

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 298 246

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1998-1918  
(22) Přihlášeno: 20.12.1996  
(30) Právo přednosti: 21.12.1995 JP 1995/333135  
20.11.1996 JP 1996/308940  
(40) Zveřejněno: 16.09.1998  
(Věstník č. 9/1998)  
(47) Uděleno: 21.06.2007  
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: 01.08.2007  
(Věstník č. 31/2007)  
(86) PCT číslo: PCT/JP1996/003726  
(87) PCT číslo zveřejnění: WO 1997/023483

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.:  
C07D 487/04 (2006.01)  
A61K 31/40 (2006.01)  
A61P 31/04 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:  
EP 0182213.

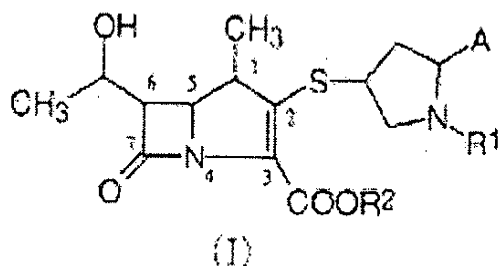
(73) Majitel patentu:  
SANKYO COMPANY LIMITED, Tokyo, JP

(72) Původce:  
Kawamoto Isao, Tokyo, JP  
Shimoji Yasuo, Tokyo, JP  
Ishikawa Katsuya, Tokyo, JP  
Kojima Katsuhiko, Tokyo, JP  
Yasuda Hiroshi, Tokyo, JP  
Ohya Satoshi, Tokyo, JP  
Utsui Yukio, Tokyo, JP

(74) Zástupce:  
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,  
14000

(54) Název vynálezu:  
**Deriváty 1-methylkarbapenu, způsob jejich  
přípravy a farmaceutické prostředky, které je  
obsahují**

(57) Anotace:  
Předkládaný vynález se týká 1-methylkarbapenemových  
derivátů obecného vzorce I. Uvedené sloučeniny mají  
vynikající antibakteriální účinky prostředků pro prevenci nebo  
léčbu infekčních onemocnění, které obsahují kterýkoliv z  
uvedených derivátů jako účinnou složku. Použití uvedených  
derivátů při přípravě léku použitého pro prevenci nebo léčbu  
infekčních chorob.



CZ 298246 B6

## Deriváty 1-methylkarbapenu, způsob jejich přípravy a farmaceutické prostředky, které je obsahují

### 5 Oblast techniky

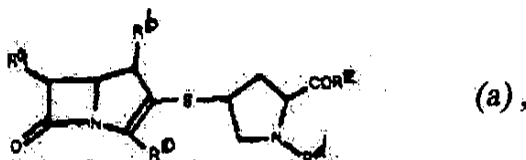
Předkládaný vynález se týká derivátů 1-methylkarbapenu mající vynikající antibakteriální účinky, prostředků pro prevenci nebo léčbu infekčních onemocnění, které obsahují kterýkoliv z uvedených derivátů jako účinnou složku, použití uvedených derivátů při přípravě léku použitého pro prevenci nebo léčbu infekčních chorob a postup prevence nebo léčby, který zahrnuje podávání farmakologicky účinného množství některého z uvedených derivátů teplokrevným živočichům.

### 15 Dosavadní stav techniky

V současných pracích (H. Kropp a spol., *Antimicrob. Agents, Chemother.*, **22**, 62 (1982); S. R. Norrby a spol., *tamtéž*, **23**, 300 (1983)) je uvedeno, že derivátu thienamycinu mají vynikající antibakteriální účinek, ale že ztrácejí svůj účinek následkem rozkladu dehydropeptidázou I, která je inaktivujícím enzymem derivátů thienamycinu přítomným v lidském těle vykazujícím pomalou schopnost regenerace moči.

Dále je známo, že imipenem, který je jedním z derivátů thienamycinu, je příčinou nefrotoxicity. Sloučeniny, které mohou vyléčit tyto poruchy a které projevují vynikající antibakteriální účinek, jsou nyní ve stádiu výzkumu. Byly objeveny deriváty karbapenu mající methylovou skupinu na 1-pozici karbapenového jádra a 2-substituovanou pyrrolidin-4-ylthio skupinu na 2-pozici, viz. např. s US-5 122 604, japonskou patentovou přihláškou Kokai Hei 5-339 269, japonskou patentovou přihláškou Kokai Hei 6-172 356, EP-A-0 126 587, EP-A-0 182 213, EP-A-0 442 497, EP-A-0 449 191, EP-A-0 518 588, EP-A-0 560 613, EP-A-0 641 793, WO-A-95,10 520, GB-A-2 279 073 a japonskou patentovou přihláškou Kokai Hei 6-199 860.

JP-A-93,31 0740 popisuje karbapenové deriváty vzorce a



(kde R<sup>a</sup> představuje alkylovou skupinu nebo případně chráněnou hydroxyalkylovou skupinu; R<sup>b</sup> představuje atom vodíku nebo alkylovou skupinu; R<sup>c</sup> představuje případně esterifikovanou karboxylovou skupinu; R<sup>d</sup> představuje amin-chránící skupinu, atom vodíku nebo alkylovou skupinu; R<sup>e</sup> představuje substituovanou cyklickou aminoskupinu) a jejich soli. Z těchto sloučenin nejbližší sloučenina k sloučeninám podle předkládaného vynálezu je sloučenina připravená v příkladu 18.

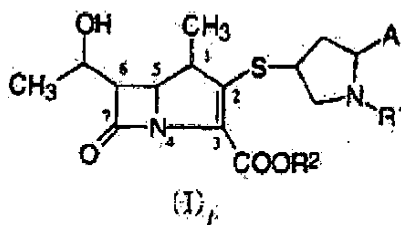
40

### Podstata vynálezu

Uvedení vynálezci se zabývali výzkumem sloučeniny, která by překonala výše uvedené nedostatky derivátů thienamycinu a která projevuje silný antibakteriální účinek. Předložený vynález poskytuje novou řadu derivátů 1-methylkarbapenu I, které vykazují vynikající antibakteriální účinek a metabolickou stabilitu (zlepšenou schopnost obnovy moči a vyšší stabilitu proti působení dehydropeptidázy I a  $\beta$ -laktamázy) a také projevují nízkou nefrotoxicitu. Sloučeniny I jsou velmi účinné při prevenci nebo léčbě infekčních chorob.

Předložený vynález poskytuje novou řadu derivátů 1-methyl-karbapenemu, prostředky pro prevenci nebo léčbu infekčních chorob obsahující uvedené deriváty jako účinnou složku, použití derivátů při přípravě farmaceutických prostředků určených pro prevenci nebo léčbu infekčních chorob, způsob prevence nebo léčby infekčních chorob, který zahrnuje podávání farmakologicky účinného množství derivátů teplokrevným živočichům, a syntetický proces přípravy těchto derivátů.

Derivát 1-methylkarbapenemu podle předloženého vynálezu je představen následujícím vzorcem I



10

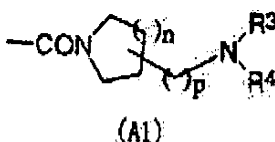
kde

R<sup>1</sup> představuje atom vodíku nebo C<sub>1-4</sub>alkylovou skupinu,

R<sup>2</sup> představuje atom vodíku nebo esterový zbytek, který může být hydrolyzován *in vivo*, vybraný ze skupiny, kterou tvoří acyloxyalkylová obsahující C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu která je substituována C<sub>1-6</sub> alkanoylovou skupinou, která může být substituována C<sub>3-6</sub> cykloalkylovou skupinou, alkoxykarbonyl-oxyalkylová skupina obsahující C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu, která je substituována C<sub>1-8</sub> alkoxykarbonyloxyskupinou nebo C<sub>1-8</sub> cykloalkoxykarbonyloxyskupinou, ftalidylová skupina nebo 1-(2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)alkylová skupina, která může být substituována v 5-poloze C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinou nebo arylou skupinou;

20

A představuje skupinu vzorce A1;



25

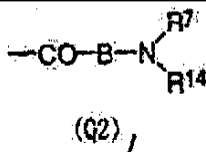
kde ve vzorci A1:

n nabývá hodnoty 0, 1 nebo 2,

p nabývá hodnoty 0, 1 nebo 2,

R<sup>3</sup> představuje atom vodíku nebo C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu

R<sup>4</sup> představuje skupinu Q2;



30

kde ve vzorci Q2,

B představuje fenylenovou, fenylenalkylovou skupinu, kde uvedená alkylová část je C<sub>1-3</sub> alkylová skupina, cyklohexylenovou, cyklohexylenalkylovou skupinu, kde uvedená alkylová část je C<sub>1-3</sub> alkylová skupina nebo C<sub>1-5</sub> alkyleneovou skupinu, která může mít jeden až tři

35

substituenty, které jsou stejné nebo vzájemně rozdílné a jednotlivě představují amino-  
skupinu, hydroxylovou skupinu, cyklohexylalkylovou skupinu, kde uvedená alkylová část je  
C<sub>1-3</sub> alkylová skupina, C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu, fenyllovou skupinu nebo benzylovou skupinu,

5 R<sup>7</sup> představuje atom vodíku nebo C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu;

R<sup>14</sup> představuje skupinu vzorce -C(=NH)R<sup>8</sup>, kde R<sup>8</sup> představuje atom vodíku, C<sub>1-4</sub> alkylo-  
vou skupinu nebo skupinu vzorce -NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>, kde R<sup>9</sup> a R<sup>10</sup> jsou stejné nebo vzájemně rozdílné  
10 a jednotlivě představují atom vodíku nebo C<sub>1-4</sub> alkylovou skupinu, nebo jejich farmaceutic-  
ky přijatelnou soli

Příklady „C<sub>1-4</sub> alkylové skupiny“, která je uváděná v definicích R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> a R<sup>14</sup>  
zahrnují methylovou, ethylovou, propylovou, izopropylovou, butylovou, izobutylovou,  
15 sek-butylovou a terc-butylovou skupinu, přičemž methylové a ethylové skupiny jsou výhodné  
a nejvýhodnější je methylová skupina.

R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>9</sup> a R<sup>10</sup> výhodně představují atom vodíku, methylovou a ethylovou skupinu, z nichž  
výhodný je atom vodíku a methylová skupina a nejvýhodnější je atom vodíku.

20 Příklady „skupiny představované obecným vzorcem -NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>“ v definici R<sup>8</sup> mohou zahrnovat  
aminoskupinu, methylaminoskupinu, dimethylaminoskupinu, ethylaminoskupinu a diethylamino-  
skupinu, z nichž výhodná je aminoskupina.

Příklady R<sup>8</sup> zahrnují atom vodíku, methylovou skupinu, ethylovou skupinu, aminoskupinu,  
25 methylaminoskupinu, dimethylaminoskupinu, ethylaminoskupinu a diethylaminoskupinu, z nichž  
jsou výhodné atom vodíku, methylová skupina a aminoskupina, přičemž aminoskupina je nejvý-  
hodnější.

Příklady „skupiny představované obecným vzorcem -C(=NH)R<sup>8</sup>“ v definici R<sup>14</sup> zahrnují formi-  
30 midoyl, acetimidoyl a amidinovou skupinu, přičemž amidinová skupina je výhodná.

Příklady R<sup>14</sup> zahrnují formimidoylovou, acetimidoylovou a amidinovou skupinu, z nichž amidi-  
nová skupina je nejvýhodnější.

35 Příklady „fenylenové skupiny“ uvedené v definici B mohou zahrnovat 1,2-fenylenovou,  
1,3-fenylenovou a 1,4-fenylenovou skupinu, z nichž výhodná je 1,4-fenylenová skupina.

Příklady „cyklohexylenové skupiny“ uvedené v definici B mohou zahrnovat 1,2-cyklohexyleno-  
40 vovou, 1,3-cyklohexylenovou a 1,4-cyklohexylenovou skupinu, z nichž výhodná je 1,4- cyklo-  
hexylenová skupina.

„Alkylová“ část „fenylenalkylové skupiny“ nebo „cyklohexylenalkylové skupiny“ uvedené  
v definici B představuje lineární nebo rozvětvenou C<sub>1-3</sub> alkylovou skupinu. Příklady mohou zahr-  
45 novat methylovou, ethylovou a propylovou skupinu, z nichž je výhodná methylová a ethylová  
skupina a methylová skupina je nejvýhodnější.

Příklady shora uvedené „fenylenalkylové skupiny“ mohou zahrnovat 1,4-fenylenmethylovou,  
1,4-fenylenethylovou, 1,4-fenylenpropylovou, 1,3-fenylenmethylovou, 1,3-fenylenethylovou,  
50 1,2-fenylenmethylovou a 1,2-fenylenethylovou skupinu, z nichž výhodná je 1,4-fenylnmethylová  
skupina.

Příklady shora uvedené „cyklohexylenalkylové skupiny“ mohou zahrnovat 1,4-cyklohexylen-  
methylovou, 1,4-cyklohexylenethylovou, 1,4-cyklohexylenpropylovou, 1,3-cyklohexylen-  
methylovou, 1,3-cyklohexylenethylovou, 1,2-cyklohexylenmethylovou a 1,2-cyklohexylen-  
55 ethylovou skupinu, z nichž výhodná je 1,4-cyklohexylenmethylová skupina.

„Alkylenová“ část „alkylenové skupiny, která může mít jeden až tři substituenty“ v definici B znamená lineární  $C_{1-5}$  alkylenovou skupinu. Příklady mohou zahrnovat methylenovou, ethylenovou, trimethylenovou, tetramethylenovou a pentamethylenovou skupinu, z nichž methylenová, ethylenová, trimethylenová a tetramethylenová skupina jsou výhodné, methylenová, ethylenová a trimethylenová skupina jsou výhodnější a methylenová skupina je nejvýhodnější.

„Alkylová“ část „cyklohexylalkylové skupiny“ „substituentů“ shora uvedené alkylenové skupiny je lineární  $C_{1-3}$  alkylová skupina. Příklady zahrnují methylovou, ethylovou a propylovou skupinu, z nichž výhodná je methylová skupina.

Příklady shora uvedené „cyklohexylalkylové skupiny“ mohou zahrnovat cyklohexylmethylovou, cyklohexylethylovou a cyklohexylpropylovou skupinu, z nichž výhodná je cyklohexylmethylová skupina.

„Alkylová skupina“ „substituentů“ shora popsané alkylenové skupiny je lineární nebo rozvětvená  $C_{1-4}$  alkylová skupina. Příklady mohou zahrnovat methylovou, ethylovou, propylovou, izopropylovou, butylovou, izobutylovou, sek-butylovou a terc-butylovou skupinu, z nichž methylová, ethylová, izopropylová a izobutylová skupina je výhodná, methylová a izobutylová skupina jsou výhodnější a methylová skupina je nejvýhodnější.

Příklady B zahrnují 1,4-fenylenovou, 1,4-cyklohexylenmethylovou, methylenovou, methylmethylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenovou, trimethylenovou a 2-hydroxypropylenovou skupinu, z nichž methylenová, methylmethylenová skupina ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenová, trimethylenová a 2-hydroxypropylenová skupina jsou výhodné, methylenová, methylmethylenová ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ) a ethylenová skupina jsou výhodnější a methylenová skupina je nejvýhodnější.

Výraz „esterový zbytek, který může být hydrolyzován *in vivo*“ uvedený v definici  $R^2$  označuje skupinu, která může být hydrolyzovaná chemickou nebo biologickou metodou, např. hydrolyzou v živém organismu, přičemž je získána volná kyselina nebo její sůl. Požadované vlastnosti derivátu mohou být zjištěny podáním tohoto derivátu zvířatům, např. krysám nebo myším, nitrožilními injekcemi a studiem přítomnosti původního derivátu nebo jeho farmakologicky akceptovatelné soli v tělesné kapalině těchto zvířat po podání derivátu. Příklady takových esterových zbytků zahrnují acyloxyalkylovou, alkoxykarbonyloxyalkylovou, ftalidylovou skupinu a (2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)alkylovou skupinu, která může mít alkylovou nebo arylovou skupinu v 5-poloze.

„Azylová“ část „acyloxyalkylové skupiny“ představuje lineární nebo rozvětvenou  $C_{1-6}$  alkanoylovou skupinu, která může být substituována  $C_{3-6}$  cykloalkylovou skupinou, zatímco alkylová část představuje lineární nebo rozvětvenou  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu. Příklady acyloxyalkylové skupiny mohou zahrnovat pivaloyloxymdethylovou, izobutyryloxymethylovou, 1-(izobutyryloxy)ethylovou, acetoxymethylovou, 1-(acetoxy)ethylovou, 1-methylcyklohexylkarbonyloxymethylovou, 1-methylcyklopentylkarbonyloxymethylovou, 2-ethylbutyryloxymethylovou a hexanoyloxymethylovou skupinu, z nichž výhodná je pivaloyloxymethylová, acetoxymethylová a 1-methylcyklohexylkarbonyloxymethylová skupina.

„Alkoxylová“ část „alkoxykarbonyloxyalkylové skupiny“ představuje lineární nebo rozvětvenou  $C_{1-8}$  alkoxy nebo cykloalkyloxy skupinu, zatímco alkylová část představuje lineární nebo rozvětvenou  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu. Příklady alkoxykarbonyloxyalkylové skupiny mohou zahrnovat terc-butoxykarbonyloxymethylovou, 1-(methoxykarbonyloxy)ethylovou, 1-(ethoxykarbonyloxy)ethylovou, 1-(izopropoxykarbonyloxy)ethylovou, 1-(terc-butoxykarbonyloxy)ethylovou, 1-(cyklohexylkarbonyloxy)ethylovou a 1-(cyklopentylkarbonyloxy)ethylovou skupinu, z nichž 1-(izopropoxykarbonyloxy)ethylová a 1-(cyklohexylkarbonyloxy)ethylová skupina je výhodná.

Příklady 1-(2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)alkylové skupiny, které mohou mít alkylovou nebo arylou skupinu v 5-poloze mohou zahrnovat 2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylovou, 1-(2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)ethylovou, 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl-methylovou, 1-(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)ethylovou, 5-ethyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylovou, 5-propyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylovou a 5-fenyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylovou skupinu, z nichž výhodná je 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylová skupina.

$R^2$  výhodně představuje atom vodíku nebo esterový zbytek, který může být hydrolyzován *in vivo*. Výhodné příklady esterového zbytku zahrnují 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmethylovou, acetoxymethylovou, pivaloyloxymethylovou, 1-methylcyklohexylkarbonyloxymethylovou, 1-(izopropoxykarbonyloxy)ethylovou a 1-(cyklohexyloxykarbonyloxy)ethylovou skupinu, z nichž nejvýhodnější je atom vodíku.

$n$  výhodně nabývá hodnoty 0 nebo 1, nejvýhodnější hodnota  $n$  je 1.

$p$  výhodně nabývá hodnoty 0 nebo 1, nejvýhodnější hodnota  $p$  je 0.

Ve skupině vyjádřené vzorcem A1 neplatí žádné zvláštní omezení polohy substituentu skupiny představované vzorcem  $-(CH_2)_pNR^3R^4$ . Když  $n$  nabývá hodnoty 0, potom je výhodná 3-položka kruhu obsahujícího dusík (azetidín). Když  $n$  nabývá hodnoty 1, potom je výhodná 3-položka kruhu obsahujícího dusík (pyrrolidín). Když  $n$  nabývá hodnoty 2, potom je výhodná 3- nebo 4-položka kruhu obsahujícího dusík (piperidín).

V případě potřeby sloučenina I může být přeměněna na její farmakologickou sůl. Příklady farmakologicky akceptovatelných solí zahrnují soli minerálních kyselin, takové jako hydrochlorid, hydrobromid, hydrojodid, fosfát, síran a dusičnan; sulfonáty, jako methansulfonát, ethansulfonát, benzensulfonát a *p*-toluensulfonát; kyselé adiční soli, například soli organických kyselin, jako oxalát, vinan, citrát, maleát, sukcinát, acetát, benzoát, mandelát, askorbát, laktát, glukonát a maleát; soli aminokyselin, jako glycinová sůl, lysinová sůl, argininová sůl, ornitinová sůl, glutamát a aspartát; anorganické soli, jako lithiová sůl, sodná sůl, draselná sůl, vápenatá sůl a horečnatá sůl; a soli s organickými bázemi, jako je amoniová sůl, triethylaminová sůl, diizopropylaminová sůl a cyklohexylaminová sůl. Z uvedených solí jsou výhodné hydrochlorid, hydrobromid, fosfát, sulfát, methansulfonát, *p*-toluensulfonát, oxalát, vinan, citrát, acetát, laktát, glutamát, aspartát, sodná sůl, draselná sůl, amoniová sůl a triethylaminová sůl, přičemž hydrochlorid, sulfát, methansulfonát, citrát, acetát a laktát jsou výhodnější a hydrochlorid a sulfát jsou nejvýhodnější.

Jestliže je sůl sloučeniny I ponechána působení vzduchu, dochází k vytvoření hydrátu nebo produktu absorbujícího vodu. Tato se připraví lyofylizací vodného roztoku nebo rekrystalizací. Takové soli jsou rovněž zahrnuty do předkládaného vynálezu.

Sloučenina vzorce I podle předkládaného vynálezu zahrnuje izomer a směs izomerů. Výhodným příkladem izomeru je sloučenina, která má *R* konfiguraci v 1-poloze; (5*S*,6*S*) konfiguraci v 5- a 6-poloze podobně jako u thienamycinu a *R* konfiguraci v  $\alpha$ -poloze mající hydroxylovou skupinu v substituentu v 6-poloze. Konfigurace (2*S*,4*S*) snadno zavedená z (2*S*,4*R*)-4-hydroxyprolinu je výhodná jako 2- a 4-položka pyrrolidinové části substituentu v 2-poloze karbapenemových derivátů.

Výhodnými sloučeninami majícími vzorec I jsou následující sloučeniny:

(1) sloučeniny, ve kterých  $R^1$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu;

(2) sloučeniny, ve kterých  $R^1$  představuje atom vodíku;

(3) sloučeniny, ve kterých  $R^2$  představuje atom vodíku;

- (4) Sloučeniny, kde A je představované vzorcem A-1,  $R^4$  je skupina představovaná Q2 a
- (4-1) n nabývá hodnoty 0 nebo 1,
- (4-2) p nabývá hodnoty 0 nebo 1,
- 5 (4-3) p nabývá hodnoty 0,
- (4-4)  $R^3$  představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,
- (4-5)  $R^3$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,
- (4-6)  $R^3$  představuje atom vodíku,
- (4-7)  $R^7$  představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,
- 10 (4-8)  $R^7$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,
- (4-9)  $R^7$  představuje atom vodíku,
- (4-10)  $R^{14}$  představuje formimidoylovou, acetimidoylovou nebo amidinovou skupinu,
- (4-11)  $R^{14}$  amidinovou skupinu,
- (4-12) B představuje 1,4-fenylenovou, 1,4-cyklohexylenmethylovou, methylenovou, methyl-
- 15 methylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu,
- (4-13) B představuje methylenovou, methylmethylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu,
- (4-14) B představuje methylenovou, methylmethylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ) nebo ethylenovou skupinu, a
- 20 (4-15) B představuje methylenovou skupinu;

Dále jsou vhodné sloučeniny, které jsou získané kombinací jakýchkoli prvků (1) až (4). Příkladem takových sloučenin jsou:

- 25 (1) sloučeniny doložené kombinací volně zvolené ze skupin zahrnujících: (1)-(2), (3), (4-1), (4-2), (4-3), (4-4)-(4-6), (4-7)-(4-9), (4-10) - (4-11) a (4-12) - (4-15).

Příklady jsou uvedeny dále:

- 30 (1)-1: Sloučeniny kde:

- $R^1$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,
- 35  $R^2$  představuje atom vodíku,
- A představuje vzorec A1,  $R^4$  představuje skupinu vzorce Q2,
- n nabývá hodnoty 0 nebo 1,
- 40 p nabývá hodnoty 0 nebo 1,

- $R^3$  představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,
- 45  $R^7$  představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,
- $R^{14}$  představuje formimidoylovou, acetimidoylovou nebo amidinovou skupinu, a

- B představuje 1,4-fenylenovou, 1,4-cyklohexylenmethylovou, methylenovou, methyl-
- 50 methylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu.

(1)-2: Sloučeniny, kde:

- 5  $R^1$  představuje atom vodíku,  
 $R^2$  představuje atom vodíku,  
 A představuje skupinu reprezentovanou vzorcem A1,  $R^4$  je skupina představená vzorcem Q2,  
 10 n nabývá hodnoty 0 nebo 1,  
 p nabývá hodnoty 0,  
 15  $R^3$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,  
 $R^7$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,  
 $R^{14}$  představuje amidinovou skupinu, a  
 20 B představuje methylenovou, methylmethylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ), ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu.

