

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGESESSKRIFT

(11) 162717 B

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 0218/81

(51) Int.Cl.5 C 07 D 499/86

(22) Indleveringsdag: 19 jan 1981

(41) Alm. tilgængelig: 22 jul 1981

(44) Fremlagt: 02 dec 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 21 jan 1980 US 113894 11 dec 1980 US 214831 11 dec 1980 US 214833

(71) Ansøger: *Bristol-Myers Squibb Company; 345 Park Avenue; New York; N.Y. 10022, US

(72) Opfinder: William J. *Gottstein; US

(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

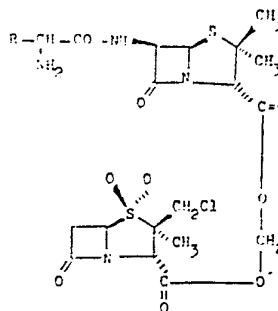
(54) Fremgangsmåde til fremstilling af 2beta-chlormethyl-2alpha-methylpenam-3alpha-carboxylsulfon samt salte og estere deraf

(56) Fremdragne publikationer

DK freml.skrift nr. 155740

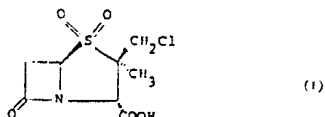
(57) Sammendrag

antibakterielle aktivitet af β -lactam-antibiotika ved kombination dermed herunder som estere med formien

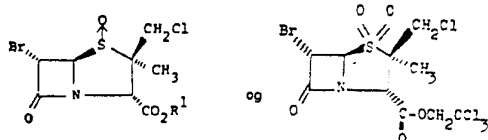


218-81

2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylsyre-sulfon med formien



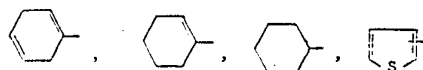
salte og estere deraf fremstilles ved hjælp af forskellige fremgangs-måder, bl.a. under anvendelse af nye mellemprodukter med formlerne



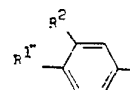
hvori R¹ er benzyl, substitueret benzyl eller -CH₂CCl₃.

Slutprodukterne (1) inhiberer β -lactamaser og forbedrer den

hvori R betegner



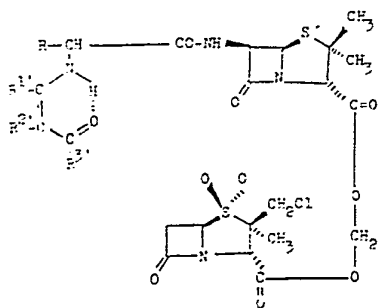
eller



hvori R¹ betegner hydrogen eller hydroxy, og R² betegner hydrogen, hydroxy, methyl, methoxy eller chlor. Disse estere fremstilles ved, at man med syre behandler en opløsning af en forbindelse med formien

fortsættes

218-b1



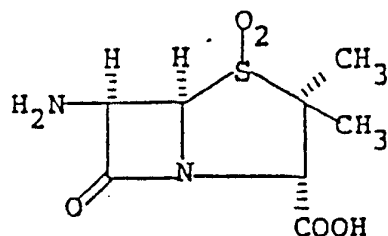
hvor R har den ovenfor anførte betydning, og R^1 betegner alkyl, aralkyl eller aryl, R^2 betegner hydrogen, alkyl, aralkyl eller aryl, og R^3 betegner alkyl, aralkyl, aryl, alkoxy, aralkoxy eller aryloxy eller



hvor R^4 og R^5 hver for sig betegner hydrogen, alkyl, aralkyl eller aryl, eller tilsammen med nitrogenatomet danner piperidino eller morpholino, hvilken syrebehandling udføres i et organisk opløsningsmiddel eller i vandig eller delvis vandig opløsning ved stuetemperatur.

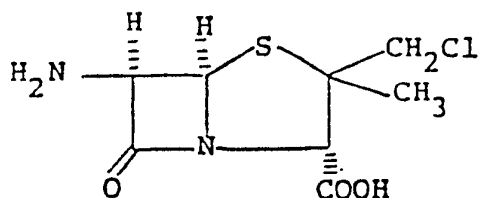
Den foreliggende opfindelse vedrører en fremgangsmåde til fremstilling af 2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylsyre-sulfon, et farmaceutisk acceptabelt salt eller en let hydrolyserbar ester deraf. De ved omhandlede fremgangsmåde opnåede produkter er værdifulde som inhibitorer af β -lactamaser.

Den formodede sammenhæng mellem den resistens, som udvises af visse bakterier over for β -lactam-antibiotika og sådanne bakteriers evne til at producere β -lactamaser, har ført til en intensiv søgning efter β -lactamase-inhibitorer. Clavulansyre er et eksempel på en sådan forbindelse, der for tiden studeres grundigt. En anden β -lactamase-inhibitor har på syreformen strukturen



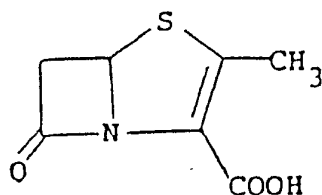
og er omhandlet i europæisk patentansøgning 2927 offentliggjort 11. juli 1979.

Forbindelsen med strukturen



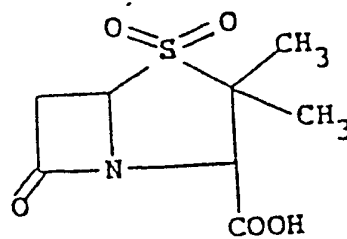
er omhandlet i USA patentskrifter 4.036.847, 4.009.159, 3.993.646, 3.989.685 og 3.954.732.

USA patentskrift nr. 4.155.912 beskriver 2-penam-3-carboxylsyreforbindelser med formlen



og estere og salte, se også Farmdoc Abstracts 82090A, 10336B og 443337B.
Forbindelsen (under nummeret CP-45899) med strukturen

5



10 er en irreversibelt virkende β -lactamase-inhibitor med fremragende
opløsningsstabilitet. Den har svag antibakteriel aktivitet og potenti-
erer in vitro og in vivo aktiviteterne af ampicillin over for β -lacta-
mase-producerende stammer [A.R. English et al., Antimicrobial Agents and
Chemotherapy, 14, 414-419 (1978), Aswapokee et al., J. Antibiotics
15 31(12), 1238-1244 (dec. 1978) og Derwent's Farmdoc Abstracts 89627A og
73866B].

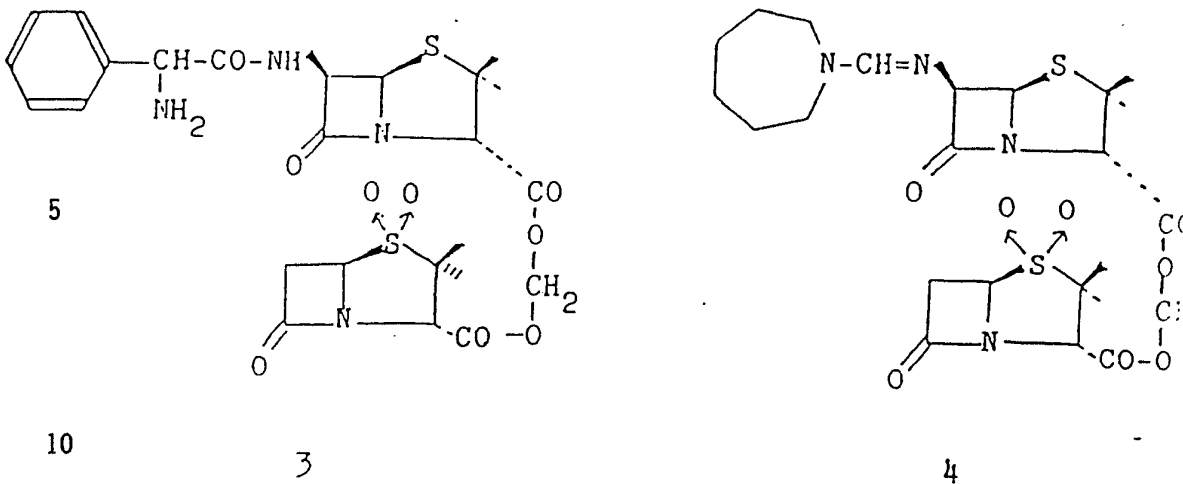
B. Baltzer et al. har i Mutual Pro-Drugs of β -Lactam Antibiotics
and β -Lactamase Inhibitors, J. Antibiotics, 33(10), 1183-1192 (1980)
beskrevet, at princippet i at kombinere et β -lactam antibiotika med en
20 β -lactamase-inhibitor i et enkelt molekyle, der virker som pro-lægemi-
del for de to aktive komponenter, illustreres af de bundne estere 3 og
4, hvori henholdsvis ampicillin og mecillinam er kombineret med β -lacta-
mase-inhibitor penicillan-sulfonen. Det er påvist, at disse estere i
mennesker absorberes fremragende fra mave-tarmkanalen og efter absorp-
25 tion hydrolyseres under samtidig frigørelse af de aktive komponenter.
Som resultat heraf opnås høje blodspejls- og vævsværdier af antibiotikum
og β -lactamase-inhibitor i et afbalanceret forhold. Fordelene ved "gen-
sidige pro-lægemidler" i forhold til simple kombinationer er diskuteret.

De der omtalte estere 3 og 4 har strukturerne

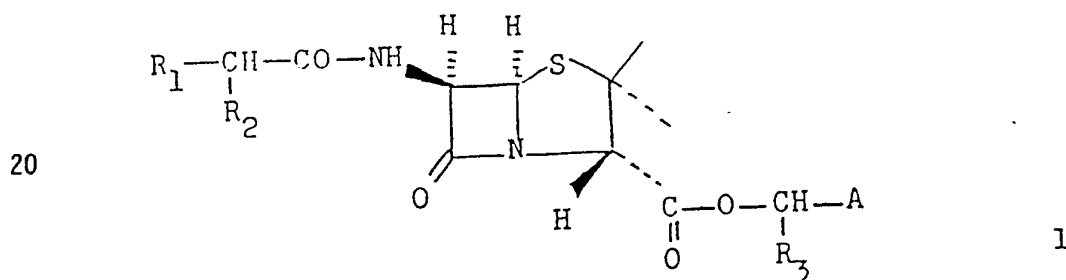
30

35

3



I GB patentskrift 2044255 offentliggjort 15. oktober 1980 anføres det, at den der angivne opfindelse vedrører hidtil ukendte forbindelser med den almene formel 1:



hvor R_1 betegner en phenyl-, 4-hydroxyphenyl-, 1,4-cyclohexadienyl- eller en 3-thienylgruppe, R_2 betegner en primær amino- eller en carboxygruppe, R_3 betegner et hydrogenatom eller et lavere alkyl-, aryl- eller aralkylradikal, og A betegner et radikal af en β -lactamase-inhibitor indeholdende såvel en β -lactamring som en carboxygruppe, og hvor A er bundet via carboxygruppen.

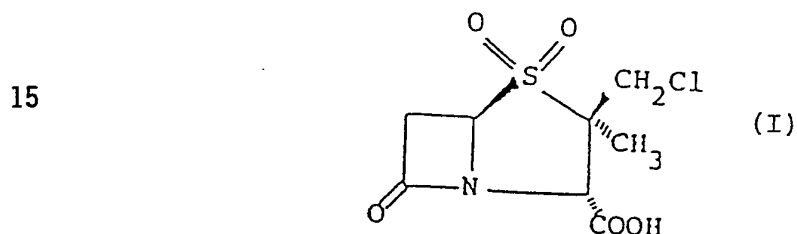
Disse nye forbindelser er værdifulde til behandling af bakterielle infektioner og er især stærkt aktive over for β -lactamase-producerende bakterier. Se også Farmdoc Abstracts 60773C og 60776C.

Fra DK-B-155.740, referenceeksempel 1 er det ved hydrolyse af 1-benzyl-6,6-dibrompenicillanat-1 α -oxid kendt at fremstille penicillansyre-1 α -oxid. Det vil imidlertid ikke på grundlag af denne kendte teknik kunne forventes, at katalytisk hydrogenering af et (substitueret)benzyl-2 β -chlormethyl-2 α -methyl-6 α -brompenam-3 α -carboxylat-1-oxid og efterfølgende oxidation af det opnåede hydrogenerede produkt frembringer den

ønskede 2β -chlormethyl- 2α -methyl-penam- 3α -carboxylsyresulfon med korrekt stereokemisk konfiguration. Udgangsmaterialet omhandlet DK-B-155.740 indeholder en stabil CH_3 -gruppe i ringens 2-stilling, medens udgangsmaterialet ifølge den foreliggende opfindelse indeholder en ekstremt labil og følsom $-\text{CH}_2\text{-Cl}$ -gruppe i 2-stillingen, en gruppe som overraskende og uventet overlever både hydrogenolyse og oxidation.

5 Fordelen ved at opnå forbindelsen med den rigtige stereokemi er, at man derved bibringer molekylet overlegne β -lactamaseinhibitoriske egenskaber.

10 Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse til fremstilling af 2β -chlormethyl- 2α -methylpenam- 3α -carboxylsyresulfon med formlen

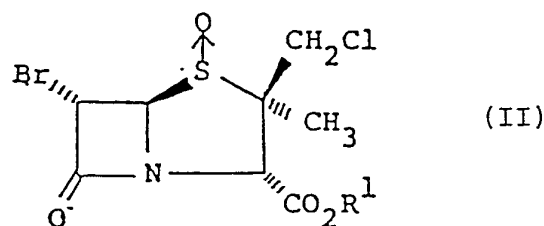


20

et farmaceutisk acceptabelt salt af syren eller en let hydrolyserbar ester af syren, er ejendommelig ved, at man i rækkefølge

a) katalytisk hydrogenerer, f.eks. med en ædelmetalkatalysator, såsom palladium, en ester med formlen

25



30

hvor R^1 betegner benzyl eller substitueret benzyl, og dernæst

b) underkaster det hydrogenerede produkt oxidation til fremstilling af den ønskede syre eller et salt deraf, og dernæst om ønsket

35 c) esterificerer syren eller et salt deraf til dannelse af en let hydrolyserbar ester af syren.

