

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 144567 B

DIREKTORATET FOR  
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

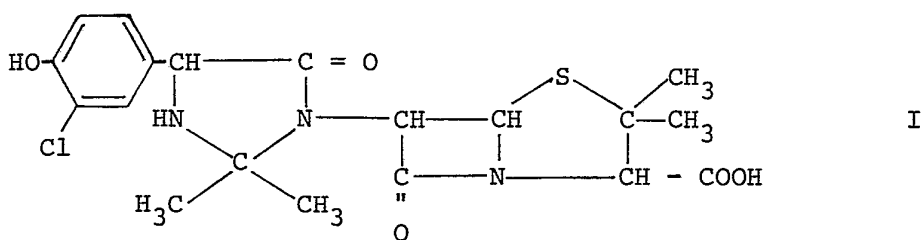
- (21) Ansøgning nr. 1253/75 (51) Int.Cl.<sup>3</sup> C 07 D 499/80  
(22) Indleveringsdag 25. mar. 1975  
(24) Løbedag 30. aug. 1968  
(41) Alm. tilgængelig 25. mar. 1975  
(44) Fremlagt 29. mar. 1982  
(86) International ansøgning nr. -  
(86) International indleveringsdag -  
(85) Videreførelsesdag -  
(62) Stamansøgning nr. 4177/68  
(30) Prioritet 5. sep. 1967, 665291, US
- (71) Ansøger BRISTOL-MYERS COMPANY, New York, US.  
(72) Opfinder Leonard Bruce Crast Jr., US.  
(74) Fuldmægtig Th. Ostenfeld Patentbureau A/S.

- 
- (54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af et racemisk eller optisk aktivt alfa-aminobenzylpenicillin-derivat eller salte deraf.

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af et hidtil ukendt racemisk eller optisk aktivt  $\alpha$ -aminobenzylpenicillinderivat eller salte deraf, hvilke forbindelser kan anvendes som profylaktisk tilskud til animalske foderstoffer, til behandling af mastitis hos kvæg og til terapeutisk behandling af fjerkræ, dyr og mennesker for infektionssygdomme forårsaget af grampositive og gramnegative bakterier.

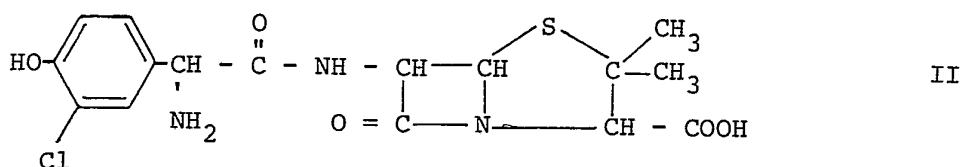
Det hidtil ukendte racemisk eller optisk aktive  $\alpha$ -aminobenzylpenicillinderivat, som fremstilles ifølge opfindelsen, har formlen:

DK 144567 B



eller ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte deraf, og fremgangsmåden er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del anførte.

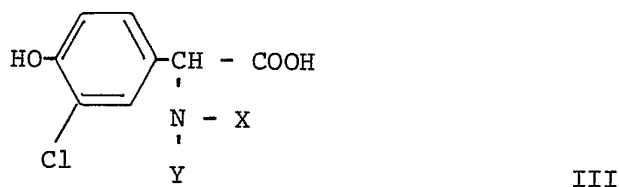
Ifølge en første variant af fremgangsmåden ifølge opfindelsen omsætter man en racemisk eller optisk aktiv forbindelse med formelen II



eller et salt deraf, med acetone ved en pH-værdi på mindst 5.

Til opnåelse af de bedste resultater foretrækkes det, at omsætningen udføres ved en pH-værdi mellem 5 og 9. Endvidere foretrækkes det, at omsætningen udføres ved en temperatur på  $-20^{\circ}\text{C}$  til  $50^{\circ}\text{C}$ , og at omsætningen udføres uden tilstedeværelse af større vandmængder.

Ifølge en anden variant af fremgangsmåden ifølge opfindelsen acylerer man 6-aminopenicillansyre eller et carboxylsurt salt deraf med et racemisk eller optisk aktivt acylerende derivat af en syre med formelen III



hvor -NXY er en beskyttende aminogruppe, i hvilken X betegner hydrogen, og Y betegner en benzyloxycarbonyl- eller 2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-gruppe, eller X og Y tilsammen betegner 2-hydroxy-1-naphthylmethylen-gruppe, i acetone eller en blanding af acetone og et eller flere inerte opløsningsmidler ved en pH-værdi under 5, hvorefter pH-værdien

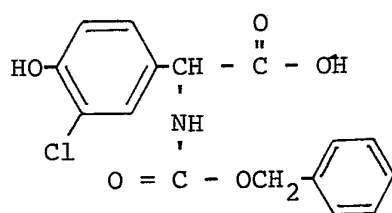
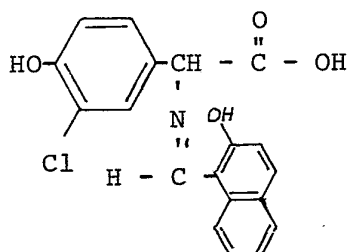
hæves til 5 - 9.

