

## ***N*-Alkylderivate der 6-Amino-penicillansäure\*)**

von *Walter Dürckheimer* und *Manfred Schorr*

Aus den Farbwerken Hoechst, vormalis Meister Lucius & Brüning, Frankfurt(M)-Höchst

Eingegangen am 11. August 1966

Die Umsetzung von 6-Amino-penicillansäure (**1**) mit Diazomethan und Diazoäthan führt zu einem Gemisch verschieden weit alkylierter Ester **2—4** und **5—7**, die durch Säulenchromatographie an Kieselgel voneinander getrennt werden. Durch Acylierung der Ester **3** und **6** mit Phenyl- und Phenoxy-acetylchlorid erhält man die 6-*N*-monoalkylierten Penicillinester **10**, **11** und **13**, die zu den 6-*N*-Alkyl-penicillinen **16—18** verseift werden. Die neuen Penicillinderivate besitzen schwache antibakterielle Eigenschaften.

Die technische Erschließung der 6-Amino-penicillansäure<sup>1,2)</sup> gab der Penicillinforschung neuen Auftrieb. Durch Acylierung der Aminogruppe mit den verschiedenen Säuren gelangte man zu zahlreichen neuen Penicillinen<sup>3)</sup>, die den älteren, biosynthetisch erhaltenen Produkten teilweise überlegen sind. Versuche zur Abwandlung des Grundgerüsts sind seltener, da die große Hydrolyseempfindlichkeit des  $\beta$ -Lactamrings sehr milde Reaktionsbedingungen erfordert.

Allen diesen von der 6-Amino-penicillansäure abgeleiteten Verbindungen ist gemeinsam, daß sie eine freie oder acylierte primäre Aminogruppe besitzen. Erst *Leigh*<sup>4)</sup> berichtete vor kurzem über die Darstellung von *N*-Alkylderivaten des Penicillins **5**. Diese Veröffentlichung gibt uns Anlaß, eigene Arbeiten mitzuteilen, die ebenfalls die Synthese von *N*-alkylierten Penicillinen zum Ziel hatten. Es lag ihnen die Vorstellung zugrunde, daß der Ersatz des Wasserstoffs der Amidgruppe durch Alkylreste die Stabilität und Penicillinasefestigkeit der Penicilline erhöhen könnte.

*Leigh*<sup>4)</sup> führte die Alkylierung der 6-Amino-penicillansäure durch reduktive Kondensation mit Aldehyden und Ketonen durch. Unsere Synthese ging gleichfalls von der 6-Amino-penicillansäure (**1**) aus, die durch die Einwirkung von Diazoalkanen in ein Gemisch verschieden weit alkylierter Ester (**2—7**) übergeführt wurde. Der darin enthaltene *N*-Monoalkylamino-penicillansäureester (**3** bzw. **6**) konnte zu den Estern **8—13** der *N*-Alkyl-penicilline acyliert und schließlich durch alkalische Verseifung in die *N*-Alkyl-penicilline **14—18** umgewandelt werden.

\*) Herrn Prof. Dr. *H. Ruschig* zum 60. Geburtstag gewidmet.

1) *F. R. Batchelor, F. P. Doyle, J. H. C. Nayler* und *G. N. Rolinson*, *Nature* [London] **183**, 257 (1959).

2) *W. Kaufmann* und *K. Bauer*, *Naturwissenschaften* **47**, 474 (1960).

3) Vgl. z. B. die Zusammenfassung bei *F. P. Doyle* und *J. H. C. Nayler*, *Advances in Drug Research* **1**, 1 (1964) [C. A. **62**, 5749 (1965)].

4) *T. Leigh*, *J. chem. Soc.* [London] **1965**, 3616.



