

Eine einfache Synthese von 6- α -Methoxy-amoxycillin

E. WÖTTUN*, B. WETZEL, R. MAIER

Abteilung Chemische Forschung, Dr. K. Thomae GmbH, D-7950
Bibrach/Riss, West Germany

W. DERSCH

Abteilung Verfahrensentwicklung, Boehringer Ingelheim KG, D-
6507 Ingelheim am Rhein, West Germany

A Facile Synthesis of 6- α -methoxyamoxycillin

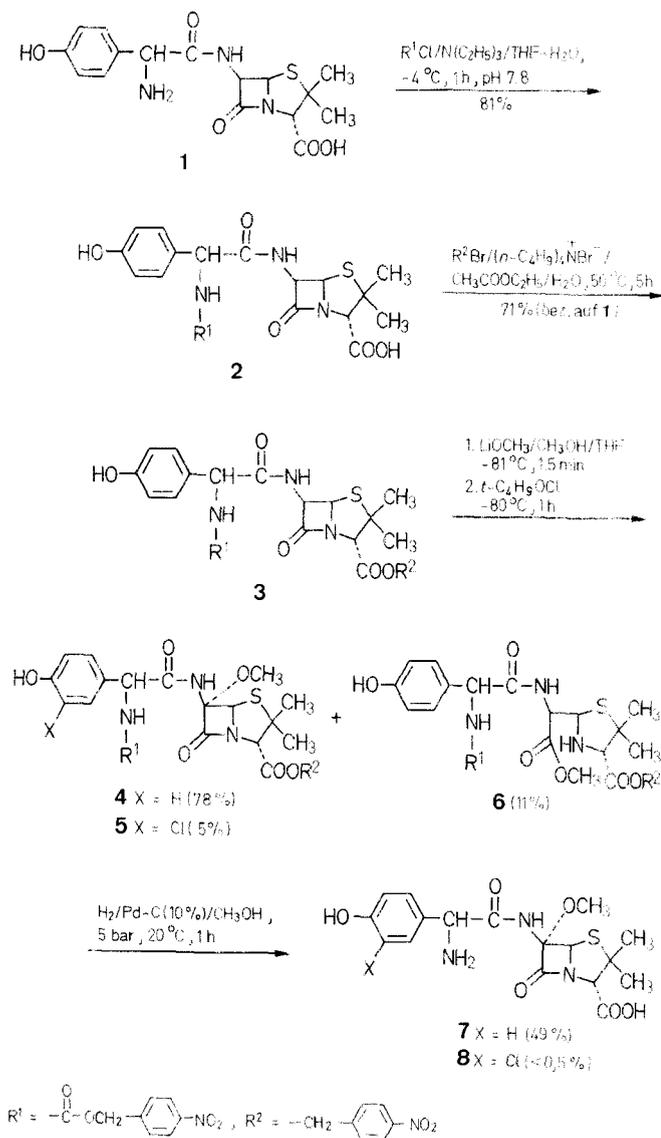
6- α -Methoxyamoxycillin is an important intermediate for ureido-6- α -methoxypenicillins with improved antibacterial activity against β -lactamase-producing strains. A facile and practical synthesis of this compound, applicable for large scale preparation, is described.

Die Resistenz von Bakterien gegen Penicilline und Cephalosporine ist in den meisten Fällen auf Spaltung des β -Lactamrings durch bakterielle Enzyme – β -Lactamasen – zurückzuführen¹. Eine deutliche Verbesserung der Lactamasen-Stabilität läßt sich in diesen Antibiotica-Klassen durch Einführung einer Methoxy-Gruppe in 6- bzw. 7-Position erreichen². Pyrimidinylureido-penicilline, die sich von Amoxycillin durch Acylierung der Amino-Gruppe in der Seitenkette ableiten, sind wegen ihrer hohen Aktivität gegen Gram-negative Keime von Interesse³.

