

## Trimethoxyampicillin, Syringa-ampicillin und Trimethoxyphenylalanylpenicillin\*\*)

Gunter Schmidt\*) und Hermann Rosenkranz

Chemisch-wissenschaftliches Laboratorium Pharma der Bayer AG,  
D-5600 Wuppertal-Elberfeld, Postfach 130105 und  
Ingenieur-Bereich, Angewandte Physik der Bayer AG,  
D-5090 Leverkusen

Eingegangen am 28. Mai 1975

Die Synthesen von Derivaten des Ampicillins (6-[D-(–)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -phenylacetamido]penicillansäure, **1**) nämlich der TMO-ampicilline **8a** und **8b**, des Syringa-ampicillins **8c** und des TMO-phenylalanylpenicillins **14** werden beschrieben. Die substituierten  $\alpha$ -Aminophenyllessigsäuren **5a**, **5b** und **12** werden nach Strecker bzw. nach der Malonester-Methode synthetisiert. Nach Schutz der  $\alpha$ -Aminofunktion werden die N-geschützten Aminosäuren nach dem Verfahren der gemischten Anhydride mit 6-Aminopenicillansäure (6-APS) kondensiert und die Produkte einer hydrogenolytischen N-Demaskierung unterworfen. Zur Konfigurationsbestimmung der TMO-phenylglycine und der entsprechenden TMO-ampicilline wird der Circular dichroismus herangezogen. Die mikrobiologische Wirksamkeit der neuen Ampicilline **8a**, **8b**, **8c** und **14** gegen grampositive und gramnegative Bakterien wird mitgeteilt.

### Trimethoxyampicillin, Syringa-ampicillin, and Trimethoxyphenylalanylpenicillin\*\*)

The syntheses of derivatives of ampicillin (6-[D-(–)- $\alpha$ -amino- $\alpha$ -phenylacetamido]penicillanic acid, **1**) as TMO-ampicillins **8a** and **8b**, syringa-ampicillin **8c**, and TMO-phenylalanylpenicillin **14** are described. The substituted  $\alpha$ -aminophenylacetic acids **5a**, **5b**, and **12** are prepared by Strecker as well as by the malonic ester synthesis. After protection of the  $\alpha$ -amino groups the N-protected amino acids are coupled with 6-aminopenicillanic acid (6-APA) via the procedure of mixed anhydrides; subsequent deblocking is carried out by catalytic hydrogenation. Circular dichroism (CD) curves have been used for the determination of the configurations of the TMO-phenylglycines and the corresponding TMO-ampicillins. The antibacterial activity of the new ampicillins **8a**, **8b**, **8c** and **14** against gram-positive and gram-negative bacteria is reported.

Ein wichtiges Derivat der 6-Aminopenicillansäure (6-APS), bekannt als Ampicillin oder  $\alpha$ -Aminobenzylpenicillin — 6-[D-(–)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -phenylacetamido]penicillansäure (**1**) — ist 1961 beschrieben worden<sup>1,2)</sup>. Es wurde ursprünglich als racemisches Gemisch synthetisiert<sup>2)</sup>. Rolinson und Stevens<sup>1)</sup> konnten bald zeigen, daß sich das

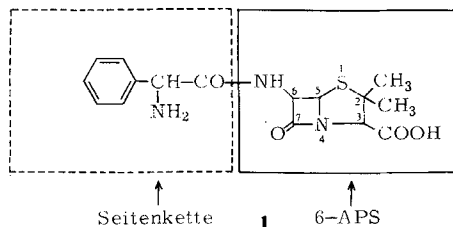
\*) Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.

\*\*) In dieser Arbeit werden folgende Bezeichnungen verwendet: Syringa-ampicillin =  $\alpha$ -Aminosyringylpenicillin =  $\alpha$ -Amino-4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylpenicillin, TMO = 3,4,5-Trimethoxy.

1) G. N. Rolinson und S. Stevens, Brit. Med. J. **2**, 191 (1961).

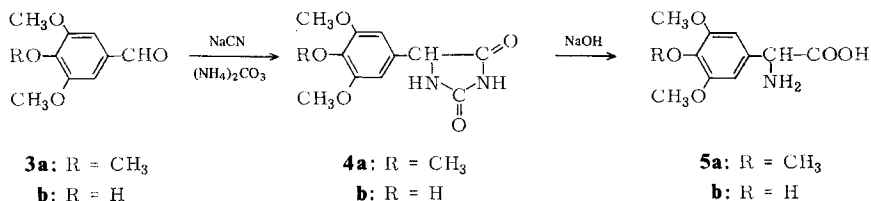
2) F. P. Doyle, G. R. Fosker, J. H. C. Naylor und H. Smith, J. Chem. Soc. **1962**, 1440.

D-(–)- $\alpha$ -Aminobenzylpenicillin (**1**) wesentlich stärker aktiv gegenüber den meisten Bakterien verhielt als das entsprechende L-(+)- $\alpha$ -Aminobenzylpenicillin. Deshalb war anzunehmen, daß neuartige Ampicillinverbindungen mit einem guten Wirkungsspektrum in der Seitenkette D-Aminosäuren enthalten müssen.



### Darstellung von $\alpha$ -Aminosäuren und ihre Reaktionen mit 6-APS

Nach einer modifizierten Strecker-Synthese<sup>3)</sup> wurden 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd (**3a**) oder 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyd (Syringa-aldehyd, **3b**) mit Natriumcyanid und Ammoniumcarbonat über die Hydantoinstufe **4** zu der DL- $\alpha$ -Amino-3,4,5-trimethoxyphenyllessigsäure (TMO-phenylglycin, **5a**) bzw. zu der DL- $\alpha$ -Amino-4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyllessigsäure (**5b**) umgesetzt.



