



(11) FREMLÆGGESESSKRIFT 142990

DANMARK

(61) Int. Cl.<sup>3</sup> C 07 D 498/04



(21) Ansøgning nr. 4573/76 (22) Indleveret den 12. okt. 1976

(24) Løbedag 12. okt. 1976

(44) Ansøgningen fremlagt og  
fremlæggeskriftet offentliggjort den 9. mar. 1981

DIREKTORATET FOR  
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(30) Prioritet begæret fra den  
13. okt. 1975, 41889/75, GB

---

(71) BEECHAM GROUP LIMITED, Beecham House, Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9BD, GB.

(72) Opfinder: Thomas Trefor Howarth, Little Yard Cottage, North Breache Lane, Ewhurst, Surrey, GB: Irene Stirling, 147 Vale Road, Worcester Park, Surrey, GB: David Francis Corbett, 80 Firtree Walk, Reigate, Surrey, GB.

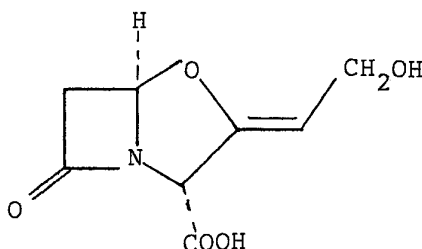
(74) Fuldmægtig under sagens behandling:  
Plougmann & Vingtoft Patentbureau.

---

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af antibakterielt virksomme aldehydderivater af clavulansyre.

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte  $\beta$ -lactamringholdige forbindelser, nemlig aldehydderivater af clavulansyre, med hvilke der kan fremstilles farmaceutisk aktive præparater.

I belgisk patentskrift nr. 827.926 er bl.a. beskrevet clavulansyre, som er en forbindelse med formelen I

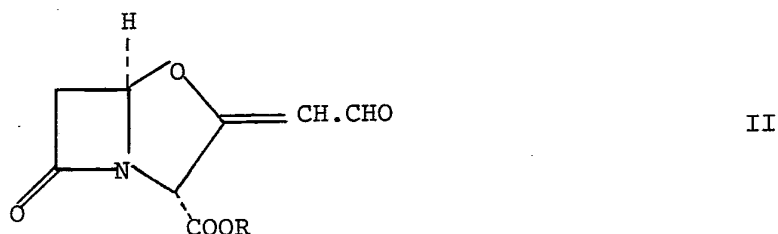


I

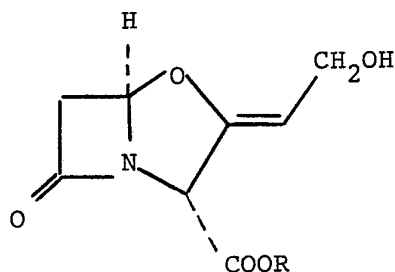
samt salte og estere deraf.

Clavulansyre og salte og estere deraf kan inhibere  $\beta$ -lactamaser fra en række bakterier, og på grund af denne nyttige virkning er de i stand til at forøge penicilliners og cephalosporinernes virkning mod mange grampositive og gramnegative bakterier. Det har nu vist sig, at de nedenfor definerede derivater af clavulansyre også har nyttig  $\beta$ -lactamase-inhiberende virkning.

Den foreliggende opfindelse bygger på denne erkendelse og angår en fremgangsmåde til fremstilling af de hidtil ukendte forbindelser med den almene formel II



