(19) DANMARK

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) 144066 **B**

(21) Ansøgning nr. 1565/76

(51) Int.Cl.³ C 07 D 498/04

(22) Indleveringsdag 31. mar. 1976

(24) Løbedag 31. mar. 1976

(41) Alm. tilgængelig 15. okt. 1976

(44) Fremlagt 30. nov. 1981

(86) International ansøgning nr. -

(86) International indleveringsdag -

(85) Videreførelsesdag -

(62) Stamansøgning nr. -

(30) Prioritet 14. apr. 1975, 15209/75, GB 27. sep. 1975, 39671/75, GB

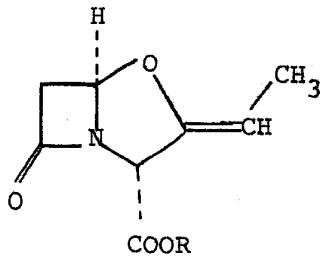
(71) Ansøger BEECHAM GROUP LIMITED, Brentford, GB.

(72) Opfinder Thomas Trefor Howarth, GB: Jennifer Goodacre, GB: Roger John Ponsford, GB.

(74) Fuldmægtig Plougmann & Vingtoft Patentbureau.

(54) Analogifremgangsmåde til fremstil=
ling af deoxyclavulansyrederivater.

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte β-lactamholdige forbindelser med den almene formel III



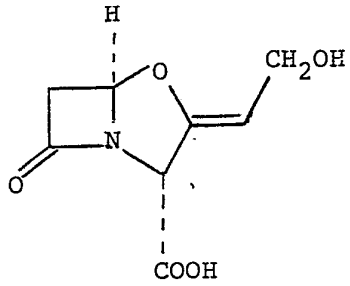

III

hvor R betegner H, $R^1$ eller $CHR^2R^3$, hvor $R^1$ betegner en carbonhydridgruppe med 1 - 9 carbonatomer, der eventuelt er monosubstitueret med halogen, $C_{1-6}$-alkoxy, $C_{2-7}$-acyl, hydroxy eller $C_{1-6}$-acyloxy, og $R^2$ og $R^3$ betegner eventuelt med halogen, $C_{1-6}$-alkyl eller $C_{1-6}$-alk-

DK 144066 B

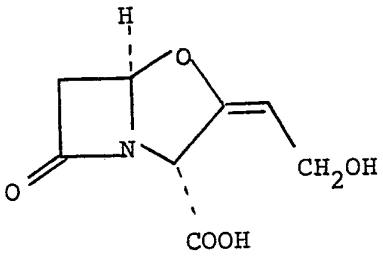
oxy monosubstitueret phenyl, eller et farmaceutisk tolerabelt salt af forbindelsen, hvor R er hydrogen, med baser, hvilke forbindelser skal anvendes til antibakteriel terapi.

I dansk patentansøgning nr. 1672/75 er det omtalt, at forbindelsen med formlen I



I

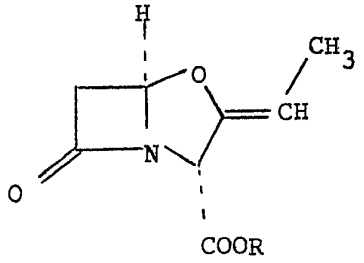
og salte og estere deraf har antibakteriel og β-lactamase-inhiberende virkning. Forbindelsen med formlen I kaldes clavulansyre. Acylerede derivater af de ovennævnte forbindelser er beskrevet i dansk patentansøgning nr. 4738/75, og i dansk patentansøgning nr. 5748/75 er beskrevet isoclavulansyre og salte og estere deraf, hvilken isoclavulansyre har formlen II



II

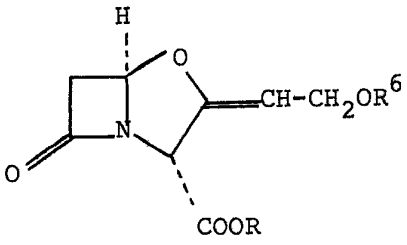
Isoclavulansyre og acylerede derivater af clavulansyre samt salte og estere deraf har også antibakteriel og β-lactamase--inhiberende virkning. Der er nu fundet en yderligere gruppe af forbindelser med værdifuld antibakteriel og β-lactamase--inhiberende virkning.