De ovenfor nævnte farmaceutisk acceptable salte omfatter non-toxiske metalsalte, såsom natrium-, kalium-, calcium- og magnesiumsalte,

toxiske aminer, såsom trialkylaminer (f.eks. triethylamin), procain, di-
benzylamin, N-benzyl- β -phenethylamin, 1-ephrenamin, N,N'-dibenzylethylen-
diamin, dehydroabietylamin, N,N'-bis(dehydroabietyl)ethylen-diamin, N-
(lavere)alkylpiperidin (f.eks. N-ethylpiperidin) og andre aminer, der
5 har været anvendt til at danne farmaceutisk acceptable salte af penicil-
liner og cephalosporiner. De mest foretrukne salte er alkalimetsal-
tene, nemlig natrium- og kaliumsaltene samt ammoniumsaltet.

Udtrykket "fysiologisk hydrolyserbare estere" refererer her til så-
danne farmaceutisk acceptable estere, som, det vides, hydrolyserer til
10 den frie syreform in vivo. Eksempler på egnede fysiologisk hydrolyser-
bare estere omfatter, phenacyl, acetoxymethyl, pivaloyloxymethyl, α -acet-
oxyethyl, α -acetoxymethyl, α -pivaloyloxyethyl, phthalidyl(3-phthalidyl),
indanyl(5-indanyl), methoxymethyl, benzoyloxymethyl, α -ethylbutyryloxy-
methyl, propionylloxymethyl, valeryloxymethyl, isobutyryloxymethyl, 6-
15 [(R)-2-amino-2-phenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo-
[3,2,0]heptan-2-carbonyloxymethyl og 6-[(R)-2-amino-2-p-hydroxyphenyl-
acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]-heptan-2-
carbonyloxymethyl. De foretrukne estere er acetoxymethyl, pivaloyloxy-
methyl, methoxymethyl, phthalidyl, 5-indanyl; 6-[(R)-2-amino-2-phenyl-
20 acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-
-carbonyloxymethyl og 6-[(R)-2-amino-2-p-hydroxyphenylacetamido]-3,3-
dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-carbonyloxymethyl.

Der kan anvendes mange forskellige oxidanter, som kendes til
oxidation af sulfider til sulfoner. Særligt hensigtsmæssige reagenser er
25 imidlertid alkalimetallpermanganater, f.eks. kaliumpermanganat, og orga-
nisk persyre, f.eks. 3-chlorperbenzoesyre.

Særligt værdifulde beskyttende grupper for R¹ er benzylgruppen og
substituerede benzylgrupper, især 4-nitrobenzyl. Benzyl og substituerede
benzylgrupper kan fjernes bekvemt ved katalytisk hydrogenering. I dette
30 tilfælde omrøres eller rystes en opløsning i et inert opløsningsmiddel
af forbindelsen med formlen A, hvori R¹ betegner benzyl eller substitue-
ret benzyl, under en atmosfære af hydrogen eller hydrogen blandet med et
inert fortyndingsmiddel, såsom nitrogen eller argon, i nærværelse af en
katalytisk mængde af en hydrogeneringskatalysator. Egnede opløsningsmid-
35 ler til denne hydrogenering er lavere alkanoler, såsom methanol, ether,
såsom tetrahydrofuran og dioxan, lavmolekylære estere, såsom ethylacetat
og butylacetat, vand, og blandinger af disse opløsningsmidler. Det er
imidlertid normalt at vælge betingelser, under hvilke udgangsmaterialet

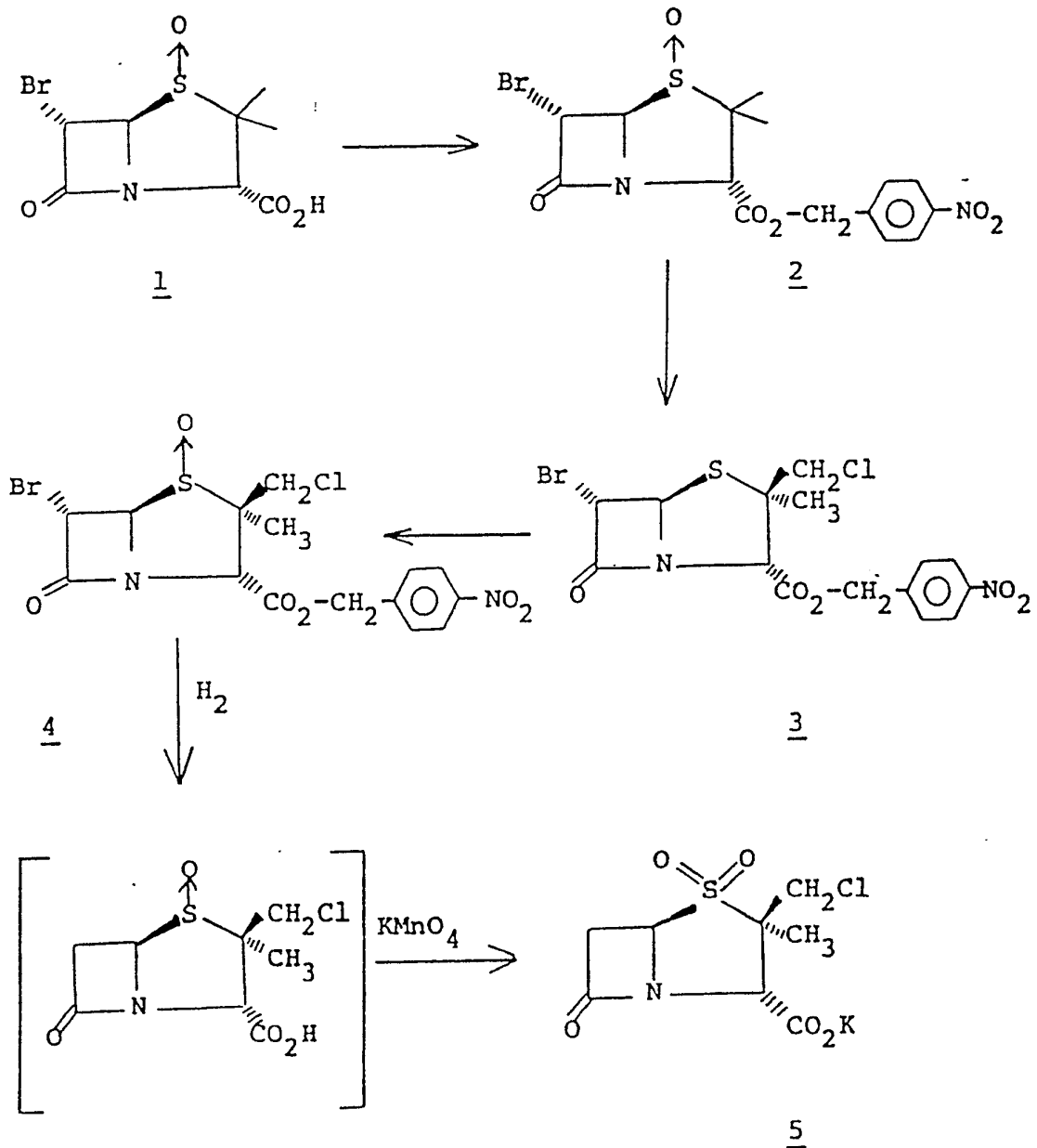
- er opløseligt. Hydrogeneringen udføres sædvanligvis ved en temperatur i intervallet fra ca. 0 til ca. 60⁰C og ved et tryk i intervallet fra ca. 98 til ca. 98x10² kPa. De til denne hydrogeneringsreaktion anvendte katalysatorer er af den type, som kendes inden for denne transformations-
5 tionsteknik, og typiske eksempler er ædle metaller, såsom nikkel, palladium, platin og rhodium. Katalysatoren er sædvanligvis til stede i en mængde fra ca. 0,01 til ca. 2,5 vægtprocent, og fortrinsvis fra ca. 0,1 til ca. 1,0 vægtprocent baseret på forbindelsen med formlen A. Det er ofte hensigtsmæssigt at suspendere katalysatoren på en inert bærer;
10 en særligt hensigtsmæssig katalysator er palladium suspenderet på en inert bærer, såsom carbon. Der er endvidere sædvanligt at forpufre reaktionsblandingen for at arbejde ved en pH-værdi i intervallet fra ca. 4 til 9, og fortrinsvis fra 6 til 8. Borat- og fosfatpuffere anvendes normalt. Reaktionen tager typisk ca. 1 time.
- 15 "Skellysolve B" er en petroleumsetherfraktion med kogepunkt 60-68⁰C bestående i det væsentlige af n-hexan ("Skellysolve" er et handelsnavn fra Skelly Oil Co.).

Fremgangsmåderne ifølge opfindelsen belyses nærmere i de følgende eksempler.

Eksempel 1

Fremstilling af kalium-2β-chlormethyl-2α-methylpenam-3α-carboxylat-sulfon (BL-P2013)

5



(BL-P2013)

6 α -brompenicillansyre-S-sulfoxid (1)

1. 30 g (37,5 mmol) 6 α -brompenicillansyre, N,N'-dibenzylethylendiaminsalt [G. Cignarella et al., J. Org. Chem. 27, 2668 (1962) og E. Evrard, Nature 201, 1124 (1964)] opløses i 330 ml methylenchlorid. Der omrøres og afkøles til 0⁰C.
5
2. 13 ml (156 mmol) koncentreret saltsyre sættes langsomt til methylenchloridopløsningen. Udfældning af dibenzylethylendiamin, HCl-saltet (DBED,HCl) finder sted i løbet af et minut. Opslæmningen omrøres ved 0-5⁰C i 10 minutter.
- 10 3. Bundfaldet af DBED,HCl filtreres gennem et forbelagt diatoméjordfilter ("Dicalite"). Kagen vaskes med 150 ml methylenchlorid. Filtreringen bør afsluttes så hurtigt som muligt. Man bør undgå at opbevare den sure methylenchloridopløsning i længere tidsrum. Der kan være nogle filtreringsproblemer på grund af bundfaldets fine natur. Tilsætning af filterhjælpemiddel til opslæmningen kan være til hjælp.
15
4. Blandingen af methylenchloridfiltrat og vaskevæske vaskes med 60 ml koldt vand. Der omrøres 5 minutter, og den vandige fase kasseres. Vaskevæskens pH-værdi er 2,0-2,3.
5. Methylenchloridopløsningen, som indeholder 6 α -brompenicillansyre, koncentreres under reduceret tryk til et volumen på 65-80 ml. Opsløsningen afkøles og omrøres til 5⁰C.
20
6. Under kraftig omrøring tilsættes forsigtigt 13 ml (86,9 mmol) 40% pereddikesyre over et tidsrum af 30 minutter. Reaktionen er exoterm. Temperaturen holdes mellem 15 og 18⁰C med isbadafkøling. Sulfoxidet begynder at udkrystallisere, efter at 10 ml persyre er tilsat. Opslæmningen afkøles og omrøres ved 0-5⁰C i 2 timer.
25
7. Den snehvide kage filtreres og vaskes med 10 ml 5⁰C vand, dernæst med 10 ml 0-5⁰C methylenchlorid og endelig vaskes med 15 ml heptan.
8. Kagen tørres i luftovn ved 45⁰C til konstant vægt, hvorved ca. 6-10 timer bør være tilstrækkelig. Overdreven opvarmning kan udvikle spor af en lyserøddlig farve. Vægten af 1 er ca. 16,26 g, udbytte 73,24%.
30
9. Reaktionsblandingen og slutproduktet kan analyseres ved tyndtlagskromatografi under anvendelse af opløsningsmiddelsystemer bestående af 15 dele toluen/4 dele acetone/1 del eddikesyre (HAC) eller 8 dele acetone/8 dele methanol/3 dele toluen/1 del HAC. Slutproduktet analyseres ved NMR og IR.
35

p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-S-Sulfoxid (2)

Til en opløsning af 12 g (0,04 mol) 6 α -brompenicillansyre-S-sulfoxid i 100 ml acetone sættes 7,5 g (0,041 mol) kalium-2-ethyl-hexanoat. Saltet opsamles ved filtrering, vaskedes med kold acetone og luft-
 5 tørredes til et udbytte på ialt 10 g. Det krystallinske kaliumsalt opløstes i 75 ml dimethylacetamid, og 7,8 g (0,04 mol) p-nitrobenzylbromid tilsættes. Opløsningen omrørtes ved 23⁰C i 24 timer. Blandingen fortyndedes med 500 ml vand og ekstraheredes med ethylacetat. Ethylacetatlaget vaskedes fire gange med vand og tørredes over vandfri
 10 magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet afdampedes ved 35⁰C (15 mm) til en olie, der krystalliserede. De lyst tanfarvede krystaller af 2 opslæmmedes med ether og opsamles ved filtrering til et udbytte på 9 g (70%), smp. 124-125⁰C dek.

Analyse beregnet for C₁₅H₁₅BrN₂O₆S:

15 C: 41,98, H: 3,05, N: 6,52

Fundet: C: 42,00, H: 3,48, N: 6,98.

IR(KBr): 1800(s), 1740(s), 1610(w), 1520(s), 1450(m), 1350(s), 1060(m), 740(m) cm⁻¹. H-NMR (60 MHz, DMSO): δ 1,22 (s,3H), 1,6 (s,3H), 4,67 (s,1H), 5,2 (d,J-1-5 Hz,1H), 5,45 (s,2H), 5,68 (d, J-1-5 Hz,1H),
 20 7,5-8,5 (m,4H).

p-Nitrobenzyl-2 β -chlormethyl-2 α -methyl-6-brompenam-3 α -carboxylat (3)

En opløsning af 5 g (0,012 mol) p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-S-sulfoxid (2) i 120 ml vandfri dioxan opvarmedes ved tilbagesvaling un-
 25 der nitrogen i 4 timer med 1,5 g (0,012 mol) quinolin og 1,6 g (0,012 mol) benzoylchlorid. Opløsningen fortyndedes med 600 ml vand og ekstraheredes med ethylacetat. Ethylacetatekstrakten vaskedes med 5% natriumbicarbonatopløsning, 5% phosphorsyreopløsning og endelig med vand. Det organiske lag tørredes over vandfri magnesiumsulfat og indampedes til
 30 en olie ved 35⁰C (15 mm). Olien krystalliserede og opsamles, vaskedes med ether og endelig med kold toluen til et udbytte af 3,35 g (65%), smp. 130-135⁰C dek.

