

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 772025 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 772025

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **29.06.1977**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **29.06.1977**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **31.12.1977**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

30.06.1976 JP 51-78085 12.08.1976 JP 51-96713

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., 25, Doshomachi 3-chome, Higashi-ku Osaka, Japan, JAPAN, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Minami, Shinsaku, Japan, JAPAN, (JP)

2 • Takase, Yoshiyuki, Japan, JAPAN, (JP)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Menetelmä penisilliiniyhdisteiden valmistamiseksi

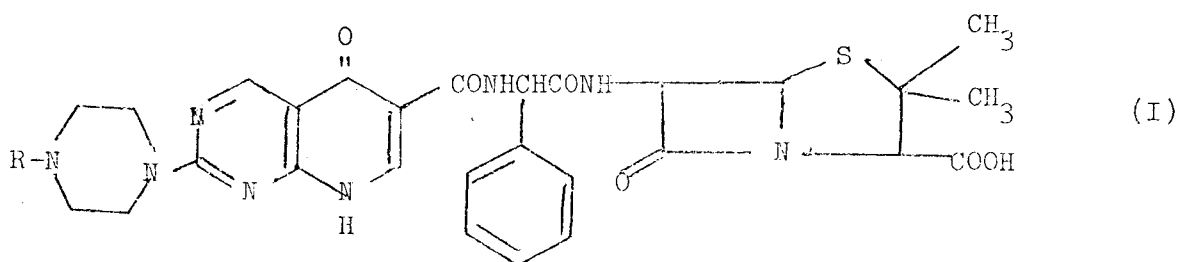
Förfarande för framställning av penicillinföreningar

Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., 25, 3-chome, Doshomachi, Higashi-ku, Osaka, Japani.

Kuusi! Hakikaa jyytän tarkistama. Kojakuu 6. 1-5, 7, 13, 15, 17, 23-22, 24, 25 ja 34

Menetelmä bakteereja tappavan α -[5,8-dihydro-2-(4-asyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksamido]-p-hydroksibentsyylipenisilliinin valmistamiseksi - Förfarande för framställning av ett antibakteriellt α -[5,8-dihydro-2-(4-acyl-1-piperazinyli)-5-oxopyrido[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamido]-p-hydroxibensylpenicillin

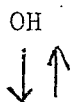
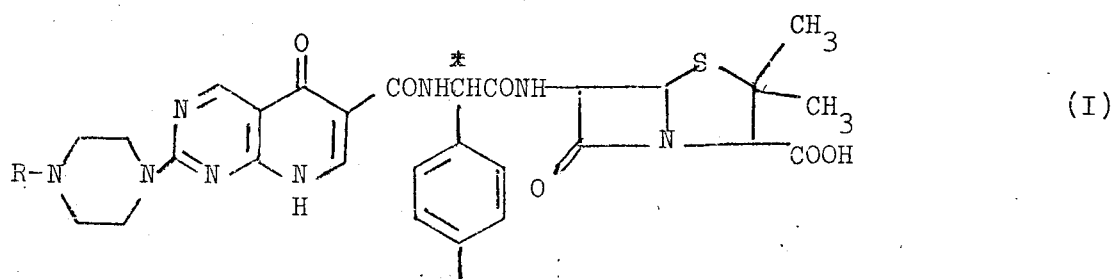
Keksinnön kohteena on menetelmä bakteereja tappavan, kaavan I mukaisen α -[5,8-dihydro-2-(4-asyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksamido]-p-hydroksibentsyylipenisilliinin ja sen myrkyttömän farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi



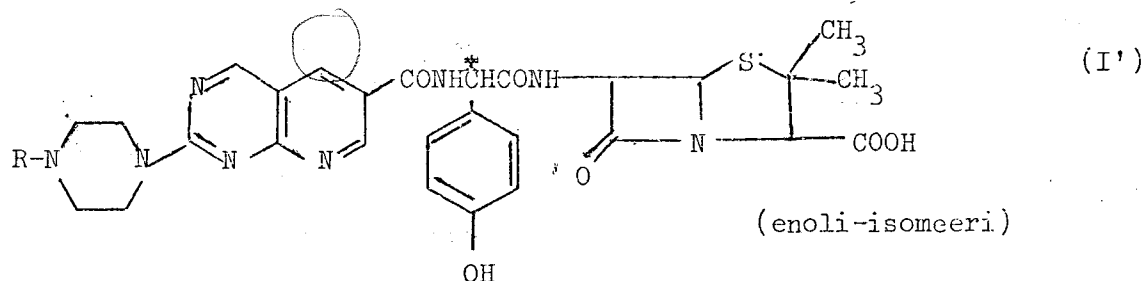
jossa kaavassa R on formyyl- tai asetyyli-ryhmä.

Myrkyttömät, farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat ovat suoloja, joita kaavan (I) mukaiset penisilliiniyhdisteet ovat muodostaneet myrkyttömien, farmaseuttisesti hyväksyttävien epäorgaanisten ja orgaanisten emästen kanssa, ja niitä ovat esimerkiksi penisilliiniyhdisteiden myrkyttömät metallisuolat, kuten alkali-metallisuolat (esim. natrium- tai kaliumsuolat) ja maa-alkalimetallisuolat (esim. kalsium- tai magnesiumsuolat). Edullisia myrkyttömiä suoloja ovat natrium- tai kaliumsuolat edellisten ollessa erityisen edullisia.

Kaavan (I) mukaiset penisilliiniyhdisteet esiintyvät kahtena tautomeerina (ketotyyppinä ja enolityyppinä), joilla on seuraavat kaavat (I) ja (I'). Tässä hakemuksessa nämä tautomeerit ilmaistaan kaavan (I) mukaisella ketotyyppillä.



(ketoisomeeri)

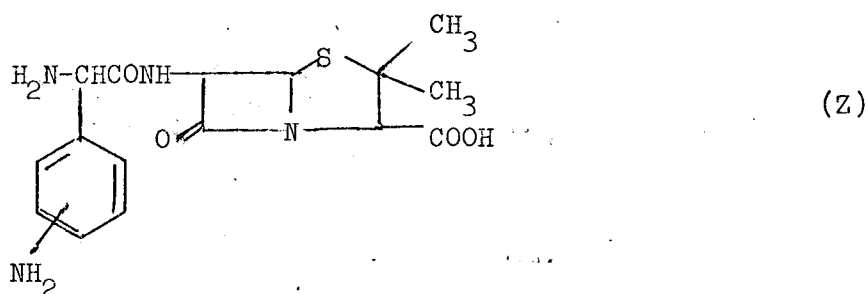


Koska kaavojen (I) ja (I') p-hydroksifenyyli-ryhmän α -hiiliatomi on asymmetrinen hiili, kaavan (I) mukaisiin penisilliiniyhdisteisiin, perustuen tätä hiiltä koskevaan steeriseen konfiguraatioon, kuuluvat D-isomeeri, L-isomeeri ja näiden isomeerien seos (D,L-seos). Kaikkia näitä isomeereja ja seoksia kuvataan kaavalla (I).

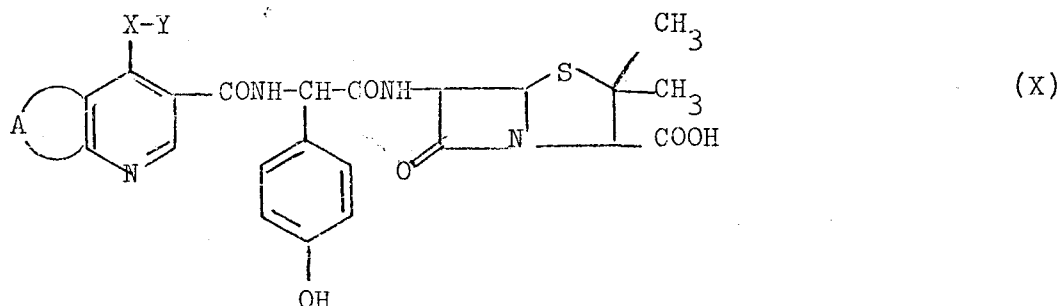
Kaavan (I) mukaiset penisilliiniyhdisteet voivat myös esiintyä hydraattien muodossa, ja tällaiset hydraatit luetaan myös keksinnön suojapiiriin kuuluviin penisilliiniyhdisteisiin.

D-isomeereilla on erittäin hyvä bakteereja tappava aktiivisuus ja pieni myrkyllisyys.

DE-hakemusjulkaisusta 2 461 526 (esimerkit 53 ja 54) tunnetaan esillä olevien yhdisteiden kanssa läheistä kemiallista rakennetta olevia yhdisteitä. Näiden yhdisteiden perusrunkona on seuraavan kaavan mukainen penisilliini:



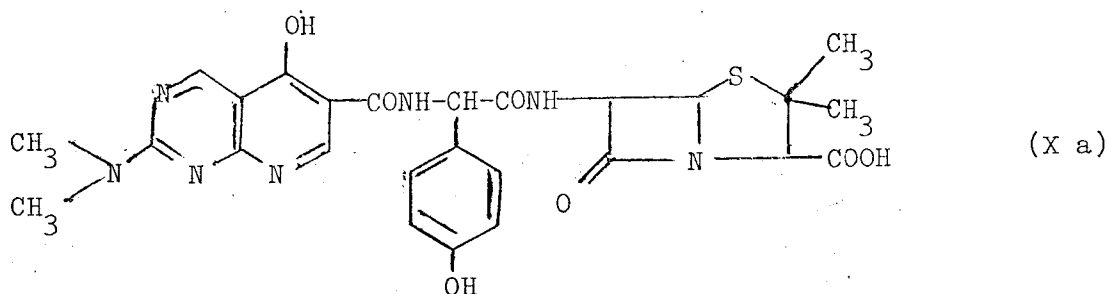
US-patenttijulkaisussa 4 003 887 (vastaa FI-patenttihakemusta 1197/74) ja vastaavassa GB-patenttijulkaisussa 1 446 484 on kuvattu N-asyloituja amoksisilliinijohdannaisia, joilla on seuraava kaava



jossa rengas A on benseenirengas tai 5- tai 8-jäseninen heteroaromaattinen rengas, joka sisältää yhden tai kaksi typpiä atomia heteroatomeina ja jossa voi olla mukana yksi tai useampia alempi-alkyyli-, alempi-alkoksi-, alempi-alkyyli- tai nitro-ryhmiä tai vapaita tai suojattuja amino-, alempi-alkyyliamino-, di(alempi)-alkyyliamino- tai alempi-alkanoyyliaminoryhmiä; X on happi- tai rikkiatomi ja Y on vetyatomi, alempi alkoksikarbonyyli- tai alempi alkanoyyliryhmä.

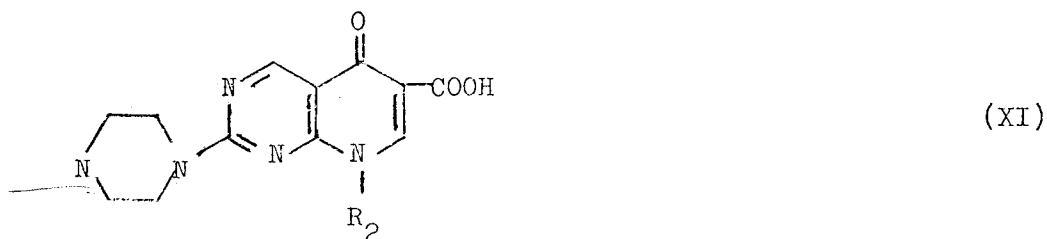
Esillä olevan keksinnön mukaiset uudet penisilliiniyhdisteet eivät kuulu US-patenttijulkaisussa 4 803 887 ja vastaavassa GB-patenttijulkaisussa esitetyn kaavan (X) määritelmän piiriin.

US-patenttijulkaisussa 4 003 887 on esitetty sellaisen yhdisteen O-asyyli-johdannainen, jolla on seuraava kaava



joka saadaan asyloimalla sen amoksisilliinijohdannaisen (X a) (josta käytetään nimitystä 2-dimetyyliaminopyridopyrimidiinijohdannainen) bentseenirungon hydrok-syyliiryhmä, jolloin amoksisilliinin aminoryhmä on asyloitu pyridopyrimidiinikarbok-syylihapporyhmällä, joka on substituoitu 2-asemassa olevalla dimetyyliaminoryhmäl-lä. Yhdiste (X a) on rakenteellisesti hyvin samanlainen kuin tämän keksinnön mu-kaiset uudet penisilliiniyhdisteet. Kuitenkin, kuten taulukoissa I-III esitetään, tämän keksinnön mukaisille uusille penisilliiniyhdisteille on luonteenomaista, että niillä on paljon parempi bakteereja tappava aktiivisuus erityisesti *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan ja paljon vähäisempi myrkyllisyys tasalämpöisille eläimil-le kuin yhdisteellä (X a).

Hakijat ovat aikaisemmin havainneet, että yhdisteillä, joilla on kaava



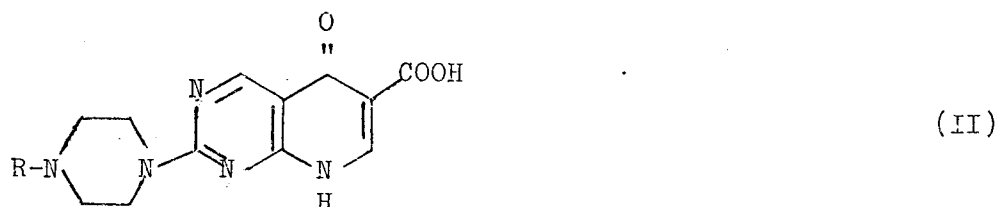
jossa R_1 on vetyatomi, 1-4 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä, 2-4 hiiliatomia sisältävä hydroksialkyyliryhmä, bentsyyli-, metoksiryhmällä substituoitu bentsyy-li-, fenyyli- tai propargyyliryhmä tai asyyliryhmä, joka voi olla alempi-alkano-yyli-, trifluoriasetyyli-, alempi-alkoksikarbonyyli- tai fenyyli-substituoitu alempi alkoksikarbonyyliryhmä, ja R_2 on vetyatomi, 1-4 hiiliatomia sisältävä al-kyyliryhmä, hydroksi- tai halogeeniryhmällä substituoitu 2-4 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä, vinyyli-, allyyli- tai bentsyyliiryhmä, on erityisen hyvä bakteereja tappava aktiivisuus Gram-negatiivisia bakteereja vastaan, kun R_1 on vetyatomi ja R_2 on etyyliiryhmä (pipemiidihappo) (US-patenttijulkaisu 3 887 557). Kuten taulukois-sa I-III esitetään, tämä yhdiste ei osoita mitään merkittävää bakteereja tappavaa aktiivisuutta Gram-positiivisia bakteereja vastaan, kun taas tämän keksinnön mukai-silla uusilla penisilliiniyhdisteillä on erinomainen bakteereja tappava aktiivisuus

Gram-positiivisia bakteereja samoin kuin Gram-negatiivisiakin bakteereja vastaan. Lisäksi, että keksinnön uudet penisilliiniyhdisteet poikkeavat rakenteellisesti ko. yhdisteestä, koska pyridopyrimidiinikarboksyylihapporyhmän 2-asema on rakenteellisesti substituoitu erityisesti 4-formyyli- tai 4-asetyyli-1-piperatsinyyli-ryhmällä ja 8-asemassa oleva typpi atomi ei ole substituoitu etyyli-ryhmällä.

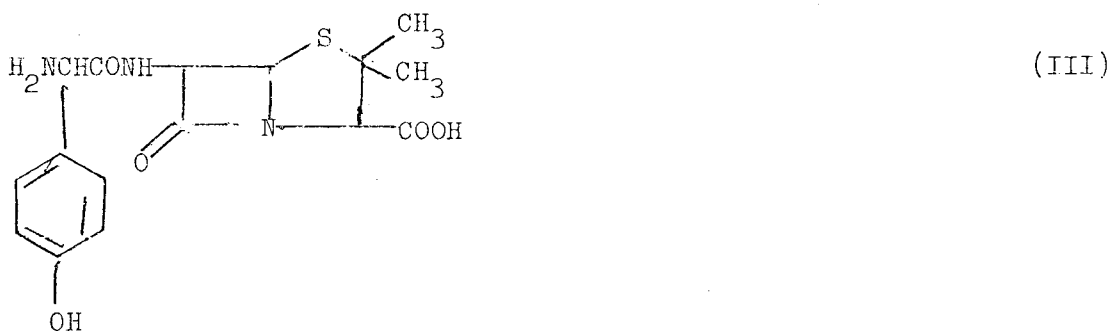
Tämän keksinnön mukaisia uusia penisilliiniyhdisteitä ja monia samanlaisia rakenteita omaavia yhdisteitä tutkittaessa hakijat havaitsivat, että koska pyridopyrimidiiniosan 2-asema on substituoitu 1-piperatsinyyli-ryhmällä, joka sisältää kaksi typpi atomia, kaavan (I) mukaisilla penisilliiniyhdisteillä on huomattavasti suurempi bakteereja tappava aktiivisuus etenkin *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan kuin penisilliiniyhdisteillä, jotka on saatu substituomalla 2-asema substituoitulla aminoryhmällä, joka sisältää yhden typpi atomin, esimerkiksi dimetyyliaminoryhmällä tai heterosyklisellä ryhmällä, joka sisältää yhden typpi atomin, esimerkiksi 1-pyrrolidinyyli-ryhmällä; ja koska piperatsinyyli-ryhmän 4-asema on substituoitu formyyli- tai asetyyli-ryhmällä, keksinnön mukaisilla penisilliiniyhdisteillä on erittäin vähäinen myrkyllisyys tasalämpöisille eläimille, samalla kun ne säilyttävät korkean bakteereja tappavan aktiivisuuden in vivo.

