

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

209879

(11)

(B2)

(22) Přihlášeno 24 03 77
(21) (PV 2969-78)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 25 03 76
(7608690) Francie

(40) Zveřejněno 31 03 81

(45) Vydáno 15 06 84

(51) Int. Cl.³

C 07 D 501/36

C 07 D 501/04//

A 61 K 31/545

(72)

Autor vynálezu

HEYMES RENÉ, ROMAINVILLE a LUTZ ANDRÉ, STRASBOURG (Francie)

(73)

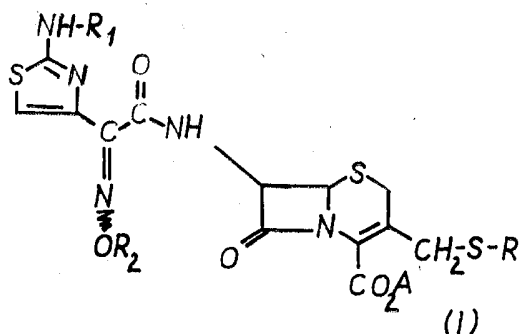
Majitel patentu

ROUSSEL-UCLAF, PAŘÍŽ (Francie)

(54) Způsob výroby nových alkyloximových derivátů kyseliny 7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)acetamido]cefalosporanové

1

Vynález se týká způsobu výroby nových alkyloximových derivátů kyseliny 7-[2-amino-4-thiazolyl]acetamido]cefalosporanové, které mají obecný vzorec I



ve kterém

R představuje acylovou skupinu mající 2 až 4 atomy uhlíku nebo 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl nebo 1-methyltetrazolyl,

R₁ představuje atom vodíku nebo tritylový zbytek,

R₂ představuje nasycený nebo nenasycený alkylový zbytek, mající 1 až 4 atomy uhlíku,

A představuje atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zemi, hořčíku nebo farmaceuticky přijatelnou aminovanou organickou bází,

2

vazba vyznačená vlnovkou znamená, že skupina OR₂ se může nacházet v jedné ze dvou možných poloh syn nebo anti.

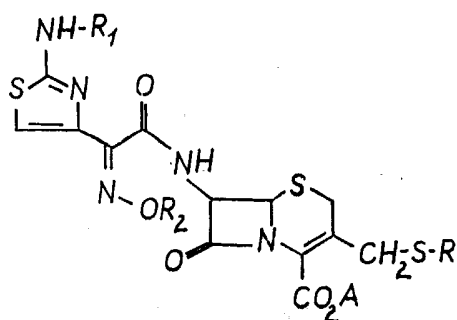
Jako acylovou skupinu, kterou může představovat substituent R je možno uvést skupinu acetylovou, propionyllovou, n-butyrylovou nebo isobutyrylovou.

Jako skupinu alkylovou s 1 až 4 uhlíkovými atomy v obecném substituentu R₂ je možné jmenovat methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sek.butyl, terc.butyl, vinyl, propenyl, ethinyl nebo propargyl.

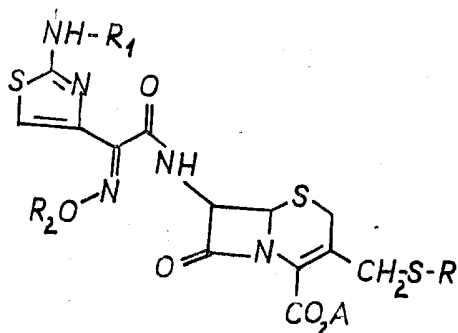
Jako možné významy obecného substituentu A je možné obzvláště uvést ekvivalent sodíku, draslíku, lithia, vápníku nebo hořčíku.

Jako farmaceuticky přijatelné aminované organické báze, které může představovat obecný substituent A, je možné jmenovat trimethylamin, triethylamin, methylamin, propylamin, N,N-dimethylethanolamin, tri(hydroxymethyl)aminoethan, arginin nebo lysin.

Sloučeniny získané postupem podle vynálezu, mající formu isomeru syn, mohou být reprezentovány následujícím obecným vzorcem



Sloučeniny získané postupem podle vynálezu, mající tvar isomeru **anti** mohou být reprezentovány následujícím obecným vzorcem



Předmětem vynálezu je zejména způsob výroby látek, které mají obecný vzorec I

— ve kterém skupina snadno eliminovatelná hydrolýzou kyselou nebo hydrogenolýzou, kterou může představovat substituent R₁ je tritylová skupina,

— ve kterém R představuje buď acylovou skupinu, mající 2 až 4 atomy uhlíku nebo zbytek 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl nebo zbytek 1-methyltetrazolyl,

— ve kterém R₁ představuje atom vodíku nebo skupinu tritylovou, R₂ představuje methylový zbytek,

— ve kterém R představuje acetylový zbytek 2-methyl-1,3,4-tetrazolyl a A představuje atom vodíku,

— ve kterém R₁ představuje atom vodíku, R₂ představuje methylový zbytek, R představuje acetylový zbytek, zbytek 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl nebo zbytek 1-methyltetrazolyl a A představuje atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zeminy, hořčíku nebo farmaceuticky přijatelnou aminovanou organickou bází,

— ve kterém R₁ představuje atom vodíku, R₂ představuje methylový zbytek, R předsta-

vuje acylový zbytek, mající 2 až 4 atomy uhlíku a A představuje atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu.