Die unvollständig alkylierten Ester **2**, **3**, **5** und **6** lassen sich nur sehr langsam mit Diazoalkanen weiteralkylieren. Der Stickstoff wird offenbar nur aus der zwitterionischen Form der 6-Amino-penicillansäure (**1**) rasch alkyliert. Wird die Carboxylgruppe verestert, dann genügt die schwache Basizität der 6-Aminogruppe<sup>5)</sup> nicht, so viel Hydroxyl-Ionen zu liefern, daß der Ester sich selbst verseift. Bei einfachen  $\alpha$ -Aminosäuren kommt es dagegen zu einer Verseifung, wodurch immer wieder freie Aminocarbonsäure entsteht, die am Stickstoff bis zum Betain alkyliert wird<sup>6)</sup>.

#### Acylierung der Ester

6-Amino-penicillansäuremethylester (**2**) reagiert mit Phenylelessigsäurechlorid in Äther/Pyridin zu 6-[N-Phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester<sup>7)</sup> (**8**). Mit Phenoxyessigsäurechlorid entsteht analog 6-[N-Phenoxyacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**9**). Auch 6-N-Methylamino-penicillansäuremethylester (**3**) läßt sich mit den genannten Säurechloriden unter gleichen Bedingungen zu 6-[N-Methyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**10**) und 6-[N-Methyl-N-phenoxyacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**11**) acylieren, während 6-N,N-Dimethyl-amino-penicillansäuremethylester (**4**) erwartungsgemäß nicht mehr reagiert. 6-Amino-penicillansäureäthylester (**5**) wird in Äther/Pyridin mit Phenylelessigsäurechlorid zu 6-[N-Phenylacetyl-amino]-penicillansäureäthylester (**12**) acyliert, den man einfacher auch aus 6-[N-Phenylacetyl-amino]-penicillansäure (= Penicillin-G-Säure) und Diazoäthan erhält. Durch Vergleich der IR-Spektren wurde die Identität beider Verbindungen gesichert. 6-N-Äthylamino-penicillansäureäthylester (**6**) reagiert mit Phenylelessigsäurechlorid zu 6-[N-Äthyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäureäthylester (**13**). Die Ester **10** und **11** sind gut kristallisierende, farblose Substanzen, die sich beim Lagern nicht verändern; **13** wurde als viskoses, schwachgelbes Öl isoliert.

#### Verseifung der acylierten Ester

Die alkalische Verseifung der Ester **8**–**13** wird durch die Labilität des  $\beta$ -Lactamringes sehr erschwert. Es gelingt jedoch mit 0.1 *n* Natronlauge in Pyridin<sup>8)</sup>, 6-[N-Phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**8**) zu 24% zum Natriumsalz **14** zu spalten. Mit 23-proz. Ausbeute läßt sich auch 6-[N-Phenoxyacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**9**) verseifen. Die N-alkylierten Penicillinester **10**, **11** und **13** wurden analog in 10–16-proz. Ausbeute zu den Natriumsalzen **16**–**18** gespalten. Die Reinigung der so erhaltenen N-Alkyl-penicillinsalze bereitete große Schwierigkeiten. Es gelang beispielsweise nicht, **16** durch Säulenchromatographie oder Elektrophorese

<sup>5)</sup> Elektrometrische Titration von **1** ergab eine Säuregruppe von  $pK = 2.3$  und eine ziemlich schwache Aminogruppe von  $pK = 5.1$ ; vgl. Lit.<sup>3)</sup>, dort S. 18.

<sup>6)</sup> R. Kuhn und H. W. Ruelius, Chem. Ber. **83**, 420 (1950).

<sup>7)</sup> H. T. Clarke, J. R. Johnson und Sir R. Robinson, The Chemistry of Penicillin, S. 93, Princeton Univ. Press, Princeton 1949.

<sup>8)</sup> Siehe Lit. <sup>7)</sup>, dort S. 94.

von den Nebenprodukten abzutrennen, die durch  $\beta$ -Lactamspaltung entstehen. Die biologischen Teste wurden deshalb mit den rohen *N*-Alkyl-penicillin-natriumsalzen ausgeführt, deren Gehalt kolorimetrisch<sup>9)</sup> und jodometrisch<sup>10)</sup> ermittelt wurde.