Esillä olevan keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomaista, että

A) annetaan kaavan II mukaisen yhdisteen

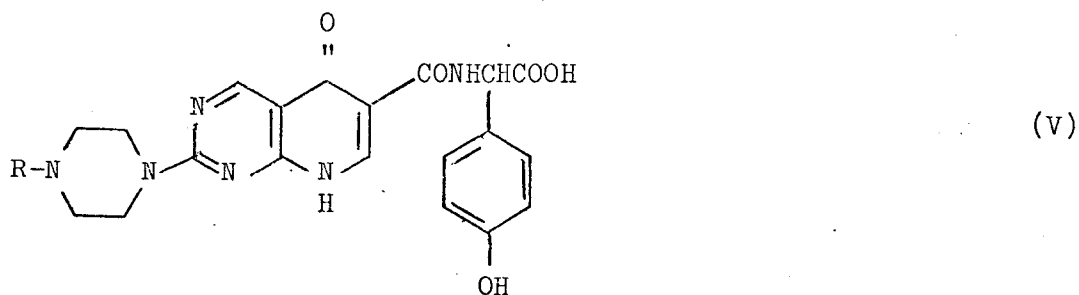


jossa R on sama kuin yllä määriteltiin, tai sen suolan tai reaktiokykyisen karboksyyli johdannaisen reagoida kaavan III mukaisen 6- α -amino-p-hydroksibentsyyli-penisilliinin kanssa



tai sen suolan tai johdannaisen kanssa, tai

B) annetaan kaavan V mukaisen yhdisteen



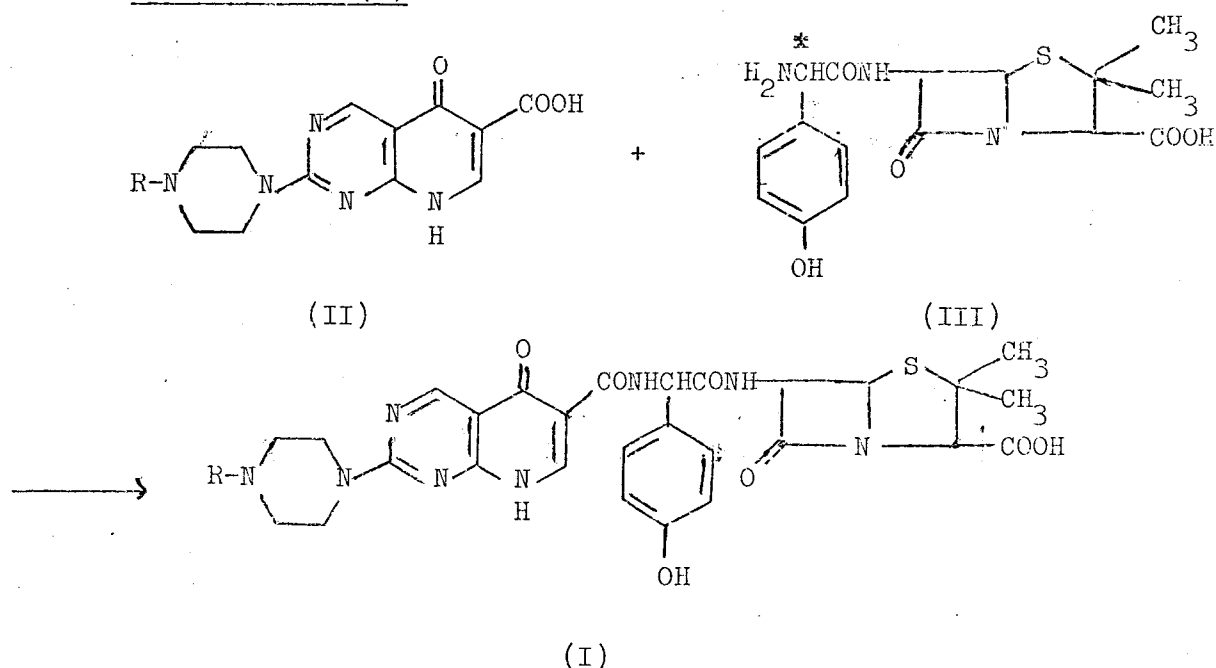
jossa R on sama kuin yllä määriteltiin tai sen suolan tai reaktiokykyisen karboksyylijohdannaisen reagoida 6-aminopenisillaanin hapon tai sen suolan tai johdannaisen kanssa,

ja tarvittaessa reaktiotuote hydrolysoidaan tai katalyyttisesti hydrataan, ja

haluttaessa reaktiotuote muutetaan myrkyttömäksi, farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Menetelmä (a) voidaan kuvata seuraavalla reaktiokaaviolla:

Reaktiokaavio (A)



jossa R kaavoissa (I) ja (II) on sama kuin edellä määriteltiin.

Kaavan (II) 2-substituoidun pyridopyrimidiinikarboksyylihapon reaktiivisia karboksyylijohdannaisia ovat kaikki reaktiokykyiset johdannaiset, jotka tunnetaan ja joita alalla käytetään penisilliinien tai kefalosporiinien valmistuksessa. Tyypillisiä esimerkkejä ovat sen happoanhydridit, jotka on muodostettu sellaisten happojen kuin alkyylisilykarbonihappojen (esim. etyylikarbonihapon, isopropyylisilykarbonihapon, iso- tai sek.-butyylikarbonihapon), alkyylisilykarboksyylihappojen (esim.

pivaliinihapon, valeriaanahapon, isovaleriaanahapon, 2-etyyliivohapon ja 2-etyyliheksaanihapon), fosforihappojen (esim. dietyylifosforihapon) ja sulfonihappojen (esim. metaanisulfonihapon) kanssa; sen reaktiokykyiset esterit, kuten p-nitrofenyyliesteri, trikloorifenyyliesteri, p-nitrofenyyliesteri, trikloorifenyyliesteri, N-nitrofenyyliitioesteri, N-hydroksipiperidiiniesteri, N-hydroksisukkinimidiesteri, tai N-hydroksiftaali-imidiesteri, sen reaktiokykyiset amidit, kuten happokloridi; ja sen happoatsidit.

Kaavan (III) mukaisten yhdisteiden johdannaiset ovat hyvin tunnettuja puolisynteettisten penisilliinien valmistuksessa, ja niitä voidaan käyttää menetelmässä (A). Tyypillisiä esimerkkejä tällaisista johdannaisista ovat trimetyylisilyyliesteri, trityyliesteri, p-nitrobentsyyliesteri ja fenasyyliesteri. Johdannaisia, jotka on saatu suojaamalla kaavan III mukaisen yhdisteen bentseenirungon hydroksiryhmä esimerkiksi etoksikarbonyyli- tai bentsyylioksikarbonyyliryhmällä, voidaan myös käyttää.

Kaavan (II) ja kaavan (III) mukaisten yhdisteiden epäorgaanisia tai orgaanisia suoloja ovat alkalimetallisuolat, kuten natrium- tai kaliumsuolat, ja suolat orgaanisten emästen, kuten trietyyliamiinin tai N-etyylimorfoliinin kanssa.

Menetelmän A mukainen reaktio suoritetaan -40 - $+40^{\circ}\text{C}$:ssa 1-10 tunnin aikana liuottimessa edullisesti emäksen läsnäollessa. Liuotin, emäs ja muut reaktioolosuhteet ovat oleellisesti samat kuin penisilliinikemiassa yleisesti käytetään.

Kun käytetään esimerkiksi anhydridiä, joka on peräisin kaavan (II) mukaisesta 2-substituoidusta pyridopyrimidiinikarboksyylimahaposta ja etyliklooriformiaatista, reaktio suoritetaan jäähdyttämällä tai huoneenlämpötilassa tertiäärin ammiinin, kuten trietyyliamiinin tai N,N-dimetyylianiiliinin läsnäollessa inertissä liuottimessa, kuten asetonissa, tetrahydrofuraanissa, dimetyyliformamidissa, kloroformissa, dikloorimetaanissa tai heksametyylifosforiamidissa, tällaisten inerttien liuottimien seoksessa, vedessä tai vesipitoisessa orgaanisessa liuottimessa.

Kun käytetään kaavan (II) mukaisen 2-substituoidun pyridopyrimidiinikarboksyylimahapon N-hydroksisukkinimidiesteriä, reaktio suoritetaan $0-10^{\circ}\text{C}$:ssa 1-2 tunnin aikana trietyyliamiinin, lutidiinin, natriumhydroksidin tai natriumkarbonaatin läsnäollessa dimetyyliformamidissa, dikloorimetaanissa, dioksaanissa, vedessä tai näiden liuottimien seoksessa.

Kaavan (II) mukaisen 2-substituoidun pyridopyrimidiinikarboksyylimahapon tai sen suolan reaktio kaavan (III) mukaisen yhdisteen tai sen suolan kanssa suoritetaan edullisesti kondensoivan aineen, kuten N,N'-disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa.

Kun 2-substituoidun pyridopyrimidiinikarboksyylimahapon tai sen reaktiokykyisen karboksyyl johdanneisen annetaan reagoita kaavan III mukaisen yhdisteen johdanneisen kanssa, muodostuu joskus reaktio-olosuhteista riippuen reaktiotuote, joka sisältää kaavan III mukaisen yhdisteen osan, joka on muutettavissa keksinnön

mukaiseksi penisilliiniyhdisteeksi. Näin on esimerkiksi silloin, kun reaktiotuotteen karboksyyli-ryhmä on esterin, kuten silyyliesterin muodossa tai kun reaktiotuotteen bentseenirungossa oleva hydroksyyli-ryhmä on suojattu esim. asyyli-ryhmällä. Tällaisessa tapauksessa tuote edelleen hydrolysoidaan tai katalyyttisesti hydraataan tavanomaisella penisilliinikemiassa tunnetulla tavalla tämän keksinnön mukaisen penisilliiniyhdisteen muodostamiseksi.

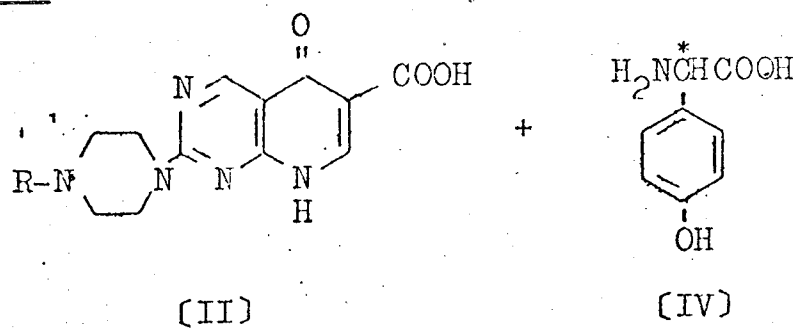
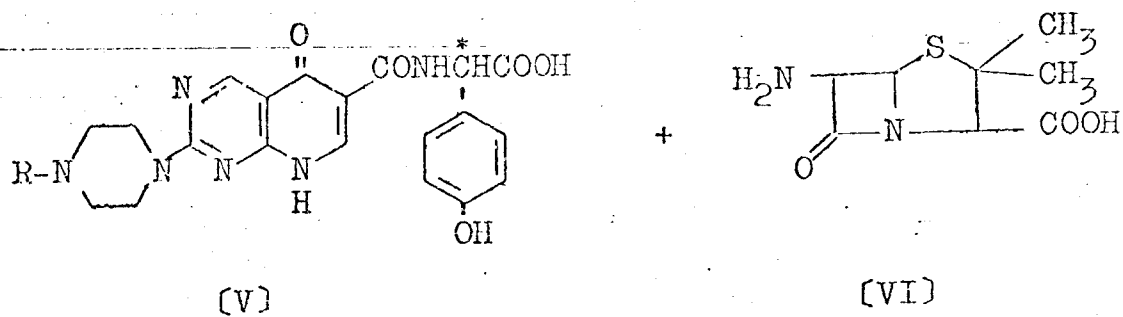
Haluttaessa näin muodostettu kaavan (I) mukainen penisilliiniyhdiste voidaan muuttaa sen myrkyttömäksi, farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi tavanomaisella tavalla.

Kaavan (III) mukainen yhdiste voi olla D-isomeerin, L-isomeerin tai D,L-seoksen muodossa.

Jos lähtöaineena käytetään kaavan III mukaisen yhdisteen D-isomeeria, voidaan tämän keksinnön mukainen penisilliiniyhdiste saada D-muodossa. Jos lähtöaineena käytetään kaavan III mukaisen yhdisteen D,L-seosta, saadaan tämän keksinnön mukainen penisilliiniyhdiste D,L-seosmuodossa. Kuten yllä esitettiin, tämän keksinnön D-muodossa olevilla uusilla penisillineillä on erityisen suuri bakteereja tappava aktiivisuus.

Tästä johtuen menetelmässä (A) lähtöaineena käytetyn kaavan (III) mukaisen yhdisteen isomeerityyppi valitaan lopputuotteen halutun isomeerin mukaisesti.

Tämän keksinnön mukaiset uudet penisilliiniyhdisteet voidaan myös valmistaa menetelmällä (B). Se voidaan kuvata seuraavalla reaktiokaaviolla (B).

Vaihe 1Vaihe 2

(I)

joissa R on sama kuin yllä määriteltiin.

Yllä kaavamaisesti esitetty menetelmä (B) koostuu vaiheesta 1 ja vaiheesta 2. Vaiheessa 1 annetaan kaavan (II) mukaisen 2-substituoidun pyridopyrimidiini-karboksyylihapon, sen epäorgaanisen tai orgaanisen suolan tai sen reaktiokykyisen karboksyylijohdannaisen reagoida kaavan (IV) mukaisen p-hydroksifenyyliglysiinin tai sen epäorgaanisen tai orgaanisen suolan tai sen johdannaisen kanssa α - $\sqrt{5}$,8-dihydro-2-(4-formyyli- tai 4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso- $\sqrt{5}$ -pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamidin p-hydroksifenyylietikkahapon (josta käytetään nimitystä 2-substituoitu pyridopyrimidiinikarbonyyliglysiini tai PPGG) muodostamiseksi. Vaiheessa 2 annetaan PPGG-yhdisteen, sen suolan tai sen reaktiokykyisen karboksyylijohdannaisen reagoida kaavan (VI) mukaisen 6-aminopenisillaanin hapon (käytetään nimitystä 6-APA), sen epäorgaanisen tai orgaanisen suolan tai sen 6-APA-yhdisteen kanssa muutettavissa olevan johdannaisen kanssa, minkä jälkeen tarvittaessa hydrolysoidaan tai katalyyttisesti hydrataan saatu tuote kaavan (I) mukaisen penisilliini-yhdisteen muodostamiseksi ja haluttaessa muutetaan reaktiotuote sen myrkyttömäksi, farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Vaiheessa 1 käytetty kaavan (II) mukaisen 2-substituoidun pyridopyrimidiini-karboksyylihapon epäorgaaninen tai orgaaninen suola tai reaktiokykyinen karboksyylijohdannainen voivat olla samoja kuin menetelmässä (A) kuvatut.

Vaiheen 1 reaktio voidaan suorittaa -40 - $+40^{\circ}\text{C}$:ssa, edullisesti huoneenlämpötilan alapuolella samassa vesipitoisessa tai vedettömässä liuottimessa kuin menetelmän (A) yhteydessä kuvattiin.

Vaiheen 1 reaktiolla muodostettu kaavan (V) mukainen yhdiste on uusi yhdiste.

Vaiheessa 2 on edullista käyttää kaavan V mukaista yhdistettä sen suolan tai sen reaktiokykyisen karboksyylijohdannaisen muodossa.

Nämä suolat ja reaktiokykyiset johdannaiset ovat samoja kuin yllä kuvattiin menetelmässä (A) käytettyjen 2-substituoidun pyridopyrimidiinikarboksyylihapon suolojen ja reaktiokykyisten karboksyylijohdannaisten yhteydessä. Kaavan V mukaisen yhdisteen johdannaista, jossa bentseenirungossa oleva hydroksyyli-ryhmä on suojattu asyyli-ryhmällä, voidaan käyttää lähtöyhdisteenä vaiheessa 2.

Vaiheessa 2 käytetyt 6-APA:n suolat tai 6-APA:ksi muutettavissa olevat johdannaiset voivat olla oleellisesti samoja kuin yllä menetelmän (A) yhteydessä kuvatut kaavan III mukaisen yhdisteen suolat tai johdannaiset lukuunottamatta sitä kaavan III mukaisen yhdisteen johdannaista, jossa bentseenirungossa oleva hydroksyyli-ryhmä on suojattu. On edullista käyttää 6-APA:a tällaisen johdannaisen muodossa tässä reaktiossa.

Edullisia 6-APA:n johdannaisia ovat esimerkiksi sen trimetyylisilyyliesteri, trityyliesteri, p-nitrobentsyyliesteri, bentsyyliesteri ja O,N-bis-trimetyylisilyyli-johdannainen.

On erityisen edullista antaa 6-APA:n johdannaisen reagoida kaavan V mukaisen yhdisteen suolan tai reaktiokykyisen karboksyyli johdannaisen kanssa aproottisessa väliaineessa.

Kun 6-APA:a käytetään vapaan karboksyylihapon tai sen suolan muodossa, reaktiovaihe 2 voidaan myös suorittaa proottisessa väliaineessa tai vesipitoisessa väliaineessa.

Vaiheen 2 reaktio on edullista suorittaa liuottimessa $-40 - +40^{\circ}\text{C}$:ssa yhdestä tunnista kahteen vuorokauteen emäksen läsnäollessa. Liuotin, emäs ja muut reaktio-olosuhteet ovat oleellisesti samat kuin ne, joita käytetään penisilliinikemiassa.