Analyse beregnet for C₁₅H₁₅ClBrN₂O₅S:

C: 40,06, H: 3,14, N: 6,23,

35 Fundet: C: 40,19, H: 3,12, N: 6,75.

IR(KBr): 1792(s), 1740(s), 1610(w), 1520(s), 1353(s), 1280(m), 1025(w), 990(w), 750(w) cm⁻¹. NMR (60MHz, DMSO): δ 1,45 (s,3H), 3,5-4,3 (m,2H), 5,05 (s,1H), 5,42 (s,2H), 5,5 (d,J-1,5 Hz,1H), 5,62 (d,J-1,5

Hz, 1H), 7,5-8,5 (m, 4H).

p-Nitrobenzyl-2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-6 α -carboxylat-sulfoxid (4)

En opløsning af 1 g (0,0022 mol) p-nitrobenzyl-3 β -chlormethyl-2 α -
5 methyl-6 α -brompenam-3 α -carboxylat (3) opløst i 50 ml methylenchlorid om-
rørtes med 473 mg (0,0022 mol) m-chlorperoxidbenzoesyre. Opløsningen om-
rørtes ved 23⁰C i 3 timer. Methylenchloridet indampedes til 20 ml ved
15 mm og 33⁰C, og den koncentrerede opløsning fortyndedes med 50 ml hep-
tan ("Skellysolve B"). Opløsningsmidlet dekanteredes, og remanensen op-
10 slæmmedes med ether, og (4) udkrystalliserede snart i et udbytte på 250
mg, 24%, smp. 136-137⁰C dek.

Analyse beregnet for C₁₅H₁₄BrClN₂O₆S:

C: 38,68, H: 3,02, N: 6,02,

Fundet: C: 39,14, H: 3,13, N: 5,96.

15 IR(KBr): 1800(s), 1760(s), 1520(s), 1350(s), 1200(s), 1050(m),
830(w), 740(w) cm⁻¹. H-NMR (60 MHz, DMSO): δ 1,32 (s, 3H), 3,8-4,5 (m, 2H),
4,97 (s, 1H), 5,25 (d, J=1,5 Hz, 1H), 5,45 (s, 2H), 5,6 (d, J=1,5 Hz, 1H),
7,8-8,5 (m, 4H).

20 Kalium-2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon (5) (BL-P2013)

Til en opløsning af 7 g (0,015 mol) p-nitrobenzyl-2 β -chlormethyl-
2 α -methyl-6 α -brompenam-3 α -carboxylat-sulfoxid (4) i 150 ml ethylacetat
sattes en suspension af 4 g 30% palladium-på-diatoméjord ("Celite") og
2,8 g natriumbicarbonat i 150 ml vand. Blandingen hydrogeneredes i 3 ti-
25 mer ved 50 psi. Katalysatoren frasepareredes ved filtrering, og det van-
dige lag fraskilt og behandledes med 1,5 g kaliumpermanganat i 50 ml
vand. Blandingen omrørtes i 1 time, og 250 mg natriumbisulfit tilsattes.
Blandingen filtreredes, og filtratet indstilledes til pH 2 med koncen-
treret saltsyre. Opløsningen lyofiliseredes til dannelsen af et hvidt
30 amorft pulver. Faststoffet ekstraheredes med ethylacetat, indampedes
til et volumen på 20 ml og fortyndedes med 100 ml heptan ("Skellysolve
B"). Hvidt, hygroskopisk, fast 2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carb-
oxylsyre-sulfon opsamledes. Syren opløstes i acetone og behandledes med
fast kalium-2-ethylhexanoat. Et krystallinsk hvidt salt udfældede til
35 dannelsen, efter filtrering, af 170 mg af 5, smp. >140⁰C dek.

Analyse beregnet for C₈H₇ClKNO₅S.2H₂O:

C: 28,27, H: 3,24, N: 4,12,

Fundet: C: 28,27, H: 3,69, N: 3,84.

IR(KBr): 1790(s), 1770(m), 1620(s), 1460(m), 1370(s), 1310(s),
1200(s), 1140(s), 955(m), 740(m) cm^{-1} . H-NMR (100 MHz, D_2O):
 δ 1,68 (s,3H), 3,2-3,9 (m,H-2 Hz, J-4 Hz, J-6 Hz,2H), 4,0-4,4 (m, 2H),
4,3 (s,1H), 5,02 (d d, J-4 Hz, J-2 Hz,1H).

5

Eksempel 2Pivaloyloxymethyl-2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon

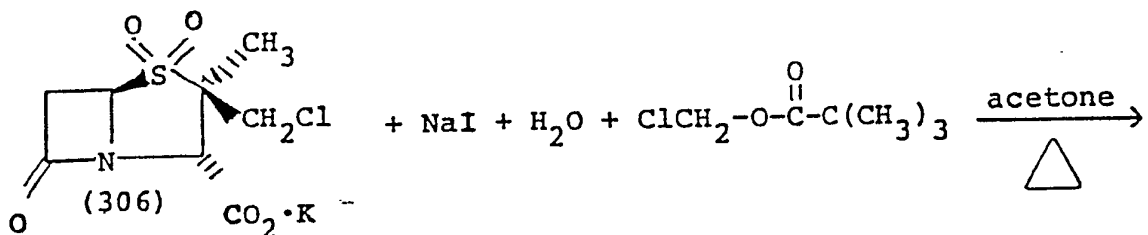
2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylsyre-sulfon i dime-
thylformamid behandles med én ækvivalent triethylamin og omrørtes til
10 effektivering af opløsning. Brommethylpivalat (1 ækvivalent) i dimethyl-
formamid tilsattes derpå. Den resulterende blanding omrørtes ved stue-
temperatur. Blandingen klarede derefter ved filtrering, og filtratet
hældtes i isvand. Det fraseparerede faststof opsamledes ved filtrering,
vaskedes med vand og tørredes til dannelse af titelesteren.

15 De respektive acetoxymethyl-, methoxymethyl-, acetyl- og phen-
acylestere af samme syre fremstilledes ved at erstatte det i ovennævnte
fremgangsmåde anvendte brommethylpivalat med en ækvimolær vægtmængde af
henholdsvis chlormethylacetat, chlormethylmethylether, chloracetone og
phenacylbromid.

20

Eksempel 3Pivaloyloxymethyl-2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon BL-
P2024

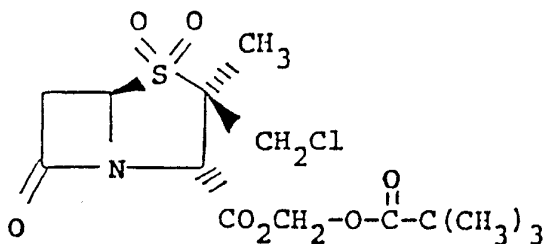
25



30

(BL-P2013)

35



(BL-P2024)

Til en omrørt suspension af 14,6 g (0,0487 mol) BL-P2013 (5) i 200 ml acetone sættes 4 ml af en 10% vandig opløsning af natriumiodid, og blandingen bragtes til tilbagesvaling på dampbad. Til denne under tilbagesvaling værende suspension sættes 14,8 ml (0,1 mol) redestilleret

5 chlormethylpivalat (kp. 34⁰C ved 7 mm Hg) på én gang. Blandingen omrørtes ved tilbagesvaling i tre timer og afkøledes derpå til stuetemperatur (22⁰C). De krystallinske faststoffer opsamledes ved filtrering, vaskedes med 3 x 30 ml acetone, og de forenede filtrater inddampedes i en olie i

10 vakuum ved <22⁰C. Olien optoges derpå i 500 ml ethylacetat og vaskedes én gang med vand (200 ml) og én gang med mættet Na₂SO₄, medens den omrørtes med 2 g affarvende carbon under afkøling (isbad). Efter 20 minutter filtreredes blandingen gennem en diatomé (Dicalite) pude med sugning, og puden vaskedes med 4 x 100 ml ethylacetat. De forenede filtrater koncentreredes i vakuum ved 22⁰C til en olie. Olien koncentreredes

15 derpå yderligere ved ca. 22⁰C og <1 mm Hg til fjernelse af det meste af det resterende chlormethylpivalat. Den tilbageblevne olie tritureredes så to gange med 50 ml portioner n-pentan og henstod weekenden over i kølerum (ca. 10⁰C) under n-heptan. Den faste krystallinske masse blev derefter brudt op til et fast pulver med 40 ml af en 4:1 blanding af

20 ether-n-pentan. Produktet opsamledes så ved filtrering, vaskedes med ether-pentan (1:1), derpå pentan, hvorefter det lufttørredes. Efter tørring i vakuum i fire timer over P₂O₅ opnåedes 13,37 g pivaloyloxymethyl-2β-chlormethyl-2α-methylpenam-3α-carboxylat-sulfon (ca. 75% udbytte), smp. 93-95⁰C.

25 Analyse beregnet for C₁₄H₂₀ClNO₇S:
 C: 44,03, H: 5,27, N: 3,67,
 Fundet: C: 44,11, H: 5,08, N: 3,85.

Eksempel 4

30 OmkrySTALLISATION af kalium-2β-chlormethyl-2α-methylpenam-3α-carboxylat-sulfon (BL-P2013)

Til en blanding af 20 ml n-butanol og 1 g BL-P2013 (5) sættes vand, 1 ml ad gangen, under omrystning i en skilletragt, indtil der opnåedes en lys gul opløsning. Den klare opløsning filtreredes gennem et

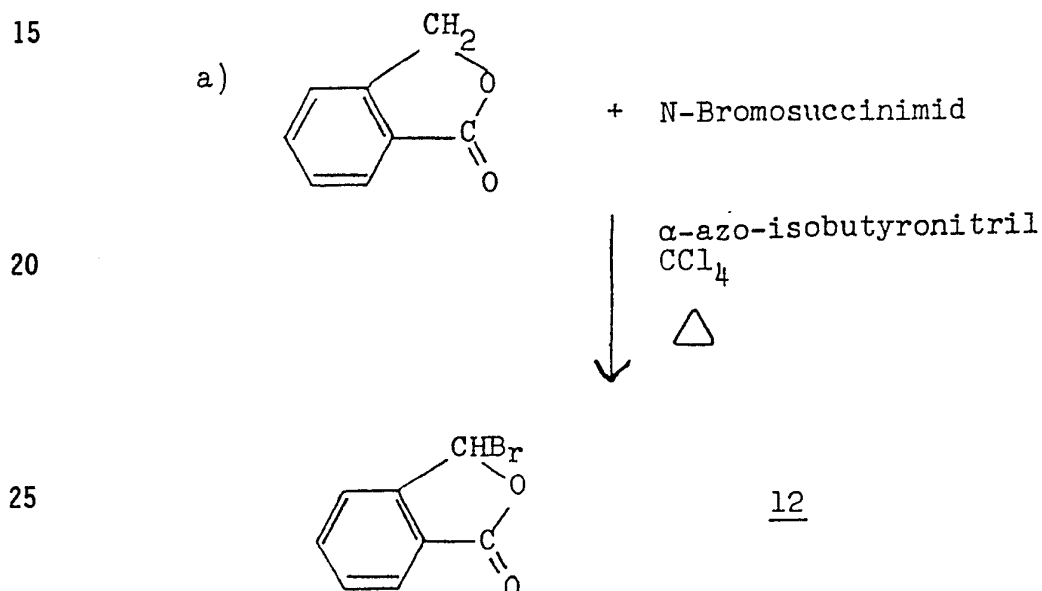
35 foldefilter, og kolben og filterpapiret vaskedes med ca. 10 ml 9:1 n-butanol-H₂O, og de forenede filtrater fortyndedes med yderligere 20 ml n-butanol. Den resulterende opløsning anbragtes i en rundbundet kolbe på "roto-vap" og inddampedes under reduceret tryk til ca. halvdeilen af det

oprindelige volumen. Det snehvide krystallinske produkt opsamledes ved filtrering, vaskedes med 6 x 10 ml acetone og lufttørredes. Udbytte 810 mg. Efter vakuamtørring i 6 timer over P_2O_5 ved <1 mm Hg opnåedes 800 mg, smp. $215^{\circ}C$ (dek.) (80% udbytte).

- 5 Analyse beregnet for $C_8H_9ClNO_5 \cdot SK \cdot 1H_2O$:
 C: 29,67, H: 3,39, N: 4,63, Cl: 10,94, K.F. H_2O : 5,56,
 Fundet:
 C: 29,23, H: 3,38, N: 4,49, Cl: 10,74, K.F. H_2O : 5,74.

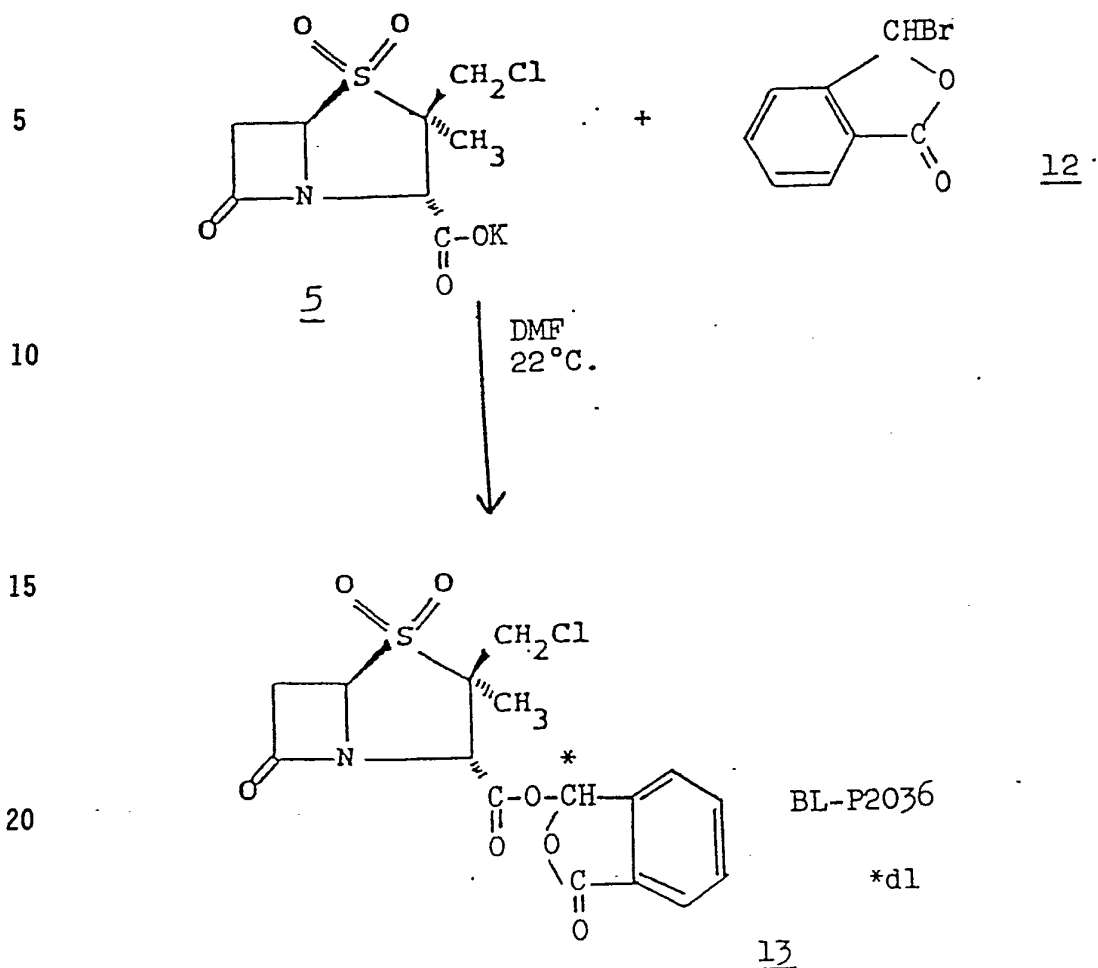
10 Denne omkrystallisationsprocedure tilvejebringer et krystallinsk monohydrat, forskelligt fra udgangsmaterialet, som er i det væsentlige vandfrit.