#### Antibakterielle Wirkung<sup>11)</sup>

Alle getesteten *N*-alkylierten Penicilline zeigten *in vitro* und *in vivo* (Maus) überraschend geringe Aktivität. Sie waren im gesamten Keimspektrum dem Natriumsalz der 6-[*N*-Phenylacetyl-amino]-penicillansäure (Penicillin G) deutlich unterlegen. Auffallend war dagegen die gegen Penicillinase gute Stabilität, welche unter gleichen Versuchsbedingungen diejenige der 6-[2.6-Dimethoxybenzoyl-amino]-penicillansäure (Cinopenil®) weit übertraf. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Leigh<sup>4)</sup> überein. Auch 6-[*N*-Methyl-*N*-phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**10**) war im Gegensatz zu 6-[*N*-Phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**8**) an der Maus wenig wirksam.

Wir danken Herrn K. Leube für seine Hilfe bei der Ausführung der Versuche.

#### Beschreibung der Versuche

Für alle *Dünnschichtchromatogramme* verwendeten wir „Kieselgel H“ (Merck) und Äther. Die Flecke wurden durch Besprühen mit  $\text{KMnO}_4$ -Lösung sichtbar gemacht. — Für die *präparative Säulenchromatographie* diente „Kieselgel 0.05–0.2 mm für Chromatographie“ (Merck). — Die *IR-Spektren* wurden mit einem Perkin-Elmer-Spektrographen, Modell 21, aufgenommen.

*Einwirkung von Diazomethan auf 6-Amino-penicillansäure (1)*: 25 g **1** werden in 600 ccm äther. Diazomethanlösung<sup>12)</sup> suspendiert und einige Tropfen Wasser zugesetzt. Es tritt lebhaft Stickstoffentwicklung ein; nach 3–4 Stdn. ist der größte Teil in Lösung gegangen. Man filtriert von unumgesetztem Material ab (ca. 5 g), trocknet über Natriumsulfat und dampft i. Vak. ein. Der ölige Rückstand besteht aus einem Gemisch von **2** ( $R_F = 0.72$ ), **3** ( $R_F = 0.45$ ) und **4** ( $R_F = 0.27$ ). Die Auftrennung erfolgt an einer Kieselgelsäule (100 × 3 cm) mit Äther, gegen Ende mit Äther/Essigester (2 : 1). Es werden 64 Fraktionen zu je 40 ccm aufgefangen, die man dünnenschichtchromatographisch prüft. Die ersten 10 Fraktionen enthalten 2.2 g **4**; die Fraktionen 11–31 4.5 g **3**; die Fraktionen 32–38 2 g eines Gemisches **3** und **2** und die Fraktionen 39–64 10 g **2**.

*6-Amino-penicillansäuremethylester (2)* wurde durch Umsetzung mit *Phenyllessigsäurechlorid* in Pyridin in 6-[*N*-Phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (**8**) übergeführt und die Identität durch Vergleich mit authent. Material<sup>13)</sup> gesichert.

<sup>9)</sup> G. E. Boxer und P. M. Everett, *Analytic. Chem.* **21**, 670 (1949).

<sup>10)</sup> J. F. Alicino, *Ind. Engng. Chem., analyt. Edit.* **18**, 619 (1946).

<sup>11)</sup> Die Teste wurden in den biochemischen und chemotherapeutischen Laboratorien der Farbwerke Hoechst von den Herren Dr. M. Körnlein, Dr. H. Oppermann, Dr. G. Neseemann und Dr. E. Schütze ausgeführt.

<sup>12)</sup> Aus 60 g Nitrosomethylharnstoff.

<sup>13)</sup> Vgl. Lit.<sup>7)</sup>, dort S. 93.

6-Methylamino-penicillansäuremethylester (3) bildet in schwefelsaurer Lösung mit Natriumnitrit eine Nitrosoverbindung, die als gelblicher Niederschlag ausfällt. Mit äther. Salzsäure erhält man ein Monohydrochlorid vom Schmp. 143°.