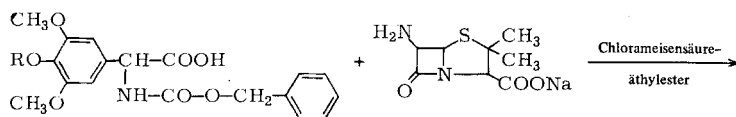
Die Synthese der geschützten TMO-ampicilline **7a**, **7b** und des Syringa-ampicillins **7c** erfolgte nach dem Wieland-Boissonnas-Vaughanschen Anhydrid-Verfahren<sup>4,5)</sup> aus den (Benzyloxycarbonyl)amino-säuren **6a**, **b**, **c** und 6-APS mit anschließender hydrogenolytischer N-Demaskierung. Die D- und L-Form **6a** bzw. **6b** wurden durch Racematspaltung mit Dehydroabietylamin bzw. D-(+)-1-Phenyläthylamin gewonnen<sup>6)</sup>. Die Entfernung des Benzyloxycarbonylrestes durch Hydrierung in Gegenwart von Pd auf CaCO<sub>3</sub> bereitete wenig Schwierigkeiten, obwohl schwefelhaltige Verbindungen die Hydrogenolyse sonst erheblich erschweren. Das D-(–)-TMO-ampicillin (**8a**) und das L-(+)-TMO-ampicillin (**8b**) wurden in kristalliner Form isoliert. Die Vollständigkeit der hydrogenolytischen Abspaltung der Benzyloxycarbonylreste von **7** wurde durch DC nachgewiesen.

<sup>3)</sup> Bristol-Myers Company, (Erf. D. A. Johnson und S. Wolfe) Patent Specification (London) 962719 (29. Jan. 1963) [C. A. **61**, 14680 b 1964].

<sup>4)</sup> R. A. Boissonnas, Helv. Chim. Acta **34**, 874 (1951).

<sup>5)</sup> Th. Wieland und H. Bernhard, Liebigs Ann. Chem. **572**, 190 (1951).

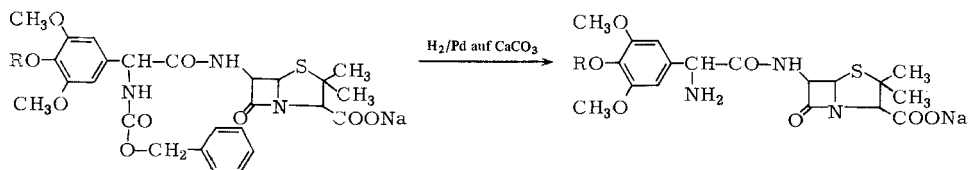
<sup>6)</sup> G. Schmidt und H. Rosenkranz, Liebigs Ann. Chem. **1976**, 124, voranstehend.



**6a:** R = CH<sub>3</sub>; D-Form

**b:** R = CH<sub>3</sub>; L-Form

**c:** R = H; Racemat



**7a:** R = CH<sub>3</sub>; D-Form

**b:** R = CH<sub>3</sub>; L-Form

**c:** R = H; Racemat

**8a:** R = CH<sub>3</sub>; D-Form

**b:** R = CH<sub>3</sub>; L-Form

**c:** R = H; Racemat

### Circulardichroismus-Messungen der TMO-ampicilline

Die CD-Spektren von **8a** und **8b** wurden in wäßriger Lösung im Wellenlängenbereich unterhalb von 250 nm ermittelt und mit den Spektren von **1** verglichen.

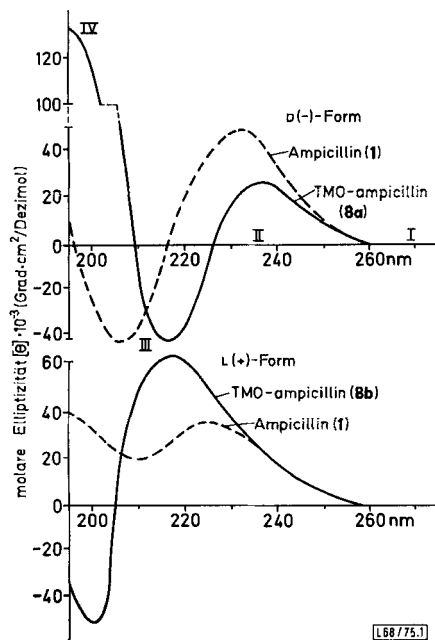


Abbildung 1. CD-Spektren von D-(-)- und L-(+)-TMO-ampicillin (**8a** und **8b**) und von Ampicillin (**1**) in wäßriger Lösung (pH 6.8)

Die für die D-(–)-Form im Wellenlängenbereich oberhalb von 250 nm erhaltenen CD-Spektren von **8a** und von **1** sind in Abbildung 2 dargestellt. Zusätzlich sind hier die CD-Spektren der Phenylglycinderivate<sup>6)</sup> wiedergegeben, die zur Synthese der D-(–)-Ampicillinderivate verwendet wurden.