Eksempel 5



- 30 Som beskrevet i USA patentskrift nr. 3.860.579 tilbagesvales rekrystalliseret phthalid (50 g, 0,375 mol) og rekrystalliseret N-bromsuccinimid (0,375 mol) i 4,5 time i nærværelse af ca. 100 mgm α -azobutyronitril i 1 liter CCl_4 . Blandingen afkøledes til ca. $15^{\circ}C$ og filtreredes til fjernelse af succinimid, som selv var vasket med ca. 100 ml
 35 CCl_4 og filtreret. De forenede CCl_4 -faser koncentreredes i vakuum til ca. 150 ml, hvilket gav fast 3-bromphthalid, som opsamledes ved filtrering, vaskedes med ca. 50 ml CCl_4 og lufttørredes til dannelse af 54 g udbytte, som vejede 50 g efter omkrystallisation fra kogende

cyclohexan, smp. 84-86°C.



- 25 Til en omrørt delvis opløsning og delvis suspension af forbindelse 5 (BL-P2013, 2,3 g, 0,0075 mol) i 20 ml dimethylformamid (DMF, tørret i mindst 3 uger over 3A⁰ molekylærsigter) sættes 1,7 g (0,008 mol 3-bromphthalid (12), og blandingen omrørtes i 4 timer ved 22°C. Den resulterende blanding hældtes i en blanding af 200 ml iskoldt vand og 200
- 30 ml iskoldt ethylacetat (idet kolben skylledes med en lille smule ethylacetat), og blandingen rystedes. Derpå fraskiltes den organiske opløsningsmiddelfase og vaskedes med syv portioner iskoldt vand (100 ml). Ethylacetatfasen vaskedes én gang med mættet vandig Na₂SO₄, tørredes i kulden over Na₂SO₄, filtreredes og indampedes til tørhed i vakuum,
- 35 hvilket som remanens efterlod en olie, som tritureredes to gange med methylcyclohexan (25 ml), to gange med "Skellysolve B" (kp. 60-68°C, i det væsentlige n-hexan) (25 ml) og fire gange med 25 ml n-hexan til dannelse af 2,5 g af forbindelse 13 som et næsten hvidt faststof efter tør-

ring i luft. Dette produkt tørredes derpå over P_2O_5 ved under 1 mm Hg til dannelse af 2,5 g af forbindelse 13, smp. $104^{\circ}C$ dek. Dens anslåede renhed var 85-95%.

Analyse beregnet for $C_{16}H_{14}ClNO_7S$:

5 C: 51,61, H: 3,79, N: 3,77, Cl: 9,53,

Fundet:

C: 52,59, H: 4,67, N: 3,21, Cl: 7,73, K.F. H_2O : 0,27.

Eksempel 6

10 Pivaloyloxymethyl-2 β -chlormetyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon

En blanding af 1 g (0,0031 mol) kalium-2 β -chlormetyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon,hydrat og 1 g 3A molekylsier omrørtes i 15 ml dimethylacetamid i 2 timer ved 23° . Til denne blanding sættes 470 mg (0,0031 mol) pivaloyloxymethylchlorid, og omrøringen fortsattes i 18 ti-
15 mer. Molekylærsigterne opsamledes, og filtratet fortyndedes med 100 ml vand og ekstraheredes med ethylacetat. Ethylacetatet vaskedes ni gange med vand og tørredes over vandfri magnesiumsulfat. Opløsningsmidlet fjernedes ved 30° (15 mm), hvilket efterlod en olie, som kromatografere-
20 des på silica under anvendelse af "silicar CC-7" (metylenchlorid 8, ethylacetat 2), som viste én plet ved R_f 0,5. Den opnåede remanens krystalliseredes fra heptan ("Skellysolve B"), hvilket som udbytte gav 100 mg (smp. $94-95^{\circ}$) pivaloyloxymethyl-2 β -chlormetyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon.

Analyse beregnet: C: 44,03, H: 5,27, N: 3,67,

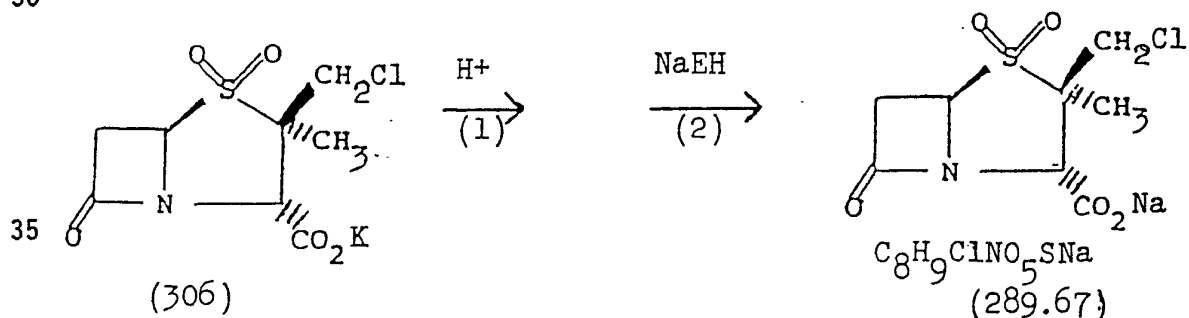
25 Fundet: C: 44,20, H: 5,24, N: 3,63.

NMR- og IR-spektrene var konsistente for strukturen.

Eksempel 7

30 Natrium-2 β -chlormetyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylat-sulfon

30



Til en omrørt opløsning af 500 mg af BL-P2013 (kaliumsalt) i 5 ml H₂O og 10 ml ethylacetat sættes 2N HCl, indtil pH 1 opnåedes (i et isbad med kraftig omrøring). Blandingen mættedes derpå med Na₂SO₄, det vandige lag fraskiltes, og den organiske fase tørredes kort i is over Na₂SO₄, filtreredes og behandledes dråbevis med 50% NaEH (natrium-2-ethylhexanoat) i vandfri n-butanol til neutral for fugtigt pH papir. Produktet krystalliserede ikke ved skrabning, og det koncentreredes dernæst i vakuum til en olie, som opløstes i acetone (5 ml), skrabadet - ingen krystaller, ether tilsattes til uklarhedspunktet - ingen krystaller. Det koncentreredes i vakuum på "roto-vap" til en olie, som opløstes i ethylacetat, der tilsattes én dråbe H₂O, skrabadet - ingen krystaller. Det koncentreredes i vakuum, og remanensen tritureredes med 5 ml n-butanol, 200 mg amorft hvidt pulver opnåedes, det vaskedes med ether, lufttørredes og vakuamtørredes over P₂O₅ i 24 timer. Der opnåedes 180 mg endeligt udbytte af natrium-2β-chlormethyl-2α-methylpenam-3α-carboxylat-sulfon; dek. punkt >100⁰ indef.

Analyse beregnet for C₈H₉ClNO₅SNa:

C: 33,10, H: 3,13, N: 4,89,

Fundet: C: 33,20, H: 3,69, N: 4,44, K.F.H₂O: 4,04.

20

Eksempel 8

Kalium-2β-chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2013)

Til 10 liter vand, 130 g (1,25 mol) natriumhydrogencarbonat og 200 g 10% Pd på BaSO₄ sættes 272 g (0,565 mol) p-nitrobenzyl-6α-brom-2β-chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon opløst i 5 liter ethylacetat. Blandingen hydrogeneredes ved 40⁰C og et tryk på 1 kg. Efter 5 timer blev hydrogenoptagningen meget langsom, og 200 g 10% Pd på BaSO₄ tilsattes, og blandingen hydrogeneredes, indtil der ikke iagttoges yderligere signifikant hydrogenabsorption.

Opslæmningen filtreredes gennem en diatoméjord ("Celite") pude, puden vaskedes med vand, og den vandige fase vaskedes med 3 liter ethylacetat. Til den vandige opløsning sættes 3 liter ethylacetat, og blandingens pH-værdi indstilledes til 1,5 med 150 ml 12N HCl ved 10⁰C. Den organiske fase fraskiltes, og den vandige opløsning mættedes med Na₂SO₄·10H₂O og ekstraheredes med 2 x 1 liter ethylacetat. De forenede ekstrakter tørredes med magnesiumsulfat. Tørringsmidlet fjernedes, og 260 ml 2N kalium-2-ethylhexansyre i butanol tilsattes ved 0⁰C.

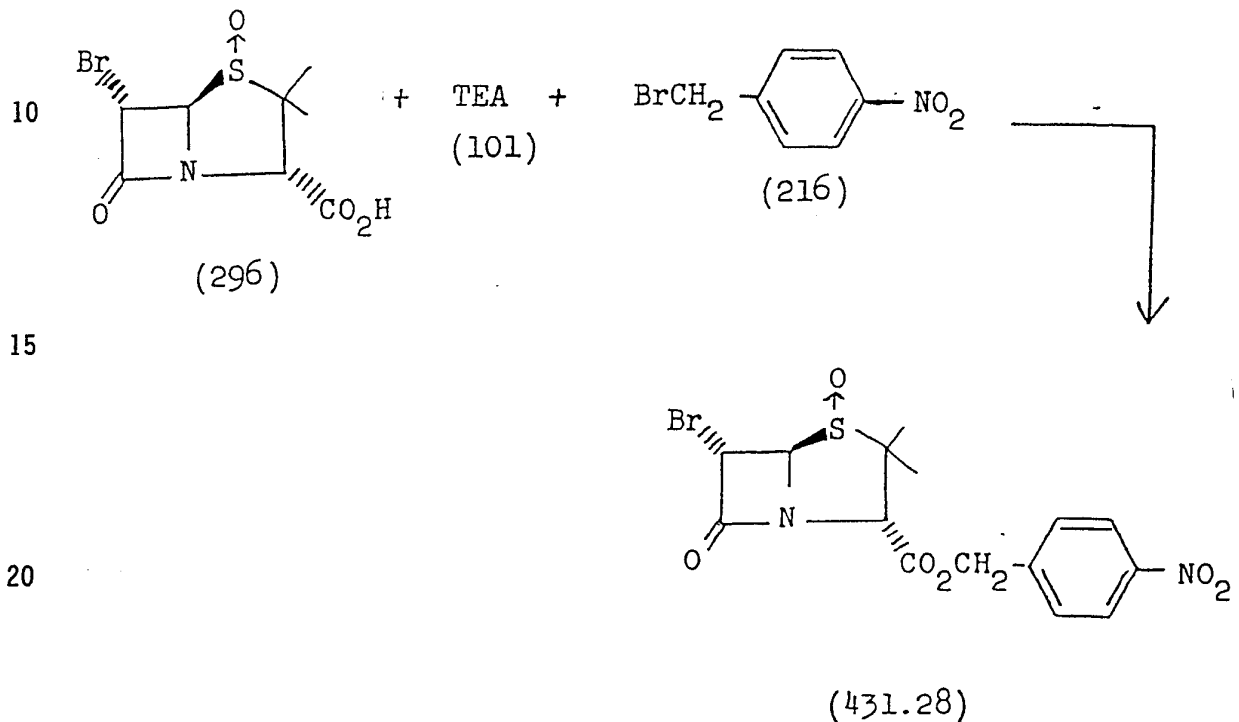
Efter omrøring i 2 timer ved 0⁰C opsamledes kalium-2β-chlormethyl-

2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2013) og tørredes i vakuum ved stuetemperatur.

Udbytte 134,8 g (ca. 70%).

5 Eksempel 9

p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillinat-sulfoxid



25 Fremgangsmåde:

Til 200 ml N,N-dimethylacetamid sættes 44 g (0,148 mol) 6 α -brompenicillansyre-sulfoxid efterfulgt af 20,5 ml (0,148 mol) triethylamin og 38,2 g (0,177 mol) p-nitrobenzylbromid. Der omrørtes ved 22^o i 20 timer.

Reaktionsblandingen hældtes i 1 liter H₂O og ekstraheredes i 3 x 300 ml methylenchlorid. De forenede methylenchloridekstrakter vaskedes med 200 ml 5% vandig natriumbicarbonatopløsning og tørredes over natriumsulfat ved 5^o i en halv time. Opløsningen filtreredes og indampedes under vakuum til en remanens. Remanensen fortyndedes med ether, og faststoffet opsamledes ved filtrering til et udbytte på 54 g p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillinat-sulfoxid efter tørring. Udbytte 85%. NMR var 35 konsistent for strukturen.

Udbyttet i dette trin var det samme som for K-salt-esterificeringen. Fordelen var, at det ikke var nødvendigt at fremstille K-saltet.

(Et trin som forløber med et udbytte på 85-90%).