Esimerkiksi, kun kaavan V mukaisesta yhdisteestä ja etyyliklooriformaatista muodostetun anhydridin annetaan reagoida 6-APA:n johdannaisen kanssa, reaktio suoritetaan jäädyttäen tai huoneenlämpötilassa tertiäärisen amiinin, kuten trietyyliamiinin tai N,N-dimetyylianiiliinin läsnäollessa inertissä liuottimessa, kuten asetonissa, tetrahydrofuraanissa, dimetyyliformamidissa, kloroformissa, dikloorimetaanissa, heksametyylifosforiamidissa tai näiden inerttien liuottimien seoksessa.

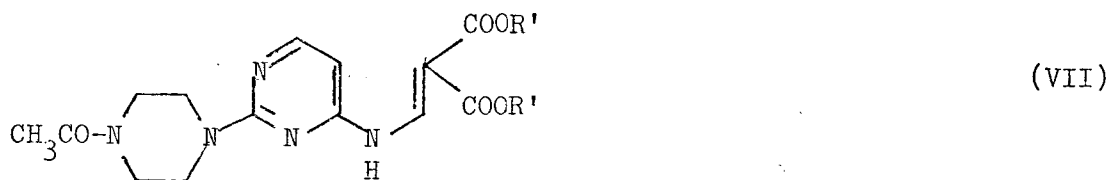
Kun kaavan V mukaisen yhdisteen N-hydroksisukkinimidiesterin annetaan reagoida 6-APA:n johdannaisen kanssa, reaktio suoritetaan $0-20^{\circ}\text{C}$:ssa yhdestä tunnista kahteen vuorokauteen emäksen, kuten trietyyliamiinin tai lutidiinin läsnäollessa dimetyyliformamidissa, dikloorimetaanissa, dioksaanissa tai näiden seoksessa.

Kun kaavan V mukaisen yhdisteen tai sen suolan tai reaktiokykyisen karboksyyli johdannaisen tai sellaisen johdannaisen, jonka bentseenirenkaassa on suojattu hydroksyyli ryhmä, annetaan reagoida 6-APA:n johdannaisen kanssa, muodostuu joskus reaktio-olosuhteista riippuen reaktiotuote, jossa on 6-APA- ja/tai kaavan V mukaisen yhdisteen osa, joka on muutettavissa tämän keksinnön mukaiseksi penisilliiniyhdisteeksi. Näin on esimerkiksi silloin, kun reaktiotuotteen karboksyyli ryhmä on esterin, kuten silyyliesterin muodossa tai kun reaktiotuotteen bentseenirungossa oleva karboksyyli ryhmä on suojattu esim. asyyli ryhmällä. Tällaisessa tapauksessa reaktiotuote hydrolysoidaan tai katalyyttisesti hydrataan tavanomaisella penisilliinikemiassa tunnetulla tavalla tämän keksinnön mukaisen penisilliiniyhdisteen saamiseksi.

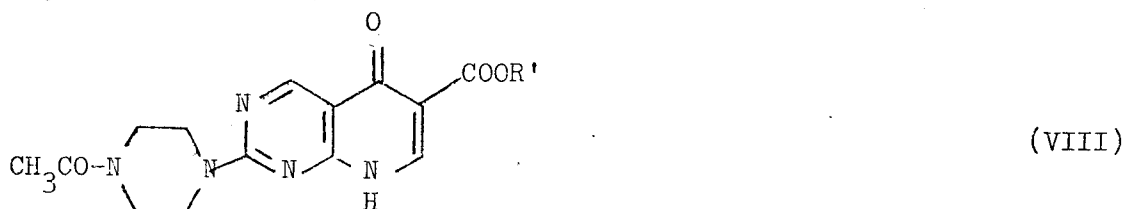
Menetelmällä (A) tai (B) saadut penisilliiniyhdisteet voivat olla vapaan karboksyylihapon tai suolan muodossa lähtöyhdisteiden, reaktio-olosuhteiden jne. valinnan mukaisesti. Karboksyylihapo muutetaan suolaksi käsittelemällä sitä emäksisellä aineella, kuten natrium-2-etyyliheksanoaatilla, natriumhydroksidilla tai natriumkarbonaatilla. Toisaalta suolaa käsitellään haluttaessa happamalla aineella vapaan karboksyylihapon muodostamiseksi.

Tuotteen eristäminen, puhdistus, uuttaminen ja uudelleen kiteyttäminen ja muut jälkikäsittelyt suoritetaan tavanomaisten penisilliinikemian menettelyjen mukaisesti.

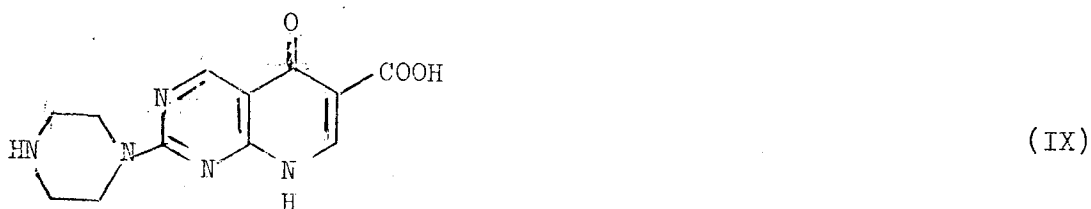
Kaavan II mukainen lähtöyhdiste voidaan saada muodostamalla molekyylin- sisäisesti rengas yhdisteessä, jolla on yleinen kaava



jossa R' on 1-6 hiiliatomia sisältävä alkyyli-ryhmä, yhdisteen muodostamiseksi, jolla on yleinen kaava



jossa R' on sama kuin yllä määriteltiin, hydrolysoimalla yhdiste (VIII) yhdisteen muodostamiseksi, jolla on kaava



ja sitten formyloimalla tai asetyloimalla yhdiste (IX).

Formylointi voidaan suorittaa antamalla kaavan (IX) mukaisen yhdisteen reagoita jonkin tavanomaisen formylointiaineen, kuten N-formyyli-imidatsolin, p-nitrofenyyliformaatin, etikkahappoanhydridin ja muurahaishapon seoksen tai muurahaishapon ja formamidin seoksen kanssa mahdollisesti inertin liuottimen, kuten dimetyyliformamidin läsnäollessa. Reaktioaika on yleensä 30 minuutista useaan tuntiin, edullisesti 1-30 tuntia. Reaktiolämpötila on 20-120°C ja edullisesti 60-90°C. Kun käytetty formylointiaine on neste, ainetta voidaan käyttää ylimäärin sen saamiseksi toimimaan myös liuottimena.

Asetylointi voidaan suorittaa antamalla kaavan (IX) mukaisen yhdisteen reagoita jonkin tavanomaisen asetylointiaineen, kuten etikkahappoanhydridin,

asetyylikloridin, N-asetyyli-imidatsolin, asetoksiypyrimidiinien tai keteenien kanssa mahdollisesti inertin liuottimen, kuten dimetyyliformamidin läsnäollessa. Reaktioaika on yleensä 30 minuutista useaan tuntiin, edullisesti 1-3 tuntia. Reaktiolämpötila on 20-120°C ja edullisesti 60-90°C. Kun käytetty asetylointiaine on neste, ainetta voidaan käyttää ylimäärin sen saamiseksi toimimaan myös liuottimena.

2-AP-substituoitu pyridipyrimidiinikarboksyylihappo voidaan myös saada hydrolysoimalla kaavan (VIII) mukaista yhdistettä lieyissä olosuhteissa esimerkiksi kloorivetyhapon ja etanolin seoksessa.

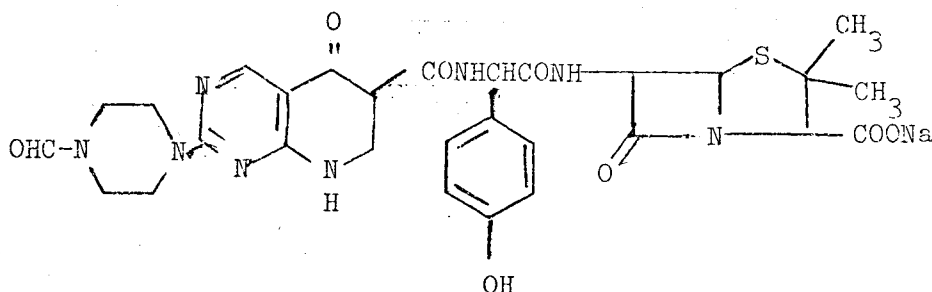
Molekyylinsisäinen renkaanmuodostusreaktio kaavan (VII) mukaisen yhdisteen muuttamiseksi kaavan (VIII) mukaiseksi yhdisteeksi ja hydrolyysi kaavan (VIII) mukaiseksi yhdisteen muuttamiseksi kaavan (IX) yhdisteeksi voidaan suorittaa amerikkalaisen patenttijulkaisun 3 887 557 mukaisesti.

Keksinnön mukaisten penisilliiniyhdisteiden farmakologisia ominaisuuksia on kuvattu seuraavassa.

Farmakologisissa kokeissa tutkittiin seuraavia yhdisteitä:

Yhdiste 1

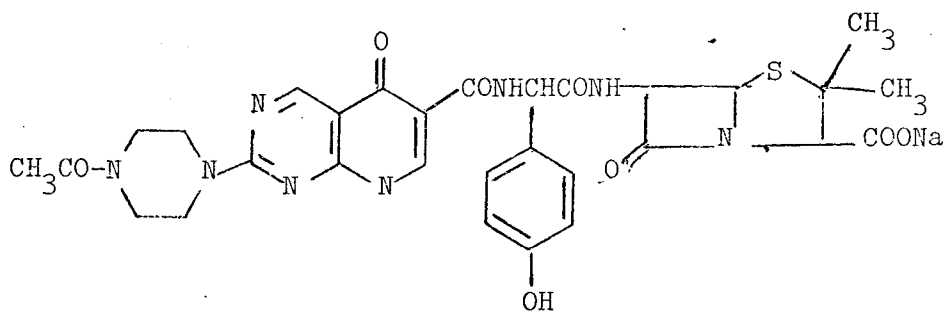
D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido-(2,3-d)-pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuola



(keksinnön mukainen yhdiste)

Yhdiste 2

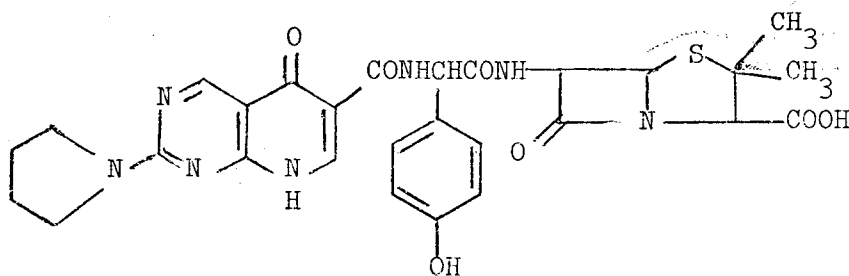
D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido-(2,3-d)-pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuola



(tämän keksinnön mukainen yhdiste)

Yhdiste A

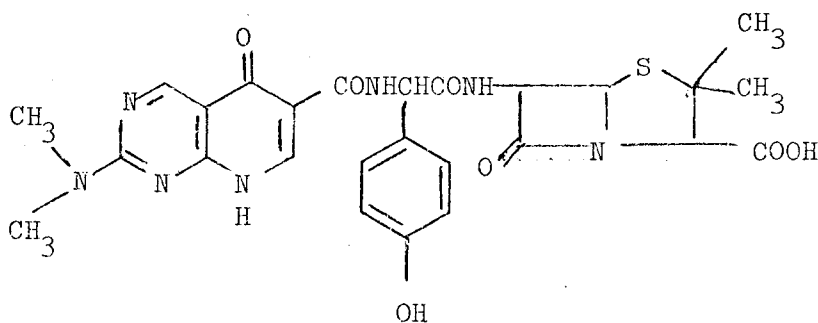
D- α -(5,8-dihydro-2-pyrrolidiino-5-okso-2,3-dihydro-4H-pyrimidin-6-yl)-p-hydroksibentsyylipenisilliini



(vertailuesimerkillä 1 saatu yhdiste, keksinnön suojapiirin ulkopuolella).

Yhdiste B

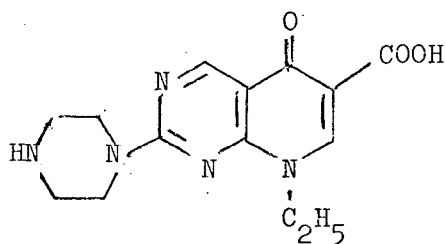
D- α -(5,8-dihydro-2-dimetyyliamino-5-okso-2,3-dihydro-4H-pyrimidin-6-yl)-p-hydroksibentsyylipenisilliini.



(vertailuesimerkillä 2 saatu yhdiste, keksinnön suojapiirin ulkopuolella)

Yhdiste C

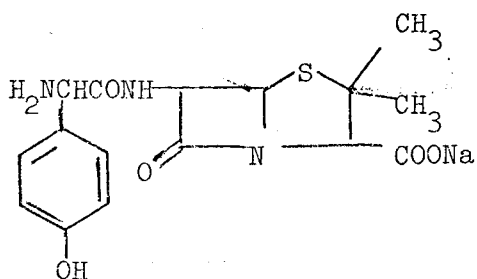
5,8-dihydro-8-etyyli-2-(1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksylihappo (pipemidihappo)



(US-patenttijulkaisussa 3 887 557 mainittu yhdiste).

Yhdiste D

D- α -amino-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuola (amoksisilliini).



(US-patenttijulkaisussa 3 674 776 mainittu yhdiste).

Koe n:o 1

Minimiestopitoisuudet (MIC) ($\mu\text{g/ml}$) in vitro esitetään taulukossa I.

Taulukko I In vitro bakteereja tappava aktiivisuus 20 bakteerilajia vastaan
(MIC, µg/ml)

Yhdiste Bakteerit	1	2	A	B	C	D
Staphylococcus aureus 209P JC-1	0,78	1,56	0,78	0,78	12,5	0,1
Staphylococcus aureus No. 50774	1,56	1,56	0,78	0,78	25	0,1
Streptococcus faecalis P-2473	3,13	6,25	6,25	3,13	>200	0,78
Streptococcus pyogenes 55A	0,006	0,006	<0,1	0,025	>100	0,025
Corynebacterium pyogenes C-21	3,13	0,78	0,78	0,78	25	0,39
Escherichia coli NIHJ JC-2	3,13	3,13	3,13	6,25	1,56	6,25
Escherichia coli P-5101	1,56	0,78	1,56	1,56	3,13	6,25
Escherichia coli P-140a *	12,5	12,5	12,5	25	3,13	>200
Salmonella typhimurium S-9	0,78	0,78	1,56	1,56	3,13	0,78
Salmonella enteritidis No. 1891	0,78	0,78	0,39	0,78	1,56	0,39
Shigella flexneri 2a	3,13	3,13	1,56	3,13	3,13	6,25
Shigella flexneri 4a P-330	3,13	3,13	3,13	6,25	1,56	25
Klebsiella pneumoniae No. 13	12,5	12,5	6,25	12,5	6,25	200
Enterobacter cloacae P-2540	6,25	6,25	3,13	12,5	1,56	>200
Pseudomonas aeruginosa Tsuchiima	0,78	0,78	1,56	1,56	12,5	200
Pseudomonas aeruginosa No. 12	3,13	3,13	3,13	3,13	25	>200
Serratia marcescens IFO 3736	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	50
Proteus morganii Kono	6,25	6,25	6,25	6,25	3,13	200
Proteus rettgeri P-2503	25	25	6,25	6,25	6,25	50
Proteus mirabilis P-2381	3,13	6,25	3,13	3,13	3,13	1,56

Käytetty menetelmä: Chemotherapy 22 (6), 1126 (1974)

x): Kliinisesti eristetty ampicilliinia ja kefaleksiinia kestävä laji.

Seuraavat johtopäätökset voidaan tehdä taulukosta I.

1) US-patenttijulkaisussa 3 887 557 esitetyllä yhdisteellä C on huonompi bakteereja tappava aktiivisuus Gram-positiivisia bakteereja, kuten Staphylococcus aureus-, Streptococcus pyogenes- ja Corynebakterium pyogenes-lajeja vastaan kuin keksinnön mukaisilla penisilliiniyhdisteillä 1 ja 2.

2) Amoksisilliini, yleisesti käytetty ja hyvin tunnettu bakteereja tappava aine, josta käytetään nimitystä "yhdiste D" taulukossa I (US-patenttijulkaisu 3 674 776) on oleellisesti tehoton Gram-negatiivisia patogeenisiä bakteereja, kuten Escherichia coli P-140a-lajia vastaan, joka on kliinisesti eristetty ampicilliinia ja kefaleksiinia kestävä laji, ja muita Gram-negatiivisia bakteereja, erityisesti heikosti patogeenisiä bakteereja, kuten Klebsiella pneumonia-, Enterobacter cloacae-, Pseudomonas aeruginosa- ja Serratia marcescens-lajia vastaan, kun taas tämän keksinnön mukaiset penisilliiniyhdisteet osoittavat erittäin voimakkaita bakteereja tappavia aktiivisuuksia näitä bakteereja vastaan.

Koe n:o 2 (in vivo tehokkuus)

Valmistettiin farmaseuttisia valmisteita seuraavasti:

Aseptisissa olosuhteissa liuotettiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyamido)-p-hydroksibentsyyli-penisilliinin natriumsuolaa (251 g) 2008 ml:n ruiskeisiin tarkoitettua tislattua vettä. Liuos suodatettiin Millipore-suodattimella (huokoskoko 0,22 mikronia; Millipore Corporation'in Bedford, USA). Liuosta kaadettiin 2,0 ml:n määrä tuhanteen lasipulloon (10 ml), ja pullot lyofilisoitiin. Jokainen lasipullo suljettiin sitten kumitulpalla ja alumiinikannella. Näin saatiin lasipulloja (n:o A), jotka kaikki sisälsivät 250 mg aktiivista aineosaa.

