



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 D 498/04  
A 61 K 31/42

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪

**640 536**

⑲ Gesuchsnummer: 9671/78

⑳ Anmeldungsdatum: 15.09.1978

㉓ Priorität(en): 16.09.1977 GB 38649/77  
30.05.1978 GB 24047/78

㉔ Patent erteilt: 13.01.1984

㉕ Patentschrift veröffentlicht: 13.01.1984

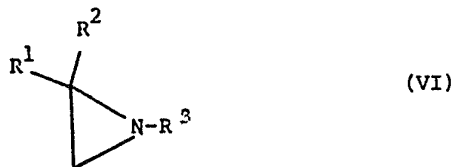
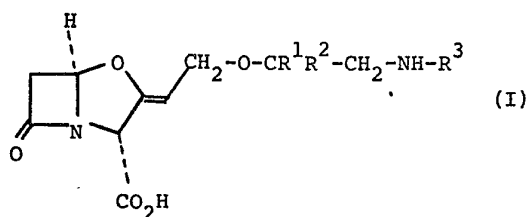
㉗ Inhaber:  
Beecham Group Limited, Brentford/Middx (GB)

㉘ Erfinder:  
Brian Charles Gasson, Redhill/Surrey (GB)

㉙ Vertreter:  
Bovard AG, Bern 25

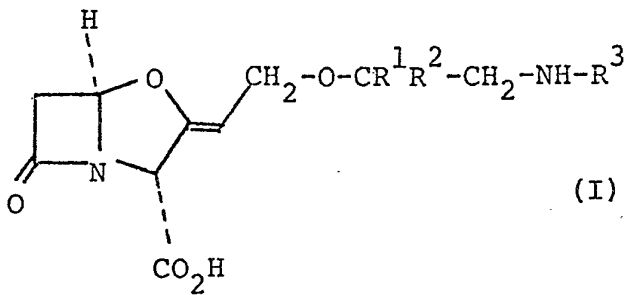
⑤④ **Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende pharmazeutische Präparate.**

⑤⑦ Verbindungen der Formel I, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> wie im Anspruch 1 definiert sind, und ihre Salze und Ester, weisen eine β-Lactamase hemmende Aktivität auf und können als Synergisten für Penicilline und Cephalosporine für die Behandlung von Infektionen eingesetzt werden. Ester dieser Verbindungen werden durch Umsetzen von Clavulansäureestern mit einem Aziridin der Formel IV, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die im Anspruch 22 angegebenen Bedeutungen aufweisen, erhalten. Diese Ester können in die entsprechenden Carbonsäuren und ihre Salze sowie in Verbindungen der Formel I, worin R<sup>3</sup> Wasserstoff bedeutet, übergeführt werden.



## PATENTANSPRÜCHE

1. Aminoverbindung von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I



in der R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> gleich oder verschieden sind und Wasserstoffatome oder Methylgruppen bedeuten und R<sup>3</sup> ein Wasserstoffatom oder einen der Reste -COR<sup>4</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> oder -CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> darstellt, wobei

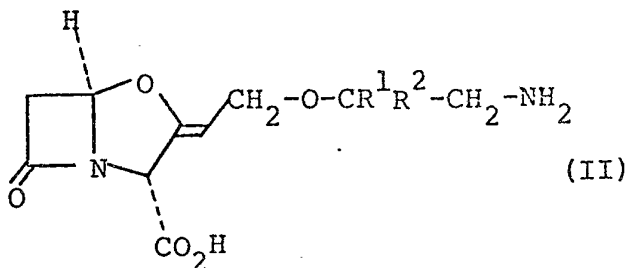
R<sup>4</sup> für einen Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen oder die Cyclohexyl-, Phenyl- oder Benzylgruppe steht und R<sup>5</sup> ein Wasserstoffatom oder ein Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen ist, und deren Salze und Ester.

2. Aminoverbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in der allgemeinen Formel I der Rest -COR<sup>4</sup> die Acetyl-, Propionyl- oder die Benzoylgruppe ist.

3. Aminoverbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in der allgemeinen Formel I der Rest -CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> die Methoxycarbonyl-, Äthoxycarbonyl- oder die Benzyloxycarbonylgruppe ist.

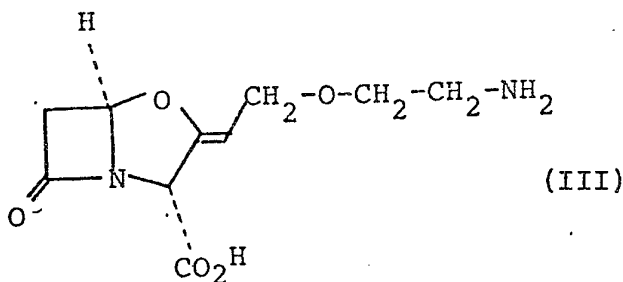
4. Aminoverbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in der allgemeinen Formel I der Rest -CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> die Methylaminocarbonyl- oder die Dimethylaminocarbonylgruppe ist.

5. Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern nach Anspruch 1 der allgemeinen Formel II



in der R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzen.

6. Verbindung nach Anspruch 1 der Formel III



7. Verbindung nach Anspruch 6 in praktisch reiner und/oder kristalliner Form.

8. Aminoverbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in Form ihrer Salze.

9. Aminoverbindungen nach Anspruch 8 in Form ihrer pharmakologisch verträglichen Salze.

10. Aminoverbindungen nach Anspruch 9 in Form ihrer Alkali- oder Erdalkalimetallsalze.

11. Aminoverbindungen nach Anspruch 10 in Form ihrer Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Magnesiumsalze.

12. Aminoverbindungen nach Anspruch 9 in Form ihrer Salze einer pharmakologisch verträglichen stickstoffhaltigen Base.

13. Aminoverbindungen nach Anspruch 8 in Form ihrer Lithium- oder tert.-Butylamin-Salze.

14. Aminoverbindungen nach Anspruch 8 in Form ihrer Natrium- oder Kaliumsalze.

15. Aminoverbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in Form ihrer Ester.

16. Aminoverbindungen nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Ester durch Hydrolyse oder durch Hydrierung spaltbar ist.

17. Aminoverbindungen nach Anspruch 16 in Form ihrer Methyl- oder Methoxymethylester.

18. Aminoverbindungen nach Anspruch 16 in Form ihrer Benzylester, wobei die Benzylgruppe gegebenenfalls substituiert ist.

19. Aminoverbindungen nach Anspruch 18 in Form ihrer p-Methoxybenzyl-, p-Brombenzyl-, p-Chlorbenzyl- oder p-Nitrobenzylester.

20. Aminoverbindungen nach Anspruch 16 in Form ihrer Acetoxymethyl-, Trimethylacetoxymethyl-, α-Äthoxycarbonyläthyl- oder Phthalidylester.

21. 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-benzylester,

9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäurebenzylester,

9-O-(2-Amino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure,

9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester,

Natriumsalz der 9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure,

9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester,

Natriumsalz der 9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure,

9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester,

Natriumsalz der 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure,

9-O-[2-(N'-Propyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester,

9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester,

Lithiumsalz der 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure,

9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-methoxymethylester,

9-O-(2-N',N'-Dimethylureido-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester,

Lithiumsalz der 9-O-(2-N',N'-Dimethylureido-äthyl)-clavulansäure,

9-O-[2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl]-clavulansäure-methylester,

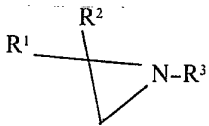
9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methylester,

9-O-(2-Acetamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester,

9-O-(2-Acetamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester und Natriumsalz der 9-O-(2-Acetamido-äthyl)-clavulansäure, als Verbindungen nach

Anspruch 1.

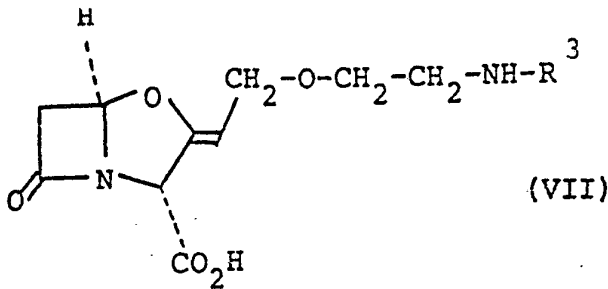
22. Verfahren zur Herstellung von Estern von Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I, worin R<sup>3</sup> einen der Reste -COR<sup>4</sup>, -CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> oder CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> darstellt und R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> und R<sup>5</sup> die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, dadurch gekennzeichnet, dass man einen Ester der Clavulansäure in Gegenwart eines Katalysators mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel VI



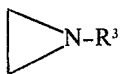
in der R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, umsetzt.

23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass man als Katalysator Bortrifluorid-ätherat während der Umsetzung der Verbindung der allgemeinen Formel VI mit einem Ester der Clavulansäure verwendet.

24. Verfahren gemäss Anspruch 22 zur Herstellung eines Esters einer Verbindung der allgemeinen Formel VII



in der R<sup>3</sup> die in Anspruch 22 angegebenen Bedeutungen besitzt, dadurch gekennzeichnet, dass man einen Ester der Clavulansäure mit einer Verbindung der allgemeinen Formel VIII



in der R<sup>3</sup> die oben angegebene Bedeutung besitzt, umsetzt.