Den foreliggende opfindelse bygger på denne erkendelse og angår som nævnt en analogifremgangsmåde til fremstilling af forbindelser med den almene formel III



III

hvor R betegner H, $R^1$ eller $CHR^2R^3$, hvor $R^1$ betegner en carbonhydridgruppe med 1 - 9 carbonatomer, der eventuelt er monosubstitueret med halogen, $C_{1-6}$-alkoxy, $C_{2-7}$-acyl, hydroxy eller $C_{1-6}$-acyloxy, og $R^2$ og $R^3$ betegner eventuelt med halogen, $C_{1-6}$-alkyl eller $C_{1-6}$-alkoxy monosubstitueret phenyl, eller et farmaceutisk tolerabelt salt af forbindelsen, hvor R er hydrogen, med baser, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at en tilsvarende forbindelse med den almene formel X

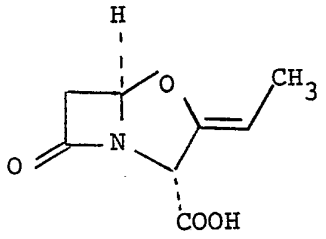


X

hvor R har den ovenfor angivne betydning, og $R^6$ betegner et hydrogenatom eller en acylgruppe, eller, såfremt R er hydrogen, et salt af den i krav 1's indledning angivne art, hydrogeneres, hvorefter, om ønsket, en vunden ester med formlen III hydrolyseres i nærværelse af en base til dannelse af et farmaceutisk tolerabelt salt med baser af syren med formlen III, og/eller en vunden syre med den almene formel III eller et vundet salt deraf omsættes med en alkohol med formlen R'OH eller med en forbindelse med formlen R'Q, hvor R' har den ovenfor for R anførte betydning bortset fra H, og Q betegner en fraspaltelig enhed, eller en vunden syre med formlen III behandles med en diazoforbindelse med formlen $R'N_2$, hvor R' har den ovenfor anførte betydning.

Stereokemien ved carbonatomerne 2 og 5 i forbindelser med formlen III er den samme som den, som forekommer i naturligt forekommende penicilliner.

Syren med formlen IV



IV

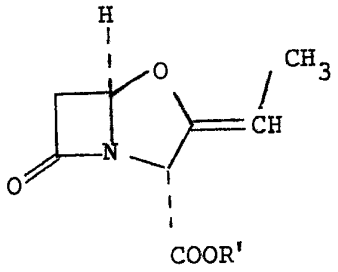
er et terapeutisk middel, men almindeligvis foretrækkes de farmaceutisk tolerable salte deraf på grund af deres bedre stabilitet.

Egnede salte af forbindelserne med formlen III omfatter sædvanlige farmaceutisk tolerable salte såsom natrium-, kalium-, calcium-, magnesium- og ammoniumsalte og på sædvanlig måde substituerede ammoniumsalte dannet med benzylpenicillin såsom 1-ephenamin, procain, benzathin og lignende salte.

Særlig velegnede salte af deoxyclavulansyre er f.eks. natrium- og kaliumsaltene, da disse salte er bekvemme at anvende til f.eks. injektionsformål.

Ved sammenligning af de resultater, der opnås ved anvendelse af henholdsvis phenacyldeoxyclavulanat og natriumdeoxyclavulanat ses det, at saltformen er mest aktiv. Det er derfor fordelagtigt at fremstille en saltform, og en foretrukken variant af fremgangsmåden ifølge opfindelsen går derfor ud på, at forbindelsen med formlen X foreligger i form af et salt.

Egnede estere med formlen III er sådanne, som har den almene formel VIII



VIII

hvor R' har den i forbindelse med definitionen af formlen X anførte betydning og er en sådan organisk gruppe, at alkoholen R'OH er farmaceutisk tolerabel.

Man regner med, at den antibakterielle virkning af esterne af deoxyclavulansyre skyldes deres evne til at virke som "pro-drugs" for deoxyclavulansyre og saltene deraf. Således er foretrukne estere sådanne, som kan omdannes til den tilsvarende syre eller salte deraf under fysiologiske betingelser.

Egnede grupper R' er alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl og arylalkyl, som alle, om ønsket, kan være substituerede på den ovenfor beskrevne måde.

Fortrinsvis er gruppen R' teoretisk afledt af en alkohol R'OH, som er farmaceutisk tolerabel. Egnede grupper R' omfatter methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl, vinyl, allyl, butenyl, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclohexenyl, cyclohexadienyl, methylcyclopentyl, methylcyclohexyl, cyclopentylmethyl, cyclohexylmethyl, benzyl, benzhydryl, phenylethyl, phenyl, propynyl, tolyl, 2-chlorethyl, acetylmethyl, benzoylmethyl, 2-methoxyethyl, p-chlorbenzyl, p-methoxybenzyl, p-brombenzyl, m-chlorbenzyl, p-chlorphenyl og p-methoxyphenyl.

Der kan fremstilles farmaceutiske præparater, som indeholder en forbindelse med formlen III og et farmaceutisk tolerabelt bærestof. Sådanne præparater indeholder fordelagtigt et farmaceutisk tolerabelt salt eller en farmaceutisk tolerabel in-vivo hydrolyserbar ester med formlen III.

Det er særlig velegnet, at det farmaceutiske præparat indeholder et farmaceutisk tolerabelt salt af forbindelsen med formlen III. De omhandlede præparater er normalt tildannet til administration til mennesker og andre pattedyr, f.eks. til brug ved på sædvanlig måde at behandle bakterielle infektionssygdomme i urinvejene, åndedræts-organerne og det bløde væv samt til behandling af sygdomme såsom otitis media hos mennesker og mastitis hos husdyr.