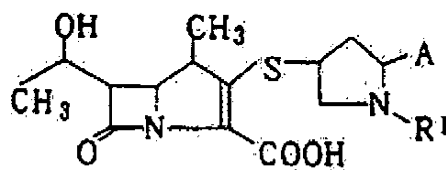
(1)-3: Sloučeniny, kde

- 25  $R^1$  představuje atom vodíku,  
 $R^2$  představuje atom vodíku,  
 30 A je skupina představovaná vzorcem A1,  $R^4$  je skupina představovaná Q2,  
 n nabývá hodnoty 0 nebo 1,  
 p nabývá hodnoty 0,  
 35  $R^3$  představuje atom vodíku,  
 $R^7$  představuje atom vodíku,  
 40  $R^{14}$  představuje amidinovou skupinu, a  
 B představuje methylenovou, methylmethylenovou ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ) nebo ethylenovou skupinu:

45 Výhodné sloučeniny, které jsou představeny vzorcem I mohou být doloženy příklady uvedenými v tabulce 1. Mělo by být vzato v úvahu, že sloučeniny I podle předloženého vynálezu nejsou těmito příkladovými sloučeninami nijak omezeny.



## Sloučenina A1

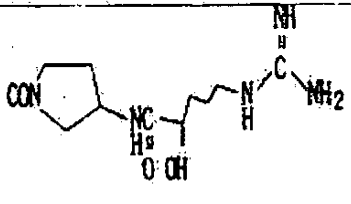
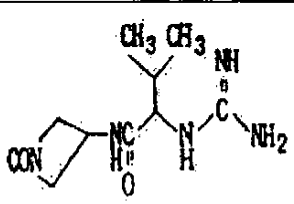
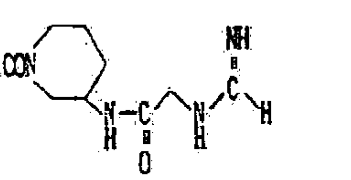
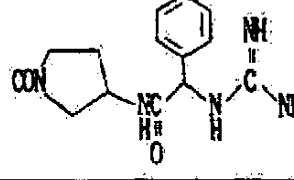
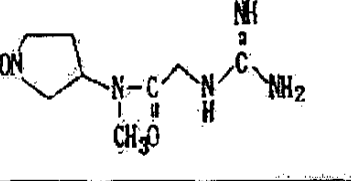
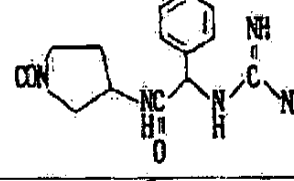
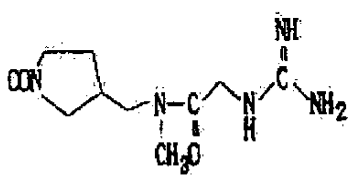
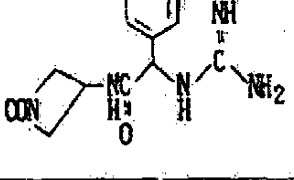
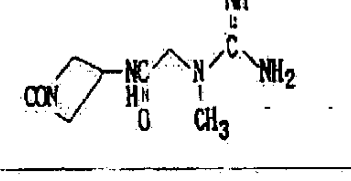
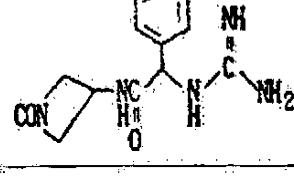
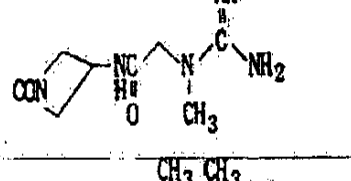
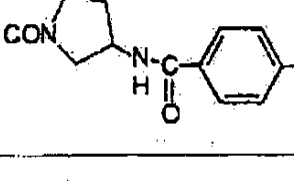
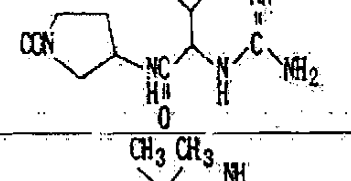
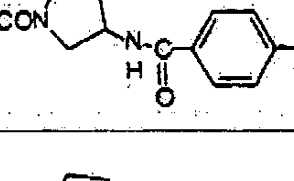
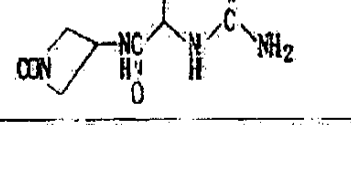
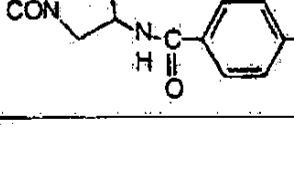


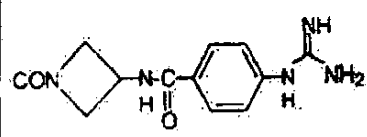
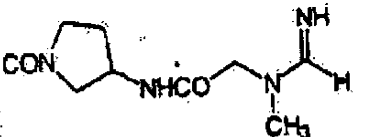
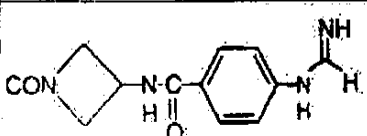
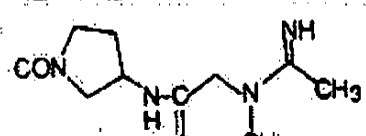
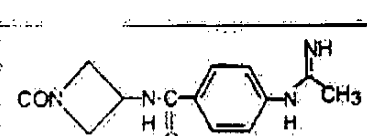
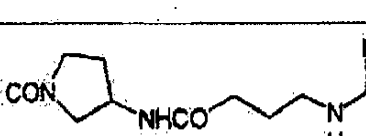
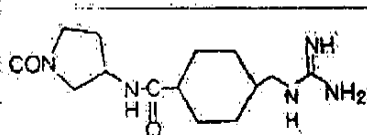
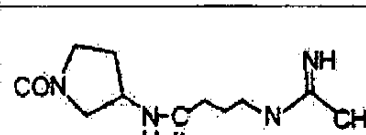
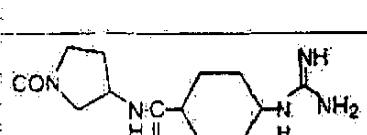
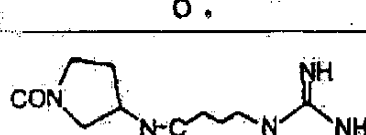
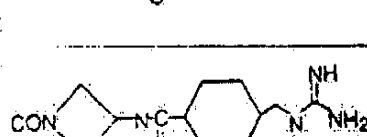

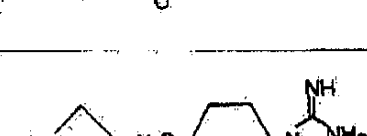
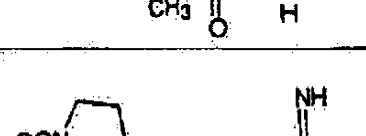
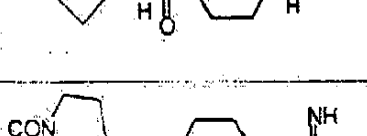
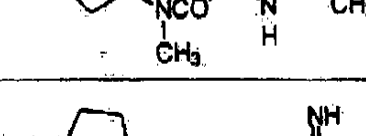
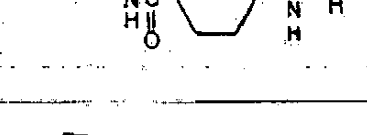
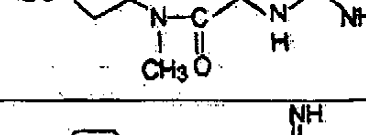
Tabulka 1

Č. sl.	R <sup>1</sup>	A	Č. sl.	R <sup>1</sup>	A
50	H		56	H	
51	H		57	CH3	
52	H		58	H	
53	H		59	H	
54	H		60	H	
55	H		61	H	

62	H		70	H	
63	H		71	H	
64	H		72	H	
65	H		73	H	
66	H		75	H	
67	H		76	H	
68	H		77	H	
69	H		78	H	

79	H		87	CH <sub>3</sub>	
80	H		88	CH <sub>3</sub>	
81	H		89	CH <sub>3</sub>	
82	H		90	CH <sub>3</sub>	
83	H		93	H	
84	CH <sub>3</sub>		94	H	
85	CH <sub>3</sub>		95	CH <sub>3</sub>	
86	CH <sub>3</sub>		96	CH <sub>3</sub>	

97	H		106	CH <sub>3</sub>	
98	H		107	H	
100	H		108	CH <sub>3</sub>	
101	H		109	H	
102	H		110	CH <sub>3</sub>	
103	CH <sub>3</sub>		113	H	
104	CH <sub>3</sub>		114	H	
105	H		115	H	

116	H		130	H	
117	H		131	H	
118	H		137	H	
119	H		138	H	
120	H		139	H	
121	H		148	H	
122	H		149	H	
123	H		150	H	
124	H		153	H	

154	H		175	H	
157	H		178	H	
158	H		179	H	
159	CH3		184	H	
163	H		185	H	
167	H		187	H	
168	H		188	H	
169	H		189	H	
170	H				

5 1-53, 1-54, 1-55, 1-56, 1-59, 1-60, 1-61, 1-62, 1-63, 1-64, 1-65, 1-66, 1-67, 1-68, 1-69, 1-70, 1-71, 1-75, 1-76, 1-77, 1-78, 1-79, 1-80, 1-81, 1-82, 1-83, 1-100, 1-101, 1-102, 1-130, 1-131, 1-137, 1-138, 1-139, 1-148, 1-149, 1-150, 1-163, 1-167, 1-168, 1-169, 1-170, 1-175, 1-178, 1-179, 1-184, 1-185, 1-187, 1-188 a 1-189 nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl, z nichž jsou následující sloučeniny vhodnější:

Kyselina 2-{2-[3-(2-guanidinoacetylamino)pyrrolidin-1-yl-karbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-50),

5 kyselina 2-{2-[3-[2-(1-methylguanidino)acetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-56),

kyselina 2-{2-[3-[2-guanidino-2-methylacetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-59),

10 kyselina 2-{2-[3-(3-guanidinopropanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-65),

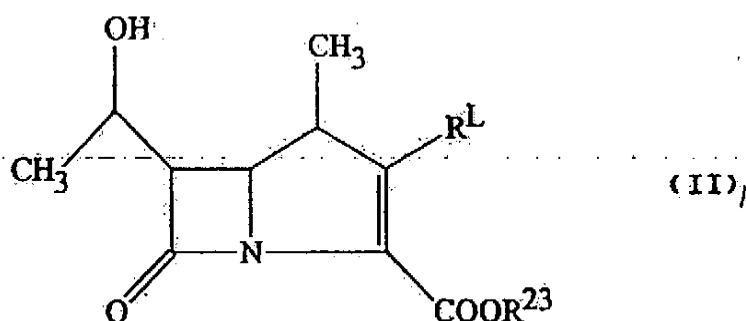
kyselina 2-{2-[3-(2-guanidino-2-methylacetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 68),

15 kyselina 2-{2-[3-[N-(2-guanidinoacetyl)-N-methylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-150), a

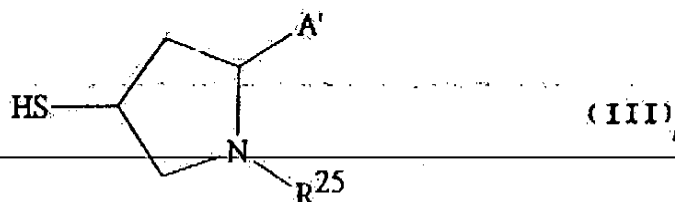
20 kyselina 2-{2-[3-(4-guanidino-3-hydroxybutanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová (sloučenina 1-188),

nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

Derivát 1-methylkarbapenemu podle předloženého vynálezu představený vzorcem I může být připraven reakcí sloučeniny karbapenemu představené následujícím vzorcem II



25 ve kterém  $R^L$  představuje odstupující skupinu a  $R^{23}$  představuje chránicí skupinu karboxylové skupiny, s derivátem merkaptopyrrolidinu, který je představen následujícím vzorcem III,



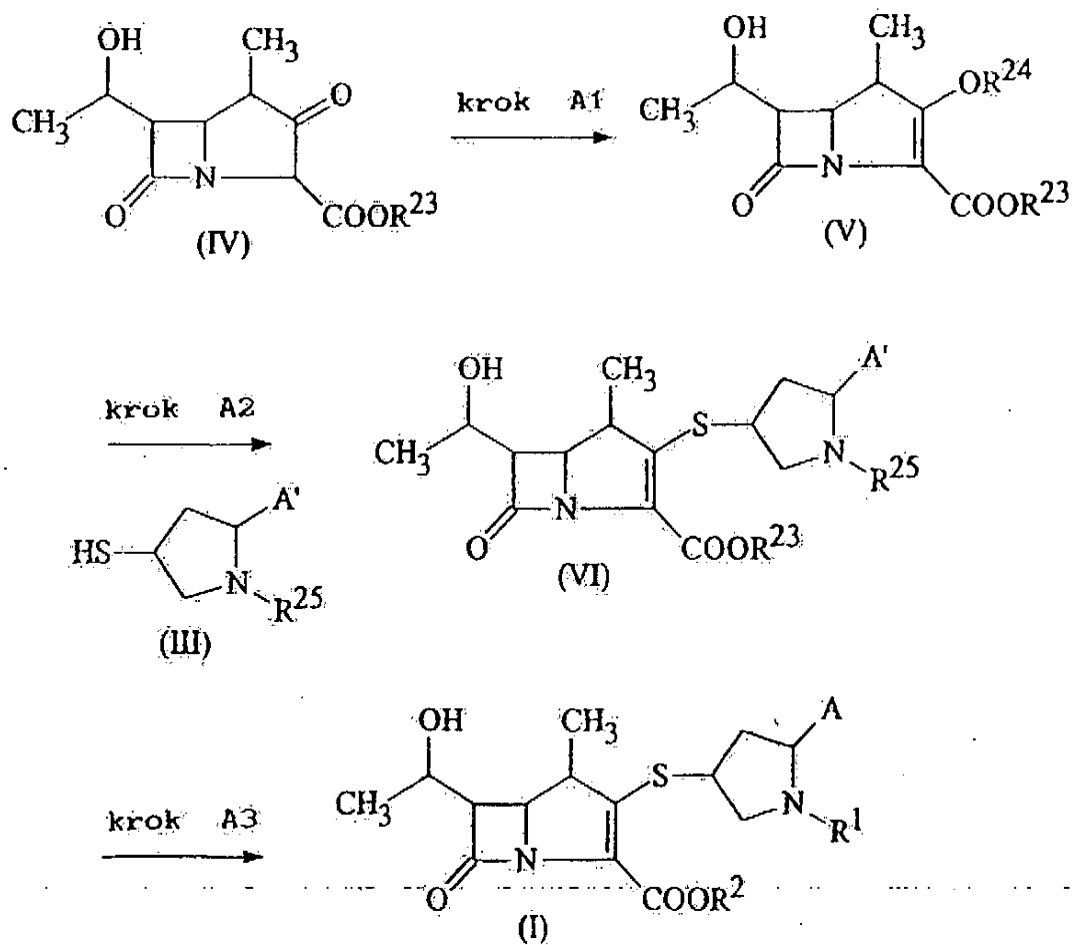
30 ve kterém  $R^{25}$  představuje chránicí skupinu amino skupiny nebo  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu a A má stejný obsah jako A až na skutečnost, že amino skupina, hydroxylová skupina, imino skupina a karboxylová skupina zahrnuté ve skupině uvedené pro A jsou chráněny; a následným odstraněním chránicí skupiny, pokud je nezbytné. Více, tato může být přeměněna na její vlastní farmakologicky akceptovatelnou sůl nebo ester, který je hydrolyzovatelný *in vivo*, pokud je nezbytné.

35

Sloučenina I předloženého vynálezu může být podle specifického popisu připravena jedním nebo druhým postupem, který je znázorněn dále v textu (Postup A a Postup B).

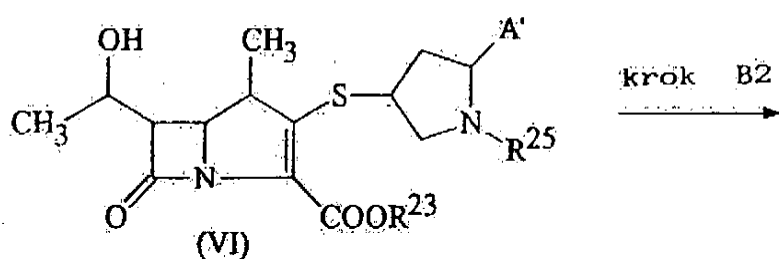
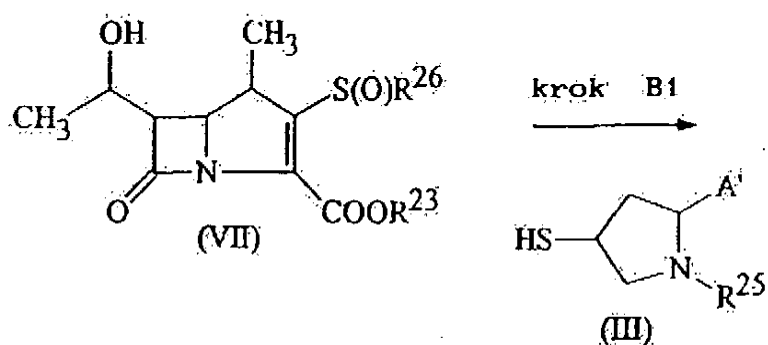
Postup A

5





## Postup B



kde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $A$ ,  $R^{23}$ ,  $R^{25}$  a  $A'$  mají stejný význam, který je popsán výše v textu.

5

$R^{24}$  představuje  $C_{1-4}$  alkansulfonylovou skupinu, takovou jako methansulfonyl, trifluoromethansulfonyl, ethansulfonyl, propansulfonyl, isopropansulfonyl nebo butansulfonyl;  $C^{6-10}$  arylsulfonylovou skupinu takovou jako fenylsulfonyl, tolylsulfonyl nebo naftylsulfonyl; di- $(C^{1-6}$ alkyl)-fosforylovou skupinu takovou jako dimethylfosforyl, diethylfosforyl, dipropylfosforyl, diisopropylfosforyl, dibutylfosforyl, dipentylfosforyl nebo dihexylfosforyl; nebo di- $(C^{6-10}$  aryl) fosforylovou skupinu takovou jako difenylfosforyl nebo ditolylfosforyl, výhodnější je difenylfosforyl,

10

$R^{26}$  představuje  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu takovou jako methyl, ethyl, propyl nebo isopropyl; halogeno- $(C_{1-4}$  alkylovou) skupinu takovou jako fluoromethyl, chloromethyl, fluoroethyl, chloroethyl, fluoropropyl, difluoromethyl, difluoroethyl, dichloroethyl, trifluoromethyl nebo trifluoroethyl; 2-acetylaminoethylovou skupinu; 2-acetylaminovinylovou skupinu;  $C_{6-10}$  arylovou skupinu takovou jako fenyl nebo naftyl (uvedená arylová skupina může mít jeden až tři, stejné nebo rozdílné substituenty, jak je popsáno dále v textu. Vzorčky substituentů zahrnují atomy halogenu takové jako fluor, chlor a brom;  $C_{1-4}$  alkylové skupiny takové jako methyl, ethyl, propyl a isopropyl;  $C_{1-4}$  alkoxy skupiny takové jako methoxy, ethoxy, propoxy a isopropoxy;  $C_{1-4}$  alkoxykarbonylové skupiny takové jako methoxykarbonyl, ethoxykarbonyl a t-butoxykarbonyl; karbamoylovou skupinu a mono- nebo di- $(C_{1-4}$  alkyl)karbamoylove skupiny; nitro skupinu; hydroxylovou skupinu; a kyano skupinu); nebo heteroarylovou skupinu, která má jeden nebo dva atomy

20

dusíku takovou jako pyridyl nebo pyrimidinyl (uvedená heteroarylová skupina může mít jeden až tři, stejné nebo rozdílné substituenty, jak je popsáno dále v textu. Vzorke substituentů zahrnují atomy halogenu a C<sub>1-4</sub> alkylové skupiny, které byly doloženy výše příklady substituentů arylové skupiny). „Odstupující skupina“ R<sup>L</sup> je skupina představená náhodně např. vzorcem R<sup>24</sup>O nebo R<sup>26</sup>S(O).

Vzorke „chráncí skupiny karboxy skupiny“ R<sup>23</sup> mohou zahrnovat C<sub>1-4</sub> alkylové skupiny takové jako methyl, ethyl a t-butyl; C<sub>7-13</sub> aralkylové skupiny takové jako benzyl, difenylmethyl, 4-methoxybenzyl, 4-nitrobenzyl a 2-nitrobenzyl, které mohou byt substituovány; alkenylové skupiny takové jako allyl, 2-chloroallyl a 2-methylallyl; haloalkylové skupiny takové jako 2,2,2-trichloroethyl, 2,2-dibromoethyl a 2,2,2-tribromoethyl a 2-trimethylsilylethyl. Výhodný je 4-nitrobenzyl a benzyl.

Chráncí skupina pro hydroxylovou, amino, imino nebo karboxy skupinu obsažená v A' nebo R<sup>25</sup> je chráncí skupinou původně používanou na poli organické syntetické chemie, výhodná je 4-nitrobenzyloxykarbonylová, benzyloxykarbonylová, 4-nitrobenzylová nebo benzylová skupina.

Postup A je procesem přípravy sloučeniny I.

Krok A1 je krokem přípravy sloučeniny vzorce V, která je získána reakcí sloučeniny vzorce IV se sulfonylačním nebo fosforylačním činidlem v neaktivním rozpouštědle za přítomnosti báze.

Vzorke sulfonylačního činidla mohou zahrnovat C<sub>1-4</sub> alkansulfonové anhydridy takové jako methansulfonový anhydrid, trifluoromethansulfonový anhydrid a ethansulfonový anhydrid; C<sub>6-10</sub> aryl sulfonové anhydridy takové jako benzensulfonový anhydrid a p-toluensulfonový anhydrid, výhodnější je p-toluensulfonový anhydrid.

Vzorke fosforylačního činidla mohou zahrnovat di(C<sub>1-4</sub>alkyl)fosforylové halidy takové jako dimethyl fosforylchlorid a diethylfosforylchlorid; a di(C<sub>6-10</sub> aryl)fosforylové halidy takové jako difenylfosforylchlorid a ditenylofosforylbromid, výhodnější je difenylfosforylchlorid.

Neexistují žádné zvláštní omezení tykající se vlastností rozpouštědla za předpokladu, že toto nemá nežádoucí vliv na reakci. Vzorke zahrnují halogenované uhlovodíky takové jako methylenchlorid, 1,2-dichloroethan a chloroform; nitrily takové jako acetonitril; amidy takové jako N,N-dimethylformamid a N-dimethylacetamid; estery takové jako ethylacetát a methylacetát; a ethery takové jako diethylether, tetrahydrofuran a dioxan, výhodnějšími jsou acetonitril, N,N-dimethylformamid a tetrahydrofuran, nejvýhodnější je acetonitril.

Neexistuje žádné zvláštní omezení použitých bází za předpokladu, že tato neovlivňuje jiné části molekuly, zejména β-laktamový kruh. Výhodné vzorke bází zahrnují organické aminy takové jako triethylamin, diisopropylethylamin, pyridin a 4-dimethylaminopyridin, nejvýhodnější je diisopropylethylamin.

Ačkoliv není specifikováno žádné zvláštní omezení tykající se reakční teploty, z důvodu potlačení postranní reakce je požadována relativně nízká reakční teplota. Reakce je obvykle provedena při teplotě od -20 do 40 °C (výhodně od -10 do 20 °C). Reakční čas závisí hlavně na reakční teplotě nebo vlastnostech reakčního reagentu, obvykle však bude dostatečná doba od 10 minut do 5 hodin (výhodně od 15 minut do 1 hodiny).

Výsledná sloučenina (V) aktuálního kroku je po ukončení reakce získána z reakční směsi známou metodou *per se*. Do reakční směsi nebo zbytku, který je získán oddestilováním roztoku z reakční směsi, je dodáno např. organické rozpouštědlo, které není smísitelné s vodou, následuje promývání vodou a organické rozpouštědlo je oddestilováno. Takto získaná výsledná sloučenina může byt podle současných technických možností, pokud je nezbytné, čištěna známou metodou *per se*.

např. překrystalizací, přesrážením nebo chromatografií. Výslednou sloučeninu (V), pokud je požadováno, je také možné podrobit následnému kroku bez oddělení.

5 Krok A2 je krokem přípravy sloučeniny vzorce VI, která je získána reakcí sloučeniny V s derivátem merkaptopyrrolidinu vzorce III v neaktivním rozpouštědle za přítomnosti báze.

10 Neexistuje žádné zvláštní omezení vlastností použitého rozpouštědla za předpokladu, že toto nemá nepříznivý vliv na reakci. Vzorky zahrnují halogenované uhlovodíky takové jako methylenchlorid, 1,2-dichloroethan a chloroform; nitrily takové jako acetonitril; amidy takové jako N,N-dimethylformamid a N,N-dimethylacetamid; estery takové jako ethylacetát a methylacetát; a ethery takové jako diethylether, tetrahydrofuran a dioxan, výhodnými jsou acetonitril, N,N-dimethylformamid a tetrahydrofuran, nejvýhodnější je acetonitril.

15 Ačkoliv neexistuje žádné zvláštní omezení vlastností použitých bází, výhodné vzorky mohou zahrnovat organické aminy takové jako triethylamin a diisopropylethyl amin a anorganické báze takové jako uhličitán draselný a uhličitán sodný, nejvýhodnější je diisopropylethylamin.