Ampulleihin lisättiin jokaiseen 2,0 ml:n määrä ruiskeisiin tarkoitettua fysiologista suolaliuosta, ja ne suljettiin ampullien saamiseksi (n:o B). Ampulleissa (n:o B) oleva fysiologinen suolaliuos kaadettiin lasipulloihin (n:o A) suonen-siäisesti annettavien ruiskeiden valmistamiseksi.

2) Ruiskeisiin tarkoitettua tislattua vettä kaadettiin 2,0 ml:n määrä lasipulloihin (n:o A) ja liuos liuotettiin ruiskeisiin tarkoitetuun 5-%:seen glykoosiliuokseen (250 ml). Näin valmistettiin liuokset jatkuvaan infuusioon.

3) Tuhat lasipulloa (n:o C), jotka kaikki sisälsivät 500 mg D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyamido)-p-hydroksibentsyyli-penisilliinin natriumsuolaa. valmistettiin samalla tavoin kuin yllä esitettiin, paitsi että käytettiin 502 g tätä aktiivista aineosaa.

Näin valmistettujen lasipullojen (n:o A ja n:o C) sisällöt liuotettiin molemmat ionivaihdettuun veteen ja valmistettiin eriväkevyyksisiä ruiskeita.

Yhdiste D liuotettiin ioninvaihdettuun veteen. Yhdisteet A, B ja C liuotettiin natriumkarbonaatin vesiliuokseen (pH 8-9) eriväkevyisten ruiskeiden valmistamiseksi.

Jokaista ruisketta annettiin hiirille alla kuvatuissa olosuhteissa ja saadut ED_{50} -arvot esitetään taulukossa II.

Koeolosuhteet:

Hiiret: koirashiiriä (dd Y) paino. 20 g

Infektio: *Staphylococcus aureus* n:o 50774;

Suonensisäinen infektio 50-100 kertaisella LD_{50} -annoksella

(n. 5×10^8 solua/hiiri) bakteerisuspensiota fysiologisessa suolaliuoksessa

Escherichia coli P-5101;

Vatsakalvonsisäinen infektio 50-100-kertaisella LD_{50} -annoksella (n. 9×10^6 solua/hiiri) bakteerisuspensiota tryptosoijaliemessä, jossa 4 % musiniä

Pseudomonas aeruginosa n:o 12;

Vatsakalvonsisäinen infektio 50-100-kertaisella LD_{50} -annoksella (n. 5×10^3 solua/hiiri) bakteerisuspensiota tryptosoijaliemessä, jossa 4 % musiniä.

Lääkitys: kahdesti, n. 5 minuuttia ja 6 tuntia infektion jälkeen.

Havainnot: *Staphylococcus aureus* n:o 50774 14 päivää

Escherichia coli P-5101 7 päivää

Pseudomonas aeruginosa n:o 12

Taulukko II In vivo-tehokkuus elimistön infektiota vastaan.

Bakteeri Anto- tapa Yhdiste	Staphylococcus aureus n:o 50774	Escherichia coli P-5101		Pseudomonas aeruginosa n:o 12	
	sc	sc	iv	sc	iv
1	2,1	3,7	2,9	2,1	4,1
2	3,3	4,6	3,9	5,0	6,0
A	noin 10	8,6	-	38,6	-
B	noin 10	11,0	-	32,4	-
C	> 50	6,3	4,6	37,7	42,7
D	0,34	3,4	3,2	200	-

Huomautus; taulukossa olevat luvut esittävät ED_{50} -arvoja (mg/kg)

ED_{50} -arvot laskettiin Behrens-Kaerber-menetelmän mukaisesti
(Arch. Exp. Path. Pharm. 162, 480 (1931))

sc: ihonalainen antotapa

iv: suonensisäinen antotapa

Seuraavat johtopäätökset voidaan tehdä taulukosta II.

1) Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä 1 ja 2 on erinomainen bakteereja tappava aktiivisuus in vivo.

2) Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä 1 ja 2 on erityisen voimakas bakteereja tappava aktiivisuus *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan ja niillä on ED_{50} -arvo 2-6 mg/kg ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettuna.

3) Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden 1 ja 2 bakteereja tappavat aktiivisuudet *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan ovat noin 6-20 kertaa niin voimakkaat kuin yhdisteillä A ja B, jotka ovat penisilliiniyhdisteitä, jotka ovat peräisin yhdisteiden 1 ja 2 pyridopyrimidiiniosan 2-aseman substituoinnista 1-pyrrolidinyyli- tai dimetyyliaminoryhmällä 4-substituoidun 1-piperatsinyyliryhmän sijasta.

4) Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä 1 ja 2 on paljon parempi bakteereja tappava aktiivisuus *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettuna kuin yhdisteellä C (pipemiidihappo, joka tunnetaan lääkeaineena, jolla on aktiivisuutta erityisesti *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan).

Koe n:o 3 (äkillinen myrkyllisyys)

Ruiskeita, jotka sisälsivät yhdisteitä 1 ja 2 ja yhdisteitä A, B ja C eri väkevyyksiä ja jotka valmistettiin kokeessa 2, annettiin koirashiirille (ddY) (4-8 joka ryhmässä) annoksena 0,1 ml/10 g ruumiinpainoa. Kuolleiden hiirien lukumäärä laskettiin seitsemän päivän kuluttua ja kunkin yhdisteen LD_{50} -arvo (mg/kg) laskettiin. Tulokset esitetään taulukossa III.

Suhde LD_{50}/ED_{50} (kemoterapeuttinen indeksi) lajilla *Pseudomonas aeruginosa* n:o 12 laskettiin, ja tulokset esitetään taulukossa III.

Taulukko III. Äkillinen myrkyllisyys hiirillä

Yhdiste n:o	Antotapa	LD_{50} (mg/kg)	Kemoterapeuttinen indeksi (LD_{50}/ED_{50})
1	sc	> 6000	> 3000
	iv	4518	1102
2	sc	> 6000	> 1200
	iv	4518	753
A	sc	< 1000	< 26
	iv	< 1000	-
B	sc	1072	33
C	sc	2244	60
	iv	707	17

LD₅₀-arvot laskettiin Behrens-Kaerber-menetelmän mukaisesti.

Seuraavat johtopäätökset voidaan tehdä taulukosta III.

1) Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden 1 ja 2 LD₅₀-arvot ovat noin 4-10 kertaa niin suuret kuin yhdisteillä A ja B ja tämän vuoksi ne ovat erittäin turvallisia.

2) Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden 1 ja 2 kemoterapeuttiset indeksit ovat n. 10-100 kertaa niin suuret kuin yhdisteillä A, B ja C. Tämä osoittaa, että tämän keksinnön penisilliiniyhdisteillä on erinomainen bakteereja tappava aktiivisuus *Pseudomonas aeruginosa*-lajia vastaan.

Kuten taulukoissa I-III esitetään, tämän mukaiset uudet penisilliiniyhdisteet osoittavat laajalla alueella erinomaisia bakteereja tappavaa aktiivisuutta erilaisia Gram-positiivisia ja Gram-negatiivisia bakteereja vastaan sekä in vitro että in vivo-kokeessa. Erityisesti tämän keksinnön mukaisilla penisilliiniyhdisteillä on erinomainen bakteereja tappava aktiivisuus ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettuna ampisilliinia kestäviä lajeja vastaan, joita vastaan amoksisilliinillä ei ole bakteereja tappavaa aktiivisuutta. Ne osoittavat erinomaista bakteereja tappavaa aktiivisuutta erityisesti *Pseudomonas*-suvun bakteereja vastaan, joita vastaan amoksisilliini ja monet muut tunnetut antibiootit ovat oleellisesti tehotomia. Tämän keksinnön mukaisista eri penisilliiniyhdisteistä kaavan (Ia) formyyl johdannainen, erityisesti sen D-isomeeri, on bakteereja tappavalta aktiivisuudeltaan erityisen ylivoimainen.

Tämän keksinnön mukaiset penisilliiniyhdisteet ovat lisäksi erittäin turvallisia, mitä osoittavat yllä esitetyt LD₅₀-arvot, ja niillä on erinomaiset kemoterapeuttiset indeksit. Suurta turvallisuutta tukee myös koe-eläinten hematologian ja kudospatologinen tutkimus jatkuvan ruoansulatuskanavan ulkopuolisen hoidon jälkeen.

Keksinnön mukaisten penisilliiniyhdisteiden pitoisuus plasmassa on korkea vielä useita tunteja ruoansulatuskanavan ulkopuolisen hoidon jälkeen tasalämpöisillä eläimillä, ja niiden pitoisuus virtsassa on korkea hyvin pitkiä ajanjaksoja.

On havaittu, että käytettäessä keksinnön mukaisia penisilliiniyhdisteitä tasalämpöisillä eläimillä ihmiset mukautuettuna, ruoansulatuskanavan ulkopuolinen hoito on paljon edullisempi kuin oraalinen hoito. Ruoansulatuskanavan ulkopuolisessa hoidossa on suositeltavaa liuottaa keksinnön penisilliiniyhdiste ruiskeisiin tarkoitettuun ei-toksiseen nesteväliaineeseen ja ruiskuttaa liuosta lihaksensisäisesti, suonensisäisesti ja ihonalaisesti.

On myös mahdollista liuottaa tai sekoittaa keksinnön mukaista penisilliiniyhdistettä myrkyttömään nesteväliaineeseen tai voideperusseokseen ja levittää liuosta tai seosta suoraan infektiokohtaan. Sitä voidaan myös käyttää peräpuikona sen jälkeen, kun sitä on sekoitettu tai liuotettu peräpuikon perusseokseen.

Esimerkkejä myrkyttömistä nesteväliaineista, joita käytetään ruiskeiden valmistukseen, jotka sisältävät aktiivisena aineosana ko. penisilliiniyhdistettä, ovat steriloitu ionivaihdettu vesi, fysiologinen suolaliuos, ruiskeisiin tarkoitettu glykoosiliuos, Ringer'in liuos ja ruiskeisiin tarkoitettu aminohappoliuos.

Penisilliiniyhdistettä voidaan myös liuottaa muihin ruiskeisiin ja antaa ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti.

Keksinnön mukaisten uusien penisilliiniyhdisteiden valmistus on kuvattu seuraavissa esimerkeissä.

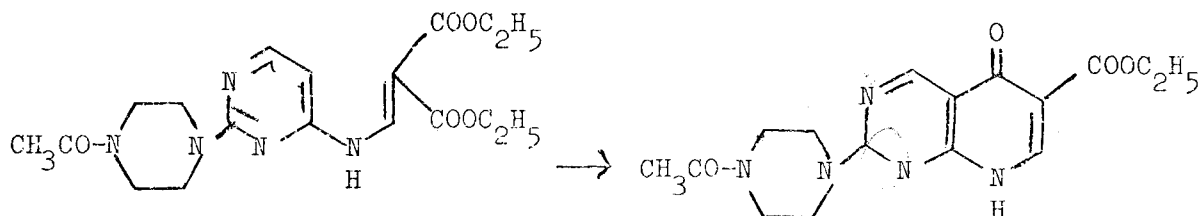
Valmistusesimerkit 1-9 kuvaavat menetelmässä (A) käytetyn kaavan (II) mukaisen lähtöyhdisteen valmistusta (valmistusesimerkit 1-7) ja menetelmässä (B) käytetyn kaavan (V) mukaisen lähtöyhdisteen valmistusta (valmistusesimerkit 8 ja 9).

Esimerkit 1-16 kuvaavat keksinnön mukaisten uusien penisilliiniyhdisteiden valmistusta menetelmällä (A) ja menetelmällä (B).

Vertailuesimerkit 1 ja 2 kuvaavat yhdisteiden valmistusta, jotka ovat keksinnön suojapiirin ulkopuolella, mutta joille mitään valmistusmenetelmää ei ole kirjallisuudessa tunnettu. Näillä vertailuesimerkeillä valmistettuja yhdisteitä käytetään tämän keksinnön mukaisten penisilliiniyhdisteiden farmakologisten vaikutusten arvioinnissa.

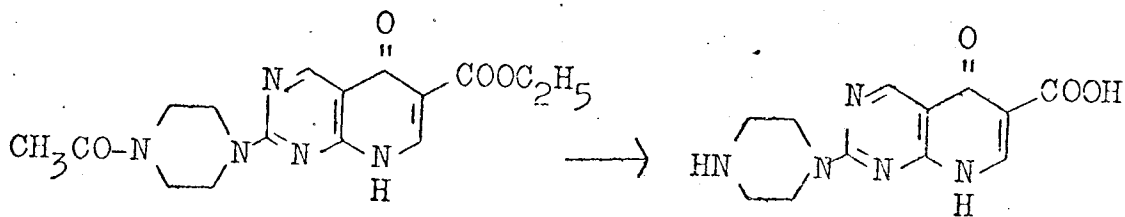
Lähtöaineiden valmistus

Valmistusesimerkki 1



Difenyylietteriin (16 ml), jota pidettiin 250-255°C:ssa, lisättiin sekoit-
taen dietyyli-N-[2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-4-pyrimidinyyli]-aminometyyleni-
malonaattia (2,0 g). Seosta refluksoititiin varovasti 10 minuuttia ja annettiin sit-
ten jäähtyä huoneenlämpötilaan. Seokseen lisättiin n-heksaania (12 ml). Saatu sakka
kerättiin talteen, pestiin etanolilla ja kiteytettiin uudelleen etanolista, jolloin
saatiin etyyli-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5,8-dihydro-5-okso-2,3-d-
pyrimidiini-6-karboksylaattia (1,52 g), sp. 300-302°C (hajoaa).

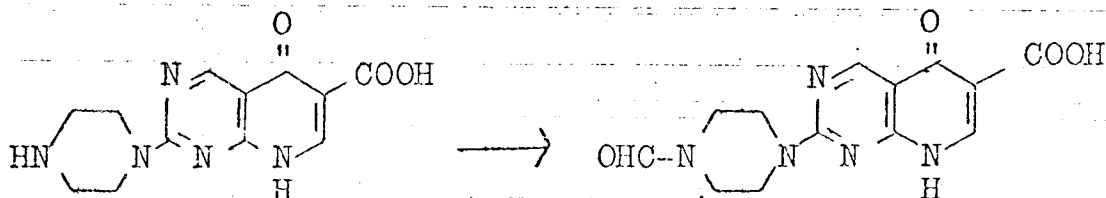
Valmistusesimerkki 2



Suspensiota, jossa oli etyyli-5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylimuoksesta (1 000 g) ja väkevää kloorivetyhappoa (800 ml) veden (1 200 ml) ja etanolin (1 000 ml) seoksessa, refluksoitii kahdeksan tuntia ja annettiin seistä yli yön. Saostuneet kiteet kerättiin talteen, pestiin etanolilla ja liuotettiin kuumentamalla natriumhydroksidin (250 g) vesiliuokseen (10 l). Liuos suodatettiin, säädettiin pH-arvoon 7-8 etikkahapolla ja annettiin seistä yli yön samalla jäillä jäädyttäen. Kiteinen sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja kuivattiin 110°C:ssa, jolloin saatiin 5,8-dihydro-2-(1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylimuoksesta (625 g), sp. 299-305°C (hajoaa).

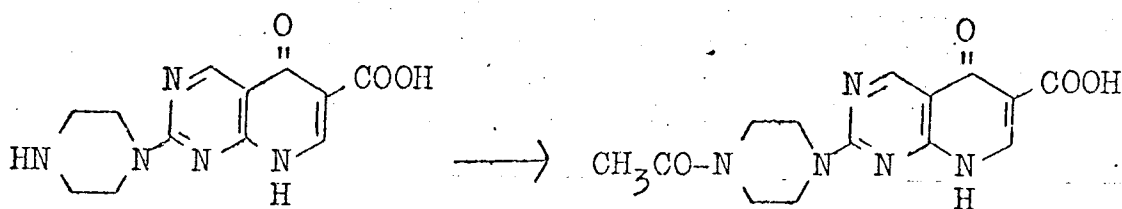
Analyysi: laskemalla kaavasta $C_{12}H_{13}N_5O_5$: C, 52,36; H, 4,76; N, 25,45. Kokeellisesti: C, 52,18; H, 4,63; N, 25,32.

Valmistusesimerkki 3



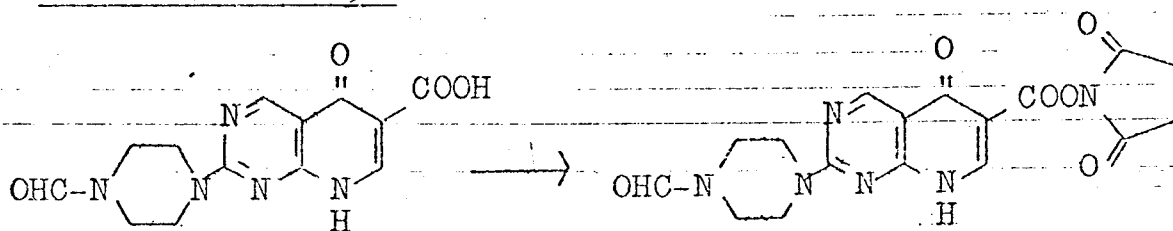
Muurahaishappoa (140 ml) lisättiin tipoittain etikkahappoanhydridiin (200 ml), jota jäähdytettiin jäähäuteella. Liuosta pidettiin 50°C:ssa 15 minuuttia ja jäähdytettiin sitten 5°C:seen. Liuokseen lisättiin 5,8-dihydro-2-(1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylihappoa (70 g). Seosta pidettiin 80°C:ssa kolme tuntia ja jäähdytettiin sitten. Saostuneet kiteet kerättiin talteen suodattamalla ja pestiin etyylietterillä, jolloin saatiin 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylihappoa (72,5 g), sp. yli 300°C.

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{13}H_{13}N_5O_4$: C, 51,48; H, 4,32; N, 23,09. Kokeellisesti: C, 51,41; H, 4,47; N, 23,04.

