durchführung richtete sich nach einer Arbeitskreisvorschrift.⁴⁷

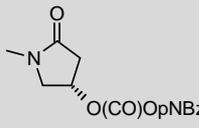
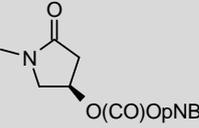
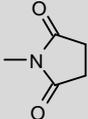
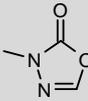
Dazu wurden die Thioessigsäureester in 1.25 N methanolischer HCl-Lösung (3 Äqu HCl) gelöst und bei RT für 18 - 22 h gerührt. Der Reaktionsfortschritt konnte auch hier mit Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Reaktionslösung auf 0°C gekühlt und mit 2 N methanolischer NaOMe-Lösung auf pH 5 eingestellt. Die Reinigung des isolierten Rohproduktes erfolgte mittels Säulenchromatographie. Zur Lagerung wurden die flüssigen Thiole in CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert. Die festen Substanzen wurden direkt bei -30°C gelagert.

Im ^1H -NMR-Spektrum der Thiole ergeben die Methylen-Protonen der Seitenkette durch Kopplung mit dem SH-Proton ein Dublett-Signal im Bereich von 4.3 bis 4.9 ppm. Das SH-Proton erscheint dadurch als Triplett im Bereich von 2.1 bis 2.6 ppm.

Ausnahmen hierbei sind das (*S*)- und (*R*)-Isomer **2h** und **2i**. Die diastereotopen Methylen-Protonen der Seitenkette ergeben durch die zusätzliche Kopplung mit dem SH-Proton zwei Dublett-Dublett-Signale. Das SH-Proton erscheint als Triplett-Signal.

Tabelle 5 liefert eine Übersicht über die synthetisierten Thiole.

Tabelle 5: Thiole 2c-i

HS-CH ₂ -R R =	Reaktionszeit/ Spaltung mit	Ausbeute [%]	¹ H-NMR δ [ppm] HS-CH ₂ -R	¹ H-NMR δ [ppm] HS-CH ₂ -R	³ J _{SH/CH2} [Hz]
 2c	Milchiges Öl, bei -30°C weiße Kristalle 5 h Pyrrolidin	95	4.41 (d)	2.13 (t)	8.7
 2h	Hellgelbes Öl 4 h Pyrrolidin	93	4.31 (dd) 4.55 (dd)	2.12 (t)	8.9
 2i	Hellgelbes Öl 4 h Pyrrolidin	95	4.32 (dd) 4.57 (dd)	2.13 (t)	8.9
 2d	Weißer Feststoff 40 min Pyrrolidin	74	4.54 (d)	2.64 (t)	9.4
 2e	Farbloses Öl 22 h HCl/MeOH	64	4.40 (d)	2.14 (t)	8.9
 2f	Farbloses Öl 18 h HCl/MeOH	72	4.86 (d)	2.56 (t)	9.2
 2g	Farbloses Öl 1 h Pyrrolidin	78	4.30 (d)	2.06 (t)	8.1

2.3.3 Synthese der 1 β -Methyl-Carbapeneme

Darstellung der pNBz-geschützten Carbapeneme 3c-i

Die Carbapenemester **3c-i** wurden ausgehend von Enolphosphat **1** und den Thiolen **2c-i** durch eine Substitutionsreaktion hergestellt (Schema 1, S. 31). Die Durchführung orientierte sich an einer Patentvorschrift.⁴⁷

Enolphosphat **1** wurde in tr. DMF unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und mit einem MeOH/Eisbad auf -15°C gekühlt. Das Thiol wurde gelöst in CHCl_3 zugespritzt und anschließend *N,N*-Diisopropylethylamin langsam zugetropft, um hohe Konzentrationen an Base und Nukleophil zu vermeiden. Man ließ die Reaktionsmischung langsam auf 0°C auftauen und rührte je nach Verbindung zwischen 18 und 22 h. Die Reaktion konnte auch bei -30°C durchgeführt werden. Hier lagen die Reaktionszeiten bei ca. 60 h.

Der Reaktionsfortschritt wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt, wobei die Probe in wenig EE gelöst und mit einigen Tropfen dest. H_2O gewaschen wurde, um das vorhandene DMF auszuwaschen.

Nach beendeter Reaktion wurde die Reaktionslösung wässrig aufgearbeitet. Zur Entfernung von unverbrauchtem Thiol wurde die organische Phase unter anderem mit 10%iger K_2CO_3 -Lösung gewaschen werden. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels Säulenchromatographie.

Die diastereotopen Methylen-Protonen zwischen dem Schwefel- und Stickstoffatom ergeben im ^1H -NMR-Spektrum zwei Dublett-Signale.

Charakteristisch für die Verbindungen sind im IR-Spektrum die Banden der Nitrogruppe um 1515 cm^{-1} und 1340 cm^{-1} . Die Banden der β -Lactam-Carbonylschwingung erscheinen im Spektrum zwischen 1731 und 1766 cm^{-1} , die der Carbonylschwingung des Heterozyklus und der pNBz-Schutzgruppe in einem Bereich von 1694 und 1739 cm^{-1} . Vereinzelt überlagern sich die Carbonylschwingungsbanden zu nur einer Bande.

Hydrogenolyse der pNBz-Schutzgruppe

Die Abspaltung der pNBz-Schutzgruppe erfolgte durch heterogene Hydrogenolyse an Palladium auf Aktivkohle (Schema 2, S. 32).

Die Hydrierung von schwefelhaltigen Verbindungen mit Palladiumkatalysatoren erweist sich oft als problematisch, da die Verbindungen selbst, bzw. ihre Zersetzungsprodukte starke Katalysatorenengifte sind.⁶¹ Deshalb ist es ratsam, nach einer Reaktionszeit von 2 – 3 h neuen Katalysator zuzugeben.

Um das entsprechende Kalium- bzw. Natriumsalz der Carbapeneme zu erhalten, wurde dem Reaktionsgemisch 1 Äqu KHCO_3 bzw. NaHCO_3 zugesetzt. Aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit der Produkte musste die Aufarbeitung der Reaktionsmischung unter Eiskühlung erfolgen.

Die Hydrogenolyse der geschützten Verbindungen erfolgte bei den ersten Versuchen in einem Lösungsmittelgemisch EE/ H_2O . Als problematisch stellte sich hierbei das Entfernen des Pd-Katalysators dar. Der Katalysator war in der Reaktionslösung kolloidartig gelöst und es gelang selbst mit einer P5-Fritte nicht, ihn abzutrennen. Nur ein Filtrieren über Aktivkohle brachte hierbei Erfolg. Allerdings konnte dabei der Filterkuchen nur mit einer sehr geringen Menge H_2O gewaschen werden, da ansonsten der Katalysator mit ausgelaugt wurde. Eine verbesserte Aufarbeitung konnte durch die Verwendung von THF anstelle von EE und die Abtrennung des Katalysators durch Zentrifugieren erreicht werden.

Auf die anfänglich benutzte Hydrierapparatur (Gasbürette) wurde bei späteren Durchführungen verzichtet, da eine exakte Bestimmung des Wasserstoffverbrauchs aufgrund des entstehenden CO_2 nicht möglich war. Anstelle dessen wurde ein Schlenkkolben mit aufgesetztem Übergangsstück mit Hahn und Olive verwendet. Um eine gute Durchmischung der Lösung mit dem eingeleiteten Wasserstoff zu ermöglichen, wurde ein hantelförmiger Magnetrührstab verwendet.

Der Reaktionsfortschritt ließ sich mittels Dünnschichtchromatographie verfolgen. Bei der Hydrogenolyse der pNBz-Ester entsteht zunächst der entsprechende *p*-Aminobenzylester und schließlich wird *p*-Toluidin abgespalten. Aus diesem Grund wurde auf den DCs zusätzlich *p*-Toluidin in EE mit aufgetragen. Verfärbt sich der Produktfleck beim Fönen der Platte gelb, lässt dies auf die Anwesenheit von *p*-Aminobenzylester schließen und die Hydrogenolyse muss fortgesetzt werden. Bei Anwesenheit von *p*-Toluidin ist die Reaktion vollständig.

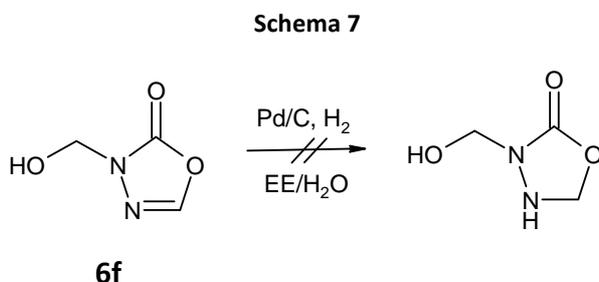
Das geschützte Carbapenem wurde in EE oder THF vorgelegt und mit 1 Äqu KHCO_3 bzw. NaHCO_3 in dest. Wasser versetzt. Der Pd/Aktivkohle-Katalysator wurde zugegeben und die Reaktionsmischung auf 0°C gekühlt. Durch mehrmaliges Evakuieren und anschließendem Belüften mit H_2 konnte die Apparatur vom Luftsauerstoff befreit werden. Die Hydrierung erfolgte bei RT oder einer Ölbadtemperatur von 30°C . Der Reaktionsfortschritt wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach 2.5 bis 3 h wurde der Reaktionsfortschritt mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Zeigte das DC noch Edukt oder *p*-Aminobenzylester wurde neuer Katalysator zugesetzt und die Hydrierung mit neuem H_2 fortgesetzt. Nach der Aufarbeitung wurde die wässrige Lösung in Ampullen abgefüllt und bei -20 bis -25°C im HV lyophilisiert. Die Aufbewahrung der Verbindungen erfolgte bei -80°C .

Von den Carbapenemen **4a-g** wurde ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in D_2O und ein IR-Spektrum aufgenommen. Die Verschiebungen und Kopplungen der wichtigsten Protonen und die Wellenzahl der Carbonylschwingungsbande des β -Lactamrings werden im Kapitel 6 (siehe S. 77) aufgelistet und diskutiert. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der Produkte wurde auf weitere Analytik verzichtet.

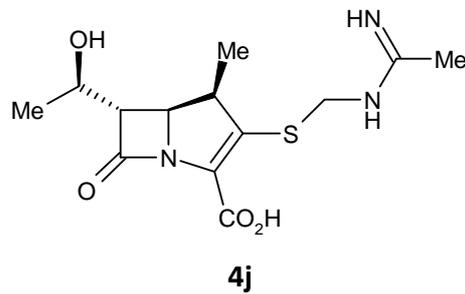
Testansatz: Hydrierung von 3f

Zur Überprüfung, ob die Doppelbindung des Oxadiazol-Heterozyklus von Verbindung **3f** bei der Hydrogenolyse erhalten bleibt, wurde in einem Testansatz 3-Hydroxymethyl-3*H*-[1,3,4]-oxadiazol-2-on (**6f**) unter den vorgegeben Bedingungen hydriert (Schema 7).

Dazu wurden in einer Hydrierapparatur 17 mg Palladium auf Aktivkohle in 1 ml EE vorhydriert und anschließend 23 mg der Hydroxymethyl-Verbindung, gelöst in 1 ml EE zugespritzt. Nach 30 min konnte keine Wasserstoffaufnahme festgestellt werden. Damit war bewiesen, dass die Doppelbindung des Heterozyklus bei der Hydrogenolyse bestehen bleibt.

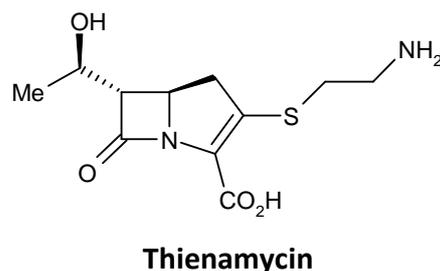


3 Synthese des (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenems 4j



3.1 Auswahlkriterium

Im Zuge einer Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehung von Thienamycin-Derivaten wurde festgestellt, dass eine zusätzliche basische Funktionalität in der C3-Seitenkette von Thienamycin die chemische Stabilität und die Wirksamkeit, vor allem gegen *Pseudomonas aeruginosa* erhöht.⁶²



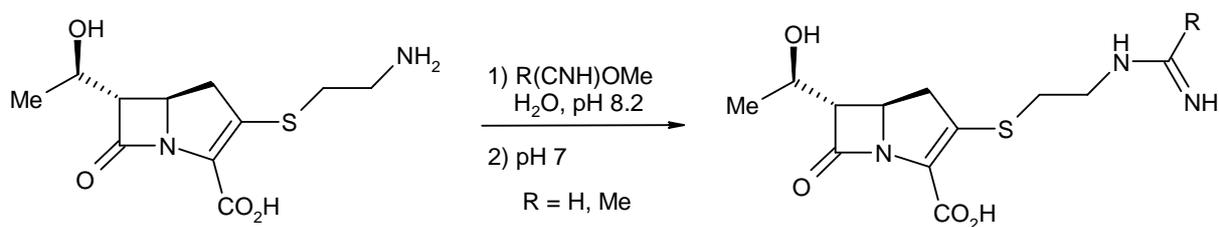
Unter den Thienamycin-*N*-Derivaten war die Klasse der Amidine besonders vielversprechend. Das von Leanza et al.⁶² synthetisierte Formidoyl- und Acetimidoyl-Thienamycin zeigten neben der verbesserten chemischen Stabilität auch eine erhöhte antibiotische Aktivität gegen *E. coli*, *Enterobacter cloacae* und *Pseudomonas aeruginosa* im Vergleich zu Thienamycin.

Auf Grund dessen sollte versucht werden, ein Meropenem-Derivat mit Acetimidoylamino-Gruppe in der Seitenkette zu synthetisieren. Die Verknüpfung der funktionellen Gruppe und dem Carbapenem-Grundkörper sollte, wie bei den vorangegangenen Derivaten, über eine Methylsulfanyl-Gruppe erfolgen.

3.2 Syntheseplanung

Aufgrund der hohen Basizität der Amidinfunktion gestaltet sich die Synthese Amidin-substituierter Verbindungen als schwierig.⁶³ Formimidoyl- und Acetimidoyl-Thienamycin wurden ursprünglich durch Umsetzung von Thienamycin mit Formimidsäure- bzw. Acetimidsäure-methylester in wässriger Lösung unter basischen Bedingungen dargestellt (Schema 8).⁶²

Schema 8



Thienamycin

**Formimidsäure-
bzw.**

**Acetimidsäure-
methylester**

R = H:

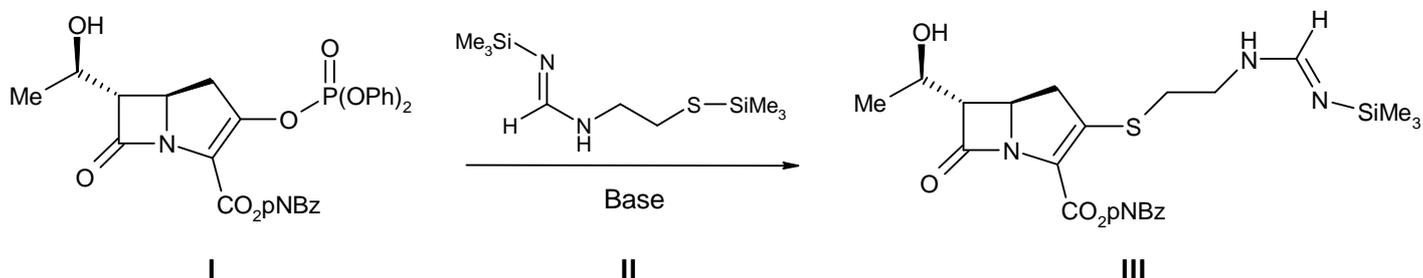
Formimidoyl-Thienamycin

R = Me:

Acetimidoyl-Thienamycin

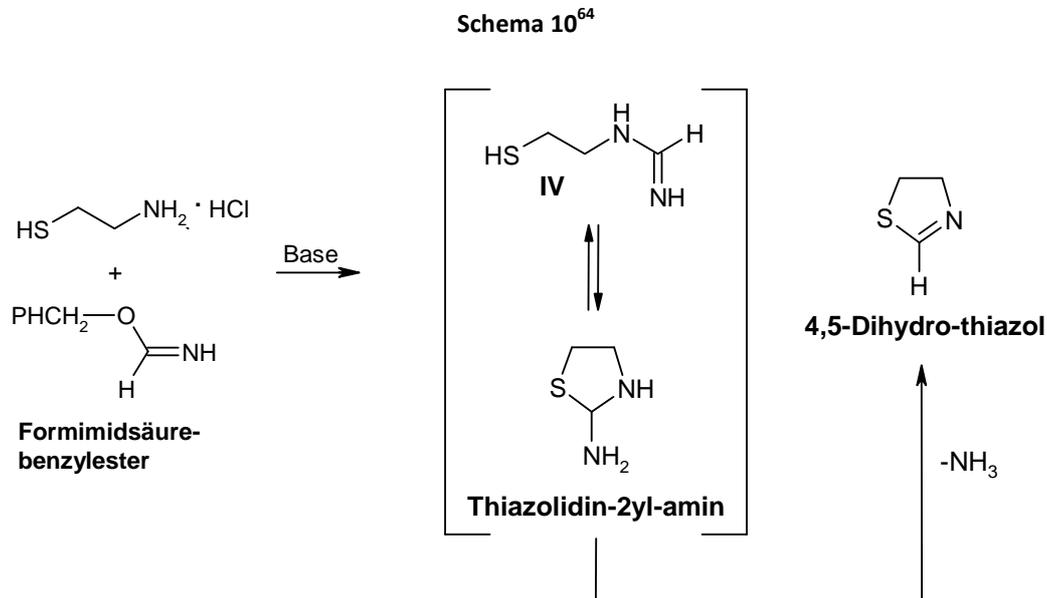
Da Thienamycin chemisch instabil ist, wurde von I. Shinkai et al. eine verbesserte Methode entwickelt.⁶⁴ Als Edukt dient hierzu das Enolphosphat **I**, welches mit *N,S*-Bis(trimethylsilyl)-*N*-formidoyl-cysteamin (**II**) zum geschützten *N*-Formimidoyl-Thienamycin **III** umgesetzt wird (Schema 9).

Schema 9

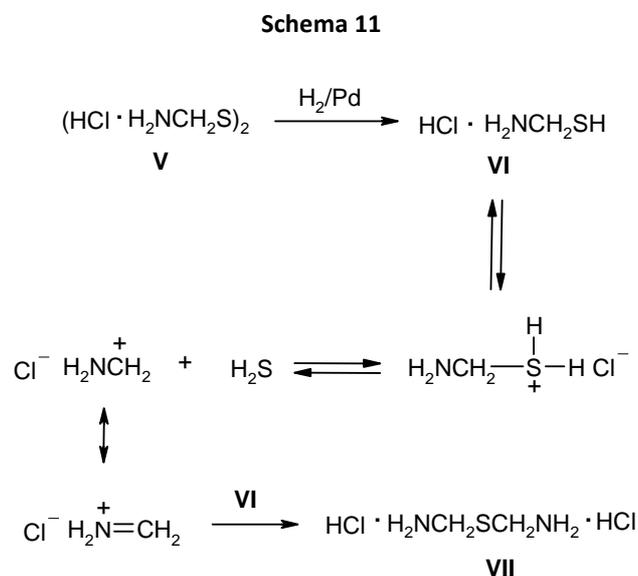


Nach der Hydrogenolyse von **III** erhält man *N*-Formimidoyl-Thienamycin mit 64%iger Ausbeute. Die Synthese von **II** erfolgt ausgehend von Cysteamin-Hydrochlorid, welches mit Bis(trimethylsilyl)-acetamid geschützt wird und anschließend mit *N*-geschütztem Formimidsäure-benzylester umgesetzt wird.

Beim Versuch das ungeschützte Formimidoyl-Thiol **IV** herzustellen (Schema 10), konnten lediglich Thiazolidin-2-ylamin und 4,5-Dihydro-thiazol als Produkte isoliert werden. Das Thiazol entsteht aus dem zyklischem Tautomer des Thiols unter Ammoniakabspaltung.⁶⁴



Zur Darstellung des gewünschten Carbapenem-Derivats mit Acetimidoylamino-methylsulfanyl Seitenkette müsste, gemäß dem eben geschilderten Syntheseweg, zunächst das Mercaptomethylamin-Hydrochlorid synthetisiert werden. Das Thiol kann nach der Methode von K. Henery-Logan und S. Abdou-Sabet durch katalytische Reduktion von *Bis*(aminomethyl)disulfid-Hydrochlorid **V** hergestellt werden.⁶⁵ Allerdings ist es nicht isolierbar, da es durch Kondensation zum Sulfid-Hydrochlorid **VII** weiterreagiert. Man nimmt folgenden Mechanismus dafür an:

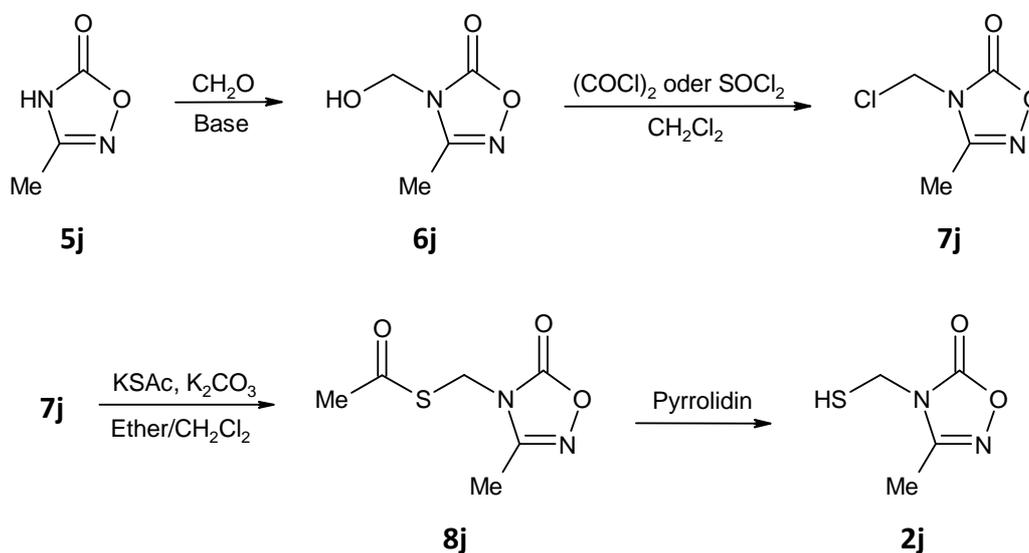


Da die Darstellung des Carbapenems **4j** analog zu den vorausgegangenen Verbindungen **4a-g** ausgehend von Enolphosphat **1** erfolgen sollte, musste ein anderes Thiol mit geschützter Acetamidinfunktion synthetisiert werden. Die Lösung hierfür brachte die Stoffklasse der Oxadiazolinone.

Die [1,2,4]Oxadiazolin-5-one stellen zugleich Schutzgruppe und Baustein für die Amidinfunktion dar und können leicht durch Hydrogenolyse in Gegenwart von Palladium auf Aktivkohle zu Amidinen gespalten werden.⁶³

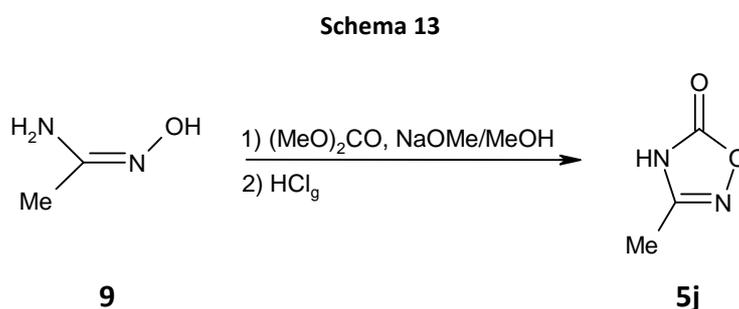
Zur Einführung der gewünschten Acetamidinfunktion in die Seitenkette eignet sich 3-Methyl-4-[1,2,4]oxadiazol-5-on (**5j**) als Ausgangsverbindung. Ausgehend davon sollte, analog zu den Carbapenemen **4a-g**, an die N4-Position des Ringes die Methylsulfonyl-Gruppe eingeführt werden (Schema 12). Durch Reaktion mit wässriger Formaldehydlösung und anschließender Chlorierung der Hydroxymethyl-Verbindung **6j** erhält man Verbindung **7j**, welche mit Kaliumthioacetat zum entsprechenden Thioessigsäureester **8j** umgesetzt werden kann. Die Spaltung zum 4-Mercaptomethyl-3-methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on (**2j**) soll mit Pyrrolidin erfolgen.

Schema 12

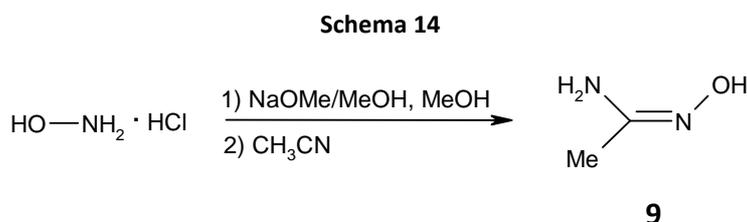


Die Darstellung des geschützten Carbapenems **3j** erfolgt analog zu den Verbindungen **3c-i** (siehe Schema 1, S. 31 und Schema 2, S. 32). Hierzu soll Enolphosphat **1** mit dem synthetisierten Thiol **2j** in Gegenwart von Base nukleophil substituiert werden. Im letzten Schritt erfolgen die Abspaltung der pNBz-Gruppe und die Freisetzung der Amidinfunktion durch Hydrogenolyse mit Palladium auf Aktivkohle.

Die Synthese des Oxadiazolon-Heterozyklus **5j** richtet sich nach der Vorschrift von R. Hett et al.⁶⁶ und erfolgt ausgehend von Acetamidoxim (**9**), welches mit Dimethylcarbonat und Natriummethanolat in Methanol umgesetzt wird (Schema 13).



Das Acetamidoxim (**9**) wird durch Reaktion von Hydroxylamin-Hydrochlorid mit Natriummethanolat in Methanol und Acetonitril synthetisiert (Schema 14).⁶⁷



3.3 Synthese

3.3.1 Acetamidoxim (9)

Hydroxylamin-Hydrochlorid wurde in tr. Methanol vorgelegt, mit einer frisch hergestellten methanolischen NaOMe-Lösung (1 Äqu) versetzt und das ausgefallene Natriumchlorid abfiltriert. Zu dem Filtrat wurde 1 Äqu tr. Acetonitril zugegeben und die Reaktionslösung bei 40°C gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie verfolgt. Nach 4 Tagen zeigte das Spektrum keine Edukt-Signale mehr. Nach Isolierung des Rohproduktes (22 g) wurde der erhaltene weiße Feststoff aus 1-Butanol umkristallisiert. Das Produkt fiel in Form weißer Nadeln an.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheint das Singulett-Signal der Methyl-Protonen bei 1.57 ppm. Charakteristisch für die Verbindung sind im IR-Spektrum die Banden der NH-Schwingungen bei 3486 und 3363 cm^{-1} , der OH-Schwingung bei 3066 cm^{-1} und der C=N-Schwingung bei 1649 cm^{-1} . Die sehr starke Bande der NH_2 -Schwingung erscheint bei 1583 cm^{-1} .

Bei dem hergestellten Acetamidoxim (9) handelt es sich um das Z-Isomer. Dies konnte anhand einer Röntgenstrukturanalyse bewiesen werden. Die Kristalle wurden durch Kristallisation aus 1-Butanol erhalten.

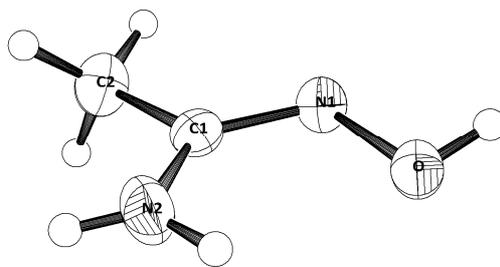
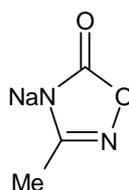


Abbildung 14: ORTEP-Plot von Acetamidoxim (9)

3.3.2 3-Methyl-4*H*-[1,2,4]oxadiazol-5-on (5j)

Zur Darstellung des Heterozyklus nach R. Hett et al. wurde anstelle von Diethylcarbonat⁶⁶ Dimethylcarbonat verwendet, da dies im Arbeitskreis vorrätig war. Als Reaktionsgefäß wurde ein druckstabiler Glasreaktor (Miniclave Büchi, mawp = 60 bar, mawt = 250 °C) der Firma Büchi verwendet.

Acetamidoxim wurde in tr. MeOH vorgelegt, mit 2 Äqu Dimethylcarbonat und einer frisch hergestellten methanolischen NaOMe-Lösung (1.1 Äqu) versetzt und bei einer Ölbadtemperatur von 70°C gerührt. Der Reaktionsfortschritt konnte mittels ¹H-NMR-Spektroskopie verfolgt werden. Nach 5 Tagen zeigte das NMR-Spektrum immer noch Edukt-Signale. Um die Verunreinigung des Produktes mit Edukt zu vermeiden, wurde die Lösung zur Isolierung des Produktes nicht einrotiert, sondern das Natriumsalz des Produktes **10** durch Zugabe von Ether ausgefällt. Nach der Isolierung erhielt man einen weißen Feststoff.



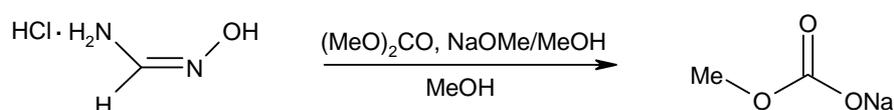
10

Das Signal der Methylgruppe erscheint im ¹H-NMR-Spektrum bei 1.75 ppm. Das Kohlenstoffatom C3 ergibt im ¹³C ein Signal bei 167.1 ppm.

Im IR-Spektrum erscheinen die Banden der C=O-Schwingung bei 1691 cm⁻¹ und der C=N-Schwingung bei 1638 cm⁻¹ als intensivste Signale.

Auf selben Wege sollte ausgehend von Formamidin-Hydrochlorid versucht werden, das Natriumsalz der unsubstituierten Verbindung 4*H*-[1,2,4]Oxadiazol-5-on darzustellen (Schema 15). Allerdings konnte als Hauptprodukt nur Natriummethylcarbonat mit einer Ausbeute von 82% isoliert werden.

Schema 15

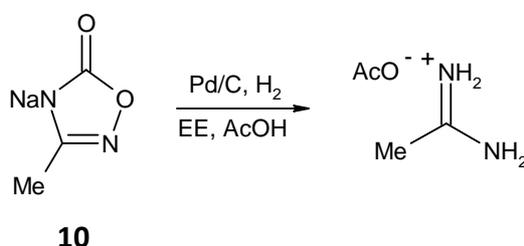


Testansatz: Hydrierung von 10

Zum Test, ob das Oxadiazolon **10** bei der Hydrogenolyse im letzten Syntheseschritt zum gewünschten Amidin freigesetzt werden kann, wurde die Verbindung in einem Vorversuch hydriert (Schema 16).

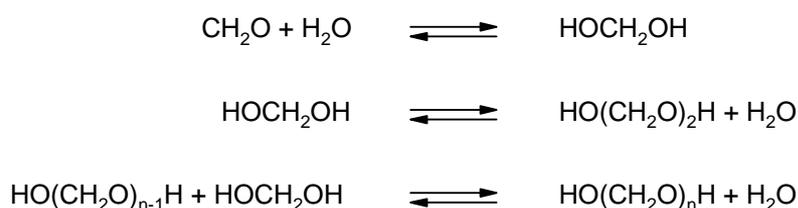
Dazu wurden 15 mg der Verbindung in 1 ml EE vorgelegt und unter Zugabe von 1.5 Äqu Eisessig mit 20 mg Palladium auf Aktivkohle bei RT hydriert.⁶³ Nach 3 h zeigte das ¹H-NMR-Spektrum in DMSO keine Edukte-Signale mehr. Bei 2.3 ppm erscheint ein neues Signal, welches auf die Methylgruppe des Acetamidins hinweist. Auf eine Aufarbeitung und nähere Untersuchung des entstandenen Acetamidinacetat-Salzes wurde verzichtet.

Schema 16

**3.3.3 4-Hydroxymethyl-3-methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on (6j)**

Zur Synthese der Hydroxymethyl-Verbindung **6j** wurde das Oxadiazolon-Natriumsalz **10** in dest. H₂O vorgelegt, mit 35%iger wässriger Formaldehydlösung (1.1 Äqu) und einer katalytischen Menge 1 N Natronlauge versetzt und im Ölbad bei 40°C gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde ¹H-NMR-spektroskopisch verfolgt. Nach 30 min zeigt das Spektrum neben den Edukt-Signalen mehrere Signale im Bereich von 4.4 bis 4.8 ppm. Dabei handelt es sich um Oligomere des Formaldehyds. In wässriger Lösung reagiert Formaldehyd mit H₂O zu Formaldehydhydrat (Methylenglykol), welches gemäß Schema 17 leicht oligomerisiert.⁶⁸

Schema 17



Der Reaktionsansatz wurde 20 h bei 40°C gerührt und anschließend erneut ein Spektrum aufgenommen. Nachdem keine Veränderung erkennbar war, wurde der Ansatz verworfen.

Als nächstes sollte versucht werden die protonierte Form von **3j** mit wässriger Formaldehydlösung umzusetzen. Dazu wurde 3-Methyl-4*H*-[1,2,4]oxadiazol-5-on-Natriumsalz (**3j**) in dest. H₂O vorgelegt und die Suspension mit 1 Äqu 37%iger Salzsäure versetzt. Zur entstandenen Lösung wurde wässrige Formaldehydlösung (1.1 Äqu) gegeben und die Reaktionslösung bei 40°C gerührt.

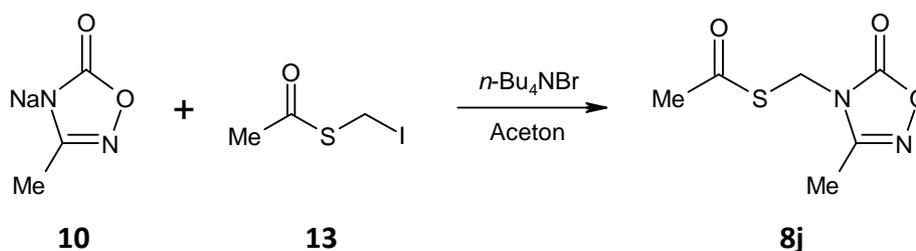
Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt nach 15 min neben den Edukt-Signalen, ein neues Signal bei 2.3 ppm und im Bereich von 4.5 bis 5.2 ppm mehrere Signale. Das Signal der Methylen-Protonen der Seitenkette wäre in diesem Bereich zu erwarten gewesen, allerdings stimmten die Integrale im Verhältnis zum Integral der Methyl-Protonen bei 2.3 ppm nicht. Die Reaktionsmischung wurde bei 40°C weitergerührt und nach 20 h erneut ein Spektrum aufgenommen. Es konnte keine Veränderung festgestellt werden. Da die Reaktionsmischung überwiegend Edukt enthielt wurde der Ansatz verworfen.

Da die Umsetzung zur Hydroxymethyl-Verbindung mit Formaldehyd nicht gelang, musste ein anderer Weg zur Synthese des Thiols eingeschlagen werden.

A. Moormann veröffentlichte eine Methode zur Darstellung von N4-alkylierten 3-Methyl-4*H*-[1,2,4]oxadiazol-5-onen durch Umsetzung des Oxadiazolon-Kaliumsalzes mit Halogenalkyl-Verbindungen unter Anwesenheit von Tetrabutylammoniumbromid in Aceton.⁶⁹

Nach dieser Methode sollte nun versucht werden, das Natriumsalz **10** mit dem von H. Böhme et al. beschriebene Thioessigsäure-*S*-iodmethylester⁷⁰ **13** umzusetzen um so direkt den gewünschten Thioessigsäureester **8j** zu erhalten (Schema 18).

Schema 18



3.3.4 Thioessigsäure-S-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-ylmethyl)ester (**8j**)

Auf die Synthese des Thioessigsäure-S-iodmethylesters (**13**) wird im Kapitel 4 (siehe S. 66) eingegangen.

3-Methyl-4*H*-[1,2,4]oxadiazol-5-on-Natriumsalz (**3j**) wurde in tr. Aceton vorgelegt, 1.1 Äqu Thioessigsäure-S-iodmethylester (**13**) zugespritzt und eine katalytische Menge Tetrabutylammoniumbromid zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 10 h bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Der Reaktionsfortschritt konnte mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Nach der Isolierung des Rohproduktes erfolgte die Reinigung mittels Säulenchromatographie. Man erhielt das Produkt in Form eines weißen Feststoffes.

Die Methyl-Protonen der Thioacetatgruppe erscheinen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als Singulett bei 2.40 ppm. Die Methylen-Protonen der Seitenkette ergeben ein Singulett bei 4.98 ppm. Im IR-Spektrum sind die Banden der Carbonylschwingungen bei 1766 cm^{-1} (C=O Heterozyklus, überlagert mit C=N) und 1699 cm^{-1} (C=O Thioacetat) am intensivsten.

Die Struktur von Verbindung **8j** konnte mittels Röntgenstrukturanalyse bestätigt werden. Die Kristalle erhielt man durch Umkristallisation aus Ether.

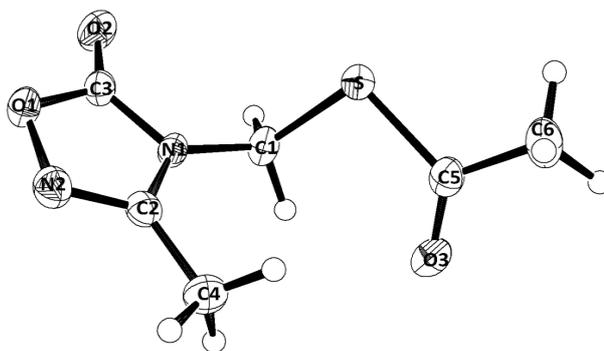
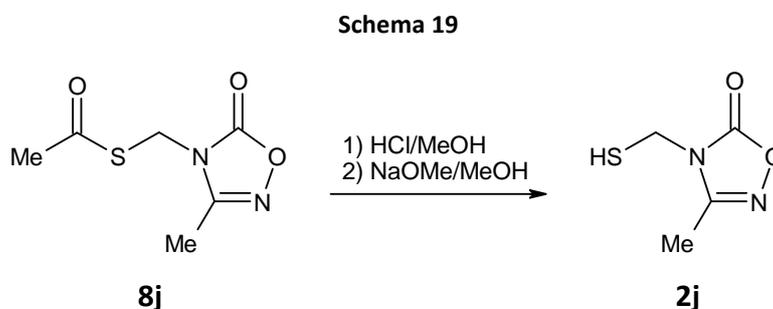


Abbildung 15: ORTEP-Plot von **8j**

3.3.5 4-Mercaptomethyl-3-methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on (**2j**)

Die Spaltung des Thioessigsäureesters **8j** zum Thiol wurde zunächst mit Pyrrolidin versucht. Das Edukt wurde bei 0°C mit 1.1 Äqu Pyrrolidin versetzt und anschließend bei RT gerührt. Im Abstand von 10 min wurden ¹H-NMR-Spektren aufgenommen um den Reaktionsfortschritt verfolgen zu können. Nach 60 min war kein Edukt mehr vorhanden, allerdings zeigte das Spektrum nur wenig Thiol **2j**, dafür zahlreiche Nebenprodukte. Auf eine Aufarbeitung und Isolierung der Produkte wurde deswegen verzichtet.

Da laut E. Moormann⁶⁹ der Oxadiazolon-Ring mit 1 N NaOH zum Amidin gespalten werden kann, wurde anstelle der basischen Spaltung mit methanolischer NaOMe-Lösung auf die saure Spaltung mit methanolischer HCl-Lösung zurückgegriffen (Schema 19).

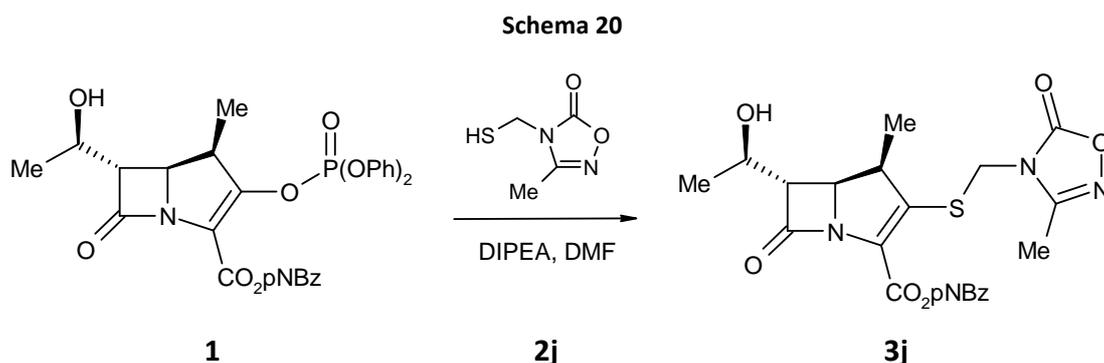


Dazu wurde 4-Mercaptomethyl-3-methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on (**2j**) in tr. MeOH gelöst und mit methanolischer HCl-Lösung (1.1 Äqu) versetzt. Nach 22 h zeigt das DC in EE kein Edukt mehr. Das Produkt schmiert von $R_f = 0$ bis 0.33. Die Reaktionsmischung wurde auf 0°C gekühlt und mit 2 N methanolischer NaOMe-Lösung auf pH 5 eingestellt. Nach der Isolierung des Rohproduktes (+ NaCl) erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung. Das Produkt fiel in Form eines gelben, übel riechenden Öls an, welches zur Aufbewahrung in tr. CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert wurde.