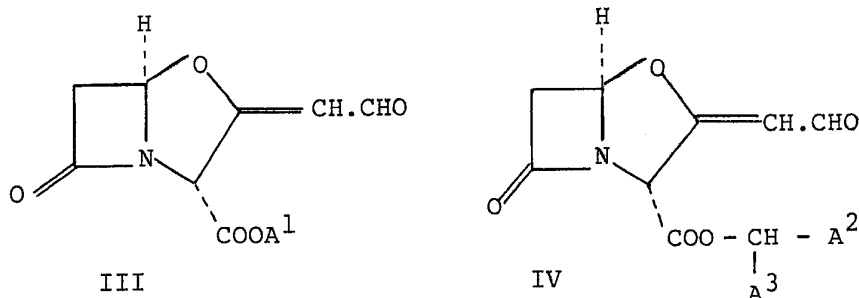
hvor R betegner  $A^1$  eller  $CHA^2A^3$ , hvor  $A^1$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, som eventuelt er substitueret med halogen,  $OA^4$ ,  $OCOA^4$  eller  $COA^4$ , hvor  $A^4$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, eller phenyl;  $A^2$  betegner hydrogen, alkyl med højst 4 carbonatomer eller phenyl, som eventuelt er substitueret med halogen,  $A^5$  eller  $OA^5$ , hvor  $A^5$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer; og  $A^3$  betegner phenyl, som eventuelt er substitueret med halogen,  $A^6$  eller  $OA^6$ , hvor  $A^6$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at en forbindelse med den almene formel



hvor R har den ovenfor anførte betydning, oxideres.

En oxidationsproces som den her omhandlede er ikke tidligere blevet anvendt på antibakterielle midler, hvor aktiviteten er blevet beholdt.

De fremstillede forbindelser kan illustreres ved de almene formler III og IV



hvor  $A^1$ ,  $A^2$  og  $A^3$  har den ovenfor anførte betydning.

I nedenstående tabeller er angivet nogle repræsentative forbindelsers antibakterielle, henholdsvis synergistiske virkning. Den antibakterielle virkning udtrykkes som  $I_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), og den synergistiske virkning udtrykkes som den minimale inhiberende koncentration (MIC).

Tabel I.

Antibakteriel virkning.

$I_{50}$ -Værdi ( $\mu\text{g/ml}$ )  
Forbindelse II

	R = $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	R = $\text{CH}_3$
Enterobacter P99	0,24	-
Pseudomonas Aer. A	0,36	2,2
Proteus C889	0,46	2,0
Klebsiella E70	2,8	0,3
Escherichia coli JT4	0,06	0,6
Ps. Dalglish	0,10	0,4
Staphylococcus Russell	0,22	1,4

Tabel II.

## Synergisme.

R	Koncentration af inhibitor	MIC (ampicillin) mod Staph. aureus Russell	MIC (cephaloridin) mod E. coli JT410
	0	500	125
CH <sub>3</sub>	20	3,1	31
	100	1,5	31

Foretrukne forbindelser med den almene formel II omfatter methyl-, ethyl-, phenyl-, benzyl-, acetoxymethyl-, pivaloyloxymethyl-, phthalidyl-, benzhydryl-, methoxybenzyl-, dimethoxybenzhydryl-, allyl- og acetonylesterne.

Særlig foretrukne forbindelser er benzyl- og benzhydrylesterne, især benzylesteren, da denne forbindelse er særlig aktiv. En foretrukken udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen går derfor ud på, at benzylesteren fremstilles.

Med de omhandlede forbindelser kan der fremstilles farmaceutiske præparater, som indeholder en forbindelse med formelen II sammen med et farmaceutisk tolerabelt bærestof.

Det er særligt hensigtsmæssigt, at disse præparater indeholder mellem 50 og 1000 mg af forbindelsen med formelen II.

Om ønsket kan de omhandlede præparater også omfatte en penicillin eller en cephalosporin.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af forbindelserne med den almene formel II er som nævnt ejendommelig ved, at den tilsvarende ester af clavulansyre oxideres.

Oxidationen af esteren af clavulansyre foretages under milde oxidationsbetingelser, som omdanner den allyliske hydroxygruppe til en allylisk aldehydgruppe uden at oxidere dobbeltbindingen. Reaktionen udføres i et inert organisk opløsningsmiddel ved en ikke-ekstrem temperatur.