Jako látky obecného vzorce I je možné uvést sloučeniny, uvedené v dále uvedených příkladech a zejména:

kyselinu 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylovou,

kyselinu 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylovou,

kyselinu 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylovou,

kyselinu 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylovou, isomer syn,

kyselinu 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylovou, isomer syn,

kyselinu 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylovou, isomer syn,

sodnou sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn,

sodnou sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn,

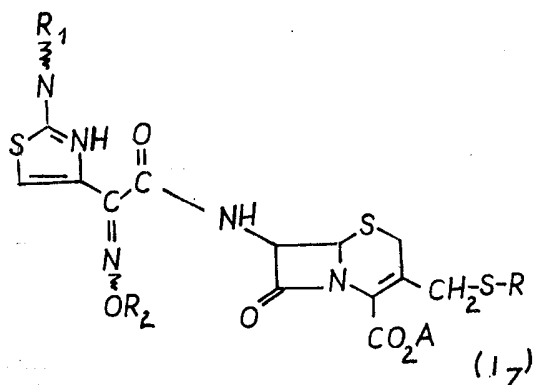
sodnou sůl kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn, jakož i

krystalickou sodnou sůl kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn.

Rozumí se, že látky obecného vzorce I uvedené výše mohou existovat

— **buď** ve formě naznačené výše uvedeným obecným vzorcem I

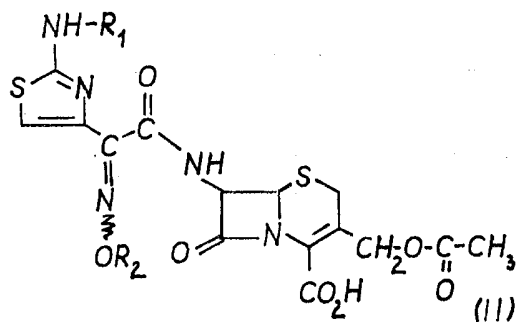
— **nebo** ve formě látek obecného vzorce I₂



ve kterém

R, R₁, R₂ a A mají výše uvedený význam.

Vynález má jako předmět způsob výroby látek obecného vzorce I, vyznačující se tím, že se na látku obecného vzorce II



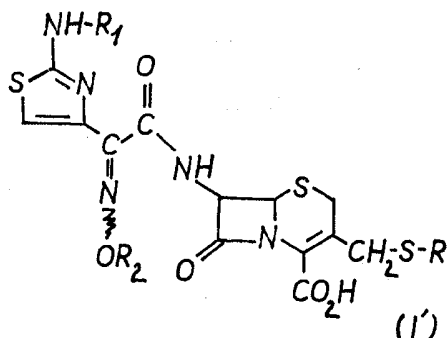
ve kterém

R₁ a R₂ mají význam uvedený výše působí látkou obecného vzorce III



ve kterém

R má význam uvedený výše tak, aby byly získány látky obecného vzorce I'



kde

R₁, R₂ a R mají výše uvedený význam, které se případně přemění v soli tak, aby byly získány látky obecného vzorce I, ve kterém A představuje ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zeminy, hořčíku nebo farmaceuticky přijatelné aminované organické báze.

Působením látky obecného vzorce III na látku obecného vzorce II se s výhodou provádí ve směsi voda-aceton, ale rovnocenně lze použít jiné vodné rozpouštědlo, jako je směs voda-dioxan, voda-tetrahydrofuran nebo voda-ethylalkohol.

Reakce se s výhodou provádí v přítomnosti pufru udržujícího slabě kyselé pH, jako je směs fosforečnanu sodného a hydrogenuhličitanu sodného, stejně tak lze ale provádět reakci bez pufru.

Tvorba solí látek obecného vzorce I' může být provedena metodou, popsanou v příkladové části.

Vynález se zvláště týká způsobu výroby látek obecného vzorce I u kterých je skupina OR₂ v poloze **syn**, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí látky obecného vzorce II, u nichž je skupina OR₂ v poloze **syn**.

Látky obecného vzorce I a zvláště ty, které jsou ve formě **syn** mají velmi dobrou antibiotickou účinnost, na jedné straně na bakterie grampozitivní, jako jsou například stafylokoky a obzvláště stafylokoky resistantní vůči penicilinu, na druhé straně na bakterie gramnegativní, obzvláště na bakterie koliformní, Klebsiella, Salmonella a Proteus.

Tyto vlastnosti umožňují, že tyto produkty, farmaceuticky přijatelné, mohou být užívány jako léky při léčení chorob způsobovaných choroboplodnými zárodky a obzvláště při léčení chorob způsobených stafylokoky, jako jsou stafylokokové septikémie, maligní stafylokokie obličeje a pokožky, pyodermity, infikované nebo zhnisané rány, anthrax flegmona, erysipel, jednoduché a pochřipkové akutní stafylokokie, bronchopneumonie a záněty plic.

Výše uvedené farmaceuticky přijatelné látky mohou být také použity při léčení kolibaciloz a příbuzných infekcí, infekcí způsobovaných Proteusem, Klebsiellou a Salmonellou a jiných chorob způsobovaných gramnegativními bakteriemi.

Farmaceuticky přijatelné látky obecného vzorce I mohou být také použity pro přípravu farmaceutických preparátů, obsahujících jako aktivní složku alespoň jeden z výše uvedených produktů a jmenovitě ty, které mají strukturu **syn**.