Valmistusesimerkki 4

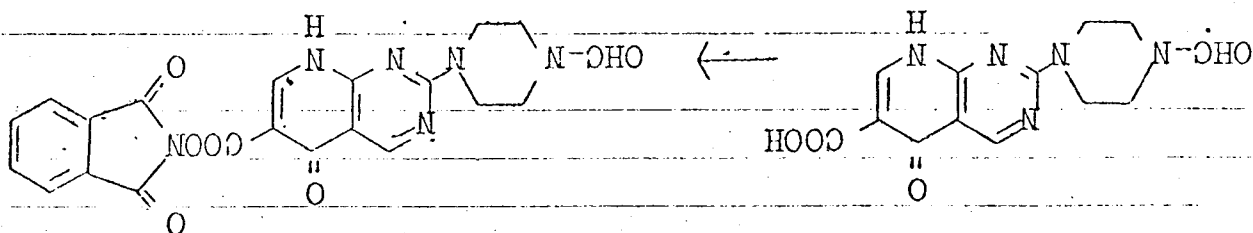
Samalla menettelyllä kuin valmistusesimerkissä 3 kuvattiin, saatiin 5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidin-6-karboksylihappoa (933 g) 5,8-dihydro-2-(1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidin-6-karboksylihapposta (900 g) ja etikkahappoanhydridistä (3 200 ml). Sp. 298-300°C.

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{14}H_{15}N_5O_4$: C, 52,99; H, 4,77; N, 22,07. Kokeellisesti: C, 52,92; H, 4,57; N, 21,91.

Valmistusesimerkki 5

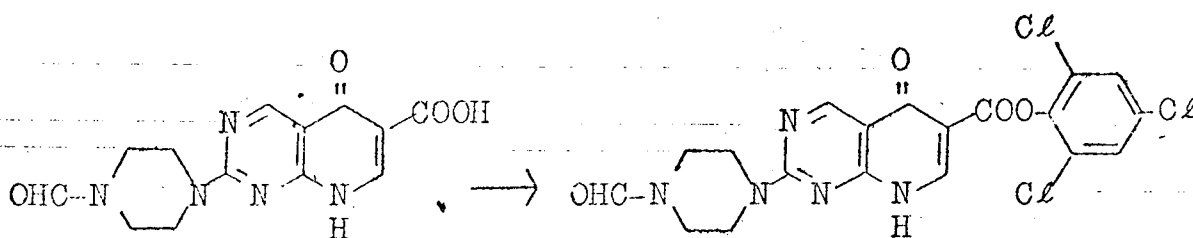
Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidin-6-karboksylihappoa (273 g) ja trietyyliamiinia (299 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (3 500 ml), sekoitettiin hyvin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Suspensioon lisättiin tipoitain jäähdyttäen 0-10°C:seen isopropyliklooriformaattia (221 g) ja reaktioseosta sekoitettiin kaksi tuntia. Liuos, jossa oli N-hydroksisukkinimidiä (207 g) dimetyyliformamidissa (350 ml), lisättiin seokseen ja saatua seosta pidettiin 5-10°C:ssa vielä kaksi tuntia. Kiteinen tuote kerättiin talteen suodattamalla ja pestiin peräkkäin vedellä (2 000 ml) ja asetonilla (2 000 ml), jolloin saatiin N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidin-6-karbonyylioksi)sukkinimidiä (326 g), sp. yli 300°C.

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{17}H_{16}N_6O_6$: C, 51,00; H, 4,03; N, 20,99. Kokeellisesti: C, 50,70; H, 3,89; N, 20,84.

Valmistusesimerkki 6

Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylihappoa (6 g) ja trietyyliaminiä (6,1 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (100 ml), sekoitettiin hyvin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Suspensioon lisättiin tipoittain 0-5°C:ssa etyyliklooriformaattia (3,8 ml) ja reaktioseosta sekoitettiin tunnin ajan 5-7°C:ssa. Liukenematon aine suodatettiin pois, ja suodokseen lisättiin liuos, jossa oli N-hydroksiftaali-imidiä (7,19 g) dimetyyliformamidissa (10 ml). Saatua seosta pidettiin huoneenlämpötilassa kaksi tuntia. Kiteinen tuote kerättiin talteen suodattamalla ja pestiin peräkkäin dikloorimeetaanilla ja asetonilla, jolloin saatiin N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)ftaali-imidiä (8,4 g), sp. 285-288°C (hajoaa).

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{21}H_{16}O_6N_6$: C, 56,25; H, 3,60; N, 18,74. Kokeellisesti: C, 56,03; H, 3,54; N, 18,59.

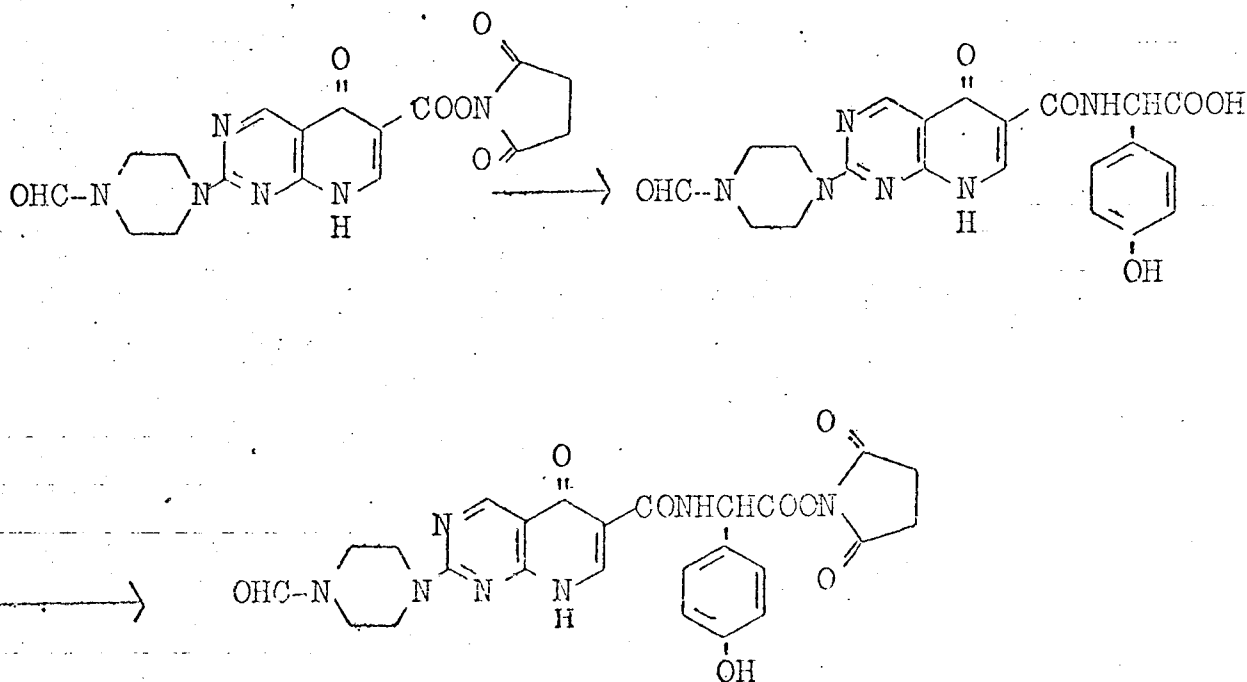
Valmistusesimerkki 7

Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylihappoa (6 g) ja trietyyliaminiä (6,1 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (100 ml), sekoitettiin hyvin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Suspensioon lisättiin 0-5°C:ssa etyyliklooriformaattia (3,8 ml) ja reaktioseosta sekoitettiin tunnin ajan 5-7°C:ssa. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin liuos, jossa oli 2,4,6-trikloorifenolia (8,68 g) dikloorimetaanissa (50 ml). Reaktioseosta pidettiin huoneenlämpötilassa kolme tuntia. Kiteinen tuote kerättiin talteen suodattamalla ja pestiin dikloorimetaanilla, jolloin

saatiin 2,4,6-trikloorifenyyli-5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylaattia (8,2 g), sp. 285-290°C (hajoaa)

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{19}H_{14}O_4N_5Cl_3$: C, 47,28; H, 2,92; N, 14,51. Kokeellisesti: C, 47,12; H, 3,22; N, 14,72.

Valmistusesimerkki 8



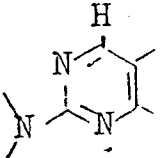
Suspensiota, jossa oli D-p-hydroksifenyyliglysiiniä (3,3 g) ja trietyyliamiinia (5,6 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (50 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Suspensioon lisättiin N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)sukkinimidia (8,0 g). Seosta sekoitettiin 5°C:ssa tunnin ajan ja sekoitettiin sitten huoneenlämpötilassa vielä kolme tuntia. Saatu sakka kerättiin talteen ja liuotettiin jääveten. Vesiliuos tehtiin happameksi 10 %:sella kloorivetyhapolla. Saostuneet kiteet kerättiin talteen ja kietytettiin uudelleen metanolista, jolloin saatiin D-α-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyylietikkahappoa.

IR (KBr): ν $c=O$ 1710 cm^{-1}

NMR (DMSO- d_6 , δ):

5.40 (1H, d, $J=7Hz$ $>N-CH-CO-$),



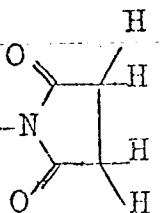
8.12 (1H, s,  N-CHO), 9.12 (1H, s, )

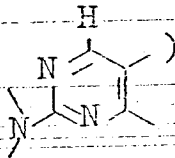
Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{21}H_{20}N_6O_6 \cdot H_2O$: C, 53,61; H, 4,71; N, 17,87. Kokeellisesti: C, 53,87; H, 4,49; N, 17,55.

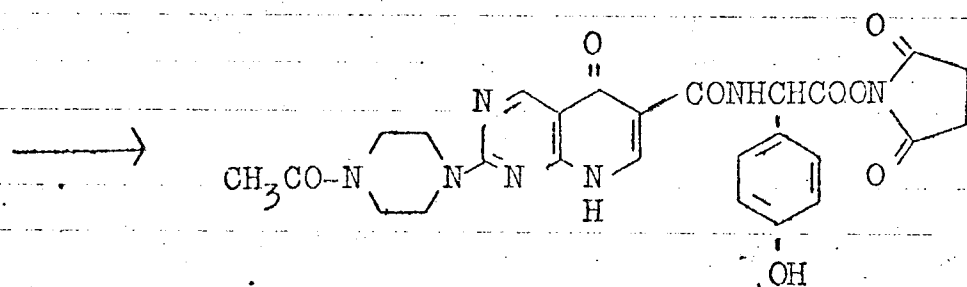
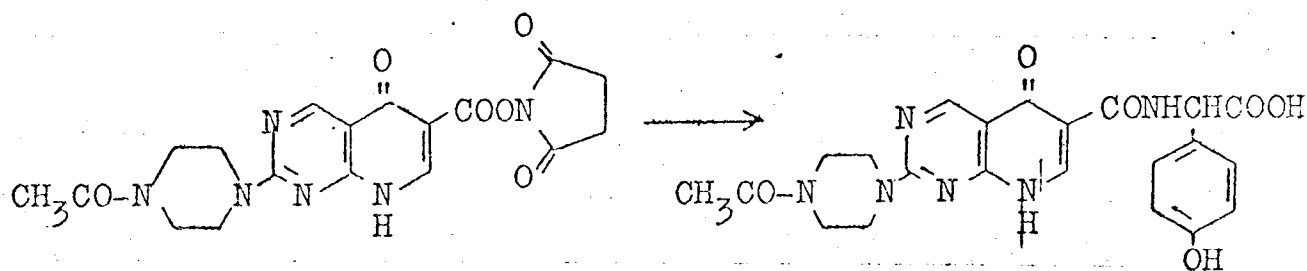
Liuokseen, jossa oli D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyyli-etikkahappoa (9,0 g) ja N-hydroksisukkinimidiä (4,6 g) kuivatussa dimetyyli-formamidissa (100 ml), lisättiin -10°C :ssa disykloheksyylikarbodiimidiä (5,8 g). Seosta sekoitettiin $-10 - 0^\circ\text{C}$:ssa tunnin ajan ja annettiin sitten seistä yli yön huoneenlämpötilassa. Sakka suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin jäävettä (500 ml). Saostuneet kiteet kerättiin talteen ja liuotettiin asetonitriiliin (50 ml). Asetonitriililiuos kuivatettiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin alipaineessa. Saatut kiteet kerättiin talteen, jolloin saatiin N-(D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyyliasetoksi)sukkinimidiä (6 g).

IR (KBr): ν C=O 1730, 1780, 1810 cm^{-1}

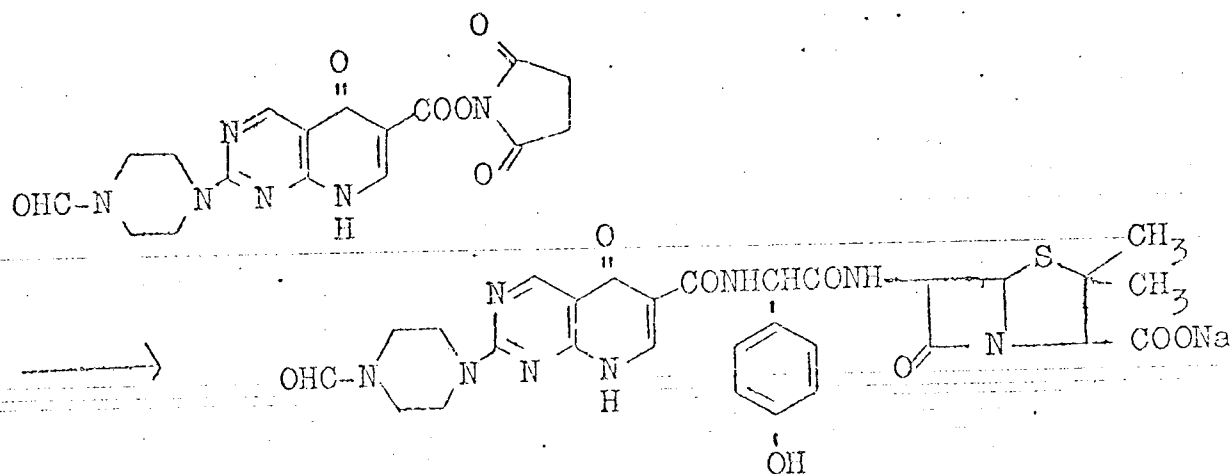
NMR (DMSO- d_6 , δ):

2.78 (4H, s, ) , 5.92 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, ) .

8.12 (1H, s,  N-CHO), 9.10 (1H, s, )

Valmistusesimerkki 9

Samalla menettelyllä kuin valmistusesimerkissä 8 saatiin N-(D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyyliasetoksi)-sukkinimidiä D-p-hydroksifenyyli-2,3-dihydro-5-okso-2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)sukkinimidistä.

Lopputuotteiden valmistus:Esimerkki 1

Natriumhydroksidin (22 g) vesiliuokseen (2 000 ml) lisättiin peräkkäin 0-2°C:ssa jäädyttären D- α -amino-p-hydroksibentsyyllipenisilliiniä (230 g) ja N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)sukkinimidiä (200 g) ja seosta sekoitettiin puoli tuntia. Natriumhydroksidin 1-N liuosta (550 ml) lisättiin seokseen ja saatua seosta sekoitettiin vielä tunnin ajan ja suodatettiin sitten. Suodokseen lisättiin jäävettä (3 000 ml). Liuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla, pestiin kahdesti jäävedellä (4 000 ml) ja liuotettiin riittävään määrään 4-%:sta natriumhydroksidiliuosta pH:n säätämiseksi arvoon 6,5. Vesiliuos suodatettiin ja suodos lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyllipenisilliinin natriumsuolaa (324 g).