Herved dannes forbindelsen med formel II først og reagerer dernæst in situ, eventuelt efter sædvanlige ekstraktioner og filtreringer, med acetone, når pH-værdien hæves til mellem 5 og 9 (fortrinsvis over 7) til dannelse af forbindelsen med formel I.

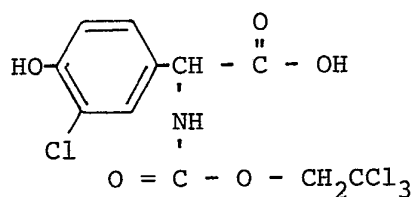
Af nomenklatur-hensyn skal det bemærkes, at D-(-)-isomeren af forbindelsen med formel II benævnes 6-[D-(-)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetamidol]penicillansyre. D-(-)-isomeren af forbindelsen med formel I benævnes 6-[D-(-)-2,2-dimethyl-4-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-5-oxo-1-imidazolidinyl]penicillansyre.

De ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte omfatter f.eks. 1) ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte af den sure carboxylsyregruppe, såsom natrium-, kalium-, calcium-, aluminium- og ammoniumsalte og ikke-toxiske substituerede ammoniumsalte med aminer, såsom tri-lavere alkylaminer, procain, dibenzylamin, N-benzyl- $\beta$ -phenethylamin, l-ephenamin, N,N'-dibenzylethylendiamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis-dehydroabietylethylendiamin, N-lavere alkylpiperidiner, såsom N-ethylpiperidin og andre aminer, der kan anvendes til dannelse af salte af benzylpenicillin, samt 2) ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige syre-additionssalte, (d.v.s. salte af det basiske nitrogen), såsom a) mineralsure additionssalte, såsom hydrochloridet, hydrobromidet, hydroiodidet, sulfatet, sulfamatet, sulfonatet, fosfatet, o.s.v., samt b) de organiske syreadditionssalte, såsom maleatet, acetatet, citratet, tartratet, oxalatet, succinatet, benzoatet, fumaratet, malatet, mandelatet, ascorbatet,  $\beta$ -naphthalensulfonatet, p-toluensulfonatet og tilsvarende forbindelser. Ligeledes indbefattet er let hydrolyserbare estere eller amider af sådanne syrer, der kan omdannes til den frie syreform ved kemisk eller enzymatisk hydrolyse.

Til fremstilling af udgangsmaterialet med formel II kan 6-aminopenicillansyre eller et carboxylsurt salt deraf acyleres med et acylerende derivat af en syre med formel



eller



Acyleringsmidlet forekommer fortrinsvis i form af det blandede syreanhydrid, men dets funktionelle ækvivalent som et acyleringsmiddel for en primær aminogruppe kan også anvendes. Foretrukne blandede syreanhydrider omfatter især de blandede anhydrider fremstillet ud fra stærkere syrer, såsom de lavere alifatiske monoestere af carbon-syre af alkyl- og arylsulfonsyrer og af svagere syrer, såsom diphenyl-eddikesyre. De funktionelle ækvivalenter omfatter de tilsvarende carboxylchlorider, -bromider og syreanhydrider. Yderligere kan anvendes et syreazid eller en aktiv ester eller thioester (f.eks. med p-nitrophenol, 2,4-dinitrophenol, thiophenol eller thioeddikesyre) eller den fri syre kan selv forbindes med 6-aminopenicillansyre efter at den fri syre først er omsat med N,N'-dimethylchlorforminiumchlorid (jfr. engelsk patent nr. 1.008.170 og Novak og Weichet, *Experientia* XXI/6, 360 (1965)) eller ved anvendelse af enzymer eller en N,N'-carbonyldiimidazol eller en N,N'-carbonylditriazol (jfr. sydafrikansk patent nr.

63/2684) eller et carbodiimidreagens (især N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, N,N'-diisopropylcarbodiimid af N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimid; (jfr. Sheehan og Hess, J. Amer. Chem. Soc. 77, 1967 (1955)) eller af et alkynylaminreagens, (jfr. R. Buijle og H.G. Viehe, Angew. Chem., international udgave 3, 582 (1964)) eller af et keteniminreagens, (jfr. C.L. Stevens og M.E. Monk, J. Amer. Chem. Soc., 80, 4065 (1968)) eller af et isoxazoliumsaltreagens, (jfr. R.B. Woodward, R.A. Olofson og H. Mayer, J. Amer. Chem. Soc., 83, 1010, (1961)). Et andet ækvivalent til syrechloridet er et tilsvarende azolid, d.v.s. et amid af den tilsvarende syre, hvis amidnitrogen er et led i en kvasiaromatisk 5-leddet ring indeholdende mindst to nitrogenatomer, d.v.s. imidazol, pyrazol, triazolene, benzimidazol, benzotriazol og disse forbindelsers substituerede derivater. Som eksempel på en almen metode til fremstilling af et azolid skal nævnes omsætningen mellem N,N'-carbonyldiimidazol og en carboxylsyre i ækvimolære forhold ved stuetemperatur i tetrahydrofuran, chloroform, dimethylformamid eller et lignende inaktivt opløsningsmiddel til dannelsen af carboxylsyreimidazolidet i praktisk talt kvantitativt udbytte under frigørelse af carbondioxid og et mol imidazol. Dicarboxylsyrer giver diimidazolidet. Biproduktet imidazol bundfældes og kan isoleres og imidazolidet isoleres, men dette er ikke nødvendigt. Fremgangsmåderne til udførelse af disse reaktioner til fremstilling af penicillin, samt de metoder, der anvendes til isolering af den således fremstillede penicillin, er velkendte.