Im ¹H-NMR-Spektrum ergibt sich für die Methylen-Protonen durch Kopplung mit dem SH-Proton ein Dublett-Signal bei 4.64 ppm mit einer Kopplung von $J = 9.0$ Hz. Das SH-Proton spaltet bei 2.62 ppm zu einem Triplett-Signal auf.

3.3.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-yl-methylsulfanyl)-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3j**)**

Die Umsetzung von 4-Mercaptomethyl-3-methyl-4*H*-[1,2,4]oxadiazol-5-on (**2j**) mit Enolphosphat **1** zum geschützten Carbapenem **3j** erfolgte gemäß Schema 20.



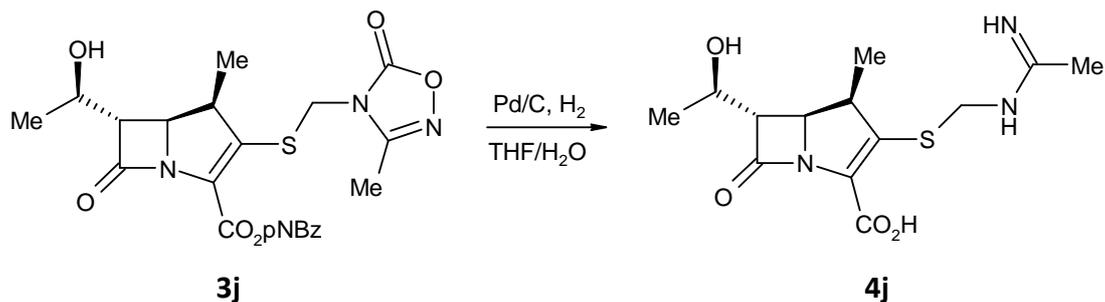
Nach 22 h zeigte das DC in EE kein Edukt mehr. Nach wässriger Aufarbeitung erfolgte die Reinigung des Rohproduktes mittels Säulenchromatographie. Man erhielt das Produkt in Form eines gelben Schaumes.

Die diastereotopen Methylen-Protonen zwischen dem Schwefel- und Stickstoffatom ergeben im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zwei Dublett-Signale. Im IR-Spektrum erscheinen die Banden der Nitrogruppe bei ca. 1519 cm^{-1} und 1345 cm^{-1} . Die Banden der C=O-Schwingungen und der C=N-Schwingung überlagern sich zu einer sehr starken Bande mit Schultern bei 1767 cm^{-1} .

3.3.7 (4*R*,5*S*,6*S*)-3-(Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-6-[(1'*R*)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure (4j)

Die Hydrogenolyse zur Abspaltung der pNBz-Schutzgruppe und Freisetzung der Amidinfunktion erfolgte gemäß der Durchführung unter 2.3.3 (S. 51). Der Zusatz von KHCO_3 bzw. NaHCO_3 war in diesem Fall nicht nötig, da die entstehende Verbindung ein Zwitterion bildet.

Schema 21



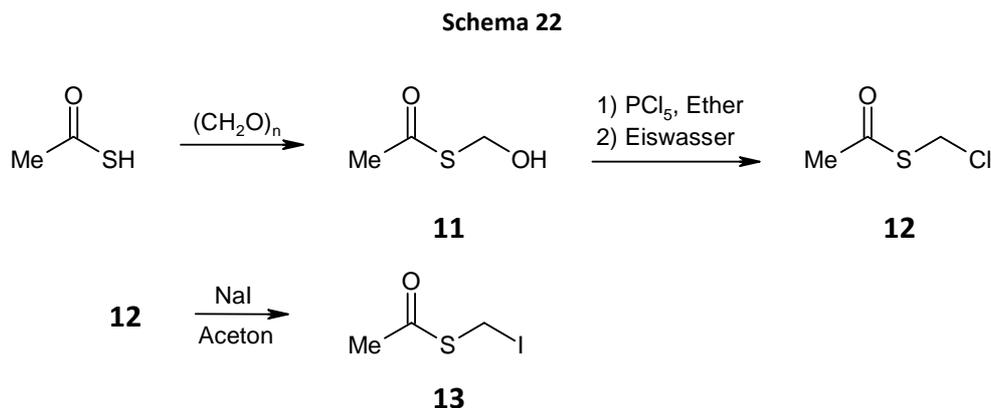
Das geschützte Carbapenem wurde in einem Lösungsmittelgemisch THF/H₂O mit Palladium auf Aktivkohle bei einer Ölbadtemperatur von 30°C hydriert. Nach 3 h zeigte das DC in EE kein Edukt mehr und die Reaktionsmischung wurde aufgearbeitet. Die erhaltene schwach gelbe wässrige Lösung wurde im Exsikkator über P₂O₅ im HV bei -30°C lyophilisiert.

Im ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung ergibt die Methylgruppe der Acetamidinfunktion ein Singulett-Signal bei 2.09 ppm. Im IR-Spektrum erkennt man die charakteristische Bande der C=N-Schwingung bei 1661 cm⁻¹. Die Diskussion der weiteren NMR- und IR-Daten erfolgt im Kapitel 6 (siehe S. 77).

4 Synthese des Thioessigsäure-S-iodmethylesters (13)

4.1 Syntheseplanung

Die Synthese des Esters **13** soll gemäß der Vorschrift von Böhme et al. erfolgen (Schema 22).⁷⁰ Dazu wird Thioessigsäure mit Paraformaldehyd zum Halbacetal **11** umgesetzt. Durch Chlorierung und anschließende Umhalogenierung erhält man das gewünschte Produkt.



4.2 Synthese

4.2.1 Thioessigsäure-S-hydroxymethylester (11)

Die Thioessigsäure wurde mit 1 Äqu Paraformaldehyd suspendiert und 2.5 h bei einer Ölbadtemperatur von 100°C erhitzt. Nach der destillativen Aufarbeitung erhielt man das Produkt als leicht gelbes Öl. Die Aufbewahrung erfolgte unter Stickstoffatmosphäre bei -30°C.

Im ¹H-NMR-Spektrum erscheinen die Methylen-Protonen als Singulett-Signal bei 5.04 ppm. Das Proton der Hydroxylgruppe ergibt ein breites Signal bei 3.68 ppm. Die Absorption der Carbonylschwingung erscheint im IR-Spektrum als sehr starke Bande bei 1681 cm⁻¹.

4.2.2 Thioessigsäure-S-chlormethylester (12)

Der Thioessigsäure-S-hydroxymethylester wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension von 1 Äqu Phosphorpentachlorid in Ether getropft, wobei sich die Temperatur des Reaktionsgemisches in einem Bereich von 5–10°C befinden sollte. Es setzte starke Gasentwicklung (HCl) ein. Die Lösung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend das entstandene Phosphoroxichlorid hydrolysiert. Nach wässriger Aufarbeitung erhielt man das Produkt durch fraktionierte Destillation in Form einer leicht gelben Flüssigkeit mit stechendem, zwiebelartigem Geruch. Das Produkt kann unter Stickstoffatmosphäre bei -30°C gelagert werden.

Das Signal der Methylen-Protonen ist auf 4.93 ppm Hochfeld-verschoben. Im IR-Spektrum erscheint die Bande der Carbonylschwingung bei 1703 cm⁻¹.

4.2.3 Thioessigsäure-S-iodmethylester (13)

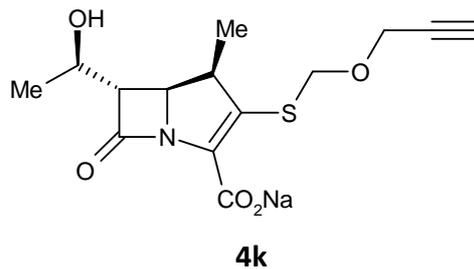
Der Thioessigsäure-S-chlormethylester (**12**) wurde mittels einer Finkelstein-Reaktion in die Iodmethyl-Verbindung **13** überführt.

Dazu wurde die Chlormethyl-Verbindung **12** zu einer Suspension von Natriumiodid in tr. Aceton gegeben und 6 Tage bei RT kräftig gerührt. Nach dem Abfiltrieren und anschließender wässriger Aufarbeitung der Mutterlauge erhält man den Thioessigsäure-S-iodmethylester als gelbe übel riechende Flüssigkeit. Die Aufbewahrung erfolgte unter Stickstoffatmosphäre bei -30°C.

Die Triebkraft der Reaktion ist die unterschiedliche Löslichkeit von Natriumiodid und Natriumchlorid in Aceton. Durch die bessere Löslichkeit von Natriumiodid befindet sich eine ausreichende Konzentration an Iodid für die nukleophile Substitution in Lösung. Die bei der Reaktion freigesetzten Chloridionen fallen als schwerlösliches Natriumchlorid aus und das Gleichgewicht wird auf die Produktseite verschoben.

In Folge der Iodierung wird das Signal der Methylen-Protonen auf 4.40 ppm Hochfeld-verschoben. Die Absorption der Carbonylschwingung erscheint im IR-Spektrum als sehr starke Bande bei 1694 cm⁻¹.

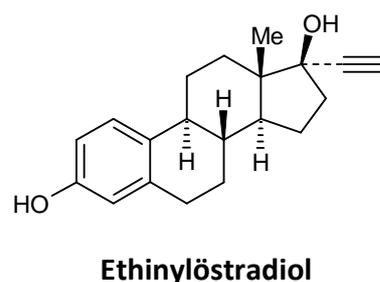
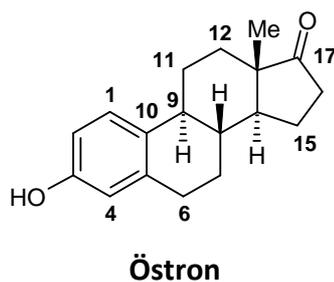
5 Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems (4k)



5.1 Auswahlkriterium

Im September 1937 erhielt Walter Hohlweg, Leiter der Abteilung Hormonforschung des Unternehmens Schering, den Auftrag an der C17-Position von Östron eine Carbonsäurefunktion einzuführen. Östron zählt zu den Östrogenen, den wichtigsten weiblichen Geschlechtshormonen. Von der veränderten Struktur versprach man sich einen peroral applizierbaren östrogenwirksamen Stoff.

Zur Darstellung des gewünschten Produktes wollte Hohlweg zunächst eine Ethinyl-Gruppe am C17-Kohlenstoff einfügen und anschließend die Verbindung ozonisieren. Doch die Ozonisierung blieb aus, da das Zwischenprodukt der geplanten Synthese, das Ethinylöstradiol, bei der biologischen Prüfung eine überragende orale Bioverfügbarkeit aufwies.



Durch den Vergleich mit Ethylenöstradiol konnte der Beweis erbracht werden, dass die Ethinyl-Gruppe für die sehr gute orale Wirksamkeit verantwortlich ist.

Zur Synthese eines oral wirksamen 1 β -Methylcarbapenems sollte nun versucht werden, an die C3-Position des Meropenem-Grundkörpers eine Seitenkette mit Ethinyl-Gruppe einzuführen.

Die Verknüpfung der Ethinyl-Gruppe mit dem C3-Kohlenstoff soll über eine $-O-CH_2-S$ -Gruppe erfolgen. Auch von dieser Verknüpfung wird, analog zur $-N-CH_2-S$ -Gruppe, angenommen, dass die Methylengruppe zwischen dem Schwefel- und Sauerstoffatom die orale Verfügbarkeit der Verbindungen erhöht.⁴⁷

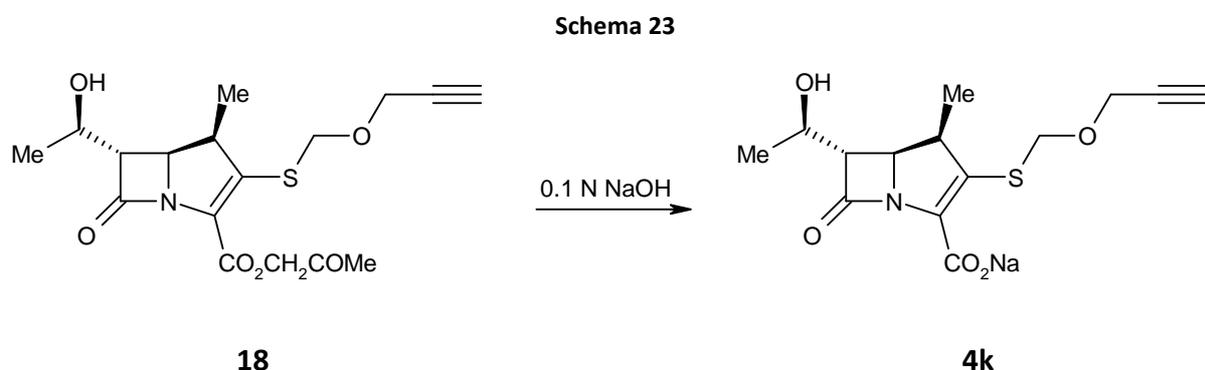
5.2 Syntheseplanung

Würde man für die Synthese der Verbindung **4k** denselben Weg wie zur Darstellung der Carbapeneme **4a-g** einschlagen, ergäbe sich beim letzten Syntheseschritt, der Abspaltung der pNBz-Schutzgruppe, ein Problem: Bei den Bedingungen der Hydrogenolyse würde auch die Dreifachbindung der Seitenkette hydriert werden.

Es war also notwendig eine Carbonsäure-Schutzgruppe zu finden, die unter sehr milden Bedingungen, jedoch ohne Hydrogenolyse abspaltbar ist.

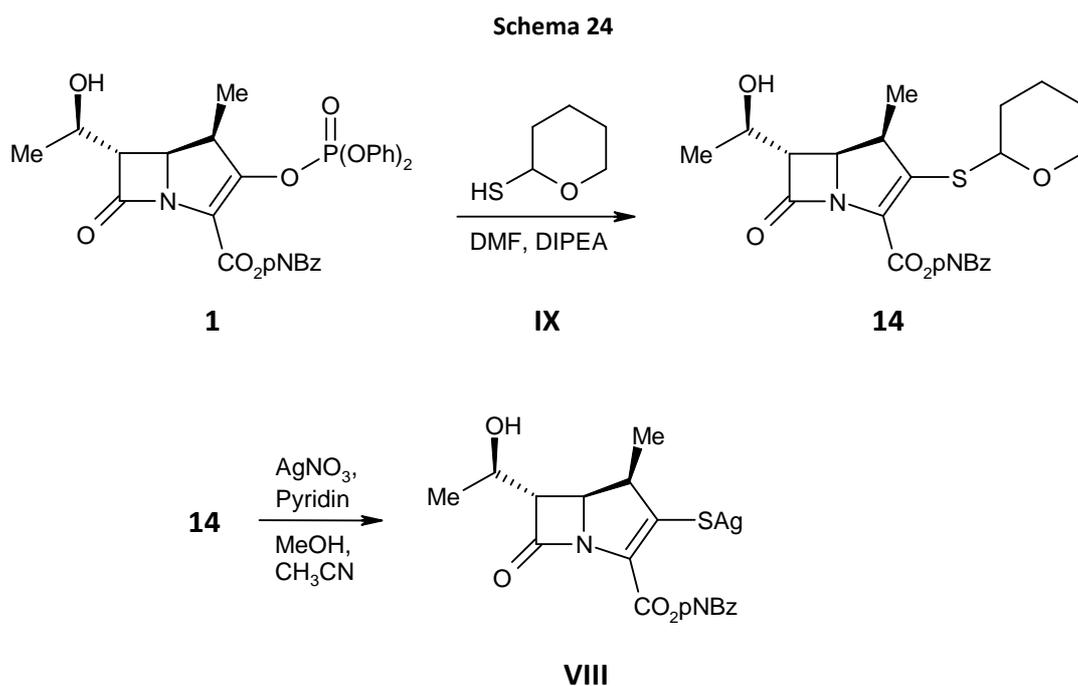
Pfaendler et al. verwendeten bei der Synthese von unsubstituierten bicyclischen β -Lactamen - zur Untersuchung ihrer Struktur und Reaktivität - die Acetylgruppe zum Schutz der Carbonsäurefunktion.⁷¹ Vorteil dieser Schutzgruppe ist, dass sie mit 0.1 N Natronlauge bei 0°C abgespalten werden kann.⁷¹

Ziel war es nun das Acetyl-geschützte Carbapenem **18** darzustellen und im letzten Syntheseschritt die Schutzgruppe mit 0.1 N Natronlauge abzuspalten, um so die gewünschte Verbindung **4k** zu erhalten (Schema 23).



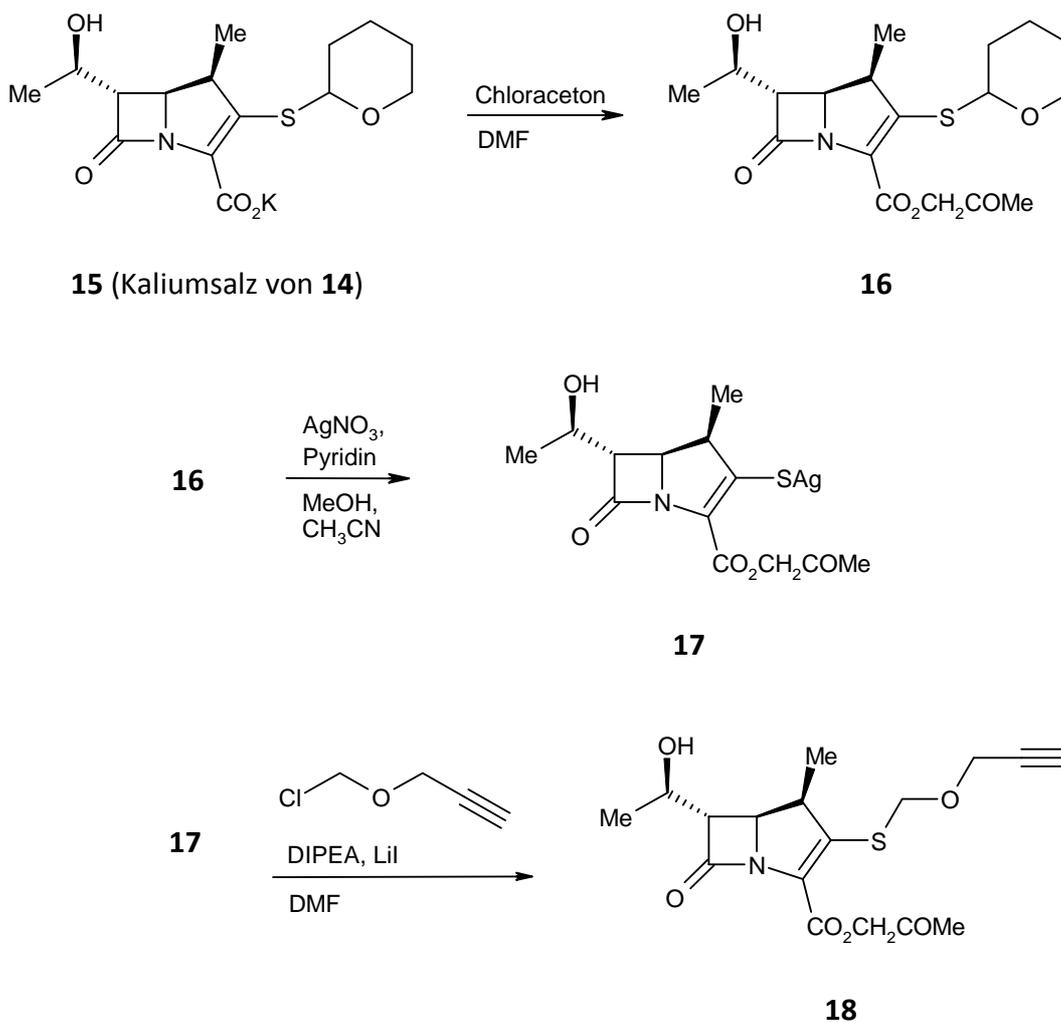
Die Synthese des Acetyl-geschützten Carbapenems **18** soll sich nach einer Vorschrift von M. Miyauchi et al. richten.³⁹ Hierbei erfolgt die Umesterung von Carbapenemestern ausgehend von deren Carbonsäuresalzen, durch Umsetzung mit den entsprechenden Iod- oder Chlormethylestern. Da die gängige Darstellung des benötigten Carbonsäuresalzes mittels Hydrogenolyse an Palladium auf Aktivkohle erfolgt, muss die Einführung der (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Seitenkette nach der Umesterung erfolgen.

Bei der Synthese der vorangegangenen Carbapeneme **4a-g** wurden die entsprechenden Seitenketten als Schwefelnukleophile mit Enolphosphat **1** umgesetzt. Zur Darstellung von **4k** sollte ein alternativer Weg eingeschlagen werden (Schema 24). In einer Patentschrift⁷² wird die Synthese von Carbapenemen durch Umsetzung des Silbersalzes **VIII** mit verschiedenen Halogenverbindungen beschrieben. Die Darstellung des Salzes erfolgt ausgehend von Enolphosphat **1** über die Tetrahydropyranl-Verbindung **14** und anschließender Reaktion mit Silbernitrat und Pyridin.



Da bereits eine kleine Menge von Verbindung **15** (Kaliumsalz von **14**) im Arbeitskreis vorrätig war, sollte ausgehend davon versucht werden (Schema 25), den Acetonylester **16** mit Chloraceton nach der Methode von Miyauchi et al. zu synthetisieren, und in Anlehnung an die Patentvorschrift über das Silbersalz **17** das Acetyl-geschützte Carbapenem **18** darzustellen.

Schema 25



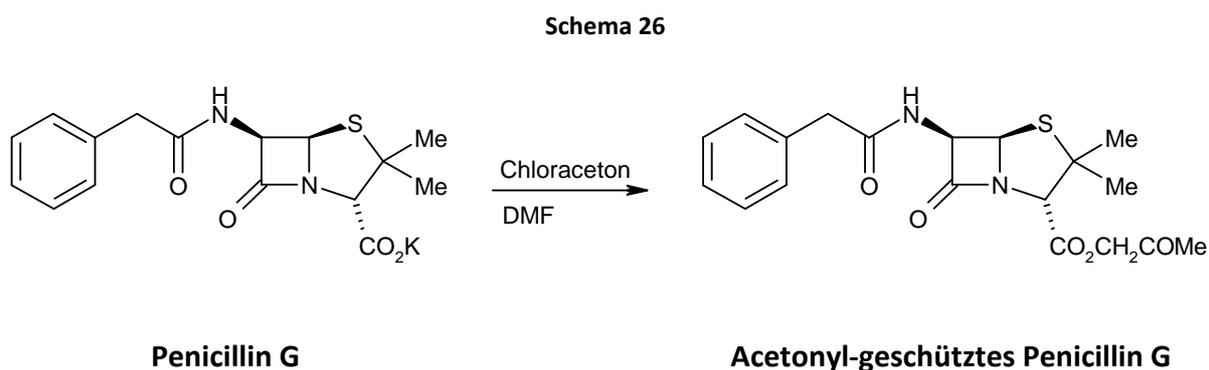
Das Kaliumsalz **15** erhält man durch Hydrogenolyse des Carbapenemesters **14**, welcher gemäß Schema 24 (S. 70) aus Enolphosphat **1** und Tetrahydropyran-2-thiol (**IX**) synthetisiert wird.

Die Synthese von Chlormethoxypropin **7k** ist literaturbekannt und erfolgt durch Umsetzung von 1-Propin-2-ol mit Paraformaldehyd und Chlorwasserstoff.⁷³

5.3 Synthese

5.3.1 Testansatz: Acetyl-geschütztes Penicillin G

Zur Überprüfung, ob das Acetyl-geschützte Carbapenem ausgehend vom Kaliumsalz des Carbapenems und Chloraceton hergestellt werden kann, wurde die Reaktion zunächst mit Penicillin G durchgeführt (Schema 26). Penicillin G war im Arbeitskreis in größeren Mengen vorrätig.



Für die Umsetzung wurde 1 mmol Penicillin G in 2 ml tr. DMF suspendiert und innerhalb von 5 min 1 Äqu Chloraceton zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 18 h bei RT gerührt und anschließend wässrig aufgearbeitet. Man erhielt einen weißen Schaum.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheint das Methyl-Signal der Acetylgruppe bei 2.16 ppm. Die diastereotopen Methylen-Protonen der Acetylgruppe erscheinen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als zwei Dublett-Signale bei 4.65 und 5.85 ppm.

Da es sich nur um einen Testansatz handelt, wurde keine weitere Analytik von der Verbindung angefertigt.

Der Schutz der Carbonsäurefunktion von Penicillin G mit Chloraceton war auf diesem Wege erfolgreich.

5.3.2 Testansatz: Spaltung des Acetyl-geschützten Penicillin G

Die Bedingungen zur Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppe mit Natronlauge wurden mit dem unter 5.3.1 synthetisierten Acetyl-geschützten Penicillin G erprobt. Die Durchführung richtete sich nach der Vorschrift von H. R. Pfaendler et al.⁷¹

0.05 mmol des Acetonylesters wurden in 2 ml THF und 0.8 ml dest. H₂O vorgelegt und die Lösung auf 0°C gekühlt. Innerhalb von 15 min wurde 1 Äqu 0.1 N Natronlauge zugetropft und die Reaktionsmischung anschließend 20 min bei 0°C gerührt. Es wurde 1 ml dest. H₂O zugegeben und das THF am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die wässrige Phase wurde zweimal mit 1 ml EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen und daraufhin der restliche EE am Rotationsverdampfer abgezogen. Die wässrige Phase wurde im Exsikkator lyophilisiert.

Das ¹H-NMR-Spektrum in D₂O ist identisch mit dem Spektrum von Penicillin G.

Da sowohl der Schutz der Carbonsäurefunktion, als auch die Abspaltung der Schutzgruppe bei Penicillin G erfolgreich war, sollte die Darstellung des β-Methyl-Carbapenems **4k** über den geplanten Syntheseweg unter 5.2 erfolgen.

5.3.3 3-Chlormethoxypropin (**7k**)⁷³

2-Propin-1-ol und Paraformaldehyd wurde gemäß der Literatur⁷³ in tr. CHCl₃ suspendiert und auf 0°C gekühlt. Es wurde über einen Zeitraum von 2 h Chlorwasserstoff eingeleitet und die Reaktionsmischung aufgearbeitet. Man erhielt ein stechend riechendes Rohprodukt, welches durch zweimalige fraktionierte Destillation gereinigt wurde.

Im ¹H-NMR-Spektrum ergibt das Alkin-Proton durch eine ⁴J-Kopplung von 2.4 Hz mit den benachbarten Methylen-Protonen ein Triplett bei 2.53 ppm. Die CH₂-Gruppe spaltet dadurch zu einem Dublett-Signal bei 4.42 ppm auf. Die Methylen-Protonen zwischen dem Chlor- und Sauerstoffatom erscheinen als Singulett bei 5.61 ppm. Charakteristisch für die Verbindung sind im IR-Spektrum die Banden der C≡C-H- Valenzschwingung bei 3295 cm⁻¹, der -C≡C- Valenzschwingung bei 2124 cm⁻¹, der C-O-Schwingung bei 1099 cm⁻¹ und der C-Cl-Schwingung bei 639 cm⁻¹.

5.3.4 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (**14**)⁷²

Das vorrätige Tetrahydropyran-2-thiol (**IX**) wurde zunächst im HV fraktioniert destilliert, da sich bei längerer Lagerung unter H₂S-Abspaltung *Bis*(2-tetrahydropyran-2-yl)sulfid bilden kann. Bei 40 mbar und einer Ölbadtemperatur von 90°C erhält man eine klare farblose Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von 73 – 75°C.

Zur Darstellung der Tetrahydropyran-2-yl-Verbindung **14** wurde Enolphosphat **1** in DMF vorgelegt und in Gegenwart von *N,N*-Diisopropylethylamin mit dem Tetrahydropyran-2-thiol nukleophil substituiert. Die Zugabe der Base erfolgte langsam und tropfenweise um hohe Konzentrationen an Base und Nukleophil zu vermeiden. Nach der Zugabe ließ man die Reaktionsmischung von -15°C auf 0°C langsam erwärmen. Nach 22 h bei 0°C erfolgte die wässrige Aufarbeitung. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt und man erhielt einen hellgelben Schaum.

Da das Tetrahydropyran-2-thiol als Enantiomerengemisch eingesetzt wurde, erhält man Verbindung **14** als Gemisch zweier Diastereomere. Man erkennt dies im ¹H- und ¹³C-NMR-Spektrum an dem teilweise vorhandenen doppelten Signalsatz.

Charakteristisch für die Verbindung sind im IR-Spektrum die Absorption der OH-Schwingung bei 3552 cm⁻¹, der Carbonylschwingung bei 1764 und 1706 cm⁻¹, sowie die NO₂-Schwingungen bei 1518 und 1341 cm⁻¹.

5.3.5 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (**15**)

Die Hydrogenolyse an Palladium auf Aktivkohle erfolgte gemäß der Durchführung von S. 51 in THF und 0.1 N KHCO₃-Lösung (1 Äqu KHCO₃) bei 30°C. Nach 3 h zeigte das DC die Bildung von *p*-Toluidin und kein Edukt mehr. Der Ansatz wurde aufgearbeitet und in einem Schlenkkolben bei -20 bis -25°C im HV lyophilisiert.

Im ¹H-NMR-Spektrum sind keine *p*NBz-Signale mehr sichtbar. Die Carbonylschwingung des β-Lactams ergibt im IR-Spektrum eine Bande bei 1744 cm⁻¹.

5.3.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (16)

Die Synthese des Acetyl-geschützten Carbapenems **16** richtete sich nach dem Testansatz mit Penicillin G unter 5.3.1.

Das Kaliumsalz **15** wurde in DMF vorgelegt und langsam tropfenweise Chloraceton zugegeben. Die Suspension ließ man 18 h bei RT rühren. Nach wässriger Aufarbeitung wurde das erhaltene gelbe Öl mittels Säulenchromatographie gereinigt. Das Produkt fiel in Form eines weißen Feststoffes an.

Im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum erkennt man teilweise einen doppelten Signalsatz, hervorgerufen durch das Diastereomergemisch. Die Carbonylschwingungen des Acetonylesters erscheinen bei 1736 und 1708 cm^{-1} .

5.3.7 Silber-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-2-(2-oxo-propoxy-carbonyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-3-thiolat (17)

Die Darstellung des Silbersalzes **17** folgte in Anlehnung an die Patentvorschrift von M. Alain et al.⁷² Die Reaktion wurde unter Lichtausschluss durchgeführt.

Das Tetrahydropyran-yl-Derivat **16** wurde in Acetonitril vorgelegt, auf 0°C gekühlt und langsam eine Lösung von 1.5 Äqu Silbernitrat und 1.5 Äqu Pyridin in Methanol zugespritzt. Nach 30 min bei 0°C war eine gelb-braune Suspension entstanden. Es wurden 10 ml Ether zugegeben und die überstehende gelbe Lösung abdekantiert. Das verbleibende braune Harz wurde mit Ether digeriert und man erhielt einen curryfarbenen Niederschlag, welcher mit einer P3-Glasfritte abfiltriert wurde. Das Produkt zeigte sich unter Lichtausschluss über längere Zeit lagerfähig.

Von der Verbindung wurde lediglich ein IR-Spektrum aufgenommen. Charakteristisch sind dabei die OH-Bande bei 3367 cm^{-1} und die Carbonylbanden bei 1721 und 1662 cm^{-1} .

5.3.8 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (**18**)

Durch die Umsetzung des Silbersalzes **17** mit 3-Chlormethoxypropin (**7k**) sollte das Acetylgeschützte (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenam **18** hergestellt werden. Die Reaktion findet in Gegenwart von *N,N*-Diisopropylethylamin und Lithiumiodid statt. Dabei komplexiert die Aminbase das Silberkation und steigert damit die Konzentration an freiem Nucleophil. Das Lithiumiodid soll mit einem *in situ*-Austausch des Chlorids gegen ein Iodid die nukleophile Substitution katalysieren. Die Reaktion wurde unter Lichtausschluss durchgeführt.

Für die Umsetzung wurde das Silbersalz **17** in DMF vorgelegt, auf 0°C gekühlt und eine Lösung von 1.5 Äqu 3-Chlormethoxypropin (**7k**) in DMF zugespritzt. Anschließend wurden 2 Äqu Lithiumiodid zugegeben und langsam 1.5 Äqu *N,N*-Diisopropylethylamin zugetropft. Nach 18 h bei 0°C wurde die braune Lösung wässrig aufgearbeitet. Nach säulenchromatographischer Reinigung erhielt man das Produkt als weißen Schaum.

Die diastereotopen Methylen-Protonen zwischen dem Schwefel- und Stickstoffatom ergeben im ¹H-NMR-Spektrum zwei Dublett-Signale bei 4.89 und 5.09 ppm. Die Kopplung beträgt 12.4 Hz. Charakteristisch für die Verbindungen sind im IR-Spektrum die Banden der β-Lactam-Carbonylschwingung bei 1763 cm⁻¹ und die Acetonylester-Carbonylschwingungen bei 1736 und 1708 cm⁻¹.

5.3.9 Natrium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (**4k**)

Die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppe sollte gemäß dem Probeansatz unter 5.3.2 erfolgen. Es handelt sich bei der Reaktion um eine intramolekulare nukleophile Katalyse mit folgendem Mechanismus:

Für die Umsetzung wurde das Acetylgeschützte Carbapenam **18** in einem THF/H₂O-Gemisch vorgelegt, auf 0°C gekühlt und innerhalb von 10 min tropfenweise mit 0.1 N Natronlauge (1 Äqu) versetzt. Die Lösung verfärbt sich dabei gelb. Nach 15 min bei 0°C wurde die Lösung mit H₂O verdünnt und das THF am Rotationsverdampfer abgezogen. Die gelbliche Lösung wurde zweimal mit EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen und der restliche EE am Rotationsverdampfer abgezogen.

Die wässrige Lösung wurde im Exsikkator im HV bei -30°C lyophilisiert.

Von dem hellgelben Feststoff wurden ein ^1H -NMR- und IR-Spektrum aufgenommen. Das ^1H -NMR-Spektrum in D_2O zeigt nach wie vor das Singulett-Signal der Methyl-Gruppe des Acetonylesters bei 2.1 ppm und zahlreiche Signale, die nicht zugeordnet werden konnten. Im IR-Spektrum ist die Carbonylschwingung des β -Lactam-Ringes verschwunden. Dies deutet auf die Hydrolyse des β -Lactam-Ringes hin.

Die Reaktion wurde mehrmals durchgeführt. Dabei wurde die Konzentration der Reaktionslösung verändert, die Zugabezeit der Natronlauge verlängert und anstelle von THF Acetonitril als Lösungsmittel verwendet. Allerdings brachte keine der Änderungen einen Erfolg. Die Acetyl-Gruppe ist somit als Schutzgruppe der Carbonsäurefunktion zur Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems **4k** nicht geeignet.

Die Synthese des gewünschten (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems war somit auf diesem Wege nicht möglich.

6 Diskussion und zusammenfassender Vergleich der synthetisierten Carbapeneme

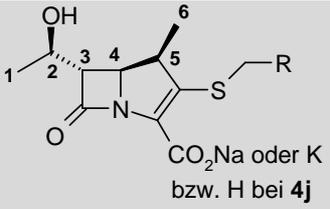
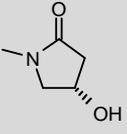
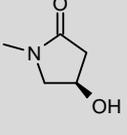
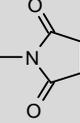
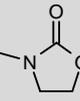
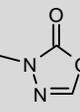
NMR- und IR-Daten

Tabelle 6 auf der nachfolgenden Seite bietet eine Übersicht über die wichtigsten ^1H -NMR-Daten der Endverbindungen **4a-j**.

Die Signale der ausgewählten Protonen H1 – H6 weichen untereinander nicht signifikant voneinander ab. Charakteristisch für die Verbindungen sind die stark Tieffeld-verschobenen Signale der Protonen H4 und H2 bei 4.00 bis 4.19 ppm. Die sehr kleinen H3/H4-Kopplungen von 2.4 bis 2.8 Hz sind typisch für die *trans*-Stellung dieser beiden Protonen. Die H4/H5-Kopplungen von 9.1 bis 9.6 Hz sind ein Merkmal der β -Methyl-Carbapeneme, bei α -Methyl-Derivaten liegen sie im Bereich um 6 Hz.

Bei allen Verbindungen ist im IR-Spektrum die Absorption der C=O-Schwingung des β -Lactams erkennbar, was für eine intakte Carbapenem-Struktur spricht (siehe Tabelle 7).

Tabelle 6: Übersicht der Endverbindungen 4a-g

 <p>CO₂Na oder K bzw. H bei 4j</p> <p>R =</p>	¹ H-NMR: δ [ppm]/J [Hz]					
	H1	H2	H3	H4	H5	H6
 <p>4c</p>	1.16 (d) J _{H1/2} = 6.2	4.16 (dq) J _{H1/2} = 6.2 J _{H2/3} = 6.5	3.33 (dd) J _{H3/4} = 2.4 J _{H2/3} = 6.5	4.10 (dd) J _{H3/4} = 2.4 J _{H4/5} = 9.3	3.42 (dq) J _{H5/6} = 7.2 J _{H4/5} = 9.3	1.07 (d) J _{H5/6} = 7.2
 <p>4a</p>	1.14 (d) J _{H1/2} = 6.4	4.09 (dq) J _{H2/3} = 6.2 J _{H1/2} = 6.4	3.33 (dq) J _{H2/3} = 2.5 J _{H1/2} = 6.2	4.05 (dd) J _{H3/4} = 2.5 J _{H4/5} = 9.2	3.42 (dq) J _{H5/6} = 7.3 J _{H4/5} = 9.2	1.06 (d) J _{H5/6} = 7.3
 <p>4b</p>	1.14 (d) J _{H1/2} = 6.4	4.08 (dq) J _{H2/3} = 6.1 J _{H1/2} = 6.4	3.33 (dq) J _{H3/4} = 2.6 J _{H2/3} = 6.1	4.00 (dd) J _{H3/4} = 2.6 J _{H4/5} = 9.5	3.37 (dq) J _{H5/6} = 7.3 J _{H4/5} = 9.5	1.05 (d) J _{H5/6} = 7.3
 <p>4d</p>	1.16 (d) J _{H1/2} = 6.3	4.11 (dq) J _{H2/3} = 6.2 J _{H1/2} = 6.3	3.35 (dd) J _{H3/4} = 2.8 J _{H2/3} = 6.2	4.06 (dd) J _{H3/4} = 2.8 J _{H4/5} = 9.6	3.53 (dq) J _{H5/6} = 7.4 J _{H4/5} = 9.6	1.06 (d) J _{H5/6} = 7.4
 <p>4e</p>	1.23 (d) J _{H1/2} = 6.4	4.18 (dq) J _{H2/3} = 6.2 J _{H1/2} = 6.4	3.42 (dd) J _{H3/4} = 2.5 J _{H2/3} = 6.2	4.13 (dd) J _{H3/4} = 2.5 J _{H4/5} = 9.4	3.47 (dq) J _{H5/6} = 7.1 J _{H4/5} = 9.4	1.15 (d) J _{H5/6} = 7.1
 <p>4f</p>	1.24 (d) J _{H1/2} = 6.5	4.19 (dq) J _{H2/3} = 6.2 J _{H1/2} = 6.5	3.43 (dd) J _{H3/4} = 2.5 J _{H2/3} = 6.2	4.17 (dd) J _{H3/4} = 2.5 J _{H4/5} = 9.1	3.57 (dq) J _{H5/6} = 7.3 J _{H4/5} = 9.1	1.14 (d) J _{H5/6} = 7.3
 <p>4g</p>	1.16 (d) J _{H1/2} = 6.1	4.11 (m)	3.34 (m)	4.06 (m)	3.37 (dq) J _{H5/6} = 7.3 J _{H4/5} = 9.3	1.06 (d) J _{H5/6} = 7.3
 <p>4i</p>	1.15 (d) J _{H1/2} = 6.4	4.11 (m)	3.36 (m)	4.11 (m)	3.25 (dq) J _{H5/6} = 7.2 J _{H4/5} = 9.3	1.06 (d) J _{H5/6} = 7.2

Hydrolyse-Halbwertszeiten

Die Stabilität der synthetisierten Carbapeneme wurde durch Messung ihrer Hydrolyse-Halbwertszeiten in Phosphatpuffer pH 7.4 ermittelt (Tabelle 7). Die Bestimmung erfolgte UV-spektrometrisch.