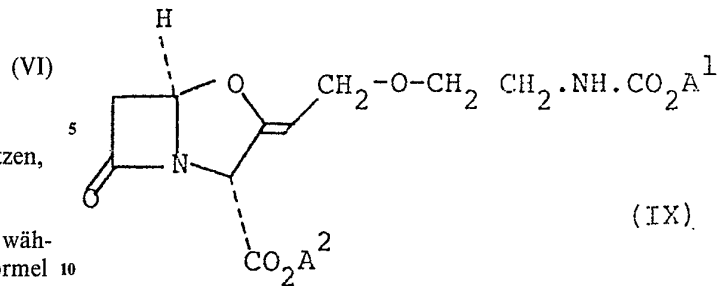
25. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder deren Ester, worin R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und R<sup>3</sup> Wasserstoff bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man gemäss Anspruch 22 einen Ester einer Verbindung der Formel I herstellt, worin R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> die oben angegebene Bedeutung haben, und R<sup>3</sup> die Benzoyloxycarbonylgruppe bedeutet und in der erhaltenen Verbindung R<sup>2</sup> oder R<sup>3</sup> und die esterbildende Gruppe hydrierend abspaltet.

26. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines Carbonsäuresalzes davon, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die im Anspruch 22 angegebene Bedeutung haben, dadurch gekennzeichnet, dass man gemäss Anspruch 22 einen Ester einer Verbindung der Formel I, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die obige Bedeutung haben, herstellt und diesen spaltet und die erhaltene Verbindung der Formel I gegebenenfalls in ihr Carbonsäuresalz überführt.

27. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass man den Ester hydrierend oder hydrolysierend spaltet.

28. Verfahren zur Herstellung eines Esters einer Verbindung der Formel I, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die im Anspruch 22 angegebene Bedeutung haben, dadurch gekennzeichnet, dass man gemäss Anspruch 26 ausgehend von einem Ester einer Verbindung der Formel I eine Verbindung der Formel I oder ein Carbonsäuresalz davon herstellt, worin R<sup>1</sup> bis R<sup>3</sup> die obige Bedeutung hat, und diese in einen andern Ester überführt.

29. Verfahren zur Herstellung der 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel IX



in der die Reste -CO<sub>2</sub>A<sup>1</sup> und -CO<sub>2</sub>A<sup>2</sup> sich durch katalytische Hydrierung in Carboxylgruppen umwandeln lassen, hydriert und die Carboxaminogruppe decarboxyliert.

30. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel IX verwendet, in der A<sup>1</sup> und A<sup>2</sup> Benzyl- oder substituierte Benzylgruppen sind.

31. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel IX verwendet, in der A<sup>1</sup> und A<sup>2</sup> p-Brombenzyl-, p-Chlorbenzyl- oder p-Nitrobenzylgruppen sind.

32. Pharmazeutische Präparate, gekennzeichnet durch einen Gehalt an mindestens einer Aminoverbindung von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1.

33. Pharmazeutische Präparate nach Anspruch 32, gekennzeichnet durch einen zusätzlichen Gehalt an pharmakologisch verträglichen Trägermaterialien, Verdünnungsmitteln und/oder Zusatzstoffen.

34. Pharmazeutische Präparate nach den Ansprüchen 32 oder 33, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einem Penicillin oder Cephalosporin.

35. Pharmazeutische Präparate nach einem der Ansprüche 32 bis 34, gekennzeichnet durch einen Gehalt an 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure.

36. Pharmazeutische Präparate nach einem der Ansprüche 32 bis 35 in äusserlich anwendbarer oder oral oder parenteral verabreichbarer Form.

37. Pharmazeutische Präparate nach einem der Ansprüche 32 bis 35 in injizierbarer oder infundierbarer Form.

38. Pharmazeutische Präparate nach einem der Ansprüche 32 bis 35, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis von 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure zu einem Penicillin oder Cephalosporin 10:1 bis 1:10 beträgt.

39. Pharmazeutische Präparate nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis 3:1 bis 1:3 beträgt.

40. Pharmazeutische Präparate nach einem der Ansprüche 32 bis 39, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einzeldosierung 50 bis 500 mg 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure enthält.

41. Pharmazeutische Präparate nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass sie 150 bis 1000 mg Amoxicillin, Ampicillin, deren in Warmblütlerorganismen in vivo hydrolysierbare Ester oder deren Aldehyd- oder Ketonaddukte oder deren pharmakologisch verträgliche Salze enthalten.

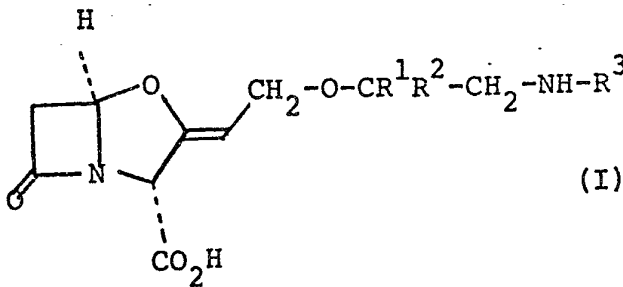
42. Pharmazeutische Präparate nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass die 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure in kristalliner Form vorliegt.

65 In der DE-OS 26 46 004 sind unter anderem Clavulansäureäther beschrieben, die eine wertvolle Hemmwirkung gegenüber  $\beta$ -Lactamase besitzen, so dass sie als Synergisten für Penicilline und Cephalosporine vorteilhaft einsetzbar

sind. Die wertvollen Eigenschaften derartiger Verbindungen sind auch späterhin in der FR-PS 2 335 222 beschrieben.

Es sind jetzt weitere Clavulansäureäther mit antibakterieller und  $\beta$ -Lactamase hemmender Aktivität gefunden worden, die nach einer Verabreichung gute Blutspiegelwerte zeigen und sich aus dem Harn wiedergewinnen lassen. Die neuen Verbindungen lassen sich auch zweckmässiger herstellen als die früher bekannten stickstoffhaltigen Äther.

Gegenstand der Erfindung sind demgemäss Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I



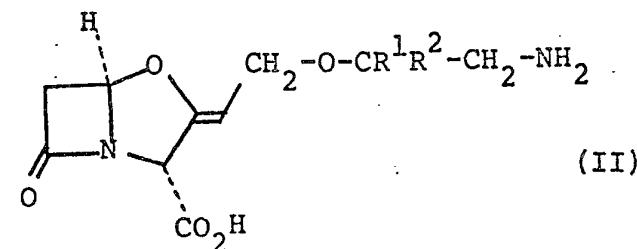
in der  $R^1$  und  $R^2$  gleich oder verschieden sind und Wasserstoffatome oder Methylgruppen bedeuten und  $R^3$  ein Wasserstoffatom oder einen der Reste  $-\text{COR}^4$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^4$  oder  $-\text{CONR}^4\text{R}^5$  darstellt, wobei  $R^4$  für einen Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen oder die Phenyl- oder Benzylgruppe steht und  $R^5$  ein Wasserstoffatom oder ein Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen ist, und deren Salze und Ester.

Vorteilhafterweise ist der Rest  $R^3$  ein Wasserstoffatom und zweckmässigerweise einer der Reste  $-\text{COR}^4$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^4$  oder  $-\text{CONR}^4\text{R}^5$ .

Es ist vorteilhaft, wenn der Rest  $-\text{COR}^4$  die Acetyl-, Propionyl- oder die Benzoylgruppe bedeutet. Vorteilhafte Reste für  $-\text{CO}_2\text{R}^4$  sind die Methoxycarbonyl-, Äthoxycarbonyl- und die Benzyloxycarbonylgruppe. Für den Rest  $-\text{CONR}^4\text{R}^5$  steht vorteilhaft die Methylaminocarbonyl- oder die Dimethylaminocarbonylgruppe.

Für die Gruppierung  $-\text{C}(\text{R}^1\text{R}^2)-$  ist die Methylengruppe bevorzugt und die Äthyliden- oder die Isopropyliden-Gruppe zweckmässig.

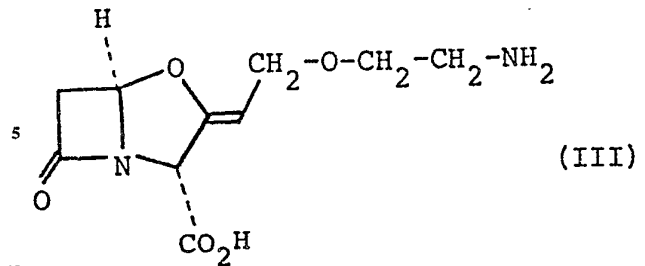
Eine Gruppe von besonders vorteilhaften Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern nach vorliegender Erfindung sind solche der allgemeinen Formel II



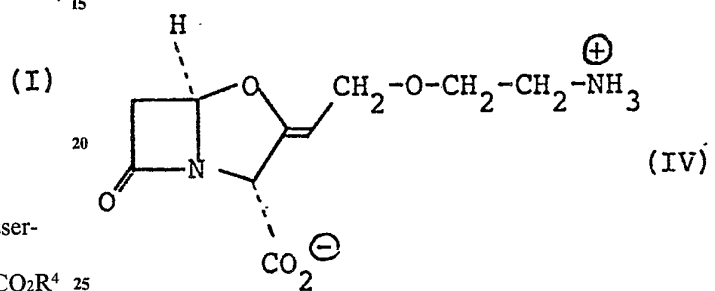
in der  $R^1$  und  $R^2$  die bei der allgemeinen Formel I angegebenen Bedeutungen besitzen.

Die Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel II existieren für gewöhnlich in zwitterionischer Form.