Mezi těmito produkty je třeba se obzvláště zmínit o těch, které obsahují jako účinnou složku alespoň jednu z farmaceuticky přijatelných látek obecného vzorce I

— ve kterém R představuje acylovou skupinu mající 2 až 4 atomy uhlíku nebo zbytek 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl nebo zbytek 1-methyltetrazolyl,

— ve kterém R₁ představuje atom vodíku nebo tritylovou skupinu, R₂ je mythylový zbytek a R představuje acylový zbytek, 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl zbytek nebo zbytek 1-methyltetrazolyl a A představuje atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zeminy, hořčíku nebo farmaceuticky

tický přijatelnou aminovanou organickou bází.

Mezi těmito posledně uvedenými látkami je třeba citovat zejména farmaceuticky přijatelné látky, které obsahují jako účinnou složku alespoň jednu látku obecného vzorce I, ve kterém R_1 představuje atom vodíku, R_2 představuje methylovou skupinu a R představuje acetylovou skupinu se 2 až 4 uhlíkovými atomy, přičemž A znamená atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu; z těchto látek je třeba zejména uvést sloučeniny, ve kterých je skupina OR_2 v poloze syn.

Zejména je možné uvést farmaceutické prostředky, obsahující jako účinnou látku alespoň jednu z následujících sloučenin:

kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]-thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová,

kyselina 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, jako jsou například jednoduché tablety,

kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová, isomer syn,

kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]-thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová, isomer syn,

kyselina 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, isomer syn,

sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn,

sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn,

sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn,

sodná sůl kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, isomer syn a

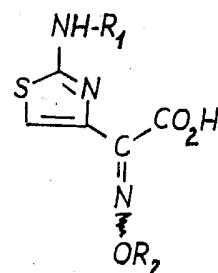
krystalická sodná sůl kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové, isomer syn.

Látky mohou být podávány ústně, rektálně, parenterálně, intramuskulárně nebo lokálně povrchovou aplikací na kůži a mokvavá místa.

Tyto látky mohou být pevné nebo kapalné a mohou být podávány ve farmaceutických formách běžně používaných v humánní medicíně, jako jsou například jednoduché tablety opatřené pouzdrzem, želé, granule, čípky, injekční preparáty, pomády, krémy, gely. Připraví se obvyklými metodami. Rovněž je možné použít obvyklé pomocné látky, jakými jsou například mastek, arabská guma, laktosa, škrob, stearat hořečnatý, kakaové máslo, vodné i nevodné nosiče, tuky živočišného nebo rostlinného původu, parafinické deriváty, glykoly, různá smáčecí činidla, disperzanty nebo emulsifikátory a konzervační prostředky.

Podávaná dávka je proměnná v závislosti na léčeném onemocnění, na pacientovi, na způsobu podávání a na uvažované látce. Může se například pohybovat mezi 0,250 g a 4 g denně, orální cestou u člověka u látky popsané v příkladě 2, a nebo mezi 0,5 g až 1 g třikrát denně intramuskulárně nebo intravenózně.

Látky obecného vzorce II se připraví působením kyseliny obecného vzorce IV



(IV)

ve kterém

R_1 a R_2 mají výše uvedený význam, na kyselinu 7-aminocefalosporanovou, přičemž po této reakci může následovat kyselá hydrolýza nebo hydrogenolýza.

Příklad takového postupu je uveden v následující příkladové části.

Obdobným způsobem se získají látky obecného vzorce II, ve kterém je skupina OR_2 v poloze syn, pokud se vychází z látek obecného vzorce IV, ve kterém je skupina OR_2 v poloze syn a tyto látky se uvedou v reakci s kyselinou 7-aminocefalosporanovou.

Způsob podle vynálezu je blíže objasněn v následujících příkladech provedení, které mají pouze ilustrativní charakter a vlastní rozsah vynálezu nikterak neomezuje.

Příklad 1

Kyselina 7-[[2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová

K 2,7 g kyseliny 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové se přidá 0,624 g primárního fosforečnanu sodného, 1,51 g hydrogenuhličitanu sodného, 1,32 g 1-methyl-5-merkaptotetrazolu, 40 ml vody a 20 ml acetonu. Směs se ponechá přes noc při teplotě 48 °C a jednu hodinu při teplotě 60 °C. Po přečištění se získá požadovaný produkt ve formě isomeru syn. Vzorek tohoto produktu se chromatografuje na tenké vrstvě silikagelu, přičemž při použití následujících chromatografických soustav byly stanoveny tyto hodnoty R_f :

0,45 pro aceton s 5 % vody a
0,5 pro ethylacetát/ethanol/voda: 70—20—10

Infračervené spektrum (chloroform)

C=O β -laktam: 1785 cm^{-1}

NMR-spektrum:

(CD_3)₂ SO ppm

protony tritylové skupiny = 7,3,
proton v poloze 5 thiazolu = 6,7.

Příklad 2

Kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová

Vychází se z 1,7 g kyseliny 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové, 0,624 g primárního fosforečnanu sodného, 1,51 g hydrogenuhličitanu sodného, 1,32 g 1-methyl-5-merkaptotetrazolu, 40 ml vody a 20 ml acetonu; tato směs se ponechá přes noc při teplotě 48 °C a jednu hodinu při teplotě 60 °C. Tímto způsobem se získá požadovaný produkt ve formě isomeru syn. Kyselina 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, isomer **syn** použitá v příkladě 1 a kyselina 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, isomer **syn** použitá v příkladě 2 se získají takto:

a) Kyselina 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová.

