

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Utlegningsskrift nr. 117981

Int. Cl. C 07 d 99/16 Kl. 12p-4/01

Patentsøknad nr. 149.215 Inngitt 1.VII 1963

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 1.VII 1968

Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 20.X 1969

Prioritet begjært fra: 2.VII-62 USA,
nr. 207.036

Merck & Co.,
126 East Lincoln Avenue, Rahway, N.J., USA.

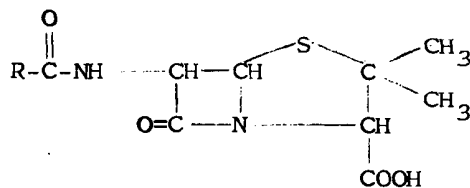
Oppfinnere: Arthur Allan Patchett, 1-B2 Redfield Village, Metuchen,
N.J., Edward Franklin Rogers, 61 Kings Highway,
Middletown, N.J., og William Joseph Leanza, 104
Wheeler Avenue, Staten Island 14, N.Y., USA.

Fullmektig: Ingeniør Sigurd Andersen.

Fremgangsmåte til fremstilling av et nytt baktericid,
mot syrer motstandsdyktig og overfor penicillinresistente
bakterier aktivt penicillin-derivat.

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte til
fremstilling av et nytt, baktericid penicillin-derivat og av salter
av dette.

Penicillin-derivater med den generelle formel:



hvor R betegner et organisk radikal, har vist sig å være fordelaktige ved behandling av infeksjonssykdommer, særlig dem som forårsakes av Gram-positive bakterier. Således er forbindelser som ben-

Det karakteristiske hovedtrekk ved oppfinnelsen er at man i nærvær av et carbodiimid omsetter en 6-aminopenicillansyre-ester, fortrinsvis benzylesteren, med α -guanidino-fenyleddiksyre og hydrogenerer katalytisk den herved dannede forbindelse, hvorpå man, om ønskes, overfører det herved erholdte produkt til et salt på i og for sig kjent måte.

De 6-aminopenicillansyreestere som er egnet til anvendelse i fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen er slike som lett kan spaltes ved katalytisk hydrogenering. De egnede estere omfatter allyl-, benzyl-, substituert benzyl-, fenyl- og substituert-fenylestere. Da benzylesteren lettest lar sig fremstille, foretrekkes det for tiden å anvende denne ester.

Den i fremgangsmåten anvendte α -guanidinofenyleddiksyre kan fremstilles ved omsetning mellom α -aminofenyleddiksyre og O-methylisourea.

Når den guanidino-substituerte fenyleddiksyre som anvendes i fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, er fremstillet fra en optisk aktiv aminosyre hvis optiske aktivitet skyldes tilstedeværelse av en aminosubstituent som er bundet til det asymmetriske carbonatom, vil den erholdte guanidino-substituerte fenyleddiksyre beholde den opprinnelige aminosyreforbindelses optiske aktivitet. Når den opprinnelige aminosyre er et optisk inaktivt racemat, vil den erholdte guanidino-substituerte syre likeledes være et optisk inaktivt racemat. Både de optisk aktive former og racematene kan reagere med 6-aminopenicillansyreestere, slik at den nye α -guanidinopenicillinforbindelse dannes. D- α -guanidino-benzylpenicillin har vist sig å være mere aktivt enn L-formen, og fremstillingen av den førstnevnte utgjør derfor en foretrukken utførelsesform for foreliggende oppfinnelse.

Omsetningen mellom 6-aminopenicillansyreesteren og α -guanidino-fenyleddiksyren utføres som ovenfor nevnt ved å bringe reaksjonskomponentene i kontakt med hverandre i nærvær av et carbodiimid. Dette kan være 1,3-dicyclohexylcarbodiimid eller 1,3-diisopropylcarbodiimid. Omsetningen utføres hensiktsmessig i nærvær av et egnet oppløsningsmiddel og ved romtemperatur. Etter at reaksjonen er fullført, skilles det fra dicarbodiimidet dannede urea fra reaksjonsblandingen, og den ønskede penicillinester utvinnes fra den erholdte oppløsning ved hjelp av i og for sig kjente fremgangsmåter.

Overføringen av den herved erholdte ester av penicillinderivatet til den frie syre ved katalytisk hydrogenering lar sig lett utføre. Denne katalytiske hydrogenering foretas fortrinnsvis under anvendelse av en edelmetallkatalysator, som palladium, platina eller rhodium, fortrinnsvis på en inert bærer som kull, bariumcarbonat, kiselgur eller lignende. Etter at hydrogeneringen er utført, utvinnes den frie penicillinsyre fra hydrogeneringsblandingen ved anvendelse av kjente forholdsregler.