Bei einer bevorzugten Verbindung vorliegender Erfindung bedeuten die Reste  $R^1$  und  $R^2$  Wasserstoffatome. Es handelt sich um die 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure der Formel III:



Da diese Verbindung gewöhnlich in zwitterionischer Form existiert, kann man sie auch durch die nachstehende Formel IV darstellen:



Die zwitterionischen Verbindungen vorliegender Erfindung liefern in vorteilhafter Weise kristalline Verbindungen, die eine verbesserte Lagerfähigkeit besitzen. Vorzugsweise sind diese Verbindungen praktisch rein, d.h. dass sie einen Reinheitsgrad von über 80% aufweisen.

Andere geeignete Verbindungen vorliegender Erfindung sind solche der allgemeinen Formel I und ihre Salze, in denen  $R^3$  der Rest  $-\text{COR}^4$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^4$  oder  $-\text{CONR}^4\text{R}^5$  ist, wie vorstehend beschrieben. Besonders geeignete Verbindung dieses Typs sind ihre pharmakologisch verträglichen Salze, wie die Alkali- und Erdalkalimetallsalze, beispielsweise die Natrium-, Kalium-, Calcium oder Magnesiumsalze. Andere geeignete Salze leiten sich von pharmakologisch verträglichen stickstoffhaltigen Basen ab. Die Lithium- und tert.-Butylamin-Salze sind ebenfalls geeignet. Bevorzugt sind die Natrium- und Kaliumsalze.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I, in denen  $R^3$  der Rest  $-\text{COR}^4$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^4$  oder  $-\text{CONR}^4\text{R}^5$  ist, können auch in Form ihrer Ester vorliegen, insbesondere solchen, die sich durch chemische Verfahren, wie durch Hydrolyse mittels schwacher Basen oder durch Hydrierung spalten lassen, oder die in vivo hydrolysierbar sind. Geeignete hydrolysierbare Ester sind die Methyl- und die Methoxymethylester. Geeignete Ester, die sich durch Hydrierung spalten lassen, sind die Benzyl- und die substituierten Benzylester, wie die p-Methoxybenzyl-, p-Brombenzyl-, p-Chlorbenzyl- und die p-Nitrobenzylester. Zweckmässige in vivo hydrolysierbare Ester sind die Acetoxymethyl-, Trimethylacetoxymethyl-,  $\alpha$ -Äthoxycarbonyl-äthyl- und die Phthalidylester.

Einen weiteren Gegenstand vorliegender Erfindung bildet ein Verfahren zur Herstellung von Estern von Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man einen Ester der Clavulansäure mit einem Aziridinderivat der allgemeinen Formel VI



in der  $R^3$  ein Rest  $-COR^4$ ,  $-CO_2R^4$  oder  $-CONR^4R^5$  bedeutet, und  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$  und  $R^5$  die bei der allgemeinen Formel I angegebenen Bedeutungen besitzen, umgesetzt.

In einem weiteren erfindungsgemässen Verfahren wird gemäss dem obigen Verfahren ein Ester der Formel I, worin  $R^3$  die Benzyloxycarbonyl-Gruppe ist, hergestellt und dieser anschliessend hydriert, wobei eine Verbindung der Formel I erhalten wird, in der  $R^3$  ein Wasserstoffatom ist.

Verbindungen der Formel I oder deren Carbonsäuresalze werden erhalten, indem man gemäss dem oben angeführten Verfahren einen Ester herstellt und diesen anschliessend spaltet und gegebenenfalls in das entsprechende Carbonsäuresalz überführt.

Die erhaltenen Carbonsäuren und deren Salze können anschliessend in andere Ester übergeführt werden.

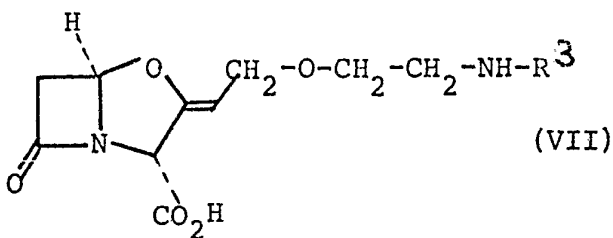
Die Umsetzung eines Esters der Clavulansäure mit einem Aziridinderivat findet gewöhnlich in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie Methylchlorid oder dgl., und bei erniedrigter Temperatur, wie bei  $-30$  bis  $+5^\circ\text{C}$ , und noch zweckmässiger bei etwa  $-20$  bis  $0^\circ\text{C}$  statt. Man kann jedoch das Reaktionsgemisch sich allmählich bis auf Raumtemperatur erwärmen lassen, um die Umsetzung zu vervollständigen. Es wird ein Katalysator, wie Bortrifluorid-ätherat, verwendet.

Die gewünschten Äther kann man aus dem Reaktionsgemisch nach Waschen des Reaktionsgemisches mit Natriumbicarbonatlösung und/oder Wasser oder Natriumchloridlösung durch Chromatographie erhalten.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der  $R^3$  die Benzyloxycarbonylgruppe ist, können durch Hydrieren unter Anwendung von annähernd Wasserstoffnormaldruck und einem Katalysator, wie Palladium, beispielsweise Palladium auf Kohle, in eine Verbindung umgewandelt werden, in der  $R^3$  ein Wasserstoffatom ist.

Die Ester der Verbindungen der allgemeinen Formel I können durch Hydrieren oder Hydrolysieren, wie es in der BE-PS 847 045 beschrieben ist, in die entsprechende Verbindung der allgemeinen Formel I umgewandelt werden. In dieser BE-PS sind auch geeignete Bedingungen für eine Veresterung der Verbindungen der allgemeinen Formel I oder ihrer Salze beschrieben.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform vorliegender Erfindung ist das Verfahren auf die Herstellung von Estern von Verbindungen der allgemeinen Formel VII

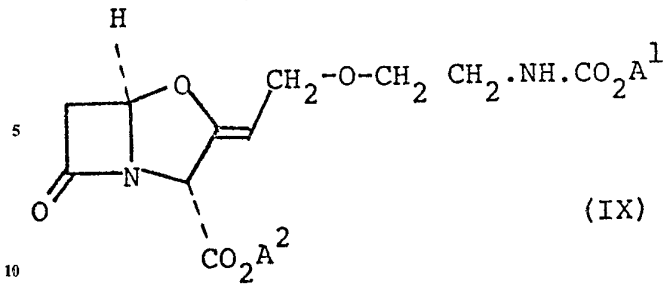


gerichtet, in der  $R^3$  die bei der allgemeinen Formel VI angegebenen Bedeutungen besitzt. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass man einen Ester der Clavulansäure mit einer Verbindung der allgemeinen Formel VIII



umsetzt, in der  $R^3$  die bei der allgemeinen Formel VI angegebene Bedeutung besitzt.

Ein weiteres bevorzugtes Verfahren besteht in der Herstellung der 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure, indem man eine Verbindung der allgemeinen Formel IX



in der die Gruppen  $-CO_2A^1$  und  $-CO_2A^2$  durch katalytische Hydrierung in Carboxylgruppen überführbare Reste bedeuten, hydriert und die Carboxaminogruppe decarboxyliert.

Die vorgenannte Umsetzung verläuft über die Bildung einer Verbindung mit dem Rest  $-O-CH_2-CH_2-NH-CO_2H$ , die dann decarboxyliert wird und eine entsprechende Verbindung mit dem Rest  $-O-CH_2-CH_2-NH_2$  bildet.

Der bei der vorstehend genannten Umsetzung verwendete Katalysator ist üblicherweise ein Edelmetallkatalysator und gewöhnlich ein auf Palladium beruhender Katalysator, beispielsweise Palladium auf Kohle, Palladium auf Bariumsulfat oder dergleichen. Ein bevorzugter Katalysator ist Palladium auf Kohle, beispielsweise 5, 10, 15 oder 20% Palladium auf Kohle. Die Hydrierung kann bei vermindertem, gewöhnlichem oder erhöhtem Wasserstoffdruck durchgeführt werden, doch findet sie zweckmässigerweise annähernd bei Wasserstoffnormaldruck statt.

Die Umsetzung kann bei geeigneten, nicht extremen Temperaturen wie  $0$  bis  $35^\circ\text{C}$  durchgeführt werden, doch bevorzugt man im allgemeinen die Anwendung von Raumtemperatur, beispielsweise  $15$  bis  $25^\circ\text{C}$ .

Bei dem während der Hydrierung verwendeten Lösungsmittel kann es sich um ein übliches, bei einer Hydrierung angewendetes Lösungsmittel handeln, wie Wasser zusammen mit Aceton, Äthanol, Tetrahydrofuran oder Methanol oder um homogene Gemische derartiger Lösungsmittel. Ein besonders geeignetes Lösungsmittel ist wässriges Tetrahydrofuran.

Im allgemeinen sind die Reste  $A^1$  und  $A^2$  Benzyl- oder substituierte Benzylreste, wie die p-Methoxybenzyl-, p-Brombenzyl-, p-Chlorbenzyl- oder die p-Nitrobenzylgruppe. Vorzugsweise sind die Reste  $A^1$  und  $A^2$  Benzylgruppen.

Wenn die Umsetzung beendet ist, was sich beispielsweise durch Dünnschichtchromatographie feststellen lässt, kann die gewünschte Verbindung nach Abfiltrieren der Feststoffe durch Einengen der Lösung erhalten werden. Gegebenenfalls kann die Lösung vor dem Einengen oder während des Einengens gewaschen werden. Zweckmässige Einengungsverfahren umfassen das Gefriertrocknen und das Eindampfen unter vermindertem Druck. Ein Verreiben unter Äthanol kann ebenfalls angewendet werden.