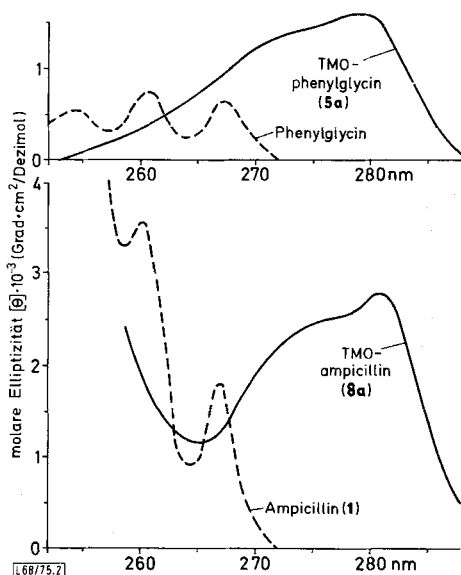


Abbildung 2. CD-Spektren der D-(–)-Form von Phenylglycin, TMO-phenylglycin, Ampicillin (**1**) und TMO-ampicillin (**8a**) in wäßriger Lösung (pH 6.8)

Die bei **8a**, **8b** und den entsprechenden Phenylglycinderivaten **5a** auftretenden Cotton-Effekte sind in Tabelle 1 beschrieben. Zum Vergleich sind die charakteristischen Cotton-Effekte für 6-APS<sup>7)</sup>, D-(–)- und L-(+)-Phenylglycin<sup>8)</sup> und Ampicillin (**1**) angegeben.

Ein Vergleich des CD-Spektrums von **8a** mit dem von **1** zeigt, daß die Maxima der Banden durch Einführen von 3 Methoxygruppen in das Phenylglycin zu höheren Wellenlängen verschoben sind, und daß die Feinstruktur der Banden fehlt. Der schwache Cotton-Effekt um 280 nm beruht auf dem Einfluß der <sup>1</sup>L<sub>b</sub>-Phenylbande des Aromaten. Die übrigen Banden werden in der Hauptsache durch Cotton-Effekte von 6-APS hervorgerufen<sup>9,10)</sup>, wobei zusätzlich im kurzwelligen UV-Bereich eine Überlagerung durch die <sup>1</sup>L<sub>a</sub>-Phenylbande des Aromaten stattfinden kann<sup>6, 11, 12)</sup>.

<sup>7)</sup> I. Z. Siemion, J. Lisowski, B. Tyran und J. Morawiec, Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim. **20**, 549 (1972).

<sup>8)</sup> W. Klyne, P. M. Scopes, R. N. Thomas und H. Dahn, Helv. Chim. Acta **54**, 2420 (1971).

<sup>9)</sup> F. Snatzke, Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim. **21**, 167 (1973).

<sup>10)</sup> C. E. Rasmussen und T. Higuchi, J. Pharm. Sci. **60**, 1608 (1971).

<sup>11)</sup> G. Barth, W. Voelter, H. S. Mosher, E. Bunnenberg und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **92**, 875 (1970).

<sup>12)</sup> J. C. Craig, W. E. Pereira, Jr., B. Halpern und J. W. Westley, Tetrahedron **27**, 1173 (1971).

<sup>13)</sup> M. L. Sethi, G. S. Rao und G. J. Kapadia, J. Pharm. Sci. **62**, 1802 (1973).

Tabelle 1. Wellenlänge  $\lambda_{\max}$  in nm und molare Elliptizität  $[\Theta]_{\max}$  in Grad  $\cdot$  cm<sup>2</sup>/Dezimol beim Maximum der CD-Banden von 6-APS, Phenylglycin- und Ampicillinderivaten (Sch = Schulter im CD-Spektrum)

| CD-Bande      | 6-APS <sup>7)</sup> |             | Phenylglycin |                           | Ampicillin (I) |            | TMO-phenylglycin <sup>6)</sup> |             | TMO-ampicillin (8) |             |
|---------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------------|----------------|------------|--------------------------------|-------------|--------------------|-------------|
|               | $\lambda$           | $[\Theta]$  | $\lambda$    | $[\Theta]$                | $\lambda$      | $[\Theta]$ | $\lambda$                      | $[\Theta]$  | $\lambda$          | $[\Theta]$  |
| a) D-(–)-Form |                     |             |              |                           |                |            |                                |             |                    |             |
| I             |                     |             | 267          | 650                       | 267            | 2100       | 280                            | 1600        | 281                | 2800        |
|               |                     |             | 260          | 750                       | 260            | 3600       | 273                            | 1400 (Sch)  | 273                | 2300 (Sch)  |
| II            | 233                 | 47000       |              |                           | 233            | 51000      | 235                            | –6000       | 235                | 27000       |
| III           | 211                 | 17900 (Sch) | 214          | –19000 (Sch)              |                |            | 212                            | –41000      | 216                | –43000      |
|               |                     |             | 207          | –29000                    | 207            | –43000     |                                |             |                    |             |
| b) L-(+)-Form |                     |             |              |                           |                |            |                                |             |                    |             |
| I             |                     |             | 267          | –530 <sup>8)</sup> (Sch)  | 267            | –1300      | 279                            | –1500       | 278                | –2600       |
|               |                     |             | 260          | –660 <sup>8)</sup>        | 261            | –650       | 274                            | –1400 (Sch) | 274                | –2300 (Sch) |
| II            | 233                 | 47000       |              |                           | 225            | 36000      | 235                            | 5500        |                    |             |
| III           | 211                 | 17900 (Sch) | 214          | 20800 <sup>8)</sup> (Sch) |                |            | 213                            | 45000       | 216                | 64000       |
|               |                     |             | 204          | 29000 <sup>8)</sup>       |                |            |                                |             | 200                | –52000      |

### TMO-phenylalanylpenicillin

Die Kondensation von 3,4,5-Trimethoxybenzylchlorid (9) mit dem Formamidomalonensäure-diäthylester (10) mit Natrium in Äthanol führte nach Hydrolyse des Malonsäurediäthylesterderivates und dessen Decarboxylierung mit 3 N HCl bei 100°C unter gleichzeitiger Entfernung des Formylrestes zum DL-TMO-phenylalanin<sup>13)</sup> (12). Die Synthese des DL-TMO-phenylalanylpenicillins (14) verlief unter klassischen, peptid-chemischen Bedingungen.