Efter at acyleringen er tilendebragt, fjernes den beskyttende gruppe til dannelsen af forbindelsen med formlen II. 2-hydroxy-naphthylengruppen kan f.eks. fjernes ved syrehydrolyse; benzyloxycarbonylgruppen kan f.eks. fjernes ved katalytisk hydrogenering, mens 2,2,2-trichloroethoxycarbonylgruppen f.eks. kan fjernes ved behandling med 90% eddikesyre eller med zinkstøv og iseddike. Det er klart for fagfolk, at andre funktionelt ækvivalente beskyttende grupper for en aminogruppe kan anvendes under acyleringen og derefter fjernes på kendt måde.

De inaktive opløsningsmidler, der anvendes ved acyleringen, er kendte for fagfolk og omfatter f.eks. tetrahydrofuran, dimethylformamid, methylenchlorid, diethylether, acetone, chloroform, methylisobutylketon, ethylacetat og diethylethere af ethylenglycol og diethylenglycol. Acyleringstemperaturen må ligge under ca. 0°C og fortrinsvis ved eller under -25°C.

Forbindelsen med formlen I fremstilles som nævnt ifølge opfindelsen ved omsætning mellem acetone og den tilsvarende penicillin med formlen II.

Selv om der forekommer en vis reaktion uanset molforholdet mellem de anvendte reaktionskomponenter, foretrækkes det for at opnå maksimalt udbytte at der anvendes molært overskud af acetone, og at acetone eventuelt anvendes som reaktionsopløsningsmiddel. Vandet fraspaltes under reaktionsforløbet, og det er derfor hensigtsmæssigt, at der ikke er for stor vandmængde i reaktionsmediet. Reaktionsblandingsens pH-værdi bør fortrinsvis ligge mellem ca. 5 og 9, og fortrinsvis på den alkaliske side. pH-værdien kan reguleres indenfor dette område, eventuelt ved tilsætning af et alkalisk materiale, såsom f.eks. natriumhydroxid, natriumcarbonat, kaliumhydroxid, kaliumcarbonat, ammoniumhydroxid, ammoniumcarbonat, organiske aminer (f.eks. triethylamin) og tilsvarende forbindelser. Temperaturen under reaktionsforløbet er ikke af væsentlig betydning. Reaktionen vil foregå på hensigtsmæssig måde ved stuetemperatur og kan eventuelt fremskyndes ved opvarmning.

Det carbonatom, der bærer den fri aminogruppe i forbindelsen med formlen III er et asymmetrisk carbonatom, hvorfor forbindelserne med formlerne I og II kan eksistere i to optisk aktive former (D- og L-diastereoisomerene) samt som en blanding af to optisk aktive former (den racemiske blanding).

De ved den omhandlede fremgangsmåde fremstillede forbindelser er oralt absorberbare og kan anvendes ved behandling af infektionssygdomme forårsaget af gram-positive og gram-negative bakterier.

Fra beskrivelsen til dansk patent nr. 119.163 kendes en række additionsforbindelser mellem  $\alpha$ -aminopenicilliner og carbonylforbindelser, herunder additionsforbindelsen mellem  $\alpha$ -aminobenzylpenicillin og acetone, kaldet hetacillin.

Den antibakterielle aktivitet af den ifølge opfindelsen fremstillede forbindelse 6-[D-(-)-2,2-dimethyl-4-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-5-oxo-1-imidazolidinyl]penicillansyre, kaldet BL-P1453, fremgår af nedenstående tabel, hvor den for en række mikroorganismer er sammenlignet med hetacillin.

TABELAntibakteriel aktivitet

Organisme	MIK ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	BL-P1453	Hetacillin
D. pneumoniae + 5% serum	0,008	0,016
Str. pyogenes	0,004	0,008
S. aureus Smith	0,063	0,032
S. aureus Smith + 50% serum	0,063	0,063
S. aureus 1633-2	63	125
Pr. morgani	500	250
E. coli A 9675	500	125
E. coli Juhl A 15119	2	4
Sal. enteritidis	0,125	0,125
K. pneumoniae A 15130	125	125
K. pneumoniae A 9979	0,5	1,0
Ps. aeruginosa	500	>500

Som det fremgår, udviser den ifølge opfindelsen fremstillede forbindelse forbedrede minimale inhibitoriske koncentrationer (MIK) i forhold til en række mikroorganismer. BL-P1453 er endvidere påvist at have forbedrede  $CD_{50}$ -værdier og blodspejlsværdier i forhold til ampicillin ved oral indgivelse til mus.