Die 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure kann man in kristalliner Form durch Verreiben oder durch Kristallisieren oder Umkristallisieren in Gegenwart geeigneter Lösungsmittel, wie Äthanol, gegebenenfalls zusammen mit Methanol oder Wasser, erhalten. Für diese Zwecke ist Äthanol bevorzugt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel IX können durch Umsetzen eines entsprechenden Esters der Clavulansäure mit einer Verbindung der allgemeinen Formel X



erhalten werden, in der  $A^1$  die bei der allgemeinen Formel IX angegebene Bedeutung besitzt.

Die Kondensation kann in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie Methylenchlorid, bei anfänglich vermindelter Temperatur, wie  $-75$  bis  $0^{\circ}\text{C}$ , durchgeführt werden. Danach lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Als Katalysator wird Bortrifluorid-ätherat verwendet. Die gewünschte Verbindung kann aus dem Reaktionsgemisch durch Chromatographie erhalten werden, nachdem das Reaktionsgemisch mit Natriumbicarbonat und Wasser oder Natriumchloridlösung gewaschen worden ist.

Einen weiteren Gegenstand vorliegender Erfindung bilden pharmazeutische Präparate mit einem Gehalt an mindestens einer der Aminoverbindungen von Clavulansäureäthern der allgemeinen Formel I gegebenenfalls zusammen mit pharmakologisch verträglichen Trägermaterialien, Verdünnungsmitteln und/oder Zusatzstoffen.

Die Form der Präparate vorliegender Erfindung kann gleich denjenigen sein, wie sie in der vorgenannten BE-PS 847 045 beschrieben sind. Darin heisst es, dass pharmazeutische Präparate mit einem Gehalt an einer Verbindung nach der Erfindung und einem Penicillin oder Cephalosporin besonders geeignet sind. Ein bevorzugtes Penicillin bei derartigen synergistischen pharmazeutischen Präparaten ist Amoxycillin, beispielsweise das Natriumsalz des Amoxycillins oder das Kaliumsalz des Amoxycillins oder das Amoxycillintrihydrat. Ampicillin ist ein weiteres besonders geeignetes Penicillin für die erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparate.

Ein bevorzugtes Präparat nach vorliegender Erfindung enthält 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure und ein pharmakologisch verträgliches Trägermaterial hierfür.

Die pharmazeutischen Präparate nach vorliegender Erfindung können für eine orale, äusserlich anwendbare oder parenterale Anwendung angepasst werden und können auch zur Behandlung von Infektionen bei Säugern, einschliesslich Menschen, verwendet werden.

Beispiele geeigneter Formen von pharmazeutischen Präparaten nach vorliegender Erfindung sind Tabletten, Kapseln, Cremes, Sirupe, Suspensionen, Lösungen, Trockensaftpräparate sowie sterile Formen, die für Injektions- oder Infusionszwecke geeignet sind. Derartige pharmazeutische Präparate können übliche pharmakologisch verträgliche Substanzen, wie Verdünnungsmittel, Bindemittel, Farbstoffe, Geschmackskorrigentien, Konservierungsstoffe und/oder Zerfallhilfsmittel gemäss der üblichen pharmazeutischen Praxis in einer Weise enthalten, wie sie dem Fachmann auf dem Gebiet der Formulierung von Antibiotika wohlbekannt sind. Die pharmazeutischen Präparate nach vorliegender Erfindung können dadurch gebildet werden, dass man die Bestandteile in bekannter Weise zusammenbringt, d.h. wie es gegenwärtig üblich oder in der Literatur beschrieben ist.

Injizierbare oder infundierbare pharmazeutische Präparate einer Verbindung der Formel III sind ebenfalls in hohem Masse geeignet, da sie nach einer Verabreichung mittels Injektion oder Infusion im Gewebe besonders hohe Werte liefern. Derartige pharmazeutische Präparate können im wesentlichen aus der sterilen Verbindung bestehen, d.h. aus der Verbindung per se ohne Zusatz eines Gleitmittels oder dergleichen. In Übereinstimmung mit der üblichen Praxis werden derartige injizierbare Präparate in einer sterilen pyrogenfreien Flüssigkeit, wie Wasser für Injektionszwecke nach der britischen Pharmakopöe hergestellt.

Einzeldosierungen mit einem Gehalt an der Verbindung der Formel III oder deren Salz, die für eine orale Verabreichung angepasst sind, bilden ein weiteres bevorzugtes pharmazeutisches Präparat nach vorliegender Erfindung.

Unter gewissen Bedingungen kann die Wirksamkeit von oralen pharmazeutischen Präparaten mit einer Verbindung

der Formel III oder deren Salzen verbessert werden, wenn derartige Präparate eine Puffersubstanz oder ein erst im Darm lösliches Überzugsmittel enthalten, so dass die erfindungsgemässen Verbindungen keine langdauernde Berührung mit dem stark sauren Mageninhalt haben. Derartige gepufferte oder mit einem erst im Darm löslichen Überzug versehene pharmazeutische Präparate können nach der üblichen pharmazeutischen Praxis hergestellt werden.

Die Verbindung der Formel III kann in den Präparaten als einziger therapeutischer Wirkstoff oder auch zusammen mit einem weiteren therapeutischen Mittel, wie einem Penicillin oder Cephalosporin, vorliegen. Geeignete Penicilline und Cephalosporine in derartigen synergistischen pharmazeutischen Präparaten umfassen nicht nur solche, die in hohem Masse gegenüber  $\beta$ -Lactamasen empfindlich sind, sondern auch solche, denen ein erhebliches Mass an wesentlicher Widerstandskraft gegen einige  $\beta$ -Lactamasen zukommt.

Wenn ein Penicillin oder Cephalosporin in den synergistischen pharmazeutischen Präparaten vorliegt, ist es natürlich nicht für eine orale Verabreichung geeignet; dann wird das Arzneimittel für eine parenterale Verabreichung angepasst.

Beispiele von geeigneten Penicillinen in oral verabreichbaren pharmazeutischen Präparaten nach vorliegender Erfindung sind Benzylpenicillin, Phenoxymethylpenicillin, Propicillin, Amoxycillin, Ampicillin, Epicillin, Cycloacillin und andere oral wirksame Penicilline und ihre pharmakologisch verträglichen Salze und in vivo hydrolysierbaren Ester sowie Aldehyd- und Ketonaddukte derartiger Penicilline mit einer 6- $\alpha$ -Aminoacylamino-Seitenkette und ihre pharmakologisch verträglichen Salze. Beispiele von geeigneten, in vivo hydrolysierbaren Estern von Penicillinen, sind die Acetoxymethyl-, Trimethylacetoxymethyl-,  $\alpha$ -Äthoxycarbonyloxyäthyl- und die Phthalidylester von Ampicillin und Amoxycillin oder die Phenyl-Tolyl- und Indanyl- $\alpha$ -ester von Carbenicillin und Ticarcillin und deren pharmakologisch verträglichen Salzen. Beispiele von geeigneten Aldehyd- und Ketonaddukten von Penicillinen mit einer 6- $\alpha$ -Aminoacylamino-Seitenkette sind Formaldehyd- und Acetonaddukte von Ampicillin und Amoxycillin, wie Metampicillin und Heticillin und ihre Salze. Beispiele geeigneter Penicilline zum Einsatz in injizierbare oder infundierbare pharmazeutische Präparate sind pharmakologisch verträgliche Salze von Benzylpenicillin, Phenoxymethylpenicillin, Carbenicillin, Propicillin, Ampicillin, Amoxycillin, Epicillin, Ticarcillin und Cycloacillin.

Beispiele von geeigneten Cephalosporinen für oral verabreichbare pharmazeutische Präparate nach vorliegender Erfindung sind Cephalexin, Cephadrin, Cephaloglycin und ihre pharmakologisch verträglichen Salze, sowie andere bekannte Cephalosporine und ihre pharmakologisch verträglichen Salze und deren in vivo hydrolysierbaren Ester und Aldehyd- und Ketonaddukte von solchen Cephalosporinen, die eine 7- $\alpha$ -Aminoacylamino-Seitenkette aufweisen, sowie deren pharmakologisch verträgliche Salze. Beispiele von geeigneten Cephalosporinen für injizierbare oder infundierbare pharmazeutische Präparate nach vorliegender Erfindung sind pharmakologisch verträgliche Salze von Cephaloridin, Cephalothin, Cefazolin, Cephalexin, Cephacetril, Cephamandol, Cephapirin, Cephadrin, Cephaloglycin und andere bekannte Cephalosporine.

Wenn die Verbindung der Formel III in d. n. pharmazeutischen Präparaten zusammen mit einem Penicillin oder Cephalosporin vorliegt, kann das Gewichtsverhältnis der vorliegenden Verbindung der Formel III zu Penicillin oder Cephalosporin 10:1 bis 1:10, beispielsweise 3:1 bis 1:3, betragen.

Die pharmazeutischen Präparate vorliegender Erfindung können zur Behandlung von Infektionen unter anderem der

Atemwege, des Harnsystems und der Weichteile beim Menschen eingesetzt werden.

Die pharmazeutischen Präparate gemäss vorliegender Erfindung können auch zur Behandlung von Infektionen von Haustieren, wie zur Behandlung der Rindermastitis, eingesetzt werden. Die Behandlung von bakteriellen Infektionen bei Säugetieren kann durch Verabreichung von erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparaten erfolgen. Am zweckmässigsten werden die Präparate zur Behandlung der Rindermastitis eingesetzt.