20 Ačkoliv není specifikováno žádné zvláštní omezení týkající se reakční teploty, reakce je obvykle provedena při teplotě od  $-20$  do  $40$  °C (výhodně od  $-10$  do  $20$  °C). Reakční čas je obvykle v rozmezí od 30 minut do 108 hodin (výhodně od 1 hodiny do 18 hodin).

25 Výsledná sloučenina VI předloženého vynálezu je po ukončení reakce získána z reakční směsi známou metodou *per se*. Do reakční směsi nebo zbytku získaného oddestilováním rozpouštědla z reakční směsi je dodáno např. organické rozpouštědlo, které není smísitelné s vodou, následuje promytí vodou a organické rozpouštědlo je oddestilováno. Výsledná sloučenina může být, pokud je nezbytné, dále čištěna známou metodou *per se*, např. překrystalizací, přesrážením nebo chromatografií. Výslednou sloučeninu VI, pokud je nezbytné, je také možné podrobit následnému kroku bez oddělení.

30 Krok A3 je krokem přeměny sloučeniny VI na sloučeninu I, tento je proveden odstraněním chránicí skupiny ze sloučeniny VI.

35 Metoda odstranění chránicí skupiny  $R^{23}$  závisí na použité chránicí skupině, chránicí skupina avšak bývá obvykle odstraněna metodou běžně používanou na poli syntetické organické chemie. Jestliže je chránicí skupina  $R^{23}$  odstraněna redukcí, popsáno specificky, pokud je touto např. haloalkylová, aralkylová nebo benzhydrylová skupina, potom tato skupina může být odstraněna spojením s redukčním činidlem.

40 Jestliže je chránicí skupinou pro karboxylovou skupinu např. haloalkylová skupina taková jako 2,2-dibromoethyl nebo 2,2,2-trichloroethyl, potom výhodným redukčním činidlem je spojení zinku a kyseliny octové.

45 Ačkoliv neexistuje žádné zvláštní omezení vlastností použitého rozpouštědla, výhodnými jsou alkoholy takové jako methanol a ethanol, ethery takové jako tetrahydrofuran a dioxan, mastné kyseliny takové jako kyselina octová a smíšená rozpouštědla taková jako organická rozpouštědla a voda.

50 Reakční teplota je obvykle v rozmezí od  $0$  do  $40$  °C (výhodně od  $10$  do  $30$  °C). Reakční čas závisí na vlastnostech použité chránicí skupiny nebo redukčního činidla, bývá však obvykle v rozmezí od 5 minut do 12 hodin (výhodně od 30 minut do 4 hodin).

Jestliže je chránicí skupinou aralkylová skupina taková jako benzyl, 4-nitrobenzyl nebo benzhydryl skupina, potom vzorky redukčního činidla mohou zahrnovat katalytická hydrogenační činidla taková jako kombinace vodíku a palladium-uhlíku a alkalické kovové sulfidy takové jako

sulfid sodný nebo sulfid draselný, výhodnými jsou kombinace vodíku s palladium–uhlíkovým katalyzátorem.

5 Ačkoliv neexistuje žádné zvláštní omezení použitého rozpouštědla za předpokladu, že toto nemá žádný nežádoucí vliv na reakci, výhodnými jsou alkoholy takové jako methanol a ethanol, ethery takové jako tetrahydrofuran a dioxan a směšená rozpouštědla taková jako organická rozpouštědla a voda.

10 Reakční teplota je obvykle v rozmezí od 0 do 50 °C (výhodně od 10 do 40 °C). Reakční čas závisí na použité chránicí skupině nebo redukčním činidle, tento je však obvykle v rozmezí od 5 minut do 12 hodin (výhodně od 30 minut do 4 hodin).

15 Po ukončení reakce je výsledná sloučenina získána odstraněním chránicí skupinu z reakční směsi známou metodou per se. Výsledná sloučenina může být získána např. filtrací nerozpustných částic z reakční směsi a následným oddestilováním rozpouštědla.

20 Výsledná sloučenina I může být čištěna, pokud je nezbytné, známou metodou per se, např. překrystalizací, preparativní chromatografií na tenké vrstvě nebo sloupcovou chromatografií. Výsledná sloučenina (I) může být přeměněna známou metodou per se na ester, který může být hydrolyzován *in vivo*, pokud je nezbytné, nebo může být tato čištěna známou metodou per se ve formě farmakologicky akceptovatelné soli.

25 Pakliže chránicí skupina hydroxylové, imido, amino nebo karboxy skupiny (např. v případě 4–nitrobenzyloxykarbonyl skupiny nebo 4–nitrobenzyl skupiny) je obsažena v A' nebo R<sup>25</sup>, potom tato chránicí skupina může být odstraněna současně s výše popsanou chránicí skupinou pro karboxylové skupiny.

30 Proces B je na druhé straně dalším procesem přípravy sloučeniny I. Nezpracovaný materiál sloučeniny vzorce VII použitý v tomto syntetickém procesu je připraven procesem odhaleným v Japonské Patentové Žádosti Kokai Sho 62–30781.

Krok B1 je krokem přípravy sloučeniny vzorce VI. Tento krok je proveden reakcí sloučeniny VII s derivátem merkaptopyrrolidinu III v neaktivním rozpouštědle za přítomnosti báze.

35 Neexistuje žádné zvláštní omezení vlastností použitého rozpouštědla za předpokladu, že toto nemá žádný nežádoucí vliv na reakci. Vzorky mohou zahrnovat tetrahydrofuran, acetonitril, dimethylformamid, dimethylsulfoxid, vodu a jejich směsi, výhodný je acetonitril.

40 Neexistuje žádné zvláštní omezení vlastností použitých bází za předpokladu, že tato neovlivňuje jiné části molekuly, zejména β–laktamový kruh. Příklady mohou zahrnovat organické aminy takové jako diisopropylethylamin, triethylamin, N–methylpiperidin a 4–dimethylaminopyridin; a anorganické báze takové jako uhličitan draselný a bikarbonát sodný, výhodná báze je diisopropylethylamin.

45 Ačkoliv není specifikováno žádné zvláštní omezení týkající se reakční teploty, z důvodu potlačení postranní reakce je výhodné provést reakci při relativně nízké teplotě. Reakční teplota je obvykle v rozmezí od –20 do 40 °C (výhodně od –10 do 20 °C).

50 Reakční čas závisí hlavně na reakční teplotě nebo vlastnostech reagentu, obvykle je avšak v rozmezí od 15 minut do 75 hodin (výhodně od 30 minut do 18 hodin).

55 Výsledná sloučenina VI aktuálního kroku je po dokončení reakce získána z reakční směsi známou metodou per se. Do reakční směsi nebo zbytku získaného oddestilováním rozpouštědla z reakční směsi je dodáno organické rozpouštědlo, které není smísitelné s vodou, následuje promytí vodou a oddestilování organického rozpouštědla. Výsledná sloučenina může být čištěna

dále, pokud je nutno, známou metodou per se například překrytalizací, přesrážením nebo chromatografií. Výslednou sloučeninu VI je také možné podrobit následnému kroku bez izolace, pokud je nezbytné.

5 Pakliže A' nebo R<sup>25</sup> obsahuje chránicí skupinu, potom sloučenina představená vzorcem I může být získána podobným způsobem, který je popsán v procesu A, specificky tedy odstraněním chránicí skupiny z A' nebo R<sup>25</sup> a chránicí skupiny karboxy skupin a následnou přeměnou této na ester, který může být, pokud je nezbytné, hydrolyzován *in vivo*.

10 Sloučenina představená vzorcem I takto získaná procesem A nebo B může být přeměněna na její vlastní farmakologicky akceptovatelnou sůl metodou a technikou známou na poli β-laktamových antibiotik.

15 Merkaptan IV použitý jako surový materiál může být volitelně připraven podle některého ze známých postupů, který je odhalen např. v I. Kawamoto et. al., Synlett, 575 (1995), Japonské Patentové Žádosti Kokai 2-28180, Japonské Patentové Žádosti Kokai č. Hei 2-3687, Japonské Patentové Žádosti Kokai č. Hei 4-211 083 a Japonské Patentové Žádosti č. Hei 5-339 269.

#### Výhody vynálezu

20 Sloučenina představená výše uvedeným vzorcem I a její farmakologicky akceptovatelné soli projevují v širokém spektru vynikající antibakteriální účinky a β-laktamázový tlumivý účinek. Sloučeniny thienamycinu jsou schopné rozkladu, který je způsoben dehydropeptidázou I živých savců, zatímco sloučenina I předloženého vynálezu projevuje vynikající stabilitu proti možným  
25 vlivům dehydropeptidázy I, která je známým enzymem působícím jako katalyzátor při inaktivaci thienamycinu. Sloučenina I způsobuje vysokou rychlost obnovy moči a projevuje nízkou nefrotoxicitu. Sloučenina I předloženého vynálezu má silné účinky proti široké řadě bakterií, jde např. o Gramovy pozitivní bakterie takové jako *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*. Gramovy negativní bakterie takové jako *Escherichia coli*, *Shigella* druhy, *Klebsiella pneumoniae*,  
30 *Proteus* druhy, *Serratia* druhy, *Enterobacter* druhy a *Pseudomonas aeruginosa* a *anaerob* takový jako *Bacteroides fragilis*. V souladu s tím sloučenina (I) předloženého vynálezu je použitelná jako preventivní prostředek nebo lék (výhodně jako lék) proti mikrobiálním infekcím způsobeným výše uvedenými druhy bakterií.

35 Použitelnost v průmyslu

Sloučenina I nebo její farmakologicky akceptovatelná sůl, pokud je tato použita jako antibakteriální činidlo, může být podávána ústně ve formě tablet, kapslí, granulí, prášku nebo sirupu v její  
40 čisté formě nebo ve směsi s nezbytnou farmakologicky akceptovatelnou příměsí takovou jako masťový základ nebo ředidlo; nebo může být podávána parenterálně ve formě injekcí.

Výše uvedené formulace mohou být připraveny známým postupem využívajícím příměsí, vzorky příměsí zahrnují: masťové základy (např. deriváty cukru takové jako laktóza, cukróza, glukóza, mannitol nebo sorbitol; deriváty škrobu takové jako kukuřičný škrob, bramborový škrob, α-  
45 škrob, dextrin nebo karboxymethylový škrob; deriváty celulózy takové jako krystalická celulóza, nízko substituovaná hydroxypropylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, karboxymethylcelulóza, karboxymethylcelulóza vápníku nebo vnitřně-příčně-provázaná karboxymethylcelulóza sodíku; arabská guma; dextran; pululan; deriváty křemičitanu takové jako lehká bezvodá kyselina křemičitá, syntetické křemičitany hliníku nebo aluminometakřemičitan hořčíku; deriváty fosfátu  
50 takové jako fosfát vápenatý; deriváty uhličitanu takové jako uhličitan vápenatý; nebo deriváty síranu takové jako síran vápenatý), pojiva (např. výše uvedené masťové základy; železina; polyvinylpyrrolidon; nacropol). rozvolňovač (např. výše uvedené masťové základy nebo chemicky modifikované škrobové deriváty celulózy takové jako příčná karmelóza sodná, karboxymethylový škrob vápníku nebo polyvinylpyrrolidon s příčnými vazbami), mazadla (např. talek;  
55 kyselina stearová; kovové soli kyseliny stearové takové jako stearát vápenatý nebo stearát

horečnatý; koloidální oxid křemičitý; včelí vosk; vosk takový jako vorvaňovina; kyselina borová; glykol; kyseliny karboxylové takové jako kyselina fumarová nebo kyselina adipová; karboxylát sodný takový jako benzoát sodný; síran takový jako síran sodný; leucin; laurylsíran takový jako laurylsíran sodný nebo laurylsíran horečnatý; kyselina křemičitá taková jako anhydrid kyseliny křemičité nebo hydrát kyseliny křemičité; deriváty škrobu, jejich příklady jsou uvedeny výše pro masťové základy), stabilizátory (např. parahydrobenzoáty takové jako methyl p-hydroxybenzoát nebo propyl-p-hydroxybenzoát; alkoholy takové jako chlorobutanol, benzylalkohol nebo fenylethylalkohol; benzalkonium-chlorid; deriváty fenolu nebo kresolu; thimerosal; anhydrid kyseliny octové nebo kyselina sorbová), látky korigující smyslově nepříjemné vlastnosti léku (např. běžně používaná sladidla, činidla okyselení nebo příchutě), suspenzační činidla (např. Polysorbate 80, karboxymethylcelulóza sodná), ředidla nebo rozpouštědla (např. voda, ethanol nebo glycerin).

Dávka sloučeniny předloženého vynálezu bude měněna v závislosti na věku a stavu pacienta. Ústně je tato podávána v množství od 1 mg v jednotlivé dávce [dolní limit (výhodně 5 mg)] do 2000 mg v jednotlivé dávce [horní limit (výhodně 1000 mg)], zatímco nitrožilně je tato podávána v množství od 1 mg v jednotlivé dávce [dolní limit (výhodně 5 mg)] do 2000 mg v jednotlivé dávce [horní limit (výhodně 1000 mg)]. V závislosti na stavu pacienta je výše uvedené dávkování nutné podávat v jedné až šesti dávkách denně.

20

#### Příklady provedení vynálezu

Předloženy vynález je dále v textu specifikován příklady, odkazy, testy a příklady formulací. Mělo by být však jasné, že předloženy vynález není těmito příklady nijak omezen. Pokud není specifikováno jinak, potom pro měření nukleárního magnetického rezonančního spektra v příkladech a odkazových příkladech byl použit trimethylsilylpropionan-d<sub>4</sub> sodný jako vnitřní standard pro měření ve tvrdé vodě, zatímco tetramethylsilan byl použit jako vnitřní standard v jiných rozpouštědlech.

30

#### Příklad 1

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-Hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-2-(3S)-3-(L-propylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-1)

35

(1) Do suspenze z 4-nitrobenzyl-(1R, 5R, 6S)-6-[(1R)-1-hydroxy-ethyl]-1-methyl-2-(difenylofosforyloxy)-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (868 mg) v bezvodém acetonitrilu (13 ml) byl při ochlazení ledem dodán N,N-diisopropylethylamin (254 µl) a roztok z (2S,4S)-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (945 mg) v bezvodém acetonitrilu (12 ml), docházelo k promíchávání. Výsledná směs byla promíchávána přes noc při teplotě 0 °C. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben silikagelové sloupcové chromatografii a eluován postupně směsmi ethylacetát-dichloromethanu (1 : 1), methanol-ethylacetát-dichloromethanu (7 : 46,5 : 46,5) a následně methanol-ethylacetát-dichloromethanu (10 : 45 : 45). Frakce obsahující požadovanou sloučeninu byly sloučeny, následovala destilace při sníženém tlaku, čímž se získal 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio]-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,08 g) ve formě prášku.

45

50

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ : 1775, 1709, 1660, 1607, 1522, 1440, 1404, 1346.

55

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,27 (3H, dd,  $J=14,3, 7,5$  Hz), 1,37 (3H, d,  $J=6,3$  Hz), 1,62–2,76 (8H, m), 3,17–3,80 (9H, m), 3,85–4,57 (6H, m), 5,05–5,38 (6H, m), 5,50 (1H, dd,  $J=13,9, 2,6$  Hz), 7,40–7,53 (4H, m), 7,65 (2H,  $J=8,5$  Hz), 8,13–8,30 (6H, m).

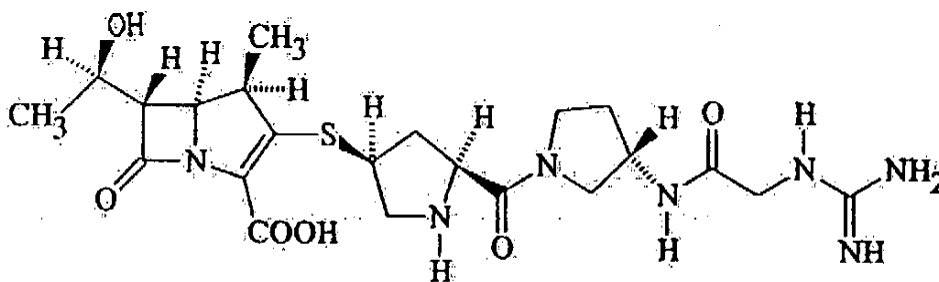
(2) Do roztoku ze sloučeniny (1,06 g), která byla získána v kroku (1), v tetrahydrofuranu (18 ml) a vody (9 ml) byl dodán katalyzátor 7,5 % palladium–uhlí (2,1 g). Výsledná směs byla podrobena hydrogenaci při vnější teplotě 30 °C po dobu 2 hodiny. Po ukončení reakce byl katalyzátor odfiltrován ze směsi a filtrát byl promyt diethyletherem a zkoncentrován odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben vratné fázové sloupcové chromatografii [„Cosmosil 75C<sub>18</sub>PREP“ (NACALAI TESQUE, INC.)] a eluován směsí acetonitril–voda (5 : 95). Frakce obsahující požadovanou sloučeninu byly sloučeny, zkoncentrovány odpařováním při sníženém tlaku a následně lyofilizovány. Čímž se získala sloučenina uvedená v názvu příkladu (133,3 mg) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3402, 1775, 1637, 1599, 1455, 1386, 1284, 1260.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, dd,  $J=7,2, 2,6$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,55–1,74 (1H, m), 1,91–2,13 (4H, m), 2,20–2,49 (2H, m), 2,71–2,83 (1H, m), 3,06–3,15 (1H, m), 3,19–3,29 (1H, m), 3,31–3,90 (9H, m), 4,04 (1H, dt,  $J=22,3, 8,1$  Hz), 4,19–4,35 (3H, m), 4,41–4,53 (1H, m).

#### Příklad 2

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(guanidinoacetylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-50)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-(difenyl fosforyloxy)-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (697 mg) a (2S,4S)-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyl-oxycarbonyl)-2-[(3S)-3-[(4-nitrobenzyl-oxycarbonyl)guanidinoacetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (751 mg) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyl-oxycarbonyl)-2-[(3S)-3-[(4-nitrobenzyl-oxycarbonyl)guanidinoacetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (563 mg) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3389, 1771, 1706, 1652, 1608, 1522, 1444, 1405, 1383, 1347.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: 1,10–1,25 (6H, m), 1,62–2,18 (3H, m), 2,70–2,90 (1H, m), 3,10–4,37 (14H, m), 4,43–4,68 (1H, m), 5,03–5,27 (4H, m), 5,30, 5,46 (jednotlivě 1H, d, J=14,1 Hz), 7,46–7,77 (6H, m), 8,15–8,33 (6H, m).

- 5 (2) Sloučenina (542 mg) získaná v kroku (1) byla podrobena hydrogenaci a čištěna podobným způsobem popsaným v příkladu 1–(2), čímž byla získána cílová sloučenina ve formě prášku.

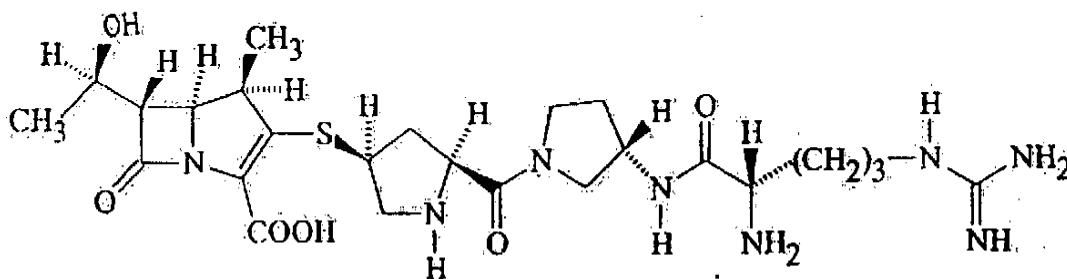
Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3340, 1754, 1665, 1634, 1452, 1390.

- 10 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: 1,01 (3H, dd, J=7,3, 3,4 Hz), 1,10 (3H, d, J=6,4 Hz), 1,33–1,52 (1H, m), 1,73–1,90 (1H, m), 1,97–2,15 (1H, m), 2,47–2,58 (1H, m), 2,81–2,92 (1H, m), 2,94–3,03 (1H, m), 3,13–3,31 (3H, m), 3,31–3,67 (4H, m), 3,73–3,87 (3H, m), 3,97–4,09 (2H, m), 4,20–4,30 (1H, m).

15

Příklad 3

- (1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(L-arginylamino)pyrrolidin-1-yl-karbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-94)
- 20



- (1) Do suspenze z 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-(difenylfosforyloxy)-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (624 mg) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) byl dodán N,N-diisopropylethylamin (183 µl) a roztok z (2S,4S)-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-arginylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (953 mg) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) při ochlazování ledem a promíchávání. Výsledná směs byla promíchávána přes noc při teplotě 0 °C. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl následně dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben silikagelové sloupcové chromatografii a eluován postupně směsí benzen-acetonitrilu (1 : 1) a následně methanol-benzen-acetonitrilu v poměru od (3 : 48,5 : 48,5), (4 : 48 : 48) do (5 : 47,5 : 47,5). Frakce obsahující požadovanou sloučeninu byly sloučeny, následovala destilace při sníženém tlaku, čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-arginylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (645 mg) ve formě prášku.
- 25
- 30
- 35

- 40 Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3385, 1773, 1712, 1652, 1607, 1521, 1441, 1403, 1381, 1346.

- Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: 1,00–1,25 (6H, m), 1,30–2,20 (7H, m), 2,70–2,90 (1H, m), 2,95–4,35 (15H, m), 4,42–4,70 (1H, m), 5,00–5,50 (8H, m), 7,47–7,79 (8H, m), 8,12–8,32 (8H, m).
- 45



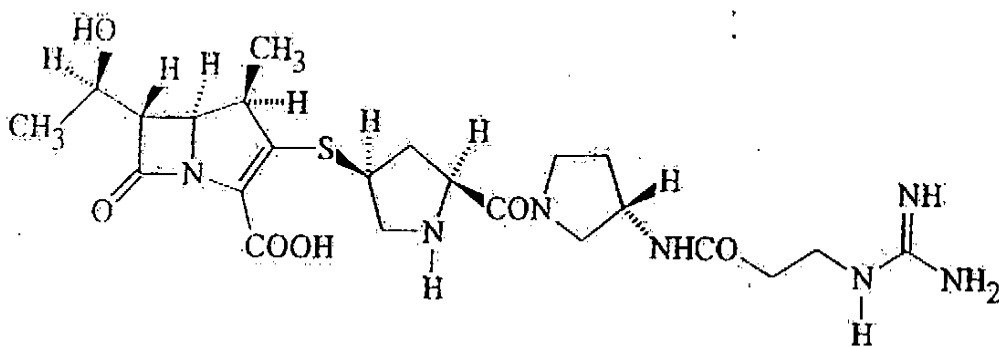
(2) Sloučenina (603 mg) získaná v krou (1) byla podrobena hydrogenaci a čištěna podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (97,4 mg) ve formě prášku.

5 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3352, 1753, 1634, 1454, 1390, 1286, 1263, 1183.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,21 (3H, t,  $J=7,8$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,3$  Hz), 1,40–1,74 (5H, m), 1,45–2,12 (1H, m), 2,17–2,38 (1H, m), 2,65–2,81 (1H, m), 10 3,00–3,10 (1H, m), 3,12–3,31 (3H, m), 3,35–4,08 (9H, m), 4,15–4,30 (2H, m), 4,33–4,47 (1H, m).

#### Příklad 4

15 (1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(3-guanidinopropanoylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-53)



20 (1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-(difenylfosforyloxy)-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,02 g) a (2S,4S)-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (1,18 g) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzol-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1- 25 methyl-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,11 g) ve formě prášku.

30 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3385, 1773, 1709, 1652, 1607, 1522, 1441, 1404, 1382.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm: 1,05–1,22 (6H, m), 1,62–2,40 (5H, m), 2,72–2,09 (1H, m), 3,07–4,37 (14H, m), 4,44–4,68 (1H, m), 5,03–5,27 (4H, m), 5,30, 5,46 (jednotlivě 1H, d,  $J=14,1$  Hz), 7,47–7,76 (6H, m), 8,13–8,27 (6H, m).

35 (2) Do roztoku ze sloučeniny (1,09 g), která byla získána v kroku (1), v tetrahydrofuranu (25 ml) a vody (15 ml) byl dodán katalyzátor (0,8 g) 7,5 % palladium-uhlík, následovala hydrogenace při teplotě 30 °C po dobu 2 hodin. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána (314,3 mg) cílová sloučenina ve formě bezbarvého 40 prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 1756, 1645, 1455, 1388, 1286, 1257, 1182.