Produktet fra foreliggende fremgangsmåte kan fremstilles i form av et indre salt eller man kan omsette det med syrer for fremstilling av tilsvarende penicillinsyresalter. De indre salter og de ikke-giftige salter med syrer kan blandes med egnede ikke-giftige flytende eller faste farmaceutiske bærestoffer til preparater som kan gis til mennesker og dyr enten gjennom munnen eller parenteralt. Slike preparater kan inneholde andre terapeutiske midler.

Det nye penicillinderivat og dets ikke-giftige salter er verdifulle baktericider. De kan anvendes som terapeutiske midler for fjærkre og andre dyr samt for mennesker, for behandling av infeksjoner forårsaket av Gram-positive og Gram-negative bakterier.

I det følgende beskrives som eksempel en utførelsesform for oppfinnelsen.

Eksempel

D- α -guanidinobenzylpenicillin-benzylesterhydroklorid (0,41 g) som kan fremstilles som beskrevet nedenfor, tilsettes til en suspensjon av 0,1 g av en palladium-på-trekull-katalysator med 10 % Pd i 10 ml 50 %'s methanol, og blandingen rystes i hydrogenatmosfære ved romtemperatur og atmosfæretrykk i 45 minutter. Katalysatoren frafiltreres, og filtratet fordampes under forminsket trykk. Ved fordampning av methanolen utkrystalliserer D- α -guanidinobenzylpenicillin i form av dets indre salt fra den vandige sure oppløsning. Utfellingen fullføres ved å tilsette 1 ml av en 0,5N vandig natriumbicarbonatoppløsning. Bunnfallet frafiltreres,

117981

vaskes med vann og med ethanol. Man får D- α -guanidinobenzylpenicillin med sm.p. 220°C (spaltning). Produktet inhiberer Staphylococcus aureus i en konsentrasjon på 0,97 μ g pr. ml.

D- α -guanidinobenzylpenicillin-benzylesterhydroklorid fremstilles ved å omsette benzyl-6-aminopenicillanat med D- α -guanidinofenyleddiksyrehydroklorid i nærvær av dicyclohexylcarbodiimid på følgende måte:

En oppløsning av 0,3 g benzyl-6-aminopenicillanat og 0,25 g dicyclohexylcarbodiimid i 3 ml metylenklorid tilsettes dråpevis i løpet av 5 minutter og under omrøring en oppløsning av 0,23 g D- α -guanidinofenyleddiksyrehydroklorid i 1 ml dimetylformamid. Etter henstand ved romtemperatur i 30 minutter avkjøles oppløsningen, og bunnfallet av dicyclohexylurea frafiltreres. Filtratet fortynnes med 50 ml ether, og den overliggende væske dekanteres fra det utfeldte gummiaktige stoff. Dette tilsettes 25 ml ether, hvorpå det gnis med en spatel inntil det går over i fast tilstand. Man får 0,5 g D- α -guanidinobenzylpenicillin-benzylesterhydroklorid som frafiltreres og vaskes med ether. Forbindelsens sm.p. er 75 - 135°C (delvis spaltning). Den anvendes i reduksjonstrinnet uten ytterligere rensning.

Benzyl-6-aminopenicillanat fremstilles på følgende måte: Finmalt 6-aminopenicillansyre (2,0 g) tilsettes til en oppløsning av 1 g fenyl diazometan i 10 ml metylenklorid og 3 ml methanol. Den erholdte suspensjon omrøres i 3 timer, hvorunder det utvikles nitrogen, og den opprinnelige røde oppløsning blir farveløs. Blandingen fortynnes med 30 ml ether, og ikke reagert 6-aminopenicillansyre (0,5 g) frafiltreres. Filtratet tilsettes dråpevis en vannfri oppløsning av hydrogenklorid i ether, inntil ytterligere tilsetning ikke forårsaker utfelling. Det utfeldte benzyl-6-aminopenicillanat-hydroklorid (0,2 g) frafiltreres og vaskes med ether. Bunnfallet rystes med 30 ml ether og et lite overskudd av vandig natriumbikarbonatoppløsning. Etherskiktet fraskilles og befries for vann med vannfritt magnesiumsulfat. Ved fordampning av etheren får man som residuum et oljeaktig stoff som består av benzyl-6-aminopenicillanat. For rensning oppløses dette oljeaktige residuum i methanol, og oppløsningen tilsettes en oppløsning av oxalsyrehydrat i methanol. Det herved utfeldte oxalat av benzyl-6-aminopenicillanat frafiltreres og vaskes med ether. Sm.p. 133 - 134°C (spaltning). Oxalattet behandles på samme måte som foran beskrevet for hydrokloridet med ether og natrium-

117981

6

karbonatopløsning, hvorved man får benzyl-6-aminopenicillanat i form av hvite krystaller, sm.p. 82 - 83°C.