### Mikrobiologische Ergebnisse

Die Tierversuche wurden mit weißen Mäusen vom Stamm CF<sub>1</sub> durchgeführt, die intraperitoneal mit 3 verschiedenen Bakterienarten infiziert und anschließend subcutan (s. c.) oder oral (p. o.) mit den hier beschriebenen Ampicillinverbindungen therapiert wurden. Die die Tierversuche betreffenden Zahlen in Tabelle 2 sind ein Maß für die Anzahl der überlebenden Tiere nach i. p.-Infektion im Vergleich mit Tieren, die mit bestimmten Standardpenicillinen behandelt wurden. Bei den Zahlen bedeutet 0 = ohne Wirkung, 1 = 1/4, 2 = 1/2, 3 = 3/4 und 4 = 4/4 Standard-



Tabelle 2. Mikrobiologische Tierversuchswerte halbsynthetischer Penicilline

| Penicillinderivat                  | Tierversuche mit den Bakterien |       |                |       |                  |       |
|------------------------------------|--------------------------------|-------|----------------|-------|------------------|-------|
|                                    | <i>Staph. aur.</i> 133         |       | <i>E. coli</i> |       | <i>Klebs.</i> 63 |       |
|                                    | s. c.                          | p. o. | s. c.          | p. o. | s. c.            | p. o. |
| D-Ampicillin (1)                   | 4                              | 4     | 4              | 4     | 1                | 1     |
| D-(−)-TMO-ampicillin (8a)          | 2–3                            | 3     | 1              | 0     | 0                | —     |
| L-(+)-TMO-ampicillin (8b)          | 1–2                            | 1     | 0–1            | 0     | 1                | —     |
| DL-Syringa-ampicillin (8c)         | 1                              | 1     | 2–3            | 0     | 0                | —     |
| DL-TMO-phenylalanylpenicillin (14) | 0                              | 0     | 0              | 0     | 0                | 0     |

D-(−)-TMO-ampicillin (8a) und DL-Syringa-ampicillin (8c) haben gegenüber Ampicillin (1) eine abgeschwächte antibakterielle Wirkung im grampositiven wie im gramnegativen Bereich. Der Grund für die reduzierten Wirksamkeiten liegt wahrscheinlich darin, daß die veränderten Strukturen der  $\alpha$ -Aminosäuren in der Seitenkette des Ampicillins den normalen Transportmechanismus in den biologischen Membranen empfindlich stören. Offensichtlich ist es ganz entscheidend, an „the ultimate site of action“ in den Bakterienzellen heranzukommen.

Für die mikrobiologischen Testversuche der halbsynthetischen Penicilline danken wir Herrn Dr. K. G. Metzger, Bayer AG, Wuppertal, Institut für medizinische Mikrobiologie. Herrn M. Schaaf danken wir für die wertvolle Mitarbeit bei der experimentellen Bearbeitung des Themas.

## Experimenteller Teil

Die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden mit dem A-60 Gerät der Fa. Varian (TMS als innerer Standard) aufgenommen; die spezifischen Drehwerte im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Carl Zeiss ermittelt, die Werte der 578-Linie wurden berechnet. — Der chromatographische Reinheitstest der synthetisierten Verbindungen erfolgte auf Kieselgel-Fertigplatten F<sub>254</sub> (Fa. Merck) mit 3 Lösungsmittelsystemen: SBA (75 Vol.-% *sek*-Butylalkohol, 13.5 Vol.-% 90proz. Ameisensäure, 11.5 Vol.-% Wasser), PEW (n-Propanol/Essigester/Wasser 4:3:3) und CME (320 ml Chloroform/80 ml Methanol/40 ml Essigester). — Der Circular-dichroismus der Penicillinderivate wurde mit dem Spektralphotometer mit CD-Zusatz-ausrüstung (Modell 60/6002) der Fa. Cary gemessen. Die Schichtdicke der Küvette betrug 0.1 cm bei Messungen unterhalb von 250 nm und 1 cm bei Messungen oberhalb von 250 nm. Die spektrale Bandbreite betrug 10 Å, die Versuchstemperatur 27°C.

5-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-2,4-imidazolidindion (4a): 100 g (0.51 mol) 3a, gelöst in 350 ml Äthanol, werden zu einer Suspension von 37.8 g (0.77 mol) Natriumcyanid und 195 g (2.03 mol) Ammoniumcarbonat in 450 ml Wasser und 450 ml Äthanol bei 30°C getropft und 16 h bei 60°C gerührt. Nach Abdestillieren des Äthanol*s* i. Vak. wird die Restlösung mit halbkonz. Salzsäure bis pH 2 angesäuert. Das ausgefallene Produkt wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Ausb. 107.8 g (79%). Eine Probe wird aus THF/Dioxan/

Methanol/Petroläther umkristallisiert, Schmp. 191–193°C. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 3.68$  (s; *p*-CH<sub>3</sub>O), 3.80 (s; 2 *m*-CH<sub>3</sub>O), 5.13 (s; 5-H), 6.71 (s; 2 *o*-H), 8.56 ppm (m; 2-H, 4-H).