In den synergistischen pharmazeutischen Präparaten vorliegender Erfindung liegen Penicilline und Cephalosporine gewöhnlich bis zu ungefähr derjenigen Menge vor, in der üblicherweise Penicillin oder Cephalosporin als einziger Wirkstoff bei der Behandlung von Infektionen eingesetzt wird.

Zweckmässigerweise beträgt das Gewicht der Verbindung der Formel III in einer Einzeldosierung nach vorliegender Erfindung 50 bis 500 mg und noch zweckmässiger 50 bis 250 mg.

Die Gesamtmenge an antibakteriellen Substanzen, die in einem synergistischen pharmazeutischen Präparat nach vorliegender Erfindung vorliegen, wird im allgemeinen nicht mehr als 1500 mg betragen und liegt gewöhnlich zwischen 100 und 1000 mg.

Als Tagesdosis für die Behandlung eines etwa 70 kg schweren Erwachsenen werden gewöhnlich zwischen 500 und 3000 mg der synergistischen pharmazeutischen Präparate nach vorliegender Erfindung verabreicht. Jedoch zur Behandlung von schweren systematischen Infektionen oder von Infektionen besonders hartnäckiger Organismen können in Übereinstimmung mit der klinischen Praxis höhere Dosen verabreicht werden.

Für eine Behandlung von Infektionen werden die synergistischen pharmazeutischen Präparate vorliegender Erfindung gewöhnlich derart angepasst, dass sie einen Blutspiegelhöchstwert von mindestens 0,1 µg/ml, zweckmässigerweise von mindestens 0,25 µg/ml und vorzugsweise von mindestens 1 µg/ml der Verbindung der Formel III hervorrufen.

Besonders vorteilhafte pharmazeutische Präparate nach vorliegender Erfindung enthalten 150 bis 1000 mg Amoxicillin, Ampicillin oder einen in vivo hydrolysierbaren Ester oder deren Aldehyd- oder Ketonaddukte oder deren pharmakologisch verträgliche Salze und 50 bis 500 mg einer Verbindung der Formel III, sowie gegebenenfalls ein pharmakologisch verträgliches Trägermaterial hierfür.

Noch zweckmässiger enthalten die pharmazeutischen Präparate nach vorliegender Erfindung 200 bis 500 mg Amoxicillin oder Ampicillin oder deren Salze sowie 50 bis 250 mg der Verbindung der Formel III.

Am zweckmässigsten enthalten die pharmazeutischen Präparate die Verbindung der Formel III in kristalliner Form.

Die in den pharmazeutischen Präparaten vorliegenden Substanzen können in Hydratform vorliegen. Beispielsweise kann das Ampicillin als Ampicillin-trihydrat und das Amoxicillin als Amoxicillin-trihydrat vorliegen.

Das Gewicht der Antibiotika in derartigen pharmazeutischen Präparaten wird auf der Basis des reinen freien antibiotischen Äquivalents und nicht etwa auf der Basis des Salzes, Esters, Addukts oder Hydrats ausgedrückt.

In die pharmazeutischen Präparate, wie sie für die 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure beschrieben sind, können auch andere Verbindungen vorliegender Erfindung eingearbeitet werden.

Die pharmazeutischen Präparate nach der Erfindung werden vorteilhafterweise unter trockenen Bedingungen formuliert.

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

### Beispiel 1

9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäurebenzylester

Eine gerührte Lösung von 1,156 g Clavulansäurebenzylester und 1,0 g 1-Benzyloxycarbonyl-aziridin in 20 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt. Dann gibt man 0,04 ml Bortrifluorid-Ätherat hinzu und lässt die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 3 Stunden auf Raumtemperatur ansteigen. Dann fügt man im Überschuss Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Man extrahiert die wässrige Phase mit Chloroform und wäscht die vereinigten organischen Lösungen mit Natriumchloridlösung, trocknet sie über wasserfreiem Magnesiumsulfat und dampft sie ein. Die Produkte werden mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Gemischen von Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:2 bis allmählich 1:1 als Eluierungsmittel getrennt. Die Fraktionen, die aufgrund der Dünnschichtchromatographie die gewünschte Verbindung enthalten, werden eingedampft. Man erhält 727 mg des in der Überschrift genannten Benzylesters.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3370, 1805, 1750 und 1710 (breit)  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,94 (1H, d, J=17Hz); 3,2 bis 3,5 (5H, m); 3,98 (2H, d, J=7Hz); 4,71 (1H, breites t, J=7Hz); 4,9 bis 5,3 (6H, zwei ausgeprägte Singulets bei 5,02 und 5,11); 5,57 (1H, d, J=3Hz); 7,26 (10H, s).

Nach dem Umkristallisieren aus einem Gemisch aus Äthylacetat und Cyclohexan erhält man die in der Überschrift genannte Verbindung als weissen Feststoff vom Fp. 62 bis 63°C.

Analyse:

Ber.: C 64,37%; H 5,62%; N 6,01%  
Gef.: C 64,02%; H 5,62%; N 6,20%

IR  $\nu_{\max}$  (Nujol): 3320, 1804, 1738, 1688  $\text{cm}^{-1}$ .

### Beispiel 2

9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 125 mg 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäurebenzylester in 5 ml Tetrahydrofuran und 2,5 ml Wasser werden 30 Minuten in Gegenwart von 40 mg eines 10prozentigen Palladium-auf-Kohle-Katalysators hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wäscht man den Filterkuchen mit wässrigem Tetrahydrofuran. Die vereinigten Filtrate werden auf einem Drehverdampfer eingedampft, bis praktisch das gesamte Tetrahydrofuran entfernt worden ist. Die wässrige Lösung wird dreimal mit Äthylacetat extrahiert, durch Kieselgur filtriert und gefriergetrocknet. Man erhält 35 mg 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure als Feststoff.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1780, 1690 und 1610  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 2,95 bis 3,25 (3H, m); 3,4 bis 3,75 (3H, m); 4,14 (2H, d, J=7Hz); 4,85 (1H, breites t, J=7Hz); 4,93 (1H, s); 5,68 (1H, d, J=3Hz).

### Beispiel 3

9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäurebenzylester in 40 ml Tetrahydrofuran und 20 ml Wasser wird 30 Minuten in Gegenwart von 800 mg eines 10prozentigen Palladium/Kohle-Katalysators hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wird der Filterkuchen mit Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate

werden auf einem Drehverdampfer eingedampft, um den grössten Teil des Tetrahydrofurans wieder zu entfernen. Die wässrige Lösung extrahiert man dreimal mit Äthylacetat und engt sie auf etwa 1 ml auf einem Drehverdampfer ein. Dann fügt man wasserfreies Äthanol hinzu und dampft das Gemisch wiederum auf ein geringes Volumen ein. Man fügt weiteres Äthanol hinzu und verreibt den gummiartigen Niederschlag, um eine Kristallisation hervorzurufen. Dann fügt man weiteres Äthanol langsam hinzu, um die Ausfällung der Verbindung zu vervollständigen. Man filtriert die 9-O-(2-Aminoäthyl)-clavulansäure ab und erhält 362 mg ganz schwachgelber kleiner Prismen, die unter vermindertem Druck über Phosphorpentoxid getrocknet werden.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 3410 (breit), 1790, 1691, 1610 (breit), 1383, 1308, 1190, 1152, 1090, 1040, 1019, 893, 748  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR ( $\delta_{\text{O}}$ ): 1,13 (~1,3H, t,  $J=7,5\text{Hz}$ ); 2,95 bis 3,2 (3H, m); 3,4 bis 3,75 (~3,8H, m); 4,12 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,86 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,92 (1H, s); 5,69 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

(Das Triplett bei  $\delta=1,13$  geht auf die Protonen der Methylgruppe des Äthanol zurück und bildet gleichzeitig einen Teil des Multipletts bei  $\delta=3,4$  bis  $3,75$ , das den Protonen der Methylengruppe des Äthanol zugeschrieben wird.)

#### Beispiel 4

9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 1,156 g Clavulansäure-benzylester und 1 g N-Benzyloxycarbonyl-2,2-dimethyl-aziridin in 20 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt und mit 0,04 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Im Verlauf von 6 Stunden lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Man fügt einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu, trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten Extrakte werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Verbindung wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Äthylacetat im Verhältnis 3:1 bis allmählich 1:1 als Eluierungsmittel isoliert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels erhält man 330 mg 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-1,1-dimethyläthyl)-clavulansäure-benzylester als Öl.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3400, 1805, 1745, 1725  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR ( $\delta_{\text{CDCl}_3}$ ): 1,12 (6H, s); 2,92 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,1 bis 3,4 (3H, m); 3,8 bis 3,95 (2H, m); 4,69 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,99 (1H, s); 5,03 (2H, s); 5,10 (2H, s); 4,9 bis 5,3 (1H, breites s); 5,55 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,25 (10H, s).