Für die Synthese ihrer 6-Methoxy-Derivate bietet sich prinzipiell die direkte Methoxylierung – Einwirkung von Lithiummethylat, *t*-Butylhypochlorit und Methanol auf ein β -Lactam⁴- oder die *N*-Acylierung von 6- α -Methoxy-amoxycillin (**7**) an. Von diesen beiden Möglichkeiten ist die erstere wegen der hohen Funktionalität der Ausgangsverbindungen nicht realisierbar. Das einzige bisher bekannte Herstellverfahren für **7** ist aufwendig und bedient sich einer indirekten Methode. Ausgehend von 6-Amino-penicillansäure wird über acht Stufen zunächst 6- α -Methylthio-amoxycillin erhalten und in diesem durch Einwirkung von Methanol in Gegenwart von Quecksilber(II)-Salzen der Methylthio-durch den Methoxy-Rest ersetzt⁵.

Eine direkte Methoxylierung von Amoxicillin ist bisher in der Literatur nicht beschrieben. Dies ist nicht überraschend, da bei der Methoxylierung von Ureido- β -lactamen, die hydroxy- oder alkoxy-substituierte aromatische Reste besitzen, in erheblichem Ausmaß Kernchlorierung erfolgt⁶. Dementsprechend werden bei der Umsetzung von Amoxicillin **3** (mit geschützter Amino- und Carboxy-Gruppe) neben **4** das kernchlorierte Derivat **5** (~15%) und außerdem auch größere Mengen der β -Lactamring-geöffneten Verbindung **6** (~25%) erhalten. Beide Nebenprodukte lassen sich von **4** durch präparative HPLC nur verlustreich trennen, so daß die Methode für die Herstellung größerer Mengen an **7** unrationell ist.

Die komplexe Methoxylierungsreaktion – *N*-Chlorierung des Amid-Stickstoffs, Acylimin-Bildung, stereokontrollierte Methanol-Addition – wurde für **3** untersucht und optimiert. Es ist dabei gelungen, einerseits das *O,N*-Dianion von **3** weitgehend selektiv am Stickstoff zu chlorieren und andererseits die β -Lactamringspaltung in Gegenwart des Baseüberschusses zu verringern. Damit konnte die Nebenproduktate insgesamt, vor allem aber der Anteil an **5**, das von **4** nur schwer abtrennbar ist, deutlich gesenkt werden.



Für diese, auch im größeren Maßstab gut durchführbare Synthese sind folgende Reaktionsparameter von Bedeutung:

Exakte Einhaltung eines Temperaturbereichs von $-80^\circ C$ bis $-78^\circ C$; möglichst rasche Bildung der Acylimin-Zwischenstufe (1–2 min); Begrenzung der Gesamtreaktionszeit auf 1 h; genaue Dosierung von Lithiummethylat (3.5 equiv.) und *t*-Butylhypochlorit (1.15 equiv); Verwendung des 4-Nitrobenzyloxycarbonyl- und des 4-Nitrobenzyl-Restes als Schutzgruppen R^1 und R^2 , die leicht einführbar und problemlos in einem Schritt entfernbar sind (ein Schutz der phenolischen OH-Gruppe ist nicht erforderlich).

Bei Beachtung dieser Reaktionsbedingungen fällt ein Rohprodukt **4** an, aus dem nach hydrogenolytischer Abspaltung der Schutzgruppen und Umfällung **7** erhalten wird, das keine ringoffene Verbindung und maximal 0,5% **8** enthält.

Die Anfertigung der IR-Spektren erfolgte mit einem Perkin-Elmer Spektrophotometer, Modell 298. Die 400 MHz 1H -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker AM-400 Instrument aufgenommen.

6*R*-[(*R*)-2-[4-Nitrobenzyloxycarbonyl]-amino]-2-(4-hydroxyphenyl)-acetamido]-penicillansäure **2**:

Amoxicillin-Trihydrat (209.5 g, 0.5 mol), suspendiert in wäßrigem Tetrahydrofuran (70%ig, 2.73 l) wird durch Zugabe von Triethylamin (75 ml, 0.54 mol) unter Stickstoff bei $10^\circ C$ gelöst (pH 9.3). Nach Abkühlen auf $-4^\circ C$ wird eine Lösung von Chlorameisensäure-(4-nitrobenzyl)-ester (107.8 g, 0.5 mol) in absolutem Tetrahydrofuran (350 ml) innerhalb 30–40 min zugetropft, wobei der pH 7.8 nicht unterschritten werden soll (Triethylamin-Zugabe). Es wird noch 15 min bei $-4^\circ C$ und 1 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Triethylamin auf pH 7.6 gestellt, Wasser (1.3 l) zugefügt und das Tetrahydrofuran unter vermindertem Druck abdestilliert.