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$  (266.3) Ber. C 54.13 H 5.30 N 10.52 Gef. C 53.5 H 5.6 N 10.5

*DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)essigsäure* (TMO-phenylglycin, **5a**): 111.4 g (0.418 mol) **4a** werden in 1000 ml 10proz. Natronlauge 32 h auf 100°C erhitzt. Man kühlt auf 0°C ab, säuert mit konz. Salzsäure auf pH 5.3 an und kristallisiert das ausgefallene Produkt aus Wasser um. Ausb. 88.3 g (82%). —  $^1\text{H-NMR}$  (DCOOD):  $\delta = 3.91$  (s; 4-CH<sub>3</sub>O), 3.96 (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 5.42 (s;  $\alpha$ -CH), 6.96 ppm (s; 2H, Phenyl-H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (259.3) Ber. C 50.95 H 6.61 N 5.40 Gef. C 51.7 H 6.2 N 5.8

*DL- $\alpha$ -Benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)essigsäure* (**6a, b**): 100 g (0.39 mol) **5a** werden in 390 ml 1 N NaOH in der Wärme gelöst. Die klare Lösung wird auf 0–5°C gekühlt und es werden innerhalb 50 min 84.7 g (0.499 mol) Chlorameisensäure-benzylester unter gleichzeitiger Zugabe von 1 N NaOH zugetropft (pH-Bereich 11–12). Nach 50 min. Stehenlassen bei Raumtemp. wird einmal mit 200 ml Äther/Essigester (1:1) extrahiert, die wäßrige Phase abgetrennt, mit 2 N HCl auf pH ca. 2 angesäuert und mit Essigester ausgezogen. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Einengen der organischen Phase wird **6a, b** aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute 108.5 g (70%).

$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_7$  (375.4) Ber. C 60.79 H 5.64 N 3.74 Gef. C 60.8 H 5.8 N 3.6

Die *DL*-(Benzyloxycarbonyl)amino-säure **6a, b** wird durch Racematspaltung mit Dehydroabietylamin und *D*-(+)-1-Phenyläthylamin in die optischen Antipoden **6a** und **6b** getrennt<sup>6)</sup>.

*Natrium-6-[D-(-)- $\alpha$ -Benzyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillanat* (**7a**): 10.3 g (27.4 mmol) **6a** werden in 60 ml THF und 30 ml DMF mit 3.24 ml (29 mmol) *N*-Methylmorpholin versetzt und bei –15°C 2.78 ml (29 mmol) Chlorameisensäure-äthylester unter Rühren zugegeben. Nach 15 min bei –15 bis –10°C gibt man eine vorgekühlte Triäthylammoniumsalz-Lösung von 6-Aminopenicillansäure (6-APS) hinzu, die durch Verühren von 7.1 g (32.9 mmol) 6-APS in Methyldichlorid mit 7.4 ml (52.6 mmol) Triäthylamin und Natriumsulfat nach 90 min entstand. Man läßt über Nacht auf Raumtemp. erwärmen. Danach wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 300 ml Wasser aufgenommen, die schwach alkalische Lösung (pH = 7.1) einmal mit Essigester extrahiert und die wäßrige Phase bei 0°C mit 2 N HCl in Gegenwart von 300 ml Essigester auf pH 2 angesäuert. Die Essigesterphase wird neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird in 70 ml Methanol gelöst, mit 27.4 ml einer 1 M Lösung von Natrium-2-äthylhexanoat in methanol. Äther versetzt und in 500 ml Äther eingerührt. Die weiße Fällung wird abgesaugt, mit Äther gewaschen und i. Vak. über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Ausbeute 14.7 g (90%, bezogen auf die wasserfreie Penicillinverbindung);  $\beta$ -Lactamgehalt 92.4%,  $[\alpha]_{578}^{20} = +129.9^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol). —  $^1\text{H-NMR}$  (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta = 1.53$ – $1.58$  (2 $\alpha$ -CH<sub>3</sub>, 2 $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.78 (s; 9H), 4.23 (s; 3-H), 5.15 (s; Benzyl-CH<sub>2</sub>), 5.53 (s; 5-H, 6-H,  $\alpha$ -CH), 6.83 (s; 2 H, TMO-phenyl-H), 7.3 ppm (s; 5 H, Phenyl-H).

$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (631.6) Ber. C 51.34 H 5.42 N 6.65 S 5.08

Gef. C 51.5 H 6.2 N 6.6 S 5.2

*Natrium-6-[D-(-)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillanat* [*D*-(–)-TMO-ampicillin, **8a**]

1) *6-[D-(-)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillansäure*: Durch eine Suspension von 20 g Palladium auf 80 g CaCO<sub>3</sub> in 200 ml Wasser läßt man 1 h Wasserstoff strömen und gibt anschließend 16 g (25 mmol) **7a** in 50 ml THF und 50 ml Wasser gelöst hinzu. Die Suspension wird 60 min mit Wasserstoff durchspült, dann wird der Katalysator

abgetrennt und mit 150 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden bei 0°C mit 2N HCl auf pH 1.9 eingestellt und einmal mit 250 ml Methylisobutylketon ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird mit 2N NaOH auf pH 5.1 eingestellt und auf ungefähr 80 ml eingeeengt, wobei 7.4 g (64%) Penicillinsäurederivat auskristallisieren;  $[\alpha]_{578}^{20} = +192.5^\circ$  ( $c = 1$ , in Dimethylsulfoxid),  $\beta$ -Lactamgehalt 95.3%. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 1.45$  (s;  $2\alpha\text{-CH}_3$ ), 1.56 (s;  $2\beta\text{-CH}_3$ ), 3.67 (s;  $4\text{-CH}_3\text{O}$ ), 3.78 (s;  $3\text{-CH}_3\text{O}$ ,  $5\text{-CH}_3\text{O}$ ), 4.03 (s; 1H), 4.65 (s;  $\alpha\text{-CH}$ ), 5.5 (s; 2H); 6.81 ppm (s; 2H).