Eksempel 10

Fremstilling af p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-sulfoxid

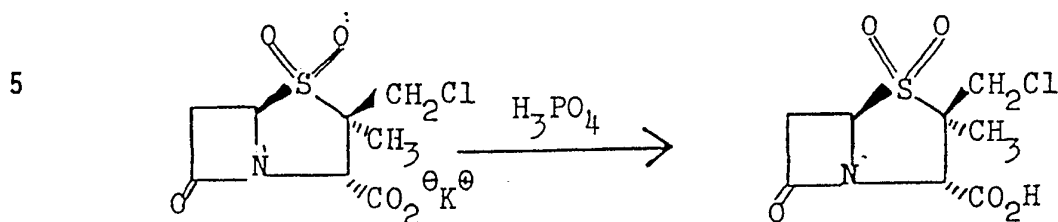
- 5 Til 4,375 liter N,N-dimethylacetamid sattes 873,0 g (2,95 mol) 6 α -brompenicillansyre-(S)-sulfoxid og derpå, under omrøring og medens den indre temperatur holdtes under 35⁰C, 293 g (2,95 mol) triethylamin efterfulgt af 764 g (3,54 mol) p-nitrobenzylbromid. Blandingen omrørtes derpå ved stuetemperatur i 5 timer og henstod natten over.
- 10 Reaktionsblandingen hældtes i 20 liter vand og ekstraheredes med 3 x 7 liter methylenchlorid. De forenede organiske ekstrakter vaskedes med 5 x 7 liter vand og derpå med 7 liter 5% vandig natriumbicarbonatopløsning og tørredes over magnesiumsulfat.
- Magnesiumsulfatet frafiltreredes, og opløsningen indampedes til en
- 15 krystallinsk remanens; 4 liter diethylether tilsattes, og krystallerne opsamledes, hvilket gav et udbytte efter tørring ved stuetemperatur på 1171 g (92%) p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-sulfoxid.
- Br 18,48% (beregnet 18,53%), α_D (0,25% MeOH) + 162⁰.

20 Eksempel 11

Fremstilling af p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon

- Til 16 liter eddikesyre sattes 364,6 g (0,812 mol) p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat. Til den således opnåede opløsning, som omrørtes ved stuetemperatur, sattes en opløsning af
- 25 282 g (1,78 mol) KMnO₄ i 26 liter vand dråbevis i løbet af 3 timer. Blandingen omrørtes derpå ved stuetemperatur i 1 time, og H₂O₂ (37%) tilsattes dråbevis, indtil der opnåedes en farveløs opløsning. 30 liter vand tilsattes derefter, blandingen omrørtes i 1 time ved stuetempera-
- 30 tur, og det krystallinske bundfald opsamledes, vaskedes med 3 x 5 liter vand og med 2 x 2 liter ethanol og tørredes over vakuum ved stuetempera-
- tur.

Udbytte: 297 g (76%). α_D (0,5% CH₂Cl₂) + 75,9⁰.

Eksempel 12Fremstilling af BL-P2013 fri syre

10 Til en blanding af 25 ml ethylacetat og 10 ml vand sættes 800 mg⁻
 (0,00261 mol) BL-P2013 kaliumsalt. Efter at alt faststoffet var opløst,
 behandlede blandingen dråbevis med 50% vandig phosphorsyre under kraf-
 tig rystning, indtil der ikke bundfældedes mere materiale fra det van-
 dige lag. Ethylacetatlaget fraskiltes, vaskedes derpå med mættet
 15 natriumchloridopløsning og tørredes over vandfrimagnesiumsulfat. Tør-
 ringsmidlet fjernedes ved filtrering og vaskedes med 10 ml ethylacetat.
 (Vaskevæsken forenedes med det oprindelige filtrat). "Skellysolve B"
 sættes så til ethylacetatet indtil uklarhedspunktet (ca. 10 ml). Blan-
 dingen behandlede med 500 mg aktiveret carbon ("Darko KB") og filtrere-
 20 des. Filtratet fortyndedes med 15 ml "Skellysolve B" og podedes derefter
 med krystaller af BL-P2013 fri syre. Efter ca. 3 timer ved stuetempera-
 tur opsamledes det krystallinske bundfald af fri syre og tørredes i va-
 kuum (15 minutter) over P₂O₅ til dannelse af 323 mg (46%), smp. langsom
 dek. over 100°.

25 Analyse beregnet for C₈H₁₀ClNO₅S:

C: 35,89, H: 3,77, N: 5,23, Cl: 13,25,

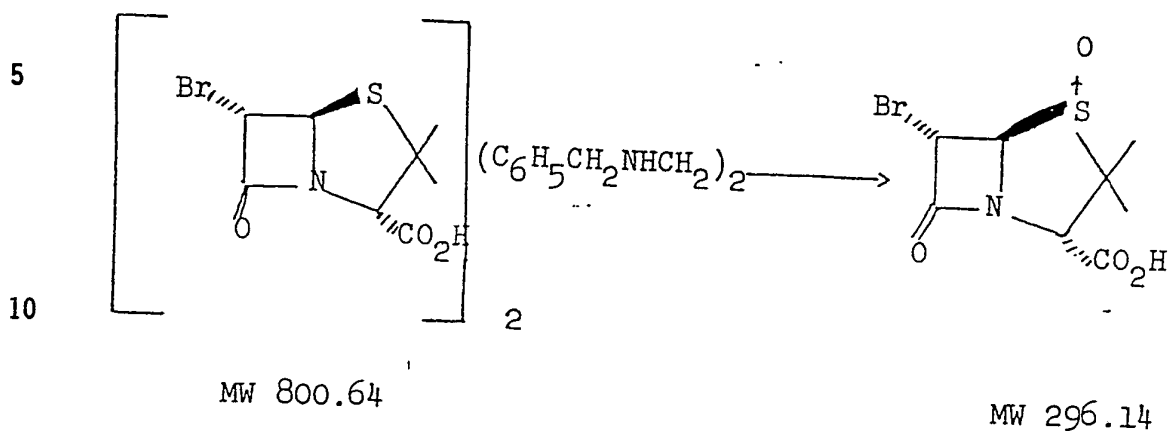
Fundet: C: 35,88, H: 3,91, N: 5,41, Cl: 13,52.

Dette produkt viste sig at være ustabil, når det opbevarede ved
 23°C i syv dage.

30

35

Eksempel 13

6 α -brompenicillansyre-sulfoxid

Til 3 liter methylenchlorid sattes 300 g (0,75 mol) 6 α -brompenicil-
 15 lansyre-N,N'-dibenzylethylendiaminsalt, og denne suspension afkøledes
 til 5⁰. Derpå tilsattes i løbet af 15 minutter under god om-
 røring 130 ml koncentreret HCl dråbevis. Opslæmningen omrørtes ved 5⁰ i
 2 timer. Den filtreredes så gennem en ("Celite") pude af diatoméjord, og
 kagen vaskedes med 3 x 250 ml methylenchlorid.

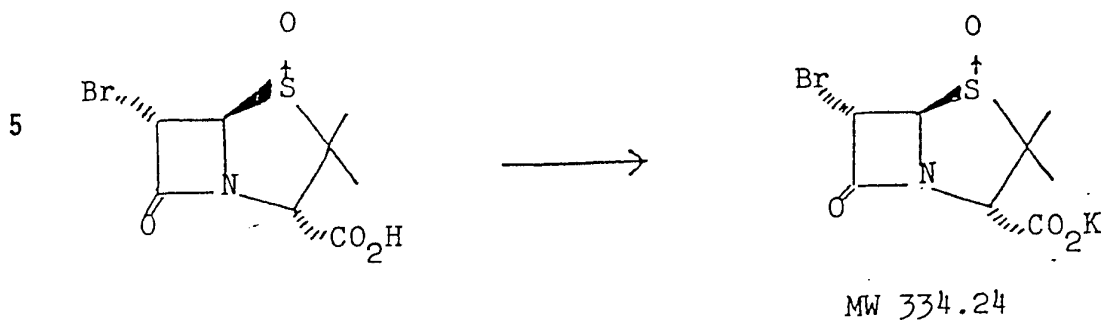
20 De forenede methylenchloridopløsninger vaskedes med 2 x 500 ml H₂O
 og tørredes over natriumsulfat i 15 minutter. Natriumsulfatet fjernedes
 ved filtrering, og filtratet inddampedes under reduceret tryk til ca.
 750 ml.

Denne opløsning afkøledes til 5⁰ og under kraftig omrøring tilsat-
 25 tes 130 ml 40% pereddikesyre dråbevis, således at temperaturen
 holdtes ved 5-12⁰. Tilsætningen var helt exotermisk. Ved slutningen af
 tilsætningen omrørtes opslæmningen ved 5⁰ i 2 timer, og produktet op-
 samledes ved filtrering og vaskedes med 100 ml kold H₂O (5⁰) og 100 ml
 kold methylenchlorid (5⁰). Der opnåedes 126 g (57%) 6 α -brompenicillan-
 30 syre-sulfoxid, smp. 129⁰. IR- og NMR-spektrene var
 konsistente for det ønskede produkt.

Analyse beregnet for C₈H₁₀BrNO₄S:

C: 32,44, H: 3,40, N: 4,73,

Fundet: C: 32,30, H: 3,35, N: 4,71, H₂O: 2,18.

Kalium-6 α -brompenicillanat-sulfoxid

10

Til 3 liter acetone sattes 126 g (0,43 mol) 6 α -brompenicillansyre-sulfoxid og 162 ml 50 vægtprocent kalium-2-ethylhexansyre i n-butanol. Efter omrøring i 1 time ved 22^o opsamledes produktet ved filtrering, vaskedes med 2 x 250 ml acetone og tørredes. Der opnåedes 127 g (90%)

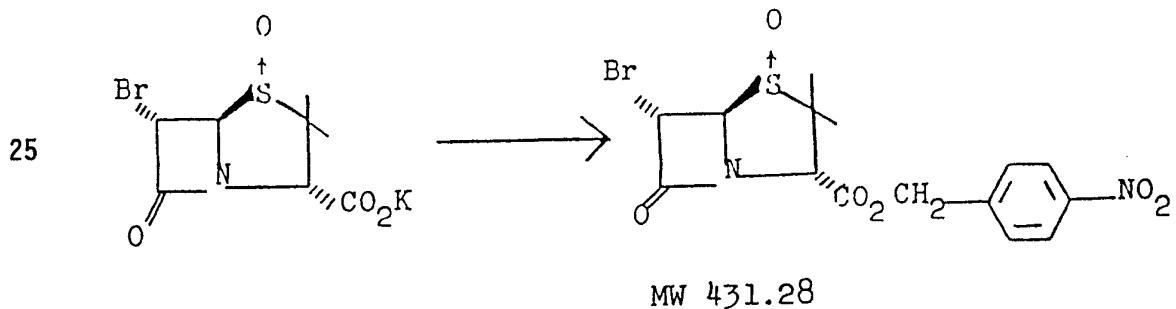
15 kalium-6 α -brompenicillanat-sulfoxid, smp. 185^o. IR-og NMR-spektrene var konsistente for den ønskede struktur.

Analyse beregnet for C₈H₉BrKNO₄S:

C: 28,75, H: 2,71, N: 4,19,

Fundet: C: 29,03, H: 2,78, N: 4,04.

20

p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-sulfoxid

30

Til 1 liter N,N-dimethylacetamid sattes 145 g (0,43 mol) kalium-6 α -brompenicillanat-sulfoxid, og, under omrøring, tilsattes 115 g (0,53 mol) p-nitrobenzylbromid ved 22^o. Blandingen omrørtes ved 22^o i 20 timer.

Reaktionsblandingen hældtes i 3 liter H₂O og ekstraheredes med

35 3 x 1500 ml ethylacetat. De forenede ethylacetatekstrakter vaskedes med 2 x 500 ml 5% vandig natriumbicarbonatopløsning og tørredes over natriumsulfat i ½ time. Natriumsulfatet frafiltreredes, og filtratet inddampedes under reduceret tryk til en remanens, hvortil der sattes 1

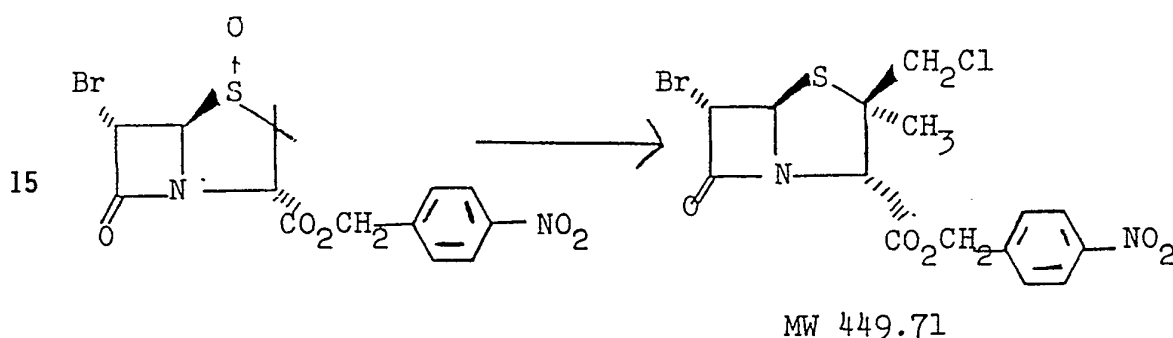
liter diethylether, hvilket forårsagede krystallisation af produktet. Krystallerne opsamledes ved filtrering, vaskedes med 2 x 100 ml diethylether og tørredes til et udbytte på 162 g (87%) p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-sulfoxid, smp. 111⁰. IR- og NMR-spektrene var konsistente for den ønskede struktur.

Analyse beregnet for C₁₅H₁₆BrN₂O₆S:

C: 41,78, H: 3,51, N: 6,50,

Fundet: C: 41,66, H: 3,45, N: 6,85, H₂O: 0,69.

10 p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat



20 Til 1 liter p-dioxan sættes 70 g (0,16 mol) p-nitrobenzyl-6 α -brompenicillanat-sulfoxid efterfulgt af 21,2 ml (0,10 mol) benzoylchlorid og 21,8 ml (0,19 mol) quinolin. Reaktionsblandingen tilbagesvales i 4 timer og afkøledes derpå til 22⁰, hældtes i 2500 ml H₂O og ekstraheredes i 3 x 800 ml ethylacetat. De forenede ethylacetat-

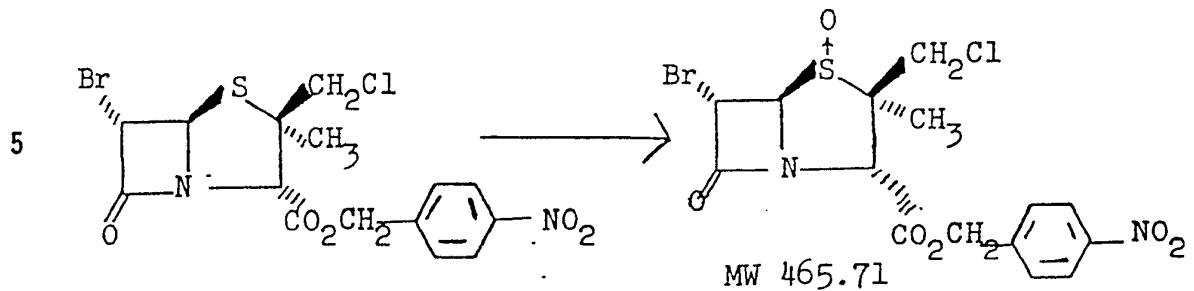
25 ekstrakter vaskedes med 300 ml 5% vandig natriumbicarbonatopløsning, 300 ml 5% vandig phosphorsyre og 300 ml H₂O. Ethylacetatopløsningen tørredes over natriumsulfat i ½ time, og natriumsulfatet fjernedes ved filtrering. Filtratet inddampedes under reduceret tryk til en remanens, som genopløstes i 1 liter ethylacetat og igen inddampedes under reduceret

30 tryk til en remanens. Derpå tilsattes 1 liter diethylether, og produktet opsamledes ved filtrering til et udbytte på 41 g (57%) p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat, smp. 132⁰. IR- og NMR-spektrene var konsistente for den ønskede struktur.