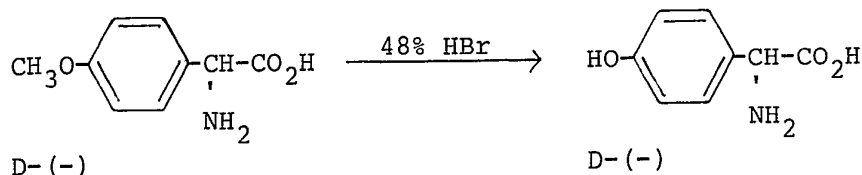
Ved behandlingen af bakterieinfektioner hos mennesker indgives de omhandlede forbindelser oralt eller parenteralt i overensstemmelse med den sædvanlige metode til antibiotisk indgivelse i en mængde mellem ca. 5 og ca. 60 mg/kg/dag, og fortrinsvis ca. 20 mg/kg/dag, i delte doser, f.eks. tre eller fire gange daglig. Forbindelserne kan indgives i enhedsdosisform indeholdende f.eks. 125 eller 250 eller 500 mg aktiv bestanddel i forbindelse med egnet fysiologisk anvendeligt bæremateriale. Enhedsdoserne kan anvendes i form af flydende præparater, såsom opløsninger, dispersioner eller emulsioner eller i fast form, såsom tabletter, kapsler og tilsvarende præparater.

Fremstilling af udgangsmaterialer

D-(-)-(p-hydroxyphenyl)glycin fremstilles efter følgende reaktionsskema:



V



### I. dl-2-(p-methoxyphenyl)glycin

Til en omrørt opløsning af 19,6 g (0,4 mol) af NaCN i 80 ml H<sub>2</sub>O sattes 23,6 g (0,450 mol) NH<sub>4</sub>Cl og 20 ml koncentreret NH<sub>4</sub>OH og derefter 54,5 g (0,4 mol) anisaldehyd i 160 ml methanol, og temperaturen holdtes ved 37°C i 2 timer. Methanolen fjernedes derefter i vakuum, og den tilbageblevne blanding ekstraheredes med to 150 ml portioner methylisobutylketon og forenedes. De forenede ekstrakter udvaskedes en gang med 30 ml H<sub>2</sub>O, og derefter tilsattes 240 ml 6N HCl under omhyggelig omrøring, og methylisobutylketonen fjernedes i vakuum. Den fremkomne opslæmning opvarmedes ved tilbagesvaling (nu i opløsning) i to timer. 100 ml H<sub>2</sub>O sattes til den varme opløsning, hvortil der sattes 8 g affarvende carbon, og efter 10 minutters omhyggelig tilbagesvaling frafiltreredes den resterende mængde carbon, og der udvaskedes med 50 ml varmt vand. De forenede varme filtrater omrørtes og behandledes med koncentreret NH<sub>4</sub>OH, indtil der fremkom en pH-værdi på 5-6 (pH-papir). Opblæmningen afkøledes derefter til 5°C, og efter en times forløb frafiltreredes krystallerne, hvorpå der udvaskedes med to 100 ml portioner vand. Kagen opslæmmedes derefter i 250 ml vand, og 50% NaOH sattes langsomt hertil, indtil produktet var opløst. To 300 ml ether-ekstrakter udtoges og bortkastedes. pH-værdien indstilledes derefter til 5,5 med 6N HCl under afkøling. Efter en times forløb frafiltreredes produktet, udvaskedes med 3 x 100 ml H<sub>2</sub>O og lufttørredes. Udbyttet var 40 g; dekomponeringstemperatur 244°C med sublimation ved 230°C.

### II. dl-2-(p-methoxyphenyl)-N-(chloracetyl)glycin

Til en omrørt suspension af 36 g (0,2 mol) dl-2-(p-methoxyphenyl)-glycin i 500 ml H<sub>2</sub>O sattes 8 g (0,2 mol) NaOH-kugler, og efter at der var fremkommet en klar opløsning, afkøledes denne til 5°C, og under kraftig omrøring tilsattes på en gang 68,2 g (0,4 mol) chloreddikesyreanhydrid (varm). Derefter tilsattes en opløsning af 16 g (0,4 mol) NaOH i 100 ml H<sub>2</sub>O i løbet af 10 - 15 minutter. Der tilsattes yderligere 20% NaOH, således at pH-værdien holdtes på ca. 9 i 1 1/2 time. Derefter indstilledes pH-værdien til 2 med 40% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Produktet udkrystalliserede

des øjeblikkeligt og frafiltreredes, udvaskedes med vand og omkrystalliseredes med en blanding af ethanol og vand til dannelse af 38 g af produktet, der smeltede ved 182-183°C.

Analyse beregnet for  $C_{11}H_{12}ClNO_4$ : C, 51,21; H, 4,69.

Fundet: C, 51,49; H, 4,90.

III. D-(-)-2-(p-methoxyphenyl)-N-(chloracetyl)glycin og L-(+)-2-(p-methoxyphenyl)glycin.

Til 800 ml  $H_2O$  omrørt ved 37°C sattes 38 g (0,148 mol) dl-2-(p-methoxyphenyl)-N-(chloracetyl)glycin og  $NH_4OH$  sattes dråbevis hertil, indtil der var opnået en pH-værdi på 7,8. Til den fremkomne opløsning sattes 2 g svinenyre-acylase, og omrøring fortsattes ved 37°C (indre temperatur) i 21 timer. Faste stoffer, der indeholdt rå L-(+)-2-(p-methoxyphenyl)glycin frafiltreredes og udvaskedes med 2 x 100 ml  $H_2O$  og pH-værdien af de forenede filtrater indstilledes til 4-5 med iseddike. Denne opløsning opvarmedes på dampbad i 30 minutter med 5 g affarvende carbon, hvorpå der filtreredes. Carbonkagen udvaskedes med 50 ml varmt vand, og de forenede filtrater afkøledes og syrnedes til en pH-værdi på 2 med 40%  $H_3PO_4$ . Efter en times afkøling ved 0°C frafiltreredes det krystallinske produkt, og der udvaskedes med koldt vand (3 gange) og lufttørredes. Udbyttet var 16 g. Ved en yderligere udvinding, hvortil der anvendtes fem gange de forud anførte mængder, fremkom der et udbytte på 83 g (87% i udbytte); smeltepunkt 170-171°C.