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (457.5) Ber. C 49.88 H 5.95 N 9.18 S 7.02

Gef. C 49.6 H 6.5 N 9.2 S 6.7

2) *Natriumsalzbildung*: 3.3 g (7.2 mmol) 6-[D-(–)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillansäure werden in 60 ml Methylendichlorid suspendiert, auf  $-10^\circ\text{C}$  gekühlt und mit 1.6 ml (11.3 mmol) Triäthylamin versetzt. Die klare Lösung wird nach Zugabe von Natriumsulfat 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Natriumsulfat wird abgesaugt, das Filtrat mit 7.2 ml einer 1 M Lösung von Natrium-2-äthylhexanoat (Natriumcaprylat) in Äther/Methanol behandelt. Nach Zugabe von Äther fällt ein Kristallbrei an, der abgesaugt, mit Äther und Methylendichlorid gewaschen und i. Hochvak. getrocknet wird. Ausbeute 2.9 g (84%);  $\beta$ -Lactamgehalt 81.2%. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 1.50$  (s;  $2\alpha\text{-CH}_3$ ), 1.58 (s;  $2\beta\text{-CH}_3$ ), 3.73 (s;  $4\text{-CH}_3\text{O}$ ), 3.85 (s;  $3\text{-CH}_3\text{O}$ ,  $5\text{-CH}_3\text{O}$ ), 4.16 (s; 1H), 4.58 (s;  $\alpha\text{-CH}$ ), 5.45 (s; 2H), 6.72 ppm (s; 2H).

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (479.5) Ber. C 47.59 H 5.47 N 8.76 S 6.69

Gef. C 47.9 H 5.8 N 8.2 S 6.4

*Natrium-6-[L-(+)- $\alpha$ -Benzoyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillanat (7b)*: Es wird analog **7a** aus 10.3 g (27.4 mmol) **6b**, 3.24 ml (29 mmol) *N*-Methylmorpholin, 2.78 ml (29 mmol) Chlorameisensäure-äthylester, 7.1 g (32.9 mmol) 6-APS und 7.4 ml (52.6 mmol) Triäthylamin dargestellt. Ausbeute 15.1 g (92%), bezogen auf die wasserfreie Penicillinverbindung;  $\beta$ -Lactamgehalt 88.1%. —  $[\alpha]_{578}^{20} = +175.6^\circ$  ( $c = 1$ , in Methanol). —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 1.59$  (s;  $2\alpha\text{-CH}_3$ ,  $2\beta\text{-CH}_3$ ), 3.74 (s;  $4\text{-CH}_3\text{O}$ ), 3.77 (s;  $3\text{-CH}_3\text{O}$ ,  $5\text{-CH}_3\text{O}$ ), 4.23 (s; 1H), 5.14 (s; Benzyl- $\text{CH}_2$ ), 5.51–5.57 (d,  $J = 4$  Hz; 2H und  $\alpha\text{-CH}$ ), 6.81 (s; 2H, TMO-phenyl-H), 7.33 ppm (s; 5H, Phenyl-H).

$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (631.6) Ber. C 51.34 H 5.42 N 6.65 S 5.08

Gef. C 52.0 H 5.3 N 6.7 S 5.6

*Natrium-6-[L-(+)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillanat [L-(+)-TMO-ampicillin, **8b**]*

1) 6-[L-(+)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillansäure: 16.0 g (25.4 mmol) **7b** werden über Pd/ $\text{CaCO}_3$  im Wasserstoffstrom, wie unter **8a** beschrieben, hydriert. Ausbeute 5.9 g (49%);  $[\alpha]_{578}^{20} = +210.2^\circ$  ( $c = 1$ , in Dimethylsulfoxid),  $\beta$ -Lactamgehalt 92.6%. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 1.51$  (s;  $2\alpha\text{-CH}_3$ ,  $2\beta\text{-CH}_3$ ), 3.74 (s;  $4\text{-CH}_3$ ), 3.88 (s;  $3\text{-CH}_3\text{O}$ ,  $5\text{-CH}_3\text{O}$ ), 4.15 (s; 1H), 5.06 (s;  $\alpha\text{-CH}$ ), 5.51 (s; 2H), 6.84 ppm (s; 2H).

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (475.5) Ber. C 47.99 H 6.14 N 8.84 S 6.75

Gef. C 48.0 H 5.9 N 9.0 S 7.0

2) *Natriumsalzbildung*: Analog **8a** werden aus 1.5 g (3.2 mmol) 6-[L-(+)- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamido]penicillansäure 1.4 g (89%) **8b** hergestellt;  $\beta$ -Lactamgehalt 84.3%.

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (497.5) Ber. C 45.88 H 5.68 N 8.44 S 6.45

Gef. C 46.9 H 7.1 N 7.9 S 6.6

5-(4-Hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-2,4-imidazolidindion (**4b**): Beim Verrühren von 100 g (0.55 mol) 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyd (**3b**), 40.5 g (0.83 mol) Natriumcyanid

und 208 g (2.16 mol)  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  in einer Mischung von 250 ml Methanol, 250 ml Äthanol und 350 ml Wasser bei 50°C für 23 h erhält man 103.4 g (75%) **4b**. Eine Probe wird aus Wasser umkristallisiert, Schmp. 261–262°C. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 3.86$  (s; 2 *m*-CH<sub>3</sub>O), 5.09 (s; 5 H), 6.62 (s; 2 *o*-H), 7.7–8.4 ppm (m; *p*-HO, 2-H, 4-H).