Forbindelsen med formlen III kan forekomme i præparatet som det eneste terapeutiske middel, eller den kan forekomme sammen med andre terapeutiske midler, f.eks. et andet β-lactam-antibiotikum. Egnede andre β--lactam-antibiotika til anvendelse i sådanne præparater omfatter ikke kun sådanne, som vides at være følsomme over for β-lactamaser, men også sådanne, som i nogen grad har en indre modstandsdygtighed mod β-lactamaser. Således er egnede andre β-lactam-antibiotika til anvendelse i præparater af denne type f.eks. benzylpenicillin, phenoxymethylpenicillin, carbenicillin, methicillin, propicillin, hetacillin, ampicillin, amoxycillin, ticarcillin, cephaloridin, cephalothin, cephalexin, cephaloglycin, cephamandol og in-vivo hydrolyserbare estere af sådanne forbindelser, f.eks. phenyl-, tolyl- og 5-indanylestere af carbenicillin og ticarcillin, acetoxymethylesteren af benzylpenicillin og acetoxymethyl-, pivaloyloxymethyl- og phthalidylesterne af ampicillin, amoxycillin, cephaloglycin, cephalexin, mecillinam og lignende forbindelser eller salte af sådanne forbindelser.

Når forbindelsen med formlen III forefindes i et farmaceutisk præparat sammen med et andet β-lactam-antibiotikum, kan forholdet mellem den tilstedeværende forbindelse med formlen III eller dens salt eller ester og det andet β-lactam-antibiotikum f.eks. ligge mellem 20:1 og 1:5, f.eks. mellem 10:1 og 1:3, og forholdet kan fordelagtigt ligge mellem 5:1 og 1:2, f.eks. mellem 3:1 og 1:1.

Den totale mængde af de antibakterielle midler, som forefindes i en vilkårlig enhedsdosisform, vil normalt ligge mellem 50 og 1500 mg, sædvanligvis mellem 100 og 1000 mg. Injicerbare eller infunderbare præparater kan imidlertid, om ønsket, indeholde større mængder, f.eks. 4 g eller mere aktivstof. Normalt skal mellem 50 og 6000 mg af de omhandlede præparater administreres på hver be-

handlingsdag, men fortrinsvis skal der daglig administreres mellem 500 og 3000 mg af præparaterne. Almindeligvis skal der administreres daglig en mængde på ikke mere end 2000 mg af en forbindelse med formlen III, f.eks. 100 - 1000 mg.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af forbindelser med formlen III er det ofte særlig bekvemt at anvende en forbindelse med formlen X, hvor $R^6$ er et hydrogenatom, da der ved anvendelse heraf fås en lettere reaktion. Det er også ofte bekvemt at anvende en forbindelse med formlen X i form af et salt deraf, da saltformen af slutproduktet, som ovenfor anført, har lidt kraftigere virkning end estere.

Hydrogeneringsreaktionen i fremgangsmåden ifølge opfindelsen foretages ofte i nærværelse af en katalysator indeholdende et overgangsmetal, f.eks. palladium eller platinoxid. En særlig velegnet katalysator er palladium på aktivkul, f.eks. 10%'s palladium på aktivkul.

Den anvendte katalysator foreligger hensigtsmæssigt i stærkt aktiv form, f.eks. en sådan, som fås ved anvendelse af en frisk portion katalysator.

Det er mest hensigtsmæssigt, at den tilstedeværende vægtmængde katalysator (som total 10%'s palladium/aktivkul eller lignende) er mindst 1/3 af den vægtmængde, der forefindes af forbindelsen med formlen X eller et salt eller en ester deraf, da der på denne måde sikres bedst udbytte af den ønskede forbindelse. Det er fordelagtigt, at der er mindst lige så meget katalysator som forbindelse med formlen X til stede, især for de forbindelser, hvor $R^6$ er hydrogen.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen finder normalt sted ved ikke-ekstrem temperatur. F.eks. kan omsætningen finde sted i en lavere alkanol ved en temperatur mellem -10 og +50°C, sædvanligvis mellem 0 og 25°C, f.eks. mellem 5 og 20°C.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen finder normalt sted i et inert opløsningsmiddel såsom en lavere alkanol, vand eller en vandig alkanol. Det er særlig hensigtsmæssigt, at det anvendte opløsningsmiddel

er en lavere alkanol såsom methanol eller ethanol. For de forbindelser med formlen X, hvor $R^6$ er hydrogen, kan der også anvendes med vand blandbare ethere såsom tetrahydrofuran, men sådanne etheropløsningsmidler er ikke generelt anvendelige, når $R^6$ er en acylgruppe.