Egnede inerte organiske opløsningsmidler er sædvanlige carbonhydrid-, halogenerede carbonhydrid- eller etheropløsningsmidler.

Reaktionen kan bedst udføres ved en temperatur mellem  $-20$  og  $+50^{\circ}\text{C}$ , f.eks. mellem  $0$  og  $25^{\circ}\text{C}$  og særlig bekvemt ved stuetemperatur.

En af oxidationsmetoderne ifølge opfindelsen er ultraviolet bestråling af en tilsvarende ester af clavulansyre i nærværelse af oxygen.

Egnede strålingskilder er f.eks. middeltryksskviksløvdamplamper og lignende kilder.

Opløsningsmidlet til denne reaktion er hensigtsmæssigt et carbonhydrid såsom benzen, toluen eller andre sædvanlige opløsningsmidler, som anvendes ved fotolytiske reaktioner.

Reaktionen udføres hensigtsmæssigt ved stuetemperatur eller næsten stuetemperatur, f.eks. mellem  $10$  og  $25^{\circ}\text{C}$ .

En anden oxidationsform ifølge opfindelsen består i omsætning af en tilsvarende ester af clavulansyre og et oxidationsmiddel, som oxiderer en allylisk hydroxygruppe frem for en dobbeltbinding.

Oxidationsmidler, som fortrinsvis oxiderer en allylisk hydroxygruppe, er kendte for fagmanden og er f.eks. mangandioxid, sølvoxid og pyridiniumchlorchromat.

Mangandioxid er et bekvemt allylisk oxidationsmiddel. Pyridiniumchlorchromat er et særligt bekvemt allylisk oxidationsmiddel, som i praksis har vist sig at reagere bedst. En foretrukken variant af fremgangsmåden ifølge opfindelsen går derfor ud på, at der som oxidationsmiddel anvendes pyridiniumchlorchromat.

Egnede opløsningsmidler til denne reaktion omfatter halogenerede carbonhydrider såsom dichlormethan.

Reaktionen udføres hensigtsmæssigt ved omtrentlig stuetemperatur.

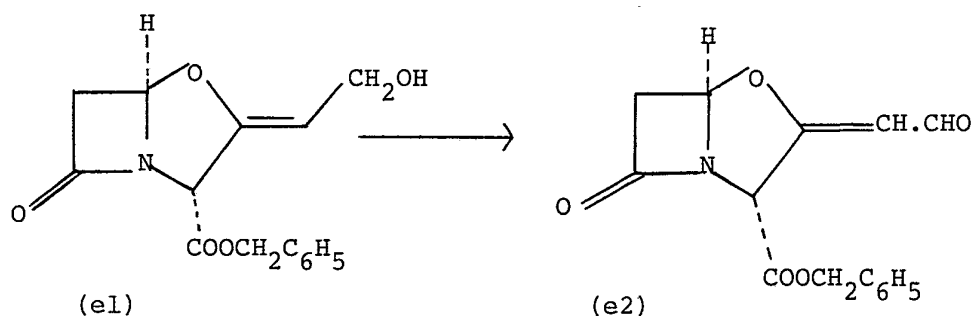
Forbindelsen med formlen II kan isoleres fra reaktionsblandingen ved fjernelse af tilstedeværende opløsningsmiddel og isolering

af forbindelsen med formel II fra den resulterende remanens. Opløsningsmidlet fjernes hensigtsmæssigt under reduceret tryk ved en ikke-ekstrem temperatur. Isoleringen af forbindelsen med formel II udføres på sædvanlig måde, f.eks. ved chromatografi.

Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse belyses nærmere ved nedenstående eksempler:

#### Eksempel 1.

Oxidation af benzyl-clavulanat ved fotolyse.