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5$  (252.2) Ber. C 52.39 H 4.40 N 11.11 Gef. C 51.9 H 4.5 N 11.2

*DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)essigsäure (5b)*: 27.0 g (0.11 mol) **4b** werden 2 Tage mit 220 ml 15proz. NaOH bei 100°C gerührt. Danach wird bei 5°C mit konz. Salzsäure auf pH 5.3 angesäuert. Bei 0°C kristallisiert **5b**, das nach Trocknen an der Luft 21.3 g (88%) ergibt. Eine Probe wird aus Wasser umkristallisiert. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDOOD}$ ):  $\delta = 3.93$  (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 5.42 (s;  $\alpha$ -CH), 6.93 (s; 2-H, 6-H), 8.32 ppm (s; 4-HO).

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_5$  (227.2) Ber. C 52.86 H 5.77 N 6.16 Gef. C 51.7 H 6.1 N 6.1

*DL- $\alpha$ -Benzoyloxycarbonylamino- $\alpha$ -(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)essigsäure (6c)*: 17.5 g (77 mmol) **5b** werden in 77 ml 2 N NaOH unter Erwärmen gelöst und 26.2 g (0.15 mol) Chlorameisensäure-benzylester sowie 38.5 ml 4 N NaOH bei 0°C in 60 min zugetropft. Nach 2 stdg. Rühren bei Raumtemp. wird nach Zugabe von 400 ml Wasser einmal mit Äther extrahiert und die wäßrige Phase mit 45 ml 4 N NaOH 45 min bei 20°C gerührt. Die wäßrige Phase wird erneut mit Äther geschüttelt und nach Ansäuern mit konz. Salzsäure bei 0°C, wie unter **6ab** beschrieben, aufgearbeitet. Umkristallisation aus Essigester/Petroläther liefert 17.3 g (62%). —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 3.78$  (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O); 5.07 (s; Benzyl-CH<sub>2</sub>), 5.2 (s;  $\alpha$ -CH), 6.72 (s; 2-H, 6-H), 7.29 ppm (s; 5 H, Phenyl-H).

$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_7$  (361.4) Ber. C 59.82 H 5.30 N 3.88 Gef. C 60.2 H 5.7 N 3.7

*Natrium-6-[DL- $\alpha$ -(Benzoyloxycarbonylamino)- $\alpha$ -(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)acetamido]-penicillanat (7c)*: 14 g (39 mmol) **6c** werden in 80 ml THF und 20 ml DMF mit 4.6 ml (41 mmol) *N*-Methylmorpholin und 3.94 ml (41 mmol) Chlorameisensäure-äthylester bei –15 bis –10°C 20 min behandelt. Man gibt bei –15°C 10.1 g (46.6 mmol) 6-APS, die in 100 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  unter Zusatz von 10.5 ml (75 mmol) Triäthylamin gelöst wurden, hinzu und rührt über Nacht ohne Kühlung. Die Aufarbeitung des Ansatzes und die Abscheidung als Natriumsalz erfolgt wie unter **7a** beschrieben; Ausbeute 19.5 g (87%, bezogen auf die wasserfreie Penicillinverbindung);  $\beta$ -Lactamgehalt 81.2%. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 1.55$  (s; 2 $\alpha$ -CH<sub>3</sub>, 2 $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.83 (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 4.21 (s; 1 H), 5.12 (s; Benzyl-CH<sub>2</sub>), 5.40 (s;  $\alpha$ -CH), 5.52–5.48 (d,  $J = 4$  Hz; 2H), 6.79 (s; 2-H 6-H), 7.36 ppm (s; 5 H, Phenyl-H).

$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (617.6) Ber. C 50.56 H 5.22 N 6.80 S 5.19

Gef. C 50.4 H 5.1 N 6.8 S 5.4

*Natrium-6-[DL- $\alpha$ -Amino- $\alpha$ -(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)acetamido]penicillanat (DL-Syringa-ampicillin, 8c)*: 16.5 g (26.7 mmol) **7c** werden in 50 ml Wasser, 20 ml Methanol und 20 ml THF gelöst und in einer vorhydrierten, wäßrigen Lösung über Palladium/ $\text{CaCO}_3$  hydrogenolytisch entacyliert. Das Filtrat wird bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 120 ml Methylendichlorid suspendiert, auf –10°C gekühlt und mit 3.7 ml (26.7 mmol) Triäthylamin versetzt. Die klare Lösung wird nach Zugabe von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  30 min bei Raumtemp. gerührt, dann vom Trockenmittel abgetrennt, dieses mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen und das Filtrat mit 26 ml einer 1 M Natriumcaprylat-Lösung in methanol. Äther versetzt. Nach Eindampfen des Filtrates i. Vak. wird der Rückstand aus Methanol/Äther umgefällt. Ausbeute 5.2 g (40%);  $\beta$ -Lactamgehalt 89.9%. —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 1.4$ –1.45 (s; 2 $\alpha$ -CH<sub>2</sub>, 2 $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.88 (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 4.2 (s; 1 H); 4.63 (s;  $\alpha$ -CH), 5.44–5.5 (d,  $J = 4$  Hz; 2H), 6.78 ppm (s; 2-H, 6-H).