Der kan anvendes forhøjet, middel eller lavt hydrogentryk ved denne omsætning. Det foretrækkes almindeligvis at anvende hydrogen ved atmosfæretryk eller ved tryk lidt over atmosfæretryk.

En foretrukken form for fremgangsmåden ifølge opfindelsen består i hydrogenering af clavulansyre eller et salt eller en hydrogenolyserbar ester deraf i nærværelse af en palladiumkatalysator. En sådan fremgangsmåde fører til fremstilling af en forbindelse med formlen IV eller et salt deraf. Hvis der ønskes et salt, og clavulansyren ikke allerede er i saltform, kan der i reaktionsmediet anvendes en base såsom natriumhydrogencarbonat.

Arten af en acylgruppe $R^6$, som kan forekomme i en forbindelse med formlen X, er relativt uden betydning, når blot den ikke fører til hurtig nedbrydning af forbindelsen med formlen X. Egnede acylderivater er beskrevet i dansk patentansøgning nr. 4738/75. Særlig velegnede acylgrupper $R^6$ indeholder op til 9 carbonatomer og kan eventuelt være substitueret med f.eks. halogen, $C_{1-6}$-alkoxy, $C_{2-6}$-alkoxycarbonyl, $C_{1-6}$-acyloxy eller hydroxy. Det er særlig hensigtsmæssigt, at sådanne acylgrupper er usubstituerede eller kun substitueret med ikke-reaktive grupper.

Estere med formlen III kan fremstilles ved omsætning af en vunden syre med formlen III eller et salt deraf med en alkohol R'OH eller en forbindelse med formlen R'Q, hvor R' har den for R angivne betydning bortset fra H, og Q er en godt fraspaltelig enhed, f.eks. et chlor-, brom- eller iodatom, en aktiveret estergruppe, en sulfonester såsom en mesylat- eller tosylatgruppe eller en anden sædvanlig godt fraspaltelig gruppe. Alternativt kan den vundne syre med formlen III behandles med en diazoforbindelse $R'N_2$ såsom diazomethan.

Omsætningen med R'Q udføres normalt i et organisk opløsningsmiddel med relativt høj dielektricitetskonstant, f.eks. dimethylformamid, acetone, dioxan eller tetrahydrofuran, og ved en ikke-ekstrem temperatur, f.eks. mellem -5 og +100°C, sædvanligvis mellem +5 og 30°C, f.eks. ved stuetemperatur.

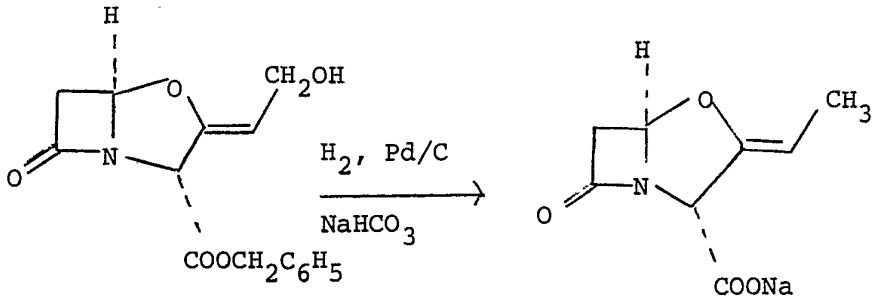
Omsætningen mellem en syre med formlen III og en diazoalkan er en mild metode til fremstilling af alkyl- eller aralkylestere. Diazoteringen kan udføres under sædvanlige reaktionsbetingelser, f.eks. ved en ikke-ekstrem temperatur og i et sædvanligt opløsningsmiddel. Sådanne reaktioner udføres normalt mellem -5 og +100°C, sædvanligvis mellem 5 og 30°C, f.eks. ved stuetemperatur. Egnede opløsningsmidler til denne omsætning omfatter lavere alkanoler såsom methanol og ethanol og opløsningsmidler såsom tetrahydrofuran eller dioxan. Ethanol har vist sig at være et særlig værdifuldt opløsningsmiddel til denne omsætning. Omsætningen af en syre med formlen III med en alkohol i nærværelse af et kondensationsfremmende middel vil normalt finde sted i et inert organisk opløsningsmiddel såsom dichlormethan eller acetonitril. Denne omsætning udføres normalt ved stuetemperatur eller lavere temperatur, f.eks. mellem -10 og +22°C, sædvanligvis mellem -5 og +18°C, f.eks. først ved 0°C og derefter under gradvis opvarmning til ca. 15°C. Det anvendte kondensationsfremmende middel er normalt et middel, som fjerner vand fra reaktionsblandingen. Egnede midler er f.eks. carbodiimider, carbodiimidazoler eller lignende reagenser. Dicyclohexylcarbodiimid har vist sig at være et særlig velegnet kondensationsfremmende middel til denne proces.