Tabelle 7: Hydrolyse-Halbwertszeiten und Wellenzahl der C(10)=O-Schwingung

R =	4c	4a	4b	4d	4e	4f	4g
$t_{1/2}$ (37°C)	53.3	46.2	46.2	49.5	46.2	49.5	49.5
$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹]	1748	1748	1747	1748	1742	1753	1731

Für die Absorption der C=O-Schwingung gilt: Je höher die Wellenzahl $\tilde{\nu}$ der Absorption, desto geringer ist die Amidresonanz und umso empfindlicher ist die Amidbindung gegenüber nukleophilen Angriffen, wie z. B. von Wasser. Von den synthetisierten Verbindungen müssten folglich **4e** und **4g** am hydrolysestabilsten sein. Bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich, dass die Hydrolyse-Halbwertszeiten in einem Bereich von 46.2 bis 53.3 h relativ eng zusammen liegen. Verbindung **4c** besitzt mit 53.3 h die längste Hydrolyse-Halbwertszeit. Verbindung **4f** mit der höchsten Wellenzahl besitzt eine Halbwertszeit von 49.5 h. Am empfindlichsten stellten sich die Verbindungen **4a**, **4b** und **4e** heraus, obwohl sie eine höhere Wellenzahl besitzen als **4g**. Das Einführen einer Hydroxylgruppe an den 2-Oxopyrrolidin-1-yl-Rest, sowie der Austausch der Amidfunktion gegen eine Carbamatgruppe bewirken eine Stabilitätsminderung und damit verkürzte Hydrolysezeiten.

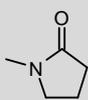
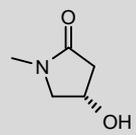
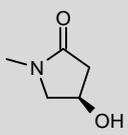
Antibiotische Wirksamkeit der Carbapeneme 4a-j

Die antibakterielle Wirksamkeit der synthetisierten Carbapeneme wurde in Plattendiffusionstests ermittelt.

Hierzu wurden Testplättchen auf den mit einem Bakterienstamm angeimpften und erstarrten Agar aufgebracht und diese mit 10 µg einer 0.2%igen wässrigen Lösung der Testsubstanz versehen. Die genaue Gehaltsbestimmung der Lösungen erfolgte UV-spektroskopisch. Die Substanzen diffundieren nun von den Plättchen nach außen. Dabei bildet sich ein Konzentrationsgradient um das Plättchen. Die Agarplatten wurden über Nacht bei 37°C inkubiert. Während dieser Zeit wachsen die Keime und trüben den Agar bis auf die Hemmhöfe um die Plättchen. Der Hemmhofdurchmesser ist ein Maß für die antibakterielle Aktivität der Verbindungen.

In den nachfolgenden Tabellen (Tabelle 8 - Tabelle 10) sind die Hemmhofdurchmesser (mm) der einzelnen Verbindungen aufgelistet. Als Referenzsubstanzen wurden bei den Tests Meropenem- und Imipenemplättchen mit aufgetragen. Die Substanzen Meropenem und Imipenem werden mit MER und IMI abgekürzt.

Tabelle 8: Antibakterielle Wirksamkeit - Hemmhofdurchmesser [mm]

Bakterienstämme		MER	IMI	4c	4a	4b
		R = -	-			
Gram-positiv	<i>S. aur. 1104</i>	38	38	34	30	32
	<i>S. aur. res. 25466</i>	33	42	30	27	28
	<i>S. aur. res. 25768</i>	30	37	26	24	25
	<i>S. aur. Innsbruck</i>	13	33	-	-	10
	<i>S. Pneum. res.</i>	34	37	33	30	32
	<i>Enterococcus</i>	17	22	16	13	14
Gram-negativ	<i>E. col. 1103</i>	31	29	25	24	25
	<i>E. col. TEM</i>	35	34	25	25	27
	<i>Enterobacter cloacae</i>	27	20	21	21	22
	<i>Ps. aer. 1117</i>	37	26	9	9	10
	<i>Ps. aer. res.</i>	19	10	-	-	-

Die getesteten Verbindungen **4a**, **4b** und **4c** sind mit Ausnahme der Keime *Staphylococcus aureus Innsbruck*, *Pseudomonas aeruginosa 1117* und *Pseudomonas aeruginosa res.* gegen alle getesteten Keime antibiotisch wirksam. Die Hemmhöfe des (*R*)-Isomers **4b** sind im Vergleich zum (*S*)-Isomer geringfügig größer. Verbindung **4c** mit unsubstituierten 2-Pyrrolidinonring weist von den drei getesteten Verbindungen die beste Wirksamkeit auf. Bei den Keimen *Streptococcus pneumoniae res.* und *Enterococcus* liefert es nahezu gleich große Hemmhöfe wie Meropenem.

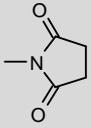
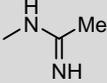
Tabelle 9: Antibakterielle Wirksamkeit - Hemmhofdurchmesser [mm]

Bakterienstämme		MER	IMI	4g	4e	4f
		R =	-	-		
Gram-positiv	<i>S. aur. 1104</i>	30	32	30	28	30
	<i>S. aur. res. 25466</i>	33	42	31	31	32
	<i>S. aur. res. 25768</i>	29	36	26	27	28
	<i>S. aur. Innsbruck</i>	15	33	-	-	15
	<i>S. Pneum. res.</i>	32	36	30	31	32
	<i>Enterococcus</i>	17	20	15	14	15
	<i>MRSA Wien</i>	15	-	-	-	16
Gram-negativ	<i>E. col. 1103</i>	31	30	27	25	27
	<i>E. col. TEM</i>	32	34	27	25	26
	<i>Enterobacter cloacae</i>	25	19	22	22	23
	<i>Ps. aer. 1117</i>	32	24	-	-	-
	<i>Ps. aer. res.</i>	16	11	-	-	-

Das (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4f** weist bei den Gram-positiven Keimen eine mit Meropenem vergleichbare antibiotische Wirksamkeit auf. Bei den Gram-negativen Keimen liegen die Hemmhofdurchmesser deutlich unter denen des Meropenems.

Bei den Keimen *Pseudomonas aeruginosa 1117* und *Pseudomonas aeruginosa res.* konnte keine Wirksamkeit festgestellt werden. Die Verbindungen **4g** und **4e** besitzen im Vergleich geringfügig kleinere Hemmhofdurchmesser. Bei den Keimen *Pseudomonas aeruginosa 1117* und *Pseudomonas aeruginosa res.*, sowie *Staphylococcus aureus Innsbruck* und *MRSA Wien* waren die beiden Verbindung antibiotisch inaktiv.

Tabelle 10: Antibakterielle Wirksamkeit - Hemmhofdurchmesser [mm]

Bakterienstämme		MER	IMI	4d	4j
		R = -	-		
Gram-positiv	<i>S. aur. 1104</i>	34	35	33	34
	<i>S. aur. res. 25466</i>	33	42	30	34
	<i>S. aur. res. 25768</i>	31	29	28	32
	<i>S. aur. Innsbruck</i>	16	35	13	15
	<i>Enterococcus</i>	17	22	16	18
	<i>MRSA Wien</i>	18	18	16	16
	<i>MRSA ATCC 43300</i>	28	36	24	29
Gram-negativ	<i>E. col. 1103</i>	30	32	25	25
	<i>E. col. TEM</i>	36	38	25	31
	<i>Enterobacter cloacae</i>	22	23	22	22
	<i>Ps. aer. 1117</i>	36	28	8	26
	<i>Ps. aer. res.</i>	17	13	-	10

Das (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenem **4j** zeigte bei allen Keimen eine antibiotische Wirkung. Bei *Pseudomonas aeruginosa res.* fiel die Wirkung allerdings sehr gering aus. Auffallend ist die relativ gute Wirksamkeit gegen *Pseudomonas aeruginosa 1117*. Dies korreliert mit der Feststellung bei Thienamycin-Derivaten, dass durch Einfügen einer zusätzlichen basischen Gruppe in die Seitenkette die Wirksamkeit gegen *Pseudomonas* deutlich erhöht werden kann.⁶²

Die Hemmhofdurchmesser beider Verbindungen beim Erreger *Staphylococcus aureus* sind vergleichbar mit denen des Meropenems. Beim Keim *Enterobacter cloacae* liegt die Wirksamkeit der beiden getesteten Verbindungen zwischen der des Meropenems und Imipenems. Das (2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4d** zeigt keine Wirkung bei *Pseudomonas aeruginosa 1117* und *Pseudomonas aeruginosa res.*

Experimenteller Teil

1 Allgemeine Arbeitstechnik

1.1 Physikalische Messgeräte und Methoden

NMR-Spektroskopie

¹ H-Spektren		¹³ C-Spektren
Messfrequenz	Geräte	Messfrequenz
200	Varian Mercury 200	
300	Varian NMR-System 300 Bruker ARX 300	75
400	Varian INOVA 400	
600	Varian VXR 600S Bruker AMX 600	150

Die bei den Analysen verwendeten Geräte, sowie das verwendete deuterierte Lösungsmittel sind bei den experimentellen Daten der einzelnen Verbindungen angegeben. Die Nummerierung der Verbindungen ist aus den beistehenden Zeichnungen ersichtlich und entspricht nicht den IUPAC-Regeln. Die Spektren wurden bei 25°C aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm, die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz) angegeben.

¹H-NMR-Spektren:

Die Kalibrierung erfolgte auf die ¹H-Absorption bzw. des verwendeten Lösungsmittels (CHCl₃: δ = 7.26 ppm, Wasser δ = 4.65 ppm). Die Signalmultiplizität ist wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplett, tt = Triplett vom Triplett, dq = Dublett vom Quartett. Die Signalform wird manchmal als breit (= b) bezeichnet. Die Auswertung der Spektren erfolgt nach erster Ordnung.

¹³C-NMR-Spektren:

Die Spektren wurden ¹H-breitband-entkoppelt aufgenommen. Die Kalibrierung erfolgt auf das ¹³C-Signal des verwendeten deuterierten Lösungsmittels (CHCl₃: δ = 77.0 ppm).

Die Zuordnung der Signale erfolgte über Vergleichssubstanzen und durch DEPT- und HSQC-Spektren. Stellenweise wurden auch COSY- und HMBC-Spektren zur besseren Zuordnung aufgenommen.

IR-Spektren

Geräte: Perkin Elmer FT IR Spektrometer Spectrum 1000
Nicolet 520 FT IR-Spektrometer

Die Aufnahme der Spektren erfolgte größtenteils mittels ATR-Spektroskopie. In wenigen Fällen wurden die Spektren noch als 2 bis 3%ige Lösungen in CH₂Cl₂ aufgenommen.

Die jeweils verwendete Methode ist bei den experimentellen Daten der einzelnen Verbindungen angegeben. In den Datensätzen sind nur die stärksten und besonders charakteristischen Banden nach fallender Wellenzahl aufgeführt. Zur Charakterisierung der Absorptionsbanden wurden folgende Abkürzungen verwendet: vs = sehr stark, s = stark, m = mittel, w = schwach, b = breit.

Massespektren

Geräte: Finnigan MAT 95
Thermo Finnigan LTQ FT
Joel MStation JMS-700

Es kamen folgende Ionisationsmethoden zum Einsatz: EI (Elektronenionisation), FAB (Fast-Atom Bombardement) und ESI (Elektrospray Ionisation). Die Ionisationsmethode ist bei den experimentellen Daten angegeben. Es wurden nur die wichtigsten Signale aufgelistet.

Elementaranalyse

Gerät: Elementar Vario EL

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Labor des Institutes für Organische Chemie der LMU München durchgeführt.

Schmelzpunktbestimmung

Geräte: Büchi B-540

Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

UV/VIS-Spektren

Gerät: Perkin/Elmer UV/VIS-Spektrometer Lambda 3

Mit UV/VIS-Spektren wurde die Ausbeute bzw. der Gehalt der synthetisierten Carbapeneme in wässriger Lösung bestimmt. Die Messung erfolgte in Quarzglasküvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm. Bei konstanter Schichtdicke l der Probe ist die Absorption A direkt proportional zur Substanzkonzentration c . Dies wird durch das Lambert-Beersche-Gesetz beschrieben:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Ersetzt man c durch den Quotienten n/V und löst die Gleichung nach n auf, erhält man bei bekannten Extinktionskoeffizienten ε die Stoffmenge der vermessenen Probe:

$$n = \frac{A \cdot V}{\varepsilon \cdot l}$$

Der Extinktionskoeffizient ε der synthetisierten Carbapeneme orientiert sich an bekannten Verbindungen wie Thienamycin und Imipenem. Es wird ein Wert von $8040 \text{ cm}^2 \cdot \text{mmol}^{-1}$ angenommen.

Optische Drehung

Gerät: Krüss Polarimeter P8000

Der Drehwert wurde bei der Wellenlänge der Natrium-D-Linie ($\lambda = 589 \text{ nm}$) und einer Temperatur von 20°C gemessen. Als Lösungsmittel wurde CHCl_3 verwendet. Den spezifischen Drehwert erhält man nach:

$$[\alpha]_{589}^{20} = \frac{\alpha}{c \cdot l}$$

α = gemessener Drehwinkel

c = Konzentration der Lösung [g/ml]

l = Länge der Messküvette [dm]

1.2 Reagenzien und Lösungsmittel

Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Fluka, Aldrich und Acros bezogen. Die Qualität der handelsüblichen Chemikalien war zur Darstellung der Ausgangsverbindungen ausreichend. Die verwendeten Lösungsmittel wurden – falls erforderlich – gemäß den üblichen Literaturmethoden getrocknet. Als Schutzgas für Reaktionen oder zur Handhabung feuchtigkeitsempfindlicher Substanzen kam Stickstoff zum Einsatz.

1.3 Präparative Methodik

Auf die Beschreibung von Standardapparaturen wird verzichtet. Spezielle Geräte und Apparaturen werden in den jeweiligen Versuchsbeschreibungen erwähnt.

Die Beobachtung des Reaktionsfortschrittes erfolgte größtenteils NMR-spektroskopisch und mittels Dünnschichtchromatographie. Die Substanzen der Reaktionslösungen wurden durch ihre UV-Absorption ($\lambda = 254 \text{ nm}$) und durch Anfärben mit Iod in der Iodkammer sichtbar gemacht.

1.4 Chromatographische Verfahren

Für die analytische Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-60-F₂₅₄-Fertigplatten (Schichtdicke 0.25 mm) der Firma Merck als stationäre Phase verwendet. Die präparative Trennung und Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 der Firma Merck. Es wurde Kieselgel der Korngröße 40 – 60 µm verwendet. Generell wurden Substanzgemische an der 30- bis 50-fachen Menge Kieselgel chromatographiert. Die Fließmittelgemische für die präparative Säulenchromatographie und Dünnschichtchromatographie sind in den jeweiligen Versuchsbeschreibungen angegeben.

1.5 Bestimmung der Hydrolyse-Halbwertszeiten

Gerät: UV Varian Cary 50 UV/VIS-Spektrometer

Die Stabilität der synthetisierten Carbapenem-Salze wurde anhand ihrer Hydrolyse-Halbwertszeiten untersucht. Um die physiologischen Bedingungen im Blut zu simulieren, wurden die Verbindungen in einer Phosphatpuffer-Lösung mit pH 7.4 (Blut-pH) gelöst. Die Messung erfolgt bei 37°C durch Aufnahme der zeitabhängigen Abnahme des Absorptions-maximums mit einem UV-Spektrometer.

Grundlage für das Messverfahren ist die Annahme der Proportionalität zwischen der Konzentration der jeweiligen β-Lactam-Verbindung und der jeweiligen Absorption (Lambert-Beersches-Gesetz). Durch Messung in einem Puffergemisch konnte die Konzentration des Nukleophils OH⁻ über den Zeitraum der Hydrolysereaktion annähernd konstant gehalten werden. Dadurch ist es bei der Auswertung der Daten möglich, die Gesetze für Reaktionen pseudoerster Ordnung zugrunde zu legen.^{74,75}

Grundlagen:

Dabei kann die Eduktkonzentration E wie folgt beschrieben werden:

$$\frac{dE}{dt} = k_2 \cdot [E] \cdot [Nu] \quad (1)$$

$[E]$ = Eduktkonzentration

$[Nu]$ = Nuklephilkonzentration

k_2 = Geschwindigkeitskonstante

Wendet man die Gesetze pseudoerster Ordnung an: $[Nu] = \text{konst}$, wandelt sich das Produkt aus k_2 und $[Nu]$ in die effektive Geschwindigkeitskonstante k_{eff} um:

$$\frac{dE}{dt} = k_{\text{eff}} \cdot [E] \quad (2)$$

Die Integration ergibt:

$$\ln \frac{E}{E(0)} = -k_{\text{eff}} \cdot t \quad (3)$$

$E(0)$ = Konzentration des Eduktes bei Beginn der Messung

Für die Absorption bei einer bestimmten Wellenlänge gilt während der gesamten Reaktion:

$$A(t) = A(0) - x \cdot [A(0) - A(\text{end})] \quad (4)$$

$A(t)$ = Absorption zum Zeitpunkt t

$A(0)$ = Absorption des Eduktes zum Beginn der Messung

$A(\text{end})$ = Absorption der Produkte am Ende der Messung

x = Umsatz der Reaktion

Daraus folgt durch Auflösen nach x :

$$x = \frac{A(0) - A(t)}{A(0) - A(\text{end})} \quad (5)$$

Der Umsatz der Reaktion kann auch durch Gleichung (6) beschrieben werden:

$$x = \frac{c(0) - c(t)}{c(0)} \quad (6)$$

$c(t)$ = Konzentration des β -Lactams zum Zeitpunkt t

$c(0)$ = Konzentration des β -Lactams zum Beginn der Messung

Durch Umformen erhält man:

$$1 - x = \frac{c(t)}{c(0)} \quad (7)$$

Setzt man für x den Ausdruck aus Gleichung (5) ein, erhält man:

$$\frac{c(t)}{c(0)} = 1 - \frac{A(0) - A(t)}{A(0) - A(end)} \quad (8)$$

oder:

$$\frac{c(t)}{c(0)} = \frac{[A(0) - A(end)] - [A(0) - A(t)]}{A(0) - A(end)} = \frac{A(t) - A(end)}{A(0) - A(end)} \quad (9)$$

Setzt man diese Gleichung in Gleichung (3) ein, ergibt sich:

$$\ln\left(\frac{A(t) - A(end)}{A(0) - A(end)}\right) = -k_{eff} \cdot t \quad (10)$$

Messbedingungen:

Die verwendeten 1 cm Quarzküvetten wurden mit 3 ml Phosphatpuffer gefüllt und soviel der wässrigen Carbapenemlösungen zugegeben, bis die Extinktion im Absorptionsmaximum Werte zwischen 0.80 und 1.00 erreicht. Es wurden je nach Konzentration ca. 30 – 50 µl der wässrigen Lösungen zugegeben. Eine zweite nur mit Pufferlösung gefüllte Küvette diente als Referenz. Die Untersuchungslösungen wurden in den Küvetten bei 37°C temperiert und in regelmäßigen Zeitintervallen (20 - 24 h) die Extinktion im jeweiligen Absorptionsmaximum bestimmt. Die Messungen erfolgten bis zum Erreichen einer konstanten Endabsorption.

Herstellung des Sørensen-Phosphatpuffer⁷⁶

19.36 g (0.054 mol) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ und 1.72 g (0.013 mol) KH_2PO_4 werden in einem Messkolben auf 1000 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Pufferlösung ist bei 4°C 1 Woche lagerfähig.

Auswertung:

Durch Auftragen des linken Teils der Gleichung (10) gegen die Zeit ergibt sich im Idealfall eine Gerade, deren Steigung die Geschwindigkeitskonstante k_{eff} angibt. Aus dieser kann dann die Halbwertszeit $t_{1/2}$ nach

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k_{eff}} \quad (11)$$

Ermittelt werden. Da bei den Messungen jedoch nur die ersten Werte mit der Geradengleichung korrelierten, wurden auch nur diese für die Erstellung einer Regressionsgeraden verwendet.

1.6 Plattendiffusionstests

Verwendete Materialien

Nährlösung: DIFCO Bacto Nutrient Broth dehydrated (3 g Bacto-Beef Extract und 5 g Bacto-Pepton pro Liter, pH = $6.8 \pm 0.2/25$ °C)

Agar: DIFCO Bacto Nutrient Agar dehydrated (3 g Bacto-Beef Extract, und 5 g Bacto-Pepton und 15 g Bacto-Agar pro Liter, pH = $6.8 \pm 0.2/25$ °C)

Bakterien:

Gram-positiv:

- *Staphylococcus aureus* DSM 1104 (S.aur. 1104)
- *Staphylococcus aureus* 25466 (S. aur. Res.)
- *Staphylococcus* 25768 (S. 25768)
- *Staphylococcus aureus* Innsbruck (S. Innsbruck), methicillinresistent
- *Streptococcus pneumoniae* res. (Sr. pneum. res.)
- *MRSA Wien*
- *MRSA ATCC 43300*
- *Enterococcus*

Gram-negativ:

- *Escherichia coli* DSM 1102 (E. coli 1103)
- *Escherichia coli* TEM (E. coli TEM), produziert TEM 1 β -Lactamasen
- *Enterobacter cloacae* 30055 (E. cloacae)
- *Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117 (Ps. aer. 1117)
- *Pseudomonas aeruginosa* res.

Plattendiffusionstests^{77,78}

Die Tests wurden mit sterilisierten Geräten sowie mit originalverpackten Kunststoff-Petrischalen durchgeführt. Nach Anzucht der Bakterien durch Bebrüten einer bakterienhaltigen Nährlösung bei 37 °C im Brutschrank wurden je 10 Tropfen der Bakterienlösung in eine Petrischale getropft. Dazu wurden 10 ml einer 2 h im Wasserdampf sterilisierten und auf 50 °C abgekühlten Agarlösung gegossen und durch vorsichtiges Schwenken gleichmäßig verteilt.

Nach dem Erstarren der Agarschicht wurden sterile, saugfähige Filzplättchen auf den Agar gedrückt und die entsprechende Menge (10 µg, z.B. 5 µl einer 0.2%igen Lösung) der zu untersuchenden Substanz mit einer Hamiltonspritze auf das Plättchen aufgetragen.

Als Referenzsubstanzen dienten Meropenem (Oxoid-Testplättchen MER, 10 µg) und Imipinem (Oxoid-Testplättchen IMI, 10 µg). Die gewünschte Substanzlösung wurde auf Basis der in der Ausbeute- und Gehaltsbestimmungen erhaltenen Werte hergestellt. Die Agarplatten wurden für 20 h im Brutschrank bei 37 °C inkubiert und anschließend die biologische Aktivität der Substanzen über den Hemmhofdruchmesser festgestellt.

2 Synthese des (2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4c

2.1 1-Chlormethyl-pyrrolidin-2-on (7c)⁵⁰

9 ml (10.0 g, 118 mmol, 85.1 g/mol, $d = 1.11$ g/ml) Pyrrolidin-2-on und 3.54 g (1 Äqu, 118 mmol, 30.0 g/mol) Paraformaldehyd werden in einem 25 ml Zweihalsrundkolben, mit Rückflusskühler und aufgesetztem Trockenrohr, sowie Septum, unter Stickstoffatmosphäre im Ölbad bei 180°C unter Rückfluss erhitzt. Nach 3 h wird die gelbe Lösung auf 0°C gekühlt, der Rückflusskühler gegen einen Gasblasenzähler ausgetauscht und 10.5 ml (16.7 g, 1.2 Äqu, 141 mmol, 119 g/mol, $d = 1.64$ g/ml) Thionylchlorid innerhalb von 30 min langsam über das Septum zugetropft (starke Gasentwicklung). Die Reaktionsmischung lässt man anschließend 1 h bei RT rühren. Überschüssiges Thionylchlorid wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das erhaltene Rohprodukt am HV (18 mbar) bei einer Ölbadtemperatur von 100°C destilliert. Man erhält eine leicht gelbliche Flüssigkeit.

Ausbeute

$m = 7.57$ g ($M = 133.6$ g/mol; $n = 56.6$ mol) = 48% (Lit: 52%)

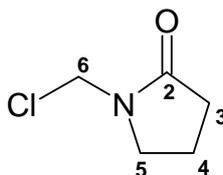
Siedepunkt

71.0°C bei 18 mbar (Lit: 102 – 103°C bei 2 mm Hg)

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 98 ($[M-Cl]^+$, 100).

Hochauflösung $[M-Cl]^+$:	berechnet:	98.0606
	gefunden:	98.0596



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.10 (tt, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H3/4}} = 8.0$ Hz, H4); 2.42 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.0$ Hz, H3);
3.55 (t, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.3$ Hz, H5); 5.24 (s, 2 H, H6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.5 (C4); 30.6 (C3); 45.6 (C5); 53.5 (C6); 175.6 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2960 (m, C-H aliph.); 1660 (vs, C=O); 757 (s, C-Cl).

2.2 Thioessigsäure-S-(2-oxo-pyrrolidin-1-ylmethyl)-ester (8c)

In einem 50 ml Schlenkkolben werden 2.00 g (15 mmol, 133.6 g/mol) **7c** in 20 ml tr. Ether unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Man gibt 0.69 g (0.3 Äqu, 5 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 und 1.88 g (1.1 Äqu, 16.5 mmol, 114.2 g/mol) tr. und frisch gemörsertes Kaliumthioacetat zu und rührt die beige Suspension bei RT. Nach 20 h wird das Reaktionsgemisch mit 200 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit 20 ml dest. H_2O gewaschen. Man trocknet die organische Phase über MgSO_4 und erhält nach Abrotieren des Lösungsmittels und Trocknen am HV das Produkt als braune Flüssigkeit. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an 80 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 9:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 80 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 2 bis 5 in Form einer hellorangenen Flüssigkeit. Bei -30°C bilden sich nasse hellorange Kristalle.

Ausbeute

$m = 2.07$ g ($M = 173.2$ g/mol; $n = 12$ mmol) = 80%

Schmelzpunkt

36.0 – 37.0 $^\circ\text{C}$

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.45$ (EE/MeOH 9:1); I_2 /UV-aktiv

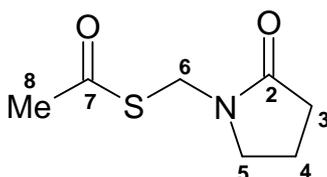
Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 173 ($[M]^+$, 10).

Hochauflösung $[M]^+$:	berechnet:	173.0510
	gefunden:	173.0514

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	48.53	6.40	8.09	18.51
gefunden	48.50	6.36	8.07	18.26

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.00 (tt, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H3/4}} = 7.9$ Hz, H4); 2.34 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 7.9$ Hz, H3); 2.38 (s, 3 H, H8); 3.39 (t, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.2$ Hz, H5); 4.81 (s, 2 H, H6).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.7 (C4); 30.6, 30.7 (C3/C8 ohne Zuordnung); 41.5 (C5); 46.5 (C6); 175.4 (C2); 195.3 (C7).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2961 (m, C-H aliph.); 1683 (vs, C(2)=O/C(7)=O); 1418 (m); 1401 (m); 1258 (s); 1125 (m); 960 (m).

2.3 1-Mercaptomethyl-pyrrolidin-2-on (2c)

260 mg (1.5 mmol, 173.2 g/mol) **8c** werden in 4.5 ml tr. CDCl_3 gelöst und die entstandene Lösung auf 0°C gekühlt. Innerhalb von 5 min tropft man nun 137 μl (1.1 Äqu, 1.65 mmol, 71.1 g/mmol, $d = 0.86 \text{ g/ml}$) Pyrrolidin zu und lässt die schwach gelbe Lösung bei RT 5 h rühren. Zur Reinigung wird die Reaktionsmischung direkt auf 20 g Kieselgel (40 – 60 μm) aufgetragen und mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 10 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 7 bis 12 als milchige Flüssigkeit. Bei -30°C entstehen weiße nadelförmige Kristalle.

Ausbeute:

$m = 186 \text{ mg}$ ($M = 131.3 \text{ g/mol}$; $n = 1.42 \text{ mmol}$) = 95%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.28$ (EE/MeOH 9:1); Substanz schmiert; I_2 /UV-aktiv

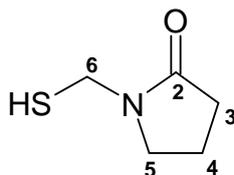
Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 131 ($[\text{M}]^+$, 8).

Hochauflösung $[\text{M}]^+$:	berechnet:	131.0405
	gefunden:	131.0403

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	45.77	6.91	10.68	24.44
gefunden	45.84	7.17	10.84	24.11



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.05 (tt, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H3/4}} = 8.2$ Hz, H4); 2.13 (t, 1 H, $J_{\text{SH/6}} = 8.7$ Hz, SH); 2.37 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.2$ Hz, H3); 3.49 (t, 2 H, $J_{\text{H4/5}} = 7.2$ Hz, H5); 4.41 (d, 2 H, $J_{\text{SH/6}} = 8.7$ Hz, H6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.5 (C4); 30.9 (C3); 38.1 (C5); 45.5 (C6); 174.8 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2946 (w, C-H aliph.); 2536 (w); 1667 (vs, C(2)=O); 1415 (m); 1255 (s); 684 (m).

2.4 (4R,5S,6S)-6-[(1'R)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3c)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 476 mg (0.8 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 25 ml Schlenkcolben in 7.2 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 126 mg (1.2 Äqu, 0.96 mmol, 131.3 g/mol) **2c**, gelöst in 2.8 ml CDCl_3 zugespritzt. Die Reaktionsmischung wird mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C gekühlt und es werden über einen Zeitraum von 15 min 163 μl (1.2 Äqu, 0.96 mmol, 129.3 g/mol, $d = 0.76$ g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zugegeben. Man lässt die Reaktionsmischung 2 h bei ca. -12°C rühren und stellt sie weitere 60 h bei -30°C in den Tiefkühlschrank. Die Reaktionslösung wird anschließend mit 50 ml EE verdünnt und nacheinander mit 30 ml 1 N Salzsäure, 30 ml 10%iger NaHCO_3 -Lösung, 4-mal je 30 ml dest. H_2O und schließlich mit 30 ml 10%iger NaCl -Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 330 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 10 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit EE, ab Fraktion 18 mit einem Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 9:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 10 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 11 bis 25 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 313 \text{ mg}$ ($M = 475.6 \text{ g/mol}$; $n = 0.66 \text{ mmol}$) = 83%

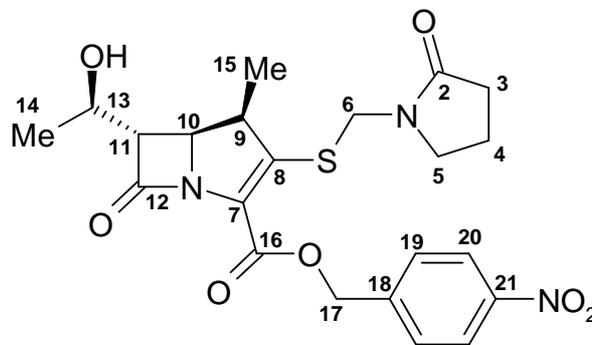
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.10$ (EE); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (DEI)

m/z [%] = 476 ($[M+H]^+$, 12).

Hochauflösung $[M+H]^+$: berechnet: 476.1492
 gefunden: 476.1454

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.21 (d, 3 H, $J_{\text{H}9/15} = 7.1 \text{ Hz}$, H15); 1.30 (d, 2 H, $J_{\text{H}13/14} = 6.4 \text{ Hz}$, H14); 2.01 (m, 2 H, H4); 2.36 (m, 2 H, H3); 3.26 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/11} = 2.6 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}11/13} = 6.6 \text{ Hz}$, H11); 3.33 (m, 1 H, H5); 3.58 (m, 1 H, H5); 3.84 (dq, 1 H, $J_{\text{H}9/15} = 7.1 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}9/10} = 7.4 \text{ Hz}$, H9); 4.17 (d, 1 H, $J_{\text{H}6/6} = 14.8 \text{ Hz}$, H6); 4.20 (dq, 1H, $J_{\text{H}13/14} = 6.4 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}11/13} = 6.6 \text{ Hz}$, H13); 4.21 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/11} = 2.6 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}9/10} = 7.4 \text{ Hz}$, H10); 5.08 (d, 1 H, $J_{\text{H}6/6} = 14.8 \text{ Hz}$, H6); 5.18 (d, 1 H, $J_{\text{H}17/17} = 13.7 \text{ Hz}$, H17); 5.46 (d, 1 H, $J_{\text{H}17/17} = 13.7 \text{ Hz}$, H17); 7.62 (d, 2 H, $J_{\text{H}19/20} = 8.7 \text{ Hz}$, H19); 8.18 (d, 2 H, $J_{\text{H}19/20} = 8.7 \text{ Hz}$, H20).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.1 (C15); 17.7 (C4); 21.9 (C14); 30.9 (C3); 43.5 (C9); 44.7 (C6); 46.1 (C5); 56.3 (C13); 60.3 (C11); 65.5 (C17); 65.9 (C10); 123.9 (C20); 126.3 (C7); 128.4 (C19); 143.1 (C21); 147.8 (C8); 149.2 (C18); 160.4 (16); 173.4 (C12); 175.2 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3398 (w, Ar-H); 2968 (w, C-H aliph.); 1764 (vs, C(12)=O); 1668 (vs, C(2)=O/C(16)=O); 1518 (vs, NO₂); 1342 (vs, NO₂); 1320 (s); 1280 (s); 1255 (s); 1203 (s); 1178 (s); 1132 (vs); 849 (m); 733 (s).

2.5 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4c)

In einem 25 ml Schlenkkolben mit aufgesetztem Übergangsstück mit Hahn und Olive werden 48 mg (0.1 mmol, 475.6 g/mol) **3c** in 2.4 ml THF und 0.9 ml (1 Äqu, 0.1 mmol, 111.1 g/mol) 0.1 N KHCO₃-Lösung vorgelegt und 50 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) zugegeben. Die Hydrierung erfolgt bei einer Ölbadtemperatur von 30°C. Nach 3 h werden nochmals 25 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd) zugegeben und die Reaktionsmischung weitere 60 min bei einer Ölbadtemperatur von 30°C hydriert. Man filtriert über einen Glasfaltertiegel (G4) über 230 mg Aktivkohle und wäscht den Filterkuchen mit 3 ml eines Lösungsmittelgemisches H₂O/THF 9:1. Das THF wird am Rotationsverdampfer abrotiert und die verbleibende schwach gelbe wässrige Lösung dreimal mit je 2 ml EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 1.5 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -20°C 6 mbar lyophilisiert.

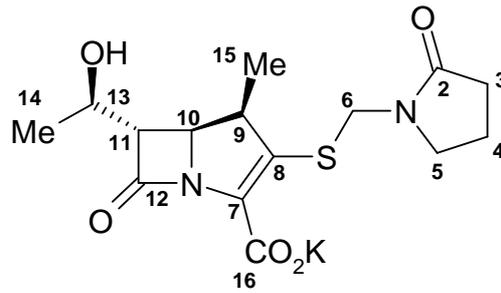
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 72% Produkt.

Ausbeute

$m = 27.6 \text{ mg} \rightarrow 19.9 \text{ mg reines Produkt (} M = 378.6 \text{ g/mol; } n = 0.05 \text{ mmol)} = 53\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 293 \text{ nm (} \epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.07 (d, 3 H, $J_{\text{H}9/15} = 7.2$ Hz, H15); 1.16 (d, 3 H, $J_{\text{H}13/14} = 6.2$ Hz, H14); 2.26 (m, 2 H, H4); 2.49 (m, 2 H, 7.8 Hz, H3); 3.23 (m, 3 H, H5); 3.33 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/11} = 2.4$ Hz, $J_{\text{H}11/13} = 6.5$ Hz, H11); 3.42 (dq, 1 H, $J_{\text{H}9/15} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H}9/10} = 9.3$ Hz, H9); 4.10 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/11} = 2.4$ Hz, $J_{\text{H}9/10} = 9.3$ Hz, H10); 4.15 (dq, 1 H, $J_{\text{H}13/14} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}11/13} = 6.5$ Hz, H13); 4.32 (d, 1 H, $J_{\text{H}6/6} = 14.6$ Hz, H6); 4.71 (d, 1 H, $J_{\text{H}6/6} = 14.6$ Hz, H6).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3307 (b, OH); 2965 (m, C-H aliph.); 2517 (w); 1748 (s, C(12)=O); 1664 (vs, C(2)=O); 1597 (s, C(16)=O); 1390 (s); 1251 (vs); 1134 (s); 836 (m); 686 (s).

3 Synthese des ((S)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4a

3.1 Kohlensäure-4-nitrobenzylester-(S)-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester (5h)

In einem 25 ml Schlenkkolben werden 1.34 g (13.2 mmol, 101.1 g/mol) (S)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon unter Stickstoffatmosphäre in 25 ml CHCl_3 vorgelegt und 4.0 g (1.36 Äqu, 18 mmol, 215.6 g/mol) Chlorameisensäure-4-nitrobenzylester, gelöst in 10 ml tr. CHCl_3 zugespritzt. Zu der weißen Suspension gibt man bei -15°C 2.2 g (1.36 Äqu, 18 mmol, 122.2 g/mol) 4-Dimethylaminopyridin in kleinen Portionen im Stickstoffgegenstrom zu. Nach 22 h bei -30°C wird die gelbliche Lösung (mit wenig Niederschlag) mit 250 ml CH_2Cl_2 verdünnt und nacheinander mit je 160 ml 1 N Salzsäure, 10%iger NaHCO_3 -Lösung und 10%iger NaCl -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der CH_2Cl_2 -Phase über MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das leicht gelbliche Öl am HV getrocknet. Nach Digerieren mit Ether erhält man das Produkt in Form weiß-beiger Kristalle.

Ausbeute

$m = 2.1 \text{ g}$ ($M = 280.2 \text{ g/mol}$; $n = 7.5 \text{ mmol}$) = 57%

optische Drehung

$[\alpha]_{\text{D}} = +55^\circ$ ($c = 0.6 \text{ mg/ml}$ in CHCl_3)

Schmelzpunkt

$122.5 - 123.0^\circ\text{C}$

Dünnschichtchromatographie

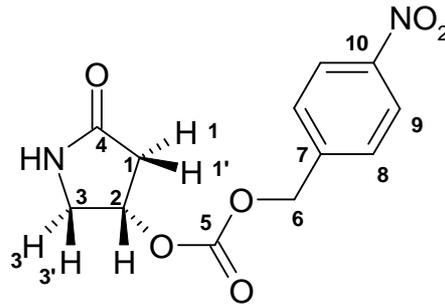
$R_f = 0.40$ (EE/MeOH 9:1); UV-aktiv, schwach I_2 -aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 281 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 52); 303 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 12); 562 ($[\text{2M}+\text{H}]^+$, 8).

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	51.43	4.32	10.00
gefunden	51.47	4.45	10.04

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.50 (dd, 1 H, $J_{H2/3'} = 2.4$ Hz, $J_{H3/3'} = 17.8$ Hz, H3'); 2.75 (dd, 1 H, $J_{H2/3} = 6.5$ Hz, $J_{H3/3'} = 17.8$ Hz, H3); 3.52 (dd, 1 H, $J_{H1'/2} = 3.4$ Hz, $J_{H1'/1} = 17.6$ Hz, H1'); 3.80 (dd, 1 H, $J_{H1/2} = 5.9$ Hz, $J_{H1'/1} = 17.6$ Hz, H1); 5.27 (s, 2 H, H6); 5.34 (dddd, 1 H, $J_{H2/3'} = 2.4$ Hz, $J_{H1'/2} = 3.4$ Hz, $J_{H1/2} = 5.9$ Hz, $J_{H2/3} = 6.5$ Hz, H2); 5.99 (b, 1 H, NH); 7.55 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 9.0$ Hz, H8); 8.25 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 9.0$ Hz, H9).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 36.4 (C3); 48.3 (C1); 68.3 (C6); 73.5 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.8 (C7); 148.1 (C10); 154.2 (C5); 174.5 (C4).

IR-Spektrum (CH₂Cl₂)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3400 (m, N-H); 3130 (w, Ar-H); 2850 (w, C-H aliph.); 1730 (vs, C(5)=O); 1695 (vs, C(4)=O); 1515 (s, NO₂); 1345 (s, NO₂); 1205 (m, C-O); 1010 (m, C-O).

3.2 Kohlensäure-(S)-(1-hydroxymethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (6h)

In einem 10 ml Rundkolben werden 2.0 g (7.1 mmol, 280.2 g/mol) **5h**, 623 μl (1.1 Äqu, 7.9 mmol, 30.0 g/mol, $d = 1.08 \text{ g/ml}$) 35%ige wässrige Formaldehydlösung, 22 μl ($22 \cdot 10^{-3} \text{ mmol}$) 1 N Natronlauge und 0.7 ml THF bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Nach 20 h bei 40°C werden nochmals 283 μl (0.5 Äqu, 3.8 mmol) 35%ige Formaldehydlösung zugegeben und die beige Suspension weitere 20 h bei 40°C gerührt. Die entstandene Lösung wird am Rotationsverdampfer eingedampft und der gelbe harzige Rückstand in 10 ml EE gelöst. Nach dem Trocknen über MgSO_4 wird das Lösungsmittel abgezogen und das zähe gelbe Öl am HV getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes (2.3 g) erfolgt mittels Säulenchromatographie an 100 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 9:1. Bei einer Fraktionsgröße von 50 ml wird aus den Fraktionen 15 bis 21 das Produkt als weißer Feststoff isoliert.

Ausbeute

$m = 1.63 \text{ g}$ ($M = 310.2 \text{ g/mol}$; $n = 5.25 \text{ mmol}$) = 74%

optische Drehung

$[\alpha]_D = +79^\circ$ ($c = 0.5 \text{ mg/ml}$ in CHCl_3)

Schmelzpunkt

104.0 – 104.5°C

Dünnschichtchromatographie

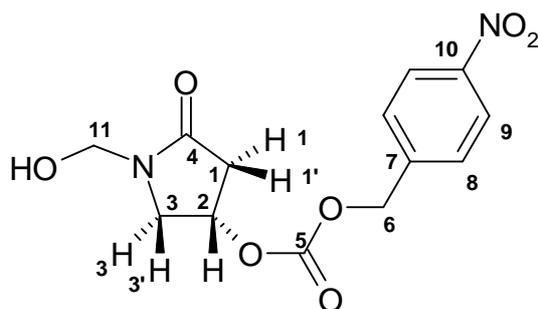
$R_f = 0.45$ (EE/MeOH 9:1); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 311 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 16).