Base: IR-Spektrum:  $\beta$ -Lactam-carbonyl 1780, Estercarbonyl 1753  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  (244.3) Ber. C 49.16 H 6.60 N 11.47 S 13.12  
Gef. 48.6 6.8 11.2 12.8

Hydrochlorid:

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$  (280.8) Ber. C 42.77 H 6.10 Cl 12.63 N 9.98 S 11.42  
Gef. 43.0 6.2 12.9 10.4 11.7

6-Dimethylamino-penicillansäuremethylester (4) reagiert nicht mit salpetriger Säure und läßt sich nicht acylieren. Das IR-Spektrum zeigt keine NH-Bande. Eine vollständige Reinigung der Base bereitet Schwierigkeiten. Mit äther. Salzsäure erhält man ein Monohydrochlorid vom Schmp. 147–148°.

Hydrochlorid:

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$  (294.8) Ber. C 44.81 H 6.50 Cl 12.03 N 9.50 S 10.88  
Gef. 43.7 6.8 11.8 9.5 11.0

6-[N-Methyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (10). — Zu 2.44 g 3 in 50 ccm Äther + 3 g Pyridin werden 2.5 g Phenyllessigsäurechlorid getropft. Es scheidet sich ein flockiger Niederschlag aus. Nach 10 Min. gibt man Wasser zu, trennt die Ätherphase ab und schüttelt sie mehrmals mit Wasser durch. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat filtriert man sie durch eine Kieselgelsäule (1  $\times$  10 cm) und wäscht mit Äther nach. Das Eluat hinterläßt beim Einengen 3.4 g 10 in farblosen Kristallen, die man aus Diisopropyläther umkristallisiert. Ausbeute 2.86 g (79%); Schmp. 118°. — IR-Spektrum (KBr):  $\beta$ -Lactam-carbonyl 1785, Ester-carbonyl 1725, Amid-carbonyl 1672  $\text{cm}^{-1}$ ; keine NH-Bande.

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  (362.5) Ber. C 59.64 H 6.12 N 7.73 S 8.85  
Gef. 59.7 6.2 8.1 9.1

6-[N-Methyl-N-phenoxyacetyl-amino]-penicillansäuremethylester (11). — Analog 10 mit 3 g Phenoxyessigsäurechlorid. Beim Köhlen der getrockneten Äther-Lösung kristallisiert 11 farblos aus. Ausbeute 2.05 g (54%), Schmp. 113–115° (aus Essigsäureäthylester). — IR-Spektrum (KBr):  $\beta$ -Lactam-carbonyl 1790, Ester-carbonyl 1755, Amid-carbonyl 1668  $\text{cm}^{-1}$ ; keine NH-Bande.

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$  (378.5) Ber. C 57.13 H 5.86 N 7.41 S 8.47  
Gef. 57.2 5.9 7.6 8.6

Natriumsalz der 6-[N-Phenoxyacetyl-amino]-penicillansäure (15) (Penicillin-V-Natrium). — Zu 3.64 g 9 (aus Penicillin-V-säure und Diazomethan) in 40 ccm Pyridin werden bei 0° 100 ccm 0.1 n NaOH von 0° in 10 Min. zugetropft. Man schüttelt mit 100 ccm Essigsäureäthylester aus, den man verwirft, überschichtet erneut mit der gleichen Menge und säuert mit 2 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  unter Köhlen und Umschütteln auf pH 2 an. 15 befindet sich als freie Säure in der organischen Phase, aus der man es durch Unterschichten mit Wasser und vorsichtige Zugabe von 0.1 n NaOH erneut ins Salz überführt. Nach Gefriertrocknung erhält man 2.26 g (61%) Natriumsalz, das nach biologischer und kolorimetrischer Auswertung 23% 15 enthält. — IR-Spektrum (KBr):  $\beta$ -Lactam-Bande 1780  $\text{cm}^{-1}$ .

*Natriumsalz der 6-[N-Methyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäure (16).* — Analog **15** aus 3.62 g **10** in 10 Min., jedoch extrahiert man 2 mal mit 100 ccm Essigsäureäthylester, ehe man ansäuert und analog fortfährt. 2.2 g klar wasserlösliches Salz, dessen Gehalt an **16** nach Kolorimetrie und Jodometrie 16% beträgt. — *IR-Spektrum* (KBr):  $\beta$ -Lactam-carbonylgruppe 1770  $\text{cm}^{-1}$ .