$$[\alpha]_D^{25^\circ C} \quad -193^\circ C \quad (C=1\% \text{ ethanol})$$

Analyse beregnet for  $C_{11}H_{12}ClNO_4$ : C, 51,21; H, 4,69.

Fundet: C, 51,50; H, 4,99.

Ved behandling af de faste stoffer indeholdende rå L-(+)-2-(p-methoxyphenyl)-N-chloracetylglycin med varm 3N HCl (200 ml) og carbon med påfølgende filtrering og pH indstilling til 5,5 fremkom 6 g (første udvinding) af ren L-(+)-2-(p-methoxyphenyl)glycin.

$$[\alpha]_D^{25^\circ C} \quad +150,4^\circ C \quad (C=1\%, 1N \text{ HCl})$$

IV. D-(-)-2-(p-methoxyphenyl)-glycin

16 g D-(-)-2-(p-methoxyphenyl)-N-chloracetylglycin tilbagesvales i 1 1/2 time i 170 ml 2N HCl. Den fremkomne klare opløsning frafiltreredes og afkøledes ved 5°C, og pH-værdien indstilledes til 5,5 med  $NH_4OH$ . Produktet frafiltreredes efter afkøling i 30 minutter og udvaskedes i 3 x 25 ml koldt vand. Det tørrede materiale D-(-)-2-(p-methoxyphenyl)-glycin vejede 9,5 g. En yderligere udvinding gav 54 g, hvortil anvendtes 83 g udgangsmateriale fra III.

$[\alpha]_{25^{\circ}\text{C}}^{\text{D}}$   $-149,9^{\circ}$  (C=1%, 1N HCl) (første udvinding)

$[\alpha]_{25^{\circ}\text{C}}^{\text{D}}$   $-148,1^{\circ}$  (C=1%, 1N HCl) (anden udvinding)

Analyse beregnet for  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ : C, 59,67; H, 6,13; N, 7,74.

Fundet: C, 59,38; H, 6,16; N, 8,00.

#### V. D-(-)-2-(p-hydroxyphenyl)-glycin

En blanding af 1,81 g (0,01 mol) D-(-)-2-(p-methoxyphenyl)glycin ( $[\alpha]_{25^{\circ}\text{C}}^{\text{D}}$   $-149,9^{\circ}$  C=1%, 1N HCl) og 10 ml 48% HBr opvarmedes under omhyggelig tilbagesvaling i 2 timer. Den fremkomne opløsning koncentreredes ved formindsket tryk ved  $30^{\circ}\text{C}$  til et fugtigt, fast stof. En minimal mængde vand ( $20^{\circ}\text{C}$ ) sættes til opløsningen af HBr-saltet og ovars afkøling tilsattes  $\text{NH}_4\text{OH}$ , indtil den opnåede pH-værdi var 5. Den fremkomne tykke gel, der bundfældedes, opvarmedes til  $50^{\circ}\text{C}$ , og da opløsningen var næsten fuldkommen, begyndte der at bundfælde en forskellig fra tidligere krystallinsk form. Ved afkøling i 30 minutter ved  $0-5^{\circ}\text{C}$  fremkom 990 mg materiale efter udvaskning med koldt vand (3 x 1 ml) og lufttørring, D-(-)-2-(p-hydroxyphenyl)glycin.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25^{\circ}\text{C}}$   $-161,2^{\circ}$  (C=1%, 1N HCl) dek. pt.  $223^{\circ}\text{C}$ .

Et yderligere udbytte fremkom ved anvendelse af 20 x den ovenfor anførte mængde med ialt 24,5 g af stoffet.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25^{\circ}\text{C}}$   $-153^{\circ}$  (C=1% 1N HCl)

Analyse beregnet for  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ : C, 57,49; H, 5,43; N, 8,39.

Fundet: C, 57,41; H, 5,67; N, 8,39.