Salte af forbindelserne med formlen III kan fremstilles ved hydrolyse af en ester med formlen III. Dette kan almindeligvis udføres ved at holde esteren med formlen III i et vandigt medium, som holdes ved en pH-værdi på ca. 7 - 9, i op til 1 time. Visse reaktive estere såsom pivaloyloxymethyl- og acetoxymethylesterne hydrolyserer på få minutter, når de holdes i et vandigt medium med en pH-værdi på ca. 6 - 8, hvorved der fås syrer, som derefter kan neutraliseres til dannelse af salte med formlen III.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere ved nedenstående eksempler:

Eksempel 1.

Natriumdeoxyclavulanat.



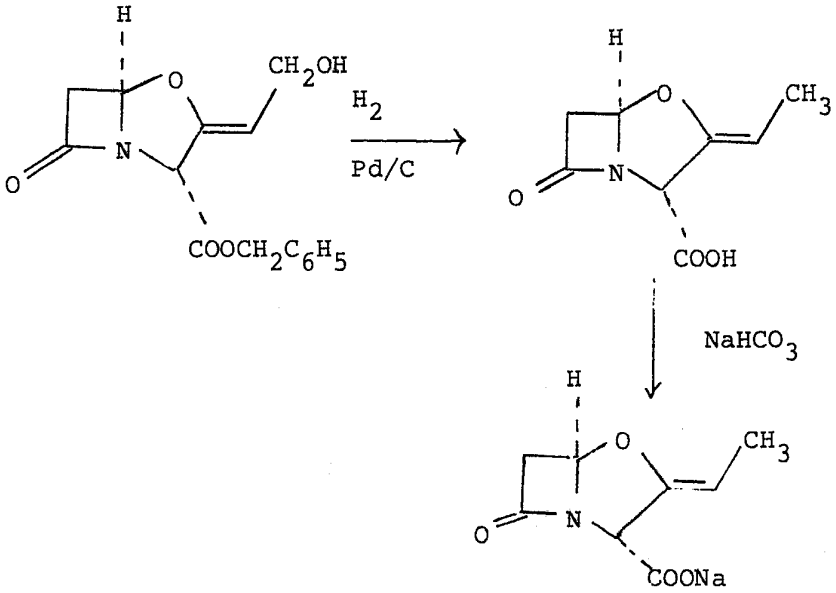

220 mg benzylclavulanat i 20 ml ethanol hydrogeneres over 70 mg 10%'s palladium/kul og 60 mg natriumhydrogencarbonat i 60 minutter. Katalysatoren frafiltreres og vaskes med vand og derefter ethanol, og de samlede filtrater inddampes. Dette stof chromatograferes på en silicagelsøjle med n-butanol/ethanol/vand i forholdet 4:1:1,75, og den hurtigst løbende komponent isoleres. Opløsningsmidlerne fjernes under lavt tryk, hvorved der fås natriumsaltet af deoxyclavulansyre.

IR-Spektrum (KBr): 1780, 1700 og 1605 $cm^{-1}$. NMR-Spektrum ($D_2O$): 1,52 (3H, dd, J 7Hz, J'1,5Hz); 2,98 (1H, d, J 18Hz, 6β-CH); 3,52 (1H, dd, J 18Hz, J' 2,5Hz, 6α-CH); 4,5 - 4,9 (m, forstyrret af HOD-spids); 5,64 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH).

[Natriumsaltet af clavulansyre fås også fra søjlen ved yderligere eluering].

Eksempel 2.

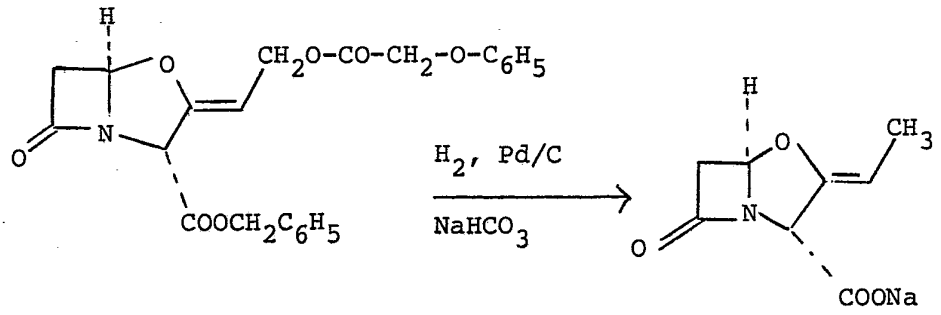
Natriumdeoxyclavulanat.




8,25 g benzylclavulanat opløses i 75 ml tetrahydrofuran. Til denne opløsning sættes 8,25 g 10%'s palladium/aktivkul, og blandingen hydrogenolyseres ved stuetemperatur under kraftig omrystning og under anvendelse af 1 atmosfæres hydrogentryk i 30 minutter. Suspensionen filtreres, og filtratet behandles med en opløsning af 2,39 g natriumhydrogencarbonat opløst i den mindst mulige mængde vand. Opløsningen inddampes under reduceret tryk på rotationsfordamper ved stuetemperatur, og remanensen tritureres med acetone og ether, hvorved der fås 4,7 g af et lysegult fast stof. Dette salt er identisk med det ifølge eksempel 1 fremstillede og har samme fysiske data.