#### Beispiel 5

9-O-(2-Amino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 330 mg 9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester in 10 ml Tetrahydrofuran und 5 ml Wasser wird 60 Minuten in Gegenwart von 100 mg eines 10prozentigen Palladium/Kohle-Katalysators hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wird der Filterkuchen mit Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden auf einem Drehverdampfer eingedampft, um den grössten Teil des Tetrahydrofurans zu entfernen. Die wässrige Lösung wird dreimal mit Äthylacetat extrahiert und gefriergetrocknet. Man erhält 153 mg 9-O-(2-Amino-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure als Feststoff.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1780, 1692 und 1600  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR ( $\delta_{\text{D}_2\text{O}}$ ): 1,23 (6H, s); 2,97 (2H, s); 3,02 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,50 (1H, dd,  $J=3$  und  $17\text{Hz}$ ); 4,01 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,81 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,87 (1H, breites s); 5,63 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

#### Beispiel 6

9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 289 mg Clavulansäure-benzylester und 150 mg N-Benzoyl-aziridin in 5 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt und mit 0,01 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Nach 60 Minuten lässt man die Temperatur des Gemisches auf Raumtemperatur ansteigen und fügt einen weiteren Anteil von 0,02 ml Bortrifluorid-ätherat hinzu. Dann rührt man das Reaktionsgemisch 4 Stunden bei Raumtemperatur und behandelt es schliesslich mit einem Überschuss an Natriumbicarbonatlösung. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten Extrakte werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Verbindung wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Äthylacetat im Verhältnis 2:1 bis allmählich 1:1 als Eluierungsmittel isoliert. Nach Abdampfen der Lösungsmittel erhält man 230 mg 9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester als Öl.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3350, 1805, 1750, 1695 und 1650  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR ( $\delta_{\text{CDCl}_3}$ ): 2,95 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,25 bis 3,7 (5H, m); 4,04 (2H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 4,74 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 5,01 (1H, breites s); 5,12 (2H, s); 5,58 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 6,50 (1H, breites s); 7,15 bis 7,45 (8H, m); 7,6 bis 7,8 (2H, m).

#### Beispiel 7

Natriumsalz der 9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 224 mg 9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester in 5 ml Tetrahydrofuran wird 30 Minuten in Gegenwart von 70 mg 10prozentigem Palladium/Kohle-Katalysator hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wäscht man den Filterkuchen mit Tetrahydrofuran. Die Lösung wird mit 5 ml Wasser verdünnt und anschliessend mit einer Lösung von 43 mg Natriumbicarbonat in 3 ml Wasser behandelt. Der grösste Teil des Tetrahydrofurans wird auf einem Drehverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung wird dreimal mit Äthylacetat extrahiert. Die Lösung wird durch Kieselgur filtriert und gefriergetrocknet. Man erhält 123 mg des Natriumsalzes der 9-O-(2-Benzamido-äthyl)-clavulansäure.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1780, 1690 und 1620 (breit)  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR ( $\delta_{\text{D}_2\text{O}}$ ): 2,89 (1H, d,  $J=18\text{Hz}$ ); 3,25 bis 3,7 (5H, m); 4,08 (2H, d,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,84 (1H, breites t,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,84 (1H, s); 5,59 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,3 bis 7,8 (5H, m).

#### Beispiel 8

9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 289 mg Clavulansäure-benzylester und 200 mg N-Benzoyl-2,2-dimethyl-aziridin in 5 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Eisbad gekühlt und mit 0,02 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Nach 60 Minuten lässt man die Temperatur im Verlauf von 2 Stunden auf Raumtemperatur ansteigen. Dann fügt man einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasser-

freiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Verbindung wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Äthylacetat im Verhältnis 2:1 bis allmählich 1:1 als Eluierungsmittel isoliert. Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel erhält man 104 mg 9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester als Öl.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3400, 1805, 1750, 1700 und 1660  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 1,22 (6H, s); 2,86 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,2 bis 3,55 (3H, m); 3,96 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,77 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 5,03 (1H, s); 5,12 (2H, s); 5,4 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 6,47 (1H, breites s); 7,2 bis 7,45 (8H, m); 7,6 bis 7,75 (2H, m).

#### Beispiel 9

Natriumsalz der 9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 104 mg 9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester in 5 ml Tetrahydrofuran werden 20 Minuten in Gegenwart von 30 mg 10prozentigem Palladium/Kohle-Katalysator hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wäscht man den Filterkuchen mit Tetrahydrofuran. Die vereinigten Filtrate werden mit einer Lösung von 18,8 mg Natriumbicarbonat in Wasser behandelt. Anschliessend wird der grösste Teil des Tetrahydrofurans auf einem Drehverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung wird zweimal mit Äthylacetat extrahiert und dann auf einem Drehverdampfer eingedampft. Der Rückstand wird unter vermindertem Druck über Phosphorpentoxid getrocknet. Man erhält 74 mg des Natriumsalzes der 9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure als Feststoff.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1785, 1692 und 1625 (breit)  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{D}_2\text{O})$ : 1,17 (6H, s); 2,77 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,34 (1H, dd,  $J=3$  und  $17\text{Hz}$ ); 3,38 (2H, s); 4,00 (2H, d,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,84 (1H, breites t,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,85 (1H, s); 5,54 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,3 bis 7,8 (5H, m).

#### Beispiel 10

9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 289 mg Clavulansäure-benzylester und 200 mg 1-(N'-Cyclohexyl)-carboxyamido-aziridin in 5 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Eisbad gekühlt und mit 0,01 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Nach 60 Minuten lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 3 Stunden allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Dann fügt man einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu, trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:1 mit ansteigenden Mengen an Äthylacetat bis zu 100% als Eluierungsmittel isoliert. Nach dem Umkristallisieren aus Äthylacetat erhält man 43 mg 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester vom Fp. 153 bis 155°C.

IR  $\nu_{\max}$  (Nujol): 3350, 1805, 1742, 1695, 1630  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 0,8 bis 2,1 (10H, m); 3,0 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,15 bis 3,60 (6H, m); 4,02 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,45 bis 4,85 (3H, m); 5,04 (1H, s); 5,15 (2H, s); 5,63 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,28 (5H, s).

Analyse für  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6$

Ber.: C 63,00%; H 6,83%; N 9,18%  
Gef.: C 62,76%; H 6,54%; N 8,90%

#### Beispiel 11

Natriumsalz der 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure

Eine Lösung von 247 mg 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester in 10 ml Tetrahydrofuran wird 20 Minuten in Gegenwart von 80 mg 10prozentigem Palladium/Kohle-Katalysator hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wäscht man den Filterkuchen mit Tetrahydrofuran. Die vereinigten Filtrate werden mit einer Lösung von 45,4 mg Natriumbicarbonat in Wasser behandelt. Anschliessend entfernt man das Tetrahydrofuran auf einem Drehverdampfer. Die wässrige Lösung wird zweimal mit Äthylacetat extrahiert, durch Kieselgur filtriert und auf einem Drehverdampfer eingedampft. Der Rückstand wird über Phosphorpentoxid getrocknet. Man erhält 170 mg des Natriumsalzes der 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1770, 1695 und 1600 (sehr breit)  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{D}_2\text{O})$ : 0,8 bis 2,0 (10H, m); 3,05 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,1 bis 3,7 (6H, m); 4,09 (2H, d,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,86 (1H, breites t,  $J=8\text{Hz}$ ); 4,92 (1H, s); 5,70 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

#### Beispiel 12

9-O-[2-(N'-Propyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 289 mg Clavulansäure-benzylester und 200 mg 1-(N'-propyl-carboxamido)-aziridin in 5 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Eisbad gekühlt und im Verlauf von 10 Minuten mit 0,05 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Dann lässt man im Verlauf von 2 Stunden die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Man fügt einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Die gewünschte Verbindung wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:1 mit allmählich ansteigendem Gehalt an Äthylacetat bis 100% als Eluierungsmittel isoliert. Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel erhält man 23 mg 9-O-[2-(N'-propyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-benzylester.

IR  $\nu_{\max}$  (Nujol): 3330, 1800, 1740, 1690 und 1615  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 0,89 (3H, t,  $J=7\text{Hz}$ ); 1,48 (2H, Sextett,  $J=7\text{Hz}$ ); 2,85 bis 3,60 (8H, m); 4,01 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,75 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,50 bis 5,0 (2H, breites s); 5,04 (1H, s); 5,15 (2H, s); 5,63 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,28 (5H, s).

#### Beispiel 13

9-O-(2-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester

Eine gerührte Lösung von 486 mg Clavulansäure-methoxymethylester und 500 mg 1-Benzoyloxycarbonyl-aziridin in 10 ml wasserfreiem Methylenchlorid werden in einem Trockeneis/Acetonbad gekühlt und mit 0,02 ml Bortrifluorid-ätherat behandelt. Nach 60 Minuten werden weitere 0,02 ml Bortrifluorid-ätherat hinzugegeben. Nach weiteren 60 Minuten lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen und schüttelt das Reaktionsgemisch mit einem Überschuss an Natriumbicarbonatlösung. Die organische Phase wird abgetrennt, und die wässrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Die gewünschte Verbindung wird mittels

Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:1 als Eluierungsmittel eluiert. Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel erhält man 212 mg 9-O-(2-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester als Öl.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3460, 1805, 1750, 1720 und 1625  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 3,00 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,2 bis 3,6 (8H, m); 4,03 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,81 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,9 bis 5,4 (1H, breites s); 5,64 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,27 (5H, s).

#### Beispiel 14

Lithiumsalz der 9-O-(2-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 181 mg 9-O-(2'-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester in 20 ml Tetrahydrofuran und 20 ml Wasser werden unter Verwendung eines pH-Messers bei pH 9 mittels Lithiumhydroxid hydrolysiert. Nach 48 Minuten wird das Tetrahydrofuran auf einem Drehverdampfer entfernt, und die wässrige Lösung wird dreimal mit Äthylacetat extrahiert. Man dampft die Lösung auf einem Drehverdampfer ein und trocknet den Rückstand über Phosphorpentoxid. Man erhält 102 mg des Lithiumsalzes der 9-O-(2-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure als Feststoff.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1775, 1685 und 1610  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{D}_2\text{O})$ : 2,91 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,1 bis 3,55 (5H, m); 4,00 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,79 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,87 (1H, s); 4,98 (2H, s); 5,61 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ); 7,29 (5H, s).