IR (KBr): ν C=O 1760 cm^{-1}

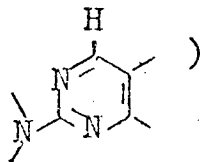
NMR (DMSO- d_6 , δ):

8.10 (1H, s, -N  N-CHO), 3.98 (1H, s, $\overset{\text{H}}{\underset{|}{>\text{C}}}$ -COO-),

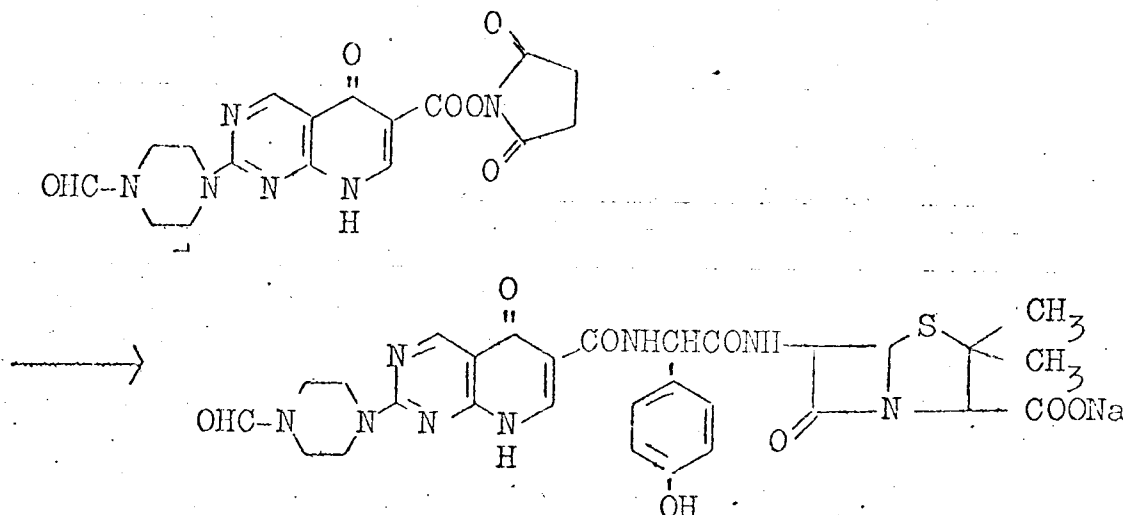
5.80 (1H, d, J=8Hz, - $\overset{|}{\text{N}}$ -CH-CO-)



9.14 (1H, s,

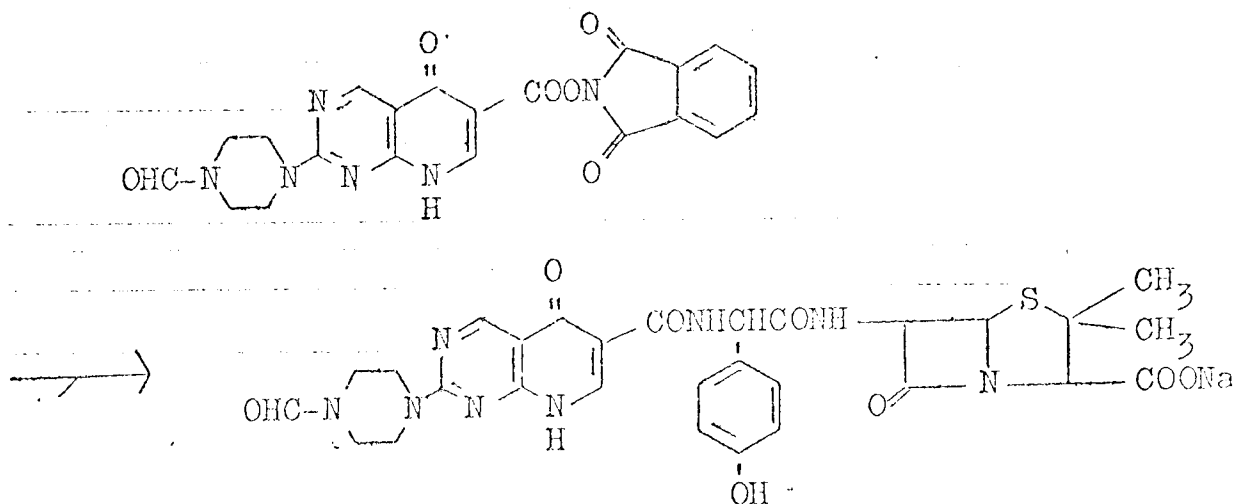


Analyysi: Laskemalla kaavasta $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_8\text{SNa}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 49,15; H, 4,69; N, 15,81; S, 4,53. Kokeellisesti: C, 49,11; H, 4,78; N, 15,75; S, 4,63.

Esimerkki 2

Liuokseen, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyylipenisilliiniä (230 g) ja trietyyliamiinia (76 ml) kuivatussa dimetyyliforamidissa (1 000 ml), lisättiin N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)sukkinimidiä (200 g) 0-2^o C:ssä ja reaktioseosta sekoitettiin 1,5 tuntia. Natrium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta liuosta n-butanolissa (335 ml) ja asetonia (7 000 ml) lisättiin peräkkäin seokseen. Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla, pestiin asetonilla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos tehtiin happameksi 10-%:sella kloorivetyhapolla ja saostuneet kiteet kerättiin talteen, pestiin hyvin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen. Liuos säädettiin pH-arvoon 6,5 ja suodatettiin. Suodos lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuolaa (289 g).

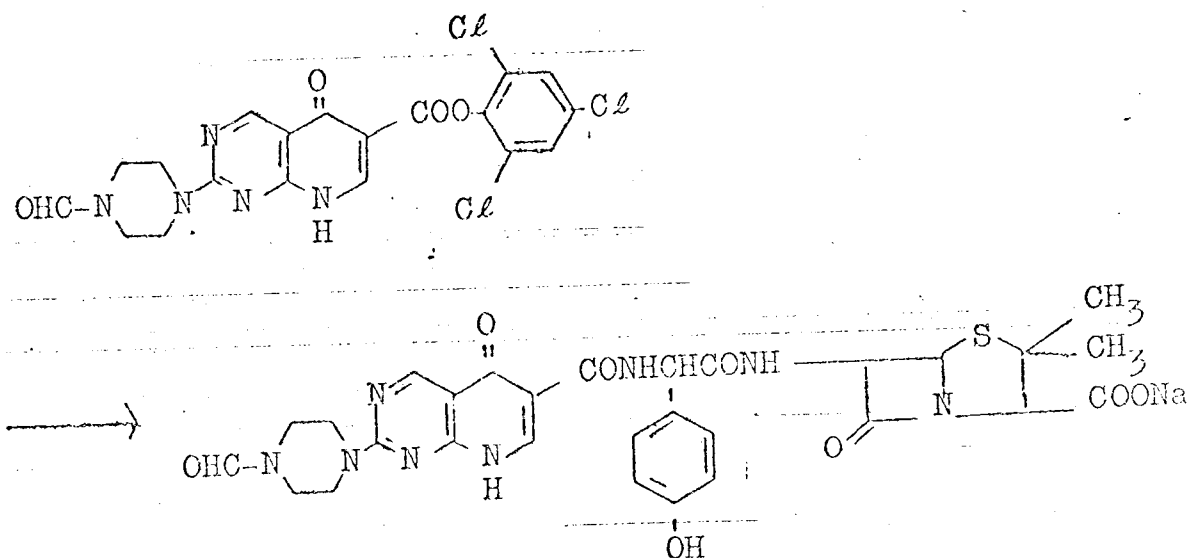
Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 3

Liukseen, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyyllipenisilliiniä (4,61 g) ja trietyyliamiinia (1,53 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (30 ml), lisättiin N-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karbonyylioksi)-ftaali-imidiä (4,48 g) ja reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin natrium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta liuosta n-butanolissa (7,3 ml) ja asetonia (300 ml). Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla, pestiin asetonilla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin dimetyyli-formamidiin (60 ml). Liuosta käsiteltiin aktiivihieillä (1,5 g) ja suodatettiin. Suodokseen lisättiin peräkkäin natrium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta liuosta n-butanolissa (7 ml) ja asetonia (300 ml). Sakka kerättiin talteen ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Saatu sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen pH:n säätämiseksi arvoon 6,5. Vesiliuos suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyllipenisilliinin natriumsuolaa (4,83 g).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 4

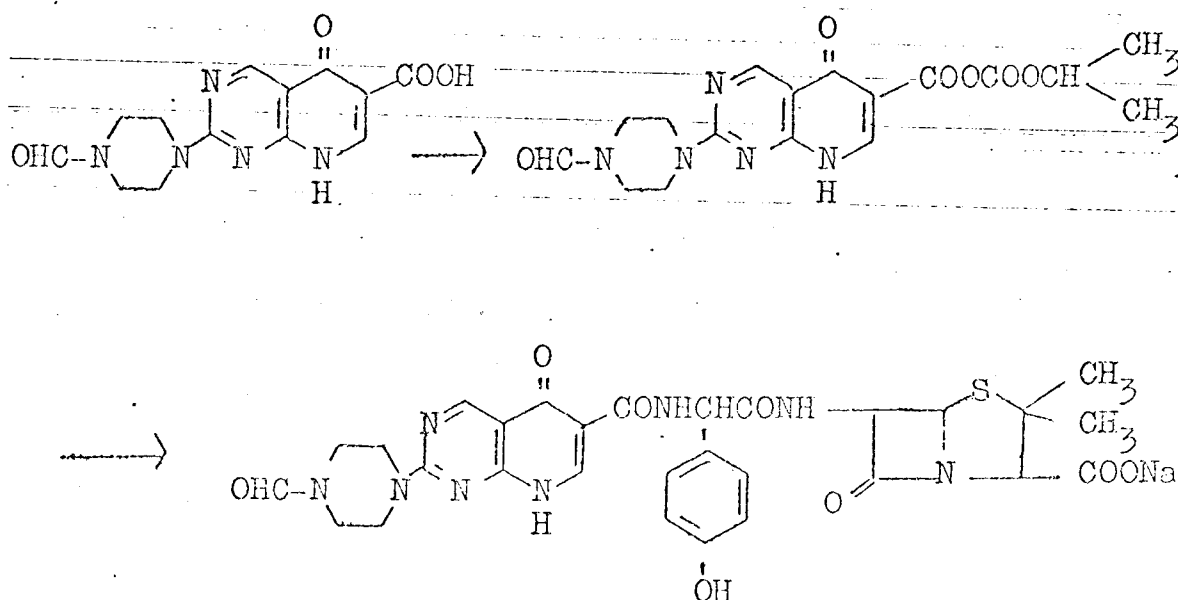


Liukseen, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyyllipenisilliiniä (1,11 g) ja trietyyliamiinia (0,38 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa

(10 ml), lisättiin 2,4,6-trikloorifenyyli-5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylaattia (2,16 g) ja reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa kaksi päivää. Liukene-maton materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin peräkkäin nat-rium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta liuosta n-butanolissa (1,5 ml) ja ase-tonia (150 ml). Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla, pestiin ase-tonilla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sel-la kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuo-tettiin dimetyyliformamidiin. Dimetyyliformamidiliuosta käsiteltiin ak-tiivihielellä ja suodatettiin. Suodokseen lisättiin peräkkäin natrium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta n-butanoliliuosta ja asetonia. Sakka kerät-tiin talteen ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen pH:n säätämiseksi ar-voon 6,5. Vesiliuos suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimi-diini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa (1,14 g).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertas-malla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 5



Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylihappoa (90 g) ja trietyyli-

amiinia (42 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (1 000 ml), sekoitettiin hyvin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Isopropyliklooriformaattia (36,8 g) lisättiin suspensioon jäähdyttäen ja seosta pidettiin 5-8°C:ssa tunnin ajan. Liuos, jossa oli D- α -maino-p-hydroksibentsyyliipenisilliiniä (126 g) ja trietyyliamiinia (46 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (350 ml), lisättiin seokseen. Saatua seosta sekoitettiin 5-7°C:ssa vielä 1,5 tuntia ja annettiin seistä yli yön -10°C:ssa.

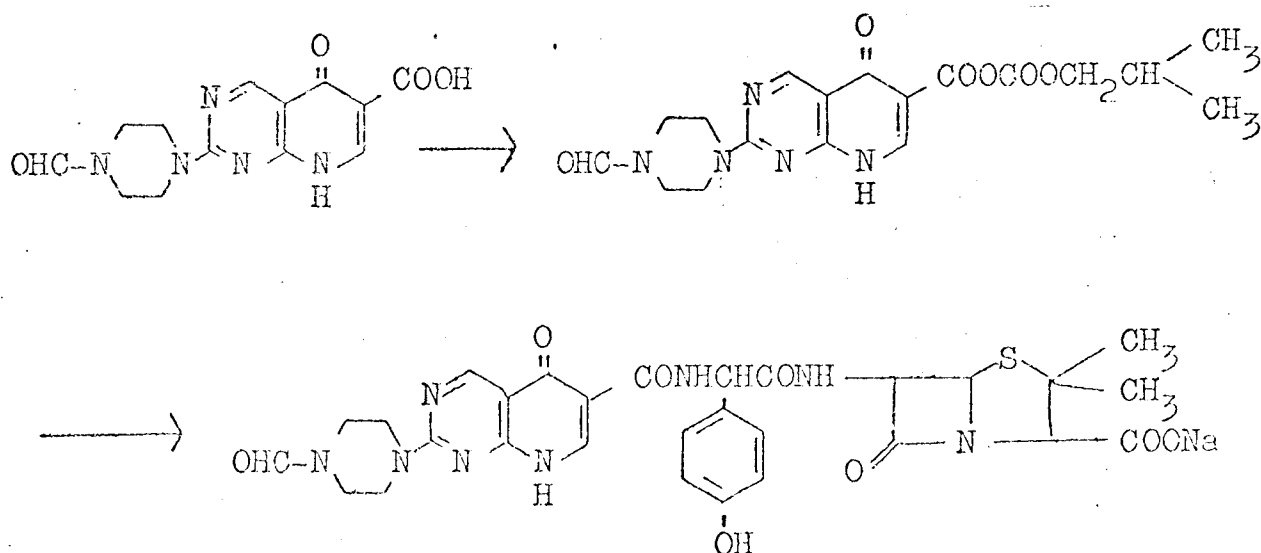
Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin peräkkäin 2-etyyliheksanoatin 30-%:sta n-butanoliliuosta (250 ml) ja asetonia (3 000 ml).

Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka pestiin vedellä ja liuotettiin dimetyyliformamidiin (380 ml). Kun liuosta oli käsitelty aktiivihiilellä (20 g), 2-etyyliheksanoatin 30-%:sta butanoliliuosta (130 ml) ja asetonia (5 000 ml) lisättiin peräkkäin liuokseen.

Saatu sakka kerättiin talteen, pestiin asetonilla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen pH:n säätämiseksi arvoon 6,5. Liuos suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-d-pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa (78,7 g).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

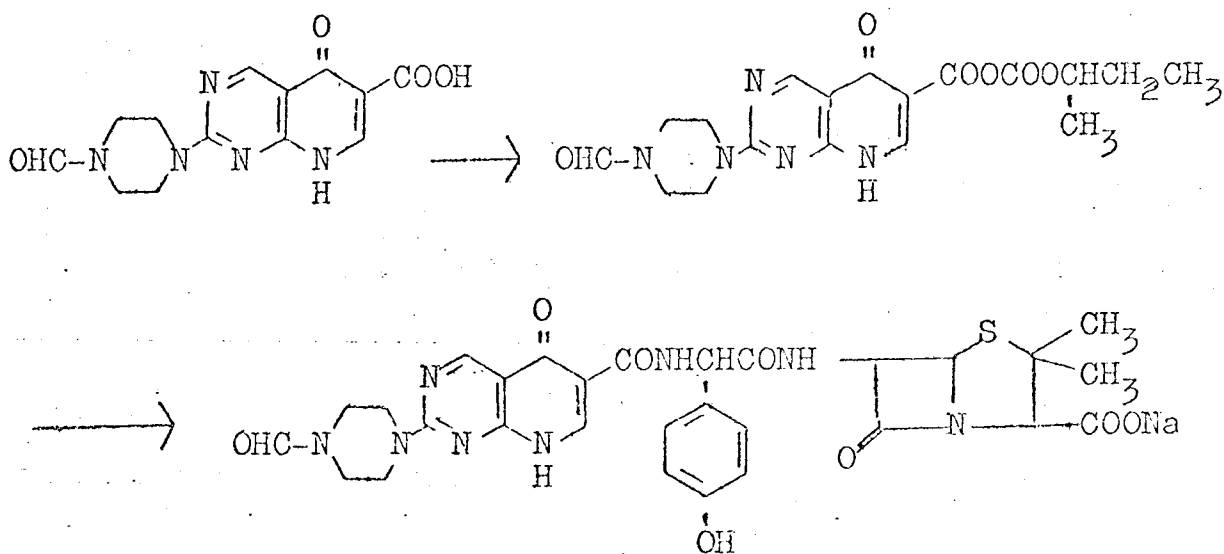
Esimerkki 6



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 5 kuvattiin, saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa (155 g) 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylihaposta (152 g) ja isobutyryliklooriformaatista (79 ml).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

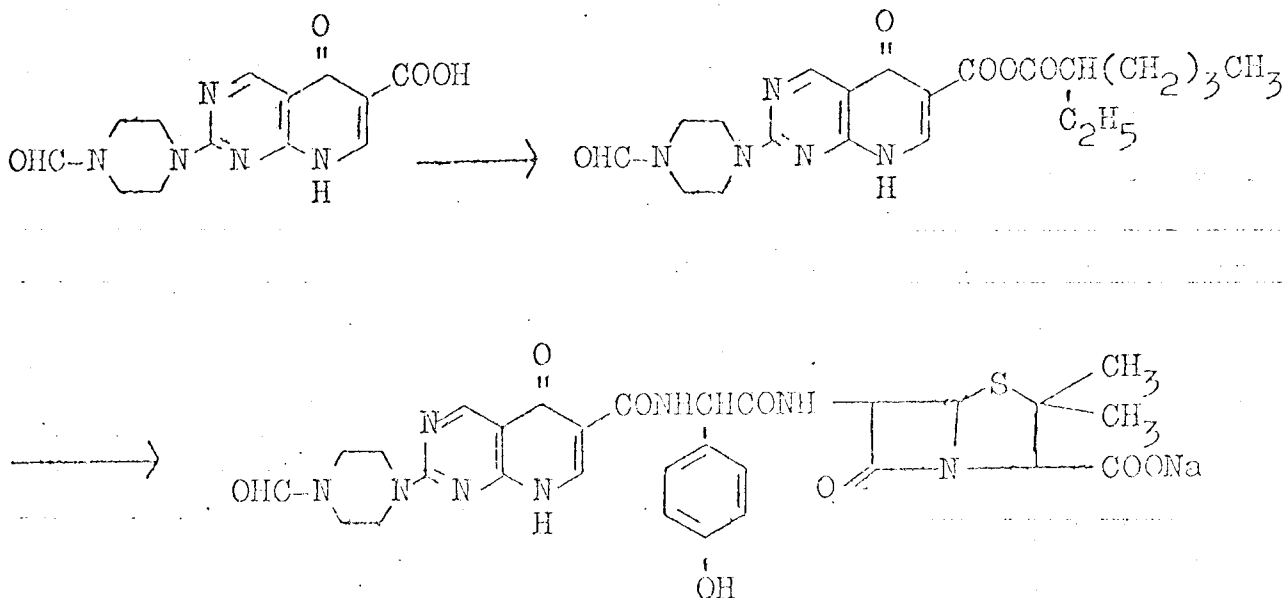
Esimerkki 7



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 5 kuvattiin, saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa (29 g) 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylihaposta (30 g) ja sek.-butyryliklooriformaatista (13,7 g).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

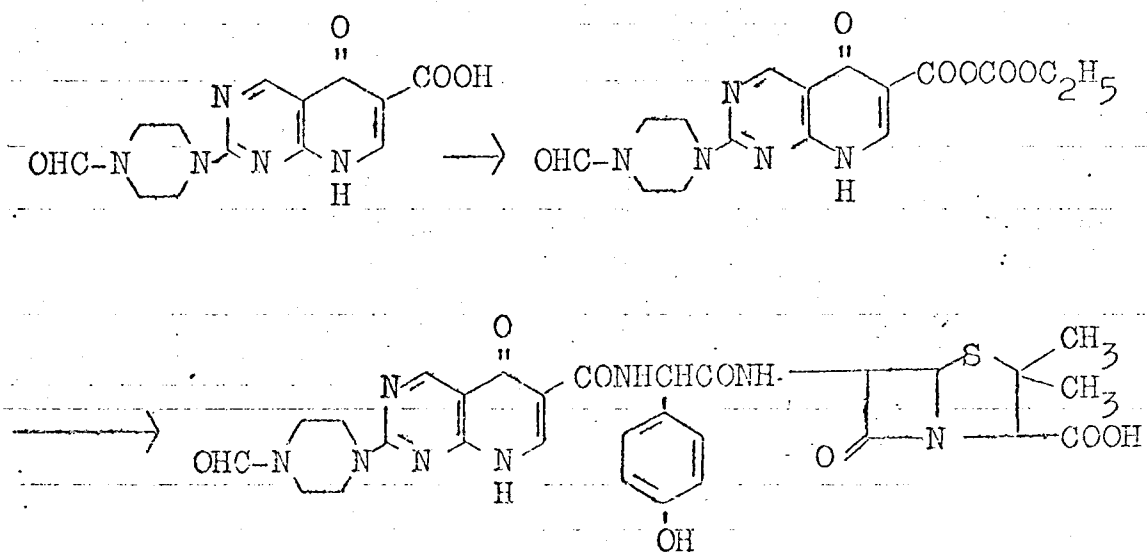
Esimerkki 8



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 5 kuvattiin, paitsi että reaktio suoritettiin -10°C :ssa, saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksyliami)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa (15 g) 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksylihapon (30 g) ja 2-etyyliheksanoyylikloridista (19,5 g).