*Natriumsalz der 6-[N-Methyl-N-phenoxyacetyl-amino]-penicillansäure (17).* — Aus 3.78 g **11** analog **15**. Man erhält 2.2 g **17**, das nach Kolorimetrie noch ca. 10% intakten  $\beta$ -Lactamring besitzt. Eine Anreicherung durch Austauschchromatographie und Elektrophorese gelingt nicht. — *IR-Spektrum* (KBr):  $\beta$ -Lactam-carbonylgruppe 1770  $\text{cm}^{-1}$ .

*Umsetzung von 6-Amino-penicillansäure (1) mit Diazoäthan<sup>14)</sup>:* In einer Lösung von 0.33 Mol Diazoäthan in 1.2 l Äther suspendiert man 15 g **1** und fügt einige Tropfen Wasser hinzu. Es tritt lebhaft Stickstoffentwicklung ein, die nach etwa 2 Stdn. beendet ist. 5 g ungelöste 6-Amino-penicillansäure werden abfiltriert. Die Lösung enthält **5** ( $R_F = 0.20$ ), **6** ( $R_F = 0.59$ ) und 6-Diäthylamino-penicillansäureäthylester (**7**) ( $R_F = 0.88$ ). Die Trennung erfolgt an einer Kieselgelsäule (100  $\times$  3 cm) mit Äther. Das am langsamsten wandernde **5** wird unter Zusatz von Essigsäureäthylester eluiert. Man isoliert 1.0 g **7**, 3.0 g **6** und 5 g **5**. **7** wurde nicht näher untersucht.

6-Amino-penicillansäureäthylester (**5**) wurde in Äther/Pyridin mit Phenylessigsäurechlorid acyliert und durch Vergleich mit 6-[N-Phenylacetyl-amino]-penicillansäureäthylester (**12**, gewonnen aus Penicillin G-Säure und Diazoäthan) identifiziert.

6-Äthylamino-penicillansäureäthylester (**6**). — Gelbliches, viskoses Öl.

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (272.4) | Ber. C 52.91 H 7.40 N 10.29 S 11.77 |
|  | Gef. 52.9 7.7 10.1 11.7             |

6-[N-Äthyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäureäthylester (**13**). — 2.72 g **6** werden analog **10** zu **13** acyliert. Es resultiert ein gelbliches Öl ( $R_F = 0.70$ ), das an einer Kieselgelsäule (1  $\times$  20 cm) mit Äther als Elutionsmittel gereinigt wird. Ausbeute 1.4 g. — *IR-Spektrum*:  $\beta$ -Lactam-carbonyl 1785, Ester-carbonyl 1745  $\text{cm}^{-1}$ .

|  |                                   |
|--|-----------------------------------|
| $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (390.5) | Ber. C 61.51 H 6.71 N 7.17 S 8.21 |
|  | Gef. 62.5 7.2 7.4 7.9             |

*Natriumsalz der 6-[N-Äthyl-N-phenylacetyl-amino]-penicillansäure (18).* — 3.9 g **13** werden analog **15** gespalten. Es wird 1.8 g des Salzes **18** erhalten, dessen Penicillingehalt ca. 10% beträgt. — *IR-Spektrum* (KBr):  $\beta$ -Lactam-carbonyl 1770  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>14)</sup> Die von A. L. Wilds und A. L. Meader, J. org. Chemistry **13**, 763 (1948), gegebene Vorschrift wurde im wesentlichen befolgt. Anstatt Nitrosourethan wurde Nitrosoäthylharnstoff eingesetzt, der, in Dioxan gelöst, zu einem Gemisch von KOH, Propanol, Äther unter Rühren getropft wurde. Diazoäthan geht verdünnt mit Äther bei ca. 50° Wasserbadtemperatur über. Die Gehaltsbestimmung erfolgt mit Benzoesäure. Ausbeute ca. 65% d. Th. [137/66]