#### Beispiel 15

9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-methoxymethylester

Zu einer gerührten Lösung von 486 mg Clavulansäure-methoxymethylester in 2 ml wasserfreiem Methylenchlorid werden bei 0°C unabhängig voneinander eine Lösung von 400 mg 1-(N-Cyclohexyl-carboxamido)-aziridin in 4 ml Methylenchlorid und 0,12 ml Bortrifluorid-ätherat bei verhältnismäßig gleichen Geschwindigkeiten im Verlauf von 20 Minuten zugegeben. Nach weiterem 30minütigen Reagierlassen bei 0°C lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen und behandelt anschließend das Reaktionsgemisch mit einem Überschuss an Natriumbicarbonatlösung. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird mit Äther verrieben und über Nacht bei 5°C stehengelassen. Die überstehende Flüssigkeit wird abgossen, und der gummiartige Feststoff wird zuerst mit frischem Äther und dann mit einem Gemisch aus einem Teil Äther und einem Teil Äthylacetat gewaschen. Der erhaltene Feststoff wird aus Äthylacetat umkristallisiert und ergibt 43 mg 9-O-[2-(N'-Cyclohexyl-ureido)-äthyl]-clavulansäure-methoxymethylester.

IR  $\nu_{\max}$  (Nujol): 3320, 1805, 1745, 1693  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 0,8 bis 2,0 (10H, m); 3,00 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,1 bis 3,6 (6H, m); 3,40 (3H, s); 4,01 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,79 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,6 bis 5,1 (2H, breites s); 5,01 (1H, s); 5,18 (1H, d,  $J=6\text{Hz}$ ); 5,28 (1H, d,  $J=6\text{Hz}$ ); 5,62 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

Analyse für  $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7$

Ber.: C 55,46%; H 7,10%; N 10,21%  
Gef.: C 55,46%; H 7,10%; N 10,21%

#### Beispiel 16

9-O-(2-N,N-Dimethyl-ureido-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester

Zu einer gerührten Lösung von 486 mg Clavulansäure-methoxymethylester in 2 ml Methylenchlorid, die in einem Eisbad gekühlt worden ist, werden unabhängig voneinander jedoch anteilsweise in der gleichen Geschwindigkeit 0,12 ml Bortrifluoridätherat und eine Lösung von 400 mg 1-(N,N-Dimethyl-carboxamido)-aziridin in 4 ml Methylenchlorid im Verlauf von 20 Minuten zugegeben. Dann rührt man das Gemisch 90 Minuten bei 0°C und behandelt es mit einem Überschuss an Natriumbicarbonatlösung. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel unter Verwendung von Äthylacetat als Eluierungsmittel isoliert. Ausbeute: 229 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3380, 1805, 1755, 1695 und 1640  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 2,86 (6H, s); 3,04 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,3 bis 3,65 (8H, m); 4,07 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,8 (1H, breites s); 4,84 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 5,05 (1H, s); 5,22 (1H, d,  $J=6\text{Hz}$ ); 5,31 (1H, d,  $J=6\text{Hz}$ ); 5,66 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

#### Beispiel 17

Lithiumsalz der 9-O-(2-N',N'-Dimethyl-ureido-äthyl)-clavulansäure

Eine Lösung von 223 mg 9-O-(2-N',N'-Dimethyl-ureido-äthyl)-clavulansäure-methoxymethylester in 5 ml Tetrahydrofuran wird unter Verwendung eines pH-Messers bei pH 9 in einer wässrigen Lösung von Lithiumhydroxid hydrolysiert. Nach vollständiger Hydrolyse wird das Tetrahydrofuran auf einem Drehverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung wird zweimal mit Äthylacetat extrahiert. Dann wird die Lösung eingedampft und der Rückstand über Phosphorpentoxid getrocknet. Ausbeute: 126 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1780, 1690 und 1620  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{D}_2\text{O})$ : 2,80 (6H, s); 3,03 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,15 bis 3,65 (5H, m); 4,06 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,84 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,89 (1H, s); 5,67 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ ).

#### Beispiel 18

9-O-(2-Benzamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-methylester

Eine gerührte Lösung von 213 mg Clavulansäure-methylester und 175 mg N-Benzoyl-2,2-dimethyl-aziridin in 5 ml Methylenchlorid wird in einem Eisbad gekühlt und mit 0,02 ml Bortrifluoridätherat behandelt. Nach 120 Minuten bei 0°C lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 60 Minuten auf Raumtemperatur ansteigen. Dann fügt man einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel unter Verwendung eines Gemisches von Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:1 mit ansteigenden Mengen Äthylacetat bis zu 100% als Eluierungsmittel isoliert. Ausbeute: 102 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3350, 1802, 1752, 1695, 1655  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 1,25 (6H, s); 2,89 (1H, d,  $J=17\text{Hz}$ ); 3,39 (1H, dd,  $J=3$  und  $17\text{Hz}$ ); 3,45 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 3,73 (3H, s); 4,07 (2H, d,  $J=7\text{Hz}$ ); 4,82 (1H, breites t,  $J=7\text{Hz}$ ); 5,02 (1H, breites

s); 5,58 (1H, d, J=3Hz); 6,55 (1H, breites s); 7,2 bis 7,8 (5H, m).

#### Beispiel 19

9-O-(2-Benzyloxycarbonylamino-äthyl)-clavulansäure-methylester

Eine gerührte Lösung von 852 mg Clavulansäure-methylester und 1 g N-Benzyloxycarbonyl-aziridin in 20 ml Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt und mit 0,04 ml Bortrifluoridätherat behandelt. Dann lässt man im Verlauf von 3 Stunden die Temperatur des Reaktionsgemisches allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Man fügt einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Äthylacetat im Verhältnis 2:1 bis zu einem Verhältnis von 1:1 als Eluierungsmittel isoliert. Ausbeute: 543 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3340, 1805, 1755, 1725, 1715  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,99 (1H, d, J=17Hz); 3,25 bis 3,55 (5H, m); 3,73 (3H, s); 4,03 (2H, d, J=7Hz); 4,78 (1H, breites t, J=7Hz); 5,02 (1H, breites s); 5,05 (2H, s); 5,0 bis 5,2 (1H, breites s); 5,62 (1H, d, J=3Hz); 7,27 (5H, s).

#### Beispiel 20

9-O-(2-Acetamido-1,1-dimethyl-äthyl)-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 578 mg Clavulansäure-benzylester und 250 mg N-Acetyl-2,2-dimethyl-aziridin in 10 ml Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt und mit 0,04 ml Bortrifluoridätherat behandelt. Nach 60 Minuten lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 120 Minuten allmählich auf Raumtemperatur ansteigen. Dann behandelt man das Gemisch mit einem Überschuss an Natriumbicarbonatlösung. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten organischen Lösungen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Äthylacetat im Verhältnis 2:1 bis allmählich 1:1 als Eluierungsmittel isoliert. Ausbeute: 272 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 3320, 1810, 1750, 1665  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,15 (6H, s); 1,95 (3H, s); 3,0 (1H, d, J=17Hz); 3,23 (2H, d, J=6Hz); 3,46 (1H, dd, J=3 und 17Hz); 3,95 (2H, m); 4,74 (1H, breites t, J=7Hz); 5,05 (1H, s); 5,15 (2H, s); 5,64 (1H, d, J=3Hz); 5,8 (1H, sehr breites s); 7,29 (5H, s).

#### Beispiel 21

9-O-(2-Acetamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester

Eine gerührte Lösung von 1,156 g Clavulansäure-benzylester und 500 mg N-Acetyl-aziridin in 20 ml wasserfreiem Methylenchlorid wird in einem Trockeneis/Aceton-Bad gekühlt und mit 0,08 ml Bortrifluoridätherat behandelt. Dann lässt man im Verlauf von 3 Stunden die Temperatur des Reaktionsgemisches auf Raumtemperatur ansteigen. Man fügt einen Überschuss an Natriumbicarbonatlösung hinzu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewa-

schen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Äthylacetat und Cyclohexan im Verhältnis 1:1 mit allmählich ansteigendem Gehalt an Äthylacetat bis 100% als Eluierungsmittel isoliert. Ausbeute: 917 mg. Fp. 83 bis 86°C nach Umkristallisieren aus Äthylacetat/Cyclohexan.

IR  $\nu_{\max}$  (Nujol): 3310, 1805, 1745, 1695 und 1645  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,97 (3H, s); 3,03 (1H, d, J=17Hz); 3,3 bis 3,65 (5H, m); 4,07 (2H, d, J=7Hz); 4,79 (1H, breites t, J=7Hz); 5,10 (1H, s); 5,20 (2H, s); 5,68 (1H, d, J=3Hz); 5,96 (1H, breites s); 7,35 (5H, s).