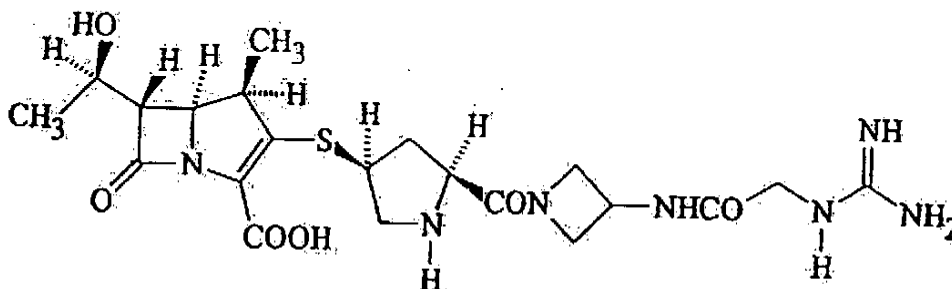
Nukleární absorpční rezonanční spektrum (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  ppm : 1,22 (3H, dd, J=7,2, 3,8 Hz), 1,30 (3H, d, J=6, 4 Hz), 1,57–1,70 (1H, m), 1,91–2,09 (1H, m), 2,15–2,35 (1H, m), 2,49–2,62 (2H, m), 2,66–2,79 (1H, m), 3,01–3,11 (1H, m), 3,13–3,23 (1H, m), 3,35–3,87 (9H, m), 3,91–4,07 (1H, m), 4,18–4,30 (2H, m), 4,35–4,47 (1H, m).

5

## Příklad 5

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-(guanidinoacetylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-62)

10



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylfosforyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (2,14 g) a (2S,4S)-4-merkapto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-guanidino]-acetylamino]-azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidínu (1,59 g) byla provedena reakce a čišění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-pyrrolidín-4-ylthio]-1-karbapenem-3-karboxylát (1,80 g) ve formě prášku.

15

20

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3335, 1775, 1735, 1709, 1645, 1626, 1608, 1522, 1496, 1439, 1405, 1377, 1347, 1322, 1290, 1269.

25 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,33–1,41 (6H, m), 2,02–2,27 (2H, m), 2,52–2,82 (1H, m), 3,26–4,54 (15H, m), 4,63–4,80 (1H, m), 5,07–5,36 (6H, m), 5,43–5,60 (1H, m), 7,38–7,70 (8H, m), 8,10–8,25 (8H, m), 8,93 (1H, s), 11,65 (1H, s).

30

FAB-MS m,z: 1182 [M+H]<sup>+</sup>.

(2) Do roztoku ze sloučeniny (1,78 g), která byla získána v kroku (1), v tetrahydrofuranu (50 ml) a vody (30 ml) byl dodán katalyzátor (1,3 g) 7,5 % palladium-uhlík, následovala hydrogenace při teplotě 30 °C po dobu 2 hodin. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (450,6 mg) ve formě prášku.

35

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3331, 1755, 1652, 1593, 1462, 1388, 1282, 1259, 1182, 1149, 1107, 1074, 1017.

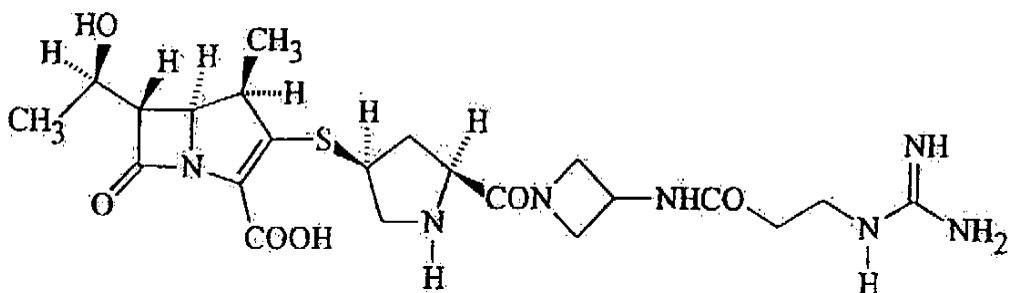
40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d, J=7,1 Hz), 1,30 (3H, d, J=6,3 Hz), 1,60–1,73 (1H, m), 2,57–2,70 (1H, m), 2,97–3,06 (1H, m), 3,15–3,24 (1H, m), 3,35–3,49 (2H, m), 3,73–3,88 (2H, m), 3,91–4,02 (1H, m), 4,05 (2H, s), 4,14–4,30 (3H, m), 4,33–4,46 (1H, m), 4,57–4,74 (2H, m).

45

FAB-MS m,z: 510 [M+H]<sup>+</sup>.

## Příklad 6

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-(3-(guanidinopropanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl)]pyrrolidín-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-65)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylofosforyl-1-karbapenem-3-karboxylátu (1,08 g) a (2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-propanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidínu (1,48 g) byla provedena reakce a čišťení podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]propanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-pyrrolidín-4ylthio]-1-karbapenem-3-karboxylát (0,688 g) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3339, 1775, 1711, 1644, 1608, 1566, 1522, 1440, 1406, 1379, 1347, 1322, 1261, 1208.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,18-1,40 (6H, m), 1,90-2,22 (2H, m), 2,40-2,80 (3H, m), 3,25-3,55 (3H, m), 3,60-4,56 (10H, m), 4,65-4,85 (1H, m), 5,07-5,40 (8H, m), 5,45-5,55 (1H, m), 7,42-7,70 (8H, m), 8,13-8,30 (8H, m), 8,82-8,98 (1H, m), 11,72 (1H, s).

FAB-MS m,z: 1196 [M+H]<sup>+</sup>

(2) Do roztoku ze sloučeniny (1,14 g), která byla získána v kroku (1), v tetrahydrofuranu (25 ml) a vody (15 ml) byl dodán katalyzátor (0,8 g) 7,5 % palladium-uhlík, následovala hydrogenace při teplotě 30 °C po dobu 2 hodin. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (293,6 mg) ve formě prášku.

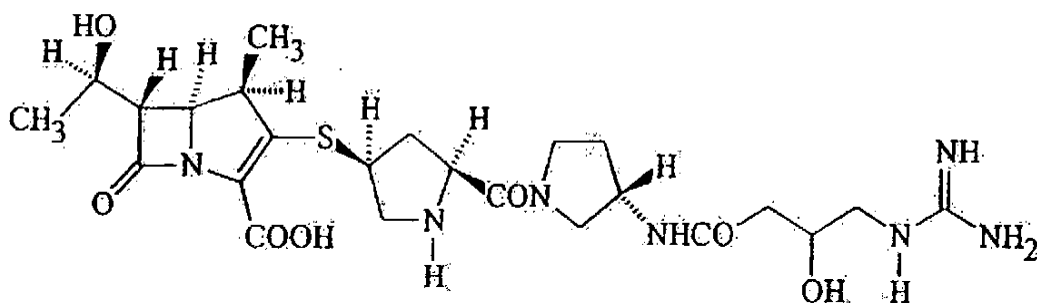
Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3331, 1755, 1649, 1596, 1463, 1387, 1286, 1257, 1225, 1182, 1149, 1108.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d, J=7,2 Hz), 1,30 (3H, d, J=6,5 Hz), 1,60-1,72 (1H, m), 2,53-2,71 (3H, m), 2,93-3,07 (1H, m), 3,15-3,24 (1H, m), 3,36-3,46 (2H, m), 3,50 (2H, t, J=6,3 Hz), 3,73-3,88 (2H, m), 3,90-3,98 (1H, m), 4,10-4,30 (3H, m), 4,33-4,45 (1H, m), 4,51-4,69 (2H, m).

FAB-MS m,z: 524 [M+H]<sup>+</sup>

## Příklad 7

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(4-guanidino-3-hydroxybutanoylamino)pyrrolidin-1-yl-karbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-178)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyfosforyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,55 g) a (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)pyrrolidinu (2,34 g) byla provedena reakce a čišění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)guanidino]-2-hydroxybutanoylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (2,8 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3340, 1774, 1732, 1712, 1645, 1608, 1522, 1440, 1347.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,21-1,37 (6H, m), 1,85-2,38 (6H, m), 2,59-2,66 (1H, m), 3,27-3,90 (11H, m), 3,98-4,29 (5H, m), 4,46-4,54 (2H, m), 5,05-5,51 (8H, m), 7,41-7,66 (8H, m), 8,16-8,25 (8H, m), 8,69-8,71 (1H, m), 11,71-11,73 (1H, m).

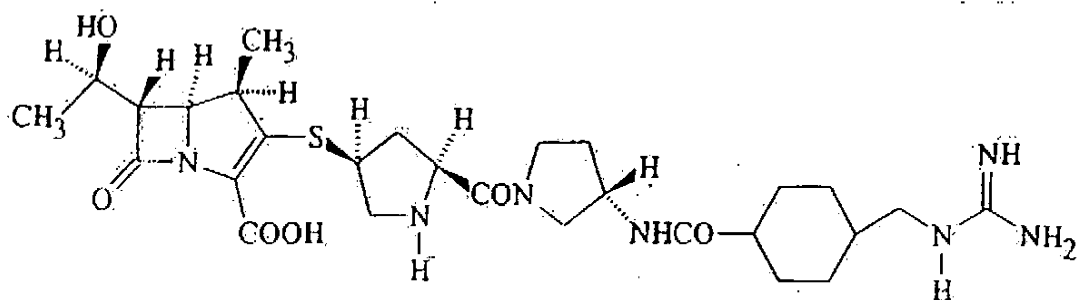
(2) Do roztoku ze sloučeniny (2,00 g), která byla získána v kroku (1), v tetrahydrofuranu (60 ml) a vody (40 ml) byl dodán katalyzátor (2,00 g) 7,5 % palladium-uhlík. Vodík byl ponechán absorbovat do výsledného roztoku po dobu 2 hodin při promíchávání a vnější teplotě 30 °C. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž bylo získáno 410 mg cílové sloučeniny ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3340, 2968, 1754, 1642, 1453, 1390.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, dd,  $J=6,7, 3,7$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,53-1,69 (1H, m), 1,92-2,09 (1H, m), 2,17-2,34 (1H, m), 2,40-2,52 (2H, m), 2,70-2,78 (1H, m), 3,04-3,10 (1H, m), 3,17-3,27 (2H, m), 3,33-3,50 (4H, m), 3,54-3,85 (4H, m), 3,96-4,05 (1H, m), 4,16-4,28 (3H, m), 4,38-4,43 (1H, m).

## Příklad 8

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(4-guanidinomethylcyklohexyl)-karbonylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-119)



- (1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-di fenylfosfo-  
 ryloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,13 g) a (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyl-  
 oxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-guanidinomethylcyklohexyl]-  
 5 karbonylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (1,85 g) byla provedena reakce a čištění  
 podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-  
 (1R,5S,6S)-6-((1R)-1-hydroxyethyl)-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-  
 [[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinomethylcyklohexyl]karbonylamino]pyrrolidin-1-yl-  
 10 karbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,89 g) ve formě  
 amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 2933, 1773, 1717, 1657, 1608, 1522,  
 1442, 1347.

- 15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 0,84-0,99 (2H, m),  
 1,24-1,44 (6H, m), 1,64-2,25 (10H, m), 2,58-2,68 (1H, m), 2,88 (1H, s), 2,96 (1H, s), 3,27-4,57  
 (16H, m), 4,91-5,61 (8H, m), 7,37-7,67 (8H, m), 8,11-8,28 (8H, m), 9,30-9,50 (2H, m).

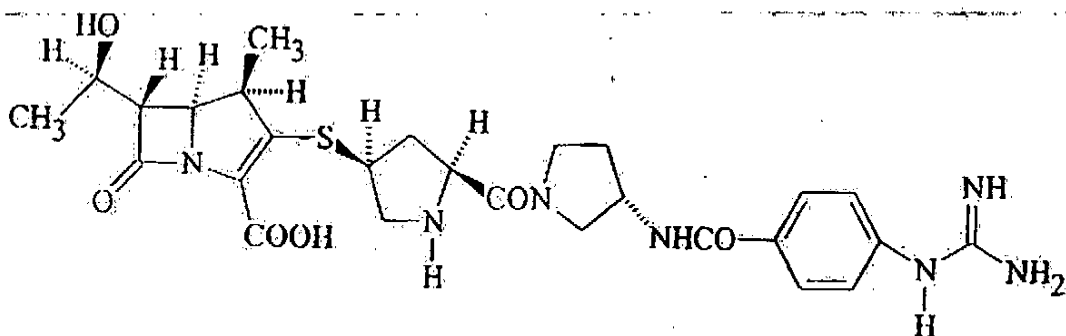
- (2) Sloučenina (1,80 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci podobným  
 20 způsobem popsáným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (354 mg) ve formě  
 prášku.

Infračervené absorpční spektrum  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 2931, 1755, 1642, 1546, 1451, 1387.

- 25 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  ppm: 0,98-1,07 (2H, m), 1,22  
 (3H, dd,  $J=7,1, 4,7$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,3$  Hz), 1,36-1,67 (4H, m), 1,78-1,92 (2H, m), 1,95-2,06  
 (1H, m), 2,18-2,32 (2H, m), 2,69-2,79 (1H, m), 2,99-3,15 (3H, m), 3,17-3,22 (1H, m),  
 3,38-3,84 (7H, m), 3,93-4,03 (1H, m), 4,19-4,28 (2H, m), 4,33-4,41 (1H, m).

30 Příklad 9

- (1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[[4-guanidinobenzoyl]aminolpyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrro-  
 lidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina  
 35 (vzorová sloučenina 1-113)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyloxyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (0,59 g) a (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)guanidinobenzoyl]amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (0,91 g) byla provedena reakce a čišění podobným způsobem popsá-  
 5 ným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-2-[(2S,4S)-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)guanidinobenzoyl]amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (0,89 g) ve formě amorfní látky.

10 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3397, 1773, 1727, 1717, 1655, 1609, 1522, 1347.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  ppm: 1,12-1,26 (6H, m), 1,67-2,30 (4H, m), 2,69-2,84 (1H, m), 3,18-3,98 (9H, m), 4,05-4,28 (3H, m), 4,39-4,64 (2H, m), 4,93-5,48 (8H, m), 6,97-7,38 (8H, m), 7,46-7,85 (5H, m), 8,05-8,23 (7H, m), 9,10-9,38 (2H, m).

20 (2) Sloučenina (0,87 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (130 mg) ve formě prášku.

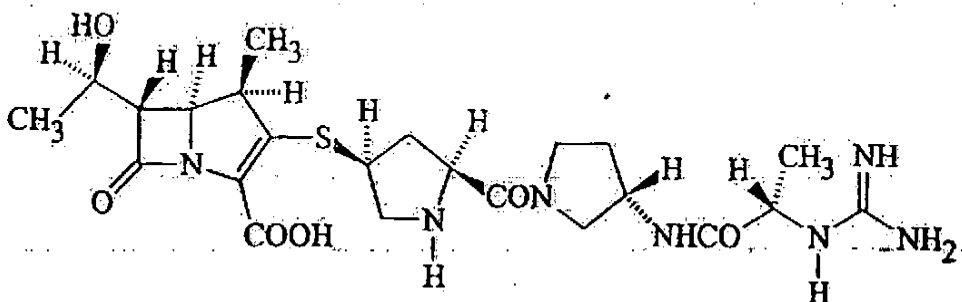
Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3328, 1754, 1638, 1606, 1571, 1507, 1457, 1388.

25 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,15 (3H, dd,  $J=45,3$ , 7,1 Hz), 1,28-1,31 (3H, m), 1,49-1,70 (1H, m), 2,09-2,21 (1H, m), 2,28-2,43 (1H, m), 2,69-2,78 (1H, m), 3,02-3,07 (1H, m), 3,18-3,23 (1H, m), 3,32-3,44 (2H, m), 3,54-3,89 (5H, m), 4,00-4,07 (1H, m), 4,15-4,26 (2H, m), 4,57-4,63 (1H, m), 7,42 (2H, dd,  $J=6,8$ , 1,8 Hz), 7,83 (2H, dd,  $J=6,8$ , 1,8 Hz).

30

## Příklad 10

35 (1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2S)-2-guanidino-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-59)



40 (1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyloxyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,21 g) a (2S, 4S) -2- [(3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)-guanidino]-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)pyrrolidinu (1,68 g) byla provedena reakce a čišění podobným způsobem popsáným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-

amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,92 g) ve formě amorfní látky.

5 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3331, 1775, 1734, 1710, 1645, 1623, 1609, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,23–1,50 (9H, m), 1,65–2,25 (3H, m), 2,50–2,70 (1H, m), 3,23–3,90 (8H, m), 3,94–4,06 (1H, m), 4,22–4,62 (5H, m), 5,04–5,55 (8H, m), 7,00–7,10 (1H, m), 7,38–7,69 (8H, m), 8,09–8,29 (8H, m), 8,94 (1H, d,  $J=6,8$  Hz), 11,62 (1H, s).

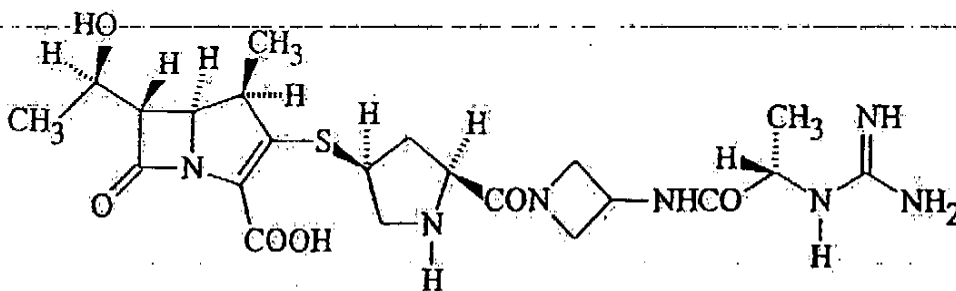
(2) Sloučenina (1,88 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (361 mg) ve formě prášku.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 1756, 1633, 1454, 1389, 1344, 1312.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm 1,22 (3H, dd,  $J=7,2, 3,0$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,3$  Hz) 1,45 (3H, d,  $J=7,1$  Hz), 1,50–1,59 (1H, m), 1,60–1,70 (1H, m), 1,95–2,12 (1H, m), 2,19–2,37 (1H, m), 2,67–2,80 (1H, m), 3,02–3,11 (1H, m), 3,13–3,23 (1H, m), 3,36–3,52 (3H, m), 3,54–3,88 (4H, m), 3,92–4,06 (1H, m), 4,16–4,31 (3H, m), 4,39–4,51 (1H, m).

#### 25 Příklad 11

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-(2S)-2-guanidino-2-methylacetyl-amino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1 - 68)



30

(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-di fenylfosforyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (969 mg) a (2S,4S)-2-[3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkapto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidinu (1,32 g) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzol-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,36 g) ve formě amorfní látky.

40 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3328, 1775, 1734, 1710, 1645, 1623, 1609, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,28–1,50 (9H, m), 1,90–2,28 (1H, m), 2,48–2,80 (1H, m), 3,25–3,57 (3H, m), 3,63–4,80 (11H, m), 4,97–5,60

(8H, m), 7,39 (1H, d, J=7,9 Hz), 7,43–7,70 (8H, m), 8,10–8,30 (8H, m), 8,78 (1H, d, J=6,7 Hz), 11,64 (1H, m).

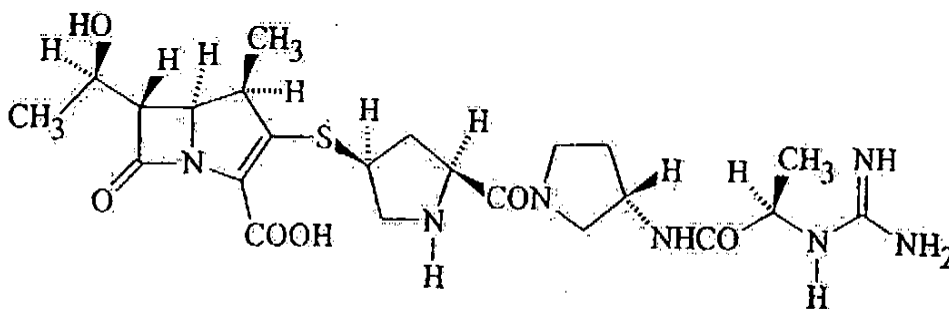
(2) Sloučenina (1,34 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čištění podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1–(2), čímž byla získána cílová sloučenina (321 mg) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 1754, 1649, 1594, 1462, 1389, 1312, 1287, 1256.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d, J=7,2 Hz), 1,30 (3H, d, J=6,4 Hz), 1,48 (3H, d, J=7,0 Hz), 1,62–1,75 (1H, m), 2,58–2,72 (1H, m), 2,98–3,07 (1H, m), 3,16–3,25 (1H, m), 3,33–3,51 (2H, m), 3,75–3,90 (2H, m), 3,94–4,03 (1H, m), 4,14–4,31 (4H, m), 4,34–4,45 (1H, m), 4,58–4,73 (2H, m).

### Příklad 12

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-guanidino-2-methylacetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-59)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyloxyfosforyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (826 mg) a (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyl-oxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu (1,204 g) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem popsáným v příkladu 1–(1), čímž byl získán 4-nitrobenzol-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminopyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,653 g) ve formě amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3331, 1774, 1733, 1711, 1645, 1623, 1609, 1523.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,20–1,50 (9H, m), 1,70–1,93 (1H, b), 2,10–2,30 (2H, m), 2,50–2,70 (1H, m), 3,24–4,63 (14H, m), 4,97–5,56 (8H, m), 7,40–7,70 (8H, m), 8,10–8,28 (8H, m).

(2) Sloučenina (1,637 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čištění podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1–(2), čímž byla získána cílová sloučenina (260 mg) ve formě pudru.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 1755, 1648, 1453, 1389.



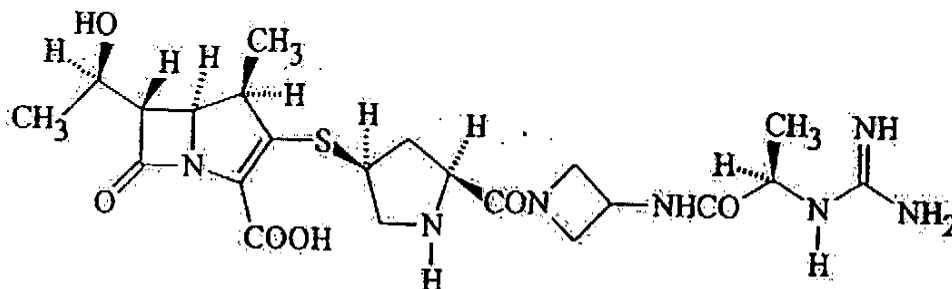
Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, dd, J=7,2, 4,6 Hz), 1,30 (3H, d, J=6,4 Hz), 1,46 (3H, d, J=7,1 Hz), 1,43–1,72 (1H, m), 1,97–2,11 (1H, m), 2,17–2,37 (1H, m), 2,65–2,78 (1H, m), 3,02–3,11 (1H, m), 3,13–3,28 (1H, m), 3,35–3,87 (7H, m), 3,92–4,06 (1H, m), 4,16–4,30 (3H, m), 4,37–4,47 (1H, m).

5

## Příklad 13

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-[(2R)-2-guanidino-2-methylacetyl-amino]azetidín-1-ylkarbo-  
nyl]pyrrolidín-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxy-  
lová kyselina (vzorová sloučenina 1-68)

10



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylofosfo-  
roxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (612 mg) a (2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyl-  
oxykarbonyl)-2-(3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino-3-2-methylacetyl-  
amino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín-4-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-  
methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,08 g) ve formě amorfní látky.

15

20

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3420, 1773, 1736, 1709, 1645, 1623, 1609, 1523.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,29 (3H, d, J=7,1 Hz), 1,37 (3H, d, J=6,2 Hz), 1,45 (3H, d, J=6,9 Hz), 1,90–2,22 (1H, m), 2,43–2,66 (1H, m), 3,24–4,08 (14H, m), 5,03–5,58 (8H, m), 7,40–7,70 (8H, m), 7,75 (1H, d, J=7,5 Hz), 8,13–8,28 (8H, m), 8,74 (1H, t, J=7,1 Hz), 11,65 (1H, s).

25

(2) Sloučenina (1,034 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čišťení podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (179 mg) ve formě prášku.

30

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 1756, 1649, 1462, 1387, 1313, 1286, 1255.

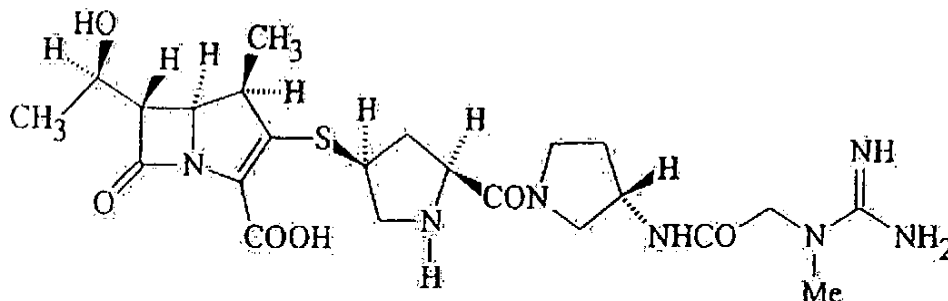
35

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d, J=7,2 Hz), 1,30 (3H, d, J=6,4 Hz), 1,48 (3H, d, J=7,0 Hz), 1,61–1,74 (1H, m), 2,58–2,78 (1H, m), 2,98–3,08 (1H, m), 3,17–3,27 (1H, m), 3,33–3,49 (2H, m), 3,73–3,90 (2H, m), 3,93–4,03 (1H, m), 4,15–4,30 (4H, m), 4,33–4,47 (1H, m), 4,55–4,74 (2H, m).