Die verbleibende wäßrige Lösung wird mit 2*N*-Salzsäure auf pH 6.2 gestellt und nach Extraktion mit Ethylacetat (3×1.2 l) in der nächsten Stufe weiter umgesetzt. Für eine Isolierung von **2** wird bei $5^\circ C$ mit 2*N*-Salzsäure angesäuert (pH 2.9), das ausgefallene **2** abgesaugt, in Wasser (2×1.5 l) aufgeschlämmt, abgesaugt und getrocknet. Ausbeute: 221 g (81%); Schmp. undefiniert.

6*R*-[(*R*)-2-[4-Nitrobenzyloxycarbonyl]-amino]-2-(4-hydroxyphenyl)-acetamido]-penicillansäure-4-nitrobenzylester **3**:

Die wäßrige Lösung aus der Herstellung von **2** (2.25 l) wird mit Ethylacetat (2.25 l) überschichtet und kräftig turbiniert. Nacheinander werden Tetra-butylammoniumbromid (80.6 g, 0.25 mol) und 4-Nitrobenzylbromid (108 g, 0.5 mol) zugegeben und die Mischung 5 h auf $50^\circ C$ erwärmt. Falls die Veresterung noch nicht vollständig ist (DC-Kontrolle), wird die Reaktionszeit verlängert.

Die Wasserphase wird abgetrennt und mit Ethylacetat (1.1 l) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5%, 3×1 l) und Wasser (2×1 l) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 1.1 l eingezogen. Die Ethylacetat-Lösung wird mit Diisopropylether (350 ml) bis zur leichten Trübung versetzt, unter Rühren in Diisopropylether (6.25 l) gegossen und das ausgefallene **3** abgesaugt und getrocknet. Ausbeute: 240 g (71%, bezogen auf Amoxicillin-Trihydrat); Schmp. $73-74^\circ C$ (Z).

6*R*-[(*R*)-2-[4-Nitrobenzyloxycarbonyl]-amino]-2-(4-hydroxyphenyl)-acetamido]-6*x*-methoxypenicillansäure-4-nitrobenzylester **4**:

Eine Lösung von **3** (113 g, 0.15 mol) in Tetrahydrofuran (1.5 l) (maximal 0.01% Wasser) wird bei $-81^\circ C$ innerhalb von 25 s unter Rühren und Argonbegasung mit einer auf $-80^\circ C$ gekühlten Lösung von Lithiummethylat (19.8 g, 0.52 mol) in Methanol (300 ml) (maximal 0.03% Wasser) versetzt (Gelborangefärbung, Temperaturabfall auf $-82.5^\circ C$). Nach 1 min wird innerhalb von 20 s *t*-Butylhypochlorit (19.5 ml, 18.74 g, 0.172 mol) zugegeben. Die Reaktion verläuft exotherm; die Temperatur muß unterhalb von $-77^\circ C$ gehalten werden. Die Nachreaktion erfolgt 1 h lang bei $-80^\circ C$.

Die Reaktionsmischung wird in eine auf $-5^\circ C$ gekühlte Lösung von Ammoniumchlorid (300 g) und Natriumsulfat (27 g) in Wasser