Analyse beregnet for C₁₅H₁₄BrClN₂O₅S:

35 C: 40,06, H: 3,14, N: 6,23,

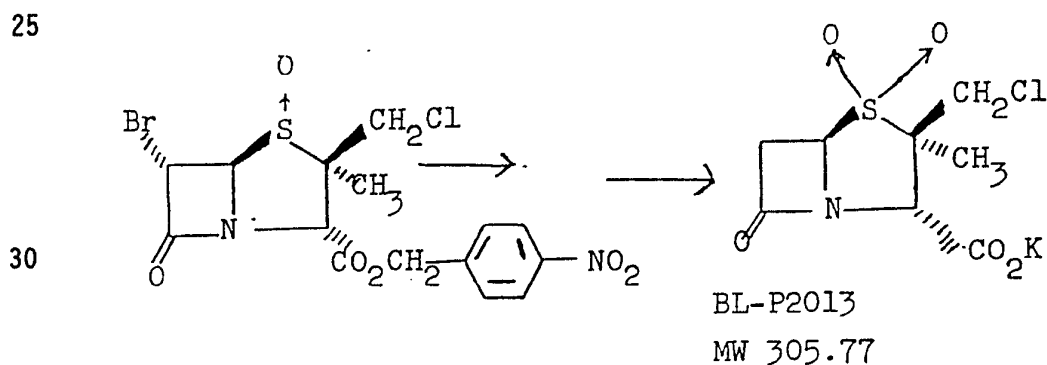
Fundet: C: 40,62, H: 3,11, N: 6,13.

p-Nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfoxid

10 Til 1200 ml methylenchlorid sattes 51 g (0,11 mol) p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat efterfulgt af 23 g (0,12 mol) m-chlorperoxybenzoesyre. Opløsningen omrørtes ved 22^o i 2 timer og indampedes under reduceret tryk til en våd remanens. Remanensen omrørtes med 4 liter diethylether i 1 time og henstod ved 10^o i

15 20 timer. Produktet udkrystalliserede og opsamledes ved filtrering, vaskedes med 2 x 200 ml diethylether og tørredes, hvilket gav et udbytte på 39 g p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfoxid (75%), smp. 132^o. IR- og NMR-spektrene var konsistente for den ønskede struktur.

20 Analyse beregnet for C₁₅H₁₄BrClN₂O₆S:
 C: 38,69, H: 3,03, N: 6,07,
 Fundet: C: 38,98, H: 3,04, N: 5,84, H₂O: 0,35.

Kalium-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2013)

Til 600 ml H₂O sattes 8 g 30% Pd på "Celite" og 16 g (0,19 mol)

35 natriumbicarbonat. Derpå opløstes 32 g (0,69 mol) p-nitrobenzyl-6 α -brom-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfoxid i 400 ml ethylacetat og sattes til den vandige opslæmning. Blandingen hydrogeneredes på et Paar-apparat ved 50 p.s.i. ved 22^o i 4 timer. Op-

slæmningen filtreredes gennem en tynd "Celite" pude på en sintret glastragt, puden vaskedes med 2 x 50 ml H₂O, og det vandige lag af det kombinerede filtrat og vaskevæskerne fraskiltes. Det vandige lag vaskedes med 200 ml diethylether, afkøledes dernæst til 5^o, og, under omrøring, tilsattes en opløsning af 12 g (0,076 mol) KMnO₄ i 200 ml H₂O dråbevis i løbet af en periode på ½ time, idet pH-værdien holdtes mellem 7,5 og 8,0 ved tilsætning af 40% H₃PO₄. Da den lyserøde farve havde været i 5 minutter, ophørte tilsætningen af KMnO₄-opløsning. Reaktionsblandingen omrørtes med en lille smule (ca. 50 mg) natriumbisulfit i ½ time, derpå filtreredes opslæmningen gennem en "Celite" pude. Pudens vaskedes med 2 x 50 ml H₂O. Det kombinerede filtrat og vaskevæsker lagdeltes med 500 ml ethylacetat, og under omrøring indstilledes pH-værdien til 1,5 ved tilsætning af 2N HCl. Lagene adskiltes, og det vandige lag mættedes med natriumsulfat. Der gnekstraheredes med 2 x 400 ml ethylacetat, og de forenede ethylacetatekstrakter tørredes over natriumsulfat i ½ time ved 5^o. Natriumsulfatet fjernedes ved filtrering, og filtratet inddampedes under reduceret tryk til en remanens. Denne remanens opløstes i 160 ml acetone og 160 ml diethylether, og 50 vægtprocent kalium-2-ethylhexanoat i n-butanol tilsattes, indtil opløsningen var neutral for fugtigt pH-papir. Kaliumsaltet af BL-P2013 udkrystalliserede, opsamledes ved filtrering, vaskedes med diethylether og tørredes. Udbyttet var 16 g kalium-2β-chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2013) (76%), smp. 202^o. IR- og NMR-spektrene var konsistente for den ønskede struktur.

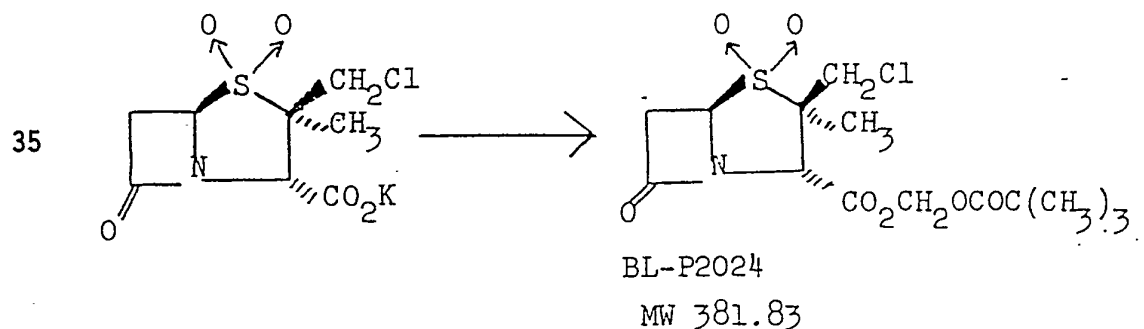
25 Analyse beregnet for C₈H₉ClKNO₅S:

C: 31,42, H: 2,97, N: 4,58,

Fundet: C: 31,18, H: 2,98, N: 4,51, H₂O: 0,93.

Eksempel 14

30 Pivaloyloxymethyl-2β-chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2024)



Til en omrørt suspension af 14,6 g (0,0487 mol) kalium-2 β -chlor-methyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2013) i 200 ml acetone sattes 4 ml af en 10% vandig opløsning af natriumiodid, og blandingen bragtes til tilbagesvaling på dampbad. Til denne under tilbagesvaling
5 værende suspension sattes 14,8 ml (0,1 mol) redestilleret chlormethyl-pivalat (kgp. 34⁰C ved 7 mm Hg) på én gang. Blandingen omrørtes under tilbagesvaling i tre timer og afkøledes så til stuetemperatur (22⁰C). De krystallinske faststoffer opsamledes ved filtrering, vaskedes med 3 x 30 ml acetone, og de forenede filtrater inddampedes til en olie under
10 reduceret tryk ved <22⁰C. Olien optoges dernæst i 500 ml ethylacetat og vaskedes én gang med vand (200 ml) og én gang med mættet Na₂SO₄-opløsning (200 ml). Opløsningen tørredes derefter kort over Na₂SO₄, medens den omrørtes med 2 g affarvende carbon under afkøling (isbad). Efter 20 minutter filtreredes blandingen gennem en "Celite" pude, og
15 puden vaskedes med 4 x 100 ml ethylacetat. De forenede filtrater koncentreredes under reduceret tryk ved 22⁰C til en olie. Olien koncentreredes så yderligere ved ca. 22⁰C og <1 mm Hg til fjernelse af det meste af det tilbageværende chlormethylpivalat. Den resterende olie tritureredes dernæst to gange med 50 ml portioner n-pentan og henstod så
20 weekenden over ved ca. 10⁰C under n-pentan. Den resulterende faste krystallinske masse blev så brudt op til et pulver med 40 ml af en 4:1 blanding af diethylether-n-pentan. Produktet opsamledes ved filtrering, vaskedes med diethylether-n-pentan (1:1), derefter n-pentan og lufttørredes. Efter tørring under højvakuum i fire timer over P₂O₅
25 opnåedes 13,37 g pivaloyloxymethyl-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (BL-P2024) ca. (75%), smp. 93-95⁰C.

Rensning af BL-P2024

Ca. 3 g rå BL-P2024 (opnået som beskrevet ovenfor) opløstes i 5 ml
30 ethylacetat, anbragtes på en 4,5 x 40 cm søjle af silicagel ("Mallinckrodt CC-7") og elueredes med 4:1 v/v CH₂Cl₂-ethylacetat. Fraktionerne, der indeholdt en enkelt plet ved R_f 0,84 (TLC på silica-gelplader med 4:1 CH₂Cl₂-ethylacetat, I₂ påvisning) forenedes og koncentreredes under reduceret tryk til 1,38 g af et krystallinsk faststof.
35 En portion af dette materiale (900 mg) opløstes i 5 ml ethylacetat; den resulterende opløsning filtreredes, fortyndedes næsten til uklarhedspunktet med petroleumsether ("Skellysolve B") og opbevarede så ved stuetemperatur i tre dage. De krystaller, der dannedes, opsamledes ved

filtrering, vaskedes med petroleumsether og tørredes til dannelse af 560 mg, smp. 100-101⁰, rensat BL-P2024.

Analyse beregnet for C₁₄H₂₀ClNO₇S:

C: 44,03, H: 5,27, N: 3,67,

5 Fundet: C: 44,11, H: 5,08, N: 3,85.

Alle temperaturer i denne ansøgning anføres i grader Celsius.

Eksempel 15

Fremstilling af ammoniumsaltet af BL-P2013

10 1. Den frie syre af BL-P2013 (250 ml) opløst i 20 ml acetone-
-methanol (1:1 volumen) filtreredes til fremstilling af en klar opløs-
ning.

2. Vandfri ammoniumopløsning fremstilledes ved tilsætning af 1 ml
ammoniumhydroxid (30%, reagenskvalitet) til 10 ml acetone-methanol (1:1
15 volumen) opløsningsmiddel, og derpå tilsattes 1 g vandfri magnesiumsul-
fat til denne opløsning under mild omrøring, og blandingen filtreredes
gennem filterpapir; filtratet betegnedes "vandfri ammoniumopløsning".

3. Til filtratet ifølge trin 1 sattes gradvis ca. 2 ml "vandfri
ammoniumopløsning", og der blandedes godt.

20 4. En 100 ml portion diethylether blandedes med blandingen fra trin
3 til udfældning af ammoniumsaltet af BL-P2013.

5. Det hvide ammoniumsalt isoleredes fra opløsningsmidlet og
vaskedes med to portioner på hver 50 ml diethylether.

6. Det isolerede pulver tørredes ved 35⁰C i vakuumovn natten over.

25 7. Analysedata var som følger:

Beregnet % C: 33,7, H: 4,6, N: 9,8,

Fundet: C: 33,66, H: 4,63, N: 10,12, tør ved KF.

Mikroskopisk undersøgelse: Krystallinsk substans.

30 Eksempel 16

Fremstilling af non-hygroskopisk natriumsalt af BL-P2013

1. 50 mg af den frie syre af BL-P2013 opløstes i 4 ml acetone-
-methanol (1:1 volumen) blanding. Der filtreredes til opnåelse af en
klar opløsning.

35 2. Natrium-2-ethylhexanoatopløsning fremstilledes ved opløsning af
40 mg natrium-2-ethylhexanoat i 10 ml acetone-methanol (1:1 volumen)
blanding.

3. Til filtratet ifølge trin 1 sattes 10 ml opløsning ifølge trin

2, og der blandedes godt.

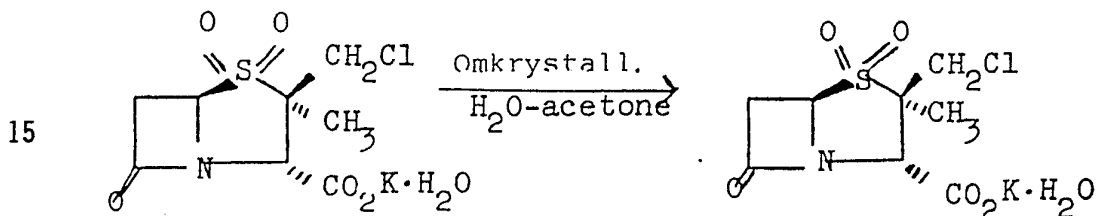
4. En 10 ml portion diethylether blandedes med blandingen ifølge trin 3 til bundfældning af natriumsaltet af BL-P2013.

5. Det hvide salt nedsænkedes i diethyletheren i 1-2 timer og isoleredes derpå fra opløsningsmidlet og vaskedes med tre portioner på hver 5 ml diethylether.

6. Det isolerede pulver tørredes ved 30°C i vakuumovn natten over.

Eksempel 17

10 OmkrySTALLISATION af BL-P2013



20 BL-P2013 (400 mg) opløstes i en minimal mængde acetone-H₂O (1:1) volumen og fortyndedes med 10 ml acetone, filtreredes, fortyndedes så med acetone til ca. 25 ml, skrabadet, og efter 30 minutter opsamledes det krystallinske hydrat ved filtrering, vaskedes godt med acetone, lufttørredes og vakuamtørredes så ved <1 mm Hg natten over. Udbytte 280

25 mg.