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	50.33	4.55	9.03
gefunden	50.58	4.60	8.91



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.56 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 2.1$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.3$ Hz, H3'); 2.84 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 6.9$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.3$ Hz, H3); 3.65 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, $J_{\text{H}1'/2} = 1.5$ Hz, H1'); 3.97 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1); 4.76 (d, 1H, $J_{\text{H}11/11} = 11.0$ Hz, H11); 4.91 (d, 1H, $J_{\text{H}11/11} = 11.0$ Hz, H11); 5.27 (s, 2 H, H6); 5.28 (dddd, 1H, $J_{\text{H}1'/2} = 1.5$ Hz, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9$ Hz, $J_{\text{H}1/2} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}2/3} = 6.9$ Hz, H2); 7.54 (d, 2H, $J_{\text{H}8/9} = 8.6$ Hz, H8); 8.24 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.6$ Hz, H9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 38.0 (C3); 52.1 (C1); 66.5 (C11); 68.3 (C6); 71.0 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.8 (C7); 148.1 (C10); 154.2 (C5); 172.2 (C4).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3310 (b, OH); 2880 (m, C-H aliph.); 1730 (vs, C(5)=O); 1685 (vs, C(4)=O); 1515 (s, NO_2); 1345 (s, NO_2); 1210 (m, C-O); 1015 (m, C-O).

3.3 Kohlensäure-(S)-(1-chlormethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (7h)

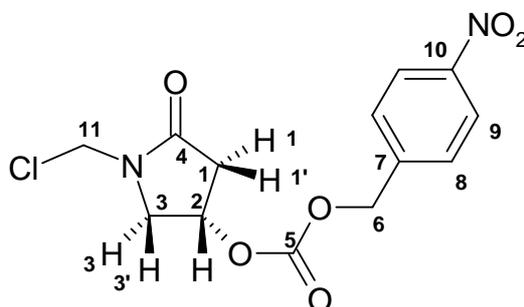
In einem 10 ml Schlenkkolben mit aufgesetztem Kühlfinger mit angeschlossenem Gasblasenzähler werden 1.21 g (3.9 mmol, 310.0 g/mol) **6h** in 3.8 ml tr. CH_2Cl_2 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Zu der gelben Lösung spritzt man langsam 842 μl (3 Äqu, 11.6 mmol, 119.0 g/mol, $d = 1.64$ g/ml) Thionylchlorid zu. Man beobachtet eine starke Gasentwicklung. Die Reaktionslösung wird bei einer Ölbadtemperatur von 50°C gerührt. Nach 60 min ist keine Gasentwicklung mehr sichtbar. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das gelb-orange viskose Öl im HV getrocknet.

Ausbeute

$m = 1.22$ g ($M = 328.7$ g/mol; $n = 3.71$ mmol) = 95%

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 293 ($[M-Cl]^+$, 100).

 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 2.60 (dd, 1 H, $J_{H2/3'} = 2.4$ Hz, $J_{H3/3'} = 18.3$ Hz, H3'); 2.84 (dd, 1 H, $J_{H2/3} = 6.8$ Hz, $J_{H3/3'} = 18.3$ Hz, H3); 3.59 (dd, 1 H, $J_{H1'/2} = 1.8$ Hz, $J_{H1/1'} = 11.8$ Hz, H1'); 3.96 (dd, 1 H, $J_{H1/2} = 5.7$ Hz, $J_{H1/1'} = 11.8$ Hz, H1); 5.07 (d, 1 H, $J_{H11/11} = 10.8$ Hz, H11); 5.27 (s, 2 H, H6); 5.30 (dddd, 1 H, $J_{H1'/2} = 1.8$ Hz, $J_{H2/3'} = 2.4$ Hz, $J_{H1/2} = 5.7$ Hz, $J_{H2/3} = 6.8$ Hz, H2); 5.39 (d, 1 H, $J_{H11/H11} = 10.8$ Hz, H11); 7.55 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 7.6$ Hz, H8); 8.25 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 7.6$ Hz, H9).

 ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 38.0 (C3); 51.1 (C1); 69.1 (C11); 70.8 (C6); 124.7 (C9); 128.9 (C8); 142.0 (C7); 148.4 (C10); 153.9 (C5); 171.9 (C4).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3130 (w, Ar-H); 2935 (w, C-H aliph.); 1743 (s, C(5)=O); 1710 (s, C(4)=O); 1523 (s, NO_2); 1342 (s, NO_2); 1240 (vs, C-O); 1201 (vs, C-O); 968 (m); 900 (m); 856 (s); 780 (m); 731 (m); 662 (m); 640 (s).

3.4 Thioessigsäure-S-[(S)-4-(4-nitrobenzyloxycarbonyloxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-ylmethyl]-ester (8h)

In einem 25 ml Schlenkkolben werden 1.41 g (4.3 mmol, 328.7 g/mol) **7h** und 248 mg (0.4 Äqu, 1.8 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 in 2.4 ml tr. Ether und 2.4 ml tr. CH_2Cl_2 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Im Stickstoffgegenstrom gibt man 534 mg (1.1 Äqu, 4.7 mmol, 114.2 g/mol) fein gemörstertes tr. Kaliumthioacetat zu und lässt die beige Suspension bei RT 20 h rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 50 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit 10 ml dest. H_2O gewaschen. Nach dem Trocknen der CH_2Cl_2 -Phase mit $MgSO_4$ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das verbleibende braune Öl am HV getrocknet. Das Rohprodukt (1.40 g) wird mittels Säulenchromatographie an 50 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch von Toluol/EE 1:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 30 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 bis 8 in Form eines beigen Feststoffes.

Ausbeute

$m = 1.00 \text{ g}$ ($M = 368.4 \text{ g/mol}$; $n = 2.7 \text{ mmol}$) = 63%

optische Drehung

$[\alpha]_D = +70^\circ$ ($c = 0.5 \text{ mg/ml}$ in $CHCl_3$)

Schmelzpunkt

72.0 – 72.5°C

Dünnschichtchromatographie

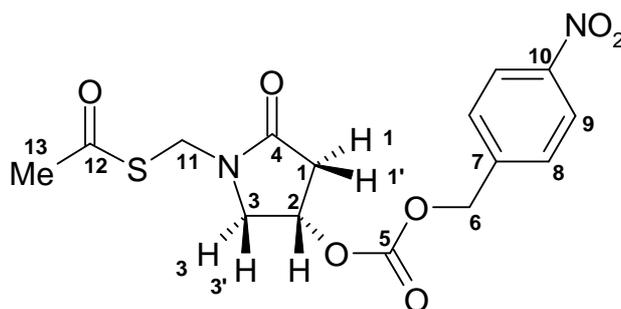
$R_f = 0.61$ (EE/MeOH 9:1); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 391 ($[M+Na]^+$, 100); 369 ($[M+H]^+$, 84).

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	48.91	4.38	7.60	9.43
gefunden	49.10	4.44	7.55	8.70



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3 H, H13); 2.54 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 2.1$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.0$ Hz, H3'); 2.76 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 7.0$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.0$ Hz, H3); 3.51 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 1.5$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.1$ Hz, H1'); 3.77 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.1$ Hz, H1); 4.77 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 13.7$ Hz, H11); 4.87 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 13.7$ Hz, H11); 5.26 (s, 2 H, H6); 5.24 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 1.5$ Hz, $J_{\text{H}2/3'} = 2.1$ Hz, $J_{\text{H}1/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}2/3} = 7.0$ Hz, H2); 7.54 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.9$ Hz, H8); 8.25 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.9$ Hz, H9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 30.7 (C13); 37.4 (C3); 41.4 (C11); 52.5 (C1); 68.3 (C6); 70.6 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.8 (C7); 148.1 (C10); 154.1 (C5); 171.4 (C4); 195.1 (C12).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3105 (w, Ar-H); 2850 (w, C-H aliph.); 1730 (vs, C(5)=O); 1680 (vs, C(4)=O/C(12)=O); 1515 (s, NO_2); 1345 (s, NO_2); 1205 (s, C-O); 1110 (s, C-O).

3.5 Kohlensäure-(S)-(1-mercaptopmethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (2h)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 566 mg (1.5 mmol, 386.4 g/mol) **8h** in 4.4 ml tr. CDCl_3 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Die gelbe Lösung wird auf 0°C gekühlt und es werden innerhalb von 10 min 133 μl (1.1 Äqu, 1.6 mmol, 71.1 g/mmol, $d = 0.86$ g/ml) Pyrrolidin zugetropft. Man lässt das Reaktionsgemisch bei RT 4 h rühren. Die Lösung wird direkt auf 18 g Kieselgel (40 – 60 μm) aufgetragen und mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 18 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 3 bis 6 als hellgelbes Öl. Das Thiol wird zur Aufbewahrung in tr. CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 460 \text{ mg}$ ($M = 326.3 \text{ g/mol}$; $n = 1.4 \text{ mol}$) = 93%

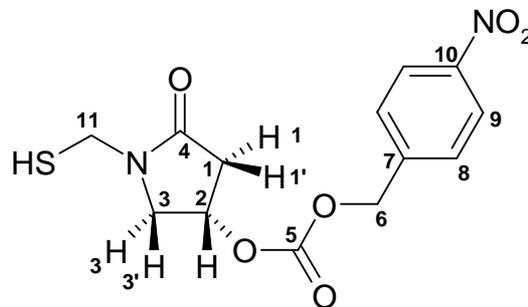
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.51$ (EE/MeOH 9:1); 0.36 (EE); Substanz schmiert; I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 293 ($[M-SH]^+$, 80); 327 ($[M+H]^+$, 10).

Hochauflösung $[M+H]^+$: berechnet: 327.0651
 gefunden: 327.0662

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.12 (t, 1 H, $J_{SH/11} = 8.9 \text{ Hz}$, SH); 2.56 (dd, 1 H, $J_{H2/3'} = 2.2 \text{ Hz}$, $J_{H3/3'} = 18.4 \text{ Hz}$, H3'); 2.79 (dd, 1 H, $J_{H2/3} = 7.3 \text{ Hz}$, $J_{H3/3'} = 18.4 \text{ Hz}$, H3); 3.54 (dd, 1 H, $J_{H1'/2} = 1.80 \text{ Hz}$, $J_{H1/H1'} = 11.6 \text{ Hz}$, H1'); 3.92 (dd, 1 H, $J_{H1/2} = 5.9 \text{ Hz}$, $J_{H1/H1'} = 11.6 \text{ Hz}$, H1); 4.31 (dd, 1 H, $J_{SH/11} = 8.9 \text{ Hz}$, $J_{H11/11} = 13.8 \text{ Hz}$, H11); 4.55 (dd, 1 H, $J_{SH/11} = 8.9 \text{ Hz}$, $J_{H11/11} = 13.8 \text{ Hz}$, H11); 5.27 (s, 2 H, H6); 5.31 (dddd, 1 H, $J_{H1'/2} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{H2/3'} = 2.2 \text{ Hz}$, $J_{H1/2} = 5.9 \text{ Hz}$, $J_{H2/3} = 7.3 \text{ Hz}$, H2); 7.53 (d, 1 H, $J_{H8/9} = 8.6 \text{ Hz}$, H8); 8.23 (d, 1 H, $J_{H8/9} = 8.6 \text{ Hz}$, H9).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 38.6 (C3); 38.7 (C11); 52.3 (C1); 69.2 (C6); 71.4 (C2); 124.8 (C9); 129.3 (C8); 142.6 (C7); 148.9 (C10); 155.0 (C5); 171.7 (C4).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3490 (w, Ar-H); 2965 (C-H aliph.); 2349 (m); 1744 (vs, C(5)=O); 1691 (vs, C(4)=O); 1565 (s, NO_2); 1346 (s, NO_2); 1246 (vs, C-O); 1208 (s, C-O).

3.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-[(*S*)-4-(4-nitrobenzyloxy-carbonyl-oxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3h)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 119 mg (0.2 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 10 ml Schlenkkolben in 1.8 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 78 mg (1.2 Äqu, 0.24 mmol, 326.6 g/mol) **2h**, gelöst in 0.7 ml CDCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 15 min 41 µl (1.2 Äqu, 0.24 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 60 h bei -30°C wird die gelbe Lösung mit 15 ml EE verdünnt und nacheinander mit 12 ml 1 N Salzsäure, 10 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 3 mal je 12 ml dest. H₂O und 10 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 136 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 5 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 5 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 9 bis 20 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 110 \text{ mg}$ ($M = 670.7 \text{ g/mol}$; $n = 0.16 \text{ mmol}$) = 82%

Dünnschichtchromatographie

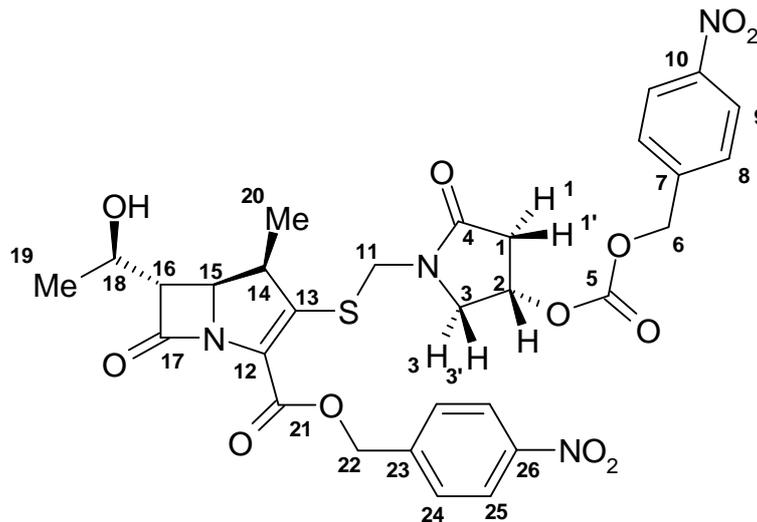
$R_f = 0.56$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 671 ([M+H]⁺, 8).

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	53.73	4.51	8.35	4.78
gefunden	53.68	4.48	8.32	4.90



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 1.23 (d, 3 H, $J_{H14/20} = 6.9$ Hz, H20); 1.30 (d, 3 H, $J_{H18/19} = 6.5$ Hz, H19); 2.79 (dd, 1 H, $J_{H2/3'} = 2.3$ Hz, $J_{H3/3'} = 18.0$, H3'); 2.80 (dd, 1 H, $J_{H2/3} = 7.0$ Hz, $J_{H3/3'} = 18.0$ Hz, H3); 3.27 (dd, 1 H, $J_{H15/16} = 2.7$ Hz, $J_{H16/18} = 6.4$ Hz, H16); 3.72 (m, 3 H, H1/1', H14); 4.15 (d, 1 H, $J_{H11/11} = 14.3$ Hz, H11); 4.19 (dd, 1 H, $J_{H16/18} = 6.4$ Hz, $J_{H18/19} = 6.5$ Hz, H18); 4.24 (dd, 1 H, $J_{H15/16} = 2.7$ Hz, $J_{H14/15} = 9.5$ Hz, H15); 5.18 (d, 1 H, $J_{H11/11} = 14.3$ Hz, H11); 5.20 (s, 2 H, H6); 5.23 (d, 1 H, $J_{H22/22} = 13.8$ Hz, H22); 5.26 (m, 1 H, H2); 5.46 (d, 1 H, $J_{H22/22} = 13.8$ Hz, H22); 7.50 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 8.6$ Hz, H8); 7.59 (d, 2H, $J_{H24/25} = 8.9$ Hz, H24); 8.19 (dd, 2 H, $J_{H8/9} = 8.6$ Hz, H9); 8.20 (dd, 2 H, $J_{H24/25} = 8.9$ Hz, H25).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 16.7 (C20); 21.7 (C19); 37.7 (C3); 43.1 (C14); 43.7 (C11); 51.4 (C1); 55.9 (C18); 60.1 (C16); 65.4, 65.6 (C15/C22 ohne Zuordnung); 68.4 (C6); 70.5 (C2); 123.7, 123.8 (C9/C25 ohne Zuordnung); 126.8 (C12); 128.1 (C24); 128.5 (C8); 141.7 (C7); 142.7 (C23); 147.3, 147.6 147.9 (C10, C13, C26); 154.0 (C5); 160.1 (C21); 171.2 (C4); 173.0 (C17).

IR-Spektrum (CH₂Cl₂)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3420 (b, O-H); 3114 (w, Ar-H); 2965 (w, C-H aliph.); 1747 (vs, C(17)=O/C(5)=O); 1694 (vs, C(4)=O/C(21)=O); 1518 (vs, NO₂); 1344 (vs, NO₂); 1251 (vs, C-O); 1208 (vs, C-O); 1131(s, C-O); 848 (s); 727 (s).

3.7 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-3-((*S*)-4-hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4a)

In einem 50 ml Schlenkkolben mit aufgesetztem Übergangsstück mit Hahn und Olive werden 100 mg (0.15 mmol, 670.4 g/mol) **3j** in 3.5 ml THF und 1.5 ml (1 Äqu, 0.15 mmol, 111.1 g/mol) 0.1 N KHCO₃-Lösung vorgelegt und 100 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) zugegeben. Die Hydrierung erfolgt bei einer Ölbadtemperatur von 30°C. Nach 3 h werden nochmals 80 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd) zugegeben und weitere 60 min bei 30°C hydriert. Die Reaktionsmischung wird über einen Glasfertiiegel (G4) über 320 mg Aktivkohle filtriert und der Filterkuchen mit 6 ml eines Lösungsmittelgemisches H₂O/THF 9:1 gewaschen. Das THF wird am Rotationsverdampfer abrotiert und die verbleibende schwach gelbe wässrige Lösung 3-mal mit je 2 ml EE in einem graduiertem Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 4 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -25°C und 4 mbar lyophilisiert.

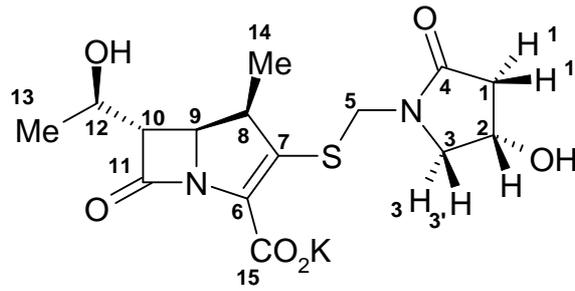
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 83% Produkt.

Ausbeute

$m = 39.1 \text{ mg} \rightarrow 32.5 \text{ mg reines Produkt (} M = 394.3 \text{ g/mol; } n = 0.08 \text{ mmol)} = 53\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 293 \text{ nm (} \epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.06 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, H14); 1.14 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz; H13); 2.21 (m, 1 H, H3'); 2.68 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 6.1$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 17.8$ Hz, H3); 3.33 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.2$ Hz, H10); 3.40 (m, 1 H, H1) 3.42 (dq, 1H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.2$ Hz H8); 3.64 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 5.2$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.7$ Hz, H1'); 4.05 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.2$ Hz, H9); 4.09 (dq, 1 H, $J_{\text{H}10/12} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz, H12); 4.21 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.3$ Hz; H5); 4.40 (m, 1 H, H2); 4.83 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.3$ Hz, H5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3345 (b, OH); 2970 (m, C-H aliph.); 1748 (s, C(11)=O); 1662 (vs, C(4)=O); 1595 (vs, C(15)=O); 1390 (s); 1260 (vs, C-O); 1146 (s, C-O); 1182 (m); 1077 (m).

4 Synthese des ((R)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4b

4.1 Kohlensäure-4-nitrobenzylester-(R)-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester (5i)

In einem 100 ml Schlenkkolben werden 2.0 g (19.8 mmol, 101.1 g/mol) (R)-(-)-4-Hydroxy-2-pyrrolidinon unter Stickstoffatmosphäre in 40 ml tr. CHCl_3 vorgelegt und 5.8 g (1.36 Äqu, 27 mmol, 215.6 g/mol) Chlorameisensäure-4-nitrobenzylester, gelöst in 15 ml tr. CHCl_3 zugespritzt. Zu der weiß-beigen Suspension gibt man bei -15°C 3.3 g (1.36 Äqu, 27 mmol, 122.2 g/mol) 4-Dimethylaminopyridin in kleinen Portionen im Stickstoffgegenstrom zu. Nach 22 h bei -30°C wird die gelbliche Lösung (mit wenig Niederschlag) mit 350 ml CH_2Cl_2 verdünnt und nacheinander mit je 200 ml 1 N Salzsäure, 10%iger NaHCO_3 -Lösung und 10%iger NaCl -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das gelbliche wachsartige Rohprodukt am HV getrocknet. Nach mehrmaligem Digerieren mit Ether erhält man das Produkt in Form weiße-beiger Kristalle.

Ausbeute

$m = 3.0 \text{ g}$ ($M = 280.2 \text{ g/mol}$; $n = 10.7 \text{ mmol}$) = 54%

optische Drehung

$[\alpha]_{\text{D}} = -52^\circ$ ($c = 0.6 \text{ mg/ml}$ in CHCl_3)

Schmelzpunkt

121.0 – 121.5°C

Dünnschichtchromatographie

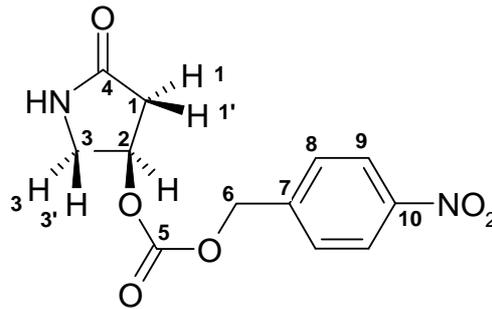
$R_f = 0.40$ (EE/MeOH 9:1); UV-aktiv, schwach I_2 -aktiv.

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 281 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 68).

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	51.43	4.32	10.00
gefunden	51.67	4.20	9.88

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.50 (dd, 1 H, , $J_{H3/3'} = 18.0$ Hz, H3); 2.74 (dd, 1 H, $J_{H2/3'} = 7.0$ Hz, $J_{H3/3'} = 18.0$ Hz, H3'); 3.51 (dd, 1 H, $J_{H1/2} = 2.9$ Hz, $J_{H1/1'} = 11.8$ Hz, H1); 3.79 (dd, 1 H, $J_{H1'/2} = 5.9$ Hz, $J_{H1'/1} = 11.8$ Hz, H1'); 5.26 (s, 2 H, H6); 5.34 (dddd, 1 H, $J_{H2/3} = 2.4$ Hz, $J_{H1/2} = 2.9$ Hz, $J_{H1'/2} = 5.9$ Hz, $J_{H2/3'} = 7.0$ Hz, H2); 6.08 (b, 1 H, NH); 7.55 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 8.9$ Hz, H8); 8.7 (d, 2 H, $J_{H8/9} = 8.9$ Hz, H9).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 36.7 (C3); 48.3 (C1); 68.3 (C6); 73.5 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.9 (C7); 148.1 (C10); 154.2 (C5); 174.6 (C4).

IR-Spektrum (CH₂Cl₂)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3415 (m, N-H); 3155 (w, Ar-H); 2875 (C-H aliph.); 1725 (vs, C(5)=O); 1690 (vs, C(4)=O); 1510 (s, NO₂); 1340 (s, NO₂); 1210 (m, C-O); 1090 (m, C-O); 850 (m).

4.2 Kohlensäure-(R)-(1-hydroxymethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (6i)

In einem 10 ml Rundkolben werden 2.0 g (7.1 mmol, 280.2 g/mol) **5i**, 623 μl (1.1 Äqu, 7.9 mmol, 30.0 g/mol, $d = 1.08 \text{ g/ml}$) 35%ige wässrige Formaldehydlösung, 22 μl ($22 \cdot 10^{-3} \text{ mmol}$) 1 N Natronlauge und 0.5 ml THF bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Nach 20 h bei 40°C werden nochmals 283 μl (0.5 Äqu, 3.8 mmol) 35%ige Formaldehydlösung zugegeben und die beige Suspension weitere 2 h bei 40°C gerührt. Die Reaktionsmischung wird am Rotationsverdampfer eingedampft und der gelbe harzige Rückstand in 10 ml EE verdünnt und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels und Trocknen am HV erhält man 2.7 g eines zähen gelben Öls. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 100 g Kieselgel (40 – 60 μm) und EE als Lösungsmittel gereinigt. Ab Fraktion 5 verwendet man ein Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 9:1. Bei einer Fraktionsgröße von 100 ml wird aus den Fraktionen 7 bis 11 das Produkt als weißer Feststoff isoliert.

Ausbeute

$m = 1.54 \text{ g}$ ($M = 310.2 \text{ g/mol}$; $n = 5.0 \text{ mmol}$) = 70%

optische Drehung

$[\alpha]_D = -80^\circ$ ($c = 0.4 \text{ mg/ml}$ in CHCl_3)

Schmelzpunkt

104.0 – 104.5°C

Dünnschichtchromatographie

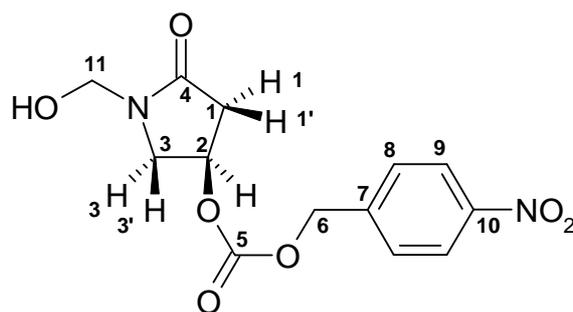
$R_f = 0.43$ (EE/MeOH 9:1); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 311 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 7); 293 ($[\text{M}-\text{OH}]^+$, 49).

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	50.33	4.55	9.03
gefunden	50.35	4.54	9.03



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.58 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 2.1$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.1$ Hz, H3); 2.82 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.1$ Hz, H3'); 3.64 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.5$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1); 3.97 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8$, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1'); 4.75 (d, 1H, $J_{\text{H}11/11} = 11.0$ Hz, H11); 4.90 (d, 1H, $J_{\text{H}11/11} = 11.0$ Hz, H11); 5.26 (s, 2 H, H6); 5.28 (b, 1 H, OH); 5.30 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.5$ Hz, $J_{\text{H}2/3} = 2.1$ Hz, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9$ Hz, H2); 7.54 (d, 2H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H8); 8.24 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 38.0 (C3); 52.0 (C1); 66.4 (C11); 68.3 (C6); 70.9 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.8 (C7); 148.3 (C10); 154.1 (C5); 172.2 (C4).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3335 (b, OH); 2830 (w, C-H aliph.); 1735 (vs, C(5)=O); 1685 (vs, C(4)=O); 1515 (s, NO_2); 1345 (s, NO_2); 1210 (m, C-O); 1015 (m, C-O); 840 (m).

4.3 Kohlensäure-(R)-(1-chlormethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (7i)

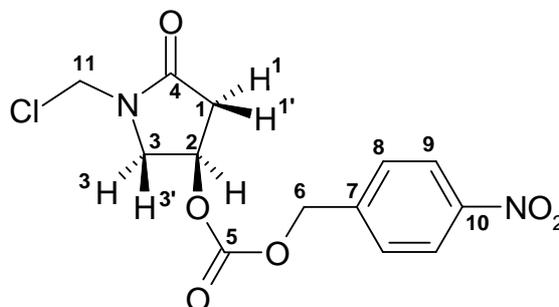
In einem 10 ml Schlenkkolben mit aufgesetztem Kühlfinger mit angeschlossenem Gasblasenzähler werden 1.21 g (3.9 mmol, 310.0 g/mol) **6i** in 3.0 ml tr. CH_2Cl_2 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Zu der gelben Lösung spritzt man langsam 842 μl (3 Äqu, 11.6 mmol, 119.0 g/mol, $d = 1.64$ g/ml) Thionylchlorid zu. Man beobachtet eine starke Gasentwicklung. Die Reaktionslösung wird bei einer Ölbadtemperatur von 50°C gerührt. Nach 60 min ist keine Gasentwicklung mehr sichtbar. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das gelbe Öl am HV getrocknet.

Ausbeute

$m = 1.1 \text{ g}$ ($M = 328.7 \text{ g/mol}$; $n = 3.3 \text{ mmol}$) = 86%

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 293 ($[M-Cl]^+$, 100).

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.62 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}3/3'} = 18.6 \text{ Hz}$, H3); 2.84 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}3/3'} = 18.6 \text{ Hz}$, H3'); 3.61 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.4 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1/1'} = 11.8 \text{ Hz}$, H1); 3.97 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 5.9 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1/1'} = 11.8 \text{ Hz}$, H1'); 5.09 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 10.1 \text{ Hz}$, H11); 5.29 (s, 2 H, H6); 5.31 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.4 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}2/3} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1'/2} = 5.9 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9 \text{ Hz}$, H2); 5.38 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 10.1 \text{ Hz}$, H11); 7.55 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.5 \text{ Hz}$, H8); 8.25 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.5 \text{ Hz}$, H9).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 37.5 (C3); 51.5 (C1); 52.6 (C11); 68.4 (C6); 70.3 (C2); 124.0 (C9); 128.5 (C8); 141.7 (C7); 148.0 (C10); 154.1 (C5); 171.7 (C4).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3080 (w, Ar-H); 2951 (w, C-H aliph.); 1745 (s, C(5)=O); 1712 (s, C(4)=O); 1519 (s, NO_2); 1417 (m); 1346 (s, NO_2); 1245 (vs, C-O); 1209 (vs, C-O); 972 (m); 917 (m); 848 (s); 785 (m); 736 (m); 675 (m); 645 (s).

4.4 Thioessigsäure-S-[(R)-4-(4-nitrobenzyloxycarbonyloxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-ylmethyl]-ester (8i)

In einem 25 ml Schlenkkolben werden 1.41 g (4.3 mmol, 328.7 g/mol) **7i** und 246 mg (0.4 Äqu, 1.8 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 in 5 ml tr. Ether und 2 ml tr. CH_2Cl_2 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Im Stickstoffgegenstrom gibt man 540 mg (1.1 Äqu, 4.7 mmol, 114.2 g/mol) fein gemörseretes tr. Kaliumthioacetat zu und lässt die beige Suspension bei RT 20 h rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 50 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit 10 ml dest. H_2O gewaschen. Nach dem Trocknen der CH_2Cl_2 -Phase mit $MgSO_4$ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das verbleibende braune Öl am HV getrocknet. Das Rohprodukt (1.3 g) wird mittels Säulenchromatographie an 50 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch von Toluol/EE 1:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 25 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 bis 11 in Form eines beigen Feststoffs.

Ausbeute

$m = 1.1 \text{ g}$ ($M = 368.4 \text{ g/mol}$; $n = 3.0 \text{ mmol}$) = 69%

optische Drehung

$[\alpha]_D = -67^\circ$ ($c = 0.5 \text{ mg/ml}$ in $CHCl_3$)

Schmelzpunkt

72.0 – 72.5°C

Dünnschichtchromatographie

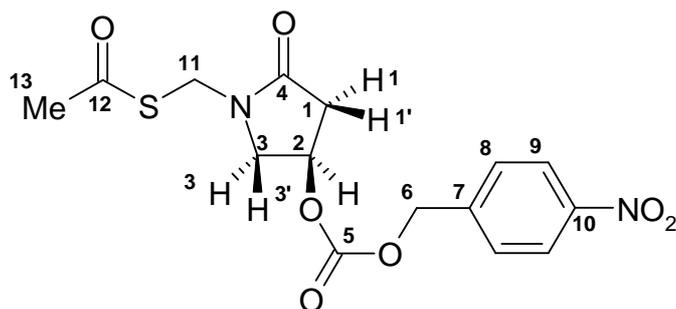
$R_f = 0.61$ (EE/MeOH 9:1); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 369 ($[M+H]^+$, 41); 391 ($[M+Na]^+$, 62).

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	48.91	4.38	7.60	8.7
gefunden	48.98	4.31	7.51	9.13



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3 H, H13); 2.54 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/\text{H}3} = 2.3$ Hz, $J_{\text{H}3/\text{H}3'} = 18.2$ Hz, H3); 2.78 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/\text{H}3'} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H}3/\text{H}3'} = 18.2$ Hz, H3'); 3.51 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.8$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1); 3.78 (dd, 1 H, $J_{1'/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1'); 4.77 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/\text{H}11} = 13.4$ Hz, H11); 4.87 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/\text{H}11} = 13.4$ Hz, H11); 5.23 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.8$ Hz, $J_{\text{H}2/3} = 2.3$ Hz, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}2/3'} = 7.2$ Hz, H2); 5.26 (s, 2 H, H6); 7.54 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H8); 8.24 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 30.7 (C13); 37.4 (C3); 41.4 (C11); 52.4 (C1); 68.3 (C6); 70.6 (C2); 123.9 (C9); 128.5 (C8); 141.8 (C7); 148.1 (C10); 154.1 (C5); 171.4 (C4); 195.1 (C12).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3110 (w, Ar-H); 2860 (C-H, aliph.); 1730 (vs, C(5)=O); 1685 (vs, C(4)=O/C(12)=O); 1515 (s, NO_2); 1340 (s, NO_2); 1205 (s, C-O); 1010 (s, C-O).

4.5 Kohlensäure-(R)-(1-mercaptomethyl-5-oxo-pyrrolidin-3-ylester)-4-nitrobenzylester (2i)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 580 mg (1.5 mmol, 386.4 g/mol) **8i** in 4.5 ml tr. CHCl_3 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Die hellgelbe Lösung wird auf 0°C gekühlt und es werden innerhalb von 10 min 136 μl (1.1 Äqu, 1.7 mmol, 71.1 g/mmol, $d = 0.86$ g/ml) Pyrrolidin zugetropft. Nach dem Zutropfen lässt man das Reaktionsgemisch bei RT rühren. Nach 4 h wird die Lösung direkt auf 18 g Kieselgel (40 – 60 μm) aufgetragen und mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 18 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 3 bis 5 als hellgelbes Öl. Zur Aufbewahrung wird das Thiol in tr. CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 468 \text{ mg}$ ($M = 326.3 \text{ g/mol}$; $n = 1.43 \text{ mol}$) = 95%

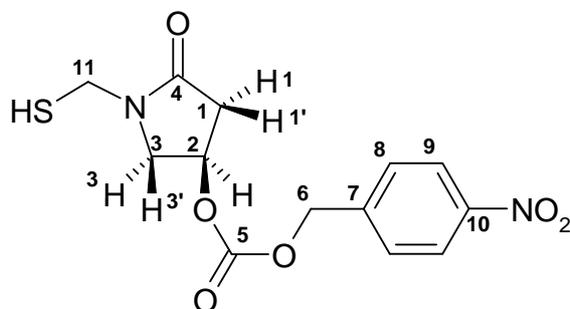
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.50$ (EE/MeOH 9:1); 0.37 (EE); Substanz schmiert; I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 327 ($[M+H]^+$, (8)).

Hochauflösung $[M+H]^+$: berechnet: 327.0651
 gefunden: 327.0658

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.13 (t, 1 H, $J_{\text{SH}/11} = 8.9 \text{ Hz}$, SH); 2.56 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 2.1 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}3/3'} = 18.5 \text{ Hz}$, H3); 2.81 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 7.0 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}3/3'} = 18.5 \text{ Hz}$, H3'); 3.54 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1/1'} = 11.4 \text{ Hz}$, H1); 3.92 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1/1'} = 11.4 \text{ Hz}$, H1'); 4.32 (dd, 1 H, $J_{\text{SH}/11} = 8.9 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}11/11} = 13.8 \text{ Hz}$, H11); 4.57 (dd, 1 H, $J_{\text{SH}/11} = 8.9 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}11/11} = 13.8 \text{ Hz}$, H11); 5.27 (s, 2 H, H6); 5.29 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 2.1 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1/2} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}2/3'} = 7.0 \text{ Hz}$, H2); 7.55 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.4 \text{ Hz}$, H8); 8,25 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.4 \text{ Hz}$, H9).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 38.4 (C3); 38.7 (C11); 52.5 (C1); 69.2 (C6); 71.4 (C2); 124.6 (C9); 129.3 (C8); 142.5 (C7); 148.9 (C10); 155.0 (C5); 171.9 (C4).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3096 (w, Ar-H); 2948 (w, C-H aliph.); 2360 (m); 1746 (vs, C(5)=O); 1689 (vs, C(4)=O); 1558 (s, NO_2); 1348 (s, NO_2); 1246 (vs, C-O); 958 (s, C-O); 849 (s); 727 (s).

4.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-[(*R*)-4-(4-nitrobenzyloxy-carbonyl-oxy)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl]-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3i)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 416 mg (0.7 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 25 ml Schlenkkolben in 6.3 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 274 mg (1.2 Äqu, 0.84 mmol, 326.6 g/mol) **2i**, gelöst in 2.5 ml CDCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 15 min 143 µl (1.2 Äqu, 0.84 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 60 h bei -30°C werden nochmals 65 mg (0.2 Äqu, 0.14 mmol, 326.6 g/mol) Thiol **2k** zugegeben und bei -15°C innerhalb von 10 min 34 µl (0.2 Äqu, 0.14 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zugetropft. Die Reaktionslösung wird 2 h bei -15°C gerührt und anschließend mit 15 ml EE verdünnt und nacheinander mit 12 ml 1 N Salzsäure, 10 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 3 mal je 12 ml dest. H₂O und 10 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 514 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 20 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit EE, ab Fraktion 10 mit einem Lösungsmittelgemisch EE/MeOH 95:5 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 20 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 6 bis 16 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 280 \text{ mg}$ ($M = 670.7 \text{ g/mol}$; $n = 0.42 \text{ mmol}$) = 60%

Dünnschichtchromatographie

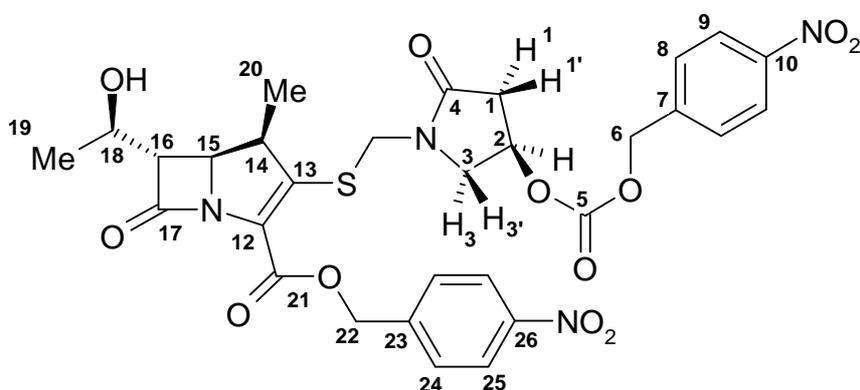
$R_f = 0.57$ (EE); I₂/UV-aktiv

Elementaranalyse:

	C	H	N	S
berechnet	53.73	4.51	8.35	4.78
gefunden	53.80	4.60	8.42	4.91

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 671 ($[M]^+$, 12).

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.22 (d, 3 H, $J_{\text{H}14/20} = 7.2$ Hz, H14); 1.30 (d, 3 H, $J_{\text{H}18/19} = 6.3$ Hz, H19); 2.53 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 1.8$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.5$ Hz, H3); 2.83 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 18.5$ Hz, H3'); 3.28 (dd, 1 H, $J_{\text{H}15/16} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}16/18} = 6.1$ Hz, H16); 3.41 (dd, $J_{\text{H}1/2} = 1.2$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1); 3.82 (dq, 1 H, $J_{14/20} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H}14/15} = 9.4$ Hz, H14); 3.98 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.9$ Hz, H1'); 4.15 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 14.2$ Hz, H11); 4.22 (dq, 1 H, $J_{\text{H}16/18} = 6.1$ Hz, $J_{\text{H}18/19} = 6.3$ Hz, H18); 4.25 (dd, 1H, $J_{\text{H}15/16} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}14/15} = 9.4$ Hz, H15); 5.11 (d, 1 H, $J_{\text{H}22/22} = 13.8$ Hz, H22); 5.18 (d, 1 H, $J_{\text{H}11/11} = 14.2$ Hz, H11); 5.22 (dddd, 1 H, $J_{\text{H}1/2} = 1.2$ Hz, $J_{\text{H}2/3} = 1.8$ Hz, $J_{\text{H}1'/2} = 5.8$ Hz, $J_{\text{H}2/3'} = 6.9$ Hz, H2); 5.24 (s, 2 H, H6); 5.44 (d, 1 H, $J_{\text{H}22/22} = 13.8$ Hz, H22); 7.52 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H8); 7.59 (d, 2 H, $J_{\text{H}24/25} = 8.7$ Hz, H24); 8.18 (d, 2 H, $J_{\text{H}8/9} = 8.7$ Hz, H9); 8.21 (d, 2 H, $J_{\text{H}24/25} = 8.7$ Hz, H25).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.0 (C20); 21.8 (C19); 37.8 (C3); 43.5 (C14); 44.4 (C11); 52.2 (C1); 56.0 (C18); 60.4 (C16); 65.6 (C22/C15 ohne Zuordnung); 68.6 (C6); 70.6 (C2); 124.0, 124.1 (C9, C25); 127.1 (C12); 128.4 (C24); 128.8 (C8); 141.9 (C7); 142.8 (C23); 147.8 (C10, C26); 148.2 (C13); 154.2 (C5); 160.3 (C21); 171.4 (C4); 173.3 (C17).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3450 (b, O-H); 3083 (Ar-H); 2928 (w, C-H aliph.); 1747 (vs, C(17)=O/C(5)=O); 1697 (vs, C(4)=O/C(21)=O); 1514 (vs, NO_2); 1342 (vs, NO_2); 1255 (vs, C-O); 1214 (s, C-O); 1147 (s, C-O); 735 (s).