#### VI. D-(-)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)glycin

Til en omrørt suspension af 5,01 g (0,03 mol) D-(-)-2-(p-hydroxyphenyl)glycin i 100 ml iseddike bobledes gasformig HCl med stor hastighed ca. 5 minutter. Der fremkom først en klar opløsning, hvorefter det saltsure salt udkrystalliseredes. Derefter tilsattes 4,45 g (0,033 mol) sulfurylchlorid (frisk destilleret) i 25 ml iseddike under omrøring i løbet af 30 minutter; tilsætningen var dråbevis. Temperaturen var under tilsætningen  $26-27^{\circ}\text{C}$ . Efter en times omrøring tilsattes langsomt 250 ml tør ether, og udkrystallisationen begyndte. Efter 15 minutters forløb frafiltreredes produktet, hvorpå der udvaskedes med tør ether og lufttørredes. De fremkomne 7 g opløstes i 50 ml 1N HCl, filtreredes, og pH-værdien indstilledes under afkøling til pH-værdien 5 med koncentreret  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Det fremkomne krystallinske produkt frafiltreredes efter 5 minutters henstand, udvaskedes med to 20 ml portioner vand og 5 x med acetone. Det vakuum-tørrede materiale vejede 4,6 g; dekomponeringspunkt  $217^{\circ}\text{C}$  (skarpt). Det infrarøde og det kernemagneti-

ske resonansspektrum svarede til den ønskede struktur.

$$[\alpha]_{22}^D \quad -137,1^\circ \quad (C=1\%, 1N HCl)$$

Analyse beregnet for  $C_8H_8ClNO_3$ : C, 47,76; H, 4,01; Cl, 17,66.

Fundet: C, 47,16; H, 3,92; Cl, 17,96.

VII. Natrium[D-(-)-N-(2-hydroxy-1-naphthylmetylen)]- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-acetat

Til en omrørt opløsning af 8 g (0,04 mol) af D-(-)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-glycin, 25 ml  $H_2O$ , 10 ml ethanol og 1,6 g (0,04 mol) natriumhydroxid sættes på en gang en varm opløsning af 7,57 g (0,044 mol) 2-hydroxy-1-naphthalaldehyd i 40 ml 95% ethanol. Blandingen opvarmedes, indtil det til at begynde med fremkomne bundfald var genopløst, hvorpå det hurtigt afkøledes ved ca.  $5^\circ C$  og skrabadet. Efter afkøling i en time på isbad frafiltreredes det krystallinske produkt, hvorpå det lufttørredes. Det klare, gule produkt omkrystalliseredes med en blanding af ethanol og vand i forholdet 8:2 til dannelse af 10,1 g vakuum-tørret produkt. Det infrarøde og det kernemagnetiske resonansspektrum svarede til den ønskede struktur.

Analyse beregnet for  $C_{19}H_{13}ClNO_4Na$ : C, 60,37; H, 3,47.

Fundet: C, 60,66; H, 3,72.

VIIIa. 6-[D-(-)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetamido]-penicillansyre

En suspension af 3,78 g (0,01 mol) natrium[D-(-)-N-(2-hydroxy-1-naphthylmetylen)]- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetat i en blanding af 95 ml acetone, 5 ml p-dioxan og 3 dråber pyridin afkøledes til  $-10^\circ C$ . Til denne afkølede og omrørte suspension sættes 1,08 g (0,01 mol) ethylchlorformiat. Efter omrøring ved  $-10^\circ C$  i 25 minutter, afkøledes blandingen til  $-35^\circ C$  og filtreredes til fjernelse af bundfældet natriumchlorid. Det filtrerede, blandede anhydrid omrørtes ved  $-10^\circ C$ , og der tilsattes i en portion ved  $0^\circ C$  en opløsning af 2,16 g (0,01 mol) 6-aminopenicillansyre og 1,68 g (0,02 mol)  $NaHCO_3$  i 50 ml vand; i flere minutter udvikledes kraftig carbondioxid. Temperaturen holdtes ved eller under  $-10^\circ C$  i 30 minutter og steg derefter til stuetemperatur i løbet af 35 minutter. Til reaktionsblandingen sættes 60 ml vand, og acetonen fjernedes i vakuum ved  $20^\circ C$ . Det vandige lag ekstraheredes med to 150 ml diethylether, og etherlagene bortkastedes. Det vandige lag indstilledes til en pH-værdi på 2 med 6N HCl under til-

sætning af en tilstrækkelig mængde acetone til at opløsningen bibeholdtes. Efter henstand i 30 minutter ved stuetemperatur ekstraheredes blandingen med to 250 ml portioner ether, og etherlagene bortkastedes. Det vandige lags pH-værdi indstilledes til 4,7 med 20% NaOH og koncentreredes derefter i vakuum ved 20°C til et volumen på 25 ml. Efter filtrering til fjernelse af en ringe mængde uopløseligt stof inddampedes den vandige opløsning til tørhed ved 20°C i vakuum.

VIIIb. 6-[D-(-)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)acetamido]-penicillansyre

Til en omrørt suspension af 6,05 g (0,03 mol) D-(-)-2-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)glycin i 110 ml vand ved 25°C sattes 1,2 g (0,03 mol) natriumhydroxid-kugler. Der fremkom herved en klar opløsning. Opløsningen afkøledes til 0°C og omrørtes, og 2,4 g (0,06 mol) NaOH-kugler tilsattes. Efter fuldstændig opløsning tilsattes i en portion under kraftig omrøring 13,6 g (0,08 mol) carbobenzoyloxychlorid. Efter omrøring i 30 minutter ved 0-5°C var pH-værdien 7 og nogle få dråber af 50% vandig NaOH tilsattes for at holde pH-værdien omkring 8-9 under yderligere 30 minutters omrøring. Den tilsatte 300 ml vand og den fremkomne opslæmning ekstraheredes med 500 ml diethylether. Etherlaget bortkastedes, og den vandige fase (og tørstofferne) syrnedes til en pH-værdi på 2 med 6N HCl og ekstraheredes med tre 300 ml portioner ethylacetat. De forenede ethylacetatlag udvaskedes med to 100 ml portioner vand, to 250 ml portioner mættet Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-opløsning og filtreredes. Filtratet koncentreredes i vakuum til dannelse af D-(-)- $\alpha$ -benzyloxycarbonyl-amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)eddikesyre i form af en olie, der langsomt udkrystalliseredes.