Eksempel 3.

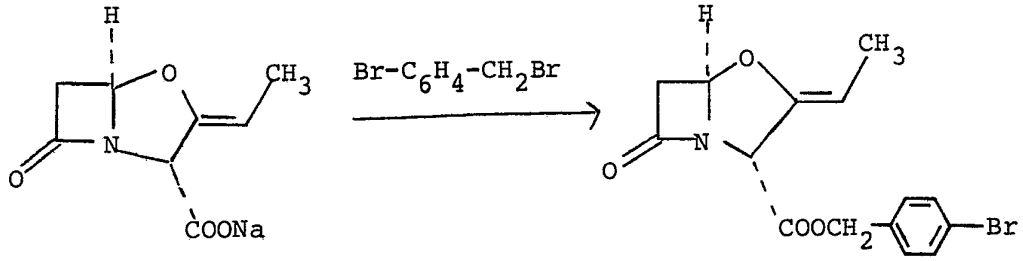
Natriumdeoxyclavulanat.




140 mg benzylphenoxyacetylclavulanat opløses i 6 ml ethanol/ethylacetat i forholdet 5:1, og til opløsningen sættes 56 mg natriumhydrogencarbonat og 47 mg 10%'s palladium/aktivkul. Opløsningen hydrogeneres ved stuetemperatur (svarende til 18°C) i 15 minutter. Katalysatoren frafiltreres og vaskes grundigt med vand. Filtratet og vaskevæskerne sammenhældes og inddampes til tørhed, hvorved der fås et kvantitativt udbytte af forurenet natrium-deoxyclavulanat. Natrium-deoxyclavulanat kan skilles fra blandingen med natriumphenoxyacetat ved forsigtig søjlechromatografi under anvendelse af silicagel og eluering med butanol/ethanol/vand. (Fysiske kendetegn som for produktet fremstillet i eksempel 1).

Eksempel 4.

p-Brombenzyldeoxyclavulanat.



En opløsning af 50 mg p-brombenzylbromid sættes til en opløsning af 10 mg natriumdeoxyclavulanat i 0,5 ml dimethylformamid, og blandingen holdes ved stuetemperatur (ca. 18°C) i 2 timer. Reaktionsblandingen fraktioneres på silicagel under eluering med ethylacetat/hexan i forholdet 1:4, hvorved der efter inddampning fås p-brombenzyldeoxyclavulanat (i form af en olie).

IR-Spektrum ($CHCl_3$): 1790, 1740 og 1695 $cm^{-1}$.
NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 1,62 (3H, dd, J 7Hz, J' 1,4Hz, $CH_3$); 2,95 (1H, dd, J 17Hz, J' 1,0Hz, 6β-CH); 3,48 (1H, dd, J 17Hz, J' 2,6Hz, 6α-CH); 4,58 (1H, dq, J 7Hz, J' 1Hz, =$CHCH_3$); 5,03 (1H, dd, J 1,4Hz, J' 1,0Hz, 3-CH); 5,12 (2H, s, $CO_2CH_2$-); 5,65 (1H, dd, J 2,6Hz, J' 1,0Hz, 5-CH); 3,38 (4H, ABq, J 8,5Hz, aromatiske protoner).

Eksempel 5.

Methyldeoxyclavulanat.

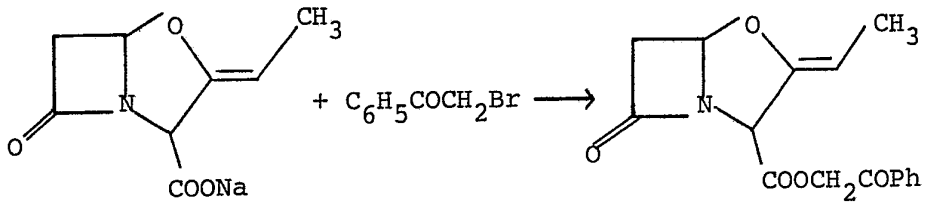
1,45 g benzylclavulanat i 40 ml methanol hydrogeneres over 0,4 g 10%'s palladium/kul ved stuetemperatur og atmosfæretryk i 30 minutter. Katalysatoren frafiltreres,og filtratet afkøles til 0°C og behandles med en overskydende mængde etherisk diazomethan. Opløsningsmidlet afdampes, og den som remanens vundne olie fraktioneres på silicagel med ethylacetat/hexan som elueringsmiddel. Som først elueret produkt fås 365 mg methyldeoxyclavulanat.

IR-Spektrum ($CHCl_3$): $\nu_{max}$ = 1800, 1745 og 1700 $cm^{-1}$.