4.7 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-3-((*R*)-4-hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4b)

In einem 50 ml Schlenkkolben werden 250 mg (0.37 mmol, 670.4 g/mol) **3i** in 8.7 ml THF und 3.7 ml (1 Äqu, 0.37 mmol, 111.1 g/mol) 0.1 N KHCO₃-Lösung vorgelegt und 250 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) zugegeben. Die Hydrierung erfolgt bei einer Ölbadtemperatur von 30°C. Nach 2 h wird die Reaktionsmischung über einen Glasfildertiegel (G4) über 850 mg Aktivkohle filtriert und der Filterkuchen mit 10 ml eines Lösungsmittelgemisches H₂O/THF 9:1 gewaschen. Das THF wird am Rotationsverdampfer abrotiert und die verbleibende schwach gelbe wässrige Lösung 3-mal mit je 6 ml EE in einem graduiertem Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 5 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -30°C und 3·mbar lyophilisiert.

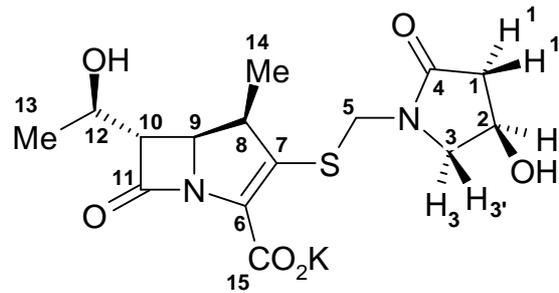
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 82% Produkt.

Ausbeute

$m = 77.4 \text{ mg} \rightarrow 63.5 \text{ mg reines Produkt (} M = 394.3 \text{ g/mol; } n = 0.16 \text{ mmol)} = 44\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 295 \text{ nm (} \epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.05 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, H14); 1.14 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz, H13); 2.21 (m, 1 H, H3); 2.86 (dd, 1 H, $J_{\text{H}2/3} = 1.3$ Hz, $J_{\text{H}3/3'} = 17.8$ Hz, H3'); 3.19 (m, H1); 3.33 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.6$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.1$ Hz, H10); 3.37 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.5$ Hz, H8); 3.77 (dd, $J_{\text{H}1/2} = 1.6$ Hz, $J_{\text{H}1/1'} = 11.6$ Hz, H1'); 4.00 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.6$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.5$ Hz, H9); 4.08 (dq, 1 H, $J_{\text{H}10/12} = 6.1$ Hz, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz, H12); 4.08 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.7$ Hz, H5); 4.38 (m, 1 H, H2); 4.93 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.7$ Hz; H5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3336 (b, OH); 2965 (m, C-H aliph.); 1747 (s, C(11)=O); 1665 (vs, C(4)=O); 1591 (s, C(15)=O); 1387 (s, O-H); 1255 (s, C-O); 1197 (m); 1146 (m); 1077 m).

5 Synthese des (2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4d

5.1 1-Hydroxymethyl-pyrrolidin-2,5-dion (6d)⁵⁵

In einem 50 ml Rundkolben werden 9.49 g (99.1 g/mol, 0.96 mol) Succinimid vorgelegt und 0.24 g (1.74 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 und 7.77 ml (1.1 Äqu, 1.06 mol, 30.0 g/mol, $d = 1.09$ g/ml) 37%ige wässrige Formaldehydlösung zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 2 h in einem Ölbad bei 35°C gerührt (gelb-braune Lösung). Das Wasser wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der gelb-braune wachsartige Rückstand am HV getrocknet. Nach Digerieren mit wenig Ether erhält man einen beigen Feststoff. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in Ether umkristallisiert. Das Produkt fällt in Form weißer Nadeln an.

Ausbeute

$m = 9.55$ g ($M = 129.1$ g/mol; $n = 0.74$ mol) = 77% (Lit: 90%)

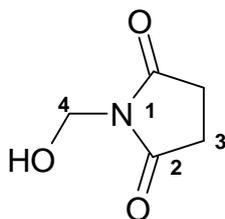
Schmelzpunkt

63.9°C – 64.6 °C (Lit: 66°C)

Massenspektrum (DEI)

m/z [%] = 129 ($[M]^+$, 44).

Hochauflösung $[M]^+$:	berechnet:	129.0425
	gefunden:	129.0420



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.68 (s, 4 H, H3); 4.01 (br, 1 H, OH); 4.92 (s, 2 H, H4).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 25.9 (C3); 59.9 (C4); 174.7 (C2).

IR-Spektrum (CH₂Cl₂)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3414 (b, OH); 2995, 2972 (w, C-H aliph.); 1767 (m); 1682 (vs, C=O); 1420 (m); 1362 (m); 1320 (s); 1189 (s); 1047 (vs); 916 (m); 820 (m); 641 (m).

5.2 1-Chlormethyl-pyrrolidin-2,5-dion (7d)⁷⁹

5.0 g (38.7 mmol, 129.1 g/mol) 1-Hydroxymethyl-succinimid **6d** werden in einem 25 ml Zweihalskolben, mit Rückflusskühler und aufgesetztem Gasblasenzähler, in 15 ml Ether unter Stickstoffatmosphäre suspendiert. Bei RT werden langsam 8.4 ml (3 Äqu, 116 mol, 119.0 g/mol, d = 1.64 g/ml) Thionylchlorid zugetropft (starke Gasentwicklung) und anschließend die Reaktionsmischung 90 min bei einer Ölbadtemperatur von 40°C gerührt. Hierbei geht das Edukt in Lösung und ein gelber Niederschlag fällt aus. Die Gasentwicklung kommt zum Erliegen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das entstandene gelbe Öl am HV getrocknet. Bei 0°C bilden sich gelbe Kristalle (5.66 g). Das Rohprodukt wird an 100 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 2:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 50 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 bis 10 in Form hellgelber Kristalle.

Ausbeute

$m = 2.87 \text{ g}$ ($M = 147.6 \text{ g/mol}$; $n = 19.4 \text{ mol}$) = 51%

Schmelzpunkt

58.6°C – 59.3°C (Lit: 58°C)

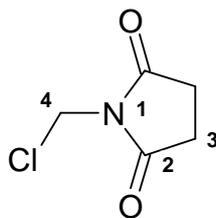
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.21$ (EE); UV-aktiv, schwach I₂-aktiv

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 147 ([M]⁺, 45); 112 ([M-Cl]⁺, 100).

Hochauflösung [M] ⁺ :	berechnet:	147.0087
	gefunden:	147.0047



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.79 (s, 4 H, H3); 5.24 (s, 2 H, H4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 25.8 (C3); 42.1 (C4); 172.5 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3045, 2987, 2948 (w, C-H aliph.) 1774 (m); 1704 (vs, C=O); 1384 (s); 1299 (vs); 1149 (vs); 1053 (m); 851 (m); 704 (s).

5.3 Thioessigsäure-S-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-ylmethyl)-ester (8d)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 0.5 g (3.39 mmol, 147.6 g/mol) **7d** und 127 mg (0.3 Äqu, 0.92 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 in 1.7 ml tr. Ether und 1.7 ml tr. CH_2Cl_2 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Im Stickstoffgegenstrom gibt man 426 mg (1.1 Äqu, 3.74 mmol, 114.2 g/mol) fein gemörsertes tr. Kaliumthioacetat zu und lässt die beige Suspension bei RT 20 h rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 30 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit 5 ml dest. H_2O gewaschen. Nach dem Trocknen der CH_2Cl_2 -Phase über MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das verbleibende braune Öl am HV getrocknet. Zur Reinigung wird das Rohprodukt (640 mg) mit Ether digeriert und man erhält das Produkt in Form eines beigen Feststoffes.

Ausbeute

$m = 482 \text{ mg}$ ($M = 187.2 \text{ g/mol}$; $n = 2.57 \text{ mmol}$) = 76%

Schmelzpunkt

70.0°C – 70.5°C

Dünnschichtchromatographie

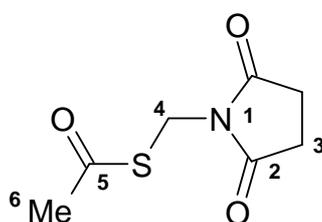
$R_f = 0.47$ (EE); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 187 ($[M]^+$, 4); 145 ($[M-Ac]^+$, 100); 100 ($[M-CH_2SAc]^+$, 37).

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	44.91	4.85	7.48	17.13
gefunden	44.95	4.71	7.53	17.30

 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 2.35 (s, 3 H, H6); 2.72 (s, 4 H, H3); 4.96 (s, 2 H, H4).

 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 28.1 (C3); 30.6 (C6); 35.9 (C4); 175.5 (C2); 192.5 (C5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3012, 2944 (w, C-H aliph.); 1778, 1766 (w); 1696 (vs, C(2)=O/C(5)=O); 1417 (m); 1384 (s); 1320 (s); 1157 (s); 1125 (s); 949 (m).

5.4 1-Mercaptomethyl-pyrrolidin-2,5-dion (2d)

281 mg (1.5 mmol, 187.2 g/mol) Thioessigsäureester **8d** werden in einem 10 ml Schlenk-
kolben in 4.5 ml CDCl_3 unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Man kühlt die leicht gelbe
Lösung auf 0°C und tropft innerhalb von ca. 2 min 136 μl (1.1 Äqu, 1.65 mmol, 71.1 g/mol,
 $d = 0.86$ g/ml) Pyrrolidin zu. Die Reaktionsmischung wird 40 min bei RT gerührt und
anschließend direkt auf 12 g (40 – 60 μm) Kieselgel aufgetragen und mit EE
chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 12 ml erhält man das Produkt aus den
Fraktionen 2 bis 4 als weißen Feststoff.

Ausbeute

$m = 160$ mg ($M = 145.2$ g/mol; $n = 1.10$ mmol) = 74%

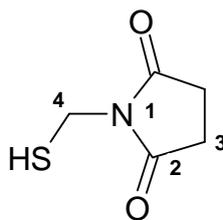
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.44$ (EE); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 144 ($[\text{M}-\text{H}]^+$, 8)

Hochauflösung $[\text{M}-\text{H}]^+$:	berechnet:	144.0197
	gefunden:	144.0171



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.64 (t, 1 H, $J_{\text{SH}/4} = 9.4$ Hz; SH); 2.74 (s, 4 H, H3); 4.54 (d, 2 H, $J_{\text{SH}/4} = 9.4$ Hz, H4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 28.4 (C3); 32.8 (C4); 175.9 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3065, 2947, 2929 (w, C-H aliph.); 1775, 1768 (w); 1691 (vs, C=O); 1465 (s);
1382 (vs); 1315 (s); 1159 (vs); 1092 (m); 960 (m); 885 (m); 620 (m).

5.5 (4*R*,5*S*,6*S*)-3-(2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3d)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 297 mg (0.5 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 10 ml Schlenkkolben in 5 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 87 mg (1.2 Äqu, 0.6 mmol, 145.2 g/mol) **2d** gelöst in 2 ml tr. DMF zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 15 min 102 µl (1.2 Äqu, 0.6 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 18 h bei 0°C wird die gelbe Lösung mit 80 ml EE verdünnt und nacheinander mit 40 ml 1 N Salzsäure, 40 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 4 mal je 30 ml dest. H₂O und 20 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 253 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 8 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 8 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 5 bis 16 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 201 \text{ mg}$ ($M = 489.5 \text{ g/mol}$; $n = 0.41 \text{ mmol}$) = 82%

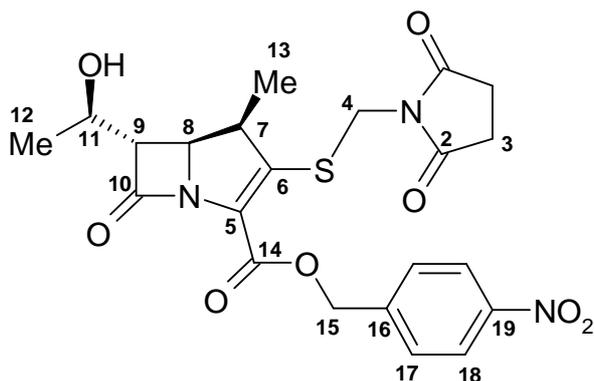
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.25$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 490 ([M+H]⁺, 100).

Hochauflösung [M+H] ⁺ :	berechnet:	490.1206
	gefunden:	490.1201



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.26 (d, 3 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.3$ Hz, H13); 1.38 (d, 3 H, $J_{\text{H}11/12} = 6.3$ Hz, H12); 2.72 (s, 4 H, H3); 3.24 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.7$ Hz; $J_{\text{H}9/11} = 6.2$ Hz, H9); 4.00 (dq, 1 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.3$ Hz; $J_{\text{H}7/8} = 9.6$ Hz, H7); 4.27 (dq, 1 H, $J_{\text{H}9/11} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}11/12} = 6.3$ Hz, H11); 4.33 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}7/8} = 9.6$ Hz, H8); 4.68 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 13.9$ Hz; H4); 4.88 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 13.9$ Hz, H4); 5.16 (d, 1 H, $J_{\text{H}15/15} = 13.8$ Hz, H15); 5.45 (d, 1 H, $J_{\text{H}15/15} = 13.8$ Hz, H15); 7.62 (d, 2 H, $J_{\text{H}17/18} = 8.7$ Hz, H17); 8.20 (d, 2 H, $J_{\text{H}17/18} = 8.7$ Hz, H18).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 16.9 (C13); 21.9 (C12); 28.4 (C3); 39.0 (C4); 43.4 (C7); 56.0 (C11); 60.5 (C9); 65.7, 65.8 (C8/C15 ohne Zuordnung); 124.0 (C18); 126.3 (C5); 128.4 (C17); 143.0 (C16); 147.8, 147.9 (C6/C19 ohne Zuordnung); 160.4 (C14); 173.5 (C2); 176.2 (C10).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3467 (b, OH); 2970 (w, C-H aliph.); 1766 (s, C(10)=O); 1699 (vs, C(14)=O/C(2)=O); 1518 (s, NO_2); 1381 (m); 1343 (s, NO_2); 1317 (s); 1280 (s); 1207 (m); 1137 (vs); 847 (m); 734 (m).

5.6 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-3-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-6-[(1'*R*)-hydroxy-ethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4d)

In einem 25 ml Schlenkkolben mit aufgesetztem Übergangsstück mit Hahn und Olive werden 54 mg (0.11 mmol, 489.5 g/mol) **3d** in 2.5 ml THF und 1.1 ml (1 Äqu, 0.11 mmol, 84.0 g/mol) 0.1 N KHCO₃-Lösung vorgelegt und 56 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) zugegeben. Die Hydrierung erfolgt bei einer Ölbadtemperatur von 30°C. Nach 3 h wird die Reaktionsmischung in ein Zentrifugenglas überführt und 10 min mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die überstehende gelbliche Lösung wird abpipettiert und bei 0°C gelagert. Den Niederschlag wäscht man mit 4 ml eines THF/H₂O-Gemisches 2.5:1, zentrifugiert und pipettiert die überstehende Lösung wiederum ab. Dieser Vorgang wird nochmals wiederholt. Die vereinigten THF/H₂O-Phasen werden am Rotationsverdampfer auf ca. 3 ml eingeeengt und zweimal mit je 2 ml EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 3.5 ml eingeeengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -25°C und 4-mbar lyophilisiert.

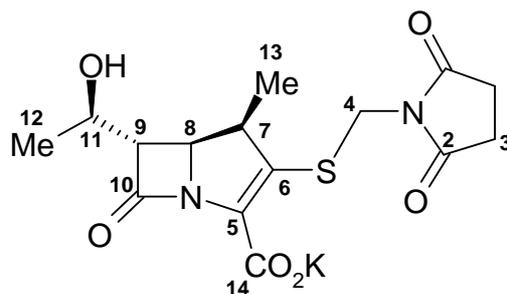
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 88% Produkt.

Ausbeute

$m = 27 \text{ mg} \rightarrow 23.8 \text{ mg reines Produkt } (M = 376.4 \text{ g/mol}; n = 63 \text{ } \mu\text{mol}) = 57\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 294 \text{ nm } (\epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.06 (d, 3 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.4$ Hz, H13); 1.16 (d, 3 H, $J_{\text{H}11/12} = 6.3$ Hz, H12); 2.66 (s, 4 H, H3); 3.35 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.8$ Hz, $J_{\text{H}9/11} = 6.2$ Hz, H9); 3.53 (dq, 1 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.4$ Hz, $J_{\text{H}7/8} = 9.6$ Hz, H7); 4.06 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.8$ Hz, $J_{\text{H}7/8} = 9.6$ Hz, H8); 4.11 (dq, $J_{\text{H}9/11} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}11/12} = 6.3$ Hz, H11); 4.41 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 14.1$ Hz, H4); 4.8 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 14.1$ Hz, H4).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3343 (b, OH); 2968 (m, C-H aliph.); 1748 (s, C(10)=O); 1699 (vs, C(2)=O); 1596 (s, C(14)=O); 1386 (s); 1284 (m); 1154 (m).

6 Synthese des (2-Oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4e

6.1 3-Hydroxymethyl-oxazolidin-2-on (6e)

870 mg (10 mmol, 87.1 g/mol) Oxazolidin-2-on und 826 μl (1.1 Äqu, 11 mmol, 30.0 g/mol, $d = 1.08 \text{ g/ml}$) 35%ige Formaldehydlösung werden in einem 25 ml Rundkolben vorgelegt und 30 μl (30 μmol) 1 N Natronlauge zugegeben. Man lässt die Reaktionsmischung 26 h bei RT rühren und dampft die Lösung anschließend am HV ein. Der wachsartige Rückstand wird unter leichtem Erwärmen in 15 ml EE gelöst und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abziehen des EE am Rotationsverdampfer und anschließendem Trocknen am HV erhält man das Rohprodukt (1.1 g) als weißen Feststoff. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisation aus 15 ml Essigsäure-*n*-butylester.

Ausbeute

$m = 948 \text{ mg}$ ($M = 117.1 \text{ g/mol}$; $n = 8.1 \text{ mmol}$) = 81%

Schmelzpunkt

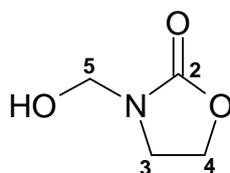
53.7°C - 54.8°C

Massenspektrum (DEI)

m/z [%] = 87 ($[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$, 100).

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	41.03	6.03	11.96
gefunden	40.98	5.83	11.90

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 3.79 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.0$ Hz, H3); 3.91 (t, 1 H, $J_{\text{H5/OH}} = 7.6$ Hz; OH); 4.39 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.0$ Hz, H4); 4.83 (d, 2 H, $J_{\text{H5/OH}} = 7.6$ Hz, H5).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 43.2 (C3); 62.6 (C4); 68.6 (C5); 158.9 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3352 (b, OH); 2945, 2910 (w, C-H aliph.); 1712 (s, C(2)=O); 1485, 1462 (m); 1431 (s); 1400 (m); 1242 (s, C-O); 1110 (m); 1030 (vs); 962 (m) 760 (s).

6.2 3-Chlormethyl-oxazolidin-2-on (7e)

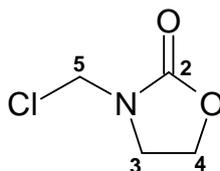
In einem 10 ml Schlenk Kolben mit angeschlossenem Gasblasenzähler werden 350 mg (3 mmol, 117.1 g/mol) 3-Hydroxymethyl-oxazolidin-2-on **6e** in 1.5 ml CH_2Cl_2 vorgelegt. Man kühlt die Lösung mit einem MeOH/Eisbad auf -15°C und gibt langsam 300 μl (1.2 Äqu, 3.6 mmol, 126.9 g/mol, $d = 1.48$ g/ml) Oxalylchlorid zu (starke Gasentwicklung). Nach vollständiger Zugabe lässt man die Reaktionsmischung 30 min bei ca. -10°C rühren, zieht anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab und trocknet die ölige hellgelbe Flüssigkeit am HV.

Ausbeute

$m = 394$ mg ($M = 135.6$ g/mol; $n = 2.9$ mmol) = 97%

Massenspektrum (FAB)

m/z [%] = 135 ($[\text{M}]^+$, 28); 100 ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 100).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 3.67 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.1$ Hz, H3); 4.41 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.1$ Hz, H4); 5.19 (s, 2 H, H5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 42.8 (C3); 56.4 (C4); 62.4 (C5); 157.5 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2990, 2933, 2825, (w, C-H aliph.); 1739 (vs, C(2)=O); 1426 (m); 1249 (s, C-O); 1077 (s); 1038 (vs); 966 (m); 911 (m); 764 (m); 697 (m); 670 (m).

6.3 Thioessigsäure-S-(2-oxo-oxazolidin-3-ylmethyl)-ester (8e)

2.71 g (20 mmol, 135.6 g/mol) 3-Chlormethyl-oxazolidin-2-on **7e** werden in einem 50 ml Schlenkcolben in 10 ml tr. CH_2Cl_2 und 10 ml tr. Ether unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Zu der Lösung gibt man 2.51 g (1.1 Äqu, 22 mmol, 114.2 g/mol) tr. frisch gemörsertes Kaliumthioacetat und 500 mg (0.2 Äqu, 3.6 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 und lässt die beige Suspension 22 h bei RT rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 50 ml EE verdünnt und mit 30 ml dest. H_2O und 30 ml 5%iger NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das braun-rote Öl am HV getrocknet. Das Rohprodukt (2.45 g) wird mittels Säulenchromatographie an 60 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 4:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 60 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 5 bis 10 als braunes Öl.

Ausbeute

$m = 2.14$ g ($M = 175.2$ g/mol; $n = 12$ mmol) = 60%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.42$ (Toluol/EE 1:1); I_2 /UV-aktiv

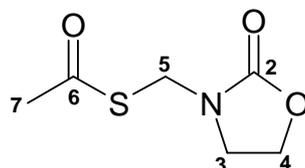
Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 176 ($[M+H]^+$, 38); 351 ($[2M+H]^+$, 100).

Hochauflösung $[M+H]^+$: berechnet: 176.0382
 gefunden: 176.0381

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	41.13	5.18	7.99	18.30
gefunden	41.19	5.30	8.15	18.31

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.35 (s, 3 H, H7); 3.50 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 7.9$ Hz, H3); 4.25 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 7.9$ Hz, H4);
 4.75 (s, 2 H, H5).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 30.4 (C7); 43.9, 44.0 (C3/C5 ohne Zuordnung); 62.4 (C4); 158.0 (C2); 195.5 (C6).

IR-Spektrum (CH_2Cl_2)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2995, 2921 (w, C-H aliph.); 1747 (vs, C(2)=O); 1690 (vs, C(6)=O); 1481 (m);
 1421 (s); 1253 (s); 1127 (s); 1080 (s); 1030 (s); 955 (s); 761 (m); 692 (m); 618 (s).

6.4 3-Mercaptomethyl-oxazolidin-2-on (2e)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 175 mg (1 mmol, 175.2 g/mol) **8e** in 2.4 ml (3 Äqu) 1.25 N methanolischer HCl-Lösung gelöst und 22 h bei RT gerührt. Die Lösung wird auf 0°C gekühlt und mit 2 N methanolischer NaOMe-Lösung auf pH 7 eingestellt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der verbleibende Rückstand am HV getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes (131 mg) erfolgt säulenchromatographisch an 3 g Kieselgel (40 – 60 µm). Es wird ein Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 3:1 verwendet. Bei einer Fraktionsgröße von 3 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 5 bis 15 als farblose übel riechende Flüssigkeit. Das Produkt wird zur Aufbewahrung in tr. CHCl₃ gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 85 \text{ mg}$ ($M = 133.2 \text{ g/mol}$; $n = 0.64 \text{ mmol}$) = 64%

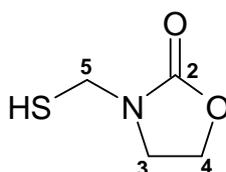
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.36$ (Toluol/EE 1:1); Substanz schmiert; schwach I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 133 ([M]⁺, 10); 101 ([M-SH]⁺, 20).

Hochauflösung [M] ⁺ :	berechnet:	133.0197
	gefunden:	133.0191



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.14 (t, 1 H, $J_{\text{H5/SH}} = 8.9 \text{ Hz}$, SH); 3.65 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.0 \text{ Hz}$, H3); 4.38 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 8.0 \text{ Hz}$, H4); 4.40 (d, 2 H, $J_{\text{H5/SH}} = 8,9 \text{ Hz}$, H5).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 40.8 (C3); 41.2 (C5); 62.6 (C4); 157.5 (C2).

6.5 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (**3e**)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 180 mg (0.3 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 10 ml Schlenkkolben in 2 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 50 mg (1.2 Äqu, 0.36 mmol, 133.2 g/mol) **2e**, gelöst in 0.7 ml CDCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 20 min 57 µl (1.1 Äqu, 0.33 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 22 h bei 0°C wird die gelbe Lösung mit 40 ml EE verdünnt und nacheinander mit 35 ml 1 N Salzsäure, 35 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 3 mal je 35 ml dest. H₂O und 10 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 193 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 5 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 5 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 6 bis 18 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 103 \text{ mg}$ ($M = 477.5 \text{ g/mol}$; $n = 0.22 \text{ mmol}$) = 72%

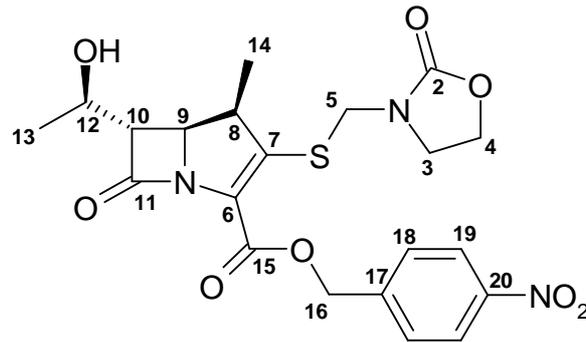
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.21$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 478 ([M+H]⁺, 100).

Hochauflösung [M+H] ⁺ :	berechnet:	478.1284
	gefunden:	478.1273



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.25 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, H14); 1.33 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.2$ Hz, H13); 3.29 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/12} = 6.4$ Hz, $J_{\text{H}9/10} = 2.9$ Hz; H10); 3.51 (m, 1 H, H3); 3.82 (m, 1 H, H3); 3.86 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.4$ Hz, H8); 4.23 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.4$ Hz, H5); 4.23 (dq, 1 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.4$ Hz, H12); 4.25 (dd, 1 H, $J_{9/10} = 2.9$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.4$ Hz, H9); 4.34 (m, 2 H, H4); 5.08 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.4$ Hz, H5); 5.21 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 13.7$ Hz, H16); 5.48 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 13.7$ Hz, H16); 7.64 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.5$ Hz, H18); 8.20 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.5$ Hz; H19).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.0 (C14); 21.9 (C13); 43.2, 43.3 (C3/C8 ohne Zuordnung); 46.8 (C5); 56.2 (C12); 60.3 (C10); 62.3 (C4); 65.6 (C16); 66.0 (C9); 123.9 (C19); 127.2 (C6); 128.4 (C18); 143.0 (C20); 147.9 (C7/C17 ohne Zuordnung); 157.5 (C2); 160.4 (C15); 173.2 (C11).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3442 (b, O-H); 3115, 3080 (Ar-H); 2971, 2932 (C-H aliph.); 1744 (vs, C(2)=O/C(11)=O); 1695 (s, C(15)=O); 1519 (s, NO_2); 1426 (m); 1343 (s, NO_2); 1250 (s); 1204 (s); 1178 (s); 1133 (s); 1108 (m); 1075 (m); 1032 (m); 850 (w); 737 (w); 692 (w).

6.6 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-oxazolidin-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4e)

In einer Hydrierapparatur werden 81 mg (0.17 mmol, 477.5 g/mol) Ester **3e** in 4 ml EE vorgelegt. Nach Zugabe von 18.5 mg (1.1 Äqu, 0.18 mmol, 100.1 g/mol) KHCO₃ in 2 ml dest. H₂O und 74 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) wird 4 h bei RT hydriert. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch zentrifugiert und anschließend die überstehende EE-Phase abpipettiert. Zum Entfernen des Katalysators wird die Suspension über 0.6 g Aktivkohle in einem Glasfiltertiegel (G4) filtriert und der verbleibende Filtrückstand mit etwas dest. H₂O gewaschen. Die Lösung wird in einem graduierten Reagenzglas zweimal mit je 2 ml EE gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 5 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -25°C und 3·mbar lyophilisiert.

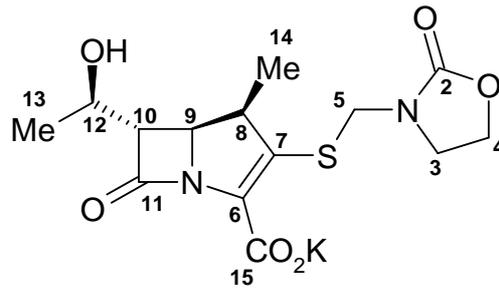
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 90% Produkt.

Ausbeute

$m = 31.5 \text{ mg} \rightarrow 28.4 \text{ mg reines Produkt } (M = 380.5 \text{ g/mol}; n = 75 \text{ } \mu\text{mol}) = 44\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 290 \text{ nm } (\epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.15 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.1$ Hz, H14); 1.23 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz, H13); 3.42 (dd, 1 H, $J_{\text{H}10/12} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, H10); 3.47 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.1$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.4$ Hz, H8); 3.60 (m, 1 H, H3); 3.80 (m, 1 H, H3); 4.13 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.4$ Hz, H9); 4.18 (dq, 1 H, $J_{\text{H}10/12} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}12/13} = 6.4$ Hz, H12); 4.26 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.3$ Hz, H5); 4.37 (m, 2 H, H4); 4.87 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.3$ Hz, H5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3333 (b, OH); 2968 (w, C-H aliph.); 1742 (vs, C(2)=O/C(11)=O); 1595 (s, C(15)=O); 1384 (s); 1251 (s); 1179 (m); 1144 (m); 1073 (m); 1030 (m); 762 (m).

7 Synthese des (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4f

7.1 3H-[1,3,4]Oxadiazol-2-on (5f)⁵⁶

In einem 500 ml Dreihalsrundkolben, mit KPG-Rührer, Thermometer mit Quickfit, Tropftrichter mit Druckausgleich und aufgesetztem Gasblasenzähler, werden 12.1 g (0.2 mol, 60.06 g/mol) Formylhydrazin in 15 ml THF und eine Lösung von 42 g (1.5 Äqu, 0.3 mol, 138.2 g/mol) wasserfreiem K₂CO₃ in 80 ml dest. H₂O vorgelegt. Unter kräftigem Rühren werden innerhalb von 2 h 126 ml (1.2 Äqu, 0.24 mmol, 98.9 g/mol, d = 0.94 g/ml) 20%ige Phosgen-Lösung in Toluol zugetropft (nach Zugabe von ca. 20 ml beginnt eine heftige Gasentwicklung). Es wird darauf geachtet, dass die Innentemperatur zwischen 5°C und 10°C liegt. Das Reaktionsgemisch wird nach der Zugabe 15 min weitergerührt (Gasentwicklung beendet) und anschließend in einen 500 ml Scheidetrichter überführt und mit 40 ml dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt und aufbewahrt. Die wässrige Phase wird 20 h in einem Flüssigextraktor mit EE extrahiert. Anschließend vereinigt man die organischen Phasen und trocknet über MgSO₄. Nach Abziehen des Lösungsmittels und Trocknen am HV erhält das Produkt in Form weißer Kristalle.

Ausbeute

$m = 10.2 \text{ g}$ ($M = 86.05 \text{ g/mol}$; $n = 0.12 \text{ mol}$) = 60%

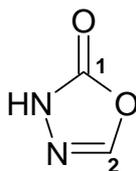
Schmelzpunkt

115.6°C – 117.0°C (Lit: 118 - 120°C)

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 86 ([M]⁺, 100).

Hochauflösung [M+H] ⁺ :	berechnet:	86.0116
	gefunden:	86.0113



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{DMSO-}d_6$)

δ [ppm] = 7.55 (s, 1 H, H2); 11.9 (br, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{DMSO-}d_6$)

δ [ppm] = 145.0 (C2); 154.9 (C1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3302, 3246 (s, N-H); 2919 (m, C-H aliph.); 1744 (vs, C=O); 1581 (s); 1331 (m); 1200 (s); 1112 (s); 1033 (s); 950 (m); 892 (s); 877 (s).

7.2 3-Hydroxymethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (6f)

1.72 g (20 mmol, 86.05 g/mol) 3H-[1,3,4]Oxadiazol-2-on (**5f**), 1.75 ml (1.1 Äqu, 22 mmol, 30.0 g/mol, $d=1.08$ g/ml) 30%ige wässrige Formaldehydlösung und 60 μl (60 μmol) 1.0 M Natronlauge werden in einem 25 ml Rundkolben 2 h bei 40°C erhitzt (nach ca. 15 min entsteht eine klare Lösung). Die Lösung wird am Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur von 55°C und 40 mbar eingedampft und der Rückstand am HV getrocknet. Das erhaltene Öl löst man in 20 ml EE (es scheidet sich wenig Feststoff ab) und trocknet über MgSO_4 . Nach Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem Trocknen am HV erhält man ein farbloses viskoses Öl.

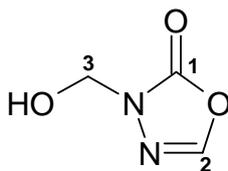
Ausbeute

$m = 2.11$ g ($M = 116.1$ g/mol; $n = 18$ mmol) = 83%

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 116 ($[\text{M}]^+$, 10); 86 ($[\text{M-CH}_2\text{OH}]^+$, 80).

Hochauflösung $[\text{M}+\text{H}]^+$:	berechnet:	116.0222
	gefunden:	116.0208



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{DMSO-}d_6$)

δ [ppm] = 4.94 (s, 2 H, H3); 5.92 (br, 1 H, OH); 7.57 (s, 1 H, H2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{DMSO-}d_6$)

δ [ppm] = 68.7 (C3); 144.4 (C2); 153.1 (C1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3405 (b, OH); 2962, 2924 (w, C-H aliph.); 1752 (vs, C=O); 1578 (m); 1367 (s, O-H); 1051 (s); 1012 (vs); 745 (m); 702 (s).

7.3 3-Chlormethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (7f)

In einem 50 ml Schlenkcolben mit Septum und angeschlossenen Gasblasenzähler werden 2.32 g (20 mmol, 116.1 g/mol) **6f** in 10 ml tr. CH_2Cl_2 vorgelegt und mit einem MeOH/Eisbad auf -12°C gekühlt (löst sich nicht alles). Innerhalb von 10 min tropft man mit einer Spritze 2.0 ml (1.2 Äqu, 24 mmol, 126.9 g/mol, $d = 1.5$ g/ml) Oxalylchlorid zu (starke Gasentwicklung). Man lässt die Reaktionsmischung auftauen und rührt 23 h bei RT (am Ende der Rührzeit nur noch sehr schwache Gasentwicklung). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das leicht gelbliche Öl am HV getrocknet. Zur Reinigung wird das Rohprodukt am HV (2.5 mbar) bei einer Ölbadtemperatur von 100°C destilliert. Man erhält das Produkt in Form eines leicht gelblichen, viskosen Öls.

Ausbeute

$m = 1.81$ g ($M = 134.5$ g/mol; $n = 13.5$ mmol) = 68%

Siedepunkt

85°C bei 2.5-mbar

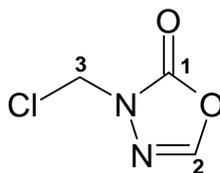
Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 134 ($[M]^+$, 26); 99 ($[M-Cl]^+$, 100).

Hochauflösung $[M]^+$: berechnet: 133.9883
 gefunden: 133.9891

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	26.79	2.25	20.82
gefunden	26.84	2.31	20.75

 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 5.53 (s, 2 H, H3); 7.57 (s, 1 H, H2).

 ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 61.8 (C3); 143.9 (C2); 140.1 (C1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2953 (w, C-H aliph.); 1713 (vs, C=O); 1533 (s); 1349 (s); 1254 (s); 1213 (s); 1174 (s); 1017 (s); 782 (vs, C-Cl); 645 (s).

7.4 Thioessigsäure-S-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-ylmethyl)-ester (8f)

2.71 g (20 mmol, 135.6 g/mol) 3-Chlormethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on **7f** werden in einem 50 ml Schlenkkolben in 10 ml tr. CH₂Cl₂ und 10 ml tr. Ether unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Zu der Lösung gibt man 2.51 g (1.1 Äqu, 22 mmol, 114.2 g/mol) tr. frisch gemörsertes Kaliumthioacetat und 500 mg (0.2 Äqu, 3.6 mmol, 138.2 g/mol) K₂CO₃ und lässt die beige Suspension 22 h bei RT rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 50 ml EE verdünnt und nacheinander mit 30 ml dest. H₂O und 30 ml 5%iger NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das braun-rote Öl am HV getrocknet. Das Rohprodukt (2.45 g) wird mittels Säulenchromatographie an 60 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 4:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 60 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 5 bis 10 als braunes Öl.

Ausbeute

$m = 1.41 \text{ g}$ ($M = 174.2 \text{ g/mol}$; $n = 8.1 \text{ mmol}$) = 60%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.44$ (Toluol/EE 1:1); I₂/UV-aktiv

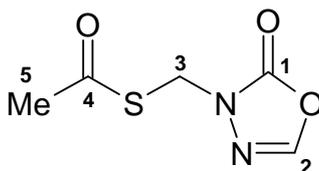
Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 174 ([M]⁺, 10).

Hochauflösung [M] ⁺ :	berechnet:	174.0099
	gefunden:	174.0103

Elementaranalyse:

	C	H	N	S
berechnet	34.48	3.42	16.08	18.41
gefunden	34.57	3.49	16.14	18.27



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.44 (s, 3 H, H5); 5.26 (s, 2 H, H3); 7.56 (s, 1 H, H2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 31.0 (C5); 44.1 (C3); 144.4 (C2); 152.3 (C1); 192.5 (C4).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2965 (w, C-H aliph.); 1727 (vs, C(1)=O); 1594 (s, C(4)=O); 1389 (s); 1265 (s); 1049 (m); 1025 (s); 1006 (m); 774 (m); 667 (m).

7.5 3-Mercaptomethyl-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (2f)

100 mg (0.57 mmol, 174.2 g/mol) **8f** werden in einem 2 ml Schlenkrohr unter Stickstoffatmosphäre mit 1.4 ml (3 Äqu, 1.72 mmol) 1.25 M HCl in Methanol versetzt und bei RT gerührt. Nach 18 h stellt man die Lösung mit 2 N methanolischer NaOMe-Lösung (ca. 1 ml) auf pH 5 ein. Die Suspension wird am Rotationsverdampfer eingedampft und am HV getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mittels Säulenchromatographie an 3.5 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 9:1. Bei einer Fraktionsgröße von 3.5 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 3 bis 8 als farbloses Öl. Zur Aufbewahrung wird das Thiol in tr. CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 54 \text{ mg}$ ($M = 132.14 \text{ g/mol}$; $n = 0.41 \text{ mmol}$) = 72%

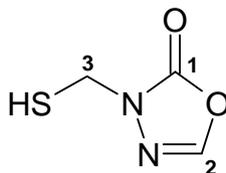
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.5$ (Toluol/EE 1:1); Substanz schmiert; I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 132 ($[M]^+$, 100).

Hochauflösung $[M]^+$: berechnet: 131.9994
 gefunden: 131.9990

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.56 (t, 1 H, $J_{\text{H}_3/\text{SH}} = 9.2$ Hz; SH); 4.86 (d, 2 H, $J_{\text{H}_3/\text{SH}} = 9.2$ Hz, H3); 7.61 (s, 1 H, H2).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 41.0 (C3); 143.9 (C2); 152.0 (C1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3164, 3104 (m, =C-H); 2921 (w, C-H aliph.); 2559 (m); 1756 (vs, C=O); 1574 (s); 1372 (s); 1289 (s); 1264 (s); 1162 (s); 1094 (s); 1014 (s); 976 (s); 783 (m); 738 (vs); 710 (s); 667 (m); 618 (s).