40

## Příklad 14

5 (1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-(1-methylguanidino)acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-56)



10 (1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylofosfoxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (936 mg) a (2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidinu (1,30 g) byla provedena reakce a čišťení podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (972 mg) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3343, 1768, 1709, 1656, 1608, 1522, 1445, 1404.

20 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,20-1,43 (6H, m), 1,75-2,26 (3H, m), 2,55-2,72 (1H, m), 3,04-3,14 (3H, m), 3,23-4,53 (15H, m), 4,92-5,03 (6H, m), 7,38 (1H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,43-7,68 (8H, m), 8,08-8,32 (8H, m), 10,32 (1H, s).

25 (2) Sloučenina (956 mg), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čišťení podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (192 mg) ve formě prášku.

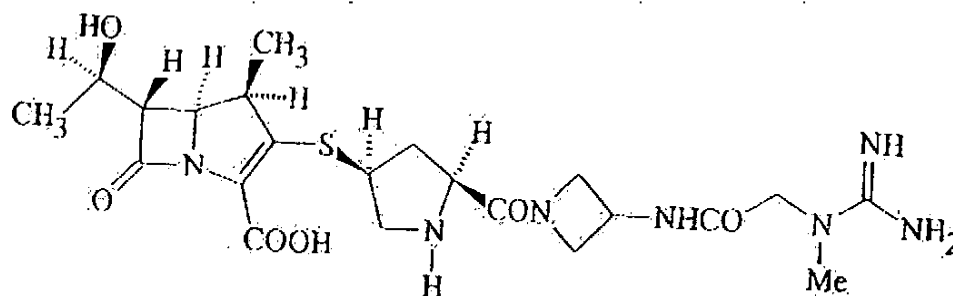
Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3353, 1753, 1664, 1622, 1452, 1390, 1285, 1262.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, dd,  $J=7,2, 2,6$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,54-1,71 (1H, m), 2,18-2,37 (1H, m), 2,67-2,79 (1H, m), 3,00-3,12 (4H, m), 3,15-3,24 (1H, m), 3,35-3,89 (7H, m), 3,93-4,07 (1H, m), 4,10-4,30 (4H, m), 4,41-4,52 (1H, m).

35

## Příklad 15

40 (1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-[(2S,4S)-2-(3-[2-(1-methylguanidino)acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová kyselina 1-102).



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyl fosfo-  
 roxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (926 mg) a (2S,4S)-2-[3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyl-  
 5 benzyloxykarbonyl)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitro-  
 benzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-  
 2-em-3-karboxylát (958 mg) ve formě amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3392, 1767, 1707, 1671, 1608, 1522, 1451, 1403.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,23-1,42 (6H, m),  
 15 1,91-2,15 (1H, m), 2,50-2,75 (1H, m), 3,05-4,50 (17H, m), 4,57-4,78 (1H, m), 5,03-5,55  
 (8H, m), 7,35-7,69 (8H, m), 8,08-8,32 (8H, m).

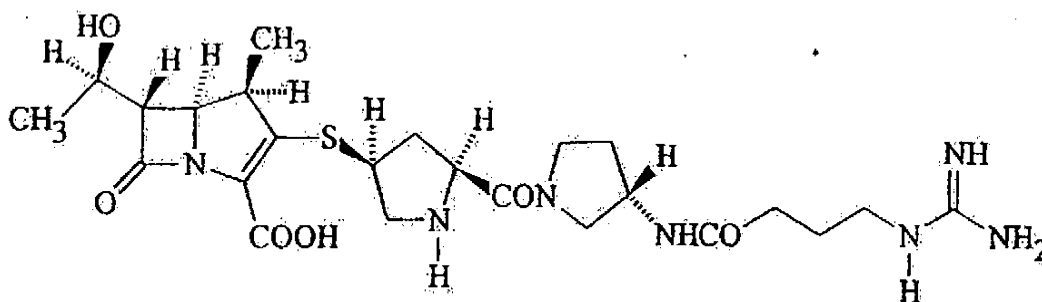
(2) Sloučenina (931 mg), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čistění  
 20 podobným způsobem popsáným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (185 mg)  
 ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3339, 3241, 1754, 1656, 1614, 1462, 1387,  
 1315, 1280.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d,  $J=7,2$  Hz), 1,30  
 (3H, d,  $J=6,5$  Hz), 1,61-1,74 (1H, m), 2,58-2,72 (1H, m), 2,98-3,12 (4H, m), 3,15-3,26 (1H, m),  
 3,31-3,49 (2H, m), 3,74-3,90 (2H, m), 3,96-4,05 (1H, m), 4,13-4,32 (5H, m), 4,34-4,46  
 (1H, m), 4,52-4,75 (2H, m).

#### Příklad 16

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(4-guanidinobutanoylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrro-  
 lidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina  
 35 (vzorová sloučenina 1-139)



(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,48 g) a (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidinu (2,20 g) byla provedena reakce a čišťení podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (2,82 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3341, 1773, 1732, 1712, 1644, 1608, 1522, 1437, 1347.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,21-1,32 (3H, m), 1,36 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,79-2,05 (6H, m), 2,09-2,28 (3H, m), 2,60-2,66 (1H, m), 3,27-4,10 (10H, m), 4,22-4,29 (2H, m), 4,45-4,56 (2H, m), 5,05-5,51 (8H, m), 6,44-6,83 (1H, m), 7,421-7,66 (8H, m), 8,15-8,25 (8H, m), 8,42-8,49 (1H, m), 11,79 (1H, d,  $J=12,3$  Hz).

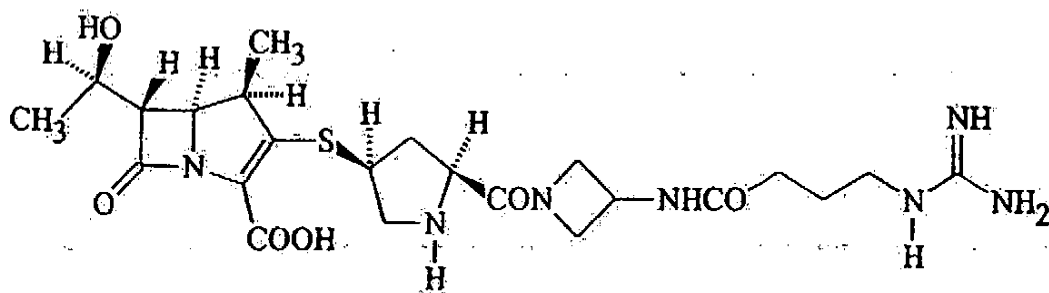
(2) Sloučenina (2,80 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čišťení podobným způsobem popsáným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (540 mg) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 2967, 1754, 1645, 1552, 1453, 1388.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, dd,  $J=7,1, 4,9$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,49-1,69 (1H, m), 1,84-2,05 (3H, m), 2,19-2,35 (3H, m), 2,69-2,77 (1H, m), 3,03-3,09 (1H, m), 3,16-3,23 (3H, m), 3,38-3,50 (3H, m), 3,57-3,83 (4H, m), 3,94-4,04 (1H, m), 4,20-4,28 (2H, m), 4,37-4,42 (1H, m).

Příklad 17

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-(4-guanidinobutanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-187)



35

(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,30 g) a (2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidinu (1,90 g) byla provedena reakce a čišťení podobným způsobem popsáným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (2,05 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3340, 1773, 1711, 1645, 1608, 1522, 1438, 1347.

5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,20–1,29 (3H, m), 1,35 (3H, d,  $J=6,3$  Hz), 1,88–2,28 (6H, m), 2,50–2,62 (1H, m), 3,27–3,52 (5H, m), 3,64–3,76 (1H, m), 3,89–4,44 (8H, m), 4,67–4,79 (1H, m), 5,09–5,52 (8H, m), 7,39–7,67 (9H, m), 8,17–8,25 (8H, m), 8,46–8,53 (1H, m), 11,80 (1H, s).

10 (2) Sloučenina (2,00 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čištěna podobným způsobem popsaným v příkladu 1–(2), čímž byla získána cílová sloučenina (410 mg) ve formě prášku.

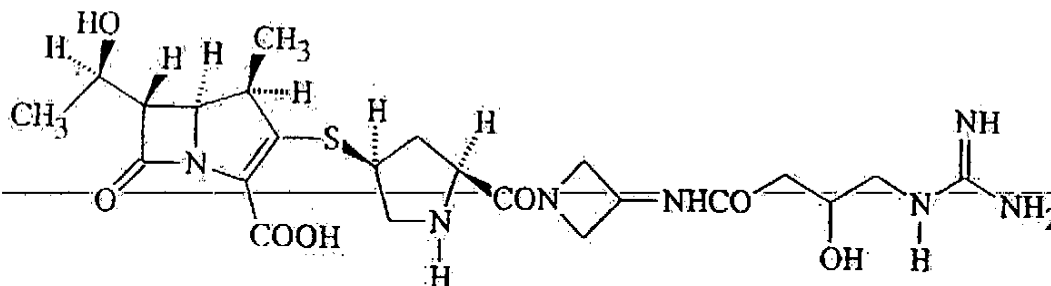
Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 2967, 1754, 1649, 1551, 1466, 1387.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d,  $J=7,1$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,1$  Hz), 1,62–1,71 (1H, m), 1,86–1,93 (2H, m), 2,35–2,39 (2H, m), 2,60–2,71 (1H, m), 2,99–3,05 (1H, m), 3,17–3,25 (3H, m), 3,36–3,48 (2H, m), 3,76–3,97 (3H, m), 4,12–4,28 (3H, m), 4,34–4,41 (1H, m), 4,57–4,67 (2H, m).

20

## Příklad 18

25 (1R,5S,6S)-2-((2S,4S)-2-[3-(4-guanidino-3-hydroxybutanoylamino)-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]azetidín-4-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-188)



30 (1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylofosforyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (1,19 g) a (2S,4S)-2-[[3-(4-[2,3-di(4-nitrobenzyl-oxycarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino)azetidín-1-yl]karbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidinu (1,76 g) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1–(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]azetidín-1-yl]-karbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylát (1,73 g) ve formě amorfní látky.

35

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3343, 1773, 1710, 1645, 1608, 1522, 1442, 1347.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,24–1,29 (3H, m), 1,35 (3H, d,  $J=6,2$  Hz), 2,01–2,27 (2H, m), 2,36–2,40 (2H, m), 2,55–2,62 (1H, m), 3,27–3,53 (4H, m), 3,59–3,76 (2H, m), 3,85–4,01 (2H, m), 4,06–4,44 (7H, m), 4,46–4,73 (1H, m), 4,93–5,51 (9H, m), 7,00–7,27 (1H, m), 7,46–7,66 (8H, m), 8,17–8,25 (8H, m), 8,69–8,73 (1H, m), 11,72 (1H, s).

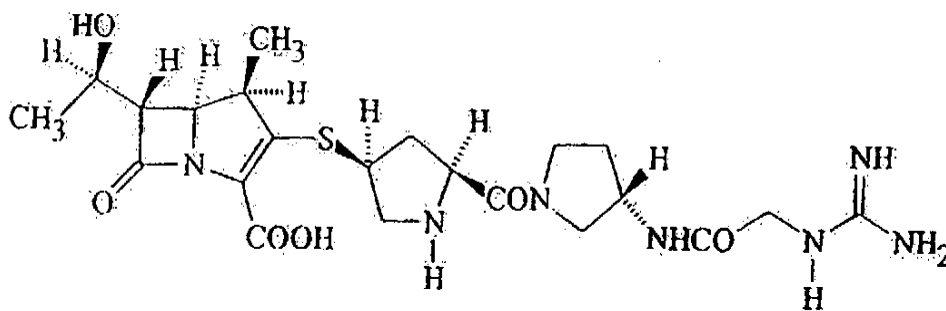
45 (2) Sloučenina (1,70 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenaci a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1–(2), čímž byla získána cílová sloučenina (210 mg) ve formě prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 2967, 1755, 1649, 1595, 1462, 1387.

5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (3H, d,  $J=7,2$  Hz), 1,30 (3H, d,  $J=6,3$  Hz), 1,63–1,71 (1H, m), 2,44–2,56 (2H, m), 2,60–2,70 (1H, m), 2,99–3,05 (1H, m), 3,17–3,29 (2H, m), 3,35–3,44 (3H, m), 3,75–3,88 (2H, m), 3,94–3,99 (1H, m), 4,15–4,28 (4H, m), 4,34–4,43 (1H, m), 4,57–4,68 (2H, m).

10 Příklad 19

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(2-guanidinoacetylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-59)



15

(1) Použitím 4-nitrobenzyl-(1R,5R,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-2-difenylofosforyloxy-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (6,35 g) a (2S,4S)-2-[(3S)-3-(2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl)-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl]pyrrolidinu (8,44 g) byla provedena reakce a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(1), čímž byl získán 4-nitrobenzyl-(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylátu (9,64 g) ve formě amorfni látky.

25 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3334, 1773, 1738, 1709, 1645, 1608, 1549, 1522.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm: 1,10–1,25 (6H, m), 1,58–2,20 (3H, m), 2,70–2,90 (1H, m), 3,10–4,70 (15H, m), 3,10–4,70 (15H, m), 4,95–5,50 (8H, m), 7,45–7,78 (8H, m), 8,13–8,41 (8H, m).

(2) Sloučenina (4,00 g), která byla získána v kroku (1), byla podrobena hydrogenací a čištění podobným způsobem popsaným v příkladu 1-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (663 mg) ve formě prášku.

35

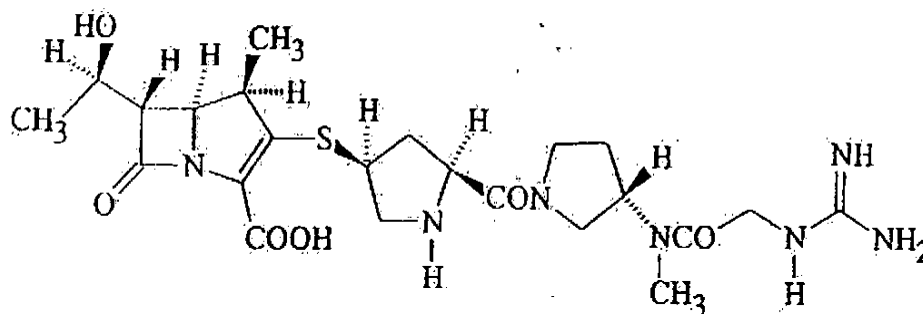
Ultrafialové absorpční spektrum  $\max(\text{H}_2\text{O})$  nm: 299.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3340, 1754, 1665, 1634, 1452, 1390.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,01 (3H, dd,  $J=7,3$ , 3,4 Hz), 1,10 (3H, d,  $J=6,4$  Hz), 1,33–1,52 (1H, m), 1,73–1,90 (1H, m), 1,97–2,15 (1H, m), 2,47–2,58 (1H, m), 2,81–2,92 (1H, m), 2,94–3,03 (1H, m), 3,13–3,31 (3H, m), 3,31–3,67 (4H, m), 3,73–3,87 (3H, m), 3,97–4,09 (2H, m), 4,20–4,30 (1H, m).

## Příklad 20

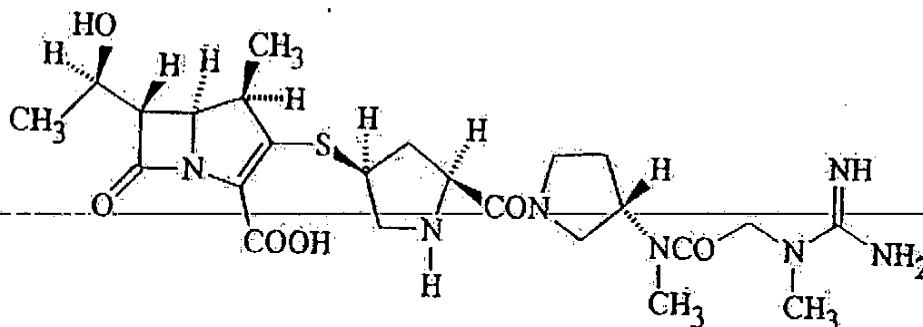
(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-(N-(2-guanidinoacetyl)-N-methylaminolpyrrolidin-1-ylkarbonyl)pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-100)



Cílová sloučenina byla získána podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1) a (2), byla

## 10 Příklad 21

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[(3S)-3-[N-[2-(1-methylguanidino)acetyl]-N-methylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-170)



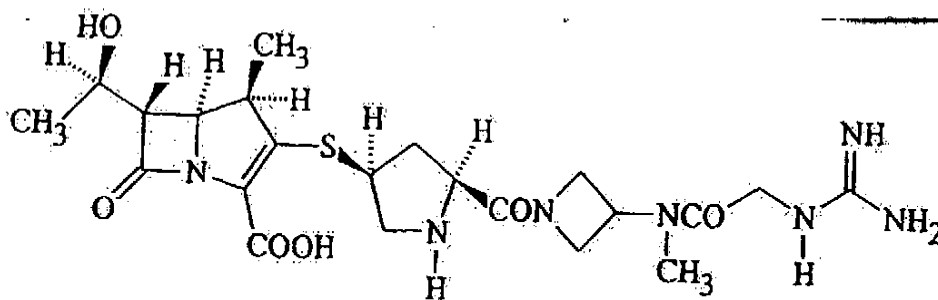
15

Cílová sloučenina byla získána podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1) a (2).

## Příklad 22

20

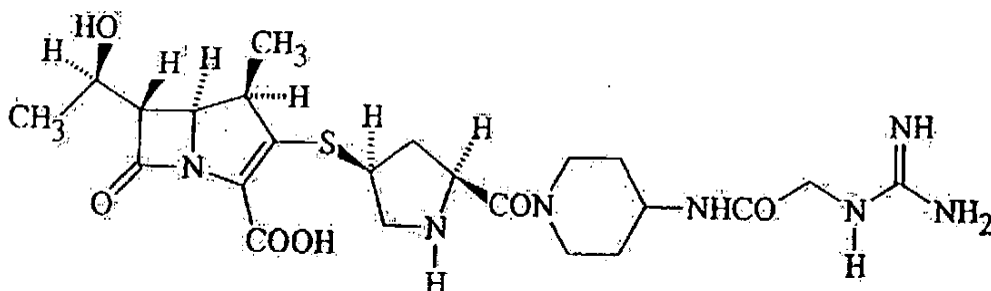
(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[3-[N-(2-guanidinoacetyl)-N-methylamino]-azetidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-189)



25 Cílová sloučenina byla získána podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1) a (2).

## Příklad 23

(1R,5S,6S)-2-[(2S,4S)-2-[4-(2-guanidinoacetylamino)piperidin-1-ylkarbonyl]-pyrrolidin-4-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová kyselina (vzorová sloučenina 1-72)



Cílová sloučenina byla získána podobným způsobem, který je popsán v příkladu 1-(1) a (2).

## 10 Referenční příklad 1

(2S,4S)-4-merkapto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-((3S)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl)-pyrrolidin

15 (1) Do roztoku z 1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (3,67 g) v bezvodém acetonitrilu (50 ml) by dodán N,N-karbonyldiimidazol (1,86 g) při pokojové teplotě. Reakční směs byla promíchávána 1 hodinu, následovalo dodání roztoku z (3S)-3-amino-1-(t-butoxykarbonyl)-pyrrolidinu (1,86 g) v bezvodém acetonitrilu (20 ml) při ochlazení ledem a reakční směs byla promíchávána při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : dichloromethan = 1 : 1), čímž se získalo 3,31 g (3S)-1-(t-butoxykarbonyl)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidinu ve formě bezbarvé amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3315, 1698, 1608, 1524, 1479, 1405, 1366, 1346, 1244.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 1,46 (9H, s), 1,64–2,45 (6H, m), 2,90–3,69 (6H, m), 4,27 (1H, bs), 4,40 (1H, bs), 5,22, 5,27 (každé 1H, d,  $J=14,0$  Hz), 7,52 (2H, d,  $J=8,3$  Hz), 8,23 (2H, d,  $J=8,3$  Hz).

35 (2) Do sloučeniny (763 mg), která byla získána v kroku (1), byla dodána kyselina trifluoroctová (3 ml) při ochlazení ledem. Výsledná směs byla promíchávána 10 minut, následovalo dodání 1,2-dichloroethanu a hexanu, čímž vznikla sraženina. Sraženina byla oddělena usazováním, promyta etherem, následně bylo oddestilováno rozpouštědlo, čímž byl získán (3S)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidin-trifluoroacetát. Získaná látka byla uschována pro následné kroky zpracování bez čistění.

40 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1782, 1676, 1551, 1526, 1437, 1408, 1347, 1209, 1171.



Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,84–2,50 (6H, m), 3,20–3,75 (6H, m), 4,27 (1H, b), 4,55 (1H, bs), 5,17, 2,26 (každé 1H, d, J=13,5 Hz), 7,51 (2H, d, J=8,3 Hz), 8,22 (2H, d, J=8,3 Hz).

- 5 (3) Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitro-benzyloxykarbonyl)-L-prolinu (772 mg) v bezvodém acetonitrilu (12 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (293 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (301  $\mu$ l) a roztok ze sloučeniny, která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (10 ml), směs byla promíchávána při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla  
10 zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, následně byla tato zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : dichloromethan = 1 : 1, methanol : ethylacetát : dichloromethan = 5 : 47,5 : 47,5),  
15 čímž bylo získáno 1,17 g (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-propylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu ve formě amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3319, 1709, 1657, 1608, 1521, 1439, 1404, 1346, 1300, 1248.

20

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,60–2,60 (8H, m), 2,98–4,60 (17H, m), 5,00–5,40 (4H, m), 6,75–6,95 (2H, m), 7,18–7,33 (2H, m), 7,38–7,60 (4H, m), 8,13–8,30 (4H, m).

- 25 (4) Do směsi ze sloučeniny (1,16 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,6 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (5,6 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (260  $\mu$ l) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu. Výsledný roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného, vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrován  
30 odpařováním při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 958 mg cílové sloučeniny.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3320, 1709, 1656, 1607, 1522, 1438, 1404, 1346.

35

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,55–2,80 (8H, m), 3,15–4,58 (12H, m), 5,03–5,43 (4H, m), 7,40–7,60 (4H, m), 8,10–8,30 (4H, m).

#### 40 Referenční příklad 2

(2S,4S)-4-merkpto-2-[(3S)-3-(1-methyl-L-prolylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

- 45 (1) Do suspenze z 1-methyl-L-prolinu (600 mg) a (3S)-3-amino-1-(t-butoxykarbonyl)pyrrolidinu (758 mg) v bezvodém DMF (10 ml) byl dodán 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidhydrochlorid (856 mg) a 1-hydroxybenzotriazol (550 mg). Směs byla promíchávána přes noc při pokojové teplotě. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodným roztokem uhličitanu sodného, 15 % solným roztokem a nasycena solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při  
50 sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát, 5 % methanol : ethylacetát, 10 % methanol : ethylacetát), čímž bylo získáno 1,11 g (3S)-1-(t-butoxykarbonyl)-3-(1-methyl-L-prolylamino)pyrrolidinu.

Infračervené absorpční spektrum ( $\text{CHCl}_3$  roztok)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3337, 1672, 1514, 1478, 1455, 1412, 1368.

5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,46 (9H, s), 1,60–1,90, (4H, m), 2,06–2,40 (3H, m), 2,33 (3H, s), 2,80–2,90 (1H, m), 3,00–3,27 (2H, m), 3,32–3,50 (2H, m), 3,60–3,70 (1H, m), 4,35–4,52 (1H, m).

(2) Do roztoku ze sloučeniny (980 mg), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (8 ml), byla dodána kyselina trifluoroctová (4 ml) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla promíchávána 10 minut, následně byla zkoncentrována při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt hexanem a etherem, čímž bylo získáno 1,84 g (3S)-3-(1-methyl-L-prolylamino)pyrrolidinu.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 1674, 1570, 1461, 1429, 1398, 1327, 1203, 1142.

20 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 2,00–2,30 (4H, m), 2,32–2,50 (1H, m), 2,52–2,66 (1H, m), 2,95 (3H, s), 3,17–3,33 (2H, m), 3,37–3,68 (3H, m), 3,72–3,84 (3H, m), 4,11–4,21 (1H, m), 4,48–4,60 (1H, m).

(3) Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitro-benzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,47 g) v bezvodém acetonitrilu (15 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (562 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (1,2 ml) a roztok ze sloučeniny (1,84 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (10 ml), směs byla promíchávána přes noc při pokojové teplotě. Reakční směs byla čištěna podobným způsobem popsaným v odkazu 1-(3), čímž bylo získáno 1,23 g (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-2-[(3S)-3-(1-methyl-L-prolylamino)pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu.

30 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3320, 1710, 1656, 1609, 1584, 1512, 1439, 1404, 1346.

35 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,56–2,55 (10H, m), 2,31 (3H, s), 2,80–2,90 (1H, m), 2,95–3,20 (2H, m), 3,27–4,10 (7H, m), 3,79 (3H, s), 4,30–4,55 (2H, m), 4,98–5,37 (2H, m), 6,85 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,18–7,30 (2H, m), 7,37–7,50 (2H, m), 8,18–8,28 (2H, m).

(4) Do roztoku ze sloučeniny (1,21 g), která byla získána v kroku (3), s anisolem (2,1 ml) byla dodána kyselina trifluoroctová (7,4 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (340  $\mu\text{l}$ ), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla čištěna podobným způsobem popsaným v odkazu 1-(4), čímž bylo získáno 1,03 g cílové sloučeniny.