En opløsning af 300 mg af benzylesteren af clavulansyre (e1) i 80 ml benzen bestråles med en middeltryks-kviksølvlampe i en vandkølet quartz-kappe. Reaktionen følges ved tyndtlagschromatografi og hplc (højtryksvæskechromatografi) og viser sig at give to hurtigere løbende komponenter og en langsommere løbende komponent. Opløsningsmidlet fjernes efter endt reaktion (ca. 1 time), og den som remanens vundne olie fraktioneres på silicagel (eluering med ethylacetat og cyclohexan), og den langsomst løbende komponent ved tyndtlagschromatografi isoleres. IR-Spektret for dette stof i methylenchlorid viser absorption ved 1810, 1750, 1675, 1645 og  $1600\text{ cm}^{-1}$ , og NMR-spektret i  $\text{CDCl}_3$  viser et signal, som er karakteristisk for en aldehydisk proton. På basis af de spektrale data blev strukturen (e2) tillagt denne forbindelse.

## Eksempel 2.

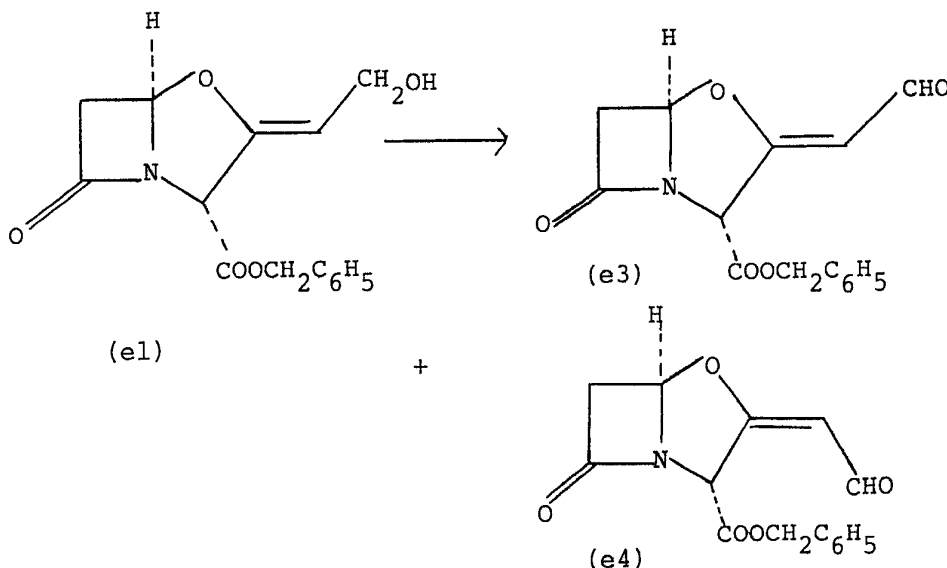
Oxidation af benzyl-clavulanat med mangandioxid.

100 mg af benzylesteren af clavulansyre (e1) opløses i 3 ml di-chlormethan, og der tilsættes 1 g aktivt mangandioxid (et velkendt oxidationsmiddel, jfr. f.eks. Fieser & Fieser, Reagents for Organic Synthesis, Vol. 1, side 636). Reaktionsblandingen lades henstå i 2 timer, hvorefter tyndtlagschromatografi viser, at der er indtrådt reaktion.

Reaktionsblandingen filtreres, og filtratet inddampes under reduceret tryk, hvorved der fås en olieagtig remanens, som chromatograferes på silicagel (gradienteluering med hexan og ethylacetat), hvorved der fås 15 mg af aldehydet (e2) i form af en farveløs olie. Det fremstillede aldehyd (e2) har samme fysiske data som det ifølge eksempel 3 fremstillede.

## Eksempel 3.

Oxidation af benzyl-clavulanat ved hjælp af pyridiniumchlorchromat.