NMR-Spektrum ($CDCl_3$): δ = 1,68 (3H, dd, J 7,5 og 1,5Hz, =CH-$CH_3$), 3,07 (1H, d, J 17Hz, 6β-CH), 3,59 (1H, dd, J 17 og 2,5Hz, 6α-CH), 3,84 (3H, S, $COOCH_3$), 4,71 (1H, dq, J 7,5 og 1,5Hz, =CH-$CH_3$), 5,08 (1H, m, 3-CH), 5,76 (1H, d, J 2,5Hz, 5-CH); $M^+$ = 197,0688.

Eksempel 6.

Phenacyldeoxyclavulanat.




0,2 g phenacylbromid sættes til en opløsning af 0,2 g natriumdeoxyclavulanat i 5 ml dimethylformamid, og blandingen omrøres ved stuetemperatur i 3 timer. Opløsningsmidlet fjernes, og remanensen opløses i ethylacetat, vaskes med vand, tørres og inddampes. Ved gradientchromatografi på silicagel under anvendelse af cyclohexan/ethylacetat som eluant fås produktet, som ved omkrystallisation af ether giver 0,15 g farveløse krystaller.

Massemåling viser en molekylær ion ved m/e 301.

IR-Spektrum (nujol): $\nu_{max}$ = 1798, 1755 og 1702 $cm^{-1}$.

NMR-Spektrum ($CDCl_3$): $\delta$ = 1,7 (3H, dd, J 7 og 1,5 Hz, $=CHCH_3$), 3,0 (1H, dd, J 17 og 1Hz, 6β-CH), 3,5 (1H, dd, J 17 og 3Hz, 6α-CH), 4,81 (1H, m, $CHCH_3$) 5,17 (1H, m, 3-CH), 5,4 (2H, s, $CH_2COPh$), 5,7 (1H, dd, J 3 og 1Hz, 5-CH), 7,7 (5H, m, ArH).

Farmakologi.

Natriumdeoxyclavulanat syntes ikke at fremkalde nogen åbenlyse toxiske virkninger på mus, når forbindelsen blev administreret intraperitonealt i en dosis på 500 mg/kg.

De antibakterielle og synergistiske egenskaber ved natriumdeoxyclavulanat illustreres ved de nedenstående resultater opnået in vitro:

| Organisme | Minimal inhiberende koncentration af natriumdeoxyclavulanat (µg/ml) |
|---|---|
| Bacillus subtilis A | 62,5 |
| Enterobacter cloacae N1 | 125 |
| Escherichia coli 10418 | 62,5 |
| Klebsiella aerogenes A | 62,5 |
| Proteus mirabilis C 977 | 125 |
| Pseudomonas aeruginosa A | 1000 |
| Salmonella typhimurium CT10 | 125 |
| Serratia marcescens US 39 | 125 |
| Staphylococcus aureus Oxford | 15,6 |
| Staphylococcus aureus Russell | 31 |

| Organisme | Minimal inhiberende koncentration (µg/ml) ampicillin i nærværelse af forskellige koncentrationer natriumdeoxyclavulanat (µg/ml) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 5 | 20 |
| Staphylococcus aureus Russell | 500 | 0,8 | 0,08 | * |
| Klebsiella aerogenes E70 | >500 | 0,8 | 0,2 - 0,4 | 0,1 - 0,02 |

* Inhibering fremkaldtes af natriumdeoxyclavulanat alene i denne koncentration.

Sammenligning af antibakteriel aktivitet og synergistisk virkning af henholdsvis natriumclavulanat (C) og natriumdeoxyclavulanat (D). Nedenstående resultater er opnået in vitro:

Antibakteriel virkning:

| Organisme | MIC (/ug/ml) | |
|---|---|---|
| | D | C |
| Escherichia coli JT4 | 62 | 31 |
| Escherichia coli JT410 | 125 | 31 |
| Klebsiella aerogenes E70 | 125 | 125 |
| Proteus mirabilis C889 | 62 | 31 |
| Pseudomonas aeruginosa Dalgleish | 61-125 | 125-250 |
| Staphylococcus aureus Russell | 62 | 31 |

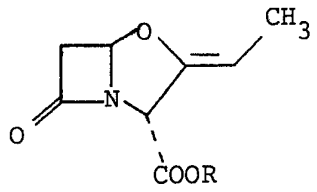
Synergistisk virkning:

| Organisme | MIC Ampicillin (/ug/ml) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | + D (/ug/ml) | | alene | + C (/ug/ml) | |
| | 1 | 5 | | 1 | 5 |
| Staphylococcus aureus Russell | 0,8 | 0,16 | 250 | 0,4 | 0,16 |
| Klebsiella aerogenes E70 | 6,0 | 6,0 | 500 | 6,0 | 1,6 |
| Escherichia coli JT4 | >500 | 500 | >2000 | >500 | 125 |
| Proteus mirabilis | 250 | 62 | >500 | 250 | 31 |