3,06 g sodné soli kyseliny 2-(2-tritylamino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl se umístí do 65 ml methylenchloridu a 6,5 ml 2 N kyseliny chlorovodíkové, promyje ve vodě, suší a zahusťuje a tak se získá volná kyselina.

Získaná volná kyselina se rozpustí v 30 mililitrech methylenchloridu. Přidá se 0,78 gramů dicyklohexylkarbodiimidu a míchá se jednu hodinu při teplotě okolí. Zbaví se vzniklé dicyklohexylmočoviny, ochladí na -10 °C, přidá se roztok 1,01 g kyseliny 7-aminocefalosporanové v 13 ml methylenchloridu a 0,9 ml triethylaminu. Nechá se zahřát na teplotu okolí, přidá se 1 ml kyseliny octové, zbaví tekutiny, promývá ve vodě s přídavkem kyseliny chlorovodíkové, suší, koncentruje, vyjme 10 ml dioxanu, přidá se 1 ml vody a 3 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Míchá se, zbaví tekutiny, promývá a koncentruje, pak se vyjme do methylenchloridu, promývá v 10 mililitrech vody a 5 ml normální kyseliny chlorovodíkové, dekantuje, promývá vodou, suší, rozdělí v etheru a získá se 1,747 g surové látky, která se čistí rozpuštěním v octanu ethylnatém a následným srážením v etheru. Získá 1,255 g čisté látky.

Získaná látka má konfiguraci **syn**.

b) Kyselina 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová.

0,975 g látky získané v části a) se míchá po 10 minut při 55 °C ve 4 ml 50% kyseliny mravenčí. Přidají se 4 ml vody, odstředí se a zahusťí do sucha za vakua. Rozdělí se v 2 ml ethanolu, odstředí, promyje ethanolem a potom etherem a získá se 0,428 g čisté látky.

Získaná látka má konfiguraci **syn**.

NMR (DMSO 60 MHz) p.p.m.:

2,03 — (C—CH₃) dublet 9,58, J = 8 Hz,
 $\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$
 6,76 (proton thiazolového cyklu).

Příklad 3

Kyselina 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová, isomer **syn**.

Vytvoří se roztok 4,55 g kyseliny 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové isomer **syn**, 1,7 g thioacetátu

draselného, 2 g bezvodého primárního fosforečnanu sodného a 20 ml destilované vody. Udrží se po jednu a půl hodiny při teplotě 70 °C. Okyslí se 2 ml kyseliny mravenčí a čtyřikrát extrahuje 60 ml octanu methylnatého (filtruje se nerozpustná složka).

Organický roztok se myje vodou, suší a koncentruje do sucha. Získaný zbytek se rozpustí v 20 ml acetonu s 10 % vody. Přidá se 0,5 g aktivního uhlí. Míchá se 5 minut, zbaví se uhlí, promývá acetonem s 10 % vody a filtrát se koncentruje. Zbytek se zpracovává v čistém ethanolu, vysuší se, pere v alkoholu a pak v etheru. Tímto způsobem se získá 1,9 g požadovaného produktu v čistém stavu.

NMR-spektrum:

(DMSO 60 MHz)
3,85 (N-OCH₃),
6,75 (proton thiazolového cyklu)

Příklad 4

Sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

K roztoku 2,3 g kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové (isomer syn) v 5 ml acetonu se přidá vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného k dosažení hodnoty pH 7. K resultující směsi se potom přidá 0,4 gramů živočišného uhlí a směs se míchá po dobu 5 minut. Pevný podíl se odstředí a zbytek se promyje vodným acetonem (1:1).

K odbarvenému filtrátu se přidá 50 ml ethanolu a směs se zahustí k suchu za sníženého tlaku při teplotě 30 °C. Zbytek se převede do 5 ml ethanolu, krystaly se roztřou, odstředí a promyje ethanolem a potom etherem. Získá se 1,3 g požadovaného produktu.

Analýza:

Vypočteno: 4,18 % Na
Nalezeno: 4,70 % Na

Ultrafialové spektrum:

(ethanol)

Max. 235 nm $E_1^1=360$
265 nm $E_1^1=322$
Inflexe 280 nm $E_1^1=295$

$\epsilon=19\,800$
 $\epsilon=17\,700$

(ethanol, N/10 kyselina chlorovodíková)

Inflexe 218 nm $E_1^1=244$
Max. 266—267 nm $E_1^1=406$
Inflexe 280 nm $E_1^1=363$

$\epsilon=22\,300$

Příklad 5

Sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

3,35 g kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[(1-methyltetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové (isomer syn) se smísí se 7 mililitry methanolu a 7 ml jednomolárního vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Získaná směs se míchá po dobu 5 minut při okolní teplotě, nerozpustný podíl se odstředí a propláchne dvakrát směsí methanol/voda 1:1.

Za míchání se nejdříve přidá 85 ml ethanolu, sodná sůl vykristalizuje, načež se přidá 170 ml etheru; směs se míchá po dobu 10 minut, načež se provede promytí směsí ethanol/ether (1:1) a potom etherem a vysušením, přičemž se získá 3,25 g požadovaného produktu.

Rezultující produkt se čistí následujícím způsobem:

Výše uvedená sůl se rozpustí ve 40 ml vody a k takto získanému roztoku se přidá 0,6 mililitrů kyseliny octové k dosažení hodnoty pH 6,8 až 7; roztok se potom zředí ethanolem, rozpouštědla se oddestilují za sníženého tlaku při teplotě nižší než 35 °C. Zbytek se převede do ethanolu za účelem odstranění vody a směs se odpaří k suchu.