0,03 mol D-(-)- $\alpha$ -benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)eddikesyre opløstes i 15 ml dimethylformamid og 4 dråber 2,6-lutidin tilsattes. Opløsningen afkøledes til 0°C i isbad og omrørtes, og 3,24 g (0,03 mol) ethylchlorformiat tilsattes i løbet af 5 minutter. Efter omrøring i 15 minutter tilsattes en opløsning af 6,5 g (0,03 mol) 6-aminopenicillansyre i 10 ml vand og 2 ml 2,6-lutidin. Opløsningen omrørtes på isbad i 20 minutter, og pH-værdien indstilledes til 2 med fortyndet H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, og blandingen ekstraheredes med to 25 ml portioner ether. De forenede etherlag udvaskedes med vand og ekstraheredes derefter med

30 ml fortyndet  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Den vandige  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -ekstrakt (pH 7,5) udrystedes med 1 g 30% palladium-på-celite i 20 minutter i hydrogenatmosfære ved tryk på  $3,5 \text{ kg/cm}^2$ . Suspensionens volumen fordobledes med vand og pH-værdien indstilledes til 2 med fortyndet  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Katalysatoren fjernes ved filtrering, og filtratet ekstraheres med to 15 ml portioner methylisobutylketon og 1 g aerosol O.T.. Ekstrakten neutraliseres til 4,5 ved tilsætning af triethylamin og det amorf, faste stof, der dannes, udvandes ved filtrering, udvaskedes med vand og tørres i vakuum over  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere i de følgende eksempler.

#### Eksempel 1

6-D-(-)-2,2-dimethyl-4-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-5-oxo-2-(H)-1-imidazolidinyl penicillansyre

En opløsning af 6-[D-(-)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)aceta- midol]penicillansyre (0,01 mol) opløstes i en blanding af 100 ml methanol og 1,5 ml triethylamin. Der tilsattes 100 ml acetone, og opløsningen omrørtes i 5 timer. Derpå inddampedes opløsningen til en olie ved  $20^\circ\text{C}$  i vakuum. 25 ml vand og 50 ml ethylacetat sættes til olien, og pH-værdien indstilledes på 3 med 40%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Det vandige lag mættedes med NaCl, og blandingen omrystedes. Ethylacetatlaget tørres over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  og koncentreret i vakuum ved  $20^\circ\text{C}$  til et ringe volumen. Det krystallinske produkt fjernes ved filtrering, udvaskedes med vandig acetone og tørres. Produktet, 6-D-(-)-2,2-dimethyl-4-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-5-oxo-2(H)-1-imidazolidinyl penicillansyre, dekomponerede ved  $182^\circ\text{C}$ . Stoffet inhiberede Salmonella enteritidis ved en koncentration på  $0,125 \text{ } \mu\text{g/ml}$ , Escherichia coli Juhl ved en koncentration på  $2 \text{ } \mu\text{g/ml}$ , Streptococcus pyogenes ved en koncentration på  $0,004 \text{ } \mu\text{g/ml}$  og Staphylococcus aureus Smith ved en koncentration på  $0,063 \text{ } \mu\text{g/ml}$ .

#### Eksempel 2

6-D-(-)-2,2-dimethyl-4-(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-5-oxo-2(H)-1-imidazolidinyl penicillansyre

Til en omrørt og afkølet ( $-10^\circ\text{C}$ ) suspension af 3,78 g (0,01 mol) natrium D-(-)-N-(2-hydroxy-1-naphthylmethylen)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -(3-chlor-4-hydroxyphenyl)-acetat i 100 ml acetone, 5 ml p-dioxan og 3 dråber pyridin sættes 1,08 g (0,01 mol) ethylchlorformiat. Blandingen omrør-