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 1 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 9



Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksylihappoa (3,0 g) ja trietyyliamiinia (1,66 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (50 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Reaktioseokseen lisättiin etyyliklooriformaattia (1,14 ml) -10°C :ssa ja seosta sekoitettiin tunnin ajan.

Samalla suspensiota, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyyliipenisilliiniä (5,0 g), trietyyliamiinia (2,77 ml) ja vedetöntä magnesiumsulfaattia (2,0 g) kuivatussa dimetyyliformamidissa (60 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia ja liukenematon materiaali suodatettiin. Suodos lisättiin edellä olevaan suspensioon -10°C :ssa ja seosta sekoitettiin vielä kaksi tuntia. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin natrium-2-etyyliheksanoatin 20-%:sta n-Butanoliliuosta (10 ml). Sen jälkeen etyylietteriä (500 ml) lisättiin siihen. Saostuneet kiteet kerättiin talteen ja liuotettiin veteen (300 ml). Vesiliuos tehtiin happameksi laimealla kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja kuivatettiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-for-

myyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliiniä (3,4 g).

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

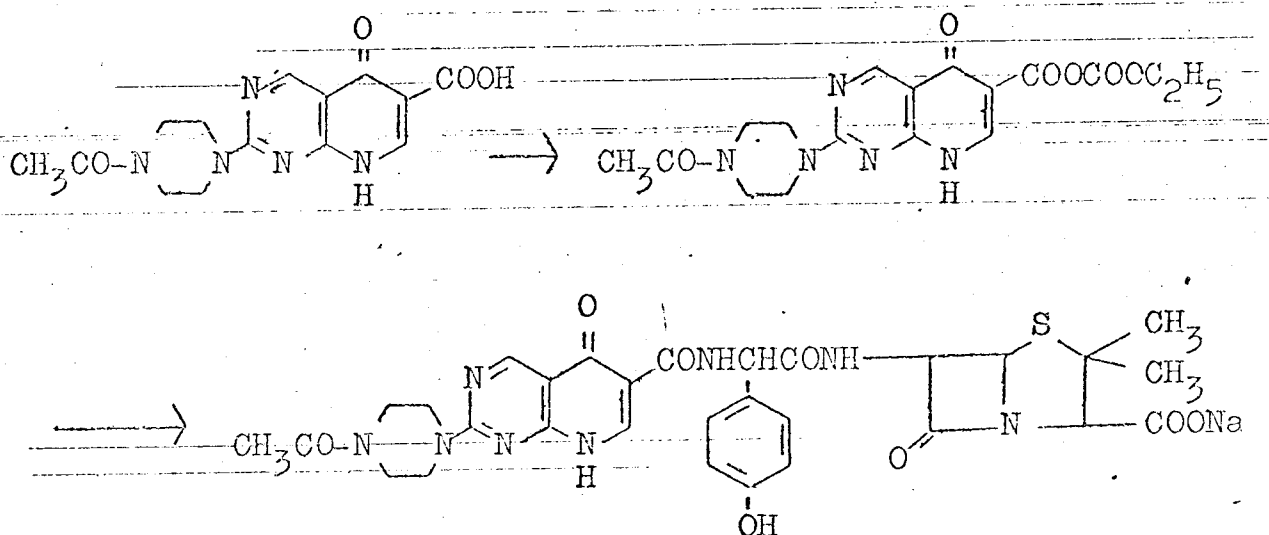
NMR (DMSO- d_6 , δ):

8.10 (1H, s, -N  N-CHO), 4.19 (1H, s, $\overset{\text{H}}{\underset{|}{>\text{C}}}\text{-COO-}$),

5.77 (1H, d, J=8Hz, $\text{-}\overset{\text{H}}{\underset{\text{O-}}{\text{N}}}\text{-}\overset{\text{H}}{\underset{\text{O-}}{\text{C}}}\text{-CO}$), 9.12 (1H, s, )

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{29}H_{30}N_8O_8 \cdot 3H_2O$: C, 49,43; H, 5,15; N, 15,90; S, 4,55. Kokeellisesti: C, 49,64; H, 4,91; N, 15,86; S, 4,72.

Esimerkki 10



Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylilihappoa (9,31 g) ja trietyyliamiinia (4,98 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (180 ml), sekoitettiin hyvin huoneenlämpötilassa tunnin ajan. Suspensioon lisättiin tipoittain jäähdyttään 3-5°C:seen etyyliklooriformaattia (3,42 ml) ja seosta sekoitettiin 3-8°C:ssa tunnin ajan. Reaktioseokseen lisättiin liuos, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyyliipenisilliiniä (15 g) ja trietyyliamiinia (7,5 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (120 ml) ja saatua seosta sekoitettiin kaksi tuntia. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja

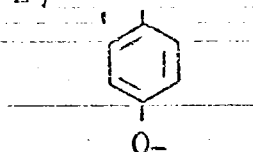
suodokseen lisättiin peräkkäin natrium-2-etyyliheksanoaatin 20-%:sta n-butanoliliuosta (27 ml) ja asetonia (1 000 ml). Saatu sakka kerättiin talteen suodattamalla ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla ja sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin dimetyyliformamidiin (250 ml). Kun dimetyyliformamidiliuosta oli käsitelty aktiivihiehellä, natrium-2-etyyliheksanoaatin 20-%:sta n-butanoliliuosta (27 ml) ja asetonia (1 000 ml) lisättiin peräkkäin liuokseen. Sakka kerättiin talteen ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Saostuneet kiteet kerättiin talteen, pestiin vedellä, liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen ja liuoksen pH säädettiin arvoon 6,5. Saatu liuos suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsoylipenisilliinin natriumsuolaa (8,5 g).

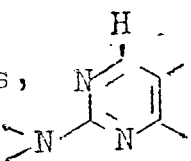
IR (KBr): $\nu_{\text{C=O}}$ 1760 cm^{-1}

NMR (DMSO- d_6 , δ):

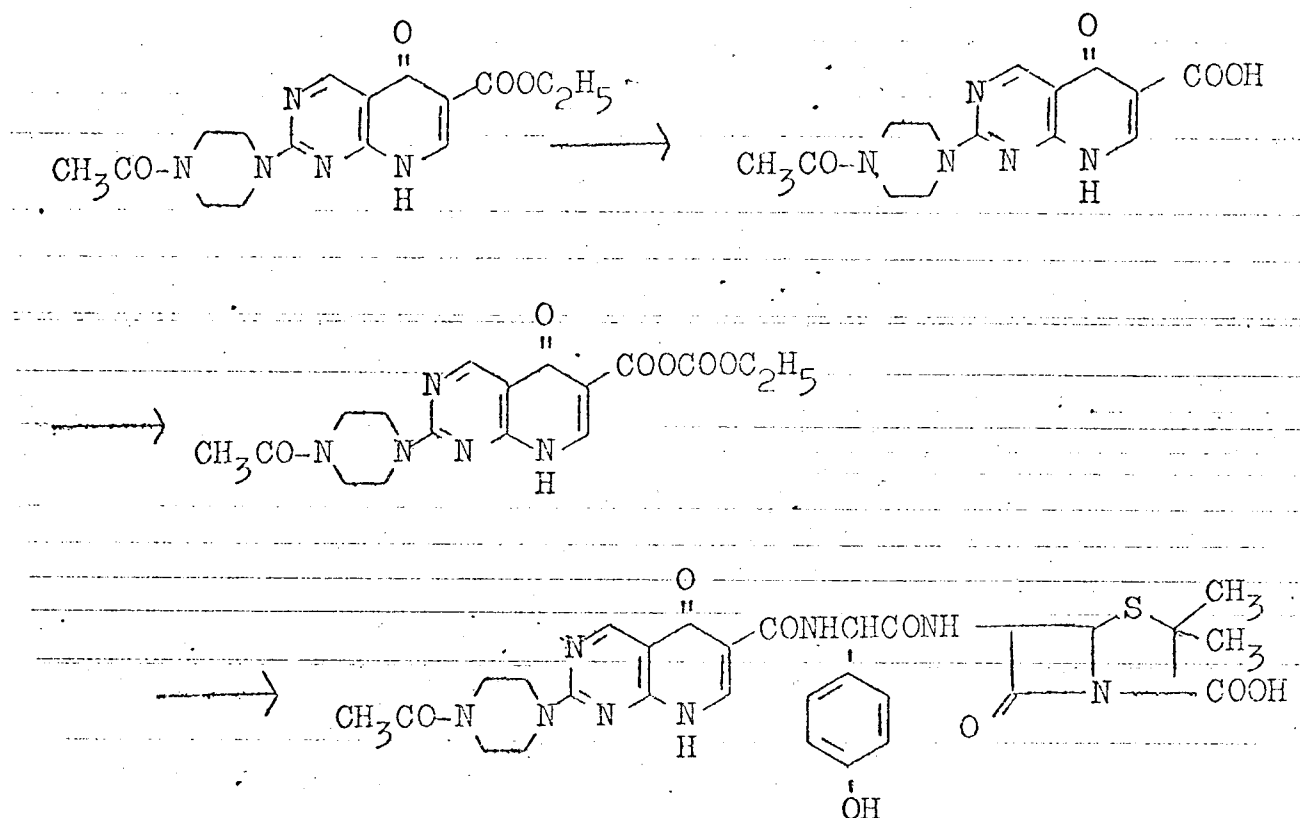
2.05 (3H, s, CH_3CON  N-), 3.95 (1H, s, >C-COO-),

5.79 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, N-CH-CO-),



9.12 (1H, s, )

Analyysi: Laskemalla kaavasta $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_8\text{SNa}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 47,49; H, 5,18; N, 14,77; S, 4,23. Kokeellisesti: C, 47,59; H, 4,95; N, 14,56; S, 4,02.

Esimerkki 11

Suspensiota, jossa oli etyyli-5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydro-4H-pyrimido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksyliihappoa (20 g) 4-%:sen kloorivetyhapon (60 ml) ja etanolin (20 ml) seoksessa, refluksoitettiin 120°C:ssa 1,5 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja sitten kuumalla vedellä ja liuotettiin 10-%:seen natriumhydroksidiliuokseen. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodostehtiin happameksi laimealla kloorivetyhapolla. Saatu sakka kerättiin talteen ja kiteytettiin uudelleen dimetyylisulfoksidista, jolloin saatiin 5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydro-4H-pyrimido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksyliihappoa (10 g). Sp. 298-300°C.

Suspensiota, jossa oli 5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydro-4H-pyrimido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksyliihappoa (1,57 g) ja trietyyliamiinia (0,73 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (20 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Reaktioseokseen lisättiin etyyliklooriformaattia (0,5 ml) -5 - -10°C:ssa ja seosta sekoitettiin tunnin ajan.

Samalla suspensiota, jossa oli D-α-amino-p-hydroksibentsoylipenisilliiniä (2,10 g), trietyyliamiinia (1,05 ml) ja vedetöntä magnesiumsulfaattia (1,0 g) kuivatussa dimetyyliformamidissa (20 ml), sekoitettiin

huoneenlämpötilassa 30 minuuttia ja liukenematon materiaali suodatettiin pois. Suodos lisättiin edellä olevaan suspensioon $-5 - -10^{\circ}\text{C}$:ssa ja seosta sekoitettiin vielä kaksi tuntia. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin natrium-2-etyyliheksanoaatin 20-%:sta liuosta n-butanolissa (7,5 ml) ja sitten etyylietetteriä (200 ml) lisättiin siihen. Saostuneet kiteet kerättiin talteen ja liuotettiin natriumbikarbonaattiliuokseen. Vesiliuos tehtiin happameksi laimealla kloorivetyhapolla ja sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli-5-okso-2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliiniä (1,35 g).

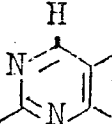
IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

NMR (DMSO- d_6 , δ):

2.06 (3H, s, CH_3CON  N-), 4.20 (1H, s, $>\text{CH}-\text{COO}-$),

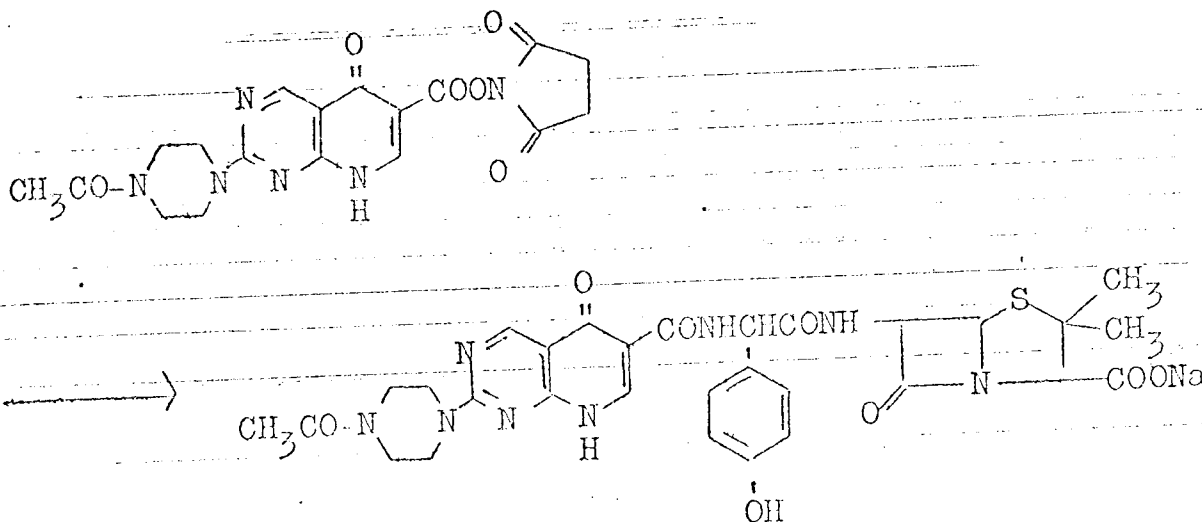
5.78 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, $>\text{N}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{O}^-}{\text{C}}}-\text{COO}-$),



9.12 (1H, s, $>\text{N}$ )

Analyysi: Laskemalla kaavasta $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 48,91; H, 5,47; N, 15,21; S, 4,35. Kokeellisesti: C, 48,81; H, 4,99; N, 14,78; S, 4,19.

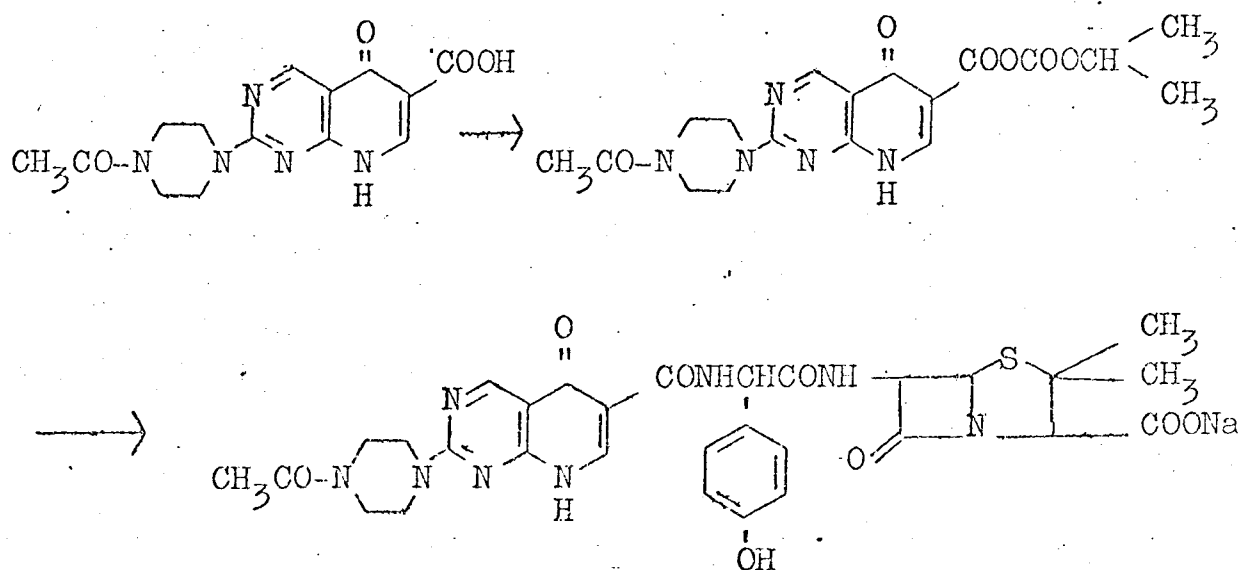
Esimerkki 12



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 1 kuvattiin, saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa D- α -amino-p-hydroksibentsyyliipenisilliinistä ja N-(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboxyylioksi)sukkinimidiä.