0,75 g (2,6 millimol) benzyl-clavulanat (e1) i 10 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sættes på én gang til en suspension af 1,0 g (4,6 millimol) pyridiniumchlorchromat i 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Efter omrøring ved stuetemperatur i 20 minutter tilsættes 50 ml ether, og blandingen filtreres gennem

"Hyflo"® (diatoméjord-filterhjælpemiddel). Opløsningsmidlet fjernes i vakuum, og produktet chromatograferes hurtigt på silicagel under anvendelse af 50% benzin/ethylacetat som elueringsmiddel, hvorved der fås 0,079 g (10% af det teoretiske) af en blanding af Z-isomereren (e3) og E-isomereren (e4) af aldehydet (ca. 1:1,2).

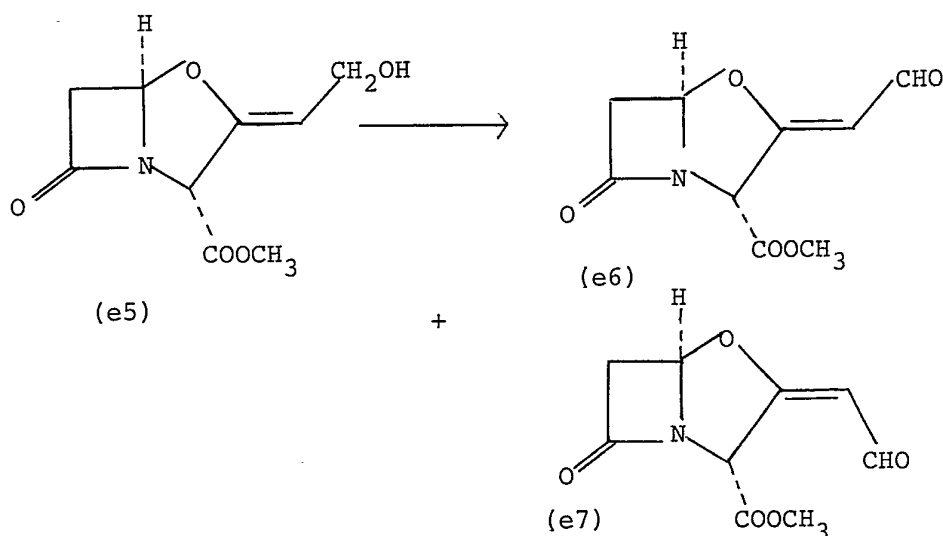
IR-spektrum:  $\nu_{\max}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1810, 1750, 1675 og 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

NMR-spektrum ( $\text{CDCl}_3$ ): (Z-isomer) 3,18 (1H, d, J 17 Hz, 6 $\beta$ -H), 3,59 (1H, dd, J 17, J<sup>1</sup> 3 Hz, 6 $\alpha$ -H), 5,15 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{O}_2\text{C}$ ), 5,24 (1H, d, J 1 Hz, 3-H), 5,33 (1H, dd, J 7,5, J<sup>1</sup> 1 Hz; =  $\text{CH}\cdot\text{CHO}$ ), 5,76 (1H, d, J 3 Hz, 5-H), 7,28 (5H, s,  $\text{PhCH}_2$ ) og 9,81 (1H, d, J 7,5 Hz, CHO), (E-isomer) 3,11 (1H, d, J 17 Hz, 6 $\beta$ -H), 3,55 (1H, dd, J 17, J<sup>1</sup> 3 Hz, 6 $\alpha$ -H), 5,15 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{O}_2\text{C}$ ), 5,65 (1H, d, J 1,5 Hz, 3-H), 5,82 (1H, dd, J 5, J<sup>1</sup> 1,5 Hz; =  $\text{CH}\cdot\text{CHO}$ ), 5,86 (1H, d, J 3 Hz, 5-H), 7,28 (5H, s,  $\text{PhCH}_2$ ) og 9,52 $\delta$  (1H, d, J 5 Hz, CHO).

$M^+$  287,079108 ( $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_5$  svarer til 287,079363, fejl 0,88 ppm).

#### Eksempel 4.

Oxidation af methyl-clavulanat ved hjælp af pyridiniumchlorchromat.