7.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3f)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 179.0 mg (0.3 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 10 ml Schlenkkolben in 3.0 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 52 mg (1.2 Äqu, 0.36 mmol, 132.1 g/mol) **2f**, gelöst in 1.4 ml CDCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C, gibt über einen Zeitraum von 20 min 62 µl (1.2 Äqu, 0.36 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu und rührt die Lösung anschließend bei 0°C. Nach 18 h wird die gelbe Lösung mit 40 ml EE verdünnt und nacheinander mit 30 ml 1 N Salzsäure, 30 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 3 mal je 30 ml dest. H₂O und 10 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man einen gelben Schaum (157 mg). Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 5 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 1:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 2 ml (Frkt. 1 - 12), ab Frkt. 13 4 ml, erhält man das Produkt aus den Fraktionen 13 bis 26 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 95 \text{ mg}$ ($M = 476.5 \text{ g/mol}$; $n = 0.2 \text{ mmol}$) = 67%

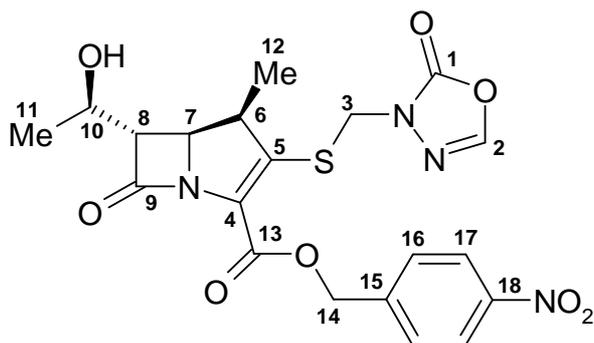
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.4$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 477 ([M+H]⁺, 100).

Hochauflösung [M+H] ⁺ :	berechnet:	477.1080
	gefunden:	477.1061



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.27 (d, 3 H, $J_{\text{H}6/12} = 7.2$ Hz, H12); 1.37 (d, 3 H, $J_{\text{H}10/11} = 6.1$ Hz, H11); 3.32 (dd, 1 H, $J_{\text{H}7/8} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}8/10} = 6.6$ Hz, H8); 3.86 (dq, 1 H, $J_{\text{H}6/12} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H}6/7} = 9.5$ Hz; H6); 4.27 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/10} = 6.6$ Hz, $J_{\text{H}10/11} = 6.1$ Hz, H10); 4.31 (dd, 1 H, $J_{\text{H}7/8} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}6/7} = 9.5$ Hz, H7); 4.93 (d, 1 H, $J_{\text{H}3/3} = 14.8$ Hz, H3); 5.18 (d, 1 H, $J_{\text{H}3/3} = 14.8$ Hz, H3); 5.23 (d, 1 H, $J_{\text{H}14/14} = 14.0$ Hz, H14); 5.50 (d, 1 H, $J_{\text{H}14/14} = 14.0$ Hz, H14); 7.57 (s, 1 H, H2); 7.64 (d, 2 H, $J_{\text{H}16/17} = 8.0$ Hz; H16); 8.22 (d, 2 H, $J_{\text{H}16/17} = 8.0$ Hz, H17).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 16.8 (C12); 22.1 (C11); 43.5 (C6); 46.7 (C3); 56.2 (C10); 60.4 (C8); 65.8, 66.0 (C7/C14 ohne Zuordnung); 124.0 (C17); 127.3 (C4); 128.5 (C16); 142.8 (C15); 144.4 (C2); 146.1 (C18); 147.9 (C5); 152.2 (C1); 160.2 (C13); 173.0 (C9).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3058 (b, O-H); 2808 (m, C-H aliph.); 1770 (vs, C(1)=O/C(9)=O) 1710 (s, C(13)=O); 1518 (s, NO_2); 1348 (s, NO_2); 1205 (s); 1135 (s); 1014 (s).

7.7 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4f)

In einer Hydrierapparatur werden 94 mg (0.20 mmol, 476.5 g/mol) Ester **3f** in 4 ml EE vorgelegt. Nach Zugabe von 21 mg (1.1 Äqu, 0.21 mmol, 100.1 g/mol) KHCO₃ in 2 ml dest. H₂O und 100 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) wird bei RT hydriert. Nach 2 h werden nochmals 60 mg Pd/Aktivkohle zugegeben und die Reaktionsmischung bei RT weitere 2 h hydriert. Zur Aufarbeitung wird die Suspension über 0.8 g Aktivkohle in einem Glasfiltertiegel filtriert und der verbleibende Filtrückstand mit wenig dest. H₂O gewaschen. Die Lösung wird in ein graduiertes Reagenzglas überführt und die EE-Phase abpipettiert. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 2 ml EE gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 4 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgt mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -25°C und 4 mbar lyophilisiert.

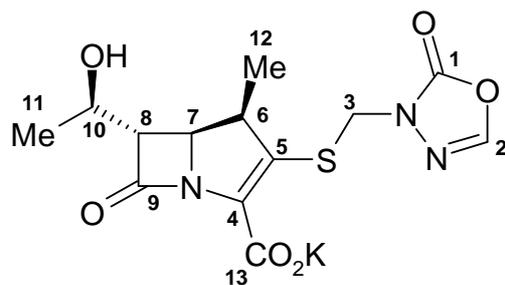
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 88% Produkt.

Ausbeute

$m = 36 \text{ mg} \rightarrow 31.7 \text{ mg} (M = 379.4 \text{ g/mol}; n = 84 \text{ } \mu\text{mol}) = 42\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 292 \text{ nm} (\epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.14 (d, 3 H, $J_{\text{H}6/12} = 7.3$ Hz, H12); 1.24 (d, 3 H, $J_{\text{H}10/11} = 6.5$ Hz, H11); 3.43 (dd, 1 H, $J_{\text{H}7/8} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}8,10} = 6.2$ Hz, H8); 3.57 (dq, 1 H, $J_{\text{H}6/12} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H}6/7} = 9.1$ Hz, H6); 4.17 (dd, 1 H, $J_{\text{H}7/8} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}6/7} = 9.1$ Hz, H7); 4.19 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/10} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}10/11} = 6.5$ Hz, H10); 4.88 (d, 1 H, $J_{\text{H}3/3} = 14.8$ Hz, H3); 5.20 (d, 1 H, $J_{\text{H}3/3} = 14.8$ Hz, H3); 8.0 (s, 1 H, H2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3342 (b, OH); 2968 (m, C-H aliph.); 1753 (vs, C(1)=O/C(9)=O); 1598 (s, C(13)=O); 1391 (s); 1262 (m); 1155 (m); 1080 (m); 1014 (w); 741 (w).

8 Synthese des (2-Oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenems 4g

8.1 1-Hydroxymethylazetidin-2-on (6g)

In einem 2 ml Schlenkrohr werden 612 mg (8.6 mmol, 71 g/mol) Azetidin-2-on vorgelegt und 22 mg (0.2 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 und 770 μ l (1.1 Äqu, 9.5 mmol, 30.03 g/mol, $d = 1.09$ g/ml) 37%ige wässrige Formaldehydlösung zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 25 min bei RT gerührt und anschließend am Rotationsverdampfer eingedampft und am HV getrocknet. Das farblose Öl wird in 10 ml CH_2Cl_2 gelöst und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt (1.2 g) mittels Säulenchromatographie an 50 g Kieselgel (40 – 60 μ m) mit einem Lösungsmittelgemisch EE/ CH_2Cl_2 2:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 50 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 7 bis 13 als farblose Flüssigkeit.

Ausbeute

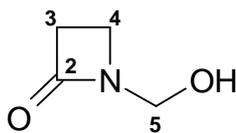
$m = 623$ mg ($M = 101.1$ g/mol; $n = 6.2$ mmol) = 72%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.22$ (EE/ CH_2Cl_2 2:1); I_2 -aktiv

Elementaranalyse

	C	H	N
berechnet	47.52	6.98	13.85
gefunden	47.38	7.09	13.98

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.96 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 4.0$ Hz, H3); 3.42 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 4.0$ Hz, H4); 4.38 (br, 1 H, OH); 4.66 (s, 2H, H5).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 37.1 (C3); 38.2 (C4); 65.1 (C5); 168.6 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3363 (b, OH); 2964, 2910 (w, C-H aliph.); 1715 (vs, C=O); 1338 (s); 1294 (m); 1242 (s); 1016 (vs).

8.2 1-Chlormethylazetidin-2-on (7g)

180 mg (1.8 mmol, 101.1 g/mol) **6g** werden in einem 2 ml Schlenkrohr, mit Septum und angeschlossenem Gasblasenzähler, in 0.9 ml tr. CH_2Cl_2 gelöst. Man kühlt die klare farblose Lösung mit einem MeOH/Eisbad auf ca. -15°C und gibt innerhalb von 20 min tropfenweise 180 μl (1.2 Äqu, 2.1 mmol, 126.9 g/mol, $d = 1.5$ g/ml) Oxalylchlorid zu (starke Gasentwicklung). Nun lässt man die Reaktionsmischung 10 min bei -15°C rühren und zieht anschließend das Lösungsmittel und überschüssige Oxalylchlorid am Rotationsverdampfer ab. Zu der farblosen Lösung gibt man 2 ml CHCl_3 und filtriert den entstandenen Niederschlag ab. Die Lösung wird am Rotationsverdampfer eingedampft und anschließend am HV kurz getrocknet. Man erhält das Produkt in Form eines farblosen Öls.

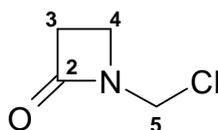
Ausbeute

$m = 206$ mg ($M = 119.5$ g/mol; $n = 1.7$ mmol) = 96%

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 119 ($[\text{M}]^+$, 8); 83 ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 100).

Hochauflösung $[\text{M}]^+$:	berechnet:	119.01379
	gefunden:	119.01362

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 3.04 (t, 2 H, $J_{\text{H}3/4} = 4.7$ Hz, H3); 3.44 (t, 2 H, $J_{\text{H}3/4} = 4.7$ Hz, H4); 5.07 (s, 2H, H5).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 37.3 (C3); 45.3 (C4); 46.8 (C5); 168.4 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2973 (w, C-H aliph.); 1753 (vs, C(2)=O); 1379 (s); 1271 (s); 1107 (m); 898 (m).

8.3 Thioessigsäure-S-(2-oxo-azetidin-1-ylmethyl)-ester (8g)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 200 mg (1.7 mmol, 119.5 g/mol) **7g** in 2 ml EE unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Zu dieser Lösung gibt man 213 mg (1.1 Äqu, 1.9 mmol, 114.2 g/mol) tr. frisch gemörsertes Kaliumthioacetat und 63 mg (0.3 Äqu, 0.45 mmol, 138.2 g/mol) K_2CO_3 und lässt die beige Suspension 22 h bei RT rühren. Die entstandene rote Lösung mit weiß-beigen Niederschlag wird mit 25 ml EE verdünnt und zweimal mit je 2 ml dest. H_2O gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 , zieht man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab und trocknet das dunkelrote Öl am HV (164 mg). Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt säulenchromatographisch an 6 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch T/EE 9:1, ab Fraktion 13 T/EE 4:1. Bei einer Fraktionsgröße von 6 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 19 bis 31 als orange-rotes Öl.

Ausbeute

$m = 134$ mg ($M = 159.2$ g/mol; $n = 0.84$ mmol) = 50%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.40$ (EE); UV/ I_2 -aktiv

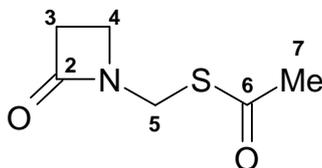
Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 160 ($[M+H]^+$, 6); 84 ($[M-SAc]^+$, 100);

Hochauflösung $[M+H]^+$: berechnet: 160.0432
 gefunden: 160.0422

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	45.27	5.70	8.80	20.14
gefunden	45.35	5.81	8.70	20.00

 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 2.36 (s, 3 H, H7); 2.88 (t, 2 H, $J_{H3/4} = 4.2$ Hz, H3); 3.24 (t, 2 H, $J_{H3/4} = 4.2$ Hz, H4);
 4.62 (s, 2H, H5).

 ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 30.9 (C7); 37.5 (C3); 39.5 (C4); 40.2 (C5); 167.5 (C2); 195.1 (C6).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2973 (w, C-H aliph.); 1741 (vs, C(2)=O); 1689 (C(6)=O); 1384 (s); 1267 (m); 1243 (m); 1128 (s); 954 (s); 684 (m).

8.4 Mercaptomethylazetidin-2-on (2g)

143 mg (1 mmol, 159.2 g/mol) Thioessigsäureester **8g** werden in 3 ml tr. CDCl_3 in einem 10 ml Schlenkcolben unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Man kühlt die leicht gelbliche Lösung auf 0°C , tropft langsam (innerhalb von 5 min) 91 μl Pyrrolidin zu und lässt die Lösung 1 h bei RT rühren. Die Lösung wird direkt an 15 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 15 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 bis 8 als farbloses übel riechendes Öl. Zur Das Thiol wird zur Aufbewahrung in tr. CHCl_3 gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 91 \text{ mg}$ ($M = 117.2 \text{ g/mol}$; $n = 0.78 \text{ mmol}$) = 78%

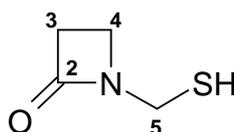
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.29$ (EE); Substanz schmiert; UV/ I_2 -aktiv

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 117 ($[\text{M}]^+$, 6); 84 ($[\text{M-SH}]^+$, 90).

Hochauflösung $[\text{M}]^+$:	berechnet:	117.0248
	gefunden:	117.0261



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.06 (t, 1 H, $J_{\text{H5/SH}} = 8.1 \text{ Hz}$, SH); 2.93 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 4.3 \text{ Hz}$, H3); 3.34 (t, 2 H, $J_{\text{H3/4}} = 4.3 \text{ Hz}$, H4); 4.30 (d, 2 H, $J_{\text{H5/SH}} = 8.1 \text{ Hz}$, H5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 36.7 (C4); 37.8 (C3); 39.1 (C5); 166.8 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2968, 2542 (w, C-H aliph); 1725 (vs, C(2)=O); 1386 (s); 1268 (s); 1240 (s); 1128 (s); 669 (m).

8.5 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (3g)

Unter Stickstoffatmosphäre werden 356 mg (0.6 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in einem 25 ml Schlenkkolben in 6.9 ml tr. DMF vorgelegt und zu der hellgelben Lösung 91 mg (1.3 Äqu, 0.78 mmol, 117.2 g/mol) **2g**, gelöst in 2.0 ml CDCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 15 min 104 µl (1.3 Äqu, 0.78 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 20 h bei 0°C wird die gelbe Lösung mit 75 ml EE verdünnt und nacheinander mit 50 ml 1 N Salzsäure, 50 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 4 mal je 40 ml dest. H₂O und 25 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 341 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 12 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 12 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 8 bis 20 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 215 \text{ mg}$ ($M = 461.5 \text{ g/mol}$; $n = 0.47 \text{ mmol}$) = 78%

Dünnschichtchromatographie

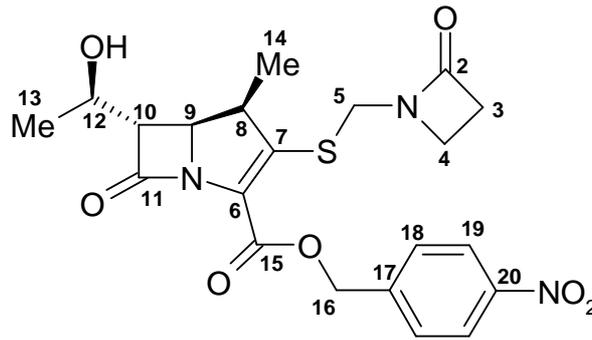
$R_f = 0.13$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 479 ([M+NH₄]⁺, 100.

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	54.66	5.02	9.11	6.95
gefunden	54.75	4.90	8.97	6.80



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.19 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, H14); 1.28 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 5.9$ Hz, H13); 2.88 (ddd, 1 H, $J_{\text{H}3/4\text{-cis}} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H}3/4\text{-trans}} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}3/3} = 14.9$ Hz, H3); 2.94 (ddd, 1 H, $J_{\text{H}3/4\text{-cis}} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H}3/4\text{-trans}} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}3/3} = 14.9$ Hz, H3); 2.91 (ddd, 2 H, H3); 3.20 (ddd, 1 H, $J_{\text{H}3/4\text{-cis}} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H}3/4\text{-trans}} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}4/4} = 5.7$ Hz, H4); 3.24 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.7$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.7$ Hz, H10); 3.38 (ddd, 1 H, $J_{\text{H}3/4\text{-cis}} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H}3/4\text{-trans}} = 5.7$ Hz, $J_{\text{H}4/4} = 5.7$ Hz, H4); 3.76 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 9.0$ Hz, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, H8); 4.06 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.6$ Hz, H5); 4.19 (dq, 1 H, $J_{\text{H}12/13} = 5.9$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.7$ Hz, H12); 4.20 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.7$ Hz, $J_{8/9} = 9.0$ Hz, H9); 4.86 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.6$ Hz, H5); 5.15 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 13.6$ Hz, H16); 5.44 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 13.6$ Hz, H16); 7.59 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.8$ Hz, H18); 8.15 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.8$ Hz, H19).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 17.1 (C14); 22.0 (C13); 37.3 (C3); 38.5 (C4); 43.1 (C5/C8 ohne Zuordnung); 56.4 (C12); 60.3 (C10); 65.6 (C16); 65.9 (C9); 124.0 (C19); 126.5 (C6); 128.4 (C18); 143.0 (C17); 147.8 (C7); 148.4 (C20); 160.4 (C15); 167.5 (C2); 173.3 (C11).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3355 (b, OH); 3112 (w, Ar-H); 2969 (w, C-H aliph.); 1739 (vs, C(2)=O/C(11)=O); 1705 (s, C(15)=O); 1519 (s, NO_2); 1342 (s, NO_2); 1275 (m); 1202 (s); 1132 (s); 1024 (s); 734 (m).

8.6 Natrium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(2-oxo-azetidin-1-yl-methylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (4g)

In einem 50 ml Schlenkkolben werden 175 mg (0.38 mmol, 461.5 g/mol) **3g** in 9 ml THF und 3.8 ml (1 Äqu, 0.1 mmol, 84.0 g/mol) 0.1 N NaHCO₃-Lösung vorgelegt und 176 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd; einfache Masse des Eduktes) zugegeben. Die Hydrierung erfolgt bei einer Ölbadtemperatur von 30°C. Nach 2.5 h werden nochmals 50 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd) zugegeben und die Reaktionsmischung weitere 60 min bei einer Ölbadtemperatur von 30°C hydriert. Die Reaktionsmischung wird in ein Zentrifugenglas überführt und 10 min mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die überstehende gelbliche Lösung wird abpipettiert und bei 0°C gelagert. Den Niederschlag wäscht man mit 6 ml eines THF/H₂O-Gemisches 2.5:1, zentrifugiert und pipettiert die überstehende Lösung wiederum ab. Dieser Vorgang wird nochmals wiederholt. Die vereinigten THF/H₂O-Phasen werden am Rotationsverdampfer auf ca. 6 ml eingengt und zweimal mit je 6 ml EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 8 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird in Ampullen abgefüllt und bei -25°C und 4 mbar lyophilisiert.

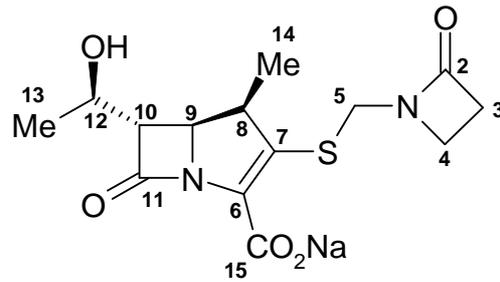
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 74% Produkt.

Ausbeute

$m = 80 \text{ mg} \rightarrow 59.2 \text{ mg} (M = 348.4 \text{ g/mol}; n = 0.17 \text{ mmol}) = 50\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 291 \text{ nm} (\epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.06 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, H14); 1.16 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.1$ Hz, H13); 2.84 (m, 2 H, H3); 3.23 (m, 1 H, H4); 3.34 (m, 2 H, H4/H10 ohne Zuordnung); 3.37 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.3$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.3$ Hz, H8); 4.06 (m, 2 H, H5/H9 ohne Zuordnung); 4.11 (m, 1 H, H12); 4.70 (d, 1 H, $J_{\text{H}5/5} = 14.8$ Hz, H5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3332 (b, OH); 2965 (m, C-H aliph.); 1731 (vs, C(2)=O/C(11)=O); 1600 (s, C(15)=O); 1394 (s); 1265 (m); 1182 (m); 1145 (m); 1067 (m); 877 (w); 814 (w); 775 (m); 667 (m); 808 (w).

9 Synthese des (Acetimidoylamin-methylsulfanyl)-Carbapenems 4j

9.1 Acetamidoxim (9)

In einem 500 ml Dreihalskolben, mit aufgesetztem Rückflusskühler und Tropftrichter, werden 34.1 g (0.49 mol, 69.5 g/mol) Hydroxylamin-Hydrochlorid in 160 ml tr. Methanol unter Rückfluss erhitzt. Über den Tropftrichter wird langsam eine frisch hergestellte Lösung von 11.5 g Natrium (1 Äqu, 0.5 mol, 23.0 g/mol) in 150 ml tr. Methanol zugegeben. Der entstandene Niederschlag (Natriumchlorid) wird abfiltriert und das Filtrat mit 26.0 ml (1 Äqu, 0.5 mol, 41.1 g/mol, $d = 0.78 \text{ g/ml}$) Acetonitril versetzt. Das Reaktionsgemisch lässt man 4 Tage bei 40 °C rühren. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der erhaltene weiße Feststoff am Hochvakuum getrocknet. Zur Reinigung wird das Rohproduktes (22.2 g) aus 1-Butanol (ca. 160 ml) umkristallisiert. Man erhält das Produkt in Form weißer Kristalle.

Ausbeute

$$m = 18.3 \text{ g} (M = 74.1 \text{ g/mol}; n = 0.25 \text{ mol}) = 50\%$$

Schmelzpunkt

$$136.5 - 137.5^\circ\text{C} (\text{Lit: } 133 - 134^\circ\text{C})^{80}$$

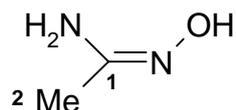
Massenspektrum (EI)

$$m/z [\%] = 74 ([M]^+, 84).$$

Hochauflösung $[M]^+$:	berechnet:	74.0480
	gefunden:	74.0481

Einkristall-Strukturanalyse:

Siehe S. 58



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6)

δ [ppm] = 1.57 (s, 3 H, H2); 5.30 (br, 2 H, NH₂); 8.63 (s, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6)

δ [ppm] = 17.3 (C2); 150.2 (C1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3486 (s, N-H); 3363 (s, N-H); 3066 (b, O-H); 2767 (s); 1649 (vs, C=N); 1583 (vs, NH₂); 1431 (m); 1394 (vs); 1364 (s); 890 (s); 803 (b); 617 (w).

9.2 3-Methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on-Natriumsalz (10)

In einem druckstabilen Glasreaktor werden 4.45 g (60 mmol, 74.1 g/mol) Acetamidoxim (**9**) in 12 ml tr. MeOH vorgelegt. Man gibt 7.9 ml (2 Äqu, 120 mmol, 90.1 g/mol, $d = 1.37$ g/ml) Dimethylcarbonat und 16.5 ml (1.1 Äqu, 66 mmol) einer 4 N frisch hergestellten methanolischen NaOMe-Lösung zu. Das Druckgefäß wird fest verschlossen und die Reaktionsmischung 5 Tage bei einer Ölbadtemperatur von 70°C gerührt. Man lässt die entstandene gelbe Lösung abkühlen und versetzt diese mit Ether um das Natriumsalz auszufällen. Der weiße Niederschlag wird über einen P3-Glasfiltertiegel abfiltriert, mit kaltem Ether gewaschen und am HV getrocknet. Man erhält das Produkt in Form eines weißen Feststoffes.

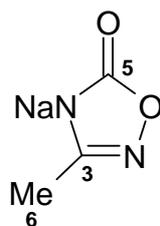
Ausbeute

$m = 2.1$ g ($M = 122.1$ g/mol; $n = 17.2$ mmol) = 28%

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 23 ([Na]⁺, 25); 99 ([M-Na]⁻, 18).

Hochauflösung [M-Na] ⁻ :	berechnet:	99.0195
	gefunden:	99.0204

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6)

δ [ppm] = 1.75 (s, 3 H, H6).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6)

δ [ppm] = 13.9 (C6); 167.1 (C3); 174.4 (C5).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3449 (s); 3264 (s); 1691 (s, C=O); 1638 (vs, C=N); 1559 (m); 1409 (s); 1357 (m); 1343 (s); 1243 (s); 1228 (m); 1069 (w); 1007 (w); 964 (w); 795 (s); 785 (s); 638 (vs).

9.3 Thioessigsäure-S-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-ylmethyl)ester (8j)

In einem 25 ml Zweihalsrundkolben, mit aufgesetztem Rückflusskühler werden 610 mg (5 mmol, 122.1 g/mol) **10** in 7.5 ml tr. Aceton unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und 625 μl (1.1 Äqu, 5.5 mmol, 215.9 g/mol, $d = 1.9$ g/ml) Thioessigsäure-S-iodmethylester (**13**) zugespritzt. Man gibt 150 mg (0.09 Äqu, 0.45 mmol, 322.4 g/mol) Tetrabutylammoniumbromid zu und lässt die Reaktionsmischung bei einer Ölbadtemperatur von 40 °C 18 h rühren. Nach Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie an 50 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 9:1 gereinigt. Bei einer Fraktionsgröße von 50 ml erhält man aus den Fraktionen 3 - 6 das Produkt in Form eines weißen Feststoffes.

Ausbeute

$m = 840$ mg ($M = 188.2$ g/mol; $n = 4.5$ mmol) = 89%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.58$ (EE); I_2 /UV-aktiv

Schmelzpunkt

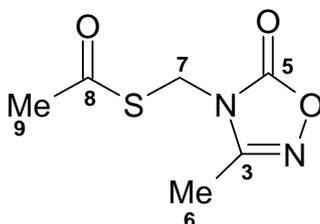
48.6 – 50.1°C

Massenspektrum (EI)m/z [%] = 188 ([M]⁺, 8).

Hochauflösung [M] ⁺ :	berechnet:	188.0256
	gefunden:	188.0248

Einkristall-Strukturanalyse:

Siehe S. 62

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)
 δ [ppm] = 2.34 (s, 3 H, H6); 2.40 (s, 3 H, H9); 4.98 (s, 2 H, H7).
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)
 δ [ppm] = 10.6 (C6); 30.7 (C9); 40.3 (C7); 155.9 (C5); 158.5 (C3); 193.6 (C8).
IR-Spektrum (ATR)
 $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3011, 2926 (w, C-H aliph.); 1766 (vs, C=N/C(5)=O); 1699 (vs, C(8)=O); 1603 (m); 1464 (s); 1426 (s); 1378 (m); 1356 (m); 1323 (m); 1283 (m); 1127 (s); 957 (m); 899 (m); 729 (vs).

9.4 4-Mercaptomethyl-3-methyl-4H-[1,2,4]oxadiazol-5-on (2j)

104 mg (0.55 mmol, 188.2 g/mol) **8j** werden in einem 10 ml Schlenkkolben in 2 ml tr. MeOH unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und mit 0.53 ml (1.1 Äqu, 0.66 mmol) 1.25 M methanolischer HCl-Lösung versetzt. Nach 22 h wird der pH-Wert der Reaktionslösung bei 0°C mit einer 2 N methanolischen NaOMe-Lösung auf 5 eingestellt (NaCl fällt aus) und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Das Rohprodukt wird zusammen mit dem ausgefallenen NaCl auf eine 3 g Kieselgelsäule aufgetragen und mit EE chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 1.5 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 – 8 als gelbes übel riechendes Öl. Zur Das Thiol wird zur Aufbewahrung in tr. CHCl₃ gelöst und bei -30°C gelagert.

Ausbeute

$m = 63 \text{ mg}$ ($M = 146.2 \text{ g/mol}$; $n = 0.43 \text{ mmol}$) = 78%

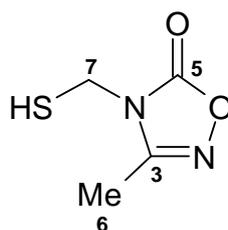
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.33$ (EE); Substanz schmiert; I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 146 ([M]⁺, 12).

Hochauflösung [M] ⁺ :	berechnet:	146.0150
	gefunden:	146.0144



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.38 (s, 3 H, H6); 2.62 (t, 1 H, $J_{H7/SH} = 9.0 \text{ Hz}$, SH); 4.64 (d, 2 H, $J_{H7/SH} = 9.0 \text{ Hz}$, H7).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 10.4 (C6); 36.9 (C7); 155.5 (C5); 158.1 (C3).

9.5 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-3-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-yl-methylsulfanyl)-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitro-benzylester (3j)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden unter Stickstoffatmosphäre 226 mg (0.38 mmol, 594.5 g/mol) Enolphosphat **1** in 3 ml tr. DMF vorgelegt und eine Lösung von 65 mg (1.2 Äqu, 0.46 mmol, 146.2 g/mol) **2j** in 2 ml tr. CHCl₃ zugespritzt. Man kühlt die Reaktionsmischung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 15 min 86 µl (1.2 Äqu, 0.46 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Nach 22 h bei 0°C wird die gelbe Lösung mit 50 ml EE verdünnt und nacheinander mit 30 ml 1 N Salzsäure, 30 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 4 mal je 30 ml dest. H₂O und 10 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 222 mg eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 10 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch EE/Hexan 2:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 10 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 10 bis 22 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 104 \text{ mg}$ ($M = 490.5 \text{ g/mol}$; $n = 0.21 \text{ mmol}$) = 56%

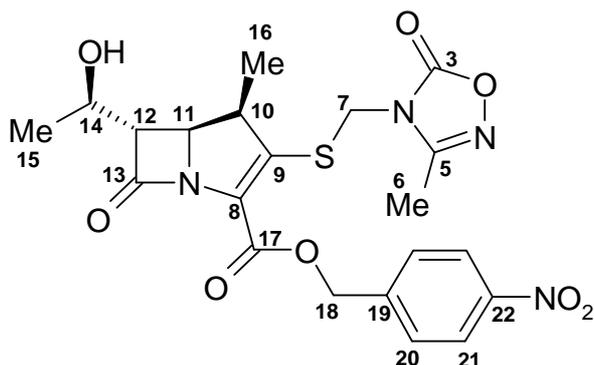
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.38$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 491 ([M+H]⁺, 100).

Hochauflösung [M+H] ⁺ :	berechnet:	491.1237
	gefunden:	491.1225



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.25 (d, 3 H, $J_{\text{H}10/16} = 7.7$ Hz, H16); 1.36 (d, 3 H, $J_{\text{H}14/15} = 6.0$ Hz, H15); 1.55 (s, 3 H, H6); 3.34 (dd, 1 H, $J_{\text{H}11/12} = 2.9$ Hz, $J_{\text{H}12/14} = 6.4$ Hz, H12); 3.87 (dq, 1 H, $J_{\text{H}10/16} = 7.7$ Hz, $J_{\text{H}10/11} = 9.6$ Hz, H10); 4.26 (dq, 1 H, $J_{\text{H}14/15} = 6.0$ Hz, $J_{\text{H}12/14} = 6.4$ Hz, H14); 4.31 (dd, 1 H, $J_{\text{H}11/12} = 2.9$ Hz, $J_{\text{H}10/11} = 9.6$ Hz, H11); 4.59 (d, 1 H, $J_{\text{H}7/7} = 15.1$ Hz, H7); 5.14 (d, 1 H, $J_{\text{H}7/7} = 15.1$ Hz, H7); 5.23 (d, 1 H, $J_{\text{H}18/18} = 13.6$ Hz, H18); 5.48 (d, 1 H, $J_{\text{H}18/18} = 13.6$ Hz, H18); 7.64 (d, 2 H, $J_{\text{H}20/21} = 8.7$ Hz, H20); 8.23 (d, 2 H, $J_{\text{H}20/21} = 8.7$ Hz, H21).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 11.0 (C6); 16.7 (C16); 22.0 (C15); 43.3 (C7/C10 ohne Zuordnung); 56.3 (C14); 60.8 (C12); 65.9 (C11/C18 ohne Zuordnung); 124.0 (C21); 128.0 (C20); 129.6 (C8); 142.7 (C22); 143.3 (C9); 148.0 (C19); 155.9 (C5); 158.4 (C3); 160.0 (C17); 173.1 (C13).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3496 (b, OH); 3083 (w, Ar-H); 1767 (vs, C(3)=O/C=N/C(13)=O); 1714 (s, C(17)=O); 1604 (m); 1519 (s, NO_2); 1462 (m); 1423 (m); 1376 (m); 1345 (s, NO_2); 1324 (m); 1248 (m); 1134 (m); 735 (m).

9.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-3-(Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure (4j)

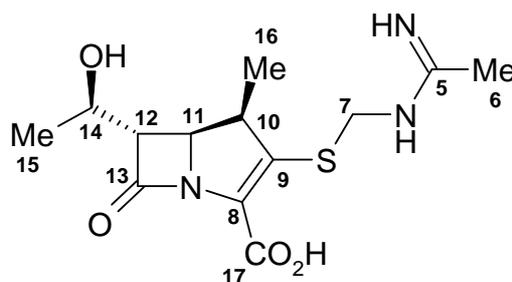
In einem 25 ml Schlenkkolben werden 30 mg (0.06 mmol, 490.5 g/mol) **3j** in 1.8 ml THF und 0.6 ml H₂O gelöst. Man gibt 70 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd) zu und lässt die Reaktionsmischung bei einer Ölbadtemperatur von 30°C hydrieren. Nach 3 h wird die Reaktionsmischung in ein Zentrifugenglas überführt (nachspülen mit wenig THF/H₂O-Gemisch 2:1) und 10 min mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die überstehende gelbliche Lösung wird abpipettiert und bei 0°C gelagert. Den Niederschlag wäscht man mit 3 ml eines THF/H₂O-Gemisches 2:1, zentrifugiert und pipettiert die überstehende Lösung wiederum ab. Dieser Vorgang wird nochmals wiederholt. Die vereinigten THF/H₂O-Phasen werden am Rotationsverdampfer auf ca. 2 ml eingeeengt und zweimal mit je 1 ml EE in einem graduierten Reagenzglas gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 2 ml eingeeengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird im Exsikkator über P₂O₅ im HV bei -30°C lyophilisiert.

Ausbeute

$$m = 11.5 \text{ mg } (M = 313.4 \text{ g/mol; } n = 37 \text{ } \mu\text{mol}) = 61\%$$

UV/VIS (H₂O)

$$\lambda_{max} = 292 \text{ nm } (\epsilon = 8040)$$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O)

δ [ppm] = 1.06 (d, 3 H, $J_{\text{H}10/16} = 7.2$ Hz, H16); 1.15 (d, 3 H, $J_{\text{H}14/15} = 6.4$ Hz, H15); 2.09 (s, 3 H, H6); 3.25 (dq, 1 H, $J_{\text{H}10/16} = 7.2$ Hz, $J_{\text{H}10/11} = 9.3$ Hz, H10); 3.36 (m, 1 H, H12); 4.11 (m, 2 H, H11/H14 ohne Zuordnung); 4.31 (d, 1 H, $J_{\text{H}7/7} = 14.7$ Hz, H7); 4.58 (d, 1 H, $J_{\text{H}7/7} = 14.7$ Hz, H7).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3242 (b, OH); 2965 (m, C-H aliph.); 1747 (s, C(13)=O); 1661 (s, C=N); 1588 (vs, C(17)=O); 1381 (vs); 1251 (s); 1179 (m); 1144 (s); 1074 (m); 1055 (m); 934 (w); 865 (w); 812 (w); 768 (w).

10 Synthese des Thioessigsäure-S-iodmethylesters (13)⁷⁰

10.1 Thioessigsäure-S-hydroxymethylester (11)⁷⁰

In einem 100 ml Schlenk Kolben mit aufgesetztem Rückflusskühler werden 19.5 g (0.65 mol, 30.0 g/mol) Paraformaldehyd und 46.2 ml (1 Äqu, 0.65 mol, 76.1 g/mol, $d = 1.07 \text{ g/ml}$) Thioessigsäure unter Stickstoffatmosphäre suspendiert und 2.5 h bei einer Ölbadtemperatur von 100°C erhitzt. Man lässt die entstandene gelb-braune Lösung erkalten, ersetzt den Rückflusskühler durch eine Destillationsbrücke und destilliert fraktioniert im Vakuum. Das Produkt geht bei einem Druck von 12 mbar bei 45 - 48°C als leicht gelbes Öl über.

Ausbeute

$m = 45.3 \text{ g}$ ($M = 106.1 \text{ g/mol}$; $n = 0.43 \text{ mol}$) = 66%

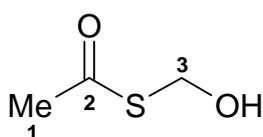
Siedepunkt

45 – 48°C (12 mbar)

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 43 ($[\text{CH}_3\text{-CO}]^+$, 100); 106.0 ($[\text{M}]^+$, 3).

Hochauflösung $[\text{M}]^+$:	berechnet:	106.0089
	gefunden:	106.0092



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.37 (s, 3 H, H1); 3.68 (b, 1 H, OH); 5.04 (s, 2 H, H3).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 31.4 (C1); 64.3 (C3); 198.7 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3396 (b, OH); 2930 (w, C-H aliph.); 1681 (vs, C=O); 1432 (w); 1355 (m); 1305 (w); 1215 (w); 1132 (s); 1026 (vs); 960 (s); 897 (w); 680 (m).

10.2 Thioessigsäure-S-chlormethylester (**12**)⁷⁰

Die Reaktion wird in einem 250 ml Dreihalsrundkolben mit KPG-Rührer, 100 ml Tropftrichter und Innenthermometer unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Das Innenthermometer sitzt in einem Quickfit mit seitlichem Auslass, an dem eine Sicherheitswaschflasche und eine Waschflasche mit Wasser angeschlossen sind. In dem Dreihalskolben werden 79.1 g (1 Äqu, 0.38 mol, 208.2 g/mol) fein gemörstertes Phosphorpentachlorid in 40 ml tr. Ether suspendiert und mit einem Eisbad auf 0°C gekühlt. Über einen Zeitraum von 20 min tropft man nun unter kräftigem Rühren 40 g (0.38 mmol, 106.1 g/mol) Thioessigsäure-S-hydroxymethylester (**11**) zu (starke Gasentwicklung). Nach dem Zutropfen wird die Eiskühlung entfernt und die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt. Es entsteht eine klare gelb-orange Lösung.

Für die Hydrolyse des entstandenen Phosphoroxychlorids wird ein 2 l Dreihalskolben mit KPG-Rührer und 250 ml Tropftrichter versehen. In dem Dreihalskolben werden 300 ml Eis und 240 ml Ether vorgelegt und mit einem Eisbad auf 0°C gekühlt. Die Reaktionslösung wird mit 80 ml Ether verdünnt und unter kräftigem Rühren über den Tropftrichter zur Ether-Eismischung zugetropft bis das Eis im Kolben vollständig geschmolzen ist. Die wässrige Phase wird daraufhin aus dem Dreihalskolben entnommen, durch Zugabe weiterer 300 ml Eis ersetzt und die Hydrolyse fortgesetzt. Nach Beendigung der Hydrolyse werden die Phasen getrennt und die vereinigten wässrigen Phasen zweimal mit je 150 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit 240 ml dest. Wasser, zweimal mit je 240 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und 150 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von 40°C abgezogen, wobei der Druck 300 mbar nicht unterschreiten darf. Zur Reinigung wird das Rohprodukt im Vakuum fraktioniert destilliert. Das Produkt geht als leicht gelbliche Flüssigkeit bei 12 mbar und 35 – 38°C über. Die Verbindung zeichnet sich durch einen stechenden, zwiebelartigen Geruch aus.

Ausbeute

$m = 32.5 \text{ g}$ ($M = 124.6 \text{ g/mol}$; $n = 0.26 \text{ mol}$) = 69%

Siedepunkt

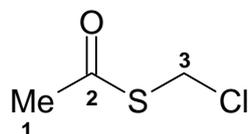
35 – 38°C (12 mbar)

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 124 ($[M]^+$, 46); 89 ($[M-Cl]^+$, 19).

Hochauflösung $[M]^+$: berechnet: 106.9750

gefunden: 123.9731

 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3 H, H1); 4.93 (s, 2 H, H3).

 ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$)

δ [ppm] = 30.7 (C1); 42.3 (C3); 192.1 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3028 (w, C-H aliph.); 1703 (vs, C=O); 1423 (w); 1384 (m); 1355 (m); 1237 (m)
1124 (s); 1090 (m); 956 (m); 739 (s); 672 (m).

10.3 Thioessigsäure-S-iodmethylester (13)⁷⁰

In einem mit Alufolie abgedunkelten 50 ml Schlenkkolben werden 18.1 g (1.5 Äqu, 120 mmol, 149.9 g/mol) NaI in 30 ml tr. Aceton unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Unter kräftigem Rühren gibt man 10 g (80.3 mmol, 124.6 g/mol) Thioessigsäure-S-chlormethylester (**12**) zu und lässt die hellgelbe Suspension 6 Tage bei RT rühren. Der entstanden feine Niederschlag wird abfiltriert und mit wenig Aceton gewaschen. Das rot-braune Filtrat wird am Rotationsverdampfer bei 170 mbar und einer Wasserbadtemperatur von 30°C eingeeengt. Man verdünnt die erhaltene dunkelbraune Suspension mit 100 ml Ether und wäscht diese mit 50 ml 1 M $Na_2S_2O_3$ -Lösung, wobei sich die organische Phase entfärbt und der Niederschlag in Lösung geht. Die wässrige Phase wird mit 20 ml Ether nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man das Produkt als gelbe, unangenehm riechende Flüssigkeit. Auf eine weitere Reinigung wurde aufgrund der Empfindlichkeit der Verbindung verzichtet.