Zbytek se převede do 16 ml methanolu, směs se zředí 160 ml acetonu a sůl se nechá vykristalizovat. Směs se míchá po dobu 5 minut, načež se pevný podíl odstředí a promyje acetonem a potom etherem.

Získá se 2,3 g požadovaného produktu.

$[\alpha]_D^{20} = -13,5^\circ \pm 1$ (1% roztok ve vodě).

Analýza:

Vypočteno: 4,31 % Na
Nalezeno: 4,8 % Na

Příklad 6

Sodná sůl kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

Při okolní teplotě místnosti se smísí 4,5 g kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-

-cefem-4-karboxylové (isomer syn) s 9 ml methanolu a 9 ml jednomolárního roztoku hydrogenuhličitanu sodného ve vodě. Směs se míchá po dobu 5 minut při okolní teplotě, pevný podíl se odstředí, načež se provede propláchnutí směsí methanolu a vody (1 : 1). Potom se přidá za míchání 110 ml ethanolu, přičemž vykristalizuje sodná sůl. Směs se zředí 220 ml ethyletheru, míchá se, odstředí a promyje směsí ethanol/ether 1 : 1 a potom etherem.

Získaná sodná sůl se čistí následujícím způsobem:

Produkt se rozpustí ve 40 ml vody a k takto získanému roztoku se přidá několik kapek kyseliny octové k dosažení hodnoty pH 6,8 až 7. Roztok se zředí 100 ml ethanolu, načež se rozpouštědla odpaří za sníženého tlaku při teplotě nižší než 35 °C. Koncentrát se dvakrát převede do 50 ml ethanolu, načež se podruhé odpaří k suchu. Zbytek se rozpustí v 15 ml methanolu, odfiltruje se pevný podíl a methanolický roztok se zředí 150 ml acetonu.

Sodná sůl vykristalizuje, směs se míchá po dobu 5 minut, načež se provede odstranění, promytí acetonem a potom etherem. Rezultující podíl se vysuší za sníženého tlaku, přičemž se získá 1,8 g požadovaného produktu.

$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ \pm (0,6\% \text{ roztok ve vodě})$

Analýza:

Vypočteno: 4,65 %

Nalezeno: 4,9 %

Ultrafialové spektrum:
ethanol]

Max. 235 nm $E_1^1 = 419$

Inflexe 260 nm $E_1^1 = 343$

Inflexe 300 nm $E_1^1 = 122$

(ethanol/N/10 kyselina chlorovodíková)

Inflexe 230 nm $E_1^1 = 280$

Max. 263 nm $E_1^1 = 391$

$\epsilon = 19\,700$

Příklad 7

Sodná sůl (mikrokrystalická) kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

Smísí se 471,5 mg kyseliny 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové (isomer syn) s 1,5 ml jednomolárního roztoku bezvodého octanu sodného v bezvodém methanolu. K získané směsi se přidá

0,5 ml ethanolu, lehký nerozpustný podíl se odstředí, přidá se 2 ml ethanolu, přičemž vykristalizuje sodná sůl. Tato sůl se odstředí, promyje methanolem a vysuší za vakua při teplotě 45 °C v sušárně.

Získá se 0,25 g nehygroskopické soli.

Analýza:

Vypočteno: 4,66 %

Nalezeno: 4,6 %

Příklad 8

Kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová ve formě isomeru syn

9 g sodné soli kyseliny 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové (isomer syn) se rozpustí ve 100 ml vody. K takto získanému roztoku se potom přidá 3,5 g sekundárního fosforečnanu sodného a 3 g 1-methyl-5-merkaptotetrazolu.

Rezultující směs se zahřívá na teplotu 60 stupňů Celsia po dobu dvou hodin a třiceti minut, přičemž se na konci první hodiny přidají 2 g sekundárního fosforečnanu draselného.

Směs se okyselí asi 20 ml 2 N kyseliny chlorovodíkové k dosažení hodnoty pH 3 až 4, odstředí, promyje a vysuší k získání 8 g surového produktu. Tento se třikrát extrahuje 100 ml 5% vodného roztoku acetonu, načež se odstředí nerozpustný podíl. Roztok se destiluje k suchu; zbytek se převede do 20 ml ethanolu, přičemž se po oddělení ethanolu získá 5,8 g zpola vyčištěného produktu, který se chromatografuje na silikagelu za použití 10% vodného roztoku acetonu.

Získá se produkt, který je identický s produktem z příkladu provedení 2.

NMR-spektrum:

$[(CD_3)_2SO]$
ppm 3,83 (N-OCH₃),
6,73 (proton thiazolového cyklu).

Příklad 9

Sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

9 g zpola vyčištěného produktu, získaného v předcházejícím příkladě 8, se míchá po dobu patnácti minut v 17 ml methanolu, načež se k této směsi přidá 28 ml jednomolárního roztoku octanu sodného v methanolu.

Ke směsi se potom přidá 9 ml ethanolu a nerozpustný podíl, tvořený nečistotami, se

odstředí. Ze zbytku se oddestiluje methanol k získání malého objemu roztoku. Přidá se 20 ml ethanolu, provede se odstředění a propláchnutí etherem, přičemž se získá 6 g surového produktu.