45 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3306, 1709, 1655, 1607, 1522, 1441, 1405, 1346, 1283, 1261.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,55–4,70 (23H, m), 5,03–5,30 (2H, m), 7,50–7,68 (2H, m), 8,18–8,28 (2H, m).

50 Referenční příklad 3

(2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-guanidinoacetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

(1) Do roztoku z (3S)-1-(t-butoxykarbonyl)-3-(aminoacetylamo)pyrrolidinu (2,50 g) ve vodě (35 ml) byl dodán uhličitan sodný (1,31 g) a kyselina formamidinsulfonová (1,53 g) při ochlazování ledem, směs byla promíchávána při pokojové teplotě přes noc. Do reakční směsi byl dodán tetrahydrofuran (30 ml). Do výsledné směsi byl dodán po kapkách roztok z p-nitrobenzyl-chloroformiátu (4,43 g) v tetrahydrofuranu (20 ml) a současně 1 N vodný roztok hydroxidu sodného (21 ml), následovalo promíchávání při stejné teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku, čímž byl získán (3S)-1-(t-butoxykarbonyl)-3-[di(4-nitrobenzyloxy-karbonyl)guanidinoacetylamo]pyrrolidin. Získaná látka byla ponechána pro následující kroky zpracování bez čištění.

(2) Do roztoku ze sloučeniny, která byla získána v kroku (1), v methanolu (50 ml) byl dodán 1 N vodný roztok hydroxidu sodného (3 ml), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát, 5 % methanol : ethylacetát), čímž bylo získáno 991 mg (3S)-1-(t-butoxykarbonyl)-3-[(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinoacetylaminol]pyrrolidinu ve formě světlé žluté amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1664, 1608, 1524, 1479, 1414, 1368, 1347, 1291.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,57-1,93 (1H, m), 2,05-2,20 (1H, m), 3,10-3,28 (1H, b), 3,32-3,50 (2H, b), 3,58 (1H, dd,  $J=11,4, 6,1$  Hz), 3,92 (2H, bs), 4,28-4,48 (1H, b), 5,19 (2H, s), 7,54 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,20 (2H, d,  $J=8,6$  Hz).

(3) Do roztoku ze sloučeniny (951 mg), která byla získána v kroku (2), v bezvodém dichloromethanu (10 ml) byla dodána kyselina trifluoroctová (4 ml) při ochlazování ledem. Směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 3-(2), čímž byl získán (3S)-3-[(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinoacetylamo]pyrrolidin-2-trifluoroacetát.

Infračervené absorpční spektrum (kapalinná vrstva)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1752, 1674, 1525, 1436, 1351, 1319, 1246, 1202, 1139.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ - $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,75-2,25 (2H, m), 2,92-3,08 (1H, m), 3,15-3,47 (3H, m), 4,00 (2H, s), 4,25-4,40 (1H, m), 5,42 (2H, s), 7,71 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,28 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,57 (1H, d,  $J=6,3$  Hz).

(4) Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (960 mg) v bezvodém acetonitrilu (15 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (365 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (535  $\mu\text{l}$ ) a roztok ze sloučeniny, která byla získána v kroku (3), v bezvodém acetonitrilu (15 ml), směs byla promíchávána přes noc při pokojové teplotě. Reakční směs byla čištěna podobným způsobem popsaným v odkazu 1-(3), čímž bylo získáno 986 mg (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinoacetylamo]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu ve formě bezbarvé amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1705, 1655, 1609, 1521, 1441, 1405, 1346, 1290.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ - $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,70-2,20 (3H, m), 2,36-2,53 (1H, m), 2,95-3,45 (4H, m), 3,65-3,90 (7H, m), 3,79 (3H, s), 4,25-4,47 (2H, m),

5,05–5,20 (4H, m), 6,86 (2H, d, J=8,5 Hz), 7,25 (2H, d, J=8,5 Hz), 7,40–7,58 (4H, m), 8,10–8,27 (4H, m).

(5) Do směsi ze sloučeniny (961 mg), která byla získána v kroku (4), a anisolu (1,3 ml) byla  
5 dodána kyselina trifluoroctová (4,6 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (213  $\mu$ l) při ochla-  
zování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs  
byla čištěna podobným způsobem popsaným v odkazu 1–(4), čímž bylo získáno 773 mg cílové  
sloučeniny.

10 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3323, 1703, 1652, 1608, 1521, 1441, 1405,  
1379, 1346, 1290.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ – $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,80–2,25 (3H, m),  
2,59–2,78 (1H, m), 3,17–3,68 (3H, m), 3,72–3,99 (4H, m), 4,01–4,15 (1H, m), 4,35–4,50  
15 (2H, m), 5,10–5,25 (4H, m), 7,38–7,58 (4H, m), 8,10–8,27 (4H, m).

#### Referenční příklad 4

20 (2S,4S)–4–merkpto–1–(4–nitrobenzyloxykarbonyl)–2–[(3S)–3–[ $\alpha,\omega$ –di(4–nitrobenzyloxy-  
karbonyl)–L–arginylamino]pyrrolidin–1–ylkarbonyl]pyrrolidin

(1) Do suspenze z [ $\alpha,\omega$ –di(4–nitrobenzyloxykarbonyl)–L–argininu (4,68 g) a (3S)–3–amino–1–  
(t–butoxykarbonyl)pyrrolidinu (1,49 g) v bezvodém DMF (50 ml) byl dodán 1–(3–dimethyl-  
25 aminopropyl)–3–ethylkarbodiimid–hydrochlorid (1,68 g) a 4–dimethylaminopyridin (15 mg);  
následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2,5 hodiny. Do reakční směsi byl dodán  
ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodným roztokem uhličitanu sodného, 15 % solným  
roztokem a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně  
30 zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou  
chromatografií (ethylacetát : dichloromethan = 1 : 1, methanol : ethylacetát : dichloronethan  
= 5 : 47,5 : 47,5, methanol : ethylacetát : dichloromethan = 8 : 46 : 46), čímž se získalo 1,47-g  
(3S)–1–(t–butoxykarbonyl)–3–[ $\alpha,\omega$ –di(4–nitrobenzyloxykarbonyl)–L–arginyl]pyrrolidinu ve  
formě amorfni látky.

35 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3311, 1723, 1660, 1607, 1523, 1479, 1410,  
1367, 1347, 1282.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,44 (9H, s), 1,52–2,20  
(6H, m), 3,10–3,32 (3H, b), 3,32–3,47 (2H, b), 3,50–3,62 (1H, m), 4,13–4,25 (1H, m), 4,30–4,43  
40 (1H, m), 5,16 (4H, s), 7,47 (2H, d, J=8,6 Hz), 7,53 (2H, d, J=8,6 Hz), 8,11–8,25 (4H, m).

(2) Sloučenina (1,42 g) získaná v kroku (1) a kyselina trifluoroctová (5 ml) byly zpracovány  
podobným způsobem popsaným v odkazu 1–(2), čímž byl získán (3S)–3–[ $\alpha,\omega$ –di(4–nitrobenzyl-  
oxykarbonyl)–L–arginyl]pyrrolidin–2–trifluoroacetát.

45 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1749, 1675, 1609, 1524, 1454, 1439, 1350,  
1251, 1204.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 1,60–1,95 (4H, m),  
1,95–2,10 (1H, m), 2,29–2,42 (1H, m), 3,17–3,65 (6H, m), 4,02–4,18 (1H, m), 4,41–4,53  
50 (1H, m), 5,14, 5,22 (každé 1H, d, J=14,1 Hz), 5,36 (2H, s), 7,50 (2H, d, J=8,6 Hz), 7,58 (2H, d,  
J=8,6 Hz), 8,15 (2H, d, J=8,6 Hz), 8,19 (2H, d, J=8,6 Hz).

(3) Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (991 mg) v bezvodém acetonitrilu (15 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (376 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (703  $\mu$ l) a roztok ze sloučeniny, která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (15 ml), směs byla promíchávána přes noc při pokojové teplotě. Reakční směs byla čišťena podobným způsobem popsaným v odkazu 1-(3), čímž bylo získáno 1,19 g (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyloxykarbonyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[ $\alpha,\omega$ -di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-arginylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidinu ve formě bezbarvé amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1709, 1652, 1608, 1521, 1440, 1404, 1346, 1284, 1249.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,45–2,30 (8H, m), 2,37–2,50 (1H, m), 3,00–3,37 (5H, m), 3,45–3,58 (1H, m), 3,70–3,87 (1H, m), 3,74 (2H, s), 3,79 (3H, s), 3,95–4,09 (2H, m), 4,20–4,31 (1H, m), 4,39 (1H, dd,  $J=9,1, 7,1$  Hz), 4,50–4,70 (1H, b), 5,00–5,29 (6H, m), 5,87 (1H, d,  $J=7,66$  Hz), 6,86 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 7,24 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 7,43 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,49 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,55 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,18 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,21 (4H, d,  $J=8,6$  Hz).

(4) Do směsi ze sloučeniny (1,16 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,2 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (4,3 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (197  $\mu$ l) při ochlazení ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodiny. Reakční směs byla čišťena podobným způsobem popsaným v odkazu 1-(4), čímž bylo získáno 965 mg cílové sloučeniny.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3392, 3319, 1708, 1647, 1608, 1520, 1440, 1405, 1347, 1320, 1284.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,20–2,30 (8H, m), 2,60–2,70 (1H, m), 3,00–3,60 (6H, m), 3,90–4,33 (4H, m), 4,49 (1H, dd,  $J=8,7, 7,3$  Hz), 4,53–4,70 (1H, b), 5,05–5,35 (6H, m), 5,88 (1H, d,  $J=7,6$  Hz), 7,39–7,60 (6H, m), 8,10–8,30 (6H, m).

#### Referenční příklad 5

(2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

(1) t-butyl-(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]-1-pyrrolidin-karboxylát

N,N-diisopropylethylamin (961  $\mu$ l) a 3,5-dimethylpyrazol-1-karboxamidin-nitrát (1,11 g) byl dodán do roztoku z t-butyl-(3S)-3-(3-aminopropanoylamino)-1-pyrrolidinkarboxylátu (1,42 g) v bezvodém N,N'-dimethylformamidu (10 ml) při ochlazení ledem, směs byla promíchávána při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla vlita do etheru (150 ml), čímž vznikla olejová sraženina. Sraženina byla rozpuštěna ve směsi bezvodého dichloromethanu a bezvodého tetrahydrofuranu v poměru 5 : 2 (70 ml). Do výsledného roztoku byl po kapkách dodán roztok z N-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)oxy-5-norbomen-2,3-dikarboximidu (4,35 g) v bezvodém dichloromethanu (35 ml) při ochlazení ledem, následovalo dodání N,N-diisopropylaminu (1,90 ml). Výsledná směs byla promíchávána přes noc. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl suspendován v methanolu (50 ml). Do suspenze byl dodán 1 N vodný roztok hydroxidu sodného (6 ml) při

ochlazování ledem, následovalo promíchávání přes noc. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku a zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu. Výsledný roztok byl promyt vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrován odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben silikagelové sloupcové chromatografii (ethylacetát, ethylacetát – methanol), čímž bylo získáno 955 mg cílové sloučeniny.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3315, 1737, 1658, 1606, 1543, 1523, 1494, 1479, 1415.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,66–1,90 (1H, m), 2,00–2,20 (1H, b), 3,32–2,50 (2H, b), 3,08–3,25 (1H, b), 3,30–3,45 (2H, b), 3,50–3,63 (3H, m), 4,30–4,46 (1H, m), 5,16 (2H, s), 7,54 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,20 (2H, d,  $J=8,6$  Hz).

(2) (3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]-pyrrolidin-ditřifluoroacetát

Do roztoku ze sloučeniny (1,34 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (10 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (4 ml) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla promíchávána po dobu 1 hodiny a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí hexanu a etheru, čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro následné kroky zpracování bez čistění.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3305, 1754, 1673, 1612, 1555, 1527, 1435, 1351, 1319.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,72–1,90 (1H, m), 2,02–2,20 (1H, m), 2,40–2,57 (2H, m), 2,90–3,07 (1H, m), 3,13–3,44 (3H, m), 3,44–3,60 (2H, m), 4,20–4,37 (1H, m), 5,39 (2H, s), 7,69 (2H, d,  $J=8,7$  Hz), 8,27 (2H, d,  $J=8,7$  Hz).

(3) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,31 g) v bezvodém acetonitrilu (20 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (499 mg). Výsledná směs byla promíchávána při pokojové teplotě po dobu 30 minut, následovalo dodání N,N-diisopropylethylaminu (975  $\mu\text{l}$ ) a roztoku ze sloučeniny, která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (25 ml). Směs byla promíchávána přes noc při pokojové teplotě. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čistěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát:methanol), čímž bylo získáno 1,41 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfnní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3316, 1707, 1651, 1608, 1521, 1440, 1405, 1346, 1319, 1286.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,68–2,52 (5H, m), 3,00–4,18 (13H, m), 3,79 (3H, s), 4,28–4,52 (2H, m), 4,96–5,24 (4H, m), 6,70–6,80 (1H, b), 6,86 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 6,92–7,17 (1H, b), 7,24 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 7,41 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,52 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,17 (2H, d,  $J=8,7$  Hz), 8,22 (2H, d,  $J=8,7$  Hz).

(4) (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[3-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinopropanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

5 Do směsi ze sloučeniny (1,39 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,87 ml) byla dodána kyselina trifluoroctová (6,63 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (302  $\mu$ l) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí etheru a hexanu, následně byl rozpuštěn v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného, vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrován při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 1,21 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfni látky.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3316, 1708, 1649, 1607, 1521, 1439, 1405, 1373, 1346, 1285.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,60–2,40 (4H, m), 2,60–2,80 (1H, m), 3,05–4,62 (12H, m), 5,02–5,28 (4H, m), 7,47–, 68 (4H, m), 8,15–8,28 (4H, m).

20 Referenční příklad 6

(2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

25 (1) t-butyl-3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]-1-azetidínkarboxylát

30 Do roztoku z t-butyl-3-(aminoacetylamino)-1-azetidínkarboxylátu (785 mg) v tetrahydrofuranu (13 ml) byl dodán roztok z 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyliminopyrazol-1-ylmethyl]karbamátu (1,42 g) v tetrahydrofuranu (12 ml) při ochlazování ledem, směs byla promíchávána při pokojové teplotě po dobu 3 hodin. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou, vodným roztokem hydrogensíranu draselného a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkontroována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl překrystalizován z diisopropyletheru, následovalo promytí, čímž bylo získáno 1,94 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvých krystalů.

Bod tání: 99 °C až 101 °C.

40 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3316, 1744, 1683, 1643, 1626, 1610, 1549, 1524, 1496.

45 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,43 (9H, s), 3,73 (2H, dd, J=9,5, 5,1 Hz), 4,09 (2H, d, J=5,2 Hz), 4,23 (2H, dd, J=9,5, 7,8 Hz), 4,53–4,67 (1H, m), 5,22 (2H, s), 5,31 (2H, s), 6,69 (1H, d, J=6,9 Hz), 7,54 (4H, d, J=8,2 Hz), 8,22 (2H, d, J=6,6 Hz), 8,25 (2H, d, J=6,6 Hz), 8,90 (1H, t, J=5,2 Hz), 11,65 (1H, s).

(2) 3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]azetidíntrifluoroacetát

50 Do roztoku ze sloučeniny (1,92 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (10 ml) byla dodána kyselina trifluoroctová (5 ml) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla promíchávána po dobu 1 hodiny, následovala koncentrace při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí hexanu a etheru, následovalo odpařování rozpouštědla, čímž bylo získáno 2,78 g cílové sloučeniny. Získaná látka byla uschována pro následné kroky zpracování bez čistění.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3316, 1756, 1679, 1609, 1599, 1526, 1441, 1393, 1350.

- 5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 3,82–4,20 (6H, m), 4,50–4,70 (1H, m), 5,20 (2H, s), 5,39 (2H, s), 7,61 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,71 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,24 (2H, d,  $J=8,3$  Hz), 8,27 (2H, d,  $J=8,3$  Hz).

- 10 (3) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín

15 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,43 g) v bezvodém acetonitrilu (22 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (545 mg). Výsledná směs byla promíchávána při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (581  $\mu\text{l}$ ) a roztok ze sloučeniny (2,78 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (23 ml), směs byla promíchávána při pokojové teplotě přes noc. Do reakční směsi byl dodán dichloromethan. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 2,57 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3313, 1738, 1706, 1645, 1626, 1609, 1555, 1522, 1438, 1405, 1378, 1347, 1320, 1291, 1250.

- 25 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,89–2,07 (1H, m), 2,29–2,42 (1H, m), 3,00–3,17 (1H, m), 3,23–3,38 (1H, m), 3,68–4,47 (13H, m), 4,47–4,80 (1H, m), 5,04–5,33 (6H, m), 6,85 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,18–7,30 (2H, m), 7,39–7,58 (6H, m), 8,14–8,28 (6H, m), 8,91 (1H, t,  $J=5,0$  Hz), 11,66 (1H, s).

- 30 (4) (2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín

35 Do směsi ze sloučeniny (2,53 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (2,87 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (10,17 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (463  $\mu\text{l}$ ) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí etheru a hexanu a následně rozpuštěn v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného, vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrován odpařováním při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 2,16 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3315, 1737, 1707, 1645, 1626, 1609, 1554, 1522, 1496, 1434, 1405, 1377, 1347, 1321, 1291.

- 45 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,90–2,08 (2H, m), 2,53–2,65 (1H, m), 3,20–3,48 (2H, m), 3,75–4,82 (9H, m), 5,03–5,37 (6H, m), 7,43–7,58 (6H, m), 8,15–8,29 (6H, m), 8,91 (1H, t,  $J=5,0$  Hz), 11,66 (1H, s).

- 50 Referenční příklad 7

(2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]propanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín



(1) *t*-butyl-3-[[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-propanoylamino]-1-azetidinkarboxylát

5 Do roztoku z *t*-butyl-3-(3-aminopropionylamino)-1-azetidinkarboxylátu (545 mg) v tetrahydrofuranu (15 ml) byl dodán roztok z 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyliminopyrazol-1-ylmethylkarbamátu v tetrahydrofuranu (15 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou, vodným roztokem hydrogensíranu draselného a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát), čímž se získalo 1,28 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3333, 1739, 1701, 1645, 1609, 1567, 1523, 1496, 1478, 1414, 1379, 1368, 1347.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm : 1,42 (9H, s, ), 2,52 (2H, t,  $J=6,0$  Hz), 3,68–3,81 (4H, m), 4,23 (2H, dd,  $J=9,3, 7,8$  Hz), 4,57–4,73 (1H, m), 5,22 (2H, s), 5,29 (2H, s), 6,58 (1H, d,  $J=6,6$  Hz), 7, 48–7,58 (4H, m), 8,17–8,27 (4H, m), 8,92 (1H, t,  $J=5,9$  Hz), 11,72 (1H, s).

20 (2) 3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]propanoylamino]-azetidin-trifluoroacetát

25 Do roztoku ze sloučeniny (1,25 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (6 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (3 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí hexanu a etheru a rozpouštědlo bylo následně oddestilováno, čímž se získalo 1,86 g cílové sloučeniny. Získaná sloučenina byla uschována pro následné kroky zpracování bez čištění.

30 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3216, 1755, 1678, 1609, 1525, 1456, 1412, 1381, 1350, 1322, 1205, 1145.

35 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm: 2,42 (2H, t,  $J=6,4$  Hz), 3,56 (2H, t,  $J=6,4$  Hz), 3,93 (2H, dd,  $J=11,2, 7,8$  Hz), 4,08 (2H, dd,  $J=11,2, 8,3$  Hz), 4,50–4,67 (1H, m), 5,20 (2H, s), 5,35 (2H, s), 7,63 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 7,68 (2H, d,  $J=8,5$  Hz), 8,24 (2H, d,  $J=6,8$  Hz), 8,27 (2H, d,  $J=6,8$  Hz).

40 (3) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]propanoyl-amino]azetidin-1-yl]karbonyl]pyrrolidin

45 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (909 mg) v bezvodém acetonitrilu (13 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (346 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (338  $\mu\text{l}$ ) a roztok ze sloučeniny (1,68 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (15 ml), směs byla promíchávána při pokojové teplotě přes noc. Do reakční směsi byl dodán dichloromethan. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát – methanol), čímž se získalo 1,88 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfni látky.

50 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3330, 1737, 1709, 1644, 1609, 1567, 1522, 1432, 1406, 1379, 1346, 1320, 1252.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,85–2,08 (1H, m), 2,28–2,58 (3H, m), 3,00–3,17 (1H, m), 3,23–3,37 (1H, m), 3,62–4,01 (10H, m), 4,07–4,28 (2H, m), 4,32–4,46 (1H, m), 4,60–4,83 (1H, m), 5,06–5,32 (6H, m), 6,85 (2H, d,  $J=8,6$  Hz;), 7,18–7,32 (2H, m), 7,38–7,60 (6H, m), 8,16–8,28 (6H, m), 8,80–8,92 (1H, m), 11,72 (1H, s).

5

(4) (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[[3-[3-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]propanoylamino]azetidín-1-yl]karbonyl]pyrrolidín

10 Do směsi ze sloučeniny (1,88 g), který byla získána v kroku (3), a anisolu (2,1 ml) byla dodána kyselina trifluorooctová (7,45 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (339  $\mu\text{l}$ ) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí etheru a hexanu a následně rozpuštěn v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného, vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrován odpařováním při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 1,50 g cílové sloučeniny ve formě bezbarvé amorfni látky.

15

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\text{vmax cm}^{-1}$ : 3331, 1736, 1709, 1644, 1608, 1567, 1522, 1496, 1432, 1406, 1378, 1347.

20

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,90–2,10 (2H, m), 2,45–2,74 (3H, m), 3,20–3,47 (2H, m), 3,67–4,85 (9H, m), 5,05–5,42 (6H, m), 7,43–7,62 (6H, m), 8,15–8,30 (6H, m), 8,80–9,00 (1H, m), 11,73 (1H, s).

25

Referenční příklad 8

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[3-hydroxy-4-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)amino-butanoylamino]pyrrolidín-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitro-benzyloxykarbonyl)pyrrolidín

30

(1)-(2S,4S)-2-[(3S)-3-[3-hydroxy-4-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)aminobutanoylamino]-pyrrolidín-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

35 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitro-benzyloxykarbonyl)-L-prolinu (2,87 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (1,25 g), následovalo promíchávání při teplotě 30 °C po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (1,68 ml) a roztok z (3S)-3-[3-hydroxy-4-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)aminobutanoylamino]pyrrolidín-trifluoroacetátu (3,19 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml). Výsledná směs byla ponechána odstát při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku a do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta postupně vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (dichloromethan : ethylacetát : methanol), čímž bylo získáno 3,81 g titulní sloučeniny ve formě amorfni látky.

45

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\text{vmax cm}^{-1}$ : 3316, 1709, 1647, 1609, 1520, 1440, 1346.

50 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,47–2,72 (8H, m), 2,95–3,58 (6H, m), 3,60–4,18 (4H, m), 3,76 (2H, s), 3,80 (3H, s), 4,20–4,62 (2H, m), 4,97–5,28 (4H, m), 5,35–5,60 (1H, m), 6,80–7,02 (2H, m), 7,17–7,35 (2H, m), 7,41–7,60 (4H, m), 8,13–8,33 (4H, m).

(2) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[3-hydroxy-4-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)amino-butanoylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

5 Do směsi ze sloučeniny (2,38 g), která byla získána v kroku (1), a anisolu (3,30 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (11,60 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,53 ml) při ochlazení ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla zředěna 1,2-dichloroethanem a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt postupně hexanem a diethyletherem čeráním. Do zbytku byl dodán ethylacetát a nasycený vodný roztok bikarbonátu sodného, následovalo promíchávání. Jakmile se oddělila organická vrstva, tato byla promyta postupně vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku, čímž bylo získáno 2,01 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3319, 1710, 1647, 1608, 1521, 1440, 1346.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,84–2,36 (7H, m), 2,54–2,77 (1H, m), 3,12–3,59 (6H, m), 3,62–4,15 (4H, m), 4,24–4,50 (3H, m), 5,00–5,38 (4H, m), 5,46–5,60 (1H, m), 7,45–7,52 (4H, m), 8,16–8,23 (4H, m).

20 Referenční příklad 9

(2S,4S)-2-C(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]pyrrolidin-1-karbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

25 (1) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-guanidino]-2-hydroxybutanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-pyrrolidin

30 Do roztoku 2 (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,62 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (0,71 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (0,95 ml) a roztok z (3S)-3-[[3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino-2-hydroxypropyl]-karbonylamino]pyrrolidin-trifluoroacetátu (1,62 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml). Výsledná směs byla ponechána odstát při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku, do zbytku byl následně dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta postupně vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : methanol), čímž bylo

40 získáno 2,70 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3338, 1709, 1645, 1609, 1570, 1522, 1440, 1347.

45 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,52–2,55 (8H, m), 2,98–3,21 (1H, m), 3,23–4,05 (9H, m), 3,76 (2H, s), 4,19–4,62 (2H, m), 4,98–5,36 (6H, m), 6,80–6,97 (2H, m), 7,17–7,38 (2H, m), 7,40–7,59 (6H, m), 8,13–8,28 (6H, m), 8,66–8,78 (1H, m), 11,72 (1H, s).