tes ved  $-10^{\circ}\text{C}$  i 30 minutter og afkøledes derefter til  $-40^{\circ}\text{C}$  og filtreredes til fjernelse af bundfældet natriumchlorid. Til dette filtrat af det blandede anhydrid, kraftigt omrørt ved  $-15^{\circ}\text{C}$ , sattes på én gang en for-kølet ( $0^{\circ}\text{C}$ ) opløsning af 2,16 g (0,01 mol) 6-aminopenicillansyre, 1,68 g (0,02 mol)  $\text{NaHCO}_3$  i 50 ml vand. Der forekom en kraftig  $\text{CO}_2$ -udvikling i ca. 5 minutter. Temperaturen holdtes ved eller under  $-10^{\circ}\text{C}$  i 20 minutter og hævedes derefter til stuetemperatur i løbet af 30 minutter. Til denne opløsning sattes 50 ml vand, og acetonen fjernedes under formindsket tryk ved  $20^{\circ}\text{C}$ . To 200 ml ether-ekstrakter udtoges og bortkastedes. Det vandige lag indstilledes til en pH-værdi på 2 med 6N HCl under anvendelse af tilstrækkelig acetone til at holde alt materiale i opløsning. Denne opløsning henstod i 30 minutter ved  $22^{\circ}\text{C}$ , hvorpå to 300 ml etherekstrakter udtoges og bortkastedes. pH-værdien indstilledes dernæst på 4,7 med 30% NaOH og koncentreredes under formindsket tryk til et volumen på 25 ml ved  $20^{\circ}\text{C}$ . En ringe mængde uopløseligt stof frafiltreredes, og 25 ml acetone sattes til filtratet. pH-værdien indstilledes på 8,8 med 20% NaOH, og efter 3 timers forløb indstilledes pH-værdien på 3 med 40%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , og to 100 ml ethylacetatekstrakter udtoges. De forenede ethylacetatekstrakter udvaskedes en gang med 20 ml  $\text{H}_2\text{O}$  og filtreredes derefter og koncentreredes under formindsket tryk ved  $15^{\circ}\text{C}$  til et volumen på ca. 20 ml. Det krystallinske produkt frafiltreredes og opslæmmedes i 10 ml acetone-vand (volumenforhold 1:1) i 10 minutter og filtreredes igen.

Udbyttet var 280 mg af titelforbindelsen, der dekomponerede ved  $182^{\circ}\text{C}$  og havde et infrarødt og kernemagnetisk resonansspektrum svarende til den antagne struktur.

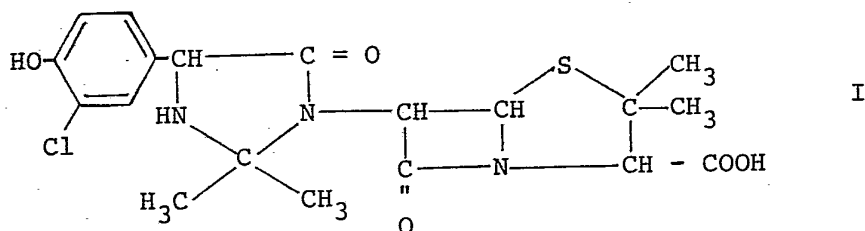
Analyse beregnet for  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_5$ : C, 51,82; H, 5,04.

Fundet: C, 48,39; H, 5,28.

Dette produkt viste sig at inhibere *Staphylococcus aureus* Smith ved en koncentration på 0,063  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , *Streptococcus pyogenes* ved en koncentration på 0,004  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , *Staphylococcus aureus* BX-1633-2 (en benzylpenicillin resistent stamme) ved en koncentration på 63  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , *Escherichia coli* Juhl ved en koncentration på 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , *Salmonella enteritidis* ved en koncentration på 0,125  $\mu\text{g}/\text{ml}$  og *Diplococcus pneumoniae* ved en koncentration på 0,008  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , og efter oral indgivelse hos mus at have en  $\text{CD}_{50}$ -værdi overfor *Staphylococcus aureus* Smith på 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

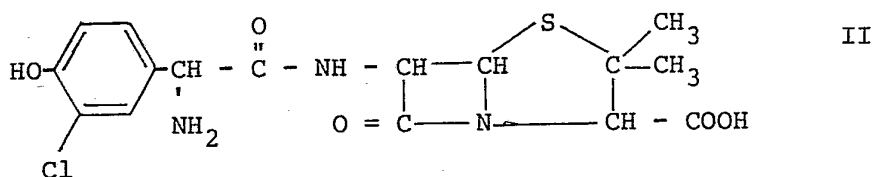
P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåde til fremstilling af en racemisk eller optisk aktiv forbindelse med formlen



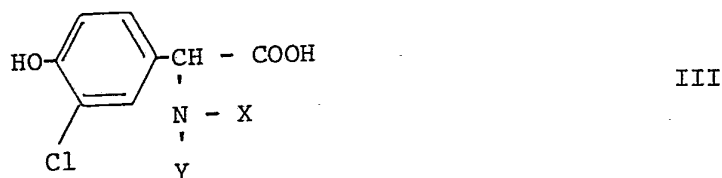
eller ikke-toxiske, farmaceutisk anvendelige salte deraf, k e n d e t e g n e t ved, at man

a) omsætter en racemisk eller optisk aktiv forbindelse med formlen II



eller et salt deraf, med acetone ved en pH-værdi på mindst 5, eller

b) acylerer 6-aminopenicillansyre eller et carboxylsurt salt deraf, med et racemisk eller optisk aktivt acylerende derivat af en syre med formlen III



hvor -NXY er en beskyttet aminogruppe, i hvilken X betegner hydrogen, og Y betegner en benzyloxycarbonyl- eller 2,2,2-trichlorethoxycarbonylgruppe, eller X og Y tilsammen betegner en 2-hydroxy-1-naph-

thyl-methylengruppe, i acetone eller en blanding af acetone og ét eller flere inerte opløsningsmidler, ved en pH-værdi under 5, hvorefter pH-værdien hæves til 5-9, og at man om ønsket omdanner en fremstillet forbindelse med formel I til et ikke-toxisk, farmaceutisk anvendeligt salt deraf.

Fremdragne publikationer:

DK patentansøgning nr. 342/64 (patent nr. 119163)  
US patent nr. 3192198.