Tento produkt se chromatografuje, přičemž se získá asi 3,5 g čistého produktu, který je identický s produktem z příkladu 5.

$$[\alpha]_D^{20} = -13,5^\circ \pm 1 \text{ (1\% roztok ve vodě)}$$

Analýza:

Vypočteno: 4,31 % Na

Nalezeno: 4,8 % Na

Příklad 10

Kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová ve formě isomeru syn

10 g sodné soli kyseliny 3-acetoxymethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylové (isomer syn) se rozpustí ve 120 ml vody, načež se k takto získanému roztoku přidá 3,2 g 1-methyl-5-merkapt-1,3,4-thiadiazolu a 3,5 g sekundárního fosforečnanu draselného. Získaná směs se potom míchá po dobu dvou hodin při teplotě 60 °C, přičemž se na konci první hodiny přidá 1 g sekundárního fosforečnanu draselného. Směs se okyslí asi 20 mililitry 2 N kyseliny chlorovodíkové k dosažení hodnoty pH 2 až 3 potom, co byla ochlazená na teplotu 35 °C. Vytvořený produkt se odstředí, promyje vodou, a vysuší, přičemž se získá 9,2 g surového produktu.

Tento produkt se extrahuje třikrát 100 ml 5% vodného roztoku acetonu, přičemž se pokaždé odstředí nerozpustné nečistoty.

Zbytek se zahustí k suchu, promyje 20 ml alkoholu, přičemž se získá 7 g zcela vyčištěného produktu.

Tento produkt se chromatografuje na silikagelu za použití 10% roztoku acetonu ve vodě.

NMR-spektrum:
[(CD₃)SO]

ppm:

3,85 (=N—O—CH₃);
6,76 (proton thiazolového cyklu)

Příklad 11

Sodná sůl kyseliny 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[2-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn

7 g zcela vyčištěného produktu, získané-

ho ve výše uvedeném příkladu 10, se smísí se 14 ml methanolu, načež se k takto získané směsi přidá 19 ml octanu sodného ve formě jednomolárního roztoku v methanolu. Potom se přidá 6 ml ethanolu. Nerozpustný podíl, tvořený nečistotami se odstředí. Zbytek se zahustí a promyje ethanolom, přičemž se získá 4,2 g sodné soli.

Tento produkt se chromatografuje, přičemž se získá 2,5 g produktu, který je identický s produktem z příkladu 4.

Analýza:

Vypočteno: 4,18 % Na

Nalezeno: 4,70 % Na

Ultrafialové spektrum:
(ethanol)

Max. 235 nm E₁¹=360

265 nm E₁¹=322

Inflexe 280 nm E₁¹=295

ε=19 800

ε=17 700

(ethanol/N/10 kyselina chlorovodíková)

Inflexe 218 nm E₁¹=244

Max. 266—267 nm E₁¹=406

Inflexe 280 nm E₁¹=363

ε=22 300

Příklad 12

Připraví se injekční farmaceutický přípravek následujícího složení:

- kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová 500 mg
- sterilní vodné vehikulum 5 ml

Příklad 13

Připraví se injekční farmaceutický přípravek následujícího složení:

- kyselina 3-acetylthiomethyl-7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-cefem-4-karboxylová 500 mg
- sterilní vodné vehikulum 5 ml

Příklad 14

Vyrobí se želatinové tabletky následujícího složení:

- kyselina 7-[[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino]-3-[[1-methyltetrazol-5-yl]thiomethyl]-3-cefem-4-karboxylová 500 mg
- vehikulum, doplněno na 400 mg

Příklad 15

Byly vyrobeny želatinové tabletky následujícího složení:

- kyselina 3-acetylthiomethyl-7-
-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetyl]amino-3-cet-
fem-4-karboxylová 250 mg
- vehikulum, doplněno na 400 mg

Farmakologické testy s produkty podle vy-
nálezu

A) Účinnost in vitro

Zředovací metoda v kapalném prostředí

Do série zkumavek se nalije vždy stejné množství sterilního živného média. Potom se do jednotlivých zkumavek s živným médiem přidá vždy stoupající množství testovaného produktu, načež se všechny zkumavky naočkují bakteriálním kmenem, uvedeným v následujících tabulkách.

Po 24- a 48-hodinové inkubaci v sušárně při teplotě 37 °C se vyhodnotí v procházejícím světle inhibice růstu bakteriálního kmen-
ne, přičemž se stanoví minimální inhibiční koncentrace (MIK), vyjádřená v µg/ml.

Získané výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Tabulka 1

Bakteriální kmen

Produkt z příkladu 10
MIK (µg/ml)

24 hodin

48 hodin

Staphylococcus aureus
ATCC 6538, nerezistentní
vůči penicilinu
Staphylococcus aureus
UC 1 128, rezistentní
vůči penicilinu
Staphylococcus aureus
n° 54 146
Streptococcus pyogenes
A 561
Streptococcus faecalis
5 432
Streptococcus faecalis
99 F 74
Bacillus subtilis
ATCC 6 633
Escherichia Coli
nerezistentní vůči tetra-
cyklinu, ATCC 9 637
Escherichia Coli
rezistentní vůči tetra-
cyklinu, ATCC 11 303
Escherichia Coli Exp.
TO₂₆B₆
Escherichia Coli rezistentní
vůči gentamycinu a tobra-
mycinu R 55 123 D
Klebsiella pneumoniae
Exp 52 145
Klebsiella pneumoniae
2 536 rezistentní vůči
gentamycinu
Proteus mirabilis
(Indol—) A 235
Salmonella typhimurium
420