Tabelle. IR- und ¹H-NMR-Daten der Verbindungen 2–8

| Verbindung | Summenformel ^a | IR ^b ν [cm ⁻¹] | ¹ H-NMR (400 MHz) ^c δ [ppm] |
|------------|---|---|--|
| 2 | C ₂₄ H ₂₄ N ₄ O ₉ S (544.5) | 1780, 1730, 1670, 1610, 1515, 1345 | 1.45 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.57 (s, 3 H, 2-CH ₃); 4.23 (s, 1 H, 3-H); 5.21 (q, 2 H, —CH ₂ O—); 5.34 (s, 1 H, 2'-H); 5.41 (d, 1 H, 5-H); 5.55 (d, 1 H, 6-H); 6.72 (d, 2 H _{arom}); 7.26 (d, 2 H _{arom}); 7.64 (d, 2 H _{arom}); 8.24 (d, 2 H _{arom}) |
| 3 | C ₃₁ H ₂₉ N ₅ O ₁₁ S (679.7) | 3570, 3400, 1785, 1730, 1690, 1610, 1520, 1345 | 1.39 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.56 (s, 3 H, 2-CH ₃); 4.46 (s, 1 H, 3-H); 5.15–5.35 (m, 5 H, 2'-H, 2x—CH ₂ O—); 5.48 (d, 1 H, 5-H); 5.58 (d, 1 H, 6-H); 6.81 (d, 2 H _{arom}); 7.23 (d, 2 H _{arom}); 7.54 (d, 2 H _{arom}); 7.59 (d, 2 H _{arom}); 8.21 (d, 2 H _{arom}); 8.27 (d, 2 H _{arom}) |
| 4 | C ₃₂ H ₃₁ N ₅ O ₁₂ S (709.7) | 3570, 3400, 1780, 1730, 1700, 1610, 1525, 1345 | 0.99 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.24 (s, 3 H, 2-CH ₃); 3.51 (s, 3 H, 6-OCH ₃); 4.42 (s, 1 H, 3-H); 5.19–5.38 (m, 5 H, 2'-H, 2x—CH ₂ O—); 5.55 (s, 1 H, 5-H); 6.79 (d, 2 H _{arom}); 7.33 (d, 2 H _{arom}); 7.52 (d, 2 H _{arom}); 7.59 (d, 2 H _{arom}); 8.2 (d, 2 H _{arom}); 8.24 (d, 2 H _{arom}) |
| 5 | C ₃₂ H ₃₀ ClN ₅ O ₁₂ S (744.1) | 3570, 3400, 1785, 1730, 1695, 1610, 1520, 1345 | 1.01 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.27 (s, 3 H, 2-CH ₃); 3.52 (s, 3 H, 6-OCH ₃); 4.43 (s, 1 H, 3-H); 5.13–5.38 (m, 5 H, 2'-H, 2x—CH ₂ O—); 5.55 (s, 1 H, 5-H); 6.90 (d, 1 H _{arom}); 7.25 (dd, 1 H _{arom}); 7.52 (m, 3 H _{arom}); 7.59 (d, 2 H _{arom}); 8.21 (d, 2 H _{arom}); 8.25 (d, 2 H _{arom}) |
| 6 | C ₃₂ H ₃₃ N ₅ O ₁₂ S (711.7) | 3580, 3405, 1740, 1690, 1610, 1525, 1350 | 1.02 (s, 3 H, 5-CH ₃); 1.27 (s, 3 H, 5-CH ₃); 3.76 (s, 3 H, —COOCH ₃); 4.58 (d, 1 H, 4-H); 5.03–5.26 (m, 7 H, 2-H, 1'-H, 4'-H, 2x—CH ₂ O—); 6.78 (d, 2 H _{arom}); 7.28 (d, 2 H _{arom}); 7.51 (d, 2 H _{arom}); 7.58 (d, 2 H _{arom}); 8.2 (d, 2 H _{arom}); 8.27 (d, 2 H _{arom}) |
| 7 | C ₁₇ H ₂₁ N ₃ O ₆ S ^d (395.4) | 1760, 1690, 1610, 1515 | 0.9 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.3 (s, 3 H, 2-CH ₃); 3.5 (s, 3 H, 6-OCH ₃); 3.95 (s, 1 H, 3-H); 4.86 (s, 1 H, 2'-H); 5.41 (s, 1 H, 5-H); 6.8 (d, 2 H _{arom}); 7.2 (d, 2 H _{arom}) |
| 8 | C ₁₇ H ₂₀ ClN ₃ O ₆ S (429.9) | 1765, 1700, 1605, 1510 | 0.89 (s, 3 H, 2-CH ₃); 1.31 (s, 3 H, 2-CH ₃); 3.45 (s, 3 H, 6-OCH ₃); 4.02 (s, 1 H, 3-H); 4.91 (s, 1 H, 2'-H); 5.42 (s, 1 H, 5-H); 7.01 (d, 1 H _{arom}); 7.34 (dd, 1 H _{arom}); 7.62 (d, 1 H _{arom}) |

^a Die Verbindungen 2–8 ergaben zufriedenstellende Elementaranalysen: C ± 0.33, H ± 0.27, N ± 0.28, S ± 0.26, Cl ± 0.36.