0,95 g (4,45 millimol) methyl-clavulanat (e5) i 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sættes til 3,0 g (14 millimol) pyridiniumchlorchromat i 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Efter omrøring ved stuetemperatur i 20 minutter oparbejdes reaktions-



blandingen som beskrevet i eksempel 3, hvorved der fås 0,048 g (5% af det teoretiske) af en blanding af aldehydet (e6) og aldehydet (e7) i forholdet ca. 1:1,5.

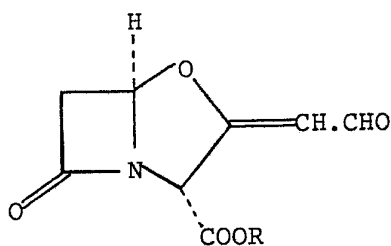
IR-spektrum:  $\nu_{\max}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 1815, 1760, 1680 og 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

NMR-spektrum ( $\text{CDCl}_3$ ): (E-isomer) 3,13 (1H, d,  $J$  17 Hz, 6 $\beta$ -H), 3,58 (1H, dd,  $J$  17,  $J^1$  3 Hz, 6 $\alpha$ -H), 3,77 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$ ), 5,63 (1H, d,  $J$  1,5 Hz, 3-H), 5,86 (1H dd,  $J$  5,  $J^1$  1,5 Hz, :  $\text{CH}\cdot\text{CHO}$ ), 5,90 (1H, d,  $J$  3 Hz, 5-H), og 9,55 (1H, d,  $J$  5 Hz, CHO), (Z-isomer) 3,21 (1H, d,  $J$  17 Hz, 6 $\beta$ -H), 3,63 (1H, dd,  $J$  17,  $J^1$  3 Hz, 6 $\alpha$ -H), 3,77 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$ ), 5,24 (1H, d,  $J$  1 Hz, 3-H), 5,38 (1H, dd,  $J$  7,5,  $J^1$  1 Hz, :  $\text{CH}\cdot\text{CHO}$ ), 5,79 (1H, d,  $J$  3 Hz, 5-H) og 9,83 $\delta$  (1H, d,  $J$  7,5, CHO).

$\text{M}^+$  211 (molekylær ion).

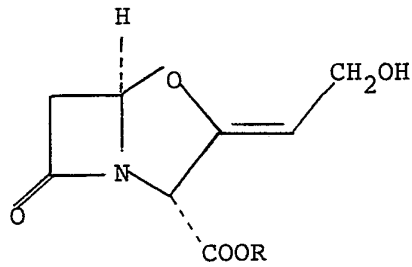
Patentkrav.

1. Fremgangsmåde til fremstilling af et aldehydderivat af clavulansyre med den almene formel II



II

hvor R betegner  $\text{A}^1$  eller  $\text{CHA}^2\text{A}^3$ , hvor  $\text{A}^1$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, som eventuelt er substitueret med halogen,  $\text{OA}^4$ ,  $\text{OCA}^4$  eller  $\text{COA}^4$ , hvor  $\text{A}^4$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, eller phenyl;  $\text{A}^2$  betegner hydrogen, alkyl med højst 4 carbonatomer eller phenyl, som eventuelt er substitueret med halogen,  $\text{A}^5$  eller  $\text{OA}^5$ , hvor  $\text{A}^5$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer; og  $\text{A}^3$  betegner phenyl, som eventuelt er substitueret med halogen,  $\text{A}^6$  eller  $\text{OA}^6$ , hvor  $\text{A}^6$  betegner alkyl med højst 4 carbonatomer, kendes ved, at en forbindelse med den almene formel



hvor R har den ovenfor anførte betydning, oxideres.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,  
k e n d e t e g n e t ved, at der som oxidationsmiddel anvendes  
pyridiniumchlorchromat.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2,  
k e n d e t e g n e t ved, at benzylesteren fremstilles.

Fremdragne publikationer:

Dansk patentansøgning nr. 1672/75 (patent nr. 141254).