1

1

2

2

2

2

≤0,02

≤0,02

1

2

2

5

0,6

1

0,6

0,6

0,1

0,2

0,4

0,4

0,4

0,4

0,05

0,1

0,6

1

0,2

0,2

0,6

0,6

Tabulka 2

Bakteriální kmen	Produkt z příkladu 2 MIK ($\mu\text{g/ml}$)	
	24 hodin	48 hodin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5638 nerezistentní vůči penicilinu	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i> UC 1128 rezistentní vůči penicilinu	2	2
<i>Staphylococcus aureus</i> exp. n° 54 146	2	2
<i>Streptococcus pyogenes</i> A 561	$\leq 0,02$	$\leq 0,2$
<i>Streptococcus faecalis</i> 5432	2	2
<i>Streptococcus faecalis</i> 99 F 74	2	10
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2	5
<i>Escherichia Coli</i> nerezistentní vůči tetracyklinu ATCC 9637	0,4	0,4
<i>Escherichia Coli</i> rezistentní vůči tetracyklinu ATCC 11 303	0,05	0,05
<i>Escherichia Coli</i> Exp. TO ₂₆ B ₆	0,2	0,2
<i>Escherichia Coli</i> rezistentní vůči gentamycinu a tobramycinu R 55 123 D	0,2	0,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Exp. 52 145	0,02	0,02
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2536 rezistentní vůči gentamycinu	0,4	0,6
<i>Proteus mirabilis</i> (indol—) A 235	0,05	0,05
<i>Proteus vulgaris</i> (indol+) A 232	3	20
<i>Enterobacter cloacae</i> 681	40	40
<i>Providencia</i> Du 48	2	5
<i>Serratia</i> rezistentní vůči gentamycinu 2 532	1	1
<i>Salmonella typhimurium</i> 420	0,2	0,2
<i>Enterobacter cloacae</i> 681	20	20
<i>Providencia</i> Du 48	2	2
<i>Pseudomonas</i> 3 935 Exp. SG	20	40
<i>Serratia</i> rezistentní vůči gentamycinu 2532	1	1

209879

Tabulka 3

Bakteriální kmen	Produkt z příkladu 3 MIK ($\mu\text{g/ml}$)	
	24 hodin	48 hodin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 rezistentní vůči penicilinu	2	2
<i>Staphylococcus aureus</i> UC 1128 rezistentní vůči penicilinu	5	5
<i>Staphylococcus aureus</i> exp. n° 54 146	2	2
<i>Streptococcus pyogenes</i> A 561	$\leq 0,02$	$\leq 0,02$
<i>Streptococcus faecalis</i> 5432	5	5
<i>Streptococcus faecalis</i> 5432	5	5
<i>Streptococcus faecalis</i> 99 F 74	5	40
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1	2
<i>Escherichia Coli</i> nerezistentní vůči tetracyklinu ATCC 9637	0,6	0,6
<i>Escherichia Coli</i> rezistentní vůči tetracyklinu ATCC 11303	0,1	0,1
<i>Escherichia Coli</i> Exp. TO ₂₆ B ₆	0,4	0,4
<i>Escherichia Coli</i> rezistentní vůči gentamycinu a tobramycinu R 55 123 D	0,6	0,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Exp. 52 145	0,1	0,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2536 rezistentní vůči gentamycinu	1	2
<i>Proteus mirabilis</i> (indol—) A 235	0,05	0,1
<i>Proteus vulgaris</i> (indol+) A 232	5	10
<i>Salmonella typhimurium</i> 420	0,4	0,4
<i>Enterobacter cloacae</i> 681	10	20
<i>Providencia</i> Du 48	10	10
<i>Serratia</i> rezistentní vůči gentamycinu 2 532	1	2

Tabulka 4

Bakteriální kmen	Produkt z příkladu 6 MIK ($\mu\text{g/ml}$)	
	24 hodin	48 hodin
Staphylococcus blanc pathogene 69 396	2	2
Staphylococcus blanc 21 976	3	5
Staphylococcus doré 68 666	3	5
Escherichia Coli 73 316	0,2	0,2
Escherichia Coli 72 806	1	1
Escherichia Coli 69 916	0,4	0,4
Escherichia Coli 69 886	0,6	1
Escherichia Coli 68 696	0,4	0,4
Escherichia Coli 68 956	0,4	0,4
Escherichia Coli 21 976	0,6	0,6
Escherichia Coli 19 976	0,6	0,6

B) Experimentální infekce Escherichia Coli TO₂₆B₆

Při tomto testu byl studován účinek produktu z příkladu 3 na experimentální infekci Escherichia Coli u myši. Skupiny myších sameček o průměrné hmotnosti 22 g byly infikovány intraperitoneální injekcí 0,5 ml 24-hodinové kultury kmene Escherichia Coli

TO₂₆B₆ (Institut Pasteur) na živné půdě, zředěné na 1/5,5 destilovanou vodou.

Jednu hodinu, pět hodin a dvacetčtyři hodin po uvedené infekci se zkušebními zvířaty podá sukutání aplikací nebo aplikací per os stanovené množství testovaného produktu.

Během následujících osm dní se pozoruje úmrtnost pokusných zvířat; získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 5.