50 (2) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-hydroxybutanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (2,65 g), která byla získána v kroku (1), a anisolu (2,83 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (10 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,46 ml) při

ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Reakční směs byla zředěna 1,2-dichloroethanem a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt postupně hexanem a diethyletherem čerčením. Do zbytku byl dodán ethylacetát a nasycený vodný roztok bikarbonátu sodného, následovalo promíchávání. Jakmile byla organická vrstva oddělena, byla tato postupně promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 1735, 1709, 1645, 1609, 1522, 1440, 1347.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,63–2,22 (7H, m), 2,32–2,39 (2H, m), 2,63–2,70 (1H, m), 3,19–3,71 (7H, m), 3,73–4,15 (2H, m), 4,38–4,51 (2H, m), 4,98–5,35 (6H, m), 7,43–7,55 (6H, m), 8,17–8,26 (6H, m), 8,70–8,72 (1H, m), 11,73 (1H, s).

#### Referenční příklad 10

(2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinomethylcyklohexyl]karbonylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

(1) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinomethylcyklohexyl]karbonylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (0,98 g) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (0,39 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (0,96 ml) a roztok z (3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinomethylcyklohexyl]karbonylamino]pyrrolidin-2-trifluoroacetátu (1,90 g) v bezvodém acetonitrilu (15 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 18-(1), čímž bylo získáno 2,10 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3389, 2933, 1717, 1656, 1608, 1522, 1440, 1346.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0,70–1,06 (2H, m), 1,08–2,25 (12H, m), 2,36–2,57 (1H, m), 3,82–4,07 (9H, m), 3,77 (2H, s), 3,80 (3H, s), 4,30–4,58 (2H, m), 4,88–5,43 (6H, m), 6,81–6,95 (2H, m), 7,20–7,32 (2H, m), 7,38–7,66 (6H, m), 8,12–8,39 (6H, m), 9,22–9,60 (2H, m).

(2) (2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinomethylcyklohexyl]karbonylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (2,09 g), která byla získána v kroku (1), a anisolu (2,07 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (7,34 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,34 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 18-(2), čímž bylo získáno 1,78 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3392, 2933, 1717, 1647, 1608, 1522, 1441, 1346.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0,87–0,99 (2H, m), 1,34–1,44 (2H, m), 1,62–2,23 (9H, m), 2,63–2,73 (1H, m), 3,15–3,64 (4H, m), 3,68–4,20

(7H, m), 4,41–4,55 (2H, m), 4,95–5,51 (6H, m), 7,43–7,57 (6H, m), 8,15–8,29 (6H, m), 9,29–9,50 (2H, m).

5 Referenční příklad 11

(2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinobenzoyllamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

- 10 (1) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinobenzoyllamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (0,62 g), 4-dimethylaminopyridinu (0,42 g) a (3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinobenzoyl]amino]pyrrolidin-hydrochloridu (0,75 g) v bezvodém N,N-dimethylformamidu (35 ml) byl dodán 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-karbodiimid-hydrochlorid (0,32 g) a 1-hydroxybenzotriazol (0,22 g) a výsledná směs byla ponechána odstát přes noc při teplotě 0 °C. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta postupně vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : methanol), čímž bylo získáno 0,77 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

20 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3396, 1729, 1713, 1655, 1609, 1522, 1439, 1346.

25

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,53–2,62 (7H, m), 3,00–4,25 (11H, m), 4,36–4,52 (1H, m), 4,62–5,43 (6H, m), 6,75–7,00 (2H, m), 7,08–7,60 (10H, m), 7,62–8,36 (8H, m), 9,12–9,70 (2H, m).

- 30 (2) (2S,4S)-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[[4-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinobenzoyl]amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (1,05 g), která byla získána v kroku (1), a anisolu (1,11 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (3,90 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,18 ml) při ochlazení ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 18-(2), čímž bylo získáno 0,91 g cílové sloučeniny ve formě žlutého prášku.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3330, 1762, 1703, 1667, 1609, 1586, 1524.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,89–2,81 (4H, m), 3,27–4,11 (7H, m), 4,40–4,70 (2H, m), 5,05–5,40 (6H, m), 7,27–7,66 (10H, m), 7,92–8,29 (8H, m), 9,65–10,00 (2H, m).

45 Referenční příklad 12

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

- 50 (1) (3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]-1-pyrrolidinkarboxylát

Do roztoku z t-butyl-(3S)-3-[(2S)-2-amino-2-methylacetyl-amino]-1-pyrrolidinkarboxylátu (713 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml) byl dodán roztok z 4-nitrobenzyl-[(4-nitro-

benzyloxy)-karbonylimino-pyrazol-1-ylmethyl]karbamátu (1,18 g) v tetrahydrofuranu (15 ml). Výsledná směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž bylo získáno 1,62 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

- 5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,38–1,50 (12H, m), 1,60–1,87 (1H, m), 2,02–2,20 (1H, m), 3,12–3,30 (1H, b), 3,30–3,50 (2H, b), 3,53–3,65 (1H, m), 4,33–4,46 (1H, m), 4,48–4,63 (1H, m), 5,21 (2H, s), 5,30 (2H, s), 6,50–6,75 (1H, b), 7,48–7,61 (4H, m), 8,18–8,29 (4H, m), 8,73 (1H, d,  $J=6,6$  Hz), 11,67 (1H, s).

- 10 (2) (3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminol-pyrrolidin-trifluoroacetát

15 Do roztoku ze sloučeniny (1,59 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (6 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (3 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

- 20 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 1750, 1673, 1623, 1611, 1557, 1525, 1433, 1416, 1381.

25 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,47 (3H, d,  $J=6,9$  Hz), 2,03–2,43 (2H, m), 3,18–3,60 (4H, m), 4,52–4,72 (2H, m), 5,25 (2H, s), 5,33 (2H, s), 7,53 (2H, d,  $J=7,3$  Hz), 7,56 (2H, d,  $J=7,3$  Hz), 8,16–8,34 (5H, m), 8,93–9,10 (1H, b), 9,40–9,58 (1H, b).

- (3) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminolpyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

30 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,13 g) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) byl dodán  $\text{N,N}'$ -karbonyldiimidazol (430 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán  $\text{N,N}$ -diisopropylethylamin (0,42 ml) a roztok ze sloučeniny (2,26 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml). Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (2,06 g) ve formě amorfni látky.

35 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3324, 1737, 1709, 1645, 1623, 1610, 1547, 1522, 1436.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,36 (3H, d,  $J=7,0$  Hz), 1,65–2,18 (2H, m), 2,32–2,50 (1H, m), 3,00–3,21 (1H, m), 3,26–3,55 (3H, m), 3,65–4,04 (3H, m), 4,04–4,25 (3H, m), 4,98–5,34 (8H, m), 6,82–6,90 (2H, m), 7,00–7,10 (1H, m), 7,17–7,30 (2H, m), 7,37–7,58 (6H, m), 8,08–8,28 (6H, m), 9,00 (1H, d,  $J=6,8$  Hz), 11,64 (1H, s).

- 45 (4) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2S)-2-[[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminolpyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

50 Do směsi ze sloučeniny (2,01 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (2,21 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (7,85 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (358  $\mu\text{l}$ ) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(4), čímž bylo získáno 1,71 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

55 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3320, 1737, 1710, 1644, 1624, 1609, 1547, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,37 (3H, d, J=6,8 Hz), 1,65–1,98 (2H, m), 2,00–2,20 (2H, m), 2,56–2,75 (2H, m), 3,17–3,59 (4H, m), 3,65–4,20 (3H, m), 4,35–4,65 (3H, m), 5,00–5,37 (6H, m), 7,00–7,13 (1H, m), 7,37–7,60 (6H, m), 8,10–8,30 (6H, m), 8,99 (1H, d, J=6,7 Hz), 11,64 (1H, s).

5

### Referenční příklad 13

(2,3,4S)-2-[3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]-azetidín-1-yl karbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitro-benzyloxykarbonyl)pyrrolidín

10

(1) t-butyl-3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]-1-azetidínkarboxylát

15 Do roztoku z t-butyl-3-[(2S)-2-amino-2-methylacetyl-amino]-1-azetidínkarboxylátu (557 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (10 ml) byl dodán roztok z 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonylimino-pyrazol-1-ylmethyl]karbamátu (974 mg) v tetrahydrofuranu (20 ml). Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), čímž bylo získáno 1,32 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

20

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,43 (9H, s), 1,45 (3H, d, J=7,0 Hz), 3,65–3,78 (2H, m), 4,12–4,30 (2H, m), 4,50–4,66 (2H, m), 5,19, 5,24 (každé 1H, d, J=13,5 Hz), 5,29 (2H, s), 7,10 (1H, d, J=7,1 Hz), 7,54 (4H, d, J=8,4 Hz), 8,19–8,28 (4H, m), 8,69 (1H, d, J=6,6 Hz), 11,64 (1H, s).

25

(2) 3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]azetidín-trifluoroacetát

30 Do roztoku ze sloučeniny (1,27 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (6 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (3 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

35 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3212, 1752, 1674, 1622, 1611, 1559, 1525, 1434.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: 1,34 (3H, d, J=6,9 Hz), 3,84–4,22 (4H, m), 4,48–4,68 (2H, m), 5,18, 5,24 (každé 1H, d, J=13,9 Hz), 5,38 (2H, s), 7,62 (2H, d, J=8,7 Hz), 7,70 (2H, d, J=8,7 Hz), 8,24 (2H, d, J=5,5 Hz), 8,27 (2H, d, J=5,5 Hz), 8,65–8,87 (2H, b.), 8,93 (1H, d, J=6,7 Hz).

45 (3) (2S,4S)-2-[3-(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)-thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-pyrrolidín

50 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (924 mg) v bezvodém acetonitrilu (15 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (352 mg), směs byla promíchávána při pokojové teplotě 1 hodinu. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (343 μl) a roztok ze sloučeniny (1,76 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (1,64 g) ve formě amorfni látky.

55 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3319, 1737, 1708, 1644, 1623, 1610, 1522, 1434.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,44 (3H, d, J=6,9 Hz), 1,85–2,03 (1H, m), 2,30–2,50 (1H, m), 3,00–3,15 (1H, m), 3,23–3,37 (1H, m), 3,66–4,75 (13H, m), 4,98–5,36 (6H, m), 6,85 (2H, d, J=8,6 Hz), 7,28–7,58 (9H, m), 8,63–8,80 (6H, m), 8,77 (1H, d, J=6,7 Hz), 11,66 (1H, s).

(4) (2S,4S)-2-[3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

Do směsi ze sloučeniny (1,62 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,81 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (6,42 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (292 μl) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(4), čímž bylo získáno 1,35 g cílové sloučeniny ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3321, 1737, 1708, 1645, 1623, 1548, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,45 (3H, d, J=7,0 Hz), 1,88–2,10 (2H, m), 2,46–2,73 (1H, m), 3,18–3,50 (2H, m), 3,75–4,81 (8H, m), 5,02–5,40 (6H, m), 7,39 (1H, d, J=7,6 Hz), 7,43–7,60 (6H, m), 8,10–8,30 (6H, m), 8,77 (1H, d, J=6,8 Hz), 11,66 (1H, s).

#### Referenční příklad 14

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminopyrrolidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

(1) t-butyl-(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetyl-amino]-1-pyrrolidínkarboxylát

Do roztoku z t-butyl-(3S)-3-[(2R)-2-amino-2-methylacetylaminó]-1-pyrrolidínkarboxylátu (448 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)-karbonyliminopyrazol-1-ylmethyl]-karbamát (776 mg) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (1,096 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3316, 1739, 1693, 1645, 1623, 1548, 1524.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,45 (12H, s), 1,73–1,88 (1H, m), 2,07–2,21 (1H, m), 3,05–3,25 (1H, b), 3,32–3,50 (2H, b), 3,55–3,66 (1H, m), 4,36–4,47 (1H, m), 4,52–4,64 (1H, m), 6,70 (1H, d, J=7,2 Hz), 7,55 (4H, d, J=8,8 Hz), 8,22 (2H, d, J=7,3 Hz), 8,25 (2H, d, J=7,3 Hz), 8,72 (1H, d, J=5,6 Hz), 11,65 (1H, s).

(2) (3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylaminó]-pyrrolidíntrifluoroacetát

Do roztoku ze sloučeniny (1,087 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (5 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (2 ml) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3290, 1739, 1674, 1645, 1625, 1555, 1524.



Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub> + D<sub>2</sub>O) δ ppm: 1,44 (3H, d, J=6,8 Hz), 1,88–2,39 (2H, m), 3,20–3,55 (4H, m), 4,47–4,68 (2H, m), 5,13–5,33 (4H, m), 7,25 (2H, d, J=5,2 Hz), 7,55 (2H, d, J=5,2 Hz), 8,18 (2H, d, J=8,8 Hz), 8,23 (2H, d, J=8,8 Hz).

5 (3) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)]guanidino]-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

10 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (737 mg) v bezvodého acetonitrilu (20 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (281 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě 1 hodinu. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (0,75 ml) a roztok ze sloučeniny (1,157 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém tetrahydrofuranu (10 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (1,394 g) ve formě amorfni látky.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3326, 1737, 1709, 1645, 1623, 1610, 1522.

20 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,40 (3H, d, J=6,9 Hz), 1,93–2,20 (2H, m), 2,30–2,46 (1H, m), 2,94–3,55 (5H, m), 3,60–3,90 (8H, m), 4,20–4,60 (3H, m), 4,92–5,33 (6H, m), 6,77–6,90 (2H, m), 7,15–7,60 (8H, m), 8,07–8,28 (6H, m).

25 (4) (2S,4S)-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[(3S)-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)]guanidino]-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin

30 Do směsi ze sloučeniny (1,381 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,5 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (4,9 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,27 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(4), čímž byla získána cílová sloučenina (1,216 g) ve formě amorfni látky.

35 Infračervené absorpční spektrum (KBr) v<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3321, 1736, 1710, 1645, 1624, 1609, 1547, 1522.

40 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,36–1,48 (3H, m), 1,83–2,27 (2H, m), 2,57–2,72 (1H, m), 3,10–3,57 (5H, m), 3,77–3,96 (2H, m), 4,00–4,17 (1H, m), 4,30–4,62 (3H, m), 4,98–5,33 (6H, m), 7,38–7,60 (6H, m), 8,10–8,28 (6H, m).

#### Referenční příklad 15

45 (2S,4S)-2-[3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)]guanidino]-2-methylacetyl-amino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

50 (1) t-butyl-3-[(2R)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)]guanidino]-2-methylacetyl-amino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do roztoku z t-butyl-3-[(2R)-2-amino-2-methylacetyl-amino]-1-azetidínkarboxylátu (443 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyl-imino-pyrazol-1-ylmethyl]karbamát (820 mg) při ochlazování ledem.

Výsledná směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (0,860 g) ve formě amorfni substance.

55 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,30–1,50 (12H, m), 3,67–3,78 (2H, m), 4,18–4,30 (2H, m), 4,50–4,67 (2H, m), 5,19, 5,25 (každé 1H, d, J=13,5 Hz),

5,29 (2H, s), 7,08 (1H, d, J=7,3 Hz), 7,54 (4H, d, J=8,6 Hz), 8,23 (2H, d, J=5,4 Hz), 8,26 (2H, d, J=5,4 Hz), 8,69 (1H, d, J=7,1 Hz), 11,64 (1H, s).

5 (2) 3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylamin]azetidín-trifluoroacetát

Do roztoku ze sloučeniny (846 mg), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (10 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (3 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

Infračervené absorpční spektrum (kapalinná vrstva)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3213, 1758, 1677, 1610, 1600, 1560, 1526.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,33 (3H, d, J=6,9 Hz), 3,70-4,80 (6H, m), 5,20 (2H, s), 5,38 (2H, s), 7,62 (2H, d, J=8,7 Hz), 7,70 (2H, d, J=8,7 Hz), 8,20-8,31 (4H, m), 8,60-8,85 (2H, b), 8,92 (1H, d, J=6,6 Hz).

20 (3) (2S,4S)-2-[3-[(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylamin]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (585 mg) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (223 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (0,57 ml) a roztok ze sloučeniny (1,26 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém tetrahydrofuranu (10 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (1,047 g) ve formě amorfní látky.

30 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3322, 1736, 1708, 1645, 1623, 1610, 1522, 1436, 1406.

35 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,44 (3H, d, J=6,9 Hz), 1,90-2,10 (1H, m), 2,26-2,42 (1H, m), 2,95-3,17 (1H, m), 3,22-3,40 (1H, m), 3,63-4,80 (11H, m), 4,95-5,38 (8H, m), 6,86 (2H, d, J=8,7 Hz), 7,15-7,63 (8H, m), 7,55 (1H, d, J=7,8 Hz), 8,10-8,35 (6H, m), 8,72 (1H, d), J=6,8 Hz), 11,65 (1H, s).

40 (4) (2S,4S)-2-[3-H(2S)-2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-2-methylacetylamin]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (1,032 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,2 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (3,7 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,2 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(4), čímž byla získána cílová sloučenina (902 mg) ve formě amorfní látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3323, 1736, 1709, 1645, 1623, 1522, 1496, 1434.

50 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,45 (3H, d, J=7,1 Hz), 1,88-2,17 (1H, m), 2,46-2,68 (1H, m), 3,10-3,60 (2H, m), 3,70-4,85 (8H, m), 5,00-5,47 (6H, m), 7,34-7,63 (6H, m), 7,76 (1H, d, J=8,8 Hz), 8,10-8,40 (6H, m), 8,72 (1H, d, J=6,4 Hz), 11,65 (1H, s).

## Referenční příklad 16

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

(1) t-butyl-(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]-1-pyrrolidinkarboxylát

Do roztoku z t-butyl-(3S)-3-[2-methylaminoacetylamino]-1-pyrrolidinkarboxylátu (669 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyl-iminoimidazol-1-ylmethyl]karbamát (1,11 g) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (1,50 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3305, 1759, 1691, 1609, 1523, 1453, 1406, 1367.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,45 (9H, s), 1,70–1,88 (1H, m), 2,02–2,33 (1H, m), 3,09 (3H, s), 3,15–3,28 (1H, m), 3,32–3,50 (2H, m), 3,53–3,70 (1H, m), 4,28 (2H, s), 4,37–4,50 (1H, m), 5,27 (4H, s), 7,30–7,47 (1H, b), 7,56 (4H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,24 (4H, d,  $J=8,6$  Hz).

(2) (3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-trifluoroacetát

Do roztoku ze sloučeniny (1,48 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (8 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (4 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3212, 1777, 1672, 1609, 1524, 1454, 1436.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,77–1,95 (1H, m), 2,05–2,23 (1H, m), 2,93–3,50 (7H, m), 4,05, 4,12 (každé 1H, d,  $J=16,5$  Hz), 4,23–4,40 (1H, m), 5,16 (4H, s), 7,59 (4H, d,  $J=9,2$  Hz), 8,17 (4H, d,  $J=9,2$  Hz), 8,38 (1H, d,  $J=6,6$  Hz), 8,70–9,00 (2H, b).

(3) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-2-[(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,05 g) v bezvodém acetonitrilu (10 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (401 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (392  $\mu\text{l}$ ) a roztok ze sloučeniny (2,02 g), která byla získána v kroku (2) v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (1,69 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 3339, 1756, 1705, 1687, 1656, 1609, 1521, 1441.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,60–2,00 (2H, m), 2,03–2,25 (1H, m), 2,40–2,52 (1H, m), 2,97–4,08 (15H, m), 4,23–4,57 (4H, m), 4,90–5,38 (6H, m), 6,80–6,92 (2H, m), 7,10–7,70 (9H, m), 8,08–8,31 (6H, m), 10,85 (1H, b).

5 (4) (2S,4S)-4-merkapt-2-[(3S)-3-[2-[1-methyl-2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-1-(4-nitrobenzyloxy)pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (1,66 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,83 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (6,49 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (296  $\mu\text{l}$ ) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-

10 (4), čímž byla získána cílová sloučenina (1,34 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3327, 1756, 1705, 1687, 1653, 1608, 1521, 1441.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,75–2,27 (3H, m), 2,58–2,75 (1H, m), 3,05–4,55 (15H, m), 4,94–5,38 (6H, m), 7,37–7,62 (7H, m), 8,10–8,33 (6H, m), 10,34 (1H, d,  $J=27,8 \text{ Hz}$ ).

20 Referenční příklad 17

(2S,4S)-2-[3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methylguanidino]acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkapt-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

25 (1) t-butyl-[3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methylguanidino]acetylamino]-1-azetidinkarboxylát

Do roztoku z t-butyl-3-[2-methylaminoacetylamino]-1-azetidinkarboxylát (670 mg) v bezvodém tetrahydrofuranu (15 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyliminopyrazol-1-ylmethyl]-karbamát (1,07 g), při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (1,22 g) ve formě amorfni látky.

35 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3212, 1758, 1702, 1661, 1609, 1563, 1524.

Nukleární magneticko rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,44 (9H, s), 3,11 (3H, s), 3,70–3,80 (2H, m), 4,20–4,34 (4H, m), 4,50–4,66 (1H, m), 5,27 (2H, s), 7,56 (4H, d,  $J=8,6 \text{ Hz}$ ), 7,77 (1H, d,  $J=6,5 \text{ Hz}$ ), 8,25 (4H, d,  $J=8,6 \text{ Hz}$ ), 10,32–10,47 (1H, b).

40 (2) 3-(2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methylguanidino]acetylamino]azetidín-trifluoroacetát

Do roztoku ze sloučeniny (1,22 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (12 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (6 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(2), čímž byla získána cílová sloučenina. Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

50 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ : 3215, 1777, 1676, 1609, 1524, 1454, 1435, 1377, 1351.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm: 3,03 (3H, s), 3,83–4,01 (2H, m), 4,03–4,18 (4H, m), 4,52–4,70 (1H, m), 5,14 (4H, s), 7,56 (4H, d,  $J=8,7 \text{ Hz}$ ), 8,15 (4H, d,  $J=8,7 \text{ Hz}$ ), 8,56–8,82 (3H, m).

55

(3) (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methylguanidino]acetylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín

5 Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (888 mg) v bezvodém acetonitrilu (15 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (337 mg), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (330  $\mu$ l) a roztok ze sloučeniny (1,69 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém tetrahydrofuranu (16 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(3), čímž byla získána cílová sloučenina (1,59 g) ve formě amorfni látky.

10 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3306, 1758, 1705, 1667, 1609, 1521, 1443, 1404.

15 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,86–2,03 (1H, m), 2,32–2,53 (1H, m), 3,00–3,17 (4H, m), 3,22–3,37 (1H, m), 3,67–4,47 (13H, m), 4,55–4,76 (1H, m), 4,95–5,38 (6H, m), 6,80–6,90 (2H, m), 7,10–7,60 (8H, m), 8,12–8,31 (6H, m).

(4) (2S,4S)-2-[3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methyl-guanidino]acetylamino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

20 Do směsi ze sloučeniny (1,58 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (1,77 ml) byla po kapkách dodána kyselina tri fluorooctová (6,26 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (285  $\mu$ l) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(4), čímž byla získána cílová sloučenina (1,30 g) ve formě amorfni látky.

25 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3309, 1757, 1705, 1665, 1608, 1522, 1445, 1404.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,87–2,08 (2H, m), 2,53–2,70 (1H, m), 3,05–3,15 (3H, m), 3,21–3,50 (2H, m), 3,75–4,82 (9H, m), 5,00–5,40 (6H, m), 7,38–7,60 (6H, m), 8,12–8,33 (6H, m).

#### Referenční příklad 18

35 (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

40 (1) t-butyl-(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]-1-pyrrolidínkarboxylát

45 Do roztoku z t-butyl-(3S)-3-(4-aminobutanoylamino)-1-pyrrolidínkarboxylátu (1,36 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonylimino]pyrazol-1-ylmethyl]karbamát (1,60 g) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla následně upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (2,50 g) ve formě amorfni látky.

50 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 1737, 1693, 1645, 1609, 1573, 1524, 1412, 1347.

55 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,45 (9H, s), 1,70–2,21 (4H, m), 2,25 (2H, t,  $J=7,0$  Hz), 3,15–3,53 (5H, m), 3,62 (1H, dd,  $J=11,3, 6,5$  Hz), 4,34–4,51 (1H, m), 5,19–5,29 (4H, m), 6,32–6,35 (1H, m), 7,54 (4H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,20–8,27 (4H, m), 8,47 (1H, t,  $J=5,7$  Hz), 11,80 (1H, s).

(2) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

5 Do roztoku ze sloučeniny (2,50 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (25 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (15 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při stejné teplotě po dobu 15 minut a při pokojové teplotě po dobu dalších 15 minut. Reakční směs byla zředěna 1,2-dichloroethanem a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt postupně hexanem a diethyletherem čeráním, rozpouštědlo bylo následně oddestilováno, čímž byl získán surový (3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-trifluoroacetát (2,55 g). Získaná látka byla uchována pro použití v následných reakcích bez oddělení.