^b Aufgenommen in KBr (2, 7, 8) bzw. CH₂Cl₂ (3–6).

^c Aufgenommen in DMSO-*d*₆/CD₃OD (2, 7, 8) bzw. CDCl₃/CD₃OD (3–6).

^d Literatur-Werte⁵:

IR(KBr): ν = 3700–2200 b, 1760, 1680, 1600 b, 1515, 1255 b, 1100 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ = 0.95 und 1.28 (2xs, 6 H, 2x2-CH₃); 3.39 (s, 3 H, 6-OCH₃); 4.02 (s, 1 H, 3-H); 4.81 (bs, 1 H, CH); 5.32 (s, 1 H, 5-H); 6.75 und 7.34 ppm (2d, 4 H, J = 9 Hz, C₆H₄).

(2.8 l) eingerührt. Es wird mit Methylenchlorid (2 × 1 l) extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit 5%iger Ammoniumchlorid-Lösung (2 × 1 l) und mit Wasser (2 × 2 l) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und auf ein Volumen von 500 ml eingeeengt. Durch Einrühren in Diisopropylether (3 l) fallen 103.6 g (97%) Rohprodukt aus, Schmp. 72–74°C (Z). Produktzusammensetzung, bestimmt durch DC (Silicagel 60 [Merck], Chloroform/Methanol (100:10, v + v) und HPLC (Zorbax C-8 [DuPont], 6 µm; 250 × 4.6 mm; Methanol/Wasser (65:35, v + v); 2 ml/min; 150 bar): 78% 4, 5% 5, 11% 6.

Das Gemisch kann durch präparative HPLC getrennt werden (Chromatospac Prep [Jobin Yvon]; Silicagel 60 [Merck], 15–40 µm; Dichlormethan/Ethylacetat (10:1.7, v + v); 106 ml/min; 7 bar).

6α-Methoxyamoxicillin 7:

Das Rohprodukt aus der Darstellung von 4 (102.9 g), gelöst in Methanol (3.5 l, p. a.) wird bei 20°C und einem Wasserstoff-Druck von 5 bar 1 h über 100 g Palladiumkohle (10% Palladium) hydriert. Die Lösung wird filtriert und im Vakuum auf 500 ml eingeeengt. 7 wird durch Einrühren in Diisopropylether (5 l) gefällt. Das Rohprodukt (43 g) wird in Dimethylformamid (215 ml) gelöst. Nach Versetzen mit Methanol (135 ml) wird die Substanz unter Rühren durch langsame Zugabe von Methylacetat (1050 ml) ausgefällt; weißes Pulver. Ausbeute 32 g 7 (49%), (Verunreinigung 8: < 0.5%, bestimmt durch HPLC [Hypersil ODS (Shandon), 5 µm,

250 × 4 mm; Acetonitril/0.1% wäbriges Natriumdihydrogenphosphat, pH 3 (70:930, v + v); 2 ml/min] und DC [Silicagel 60 (Merck); *n*-Butylalkohol/Essigsäure/Wasser = 45:15:20, v + v + v), R_f: 0.6].

Eingang: 19. Februar 1986

¹ Rolinson, G. N., Sutherland, R. *Adv. Pharmacol. Chemother.* **1973**, *11*, 151.

Sykes, R. B., Matthew, M. J. *Antimicrob. Chemother.* **1976**, *2*, 115.

² Stapley, E. O., Jackson, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1972**, *2*, 121.

Slocombe, B., Basker, M. J., Bentley, P. H., Clayton, J. P., Cole, M., Comber, K. R., Dixon, R. A., Edmondson, R. A., Jakson, D., Merrikin, J., Sutherland, R. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1981**, *20*, 38.

³ Wetzel, B., Woitun, E., Reuter, W., Maier, R., Lechner, U. *Drug Res.* **1985**, *35*, 343.

⁴ Koppel, G. A., Koehler, R. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 2403

⁵ Best, D. J., Burton, G., Harrington, F. P. *European Patent Application* 91, 755 (1983) Beecham Group PLC; *C. A.* **1984**, *100*, 85501

⁶ Feyen, P., Schröck, W. *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 814; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 808.