D- α -guanidinofenyleddiksyrehydrokloridet fremstilles på følgende måte: 10 g D- α -aminofenyleddiksyre oppløses i 200 ml vann og 60 ml 28 %'s vandig amminoakk. Oppløsningen tilsettes 20 g O-methylisoureaetherhydroklorid, hvorpå man lar den henstå 24 timer ved romtemperatur. Bunnfallet som består av D- α -guanidino-fenyleddiksyre frafiltreres og vaskes med vann. Utbytte 2,5 g, sm.p. 255°C. Forbindelsen går over i fast tilstand og smelter under spaltning ved oppvarming til ca. 260°C.

Hydrokloridet fåes ved å oppløse denne syre i fortynnet saltsyre og fordampe oppløsningsmidlet i vakuum. Dets sm.p. er 157 - 159°C under spaltning.

Den baktericide aktivitet overfor forskjellige sykdomsvekkende bakterier in vitro og in vivo av D- α -guanidinobenzylpenicillin blev sammenlignet med Penicillin G (benzylpenicillin) og med "Ampicillin" (aminobenzylpenicillin).

I in vitro-forsøkene blev den laveste inhiberende konsentrasjon av vedkommende antibiotikum overfor den anvendte bakterieart bestemt.

I in vivo-forsøkene blev der anvendt mus som forsøksdyr. Disse blev gitt vedkommende antibiotikum subcutant umiddelbart efter at de var infisert med bakteriene. Resultatene er uttrykt som ED₅₀ i mikrogram pr. mus. ED₅₀ er den dose som er beregnet å gi 50 % beskyttelse 14 døgn efter infeksjonen.

Resultatene fremgår av nedenstående tabeller I, II og III.

Tabell IIn vitroLaveste inhiberende konsentrasjon i µg pr. ml

<u>Infiserende kultur</u>	<u>D-α-guanidino- benzylpenicillin</u>	<u>Penicillin G</u>
Staphylococcus aureus Smith	0,97	0,12
Staphylococcus aureus 2957	3,9	1000
Staphylococcus aureus 3147	1,9	125
Staphylococcus aureus 3051	3,9	1000
Staphylococcus aureus 3036	3,9	1000
Staphylococcus aureus 3106	3,9	1000
Staphylococcus aureus 3089	3,9	1000
Diplococcus pneumoniae I-37	0,06	0,03
Streptococcus pyrogenes C-203	0,03	0,03

Tabell IIIn vitroLaveste inhiberende konsentrasjon, µg pr. ml

<u>Infiserende kultur</u>	<u>D-α-guanidino- benzylpenicillin</u>		<u>"Ampicillin"</u>	
Staphylococcus aureus 2957	1,9	3,9	125	500

117981

8

Tabell III

In vivo

ED₅₀ - µg pr. mus

<u>Infiserende kultur</u>	<u>D-α-guanidino- benzylpenicillin</u>	<u>"Ampicillin"</u>
Streptococcus pyogenes C-203	0,78	1,01
Diplococcus pneumoniae I-37	1,26	6,25
Staphylococcus aureus Smith	6,25	10,1
"	6,25	11,3
"	6,25	10,1
"	3,87	4,87
Gjennomsnitt:	5,65	9,09

P a t e n t k r a v

Fremgangsmåte til fremstilling av et nytt, baktericid, mot syrer motstandsdyktig og overfor penicillinresistente bakterier aktivt penicillinderivat, nemlig α-guanidino-benzylpenicillin, og salter derav, k a r a k t e r i s e r t v e d at man i nærvær av et carbodiimid omsetter en 6-amino-penicillansyre-ester, fortrinsvis benzylesteren, med α-guanidino-fenyleddiksyre og hydrogenerer katalytisk den herved dannede forbindelse, hvorpå man, om ønskes, overfører det herved erholdte produkt til et salt på i og for sig kjent måte.

Anførte publikasjoner:

Fransk patent nr. 246 M
U.S. patent nr. 2.985.648