15 Na druhé straně, do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,66 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (0,72 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (1,30 mg) a roztok z (3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-trifluoroacetátu (2,55 g), který byl získán v předešlém kroku, v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml) a směs byla ponechána odstát při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku, do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta postupně vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : methanol), čímž byla získána cílová sloučenina (2,56 g) ve formě amorfni látky.

25 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 1709, 1644, 1609, 1572, 1522, 1437, 1346.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,73–2,27 (7H, m), 2,39–2,52 (1H, m), 2,98–3,18 (1H, m), 3,28–4,10 (11H, m), 3,35 (2H, s), 4,20–4,56 (2H, m), 4,95–5,36 (6H, m), 6,31–6,87 (3H, m), 7,21–7,68 (8H, m), 8,14–8,25 (6H, m), 8,41–8,50 (1H, m), 11,79 (1H, d,  $J=14,8$  Hz).

(3) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

35 Do směsi ze sloučeniny (2,50 g), která byla získána v kroku (2), a anisolu byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (9,60 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,66 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(4), čímž byla získána cílová sloučenina (2,15 g) ve formě amorfni látky.

40 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 1734, 1709, 1645, 1608, 1522, 1440, 1347.

45 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,75–2,28 (7H, m), 2,62–2,70 (1H, m), 3,21–3,91 (9H, m), 3,98–4,15 (1H, m), 4,38–4,56 (2H, m), 5,03–5,35 (6H, m), 6,34–7,10 (1H, m), 7,27–7,56 (6H, m), 8,16–8,26 (6H, m), 8,42–8,48 (1H, m), 11,80 (1H, d,  $J=12,2$  Hz).

50 Referenční příklad 19

(2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

(1) t-butyl-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]-1-azetidinkarboxylát

Do roztoku z t-butyl-3-(4-aminobutanoylamino)-1-azetidinkarboxylátu (0,89 g) z bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonylimino-pyrazol-1-ylmethyl]karbamát (1,45 g) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (1,95 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3336, 1737, 1699, 1645, 1609, 1572, 1524, 1414, 1380, 1347.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,39 (9H, s), 1,88–1,95 (2H, m), 2,25–2,29 (2H, m), 3,53 (2H, dd,  $J=12,5, 6,1$  Hz), 3,81 (2H, dd,  $J=9,2, 5,3$  Hz), 4,20–4,24 (2H, m), 4,66–4,75 (1H, m), 5,23–5,30 (4H, m), 7,40 (1H, d,  $J=7,7$  Hz), 7,53–7,57 (4H, m), 8,20–8,27 (4H, m), 8,51 (1H, t,  $J=6,1$  Hz), 11,81 (1H, s).

(2) (2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do roztoku ze sloučeniny (1,90 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (20 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (10 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při stejné teplotě po dobu 10 minut a následně při pokojové teplotě po dobu dalších 10 minut. Reakční směs byla zředěna 1,2-dichloroethanem a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt postupně hexanem a diethyletherem čeráním, rozpouštědlo bylo oddestilováno, čímž byl získán surový 3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]butanoylamino]azetidín-trifluoroacetát (1,93 g). Získaná látka byla uchována pro použití v následné reakci bez oddělení.

Na druhé straně, do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,30 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (25 ml) byl dodán  $N_7N'$ -karbonyldiimidazolu (0,56 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán  $N,N$ -diisopropylethylamin (1,01 ml) a roztok z 3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-butanoylamino]azetidín-trifluoroacetátu (1,93 g), který byl získán v předchozím kroku, v bezvodém tetrahydrofuranu (25 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 32-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (2,20 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3338, 1709, 1644, 1609, 1574, 1522, 1433, 1346.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,70–2,00 (3H, m), 2,18–2,42 (3H, m), 3,04–3,13 (1H, m), 3,24–3,33 (1H, m), 3,44–3,52 (2H, m), 3,71–4,00 (3H, m), 3,72 (2H, s), 3,79 (3H, m), 4,10–4,41 (3H, m), 4,65–4,78 (1H, m), 5,04–5,34 (6H, m), 6,80 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,10–7,27 (3H, m), 7,35–7,55 (6H, m), 8,17–8,26 (6H, m), 8,45–8,53 (1H, m), 11,81 (1H, s).

(3) (2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-butanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (2,10 g), která byla získána v kroku (2), a anisolu (2,38 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (8,50 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,58 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(4), čímž byla získána cílová sloučenina (1,90 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 1733, 1709, 1645, 1608, 1522, 1433, 1347.

5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,87–2,07 (5H, m), 2,17–2,34 (2H, m), 2,50–2,72 (1H, m), 3,20–3,55 (4H, m), 3,91–4,27 (4H, m), 4,29–4,53 (1H, m), 4,63–4,83 (1H, m), 5,05–5,36 (6H, m), 7,27–7,56 (7H, m), 8,18–8,26 (6H, m), 8,46–8,54 (1H, m), 11,81 (1H, s).

10 Referenční příklad 20

(2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

15 (1) t-butyl-3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]-1-azetidinkarboxylát

20 Do roztoku z t-butyl-3-(4-aminohydroxybutanoylamino)-1-azetidinkarboxylátu (1,0 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (30 ml) byl dodán 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonylimino]pyrazol-1-ylmethyl]karbamát (1,55 g) při ochlazování ledem. Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 16-(1), čímž byla získána cílová sloučenina (2,10 g) ve formě amorfni látky.

25 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3336, 1737, 1699, 1647, 1609, 1570, 1524, 1414, 1380, 1367, 1348.

30 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,42 (9H, s), 2,40 (2H, d,  $J=6,0$  Hz), 3,45–3,52 (1H, m), 3,62–3,68 (1H, m), 3,73–3,77 (2H, m), 4,10–4,25 (3H, m), 4,58–4,66 (1H, m), 4,94 (1H, d,  $J=3,1$  Hz), 5,22 (2H, s), 5,30 (2H, s), 6,94 (1H, d,  $J=7,4$  Hz), 7,54–7,56 (4H, m), 8,20–8,26 (4H, m), 8,73 (1H, t,  $J=5,5$  Hz), 11,74 (1H, s).

(2) (2S,4S)-2-[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidinol]-3-hydroxybutanoylamino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidín

35 Do roztoku ze sloučeniny (2,00 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (20 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (10 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při stejné teplotě po dobu 10 minut a při pokojové teplotě po dobu dalších 20 minut. Reakční směs byla zředěna 1,2-dichloroethanem a zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt postupně hexanem a diethyletherem čeráním, následovalo odpařování rozpouštědla, čímž byl získán surový [3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]azetidín-trifluoroacetát (2,04 g). Získaná látka byla uchována pro použití v následném kroku bez oddělení.

45 Na druhé straně, do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (1,30 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml) byl dodán N,N'-karbonyldiimidazol (0,60 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (0,78 ml) a roztok z [3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]azetidín-trifluoroacetátu (2,04 g), který byl získán v předchozím kroku, v bezvodém tetrahydrofuranu (20 ml). Výsledná směs byla upravena podobným způsobem popsaným v odkazu 32-(2), čímž byla získána cílová sloučenina (2,02 g) ve formě amorfni látky.

50 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 1708, 1644, 1609, 1570, 1522, 1440, 1347.

55



5 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,86–2,05 (1H, m), 2,32–2,49 (4H, m), 3,04–3,13 (1H, m), 3,25–3,32 (1H, m), 3,40–3,51 (1H, m), 3,59–3,98 (4H, m), 3,72 (2H, s), 3,79 (3H, s), 4,09–4,25 (3H, m), 4,34–4,51 (1H, m), 4,61–4,75 (1H, m), 5,03–5,34 (6H, m), 6,85 (2H, d, J=8,5 Hz), 7,00–7,28 (3H, m), 7,42–7,55 (6H, m), 8,17–8,25 (6H, m), 8,71–8,72 (1H, m), 11,73 (1H, s).

(3) (2S,4S)-4-merkaptó-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-2-[[3-[4-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]-3-hydroxybutanoylamino]azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidín

10 Do směsi ze sloučeniny (2,00 g), která byla získána v kroku (2), a anisolu (2,20 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (7,70 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (0,35 ml) při ochlazování ledem. Reakční směs byla upravena podobným způsobem popsáním v odkazu 16-4), čímž byla získána cílová sloučenina (1,75 g) ve formě amorfní látky.

15 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3339, 1735, 1709, 1645, 1609, 1522, 1440, 1347.

20 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,93–2,05 (2H, m), 2,34–2,42 (2H, m), 2,58–2,64 (1H, m), 3,24–3,50 (3H, m), 3,63–3,68 (1H, m), 3,81–4,47 (7H, m), 4,65–4,91 (2H, m), 5,05–5,30 (6H, m), 7,00–7,31 (1H, m), 7,47–7,55 (6H, m), 8,18–8,26 (6H, m), 8,71–8,73 (1H, m), 11,73 (1H, s).

#### Referenční příklad 21

25

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylaminó]pyrrolidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptó-1-4-nitrobenzyloxykarbonyl]pyrrolidín

30 (1) t-butyl-(3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylaminó]-1-pyrrolidínkarboxylát

35 Do roztoku z t-butyl-(3S)-3-(2-aminoacetylaminó)-1-pyrrolidínkarboxylátu (3,07 g) v bezvodém tetrahydrofuranu (45 ml) byl dodán roztok z 4-nitrobenzyl-[(4-nitrobenzyloxy)karbonyl-imino-pyrazol-1-ylmethyl]karbamátu (5,38 g) v tetrahydrofuranu (35 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou, vodným roztokem hydrogensíranu draselného a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát : dichloromethan), čímž byla získána cílová sloučenina (7,82 g) ve formě amorfní látky.

40 Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3308, 1740, 1691, 1646, 1626, 1554, 1524.

45 Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,45 (9H, s), 1,68–1,92 (1H, m), 2,03–2,22 (1H, m), 3,10–3,30 (1H, b), 3,30–3,50 (2H, b), 3,56–3,67 (1H, m), 4,08 (2H, d, J=5,1 Hz), 4,37–4,51 (1H, m), 5,22 (2H, s), 5,31 (2H, s), 6,30–6,40 (1H, m), 7,48–7,60 (4H, m), 8,17–8,30 (4H, m), 8,88–8,98 (1H, m), 11,65 (1H, s).

50 (2) (3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylaminó]pyrrolidín-trifluoroacetát

55 Do roztoku ze sloučeniny (7,82 g), která byla získána v kroku (1), v bezvodém dichloromethanu (10 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluorooctová (5 ml) při ochlazování ledem, následovalo promíchávání po dobu 4 hodin. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl promyt směsí hexanu a etheru, rozpouštědlo bylo oddestilováno, čímž bylo

získáno 1,00 g cílové sloučeniny. Získaná sloučenina byla uschována pro použití v následné reakci bez čistění.

Infračervené absorpční spektrum (kapalinná vrstva)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1757, 1676, 1610, 1598, 1526, 1440.

Nukleární magnetická rezonanční spektrum (270 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 1,72–1,90 (1H, m), 2,03–2,21 (1H, m), 2,90–3,07 (1H, m), 3,12–3,46 (3H, m), 3,99 (2H, s), 4,20–4,38 (1H, m), 5,20 (2H, s), 5,39 (2H, s), 7,61 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 7,71 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), 8,24 (2H, d,  $J=7,3$  Hz), 8,27 (2H, d,  $J=7,3$  Hz), 8,40 (1H, d,  $J=6,3$  Hz).

(3) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do roztoku z (2S,4S)-4-(4-methoxybenzyl)thio-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-L-prolinu (5,38 g) v bezvodém acetonitrilu (70 ml) byl dodán N,N-karbonyldiimidazol (2,04 g), následovalo promíchávání při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán N,N-diisopropylethylamin (2,0 ml) a roztok ze sloučeniny (11,00 g), která byla získána v kroku (2), v bezvodém acetonitrilu (35 ml), směs reagovala přes noc při pokojové teplotě. Reakční směs byla zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Do zbytku byl dodán ethylacetát. Výsledná směs byla promyta vodou a nasyceným solným roztokem, vysušena bezvodým síranem horečnatým a následně zkoncentrována odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl čištěn silikagelovou sloupcovou chromatografií (ethylacetát: methanol), čímž byla získána cílová sloučenina (10,09 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3319, 1737, 1708, 1645, 1609, 1552, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,60–1,88 (1H, m), 1,98–2,20 (1H, m), 2,30–2,50 (1H, m), 2,94–3,56 (5H, m), 3,66–4,60 (12H, m), 5,00–5,36 (6H, m), 6,80–7,60 (10H, m), 8,06–8,28 (6H, m).

(4) (2S,4S)-2-[(3S)-3-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Do směsi ze sloučeniny (9,90 g), která byla získána v kroku (3), a anisolu (11,1 ml) byla po kapkách dodána kyselina trifluoroctová (39,2 ml) a kyselina trifluoromethansulfonová (1,79 ml) při ochlazování ledem, směs byla promíchávána při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Do reakční směsi byl dodán 1,2-dichloroethan, následovala koncentrace odpařováním při sníženém tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného, vodou a nasyceným solným roztokem, vysušen bezvodým síranem horečnatým, rozpouštědlo bylo následně oddestilováno při sníženém tlaku, čímž byla získána cílová sloučenina (8,75 g) ve formě amorfni látky.

Infračervené absorpční spektrum (KBr)  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3326, 1737, 1708, 1645, 1609, 1552, 1522.

Nukleární magnetické rezonanční spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1,78–2,22 (3H, m), 2,57–2,68 (1H, m), 3,17–4,60 (12H, m), 5,03–5,38 (6H, m), 7,40–7,60 (6H, m), 8,10–8,28 (6H, m).

Referenční příklad 22

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[N-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetyl]-N-methylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkpto-1-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Cílová sloučenina může být získána podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), (2), (3) a (4).

5 Referenční příklad 23

(2S,4S)-2-[(3S)-3-[N-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)-1-methylguanidino]acetyl]-N-methylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

10 Cílová sloučenina může být získána podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), (2), (3) a (4).

15 Referenční příklad 24

(2S,4S)-2-[3-[N-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetyl]-N-methylamino]-azetidín-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

20 Cílová sloučenina může být získána podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), (2), (3) a (4).

Referenční příklad 25

25 (2S,4S)-2-[4-[2-[2,3-di(4-nitrobenzyloxykarbonyl)guanidino]acetyl]amino]piperidin-1-ylkarbonyl]-4-merkaptol-(4-nitrobenzyloxykarbonyl)pyrrolidin

Cílová sloučenina může být získána podobným způsobem popsáním v odkazu 16-(1), (2), (3) a (4).

30

Test

35 Antibakteriální účinky byly měřeny zředovací metodou na agarové plotně, pomocí které byla určena minimální tlumicí koncentrace ( $\mu\text{g/ml}$ ) oproti různým choroboplodným bakteriím. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5. Bakterie A, B a C použité za účelem testu, které jsou uvedeny v tabulce 5, jsou následující:

A: *Staphylococcus aureus* 209P

40 B: *Escherichia coli* NIHJ

C: *Pseudomonas aeruginosa* 1001

45 Tabulka 5

Sloučenina	Minimální tlumicí koncentrace ( $\mu\text{l/ml}$ )		
	mikroorganismus		
	A	B	C
Sloučenina. př. 1	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$	0,1
Sloučenina př. 2	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$	0,05
Sloučenina př. 6	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$	0,05
Sloučenina př. 12	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$	0,05

Podle výše uvedených výsledků je možné říci, že sloučeniny uvedené v předloženém vynálezu mají silné protibakteriální účinky. V dodatku, sloučeniny předloženého vynálezu jsou stále proti působení dehydropeptidázy I a (3-laktamázy a projevují vysokou schopnost obnovy moče. Dále, projevují nízkou nefrotoxicitu.

5

## Formulace 1

## Kapsle

Sloučenina z příkladu 1	50 mg
Laktóza	128 mg
Kukuřičný škrob	70 mg
Stearát hořečnatý	2 mg
	<hr/>
	250 mg

10

Výše uvedené složky jsou všechny ve formě prášku, tyto jsou smíchány a prosety přes síť s 60 očky, směs je následně plněna do želatinových kapslí č. 3 majících obsah 25 mg, takto jsou připraveny kapsle.

## 15 Formulace 2

## Tablety

Sloučenina z příkladu 1	50 mg
Laktóza	126 mg
Kukuřičný škrob	23 mg
Stearát hořečnatý	1 mg
	<hr/>
	200 mg

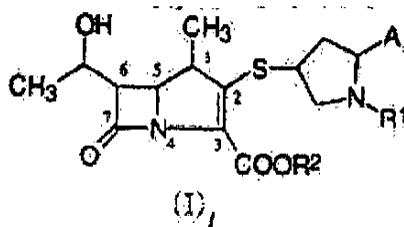
20 Výše uvedené složky jsou ve formě prášku, jsou smíchány, zpracovány granulací za mokra s kukuřičným škrobem, vysušeny a směs je následně zpracována do formy tablet strojem na výrobu tablet, čímž jsou připraveny tablety o hmotnosti 200 mg. Tablety mohou být, pokud je nezbytné, opatřeny povlakem cukru.

25

## PATENTOVÉ NÁROKY

30

1. Derivát 1-methylkarbapenu obecného vzorce I

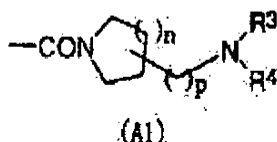


kde

35 R<sup>1</sup> představuje atom vodíku nebo C<sub>1-4</sub>alkylovou skupinu,

5  $R^2$  představuje atom vodíku nebo esterový zbytek, který může být hydrolyzován *in vivo*, vybraný ze skupiny, kterou tvoří acyloxyalkylová obsahující  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu, která je substituována  $C_{1-6}$  alkanoylovou skupinou, která může být substituována  $C_{3-6}$  cykloalkylovou skupinou; alkoxykarbonyloxyalkylová skupina obsahující  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu, která je substituována  $C_{1-8}$  alkoxykarbonyloxyskupinou nebo  $C_{1-8}$  cykloalkyloxykarbonyloxyskupinou, ftalidylová skupina nebo 1-(2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)alkylová skupina, která může být substituována v 5-poloze  $C_{1-4}$  alkylovou skupinou nebo arylovou skupinou;

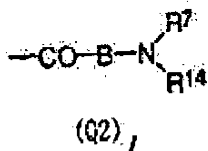
A představuje skupinu obecného vzorce A1;



10

kde v obecném vzorci A1:

- n nabývá hodnoty 0,1 nebo 2,  
 p nabývá hodnoty 0,1 nebo 2,  
 $R^3$  představuje atom vodíku nebo  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu, a  
 15  $R^4$  představuje skupinu obecného Q2;



kde v obecném vzorci Q2,

20 B představuje fenylenovou, fenylenalkylovou skupinu, kde uvedená alkylová část je  $C_{1-3}$ -alkylová skupina, cyklohexylenovou, cyklohexylenalkylovou skupinu, kde uvedená alkylová část je  $C_{1-3}$  alkylová skupina nebo  $C_{1-5}$  alkylenovou skupinu, která může mít jeden až tři substituenty, které jsou stejné nebo vzájemně rozdílné a jednotlivě představují amino-

25

$R^7$  představuje atom vodíku nebo  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu;

30  $R^{14}$  představuje skupinu vzorce  $-C(=NH)R^8$ , kde  $R^8$  představuje atom vodíku,  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu nebo skupinu vzorce  $-NR^9R^{10}$ , kde  $R^9$  a  $R^{10}$  jsou stejné nebo vzájemně rozdílné a jednotlivě představují atom vodíku nebo  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu;

nebo jeho farmakologicky přijatelná sůl.

35 2. 1-Methylkarbapenemová sloučenina podle nároku 1, obecného vzorce I, ve kterém  $R^1$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu; nebo její farmakologicky přijatelná sůl.

3. 1-Methylkarbapenemová sloučenina podle nároku 1, obecného vzorce I, ve kterém:

40  $R^1$  představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

40

n nabývá hodnoty 0 nebo 1,

p nabývá hodnot 0 nebo 1,

R<sup>3</sup> představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,

R<sup>7</sup> představuje atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu,

5

R<sup>14</sup> představuje formimidoylovou, acetimidoylovou nebo amidinovou skupinu a

B představuje 1,4-fenylenovou, 1,4-cyklohexylenmethylovou, methylenovou, methylmethylenovou, ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu; nebo její farmakologicky přijatelná sůl.

10

4. 1-Methylkarbapenemová sloučenina podle nároku 1, obecného vzorce I, ve kterém:

R<sup>1</sup> představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

15

n nabývá hodnoty 0 nebo 1

p nabývá hodnoty 0,

20

R<sup>3</sup> představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

R<sup>7</sup> představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

R<sup>14</sup> představuje amidinovou skupinu, a

25

B představuje methylenovou, methylmethylenovou, ethylenovou, trimethylenovou nebo 2-hydroxypropylenovou skupinu;

nebo její farmakologicky přijatelná sůl.

30

5. 1-Methylkarbapenemová sloučenina podle nároku 1, obecného vzorce I, ve kterém:

R<sup>1</sup> představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

35

n nabývá hodnoty 0 nebo 1

p nabývá hodnoty 0,

R<sup>3</sup> představuje atom vodíku,

40

R<sup>7</sup> představuje atom vodíku,

R<sup>14</sup> představuje amidinovou skupinu, a

45

B představuje methylenovou, methylmethylenovou, nebo ethylenovou skupinu;

nebo její farmakologicky přijatelná sůl.

6. 1-Methylkarbapenemová sloučenina podle nároku 1, kterou je:

50

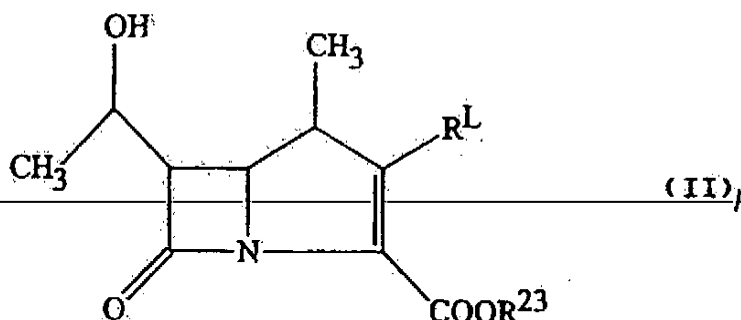
Kyselina 2-{2-[3-(2-guanidinoacetylamino)pyrrolidin-1-yl-karbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,

kyselina 2-{2-[3-[2-(1-methylguanidino)acetylamino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,

55

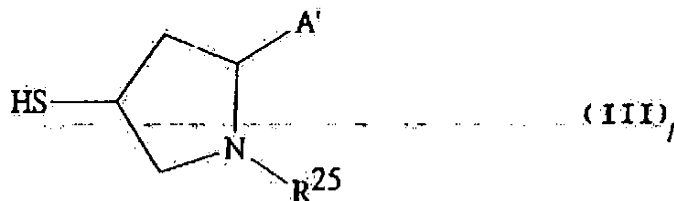
- kyselina 2-{2-[3-[2-guanidino-2-methylacetyl-amino]pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,
- 5 kyselina 2-{2-[3-(3-guanidinopropanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,
- kyselina 2-{2-[3-(2-guanidino-2-methylacetyl-amino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,
- 10 kyselina 2-{2-[3-[N-(2-guanidinoacetyl)-N-methylamino]-pyrrolidin-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová,
- kyselina 2-{2-[3-(4-guanidino-3-hydroxybutanoylamino)azetidín-1-ylkarbonyl]pyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová, a
- 15 kyselina 2-{2-[3-(2-guanidinoacetyl-amino)pyrrolidin-1-ylkarbonylmethylpyrrolidin-4-ylthio}-6-(1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-karbapen-2-em-3-karboxylová
- 20 nebo jejich farmakologicky přijatelná sůl.

7. Způsob přípravy 1-methylkarbapenemové sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmakologicky přijatelné soli podle kteréhokoli z nároků 1 až 6, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že zahrnuje reakci karbapenemové sloučeniny obecného vzorce II



25

kde  $R^L$  představuje odštěpující se skupinu a  $R^{23}$  představuje chránící skupinu karboxylové skupiny, s merkaptopyrrolidinovým derivátem obecného vzorce III



30 kde  $R^{25}$  představuje chránící skupinu aminoskupiny nebo  $C_{1-4}$  alkylovou skupinu a  $A'$  má stejný význam jako A definované shora, s podmínkou, že kterákoli z aminoskupiny, hydroxylové skupiny nebo iminoskupiny zahrnuté ve skupině A je chráněná; v případě potřeby odstranění chránící skupiny; a konverzi produktu na farmakologicky přijatelnou sůl nebo ester, který může být v případě potřeby hydrolyzován *in vivo*.

35 8. Antibakteriální činidlo, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje jako účinnou látku 1-methylkarbapenemovou sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmakologicky přijatelnou sůl podle kteréhokoli z nároků 1 až 6.

9. Použití 1-methylkarbapenemové sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmakologicky přijatelné soli podle kteréhokoli z nároků 1 až 6 pro přípravu léčiva používaného pro prevenci nebo léčbu infekčních chorob.

5

10. Farmaceutický prostředek pro prevenci nebo léčbu infekčních chorob, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje jako aktivní látku 1-methylkarbapenemovou sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmakologicky přijatelnou sůl podle kteréhokoli z nároků 1 až 6.

10

---

Konec dokumentu

---

15