15 Analyse für  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ :

Ber.: C 60,95%; H 5,92%; N 7,48%  
Gef.: C 60,98%; H 5,87%; N 7,39%

#### Beispiel 22

Natriumsalz der 9-O-(2-Acetamido-äthyl)-clavulansäure  
Eine Lösung von 469 mg 9-O-(2-Acetamido-äthyl)-clavulansäure-benzylester in 15 ml Tetrahydrofuran werden im Verlauf von 20 Minuten in Gegenwart von 150 mg 10prozentigem Palladium/Kohle-Katalysator hydriert. Nach dem Filtrieren der Lösung durch Kieselgur wäscht man den Filterkuchen mit Tetrahydrofuran. Die vereinigten Filtrate werden mit Wasser verdünnt und mit einer Lösung von 105 mg Natriumbicarbonat in Wasser behandelt. Das Tetrahydrofuran wird auf einem Drehverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung wird zweimal mit Äthylacetat extrahiert. Dann wird die wässrige Lösung durch Kieselgur filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird über Phosphorpentoxid getrocknet. Ausbeute: 279 mg.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 1782, 1690, 1620 (breit) und 1552  $\text{cm}^{-1}$ .  
NMR  $\delta$ ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 2,02 (3H, s); 3,13 (1H, d, J=17Hz); 3,25 bis 3,75 (5H, m); 4,17 (2H, d, J=7Hz); 4,92 (1H, breites t, J=7Hz); 4,98 (1H, s); 5,75 (1H, d, J=3Hz).

#### Beispiel 23

Pharmazeutische Präparate

(a) 100 mg sterile 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure können in 1 ml sterilem Wasser für Injektionszwecke nach der britischen Pharmakopöe gelöst werden, um eine Injektionslösung zu liefern. Die erhaltene Lösung kann dann in üblicher Weise in Ampullen eingesiegelt werden.

(b) 84 mg sterile 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure und Natriumamoxycillin (entsprechend 250 mg Amoxycillin) können in 1 ml sterilem Wasser für Injektionszwecke nach der britischen Pharmakopöe gelöst werden, um eine Injektionslösung zu bilden. Die Lösung kann dann in üblicher Weise in Ampullen eingesiegelt werden.

(c) 125 mg 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure können mit 20 mg Lactose und mit Magnesiumstearat vermischt werden. Das Gemisch kann in Gelatine kapseln Nr. 3 abgefüllt werden. Das Präparat kann oral verabreicht werden.

Herstellung der Ausgangsverbindung N-Benzyloxycarbonyl-aziridin

Eine gerührte Lösung von 8,6 g Aziridin in 150 ml Methylenchlorid und 8 g Natriumhydroxid in 50 ml Wasser wird in einem Eisbad gekühlt. Dann fügt man 34,1 g Chlorameisensäure-benzylester in einer solchen Geschwindigkeit hinzu, dass die Temperatur des Reaktionsgemisches 10°C nicht übersteigt. Nach beendeter Zugabe lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 60 Minuten allmählich auf 15°C ansteigen. Die organische Phase wird abge-

trennt, mit Natriumchloridlösung gewaschen und über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Dann wird die Lösung eingedampft und der Rückstand unter vermindertem Druck destilliert. Man erhält 19,1 g N-Benzylloxycarbonylaziridin als Öl vom Kp. 108 bis 112°C bei 66,6 Pa.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 1730  $\text{cm}^{-1}$ .  
 NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 2,21 (4H, s); 5,15 (2H, s); 7,37 (5H, s).

Analyse für  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_2$

Ber.: C 67,78%; H 6,21%; N 7,90%  
 Gef.: C 67,97%; H 6,43%; N 7,90%

Herstellung der Ausgangsverbindung N-Benzylloxycarbonyl-2,2-dimethyl-aziridin

Ein gerührtes Gemisch von 7,1 g 2,2-Dimethyl-aziridin in 75 ml Methylenchlorid und 4,0 g Natriumhydroxid in 25 ml Wasser wird in einem Eisbad gekühlt. Dann tropft man 17,05 Chlorameisensäure-benzylester in einer solchen Geschwindigkeit hinzu, dass die Temperatur des Reaktionsgemisches 10°C nicht übersteigt. Nach beendeter Zugabe lässt man die Temperatur des Reaktionsgemisches im Verlauf von 60 Minuten auf Raumtemperatur ansteigen. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird unter vermindertem Druck destilliert. Man erhält 10,4 g N-Benzylloxycarbonyl-2,2-dimethyl-aziridin als Öl vom Kp. 106 bis 110°C bei 43,32 Pa.

IR  $\nu_{\max}$  (Film): 1730  $\text{cm}^{-1}$ .  
 NMR  $\delta(\text{CDCl}_3)$ : 1,30 (6H, s); 2,15 (2H, s); 5,17 (2H, s); 7,39 (5H, s).

Analyse für  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$

Ber.: C 70,22%; H 7,34%; N 6,82%  
 Gef.: C 70,06%; H 7,64%; N 6,69%

Biologische Versuche

(1) Die Wirksamkeit der 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure kann durch die folgenden Daten veranschaulicht werden:

(a) Mäuse werden mit Escherichia coli JT39 intraperitoneal infiziert. Dann wird in üblicher Weise die Heilwirkung von Amoxicillin allein und in Gegenwart der erfindungsgemässen Verbindung bestimmt und der  $\text{CD}_{50}$ -Wert berechnet. Das Dosischema ist 1 bzw. 5 Stunden nach der Infektion, wenn eine subkutane Verabreichung angewendet wird, und 1, 3 bzw. 5 Stunden nach der Infektion, wenn eine orale Verabreichung erfolgte.

	$\text{CD}_{50}(\text{mg}/\text{kg} \times 2)$
	subkutan
Amoxicillin allein	>1000
Amoxicillin + 2 mg/kg des Synergisten	5 bis 6
Amoxicillin + 1 mg/kg des Synergisten	12
Cefazolin als Kontrollsubstanz	20
	$\text{CD}_{50}(\text{mg}/\text{kg} \times 3)$
	oral
Amoxicillin allein	>1000
Amoxicillin + 20 mg/kg des Synergisten	18,5

(b) Die Blutspiegelwerte der 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure werden bei Mäusen nach einer subkutanen bzw. nach einer oralen Verabreichung bestimmt.

5 Blutspiegelwerte in  $\mu\text{g}/\text{ml}$

Dosis (mg/kg)	Zeit in Minuten					
	10	20	30	45	60	90
20 (subkutan)	15,3	13,8	11,2	8	5,4	2,7
10 (subkutan)	6,0	5,6	5,8	5,1	3,5	2,3

Dosis (mg/kg)	Zeit in Minuten				
	15	30	45	60	90
20 (oral)	4,5	4,4	3,5	1,9	<1

20 (c) Bei einem weiteren Versuch werden 10 mg 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure je kg Körpergewicht und zum Vergleich 10 mg der Verbindung 9-O-(2-Methylamino-äthyl)-clavulansäure je kg Körpergewicht subkutan an Mäuse verabreicht. Dann werden die erhaltenen Blutspiegelwerte 25 bestimmt. Die Ergebnisse als Mittelwerte von jeweils 5 Tieren sind nachstehend angegeben.

	$\mu\text{g}/\text{ml}$ des Synergisten nach Minuten						
	10	20	30	45	60	90	120
30 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure	5,35	3,37	2,38	1,95	(1,13)	(0,45)	(0,24)
35 9-O-(2-Methylamino-äthyl)-clavulansäure	3,11	2,81	1,79	(1,21)	(0,68)	(0,22)	(0,15)

40 (d) Die Wiedergewinnung der 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure im Urin und im Vergleich dazu die Wiedergewinnung der Verbindung 9-O-(2-Methylamino-äthyl)-clavulansäure im Urin werden nach einer subkutanen Verabreichung von jeweils 10 mg je kg Körpergewicht an Mäuse bestimmt. 45 Die erhaltenen Ergebnisse sind nachstehend angegeben. Wiedergewinnung von 9-O-(2-Methylamino-äthyl)-clavulansäure im Urin in %

50 Zeit (Std.)	A	B
0 → 4	24,16	24,40
4 → 24	0,16	0,88
55 insgesamt	24,32	25,28

60 Wiedergewinnung von 9-O-(2-Amino-äthyl)-clavulansäure im Urin in %

65 Zeit (Std.)	A	B
0 → 4	34,15	34,20
4 → 24	0,46	0,50
insgesamt	34,61	34,70

(e) An 4 Gruppen von jeweils 5 Mäusen wird das Lithiumsalz der 9-O-(2-N',N'-Dimethyl-ureido-äthyl)-clavulansäure in einer Dosierung von 20 mg/kg Körpergewicht subkutan verabreicht. Die Wiedergewinnung der Verbindung im Urin bei jeder Gruppe beträgt 40%, 36%, 19% und 27%.

(2) Die synergistische Wirkung einiger Verbindungen vor-

liegender Erfindung auf die antibakterielle Wirksamkeit von Ampicillin in vitro wird bestimmt. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt. Zu Vergleichszwecken sind die Werte für die 9-O-(2-N-Methylamino-äthyl)-clavulansäure mit angegeben. Die Werte in Klammern beziehen sich auf die Hemmung der Verbindung allein.

Verbindung des Beispiels	Konzentration (µg/ml)	Mindesthemmkonzentration vom Ampicillin (µg/ml)	
		<u>Staph. aureus</u> Russell	<u>E. coli JT 39</u>
5	5	0,3	16
	1	1,25	62,5
9	5	0,16	250
	1	0,16	>500
11	5	0,02	8
	1	0,6	125
14	5	(0,08)	16
	1	0,16	62,5
16	5	0,31	1
	1	1,25	2
22	5	0,02	1
	1	0,15	4
7	5	-	8
	1	-	31,2
2	5	-	4
	1	-	8
Vergleichs- verbindung	5	-	8
	1	-	16