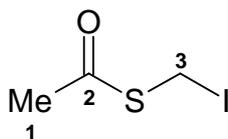
Ausbeute

$m = 17.3 \text{ g}$ ($M = 216.0 \text{ g/mol}$; $n = 80.1 \text{ mmol}$) = 67%

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 216 ($[M]^+$, 15).

Hochauflösung $[M]^+$:	berechnet:	215.9106
	gefunden:	215.9109

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3 H, H1); 4.40 (s, 2 H, H3).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = -8.8 (C3); 30.8 (C1); 192.8 (C2).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3030 (w, C-H aliph.); 1694 (vs, C=O); 1421 (w); 1353 (m); 1217 (m); 1150 (m); 1119 (s); 1088 (m); 952 (m); 728 (m); 612 (m).

11 Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems 4k

11.1 3-Chlormethoxypropin (7k)⁷³

In einem 250 ml-Dreihalsrundkolben werden 30 ml (0.51 mol, 56.1 g/mol, $d = 0.95$ g/ml, 28.5 g) 2-Propin-1-ol und 18 g (1.2 Äqu, 0.61 mol, 30.0 g/mol) Paraformaldehyd in 70 ml tr. CHCl_3 vorgelegt. Man kühlt die Suspension mit einem Eisbad auf 0°C und leitet Chlorwasserstoff ein. Nach 2 h wird die Apparatur 15 min lang mit N_2 gespült und die beiden entstanden Phasen werden in einen Scheidetrichter überführt. Man trennt die obere braune Phase ab und trocknet sie 5 h über MgSO_4 . Nach Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man eine hellgelbe stechend riechende Flüssigkeit. Das Rohprodukt wird mittels zweimaliger Vakuumdestillation bei 100 mbar und einer Ölbadtemperatur von 80°C gereinigt.

Ausbeute:

$m = 45$ g ($M = 104.5$ g/mol; $n = 0.43$ mmol) = 84% (Lit: 50%)

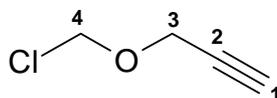
Siedepunkt:

$58 - 60^\circ\text{C}$ (100 mbar) (Lit: $55-60^\circ\text{C}$ 100 mbar)

Massenspektrum (EI)

m/z [%] = 69 ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 70); 103 ($[\text{M}-\text{H}]^+$, 7); 105 ($[\text{M}]^+$, 3).

Hochauflösung $[\text{M}-\text{H}]^+$:	berechnet:	103.0003
	gefunden:	102.9974



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 2.53 (t, 1 H, $J_{\text{H}1/3} = 2.4$ Hz, H1); 4.42 (d, 2 H, $J_{\text{H}1/3} = 2.4$ Hz, H3); 5.61 (s, 2 H, H4).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 56.2 (C3); 76.1 (C1); 77.1 (C2); 79.9 (C4).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3295 (m, -C≡C-H); 2963 (w, C-H aliph.); 2124 (w, -C≡C-); 1099 (s, C-O); 1045 (s); 639 (vs, C-Cl).

11.2 (4R,5S,6S)-6-[(1'R)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-4-nitrobenzylester (14)⁷²

In einem 100 ml Schlenkkolben werden 2.50 g (4.21 mmol, 495.5 g/mol) Enolphosphat **1** in 40 ml tr. DMF unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und 0.60 g (1.2 Äqu, 5.05 mmol, 118.20 g/mol) Tetrahydropyran-2-thiol zugespritzt. Man kühlt die Lösung mit einem Methanol/Eisbad auf -15°C und gibt über einen Zeitraum von 25 min 0.87 ml (1.2 Äqu, 5.05 mmol, 129.25 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zu. Die Reaktionsmischung wird 22 h bei 0°C gerührt und anschließend mit 800 ml EE verdünnt und nacheinander mit 300 ml 18%iger NaCl-Lösung, 300 ml ges. K₂CO₃-Lösung viermal je 200 ml dest. Wasser und 200 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 2.26 g eines gelben Schaums. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 90 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 1.5:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 90 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 4 bis 9 als hellgelben Schaum.

Ausbeute

$m = 1.56$ g ($M = 462.5$ g/mol; $n = 3.37$ mmol) = 80%

Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.2$ (Toluol/EE 1.5:1); I₂/UV-aktiv

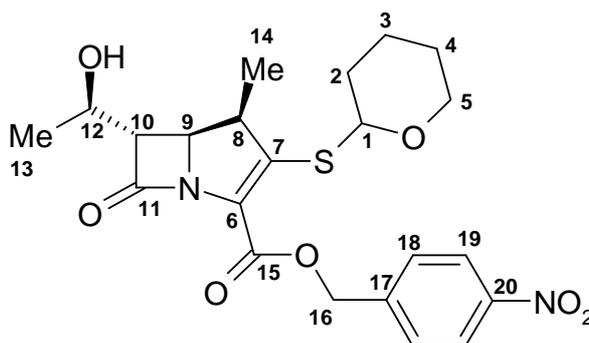
Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 480 ([M+NH₄]⁺, 100).

Hochauflösung [M+NH ₄] ⁺ :	berechnet:	480.1810
	gefunden:	480.1809

Elementaranalyse

	C	H	N	S
berechnet	57.13	5.67	6.06	6.93
gefunden	57.17	5.69	5.79	7.26

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) (beide Diastereomere)

δ [ppm] = 1.27, 1.30 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, H14); 1.37, 1.39 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.2$ Hz, H13); 1.64, 1.79, 1.92, 2.02 (m, 6 H, H2/H3/H4 ohne Zuordnung); 3.29 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.8$ Hz, H10); 3.57 (m, 1 H, H5); 3.68 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.1$ Hz, H8); 4.05 (m, 1 H, H5); 4.26 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{8/9} = 9.1$ Hz, H9); 4.28 (dq, 1 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.2$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 6.8$ Hz, H12); 5.25 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 14.1$ Hz, H16); 5.34 (m, 1 H, H1); 5.53 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 14.1$ Hz, H16); 7.69 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.8$ Hz, H18); 8.24 (d, 2 H, $J_{\text{H}18/19} = 8.8$ Hz, H19).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) (beide Diastereomere)

δ [ppm] = 17.3 (C14); 20.7, 25.2, 30.2 (C2/C3/C4 ohne Zuordnung); 21.9 (C13); 42.6 (C8); 56.5 (C9); 59.3 (C10); 64.2 (C5); 65.2 (C16); 66.1 (C12); 80.1 (C1); 123.7 (C19); 124.7 (C6); 128.2 (C18); 143.1 (C17); 147.6 (C20); 150.9 (C7); 160.4 (C15); 172.6 (C11).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3352 (b, OH); 2924 (s, C-H aliph.); 2853 (m); 1764 (vs, C(11)=O); 1706 (s, C(15)=O); 1606 (w); 1518 (s, NO_2); 1452 (m); 1341 (s, NO_2); 1276 (m); 1205 (s); 1134 (s); 1101 (s); 1076 (m); 1036 (vs); 1003 (m); 849 (m); 808 (m); 736 (m); 713 (w); 577 (w); 607 (w).

11.3 Kalium-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydro- pyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylat (15)

In einem 500 ml Schlenkkolben werden 853 mg (1.84 mmol, 462.5 g/mol) **14** in 40 ml THF und 12 ml dest. H₂O gelöst. Man gibt 203 mg (1.1 Äqu, 2.03 mmol, 100.1 g/mol) KHCO₃ und 855 mg Pd/Aktivkohle (10% Pd) zu und lässt die Reaktionsmischung bei einer Ölbadtemperatur von 30°C hydrieren. Nach 3 h wird die Reaktionsmischung in ein Zentrifugenglas überführt (nachspülen mit wenig THF/H₂O-Gemisch 2:1) und 10 min mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die überstehende gelbliche Lösung wird abpipettiert und bei 0°C gelagert. Den Niederschlag wäscht man mit 7 ml eines THF/H₂O-Gemisches 2:1, zentrifugiert und pipettiert die überstehende Lösung wiederum ab. Dieser Vorgang wird nochmals wiederholt. Die vereinigten THF/H₂O-Phasen werden am Rotationsverdampfer auf ca. 12 ml eingengt und zweimal mit je 10 ml EE gewaschen. Der restliche EE wird am Rotationsverdampfer abgezogen und die wässrige Phase am HV auf ca. 10 ml eingengt. Die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie. Die schwach gelbe Lösung wird bei -25°C und 4 mbar lyophilisiert.

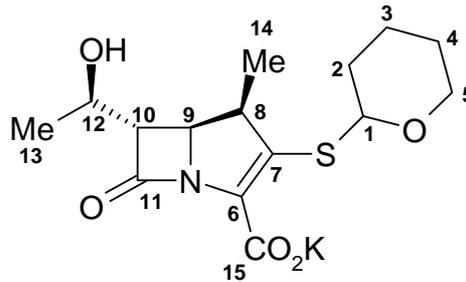
Nach UV-spektroskopischer Gehaltsbestimmung enthält das leicht gelbliche Pulver 94% Produkt.

Ausbeute

$m = 535 \text{ mg} \rightarrow 503 \text{ mg} (M = 365.5 \text{ g/mol}; n = 1.38 \text{ mol}) = 75\%$

UV/VIS (H₂O)

$\lambda_{max} = 294 \text{ nm} (\epsilon = 8040)$



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O) (beide Diastereomere)

δ [ppm] = 1.16, 1.21 (d, 3 H; $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, H14); 1.31, 1.33 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.2$ Hz, H13); 1.60, 1.71, 1.85, 2.00 (m, 6 H, H2/H3/H4, ohne Zuordnung); 3.41 (m, 1 H, H10); 3.49 (m, 1 H, H8); 3.63 (m, 1 H, H5); 4.05, 4.08 (m, 1 H, H5); 4.20 (m, 2 H, H9/H12 ohne Zuordnung); 5.16 (m, 1 H, H1).

IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3283 (b, OH); 2933 (m, C-H aliph.); 1744 (vs, C(11)=O); 1596 (vs, C(15)=O); 1489 (m); 1386 (s); 1258 (s); 1179 (m); 1141 (m); 1099 (s); 1074 (s); 1034 (s); 1004 (m); 894 (m); 812 (w); 771 (m); 720 (w); 692 (w).

11.4 (4R,5S,6S)-6-[(1'R)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(tetrahydropyran-2-ylsulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (16)

In einem 10 ml Schlenkkolben werden 635 mg (94%, 1.63 mmol, 365.5 g/mol) **15** in 2.5 ml tr. DMF unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Man tropft innerhalb von 30 min 143 μl (1.1 Äqu, 1.79 mmol, 92.5 g/mol, $d = 1.16$ g/ml) Chloraceton zu und lässt die Suspension 18 h bei RT rühren. Die Reaktionsmischung wird mit 40 ml EE verdünnt und dreimal mit je 20 ml dest. H_2O und einmal mit 10 ml 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden zweimal mit je 10 ml EE nachextrahiert. Man trocknet die vereinigten EE-Phasen über MgSO_4 , zieht das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab und trocknet das gelbe Öl am HV. Die Reinigung des Rohproduktes (500 mg) erfolgt mittels Säulenchromatographie an 20 g Kieselgel (40 – 60 μm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 1:1. Bei einem Vorlauf von 60 ml und einer Fraktionsgröße von 10 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 13 bis 31 als weißen Feststoff.

Ausbeute

$m = 388 \text{ mg}$ ($M = 383.5 \text{ g/mol}$; $n = 1.01 \text{ mmol}$) = 62%

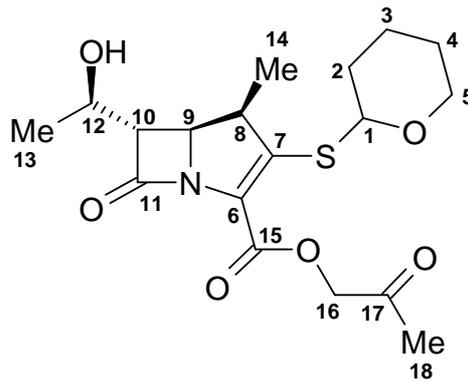
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.34$ (EE); I_2 /UV-aktiv

Massenspektrum (FAB, NBA)

m/z [%] = 384 ($[M+H]^+$, 18).

Hochauflösung $[M]^+$:	berechnet:	384.4735
	gefunden:	384.1494



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) (beide Diastereomere)

δ [ppm] = 1.22, 1.26 (d, 3 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, H14); 1.32, 1.33 (d, 3 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.3$ Hz, H13); 1.60, 1.77, 1.88, 2.00 (m, 6 H, H2/H3/H4 ohne Zuordnung); 2.21, 2.22 (s, 3 H, H18); 3.23, 3.24 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 7.1$ Hz, H10); 3.52 (m, 1 H, H5); 3.60, 3.65 (dq, 1 H, $J_{\text{H}8/14} = 7.4$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.1$ Hz, H8); 4.02, 4.08 (m, 1 H, H5); 4.19, 4.23 (dd, 1 H, $J_{\text{H}9/10} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}8/9} = 9.1$ Hz, H9); 4.22 (dq, 1 H, $J_{\text{H}12/13} = 6.3$ Hz, $J_{\text{H}10/12} = 7.1$ Hz, H12); 4.68, 4.70 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 16.5$ Hz, H16); 4.75, 4.77 (d, 1 H, $J_{\text{H}16/16} = 16.5$ Hz, H16); 5.31, 5.34 (t, 1 H, $J_{\text{H}1/2\text{-cis}} = 4.4$ Hz, $J_{\text{H}1/2\text{-trans}} = 4.6$ Hz, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) (beide Diastereomere)

δ [ppm] = 17.0, 17.2 (C14); 21.8 (C13); 20.5, 20.7, 25.2, 30.1, 31.7 (C2/C3/C4 ohne Zuordnung); 26.4 (C18); 42.6 (C8); 56.4, 56.6 (C9); 59.3, 59.4 (C10); 63.9 (C5); 66.1 (C12); 68.8 (C16); 80.1, 83.8 (C1); 124.3, 128.2 (C6); 151.7, 153.5 (C7); 160.0 (C15); 172.3, 172.6 (C11); 202.5, 202.7 (C17).

IR-Spektrum (ATR)

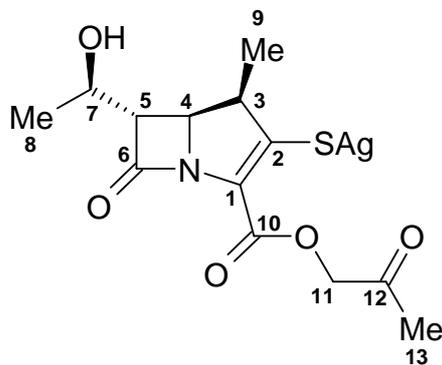
$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3523 (b, OH); 2947 (w, C-H aliph.); 1767 (vs, C(11)=O); 1736 (s, C(17)=O); 1708 (vs, C(15)=O); 1629 (w); 1542 (m); 1452 (w); 1419 (w); 1324 (m); 1275 (m); 1174 (s); 1133 (vs); 1102 (s); 1075 (m); 1035 (vs); 1004 (m); 877 (m); 867 (m); 797 (m); 715 (w).

11.5 Silber-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-2-(2-oxo-propoxy-carbonyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-3-thiolat (17)

In einem mit Alufolie abgedunkelten 10 ml Schlenkcolben werden 146 mg (0.38 mmol, 383.5 g/mol) **16** in 0.9 ml tr. CH₃CN unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt und mit einem Eisbad auf 0°C gekühlt. Zu dieser Lösung wird innerhalb von 10 min unter starkem Rühren eine hellbraune Lösung von 46 µl (1.5 Äqu, 0.57 mmol, 79.1 g/mol, d = 0.98 g/ml) Pyridin in 0.7 ml tr. Methanol und 97 mg (1.5 Äqu, 0.57 mmol, 169.9 g/mol) Silbernitrat zugespritzt. Die Reaktionsmischung wird 30 min bei 0°C gerührt (gelb-braune Suspension). Anschließend gibt man 20 ml Ether zu und dekantiert die überstehende gelbe milchige Flüssigkeit ab. Das verbleibende braune Harz wird mit Ether digeriert und der entstandene gelbe Niederschlag über eine P3-Glasfritte abfiltriert. Nach dem Trocknen am HV erhält man das Produkt in Form eines curryfarbenen Pulvers.

Ausbeute

$m = 138 \text{ mg}$ ($M = 406.2 \text{ g/mol}$; $n = 0.34 \text{ mmol}$) = 89%



IR-Spektrum (ATR)

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] =$ 3367 (b, O-H); 2928 (w, C-H aliph.); 1721 (vs, C(6)=O/C(12)=O); 1662 (vs, C(10)=O); 1607 (m); 1555 (w); 1463 (w); 1451 (w); 1371 (m); 1302 (s); 1269 (s); 1171 (vs); 1130 (vs); 1061 (vs); 760 (w).

11.6 (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1'*R*)-Hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-(prop-2-inyloxy-methyl-sulfanyl)-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-2-oxo-propylester (18)

In einem mit Alufolie abgedunkelten 2 ml Schlenkrohr werden 90 mg (0.22 mmol, 406.2 g/mol) Silberverbindung **17** in 0.7 ml tr. DMF vorgelegt und mit einem Eisbad auf 0°C gekühlt. Man gibt 35 mg (1.5 Äqu, 0.33 mmol, 104.5 g/mol) 3-Chlormethoxypropin in 0.5 ml tr. DMF und 60 mg (2.0 Äqu, 0.44 mmol, 133.8 g/mol) Lithiumiodid zu. Über einen Zeitraum von 25 min werden nun 56 µl (1.5 Äqu, 0.33 mmol, 129.3 g/mol, d = 0.76 g/ml) *N,N*-Diisopropylethylamin zugetropft. Nach 18 h bei 0°C wird die braune Lösung mit 20 ml EE verdünnt und nacheinander mit 10 ml 1 N Salzsäure, 10 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung, 3 mal 10 ml dest. H₂O und 7 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden zweimal mit je 10 ml EE nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Nach dem Trocknen am HV erhält man 60 mg eines gelben Öls. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an 2.5 g Kieselgel (40 – 60 µm) mit einem Lösungsmittelgemisch Toluol/EE 1:1 chromatographiert. Bei einer Fraktionsgröße von 2.5 ml erhält man das Produkt aus den Fraktionen 9 bis 16 als weißen Schaum.

Ausbeute

$m = 25 \text{ g}$ ($M = 367.4 \text{ g/mol}$; $n = 68 \text{ µmol}$) = 31%

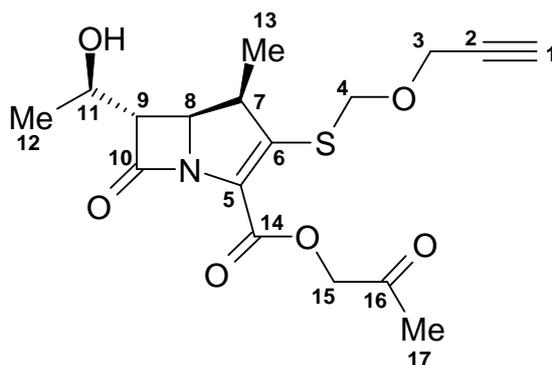
Dünnschichtchromatographie

$R_f = 0.45$ (EE); I₂/UV-aktiv

Massenspektrum (ESI)

m/z [%] = 385 ($[M+NH_4]^+$, 100).

Hochauflösung $[M+NH_4]^+$:	berechnet:	385.1434
	gefunden:	385.1435



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3)

δ [ppm] = 1.26 (d, 3 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.5$ Hz, H13); 1.34 (d, 3 H, $J_{\text{H}11/12} = 6.2$ Hz, H12); 2.22 (s, 3 H, H17); 2.47 (t, 1 H, $J_{\text{H}1/3} = 2.4$ Hz; H1); 3.26 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.5$ Hz; $J_{\text{H}9/11} = 6.9$ Hz, H9); 3.62 (dq, 1 H, $J_{\text{H}7/13} = 7.5$ Hz, $J_{\text{H}7/8} = 9.1$ Hz; H7); 4.23 (dq, 1 H, $J_{\text{H}9/11} = 6.9$ Hz, $J_{\text{H}11/12} = 6.2$ Hz, H11); 4.26 (dd, 1 H, $J_{\text{H}8/9} = 2.5$ Hz, $J_{\text{H}7/8} = 9.1$ Hz, H8); 4.29 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/3} = 2.4$ Hz, $J_{\text{H}3,3} = 15.7$ Hz, H3); 4.33 (dd, 1 H, $J_{\text{H}1/3} = 2.4$ Hz, $J_{\text{H}3/3} = 15.7$ Hz, H3); 4.72 (d, 1 H, $J_{\text{H}15/15} = 16.6$ Hz, H15); 4.78 (d, 1 H, $J_{\text{H}15/15} = 16.6$ Hz, H15); 4.89 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 12.4$ Hz, H4); 5.09 (d, 1 H, $J_{\text{H}4/4} = 12.4$ Hz, H4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3)

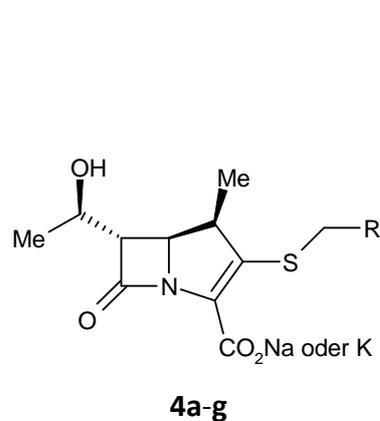
δ [ppm] = 16.9 (C13); 21.8 (C12); 26.4 (C17); 43.0 (C7); 55.3 (C3); 56.5 (C8); 59.5 (C9); 66.0 (C11); 68.9 (C15); 70.2 (C4); 75.7 (C1); 78.0 (C2); 125.3 (C5); 150.6 (C6); 159.9 (C14); 172.5 (C10); 202.1 (C16).

IR-Spektrum (ATR)

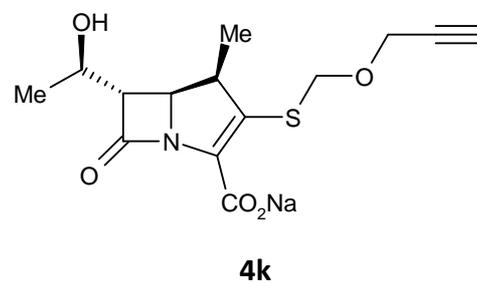
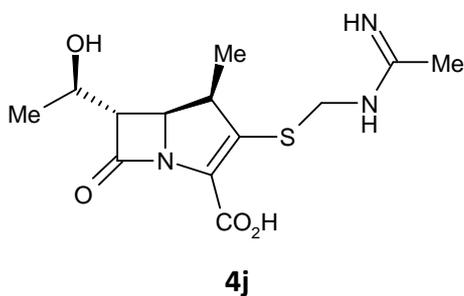
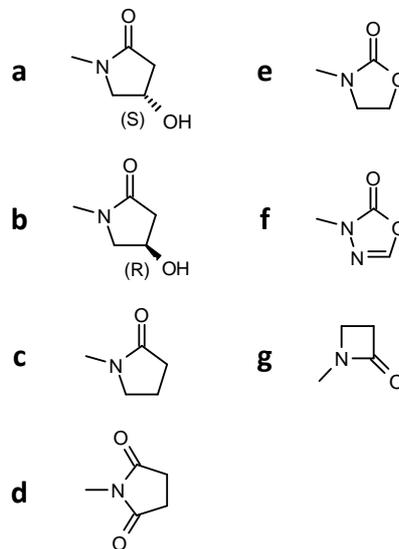
$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3540 (b, OH); 3269 (w, $\text{-C}\equiv\text{C-H}$); 2922 (m, C-H aliph.); 1763 (s, $\text{C}(10)=\text{O}$); 1736 (s, $\text{C}(16)=\text{O}$); 1708 (s, $\text{C}(14)=\text{O}$); 1550 (w); 1455 (w); 1418 (w); 1345 (m); 1276 (m); 1211 (m); 1158 (s); 1134 (s); 1061 (vs); 883 (w); 797 (m); 673 (m).

Zusammenfassung

In den vergangenen zwei Jahrzehnten konnte bei Bakterien eine zunehmende Resistenzentwicklung gegen bewährte Antibiotika beobachtet werden. Daher ist es unumgänglich geworden, neue aktive Antibiotika zu synthetisieren oder die Strukturen bekannter Antiinfektiva zu modifizieren. Ziel dieser Dissertation war es - durch Einführen neuer Seitenketten an die C3-Position des Meropenem-Grundkörpers - die Carbapeneme **4a-g**, sowie **4j** und **4k** darzustellen. Die Reste R sollten dabei über eine Methylsulfonyl-Gruppe verknüpft werden.

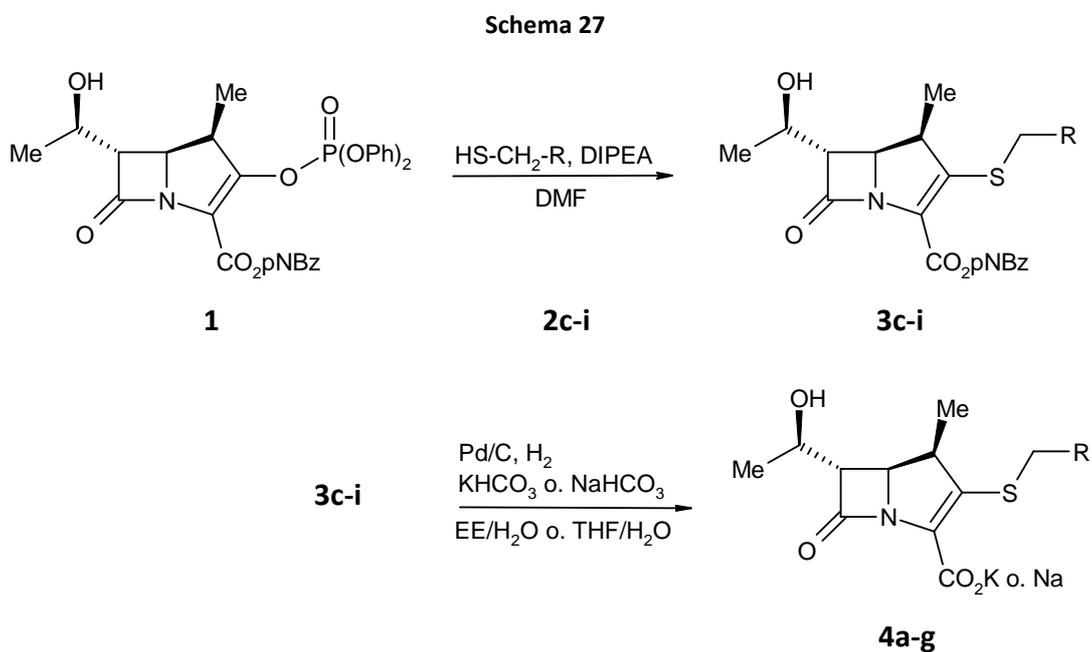


R = a - g



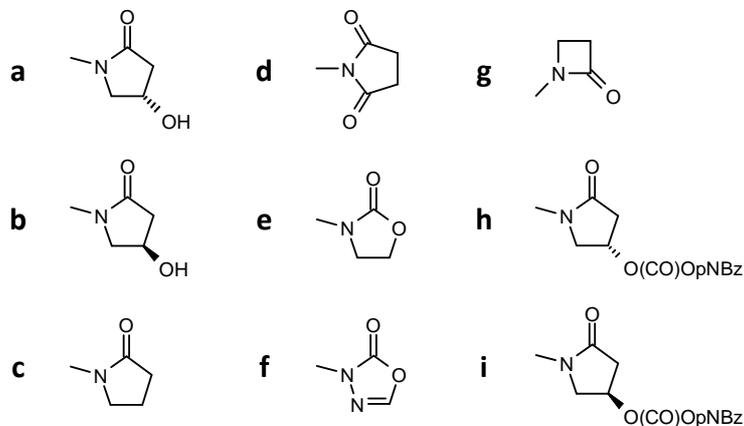
1 Synthese der (*N*-Heterozyklyl-methylsulfanyl)-Carbapeneme 4a-g

Ausgangsmaterialien waren Enolphosphat **1**, ein Zwischenprodukt in der Synthese kommerziell erhältlicher Carbapenem-Antibiotika, und die synthetisierten Thiole **2c-i** (Schema 27). Bei den Resten **h** und **i** handelt es sich um die Hydroxyl-geschützten Reste **a** und **b**. Die Hydroxylgruppen mussten zur Synthese der beiden Thiole **2h** und **2i** geschützt werden. Hierzu wurde die *p*-Nitrobenzyloxycarbonyl-Schutzgruppe verwendet, da diese im letzten Schritt der Synthese gemeinsam mit dem *p*-Nitrobenzylester durch Hydrogenolyse mit Pd auf Aktivkohle abgespalten wird.

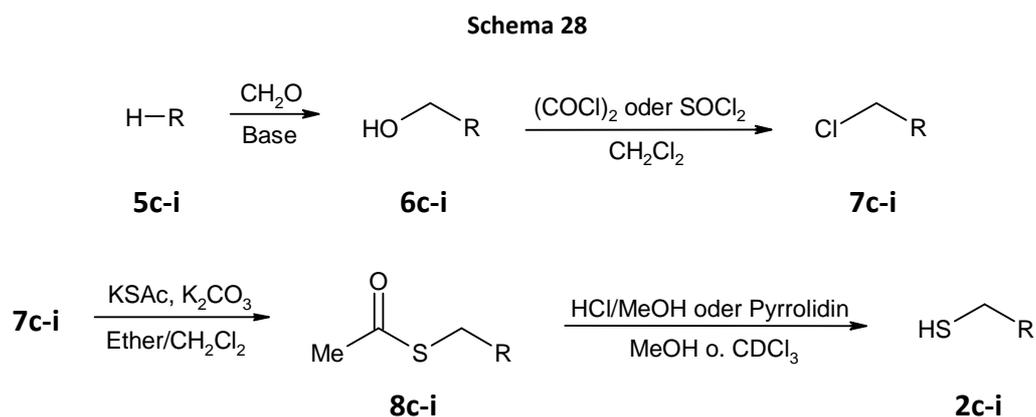


2,3: R = c – i

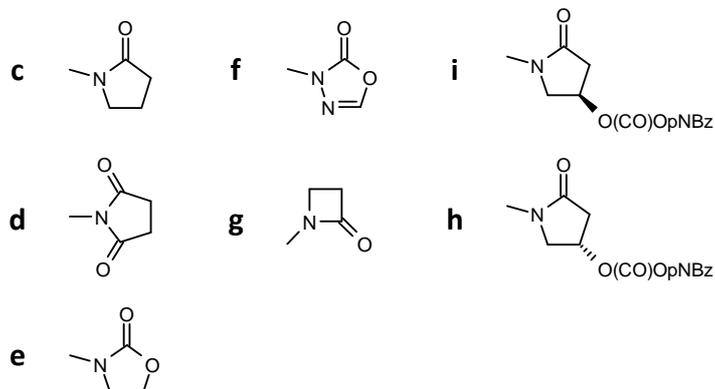
4: R = a – g



Die Thiole **2c-i** wurden über die entsprechenden Chloride **7c-i** hergestellt, welche durch Umsetzung der Verbindungen **5c-i** mit wässriger Formaldehydlösung bzw. Paraformaldehyd und anschließender Chlorierung zugänglich wurden (Schema 28). Durch Reaktion mit Kaliumthioacetat in Anwesenheit von Kaliumcarbonat erhielt man die jeweiligen Thioessigsäureester **8c-i**. Die Hydrolyse zu den gewünschten Thiolen **2c-i** gelang mit methanolischer HCl-Lösung oder Pyrrolidin.



2, 5, 6, 7, 8: R = c - i



Von Meropenem-Derivate **4a-g** mit *N*-Heterozyklyl-substituierten Seitenketten ist das Carbapenem **4c** mit Pyrrolidin-2-on-Rest der einfachste Vertreter. Ausgehend davon sollte überprüft werden, ob und wie sich die antibiotische Aktivität durch einen modifizierten Heterozyklus verändert. Dazu wurden von den Endverbindungen **4a-g** Plattendiffusionstests durchgeführt. Als Vergleichssubstanzen dienten Meropenem und Imipenem.

Alle Verbindungen erwiesen sich in den Tests als antibakteriell wirksam. Im Vergleich zum (2-Oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4c** waren die beiden Enantiomere der Hydroxyl-substituierten Pyrrolidinon-Verbindung **4a** und **4b** bei Gram-positiven Keimen weniger wirksam, wobei das (*R*)-Isomer geringfügig besser war als das (*S*)-Isomer. Bei Gram-negativen Bakterien wies das ((*R*)-4-Hydroxy-2-oxo-pyrrolidin-1-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4b** eine geringfügig bessere Wirksamkeit wie die beiden anderen Verbindungen auf. Im Vergleich zu Meropenem und Imipenem waren die Verbindungen **4a**, **4b** und **4c**, mit Ausnahme der Keime *Enterobacter cloace* und *Enterococcus*, deutlich schlechter wirksam. Gegen *S. aur. Innsbruck* und *Ps. aer* wirkte keine der drei Verbindungen.

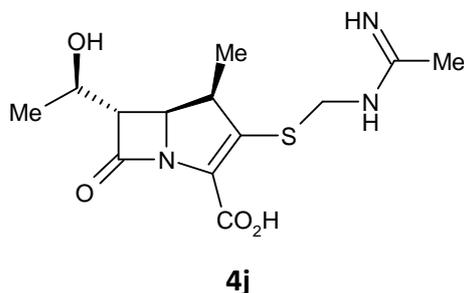
Die Azetidinon-substituierte Verbindung **4g**, das Homologe zu Verbindung **4c**, und das (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4f** erwiesen sich bei den Gram-positiven Erregern nur etwas weniger wirksam als Meropenem, wobei Verbindung **4f** geringfügig aktiver war als **4g**. Bei den Gram-negativen Keimen war Meropenem allerdings besser wirksam.

Das Carbapenem **4e** mit Oxazolidin-2-on-Seitenkette zeigte eine etwas schwächere antibiotische Aktivität als die beiden Verbindungen **4g** und **4f**. Gegen die Keime *MRSA Wien* und *S. aur. Innsbruck* besaß das (2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl)-Carbapenem **4f** eine mit Meropenem vergleichbare antibakterielle Wirkung. Die Azetidinon-substituierte Verbindung **4g** und das Carbapenem **4e** mit Oxazolidin-2-on-Seitenkette wirkten hier nicht. Die antibiotische Aktivität des Meropenem-Derivats **4d** mit Imid-funktionalisierter Seitenkette liegt etwas unterhalb der des Meropenems. Gegen die Erreger *Ps. aer. 1117* und *Ps. aer. res.* zeigte die Verbindung keine Wirkung.

Von den *N*-Heterozyklyl-substituierten Carbapenemen **4a-g** erwies sich die Verbindung **4f** mit 2-Oxo-[1,3,4]oxadiazol-3-yl-methylsulfanyl-Seitenkette als wirksamstes Derivat.

Der Heterozyklus dieser Seitenkette besitzt von den Resten **a-g** die geringste Anzahl an Kohlenstoffatomen.

2 Synthese des (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenems **4j**

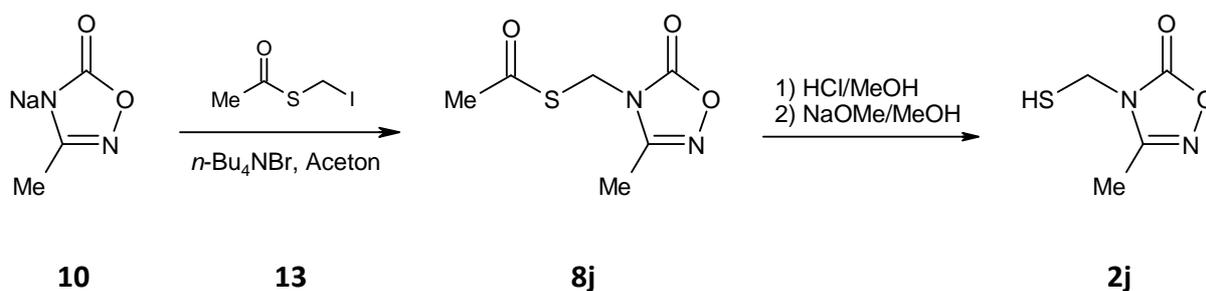


Vorbild für das (Acetimidoylamino-methylsulfanyl)-Carbapenem **4j** war Imipenem, ein Derivat des Thienamycins. Diese Verbindung enthält eine zusätzliche basische Funktion in der Seitenkette, wodurch die Wirksamkeit gegen den Erreger *Ps. aer.* deutlich erhöht wird.

Die Herstellung der Verbindung **4j** sollte analog der Synthese der Meropenem-Derivate **4a-g** (Schema 27, S. 188) ausgehend von Enolosphat **1** und dem entsprechenden Thiol erfolgen. Da Amidine stark basisch sind, musste für die Synthese des Thiols eine geeignete Schutzgruppe gefunden werden. Als zweckmässig erwies sich hierbei die Klasse der [1,2,4]Oxadiazolin-5-one: Sie stellen sowohl Baustein als auch Schutzgruppe für Amidine dar. Durch Hydrogenolyse in Gegenwart von Palladium auf Aktivkohle erhält man aus den [1,2,4]Oxadiazolin-5-onen die entsprechenden Amidine.

Für die Synthese des Thiols wurde das Natriumsalz **10** der literaturbekannten Verbindung 3-Methyl-4-[1,2,4]oxadiazol-5-on⁶⁶ verwendet. Da es nicht möglich war, ausgehend von **10** die entsprechende *N*-Hydroxymethyl-Verbindung herzustellen, wurde in Anlehnung an A. Moormann⁶⁹ das Natriumsalz **10** unter Anwesenheit von Tetrabutylammoniumbromid mit Thioessigsäure-*S*-iodmethylester **13** umgesetzt. Man erhielt den Thioessigsäureester **8j**, welcher mit methanolischer HCl-Lösung zum gewünschten Thiol **2j** gespalten werden konnte. Die Synthese des Thioessigsäure-*S*-iodmethylesters **13** ist literaturbekannt.⁷⁰

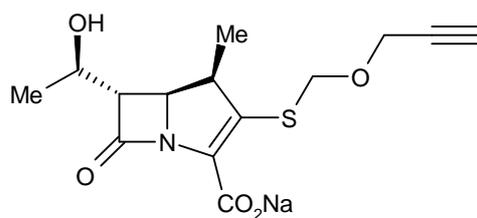
Schema 29



Die Endverbindung **4j** erhielt man durch Umsetzung des Thiols **2j** mit Enolphosphat **1** und anschließender Hydrogenolyse mit Pd auf Aktivkohle.

Das Carbapenem **4j** weist bei den durchgeführten Plattendiffusionstests im Bereich der Gram-positiven Erreger eine mit Meropenem vergleichbare antibakterielle Wirksamkeit auf. Bei den Gram-negativen Bakterien liegt die antibiotische Aktivität von **4j** deutlich unter der des Meropenems, mit Ausnahme von *Enterobacter cloacae*, bei dem Meropenem, Imipenem und **4j** gleichgroße Hemmhofdurchmesser bildeten. Gegen den Erreger *Ps. aer.* war **4j** gut wirksam, wohingegen beim resistenten Erreger *Ps. aer. res* nahezu keine Wirkung feststellbar war.

3 Synthese des (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Carbapenems **4k**



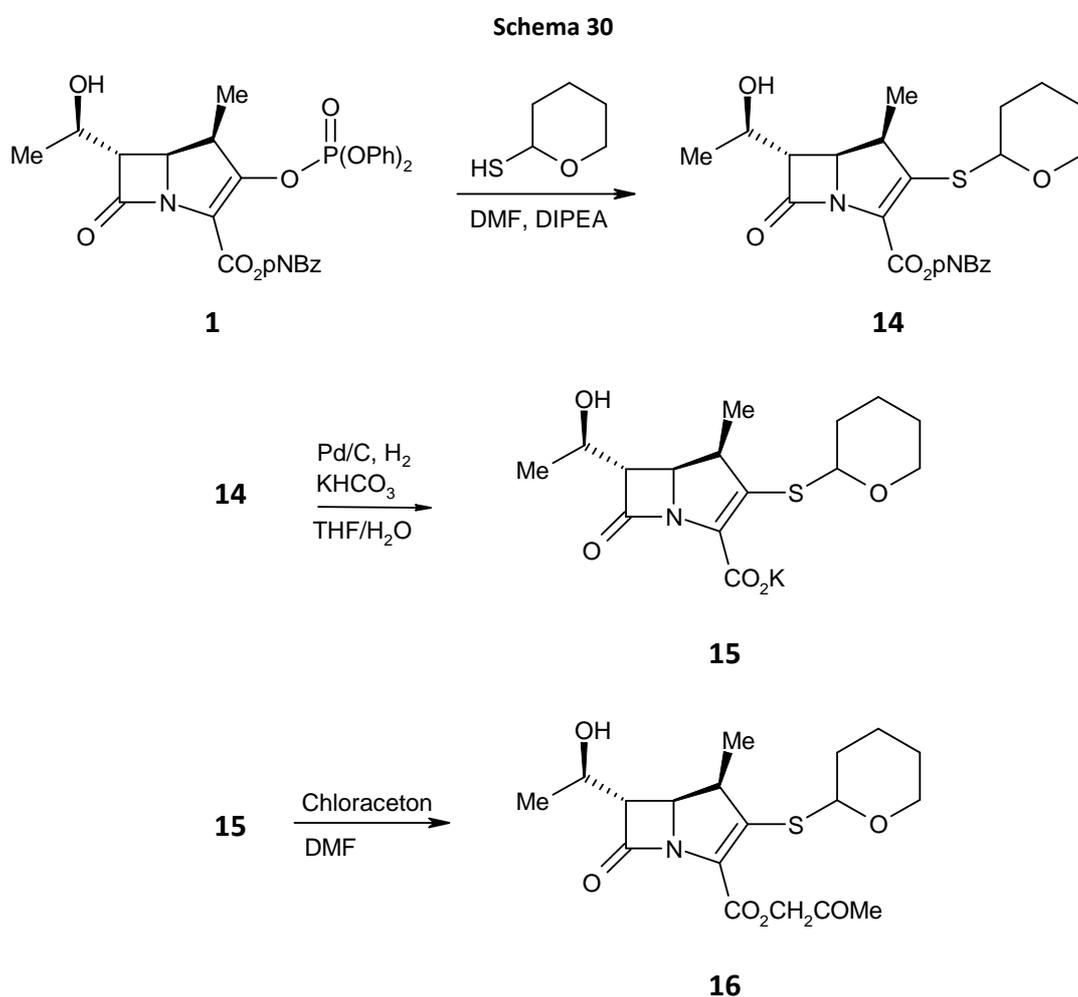
4k

Zur Synthese eines Carbapenems mit guter oraler Bioverfügbarkeit sollte an die C3-Position des Meropenem-Grundkörpers eine (Prop-2-inyloxy-methylsulfanyl)-Seitenkette eingeführt werden. Hintergrund war die deutliche Verbesserung der oralen Wirksamkeit von Östron durch Einführen einer Ethinyl-Gruppe.