Analyse beregnet for C₈H₉ClNOSK.H₂O:

C: 29,67, H: 3,39, N: 4,63, Cl: 10,94, H₂O: 5,55,

Fundet:

C: 29,32, H: 3,32, N: 4,44, Cl: 11,31, H₂O: 5,90.

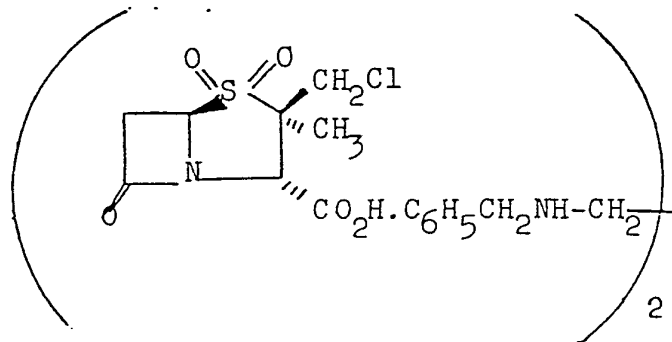
30

35

Eksempel 18N,N'-dibenzylethyldiaminsalt af BL-P2013)

5 Omkrystall.
Acetone-ether

10



306 mg (0,001 mol) BL-P2013 opløstes i 7 ml H₂O og sættes til en op-
 15 løsnig af 180 mg (0,0005 mol) N,N'-dibenzylethyldiamindiacetat i 7 ml
 H₂O. Blandingen omrørtes, og saltet krystalliserede, og efter omrøring i
 ca. 10-15 minutter opsamledes saltet ved filtrering og lufttørredes til
 dannelse af N,N'-dibenzylethyldiaminsaltet af BL-P2013 (300 mg).
 Materialet rekrystalliseredes ved opløsning i ca. 10 ml kogende acetone
 20 og fortynding med ether til uklarhedspunktet. 260 mg lufttørret og
 vakuamtørret materiale opnåedes.

Analyse beregnet:

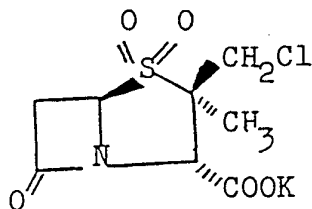
C: 51,69, H: 5,42, N: 7,53, Cl: 9,55,

Fundet:

25 C: 49,39, H: 5,49, N: 7,05, Cl: 8,96, H₂O: 1,23 (KF).

Eksempel 19Chlormethylester af BL-P2013

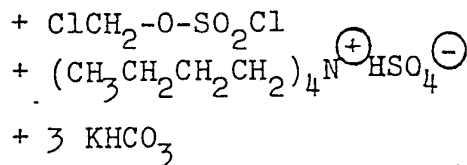
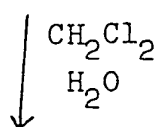
30

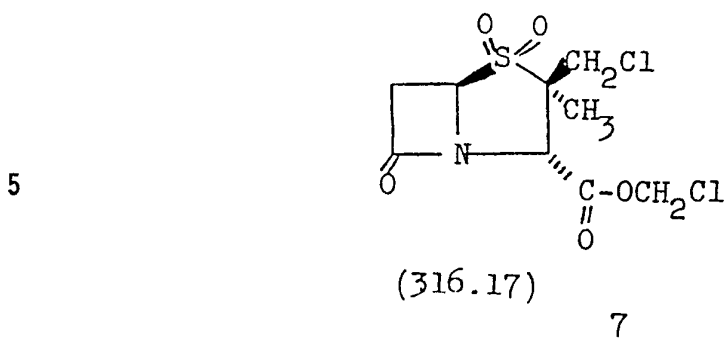


(305.7)

35

5





10 Til en kraftigt omrørt blanding af 15,25 g (0,05 mol) BL-P2013 (5), 15 g (0,15 mol) KHCO_3 og 1,7 g (0,005 mol) tetrabutylammoniumhydrogensulfat (Aldrich Chem. Co.) i en blanding af 50 ml vand og 50 ml CH_2Cl_2 sattes dråbevis en opløsning af 9,5 g (0,0575 mol) $\text{ClCH}_2\text{-O-SO}_2\text{Cl}$ i 40 ml CH_2Cl_2 . Temperaturen steg til 26°C og efter tilsætningen

15 (som tog ca. 15 minutter), omrørtes blandingen i yderligere 30 minutter. Fordi produktet udkrystalliserede, tilsattes mere CH_2Cl_2 (ca. 400 ml) til opnåelse af en opløsning. Det fraskilte CH_2Cl_2 -lag og en 50 ml CH_2Cl_2 -vaskevæske forenedes, tørredes over MgSO_4 under omrøring, og 2 g affarvende carbon ("Darco KB") tilsattes. Efter ca. 30 minutter filtreredes blandingen, koncentrerredes til ca. 50 ml, og isopropylalkohol (150 ml) tilsattes. Resten af CH_2Cl_2 fjernedes derpå under reduceret tryk. Det resulterende krystallinske bundfald opsamledes ved filtrering, vaskedes godt med isopropylalkohol og lufttørredes. Efter vakuumtørring ved mindre end 1 mm Hg opnåedes 8,5 g chlormethyl-2 β -chlormethyl-2-methylpenam-3-carboxylat-sulfon (7), smp. 116° (dek., mørkfarves over 100°C).

25

Analyse beregnet for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}_5\text{S}$:

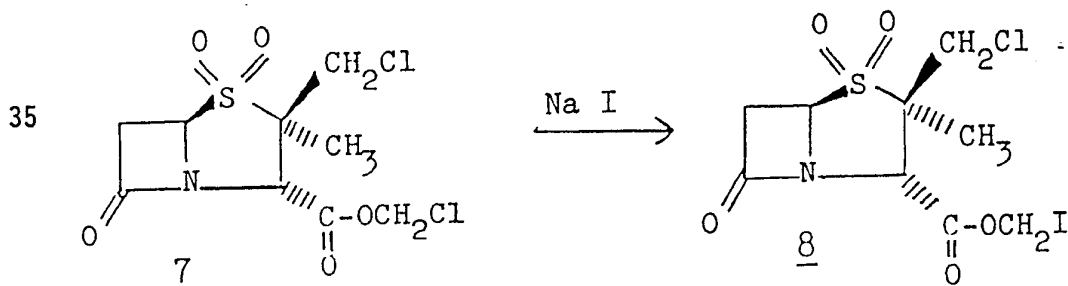
C: 34,18, H: 3,51, N: 4,43, Cl: 22,43,

Fundet:

C: 34,16, H: 3,45, N: 4,47, Cl: 22,46, H_2O : 0,33 (KF).

30 Anslået renhed i området 90-95%.

Iodmethyl ester af BL-P2013

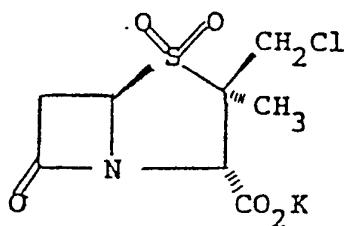


Til en omrørt blanding af 5 g (0,0159 mol) chlormethylester af BL-P2013 (7) i 25 ml acetone sættes 3 g (0,02 mol) natriumiodid. Den resulterende opslæmning omrørtes i 17 timer og afkøledes derpå til ca. 0°C. To dråber mættet vandig KHCO_3 tilsattes, og blandingen fortyndedes
5 langsomt dråbevis med vand i løbet af 10 minutter, indtil 50 ml var blevet tilsat. Opslæmningen undergik et pludseligt farveskift fra gul til grå til violet til sort, og krystallerne opsamledes derfor øjeblikkeligt ved filtrering og vaskedes med koldt acetone-vand (1:2), derpå isopropylalkohol (3 x 10 ml), så diethylether og endelig n-pentan og lufttør-
10 redes til dannelse af et udbytte på 5,55 g (91% udbytte) af iodmethylesteren af BL-P2013 (8). Smp. 118-119°C under dekomponering. Renheden ansloges til ca. 90%.

Biologiske data

15 Produktet fra eksempel 1, forbindelse 5 med strukturen

20



vil i det følgende blive omtalt som BL-P2013.

Selv om BL-P2013 i bedste fald i sig selv er et meget svagt
25 antibakterielt middel, hæmmer det β -lactamaser og beskytter ceforanid og amoxicillin mod ødelæggelse af β -lactamaseproducerende bakterier in vitro og in vivo ved anvendelse i kombination med disse to midler.

TABEL I

Antibakteriel aktivitet af ny sulfon

5	Organisme		MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
			BL-P2013	Ampicillin
	<i>S. pneumoniae</i>	A-9585	16	0,004
	<i>S. pyogenes</i>	A-9604	63	0,004
10	<i>S. aureus</i>	A-9537	>125	0,16
	<i>S. aureus</i> + 50% serum	A-9537	>125	0,06
	<i>S. aureus</i> Pen-Res	A-9606	>125	>125
	<i>S. aureus</i> Meth-Res	A15097	>125	125
	<i>S. faecalis</i>	A20688	>125	0,13
15	<i>E. coli</i>	A15119	>125	1
	<i>E. coli</i>	A20341-1	>125	>125
	<i>K. pneumoniae</i>	A15130	>125	125
	<i>K. pneumoniae</i>	A20468	>125	>125
	<i>P. mirabilis</i>	A-9900	>125	0,13
20	<i>P. vulgaris</i>	A21559	>125	125
	<i>P. morgani</i>	A15153	>125	>125
	<i>P. rettgeri</i>	A21203	>125	4
	<i>S. marcescens</i>	A20019	>125	16
	<i>E. cloacae</i>	A-9659	>125	63
25	<i>E. cloacae</i>	A-9656	>125	>125
	<i>P. aeruginosa</i>	A-9843A	>125	>125
	<i>P. aeruginosa</i>	A21213	>125	>125

TABEL II
Anti-bakteroid aktivitet af ceforanid og amoxicillin
alene og i kombination med BL-P2013

Organisme	β-lact- amase	MIC (µg/ml)*				
		Cefor- anid	Ceforanid +BL-P2013 (1:1)	BL-P 2013	Amoxicillin +BL-P2013 (1:1)	Amoxicillin
B. fragilis						
A21916	+	63	2	>125	2	8
A22053	+	32	4	63	2	8
A22021	+	32	2	32	2	4
A21875	+	32	4	63	2	8
A22534	+	>125	32	125	16	>125
A22697	+	63	8	63	2	8
A22693	+	63	4	63	2	16
A22694	+	125	16	63	2	16
A22695	+	>125	16	32	4	125
A22696	+	>125	32	63	8	>125
A22533	+	>125	32	32	32	>125
A22535	+	>125	32	125	32	>125

TABEL II (fortsat)
Anti-bakteroid aktivitet af ceforanid og amoxicillin
 alene og i kombination med BL-P2013

Organisme	β-lact- amase	MIC (µg/ml)*				
		Cefor- anid	Ceforanid +BL-P2013 (1:1)	BL-P 2013	Amoxicillin +BL-P2013 (1:1)	Amoxicillin
A22792	+	>125	8	32	4	125
A22793	+	32	4	32	2	8
A22794	+	32	4	32	2	8
A22795	+	63	4	32	4	16
A22797	+	63	4	63	2	16
A22798	+	32	4	63	2	8
B. thetaiotaomicron						
A22277	+	125	4	63	2	16
A22279	+	125	8	63	4	16
Bacteroides species						
A20934	+	32	4	32	2	8
A21959	+	63	4	32	2	16
A20929	+	63	4	32	2	16

TABEL II (fortsat)
Anti-bakteroid aktivitet af ceforanid og amoxicillin
 alene og i kombination med BL-P2013

Organisme	β-lact- amase	MIC (µg/ml)*				
		Cefor- anid	Ceforanid +BL-P2013 (1:1)	BL-P 2013	Amoxicillin +BL-P2013 (1:1)	Amoxicillin
A21954	+	63	<u>16</u>	63	2	16
A20933	+	63	<u>16</u>	63	<u>4</u>	8
A20930	+	125	<u>8</u>	125	<u>4</u>	32
A20931	+	63	<u>4</u>	32	<u>2</u>	16
A20927-1	+	0,5	1	63	0,13	0,13
A20935	+	2	2	125	0,13	0,13

— God synergi

--- Marginal synergi

* Minimum inhibitorisk koncentration (MIC) bestemt ved agarfortyndingsmetoden under anvendelse af 50 x fortyndinger af 24 timer kulturer som inocula dispenseret ved hjælp af Steer's inokulator. Prøvemedium bestod af Brucella Agar plus 5% "laked" fåreblod og 10 µg/ml vitamin K.

TABEL III
Terapeutisk effektivitet af amoxicillin i kombination med
BL-P2013 i mus der eksperimentelt var inficeret med en
 β -lactamase-stamme af Staphylococcus aureus

Organisme	Angreb (antal organismer)	PD ₅₀ /Behandling (mg/kg)					
		Amoxicillin (A)		BL-P2013 (B)		A + B (1:1)	
		IM	PO	IM	PO	IM	PO
S. aureus	5 x 10 ⁸	>800	>800	>50	>200	6,3	44
	A-9606	5 x 10 ⁸	>800	>800	>200	19	77
	7 x 10 ⁸	>800	-	>50	-	9,6	-

Behandlingsskema: Testforbindelser administreret 0 og 2 timer efter infektion.

TABEL IV
Blodspejlsværdier af BL-P2013 og dens pivaloyloxymethylester
(BL-P2024) efter oral administrering i mus

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Blodspejlsværdi (µg/ml)						Halveringstid (minutter)	Prøveorganisme
		15	30	60	90	120	150		
BL-P2013	100	4,5	5,1	3,9	2,3	1,5	0,8	50	E.coli A-9675
	100	4,6	4,1	3	<2,6	<2,6	<2,6	-	S.aureus A-9606
	200	7,4	9,8	7,1	4,1	2,8	<2,6	50	S.aureus A-9606
	100	12,8	12,9	9,7	7,2	5,5	4,2	70	E.coli A-9675
	100	13,1	12	8	5,7	3,8	<2,5	60	S.aureus A-9606
	200	14,7	14,4	9,8	8,7	5,1	<2,5	60	S.aureus A-9606

Værdierne er gennemsnittet af to til fire tests.