C) Experimentální infekce kmene *Klebsiella pneumoniae*

Při tomto testu byl studován účinek produktu z příkladů 2 a 3 na experimentální infekci kmene *Klebsiella pneumoniae* u myši. Skupiny deseti myších sameček o průměrné hmotnosti 21 g byly infikovány intraperitoneální injekcí 0,5 ml kultury kmene *Klebsiella pneumoniae* 52 145 na živné půdě, zředěné na 1/1000 destilovanou vodou.

Půl hodiny, čtyři hodiny, osm hodin, dvacet čtyři hodin a třicet dva hodin po infekci bylo pokusným zvířatům podáno subkutánní aplikací stanovené množství testovaného produktu.

Po následujících deset dnů byla pozorována úmrtnost zvířat, přičemž získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 6.

Tabulka 6

	28,5 h	32 h	Úmrtnost po 46 h	48 h	49 h	49,5 h	5. dnu	Přežilo myši po 10. dnu
Kontrolní zvířata	1	1	5	1	1	1		0/10
Produkt z příkladu 2 5 × 0,1 mg							1	9/10
Produkt z příkladu 2 5 × 0,25 mg								10/10
Produkt z příkladu 3 5 × 0,25 mg								10/10
Produkt z příkladu 3 5 × 0,5 mg								10/10
Produkt z příkladu 3 5 × 1 mg								10/10

D) Experimentální infekce kmene *Klebsiella pneumoniae*

Při tomto testu byl studován účinek produktů z příkladů 4 a 6 na experimentální infekci kmene *Klebsiella pneumoniae* u myši. Skupiny po deseti myších samečcích o průměrné hmotnosti 21,5 g byly infikovány intraperitoneální injekcí 0,5 ml 24-hodinové kultury kmene *Klebsiella pneumoniae* 52 145

na živné půdě, zředěné na 1/1000 destilovanou vodou.

Jednu hodinu, pět hodin a dvacetčtyři hodiny po uvedené infekci bylo pokusným zvířatům podáno subkutánní injekcí stanovené množství testovaného produktu.

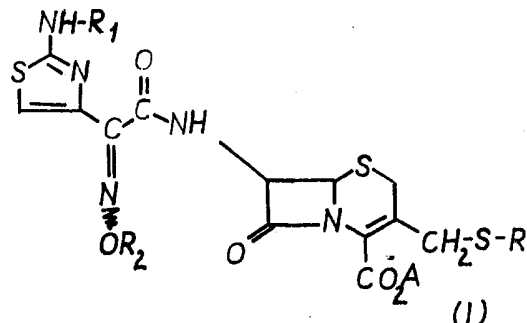
Během následujících 10 dnů byla pozorována úmrtnost pokusných zvířat, přičemž získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 7.

Tabulka 7

[illegible]

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby nových alkoxyimových derivátů kyseliny 7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-acetamido]cefalosporanové obecného vzorce I



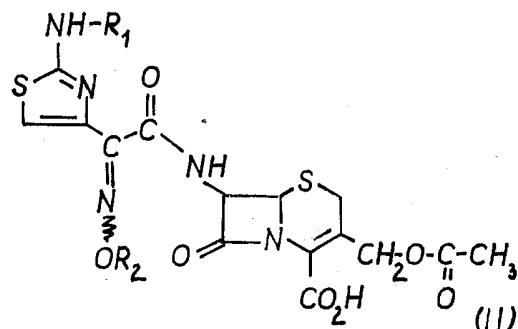
ve kterém

R představuje acylovou skupinu mající 2 až 4 atomy uhlíku nebo zbytek 2-methyl-1,3,4-thiadiazolyl nebo zbytek 1-methyltetrazolyl,

R₁ představuje atom vodíku nebo tritylový zbytek,

R₂ představuje nasycený nebo nenasycený alkylový zbytek, mající 1 až 4 atomy uhlíku,

A představuje atom vodíku nebo ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zeminy, hořčíku nebo farmaceuticky přijatelnou aminovou organickou bázi, přičemž vazba, vyznačená vlnovkou, znamená, že skupina OR₂ se může nacházet v jedné ze dvou možných poloh syn nebo anti, vyznačující se tím, že se na sloučeninu obecného vzorce II



ve kterém mají

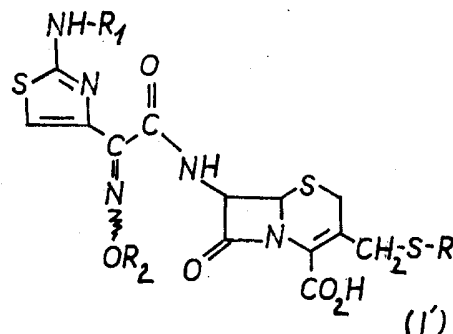
R₁ a R₂ význam uvedený výše působí látkou obecného vzorce III

R-SH

(III)

ve kterém

R má význam uvedený výše, čímž se získá látka obecného vzorce I'



která se případně přemění v sůl, čímž se získá látka obecného vzorce I, ve kterém R, R₁ a R₂ mají význam uvedený výše a A představuje ekvivalent alkalického kovu, kovu alkalické zeminy, hořčíku nebo farmaceuticky přijatelnou aminovanou organickou bázi.

2. Způsob výroby podle bodu 1, pro výrobu látek obecného vzorce I, ve kterém R, R₁, R₂ a A mají význam uvedený v bodě 1 a ve kterém je skupina OR₂ v poloze **syn**, vyznačující se tím, že se jako výchozí látka použije látka obecného vzorce II, ve kterém R₁ a R₂ mají význam uvedený v bodě 1 a skupina OR₂ je v poloze **syn**.