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (483.5) Ber. C 44.71 H 5.42 N 8.69 S 6.64

Gef. C 45.3 H 6.4 N 8.3 S 5.8

$\alpha$ -(3,4,5-Trimethoxybenzyl)- $\alpha$ -(formamido)malonsäure-diäthylester (**11**): 35 g (0.16 mol) 3,4,5-Trimethoxybenzylchlorid (**9**) und 33 g (0.16 mol) Formamidomalonsäure-diäthylester (**10**) werden mit der Lösung von 3.74 g (0.16 mol) Natrium in 450 ml Äthanol vermischt und über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wird heiß abgesaugt, das Filtrat i. Vak. bis zur Trockene eingeengt und der Rückstand mit Diisopropyläther verrieben. Man erhält 31.4 g (51 %) **11**.

$C_{18}H_{25}NO_8$  (383.4) Ber. C 56.39 H 6.57 N 3.66 Gef. C 56.2 H 6.3 N 3.7

*DL*-3,4,5-Trimethoxyphenylalanin (TMO-phenylalanin, **12**): 62 g (0.16 mol) **11** werden über Nacht in 300 ml 3 N HCl unter Rückfluß erhitzt, dann wird i. Vak. auf 100 ml eingeengt und die Suspension mit 4 N NaOH auf pH 4.5 eingestellt. Man dampft die Lösung i. Vak. bis zur Hälfte ein und läßt **12** über Nacht bei Kühlung auf 0°C auskristallisieren. Man saugt ab, trocknet an der Luft und fällt aus Methanol/Äther um; Ausbeute 24.8 g (53 %, bezogen auf die wasserhaltige Aminosäure).

$C_{12}H_{17}NO_5 \cdot 2 H_2O$  (291.3) Ber. C 49.48 H 7.26 N 4.81 Gef. C 49.4 H 6.2 N 4.8

*DL*-*N*-Benzyloxycarbonyl-3,4,5-trimethoxyphenylalanin (**13**): Aus 24 g (82 mmol) **12** und 19.2 g (113 mmol) Chlorameisensäurebenzylester in 1 N NaOH (pH 11–12) entstehen 28.8 g (90 %) **13**.

$C_{20}H_{23}NO_7$  (389.4) Ber. C 61.69 H 5.95 N 3.60 Gef. C 62.1 H 6.2 N 3.5

Natrium-6-[(*DL*-*N*-Benzyloxycarbonyl-3,4,5-trimethoxyphenyl)alanyl]amino]penicillanat: Zur Lösung von 12 g (31 mmol) **13** und 3.6 ml (32 mmol) *N*-Methylmorpholin in 80 ml THF und 20 ml DMF gibt man bei –15 bis –10°C 3.1 ml (32 mmol) Chlorameisensäure-äthylester und nach 15 min bei –15°C 8.0 g (37 mmol) 6-APS, die zuvor in 80 ml Methyldichlorid mit 8.3 ml (59 mmol) Triäthylamin und Natriumsulfat 1.5 h behandelt worden war. Nach Rühren über Nacht ohne Kühlung wird, wie unter **7a** beschrieben, aufgearbeitet und in das Natriumsalz verwandelt. Ausbeute 15.5 g (82 %, bezogen auf die wasserfreie Penicillinverbindung);  $\beta$ -Lactamgehalt 92.1 %. —  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  = 1.53–1.59 (s; 2 $\alpha$ -CH<sub>3</sub>, 2 $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.55 (s;  $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.69 (s; 4-CH<sub>3</sub>O), 3.72 (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 4.18 (s;  $\alpha$ -CH), 5.48 (s; 2H), 6.55 (s; 2-H, 6-H), 7.26 ppm (s; 5H, Phenyl-H).

$C_{28}H_{32}N_3NaO_9S \cdot H_2O$  (627.6) Ber. C 53.59 H 5.46 N 6.69 S 5.11  
Gef. C 53.4 H 6.0 N 7.1 S 5.2

Natrium-6-[(*DL*-3,4,5-Trimethoxyphenylalanyl)amino]penicillanat (**14**): 14.3 g (22.8 mmol) Natrium-6-[(*DL*-*N*-Benzyloxycarbonyl-3,4,5-trimethoxyphenylalanyl)amino]penicillanat werden in 80 ml Wasser und 10 ml Methanol gelöst und in einer vorhydrierten, wäßrigen Lösung über Palladium/CaCO<sub>3</sub> hydrogenolytisch entacyliert. Das Filtrat wird zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 120 ml CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> suspendiert, auf –10°C gekühlt und mit 3.2 ml (22.8 mmol) Triäthylamin versetzt. Die klare Lösung wird nach Zugabe von Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 min bei Raumtemp. gerührt, dann von Trockenmittel abgetrennt, dieses mit Methyldichlorid gewaschen und das Filtrat mit 22 ml einer 1 M Natriumcaprylat-Lösung in methanol. Äther versetzt. Man dampft i. Vak. ein und fällt den Rückstand aus Methanol/Äther um. Ausbeute 4.2 g (35 %);  $\beta$ -Lactamgehalt 82.2 %. —  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  = 1.57–1.66 (s; 2 $\alpha$ -CH<sub>3</sub>, 2 $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.0 (s;  $\beta$ -CH<sub>3</sub>), 3.78 (s; 4-CH<sub>3</sub>O), 3.88 (s; 3-CH<sub>3</sub>O, 5-CH<sub>3</sub>O), 4.2 (s; 1 H), 5.52–5.55 (d,  $J$  = 4 Hz; 2H), 6.59 ppm (s; 2-H, 6-H).

$C_{20}H_{26}N_3NaO_7S \cdot 3 H_2O$  (529.5) Ber. C 45.37 H 6.09 N 7.93 S 6.06  
Gef. C 45.5 H 5.9 N 7.6 S 6.0