De minimale inhiberende koncentrationer (MIC) in vitro er bestemt for ampicillin alene, phenacyldeoxyclavulanat alene og ampicillin i nærværelse af 5 /ug/ml phenacyldeoxyclavulanat. Resultaterne er angivet i nedenstående tabel:

| | MIC (/ug/ml) | |
|---|---|---|
| | Staphylococcus aureus Russell | Klebsiella aerogenes E70 |
| 1) Ampicillin | 500 | 500 |
| 2) phenacyldeoxyclavulanat | 125 | 125 |
| 3) 1) + 5 /ug/ml 2) | 0,2 | 31 |

I nedenstående tabel er angivet $I_{50}$-værdierne (/ug/ml) for nogle repræsentative forbindelser med formlen III:



$I_{50}$ (/ug/ml)

| R | Staphylococcus Russell | Escherichia coli JT4 | Klebsiella E.70 |
|---|---|---|---|
| $CH_2COC_6H_5$ | 0,27 | 0,2 | 0,14 |
| $CH_3$ | 1,0 | 4,8 | 1,9 |
| $CH_2C_6H_5$ | 0,6 | 14 | 0,4 |

$I_{50}$ er den koncentration af clavulansyrederivatet, som bevirker en 50%'s inhibering af renset β-lactamase, som produceres af en bakteriestamme.

Den procentvise inhibering af β-lactamase beregnes på følgende måde efter anvendelse af det af Batchelor et al., Proc. Roy. Soc., B 154, 498 (1961) beskrevne hydroxylaminforsøg, hvor inhiberingen bestemmes colorimetrisk eller spektrofotometrisk:

Absorption af standardpenicillin blind minus absorption af kontrolprøve (ikke-inhiberet reaktion) = X.

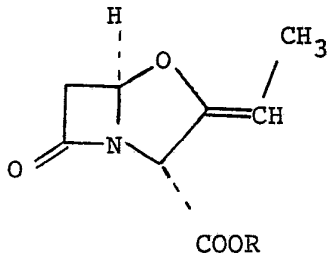
Absorption af test (inhiberet reaktion) minus absorption af kontrolprøven (ikke-inhiberet reaktion) = Y.

Procent inhibering = $\frac{Y}{X} \cdot 100$

For at få $I_{50}$-værdien fortyndes inhibitorpræparatet, indtil der er opnået 50%'s inhibering af β-lactamaseinaktiveringen af standardpenicillin.

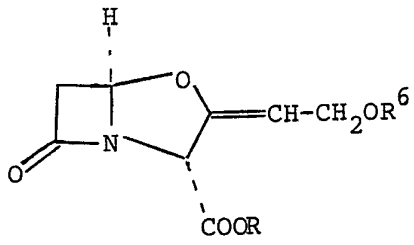
Patentkrav.

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af deoxyclavulansyre-derivater med den almene formel III



III

hvor R betegner H, $R^1$ eller $CHR^2R^3$, hvor $R^1$ betegner en carbonhydridgruppe med 1 - 9 carbonatomer, der eventuelt er monosubstitueret med halogen, $C_{1-6}$-alkoxy, $C_{2-7}$-acyl, hydroxy eller $C_{1-6}$--acyloxy, og $R^2$ og $R^3$ betegner eventuelt med halogen, $C_{1-6}$-alkyl eller $C_{1-6}$-alkoxy monosubstitueret phenyl, eller et farmaceutisk tolerabelt salt af forbindelsen, hvor R er hydrogen, med baser, k e n d e t e g n e t ved, at en tilsvarende forbindelse med den almene formel X



X

hvor R har den ovenfor angivne betydning, og $R^6$ betegner et hydrogenatom eller en acylgruppe, eller, såfremt R er hydrogen, et salt af den i kravets indledning angivne art, hydrogeneres, hvorefter, om ønsket, en vunden ester med formlen III hydrolyseres i nærværelse af en base til dannelse af et farmaceutisk tolerabelt salt med baser af syren med formlen III, og/eller en vunden syre med den almene formel III eller et vundet salt deraf omsættes med en alkohol med formlen R'OH eller med en forbindelse med formlen R'Q, hvor R' har den ovenfor for R anførte betydning bortset fra H, og Q betegner en fraspaltelig enhed, eller en vunden syre med formlen III behandles med en diazoforbindelse med formlen $R'N_2$, hvor R' har den ovenfor anførte betydning.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at $R^6$ er et hydrogenatom.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2,
k e n d e t e g n e t ved, at forbindelsen med formlen X foreliger i form af et salt.

4. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 1 - 3,
k e n d e t e g n e t ved, at hydrogeneringen udføres i nærværelse af en katalysator, som forekommer i en vægtmængde på mindst 1/3, beregnet på vægten af forbindelsen med formlen X.

Fremdragne publikationer:
Danske ans.nr. 1672/75 (pat.141254), 4738/75, 4826/75, 5748/75 (pat.142702).