TABEL V
Blodspejlsværdier og halveringstider for BL-P2024 efter
oral administrering af forskellige doser til mus

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Blodspejlsværdi (µg/ml)					Halveringstid (minutter)	
		15	30	60	90	120		
		Minutter efter administrering						
	25	5,9	6,2	3,6	1,9	1,3	0,7	40
BL-P2024	50	7,7	9,5	6,3	4,7	3,5	2,3	60
	100	12,3	12,2	9,4	7,2	5,7	4,6	85
	200	14,7	14,4	9,8	8,7	5,1	<2,5	60

37

BL-P2024 suspenderedes i "Tween"-CMC-vand.

Værdierne er gennemsnit af 2 forsøg for 25 og 50 mg/kg dosis, 5 til 6 forsøg for 100 mg/kg dosen og 2 til 3 forsøg for 200 mg/kg dosen.

Prøveorganisme: E. coli A9675 for alle doser med undtagelse af 200 mg/kg BL-P2024 (S. aureus A9606)

Tabel VI

Terapeutisk effektivitet af amoxicillin i kombination med BL-P2013 i mus

der var eksperimentelt inficeret med β -lactamase-producerende stammer af S.aureus og E.coli

Organisme	Angreb (antal organismer)	PD ₅₀ /Behandling (mg/kg)						BL-P 2013
		Amoxi- cillin	4:1	2:1	1:1	1:2	1:4	
S. aureus	7 x 10 ⁸	>200	>200:>50	44:22	33:33	38:76	25:100	>200
A9606	2 x 10 ⁹	>800		33:17	14:14	10:20		>200
S. aureus	4 x 10 ⁸	>200	132:66	78:39	44:44			>200
A15091	5 x 10 ⁸	>800		114:57	100:100	66:132		>200
S. aureus	6 x 10 ⁸	>200	174:44	44:22	25:25	22:44	19:76	174
A20379	5 x 10 ⁸	>200		50:25	43:43	35:70		>200
E. coli	5 x 10 ⁵	>200	25:6,3	11:5,5	11:11			>200
A20649	6 x 10 ⁵	>200	20:5	8:4	6:6	10:20	63:25	>200
E. coli	7 x 10 ⁵	>200	6:1,5	6:3	5:5			>200
A21223	6 x 10 ⁵	>200	8:2	6:3	6:6	4:8	3,5:14	>200
	7 x 10 ⁵	>200		7:3,5				>200

Tabel VI (fortsat)
 Terapeutisk effektivitet af amoxicillin i kombination med BL-P2013 i mus
 der var eksperimentelt inficeret med β -lactamase-producerende stammer af *S. aureus* og *E. coli*

Organisme	Angreb (antal organismer)	PD ₅₀ /Behandling (mg/kg)						BL-P 2013
		Amoxi- cillin	4:1	2:1	1:1	1:2	1:4	
<i>E. coli</i>	8 x 10 ⁵	>200	8:2	6:3	3:3	4:8	4:16	>200
A9675	7 x 10 ⁵	>100	10:2,5	6:3	7:7	2,5:5		>100
	6 x 10 ⁵	>400	13:3,3	6:3	5:5	5:10		>200

Behandlingsskema: Testforbindelser blev administreret oralt ved 0 og 2 timer efter infektion.

Testforbindelser var suspenderet i TCMC.

TABEL VII

Terapeutisk effektivitet af amoxicillin i forskellige kombinationer med pivaloyloxymethylesteren (BL-P2024) af BL-P2013 i mus der var eksperimentelt inficeret med β -lactamase-producerende stammer af *S. aureus* og *E. coli*

Organisme	Angreb (antal organismer)	Bæremiddel** for testforbindelsen	PD ₅₀ /Behandling (mg/kg)*			
			Amoxi-cillin	Amoxicillin:BL-P2024	BL-P2024	
<i>S. aureus</i> A15091	5 x 10 ⁸	TCMC	>800	66:33	57:57	>200
<i>S. aureus</i> A20379	5 x 10 ⁸	TCMC	>800	12:6	9:9	200
<i>E. coli</i> A9675	9 x 10 ⁵	50% DMSO	>100	12:12	6:3	3:3
<i>E. coli</i> A9675	7 x 10 ⁵	50% DMSO	>100	10:2,5	7:3,5	4:4
<i>E. coli</i> A9675	7 x 10 ⁵	TCMC	>100	8:2	6:3	5:5
<i>E. coli</i> A9675	6 x 10 ⁵	TCMC	>400	9,2:2,4	7:3,5	7:7

* Mus behandlet oralt ved 0 og 2 timer efter infektion.

** Amoxicillin:BL-P2024 kombinationer var opløselige i 50% DMSO. Amoxicillin var opløselig i TCMC (vand "Tween"-carboxymethylcellulose), hvorimod BL-P2024 administreredes som en suspension i dette bæremiddel.

TABEL VIII
Orale muse-blodspjelsværdier for BL-P2036 og BL-P2013 eller BL-P2024
 Forsøg nr. 1

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Blodspjelsværdier (µg/ml)					
		15	30	60	90	120	150
		Minutter efter administrering					
BL-P2036	25	1,7 (1,3 - 2,3)	2,3 (2 - 2,6)	0,9 (0,6 - 1,3)	<0,6	<0,6	<0,6
BL-P2036	50	2,8 (1,6 - 4,8)	3,3 (2 - 5,3)	2,5 (1,2 - 5,3)	1,3 (0,7 - 2,4)	0,8 (0,5 - 1,5)	<0,6
BL-P2036	100	3,6 (2,6 - 4,9)	3,9 (2,9 - 5,1)	3,2 (2,4 - 4,4)	2 (1,5 - 2,7)	1,5 (1,1 - 2,1)	0,8 (0,7 - 1,0)
BL-P2013	25	1,3 (1,1 - 1,6)	1,4 (1,2 - 1,6)	1,0 (0,8 - 1,2)	<0,6	<0,6	<0,6
BL-P2013	50	2,2 (1,8 - 2,7)	2,6 (2,1 - 3,2)	1,9 (1,4 - 2,6)	1,5 (1,1 - 2,1)	1,1 (0,8 - 1,4)	0,8 (0,5 - 1,3)
BL-P2013	100	3,4 (2,1 - 5,4)	4,5 (3,6 - 5,7)	3,9 (3,4 - 4,6)	3,6 (2,5 - 5)	2,7 (1,7 - 4,3)	2,1 (1,4 - 3,2)

Forbindelser fremstillet i "Tween"-CMC-H₂O.

Værdierne i parentes er 95% konfidensgrænser

Testforbindelse: E. coli A9675 (pH = 6,6, 0,1% inoculum)

Forsøg nr. 3

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Blodspejlsværdier (µg/ml)					
		15	30	60	90	120	150
		Minutter efter administrering					
BL-P2013	25	1,4 (1,1 - 1,9)	2,0 (1,5 - 2,6)	1,4 (0,9 - 2,1)	1,2 (0,6 - 2,3)	<1,2	<1,2
BL-P2013	50	4,6 (3 - 6,9)	5,5 (3 - 10,1)	3,6 (2 - 6,4)	3,1 (1,7 - 5,7)	2 (0,8 - 5)	1,1 (0,8 - 1,5)
BL-P2013	100	6,8 (4,8 - 9,6)	11,5 (7,3 - 18)	6,4 (3,2 - 12,8)	4,2 (2,1 - 8,6)	3,3 (1,4 - 7,6)	2,5 (0,7 - 8,9)
BL-P2036	25	4,3 (2,9 - 6,5)	4,5 (2,2 - 9,2)	3,5 (1,7 - 7,2)	2,5 (1,3 - 4,8)	2,2 (1 - 4,9)	2,0 (1 - 3,7)
BL-P2036	50	4,6 (2,3 - 9,2)	4,8 (3,3 - 7,1)	3,5 (1,8 - 7)	2,2 (1,2 - 4)	1,9 (1,2 - 3)	1,8 (0,3 - 4,6)
BL-P2036	100	7,1 (3,1 - 16,2)	6,7 (3,6 - 12,3)	5,8 (3,9 - 8,5)	4,3 (3 - 6)	4 (2,8 - 5,6)	2,7 (1,8 - 4)

Forbindelser fremstillet i 5% propylenglycol & "Tween"-CMC-H₂O.

Værdierne i parentes er 95% konfidensgrænser

Testforbindelse: E. coli A9675 (pH = 6,6, 0,1% inoculum)

De omhandlede forbindelser er således værdifulde, indgivet oralt og parenteralt, til forbedring af effektiviteten af β -lactam-antibiotika over for β -lactamase-producerende bakterier. På vægtbasis er doseringen fra 1/5 til 5 gange, og fortrinsvis lig med doseringen af β -lactam-antibiotiket. Eksempelvis forbedrede de omhandlede forbindelser som vist ovenfor anvendt i et 1:1 forhold markant aktiviteten af ceforanid og amoxicillin over for β -lactamase-producerende stammer af anaerobe bakteroider, såsom *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* og andre arter af denne slægt og også over for resistent *Staphylococcus aureus*. De omhandlede forbindelser indgives enten i blanding med eller samtidig med β -lactam-antibiotiket med en dosis inden for det angivne forhold sammen med den kendte eller sædvanlige dosis af antibiotiket.

De omhandlede forbindelsers evne til at forøge effektiviteten af et β -lactam-antibiotikum over for visse β -lactamase-producerende bakterier gør dem således værdifulde til coadministrering med visse β -lactam-antibiotika til behandling af bakterielle infektioner i mennesker og pattedyr. Ved behandlingen af en bakteriel infektion kan en forbindelse ifølge opfindelsen sammenblandes med β -lactam-antibiotiket, og de to midler herved administreres samtidigt. Alternativt kan en forbindelse ifølge opfindelsen administreres som et separat middel under et behandlingsforløb med et β -lactam-antibiotikum.

Når en forbindelse ifølge opfindelsen eller et salt deraf anvendes til forøgelse af den antibakterielle aktivitet af et β -lactam-antibiotikum, kan den administreres alene eller fortrinsvis formuleret med standard farmaceutiske bærere og fortyndingsmidler. En forbindelse ifølge opfindelsen, som er på syreform eller som et farmaceutisk acceptabelt salt deraf, kan administreres oralt eller parenteralt. En forbindelse ifølge opfindelsen i form af en ester, som er let hydrolyserbar in vivo, administreres bedst oralt. Parenteral administrering omfatter intramuskulær, subkutan, intraperitoneal og intravenøs administrering.

Når en forbindelse ifølge opfindelsen anvendes i nærværelse af en bærer eller et fortyndingsmiddel, vælges bæreren eller fortyndingsmidlet på basis af den tilsigtede administreringsmåde. Ved oral administrering kan forbindelsen f.eks. anvendes i form af tabletter, kapsler, sugetabletter, pastiller, pulvere, sirupper, eliksirer, vandige opløsninger og suspensioner, og lignende, i overensstemmelse med standard farmaceutisk praksis. Forholdet mellem aktive bestanddele og bærer vil naturligvis afhænge af den kemiske natur, oplø-

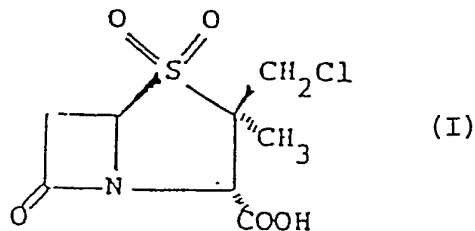
selighed, stabilitet og styrke af de aktive bestanddele samt af den tilsigtede dosis. Disse farmaceutiske præparater vil dog sandsynligvis indeholde fra ca. 5% til ca. 80% af bærer. I tilfælde af tabletter til oral brug omfatter sædvanligt anvendte bærere lactose, 5 natriumcitrat og salte af phosphorsyre. Forskellige disintegreringsmidler, såsom stivelse, og smøremidler, såsom magnesiumstearat, natriumlaurylsulfat og talkum, anvendes almindeligt i tabletter. Til oral administrering på kapselform er værdifulde fortyndingsmidler lactose og højemolekylære polyethylenglycoler. For vandige suspensioner til 10 oral brug kombineres de aktive bestanddele med emulgerings- og suspenderingsmidler. Om ønsket kan tilsættes visse søde- og/eller duftstoffer. Til parenteral administrering, som omfatter intramuskulær, intraperitoneal, subkutan og intravenøs brug, fremstilles sædvanligvis sterile opløsninger af de aktive bestanddele, og pH-værdi 15 en af opløsningen indstilles passende og forpufres. Til intravenøs brug bør den totale koncentration af opløste stoffer kontrolleres således, at præparatet bliver isotonisk.

Selv om den ordinerende læge i sidste instans bestemmer den dosis, der skal anvendes for et menneskeligt individ, vil forholdet for de daglige doser mellem en forbindelse ifølge opfindelsen eller et salt deraf 20 og β -lactam-antibiotiket normalt være i området fra ca. 1:5 til 5:1, og fortrinsvis ca. 1:1. Yderligere vil den daglige orale dosis af hver komponent normalt være i området fra ca. 10 til ca. 200 mg pr. kg legemsvægt, og den daglige parenterale dosis af hver komponent vil normalt 25 være ca. 10 til ca. 100 mg pr. kg legemsvægt. Disse tal tjener kun til at belyse opfindelsen, og det kan i nogle tilfælde være nødvendigt at anvende doser uden for disse grænser.

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåde til fremstilling af 2 β -chlormethyl-2 α -methylpenam-3 α -carboxylsyresulfon med formlen

5

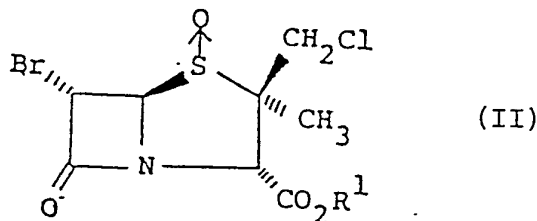


10

et farmaceutisk acceptabelt salt af syren eller en fysiologisk hydrolyserbar ester af syren, KENDETEGNET ved, AT man i rækkefølge

a) katalytisk hydrogenerer en ester med formlen

15



20

hvor R^1 betegner benzyl eller substitueret benzyl og dernæst

b) underkaster det hydrogenerede produkt oxidation til fremstilling af den ønskede syre eller et salt deraf og dernæst om ønsket

c) esterificerer syren eller et salt deraf til dannelse af en
25 fysiologisk hydrolyserbar ester af syren.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, KENDETEGNET ved, AT der fremstilles en pivaloyloxymethylester.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1-2, KENDETEGNET ved, AT hydrogeneringen udføres med en palladiumkatalysator.

30 4. Fremgangsmåde ifølge krav 1-2, KENDETEGNET ved, AT oxidationen udføres med et alkalimetallpermanganat eller en organisk persyre.

35