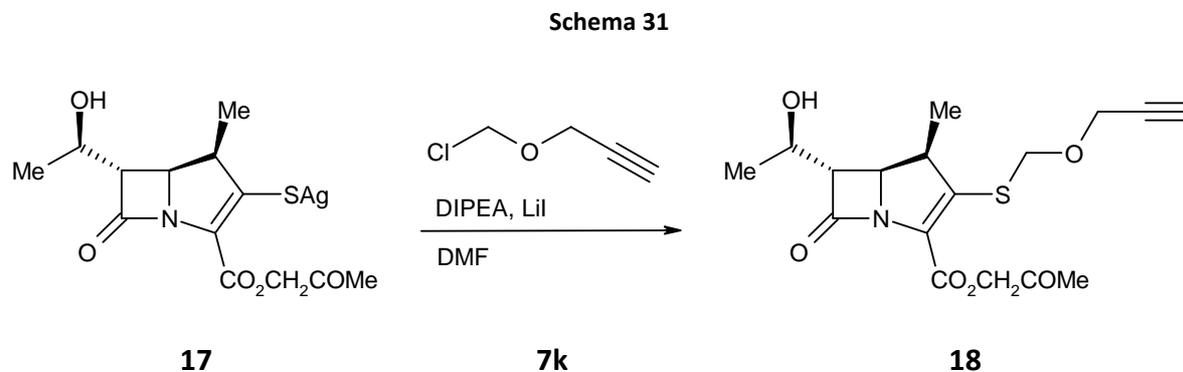
Die Darstellung der Verbindung **4k** musste über einen zu **4a-g** abweichenden Syntheseweg erfolgen, da im letzten Schritt der Synthese, der Hydrogenolyse des *p*-Nitrobenzylesters, auch die Dreifachbindung hydriert werden würde. Es musste folglich eine andere Schutzgruppe für die Carbonsäurefunktion gefunden werden, die unter milden Bedingungen abspaltbar war. Als geeignet erschien die Acetyl-Gruppe, da diese in einem Testansatz mit Penicillin G mit 0.1 N Natronlauge bei 0°C problemlos abgespalten werden konnte.

Da die Umesterung von Carbapenemestern, nach Miyauchi et al.³⁹, ausgehend von den Carbonsäuresalzen erfolgt, musste zunächst das Kaliumsalz des Carbapenems durch Hydrogenolyse mit Pd auf Aktivkohle unter Anwesenheit von 1 Äqu KHCO_3 erfolgen und anschließend die Seitenkette eingeführt werden. Zur Einführung der Seitenkette wurde ein literaturbekannter Alternativweg⁷² eingeschlagen.

Die Synthese erfolgte ausgehend von Enolphosphat **1** über die Tetrahydropyranyl-Verbindung **14**, welche nach der Hydrogenolyse mit Pd auf Aktivkohle, nach der Methode von Miyauchi et. al.³⁹, mit Chloraceton zur Acetyl-geschützten Verbindung **16** umgesetzt wurde (Schema 30).

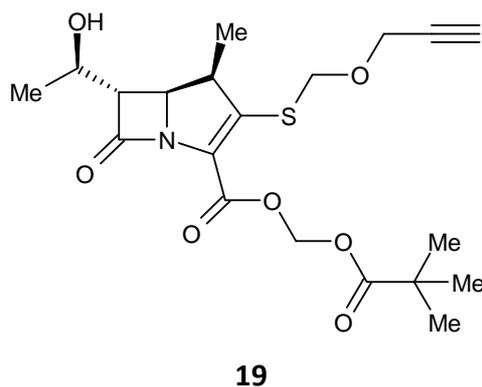


Aus dem Acetonylester **16** konnte durch Reaktion mit Silbernitrat und Pyridin das Carbapenem-Silbersalz **17** hergestellt werden, welches mit der literaturbekannten Verbindung 3-Chlormethoxypropin⁷³ **7k** zum Acetonyl-geschützten Carbapenem **18** umgesetzt wurde (Schema 31).



Die Abspaltung der Acetonyl-Schutzgruppe sollte, analog zu dem Testansatz mit Acetonyl-geschütztem Penicillin G, mit 0.1 N Natronlauge bei 0°C erfolgen. Jedoch konnte unter diesen Bedingungen lediglich die Hydrolyse des β-Lactam-Ringes festgestellt werden. Damit war es nicht möglich das gewünschte Carbapenem **4k** auf diesem Wege zu synthetisieren.

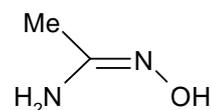
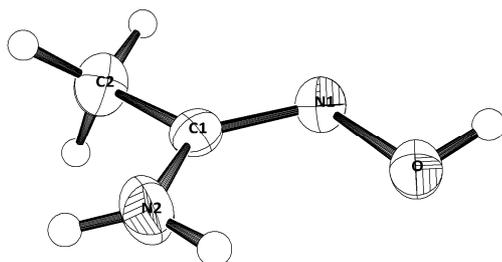
Eine denkbare Alternative wäre die Synthese des Pivaloyloxymethylesters **19**, da diese Carbapenemester nach Miyauchi et al. eine orale Bioverfügbarkeit aufweisen.³⁹ Somit wäre eine Spaltung des Esters zum Carbonsäuresalz hinfällig.



Anhang

1 Einkristall-Strukturanalysen

Einkristall-Strukturanalyse von Acetamidoxim (9)



Summenformel: C₂H₆N₂O

M = 74.082 g/mol

Kristallstrukturdaten von 9:

Crystal system			Orthorhombic
Space group		P212121	(No. 19)
a, b, c [Angstrom]	5.0618(4)	8.1312(7)	9.2584(8)
V [Ang**3]			381.06(6)
Z			4
D(calc) [g/cm**3]			1.291
Mu(MoKa) [/mm]			0.103
F(000)			160
Crystal size [mm]		0.17 x	0.24 x 0.28
	Data Collection		
Temperature (K)			200
Radiation [Angstrom]		MoKa	0.71073
Theta Min-Max [Deg]			4.4, 26.4
Dataset	-6: 6 ;	-8: 10 ;	-11: 11
Tot., Uniq. Data, R(int)	1618,	477,	0.038
observed data [I > 2.0 sigma(I)]			359
	Refinement		
Nref, Npar		477,	60
R, wR2, S		0.0290, 0.0729,	0.99
w = 1/[$\sigma^2(F_o^2) + (0.0459P)^2$]		where P=($F_o^2 + 2F_c^2$)/3	
Max. and Av. Shift/Error		0.00, 0.00	
Flack x			7(3)
Min. and Max. Resd. Dens. [e/Ang^3]		-0.13, 0.12	

Tabelle 11: Atomkoordinaten und äquivalente isotrope Auslenkungsparameter von 9. U(eq) ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalen U_{ij} -Tensors

Atom	x	y	z	U(eq) [Å ²]
O	0.3237(3)	0.18321(18)	0.36083(14)	0.0320(5)
N1	0.1248(3)	0.1154(2)	0.45479(16)	0.0288(5)
N2	0.0933(5)	-0.0741(3)	0.2659(2)	0.0396(7)
C1	0.0181(4)	-0.0124(2)	0.3934(2)	0.0266(6)
C2	-0.2032(4)	-0.0949(3)	0.4708(2)	0.0379(7)

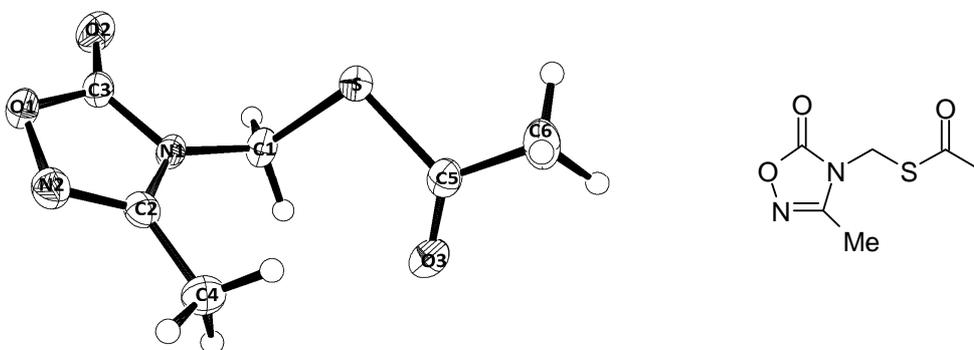
Tabelle 12: Bindungslängen [Å]

O	-N1	1.440(2)	N2	-H2	0.86(3)
O	-H1	0.82(3)	C1	-C2	1.489(3)
N1	-C1	1.302(2)	C2	-H2A	0.9800
N2	-C1	1.338(3)	C2	-H2B	0.9800
N2	-H3	0.77(2)	C2	-H2C	0.9800

Tabelle 13: Bindungswinkel [°]

N1	-O	-H1	103(2)	N1	-C1	-N2	124.51(19)
O	-N1	-C1	109.38(14)	C1	-C2	-H2A	109.00
C1	-N2	-H2	114.6(18)	C1	-C2	-H2B	109.00
C1	-N2	-H3	117(2)	C1	-C2	-H2C	109.00
H2	-N2	-H3	128(3)	H2A	-C2	-H2B	109.00
N1	-C1	-C2	117.48(17)	H2A	-C2	-H2C	109.00
N2	-C1	-C2	118.01(18)	H2B	-C2	-H2C	110.00

Einkristall-Strukturanalyse von Thioessigsäure-S-(3-methyl-5-oxo-[1,2,4]oxadiazol-4-yl-methyl)ester (8j)



Summenformel: C₆H₈N₂O₃S

M = 188.21 g/mol

Kristallstrukturdaten von **8j**:

Formula	C6	H8	N2	O3	S
Formula weight	188.21				
Crystal system	Monoclinic				
Space group	P21/c				
	(No. 14)				
a, b, c [Angstrom]	7.5415(4)	18.9630(9)	5.8642(3)		
alpha, beta, gamma [deg]	90	97.360(5)	90		
V [Ang**3]	831.73(7)				
Z	4				
D(calc) [g/cm**3]	1.503				
Mu(MoKa) [/mm]	0.357				
F(000)	392				
Crystal size [mm]	0.07 x 0.25 x 0.42				
Data collection					
Temperature (K)	200				
Radiation [Angstrom]	MoKa				
Theta Min-Max [Deg]	4.1, 26.3				
Dataset	-7: 7 ; -23: 23 ; -9: 7				
Tot., Uniq. Data, R(int)	4545, 1667, 0.024				
Observed data [I > 2.0 sigma(I)]	1132				
Refinement					
Nref, Npar	1667, 111				
R, wR2, S	0.0288, 0.0706, 0.95				
w = 1/[$\sqrt{s^2(F_o^2) + (0.0394P)^2}$]	where P = $(F_o^2 + 2F_c^2)/3$				
Max. and Av. Shift/Error	0.00, 0.00				
Min. and Max. Resd. Dens. [e/Ang^3]	-0.22, 0.22				

Tabelle 14: Atomkoordinaten und äquivalente isotrope Auslenkungsparameter von 8j. U(eq) ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalen U_{ij}-Tensors

Atom	x	y	z	u(eq) [Å ²]
S	0.01272(6)	0.18269(2)	0.13714(8)	0.0318(2)
O1	0.39496(14)	0.06290(6)	-0.26943(18)	0.0310(4)
O2	0.43215(16)	0.18061(6)	-0.2130(2)	0.0381(4)
O3	0.02496(16)	0.12406(7)	0.5477(2)	0.0390(4)
N1	0.30099(16)	0.10691(7)	0.0370(2)	0.0225(4)
N2	0.31771(18)	0.00622(7)	-0.1498(2)	0.0307(5)
C1	0.2475(2)	0.15917(8)	0.1964(3)	0.0268(5)
C2	0.26596(19)	0.03560(9)	0.0290(3)	0.0241(5)
C3	0.3808(2)	0.12423(10)	-0.1530(3)	0.0274(6)
C4	0.1866(2)	-0.00348(8)	0.2087(3)	0.0313(6)
C5	-0.0690(2)	0.15237(8)	0.3933(3)	0.0274(5)
C6	-0.2651(2)	0.16568(10)	0.3901(3)	0.0377(6)

Tabelle 15: Bindungslängen [Å]

S	-C1	1.8158(16)	C2	-C4	1.476(2)
S	-C5	1.7900(17)	C5	-C6	1.498(2)
O1	-N2	1.4462(17)	C1	-H1A	0.9900
O1	-C3	1.360(2)	C1	-H1B	0.9900
O2	-C3	1.205(2)	C4	-H4A	0.9800
O3	-C5	1.202(2)	C4	-H4B	0.9800
N1	-C1	1.454(2)	C4	-H4C	0.9800
N1	-C2	1.378(2)	C6	-H6A	0.9800
N1	-C3	1.372(2)	C6	-H6B	0.9800
N2	-C2	1.291(2)	C6	-H6C	0.9800

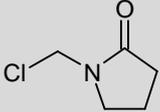
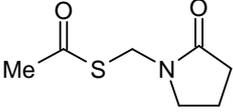
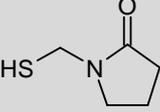
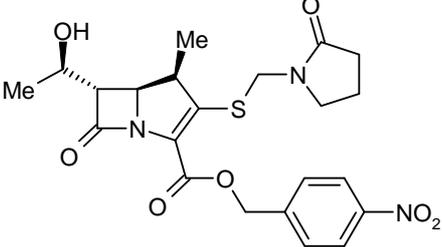
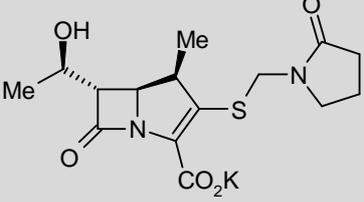
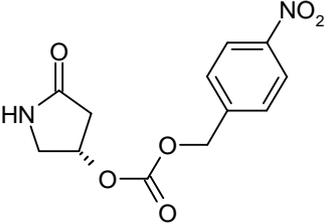
Tabelle 16: Bindungswinkel [°]

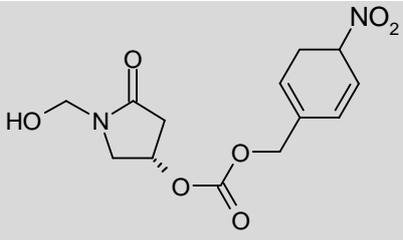
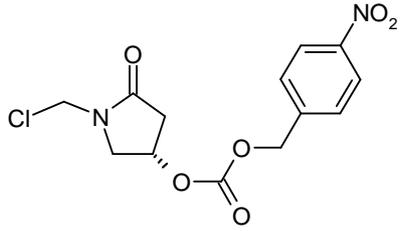
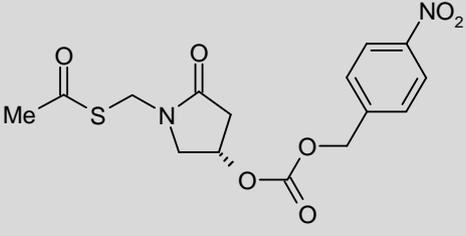
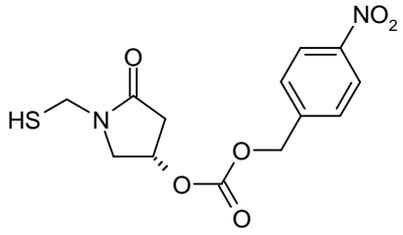
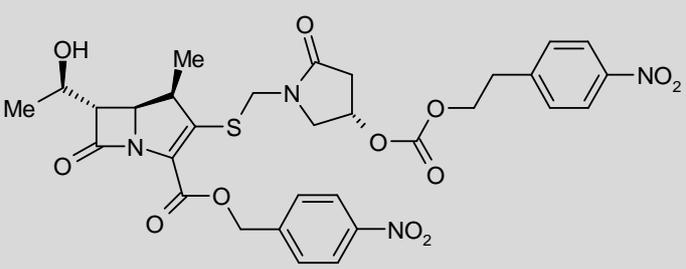
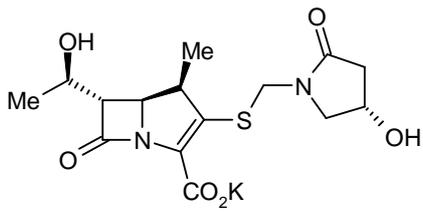
C1	-S	-C5	101.11(8)	S	-C1	-H1B	109.00
N2	-O1	-C3	109.25(11)	N1	-C1	-H1A	109.00
C1	-N1	-C2	128.54(13)	N1	-C1	-H1B	109.00
C1	-N1	-C3	123.05(14)	H1A	-C1	-H1B	108.00
C2	-N1	-C3	108.03(13)	C2	-C4	-H4A	109.00
O1	-N2	-C2	104.82(12)	C2	-C4	-H4B	109.00
S	-C1	-N1	112.85(11)	C2	-C4	-H4C	109.00
N1	-C2	-N2	112.00(14)	H4A	-C4	-H4B	109.00
N1	-C2	-C4	124.19(14)	H4A	-C4	-H4C	109.00
N2	-C2	-C4	123.74(15)	H4B	-C4	-H4C	109.00
O1	-C3	-O2	124.30(15)	C5	-C6	-H6A	109.00
O1	-C3	-N1	105.89(14)	C5	-C6	-H6B	109.00
O2	-C3	-N1	129.81(17)	C5	-C6	-H6C	109.00
S	-C5	-O3	122.84(12)	H6A	-C6	-H6B	109.00
S	-C5	-C6	112.39(12)	H6A	-C6	-H6C	109.00
O3	-C5	-C6	124.77(15)	H6B	-C6	-H6C	109.00
S	-C1	-H1A	109.00				

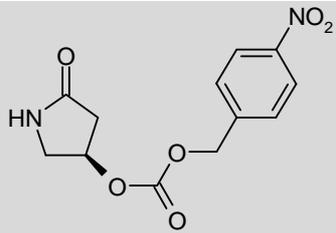
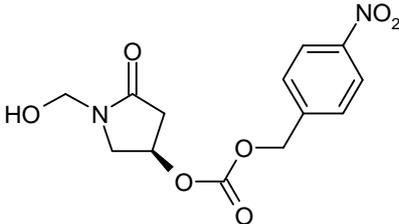
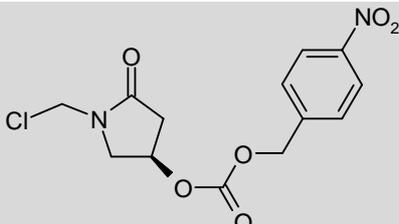
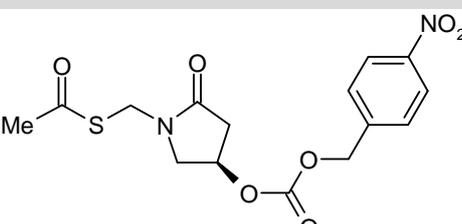
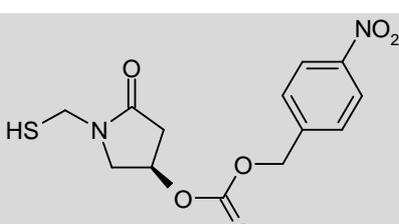
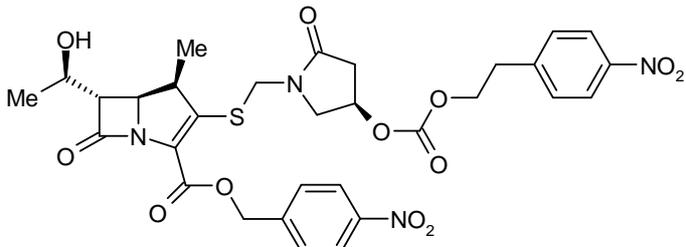
2 Abkürzungsverzeichnis

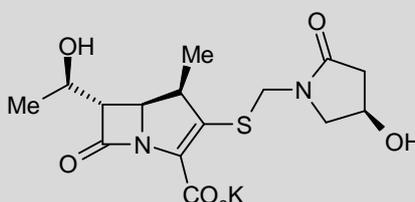
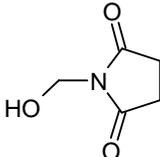
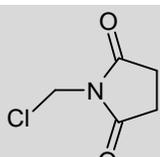
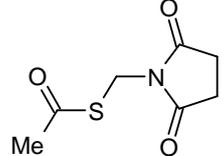
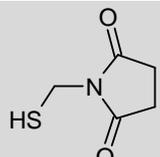
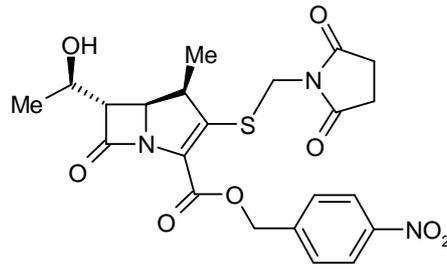
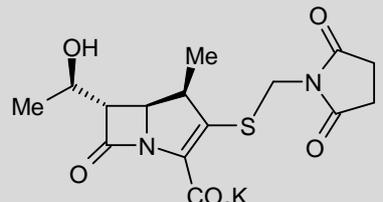
Ac	Acetyl
Äqu	Äquivalente
DC	Dünnschichtchromatogramm
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
EE	Essigsäureethylester
h	Stunde
HV	Hochvakuum
M	Molekülmasse
Me	Methyl
MHz	Megahertz
min	Minuten
<i>MRSA</i>	methicillinresistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	penicillin binding protein
Ph	Phenyl
<i>p</i> NBz	<i>para</i> -Nitrobenzyl
R _f	related to front
RT	Raumtemperatur
Smp	Schmelzpunkt
tr.	trockenes bzw. trockenem

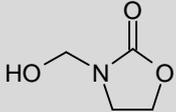
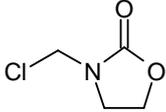
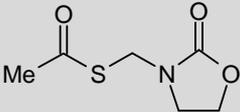
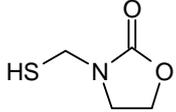
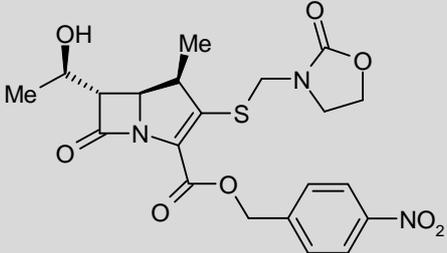
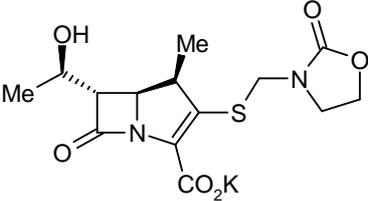
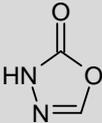
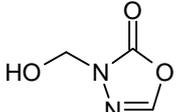
3 Strukturverzeichnis

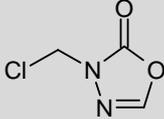
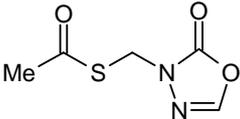
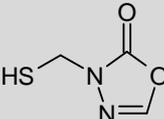
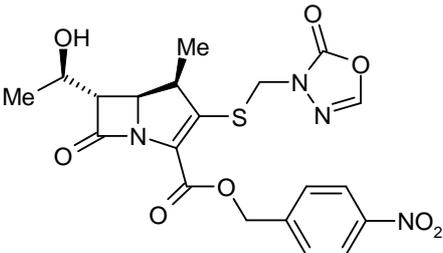
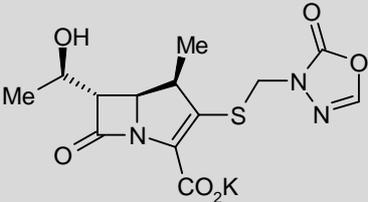
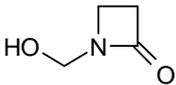
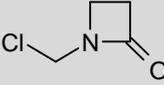
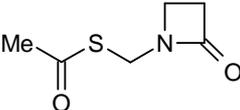
Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	7c	94
	8c	95
	2c	97
	3c	98
	4c	100
	5h	102

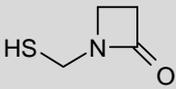
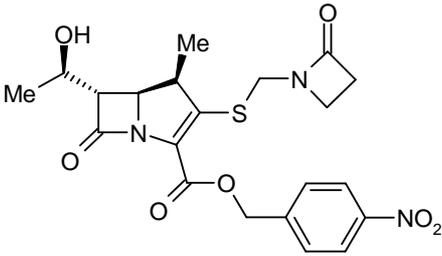
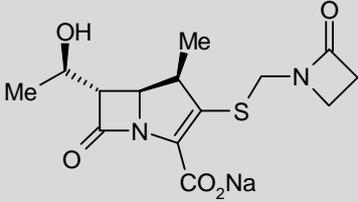
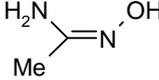
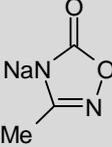
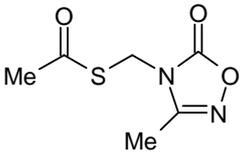
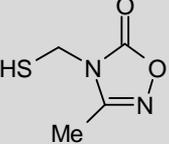
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	6h	104
	7h	105
	8h	107
	2h	108
	3h	110
	4a	112

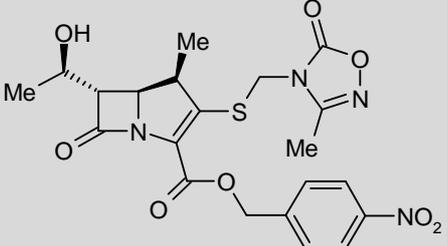
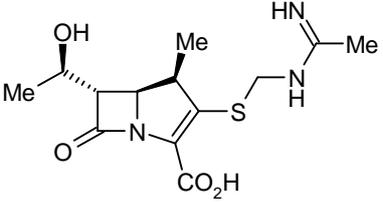
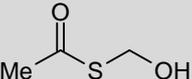
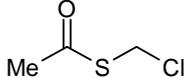
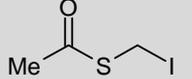
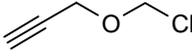
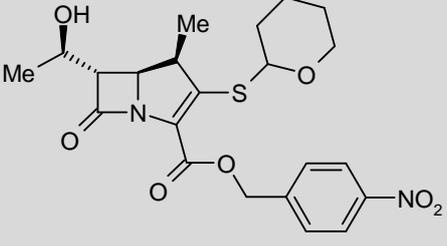
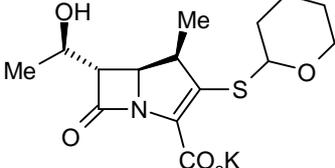
Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	5i	114
	6i	116
	7i	117
	8i	119
	2i	120
	3i	122

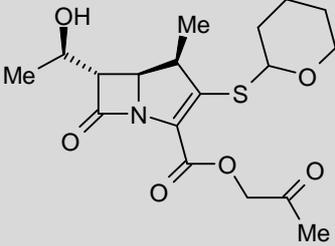
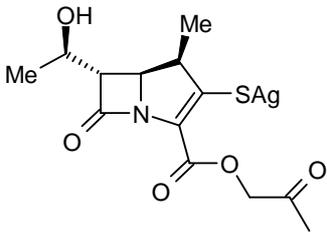
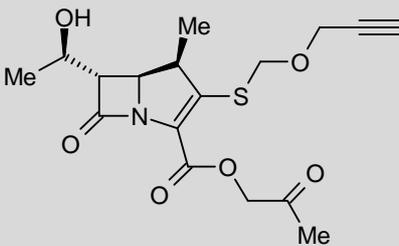
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	4b	124
	6d	126
	7d	127
	8d	128
	2d	130
	3d	131
	4d	133

Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	6e	135
	7e	136
	8e	137
	2e	139
	3e	140
	4e	142
	5f	144
	6f	145

Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	7f	146
	8f	148
	2f	149
	3f	151
	4f	153
	6g	155
	7g	156
	8g	157

Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	2g	159
	3g	160
	4g	162
	9	164
	10	165
	8j	166
	2j	168

Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	3j	169
	4j	171
	11	173
	12	174
	13	175
	7k	177
	14	178
	15	180

Struktur	Nummer	Seite im ExperimentellenTeil
	16	181
	17	184
	18	185

4 Literaturverzeichnis

- ¹ Römpp, *Chemielexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1996**, 10. Auflage.
- ² C. Friedrich, *Pharm. Unserer Zeit*, **2006**, 35, S. 392 – 398.
- ³ J. A. Fisher, *Krankmacher Antibiotika – Warum die Seuchen wiederkommen*, Deutscher Taschenbuch Verlag München, **1995**, S. 12.
- ⁴ K. H. Spitzky, *Die Geschichte des ersten säurestabilen Oralpenicillins (Penicillin V)*, 2000, URL: http://ahc-net.at/0001/antibiotika_monitor/3_00/3_00_1.htm, [Stand: 12.12.2004].
- ⁵ J. Friedrich, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, **2004**.
- ⁶ W. Dürckheimer, J. Blumbach, R. Lattrell, K. H. Scheunemann, *Angew. Chem.*, **1985**, 97, S. 183 - 205.
- ⁷ M. Alexander, C. Estler, F. Legler, *Antibiotika und Chemotherapeutika*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1990**, S. 41.
- ⁸ W. Stille, *Antibiotika-Therapie*, 10. Auflage, Schattauer, Stuttgart, **2005**, S. 104 – 105.
- ⁹ M. Endo, M. Hisaoka, H. Yasuda, I. Kawamoto, *J. Antibiot.*, **1997**, 50, S. 429.
- ¹⁰ W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Auflage, Elsevier – Urban & Fischer, München – Jena, **2005**, S. 791.
- ¹¹ H. Kropp, J. S. Kahan, F. M. Kahan, J. Sendelof, G. Darland, J. Birnbaum, Abstr. No 228.
- ¹² J. R. Edwards, M. J. Betts, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2000**, 45, S. 1 – 4.
- ¹³ H. J. Roth, H. Fenner, *Arzneistoffe*, 3. überarbeitete Auflage, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, **2000**, S. 3 - 35.
- ¹⁴ C. Walsh, *Nature*, **2000**, 406, S. 775 - 781.
- ¹⁵ D. Voeth, J. G. Voeth, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S. 3 - 4.
- ¹⁶ E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, Stuttgart, **2008**, S. 794 -809.
- ¹⁷ C. Mayer, *Biospektrum*, **2005**, 11, S. 616 – 619.
- ¹⁸ P. Heisig, *Pharm. Unserer Zeit*, **2006**, 35 (5), S. 400 -408.
- ¹⁹ Deutsche Enzyklopädie: Gramfärbung, 2004, URL: http://www.calsky.com/lexikon/de/txt/g/gr/gram_fa_rbung.php, [Stand: 15.12.2004].
- ²⁰ W. Weidel, H. Pelzer, *Adv. Enzymol.*, **1964**, 26; S. 193 – 232.

- ²¹ Wikipedia: Peptidoglycane, <http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Bild:MurK2j.jpg&filetimestamp=20040804135540>, [Stand: 22.07.2008].
- ²² URL: <http://sandwalk.blogspot.com/2007/06/how-penicillin-works-to-kill-bacteria.html>; [Stand: 13.07.2008].
- ²³ T. Wickelhaus, *Antibiotika – Moderne Therapiekonzepte*, 1. Auflage, UNI-MED Verlag, Bremen, **2004/2005**, S. 14 – 57.
- ²⁴ W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, **2004**, S. 784 – 788.
- ²⁵ U. Theuretzbacher, *Pharm. Unserer Zeit*, **2006**, 35 (5), S. 416 – 421.
- ²⁶ J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, 6. Auflage, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2007**, S. 270 – 280.
- ²⁷ T. J. Franklin, G. A. Snow, *Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action*, 6. Auflage, Springer Science&Business Media, Inc, New York, **2005**, S. 155.
- ²⁸ M. Hesse, H. Meier. B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1995**, S. 51.
- ²⁹ J. Birnbaum, F. M. Kahan, H. Kropp, *Am. J. Med.*, **1985**, 78 (suppl. 6A), S. 3 – 21.
- ³⁰ G. Fuchs, *Allgemeine Mikrobiologie*, 8. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart – New York, **2006**, S. 50.
- ³¹ F. H. Kayser, K. A. Bienz, J. Eckert, J. Lindenmann, *Medizinische Mikrobiologie*, 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, **1989**, S.138.
- ³² A. Bryskier, *Antimicrobial agents*, ASM Press, Washington, D. C., **2005**, S. 42 – 43.
- ³³ A. Bryskier, *Antimicrobial agents*, ASM Press, Washington, D. C., **2005**, S. 121.
- ³⁴ H. J. Linde, N. Lehn, *Pharm. Unserer Zeit*, **2006**, 35 (5), S. 422 .
- ³⁵ P. Meyer, *Pharm. Ztg.*, **1993**, 138, S. 915 – 921.
- ³⁶ W. Stille, Brodt, Groll, Just-Nübling; *Antibiotika-Therapie*, 11. Auflage, Schattauer, Stuttgart, **2005**, S. 392, 408.
- ³⁷ C. Wendt, H. Rüden, M. Edmond, *Deutsches Ärzteblatt*, **1998**, 95 (25), S. a1604 – 1611.
- ³⁸ B. G. Christensen, D. B. R. Johnston, S. M. Schmitt (Merck and Co., Inc., USA), *Eur. Pat. Appl.*, **1980**, EP 17992.
- ³⁹ M. Miyauchi, R. Endo, M. Hisaoka, H. Yasuda, i. Kawamoto, *J. Antibiot.*, **1997**, 50 (5), S. 429 – 439.

- ⁴⁰ W. Gregory, D. Brittelli, C.-L. Wang, H. Kezar, R. Carlson, C.H. Park, P. Corless, S. Miller, P. Rajagopalan, M. Wuonola, R. McRipley, V. Eberly, A. Slee, M. Forbes, *J. Med. Chem*, **1990**, *33*, S. 2569 – 2578.
- ⁴¹ S. Erdem, G. Altinbaş, M. Saçan, *Theochem*, **2005**, *76*, S. 233.
- ⁴² W. Dürkheimer, J. Blumbach, R. Lattrell, K.H. Scheunemann, *Angew. Chem*, **1985**, *97*, S.197 – 200.
- ⁴³ W. Stewart, *Nature*, **1971**, *229*, S. 174 – 178.
- ⁴⁴ H. Aoki, K. Kunugita, J. Hosoda, H. Imanaka, Jpn., *J. Antibiot.*, **1977**, *30*, S. 207.
- ⁴⁵ A. Bryskier, *Antimicrobial agents*, ASM Press, Washington, D. C., **2005**, S. 336 - 339.
- ⁴⁶ A. Gayring, Dissertation, Ludwig Maximilians Universität München, **2001**.
- ⁴⁷ H. R. Pfaendler, *Eur. Pat. Appl.*, **2000**, EP0976752 A1.
- ⁴⁸ E. Grunwald, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, S. 4710.
- ⁴⁹ D. B. R. Johnston, S. M. Schmitt, F. A. Bouffard, B. G. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, S. 314.
- ⁵⁰ C. Zezza, T. Kwon, J. Sheu, M. Smith, *Heterocycles*, **1992**, *34*, S. 1325 – 1341.
- ⁵¹ L. D. Cama, B. G. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, S. 8006 – 8007.
- ⁵² A. Einhorn, E. Bischkopff, B. Bzelinski, *Liebigs Ann. Chem.*, **1905**, *343*, S. 207 – 305.
- ⁵³ B. Rigo, B. Quillacq, E. Fossaert, N. Kolocouris, *J. Heterocycl. Chem.*, **1984**, *Fr, 21*, S. 1393 - 1396.
- ⁵⁴ J. Getz, R. Pranker, K. Sloan, *J. Org. Chem*, **1993**, *58*, S. 4914.
- ⁵⁵ E. Cherbuliez, E. G. Sulzer, *Helv. Chim. Acta*, **1925**, *8*, S. 567.
- ⁵⁶ K. Rüfenacht, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, *55*, S. 1174 – 1178.
- ⁵⁷ A. Dornow, K. Bruncken, *Chem. Ber.*, **1949**, *82*, S. 121.
- ⁵⁸ E. Valente, J. R. B. Gomes, R. Moreira, J. Iley, *J. Org. Chem*, **2004**, *69*, S. 3366.
- ⁵⁹ J. Mansson, *Tetrahedron Lett.*, **1982**, *23*, S. 1845 – 1846.
- ⁶⁰ W. Gregory, D. Brittelli, C. Wang, H. Kezar, K. Carlson, R. Park, P. Corless, S. Miller, P. Rajagopalan, *J. Med. Chem*, **1990**, *33*, S. 2577.
- ⁶¹ S. Nishimura, *Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, u. a. New York, **2001**, S.53 - 59.

- ⁶² W. Leanza, K. Wildonger, J. Hannah, D. Shih, R. Ratcliffe, L. Barash, W. Walton, R. Firestone, G. Patel, F. Kahan, J. Kahan, B. Christensen in *Recent advances in the chemistry of β -Lactam Antibiotics*, Second International Symposium, Hrsg.: G. Gregory, **1980**, The Royal Society of Chemistry, London, S. 240 – 254.
- ⁶³ R. Bolton, S. Coote, H. Finch, A. Lowdon, N. Pegg, V. Vinader, *Tetrahedron Letters*, **1995**, *36*, S. 4471-4474.
- ⁶⁴ T. Shinkai, R. Reamer, F. Hartner, T. Liu, M. Sletzinger, *Tetrahedron Letters*, **1982**, *23*, S. 4903 – 4906.
- ⁶⁵ K. Henery-Logan, S. Abdoul-Sabet, *J. Org. Chem*, **1973**, *38*, S. 916 – 920.
- ⁶⁶ R. Hett, R. Krämer, I. Vaulont, K. Leschinsky, J. Snyder, P. Kleine, *Organic Process & Development*, **2002**, *6*, S. 896 – 897.
- ⁶⁷ B. Kübel, *Monatsh. Chem.*, **1982**, *113*, S. 781-792.
- ⁶⁸ D. Botlan, B. Mechin, G. Martin, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, S. 587 – 591.
- ⁶⁹ A. Moormann, J. Wang, K. Palmquist, M. Promo, J. Snyder, J. Scholten, M. Massa, J. Sikorski, R. Webber, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, S. 10907 – 10914.
- ⁷⁰ H. Böhme, H. Bezenberger, M. Clement, A. Dick, E. Nürnberg, W. Schlephack, *Liebigs Ann. Chem.*, **1958**, *623*, S. 92 -102.
- ⁷¹ H. R. Pfaendler, J. Gosteli, R. B. Woodward, G. Rihs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, S. 4526 - 4531.
- ⁷² M. Alain, C. Bachand, J.-P. Daris, Eur. Pat. Appl., **1992**, EP0481511.
- ⁷³ A. Ozerov, A. Brel, *Chem. Heterocycl. Compd*, **1993**, *29*; S. 684 -686.
- ⁷⁴ P.W. Atkins, *Physikalische Chemie*, 1. Auflage, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1990**, S. 710.
- ⁷⁵ R. Schmid, V. N. Sapunov, *Non-Formal Kinetics*, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel, **1982**, S. 1-14.
- ⁷⁶ T. Wieland, C. Mayer, Gattermann-Wieland: *Die Praxis des organischen Chemikers, Teil I – Allgemeine Arbeitsanweisungen*, 42. Auflage, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York, **1972**, S. 154.
- ⁷⁷ R. Reimer in *Methodicum Chemicum: Vitamins and Hormons*, Hrsg.: F. Korte, M. Goto, Thieme Verlag, Stuttgart, **1977**, S. 11.

⁷⁸ E. Wasielewski in *Arzneimittel*, Bd 4, *Chemotherapeutica* Teil 1, Hrsg.: G. Erhard, H. Ruschig, 2. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, **1972**.

⁷⁹ J. Getz, R. Prankerd, K. Sloan, *J. Org. Chem*, **1993**, 58, S. 4914.

⁸⁰ R. Lenaers, C. Moussebois, F. Eloy, *Helv. Chim. Acta*, **1962**, 45, S. 441.