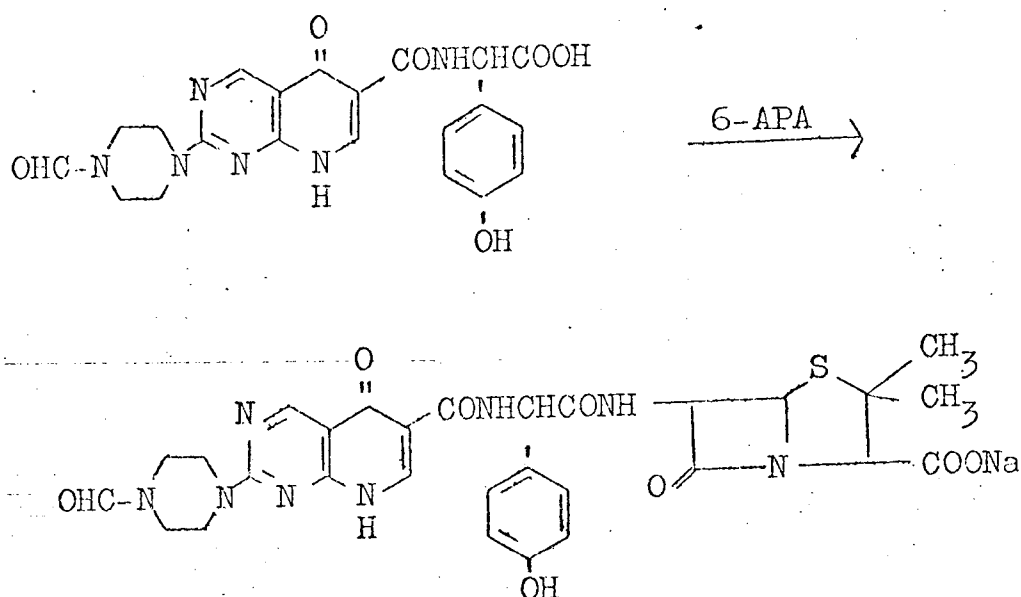
Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 10 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 13



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 5 kuvattiin, saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyyliipenisilliinin natriumsuolaa 5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-2,3-dihydropyrimidiini-6-karboxyylihaposta ja isopropyyliklooriformaatista.

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 10 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

Esimerkki 14

Suspensiota, jossa oli 6-aminopenisillaanihappoa (0,43 g) ja N,0-bis(trimetyylisilyyli)asetamidia (0,5 ml) kuivatussa dimetyyliformamidissa (10 ml), sekoitettiin huoneenlämpötilassa puoli tuntia. Saatuun liuokseen lisättiin D- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyylitikkahappoa (0,9 g) ja seos jäädytettiin jäähäuteella. Seokseen lisättiin disykloheksyylikarbodi-imidiä (0,6 g). Reaktioseosta pidettiin 0-5°C:ssa tunnin ajan ja annettiin sitten seistä huoneenlämpötilassa kolme tuntia. Sakka suodatettiin pois ja suodokseen lisättiin jäävettä (50 ml). Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen ja liuotettiin 3-%:seen natriumbikarbonaattiliuokseen. Liukenematon materiaali suodatettiin pois ja suodos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla samalla jäähdyttäen. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 6,5, suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- ja L- α -(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)-pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuolaa.

$$[\alpha]_D^{25} = +130^{\circ} \quad (C=1, H_2O),$$

$$IR (KBr): \nu \text{ C=O } 1760 \text{ cm}^{-1}$$

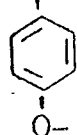
$$NMR (DMSO-d_6, \delta):$$

3.99 (s, -CH-COO-, D-form), 4.00 (s, -CH-COO-, L-muoto)

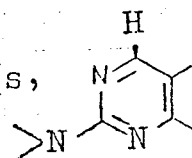
5.81 (d, J=8Hz, -N-CH-CO; D-muoto)



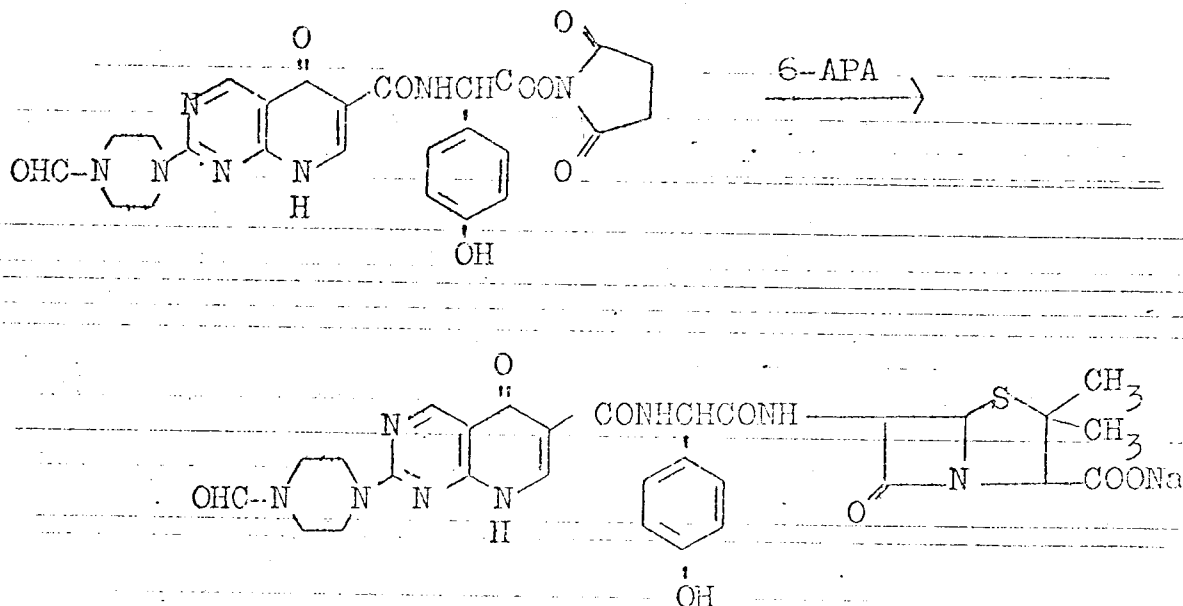
5.74 (d, J=8Hz, -N-CH-CO-, Lmuoto)



8.11 (s, -N-CHO, D- and L- muoto)

9.12 (s, , D- and L- muoto)

Esimerkki 15



Seokseen, jossa oli 6-aminopenisillaanihappoa (0,65 g) ja trime-
tyylisilyylikloridia (0,76 ml) kuivatussa dikloorimetaanissa (20 ml), li-
sättiin trietyyliamiinia (0,83 ml) 0-5°C:ssa ja seosta sekoitettiin 0-5°
C:ssa puoli tuntia. Seokseen lisättiin N-(D-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-

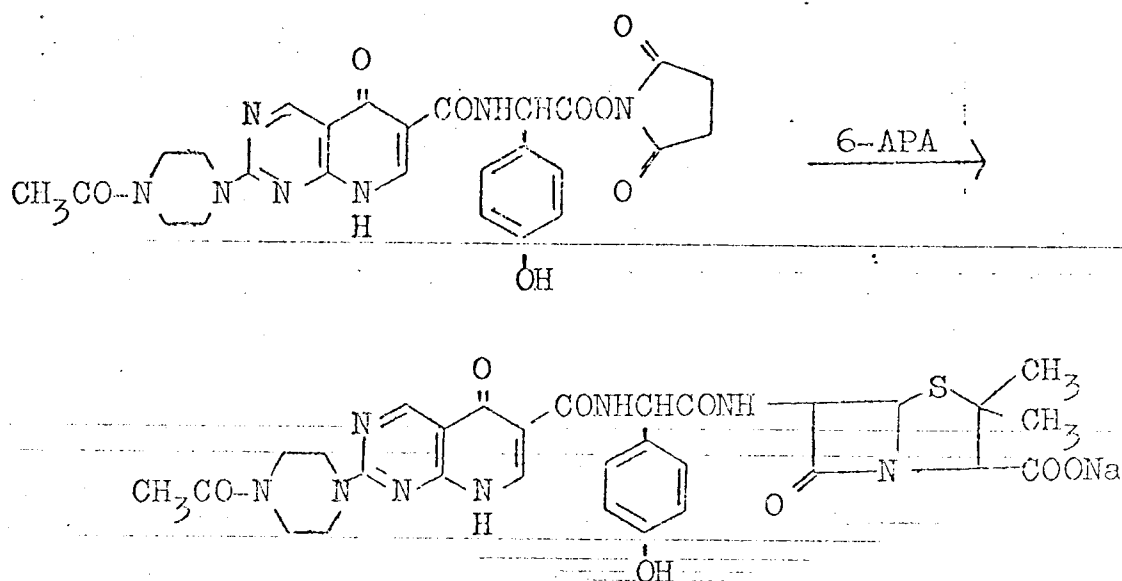
piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyyliasetoksi)sukkinimidiä (1,1 g) ja trietyyliamiinia (0,3 ml).

Seosta sekoitettiin 0-10°C:ssa tunnin ajan ja annettiin sitten seistä yli yön huoneenlämpötilassa. Reaktioseos uutettiin 3-%:sella natriumbikarbonaattiliuoksella ja uute säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla.

Sakka kerättiin talteen ja liuotettiin pieneen määrään dimetyyli-formamidia. Natrium-2-etyyliheksanoaatin 30-%:sta liuosta (1 ml) ja sen jälkeen asetonia (50 ml) lisättiin liuokseen. Sakka kerättiin talteen ja liuotettiin jääveteen. Vesiliuos säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen, pestiin vedellä ja liuotettiin 2-%:seen natriumhydroksidiliuokseen. Liuos säädettiin pH-arvoon 6,5, suodatettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin D- ja L-(5,8-dihydro-2-(4-formyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuolaa.

Tämä yhdiste identifioitiin esimerkin 14 yhdisteen kanssa vertaamalla IR- ja NMR-spektrejä.

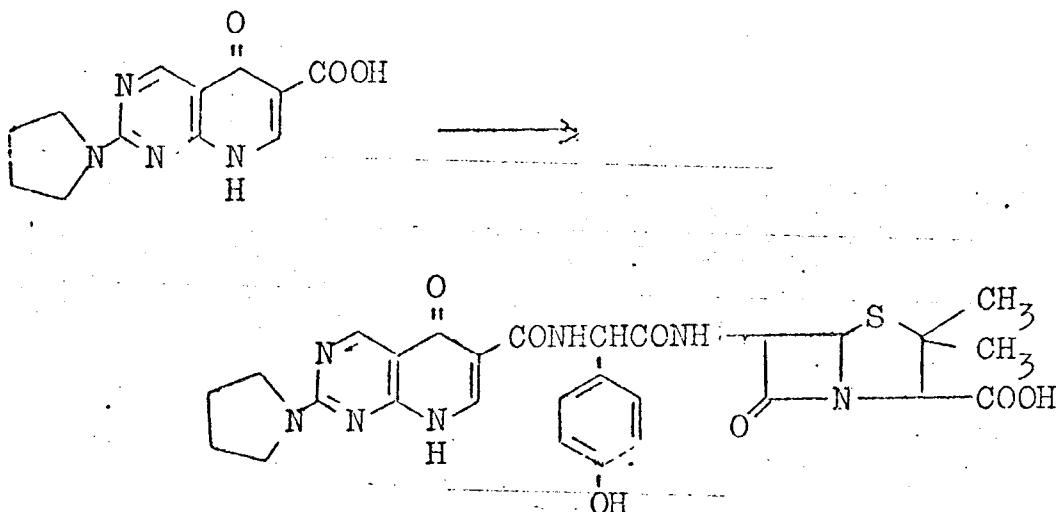
Esimerkki 16



Samalla menettelyllä kuin esimerkissä 15 kuvattiin, saatiin D- ja L- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliinin natriumsuolaa 6-aminopenisillaanihaposta ja N-(D- α -(5,8-dihydro-2-(4-asetyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksifenyyliasetoksi)sukkinimidiästä.

Seuraavat vertailuesimerkit 1 ja 2 esittävät keksinnön suojaapiirin ulkopuolella olevien yhdisteiden valmistusta, jota ei vielä ole julkaistu. Näitä yhdisteitä käytetään keksinnön mukaisten uusien penisilliiniyhdisteiden farmakologisten vaikutusten arvioimiseen.

Vertailuesimerkki 1

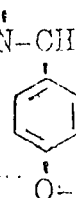
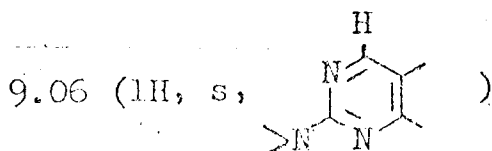


Suspensioon, jossa oli 5,8-dihydro-2-pyrrolidiino-5-oksopyrido-(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksylihappoa (1,29 g) ja trietyyliamiinia (0,73 ml) kuivatun heksametyylifosforiamidin (25 ml) ja kuivatun dikloorimetaanin (5 ml) seoksessa, lisättiin etyyliklooriformaattia (0,5 ml) -8 - -10°C:ssa ja seosta sekoitettiin tunnin ajan -8 - 0°C:ssa. Seokseen lisättiin sitten 0-10°C:ssa liuos, jossa oli D- α -amino-p-hydroksibentsyylipenisilliiniä (2,10 g) ja trietyyliamiinia (1,0 ml) heksametyylifosforiamidin (20 ml) ja dikloorimetaanin (10 ml) seoksessa, ja seosta sekoitettiin tunnin ajan. Sen jälkeen, kun seokseen oli lisätty dikloorimeetaania (40 ml) ja jäävettä, se säädettiin pH-arvoon 2 10-%:sella kloorivetyhapolla. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin vedellä ja uutettiin kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella. Uute säädettiin pH-arvoon 1,5 10-%:sella kloorivetyhapolla. Sakka kerättiin talteen suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin D- α -(5,8-dihydro-2-pyrrolidiino-5-oksopyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliiniä (1,6 g).

IR (KBr): ν C=O 1770 cm^{-1}

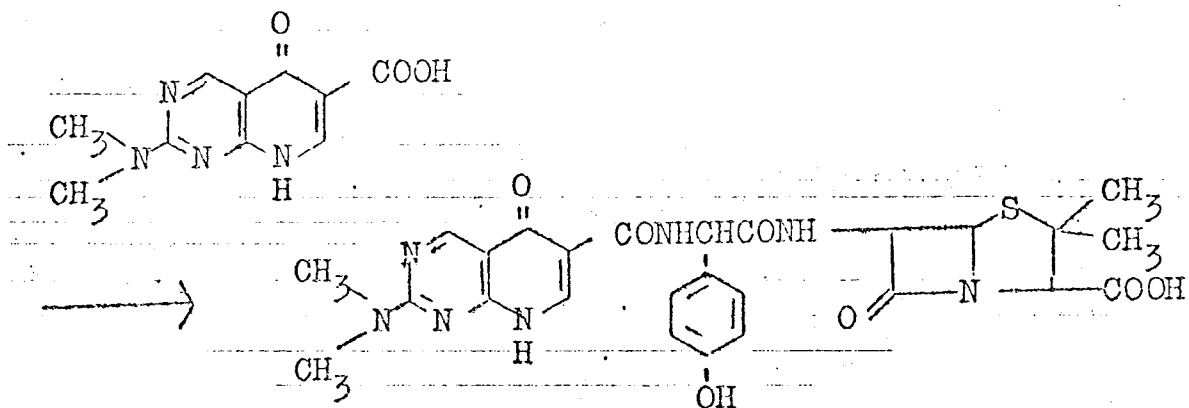
NMR (DMSO- d_6 , δ):

4.20 (1H, s, >CH-COO-), 5.78 (1H, d, J=8Hz, -N-CH-CO-)



Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{28}H_{29}N_7O_7S \cdot 3H_2O$: C, 50,83; H, 5,33; N, 14,82; S, 4,85. Kokeellisesti: C, 51,07; H, 4,87; N, 15,13; S, 4,79.

Vertailuesimerkki 2



Samalla menettelyllä kuin vertailuesimerkissä 1 esitettiin, saatiin D-α-(5,8-dihydro-2-dimetyyliamino-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksamido)-p-hydroksibentsyylipenisilliiniä (0,56 g) 5,8-dihydro-2-dimetyyliamino-5-okso-pyrido(2,3-d)pyrimidiini-6-karboksyylihaposta (1,18 g) ja D-α-amino-p-hydroksibentsyylipenisilliinistä (1,58 g).

IR (KBr): $\nu_{C=O}$ 1770 cm^{-1}

NMR (DMSO- d_6 , δ):

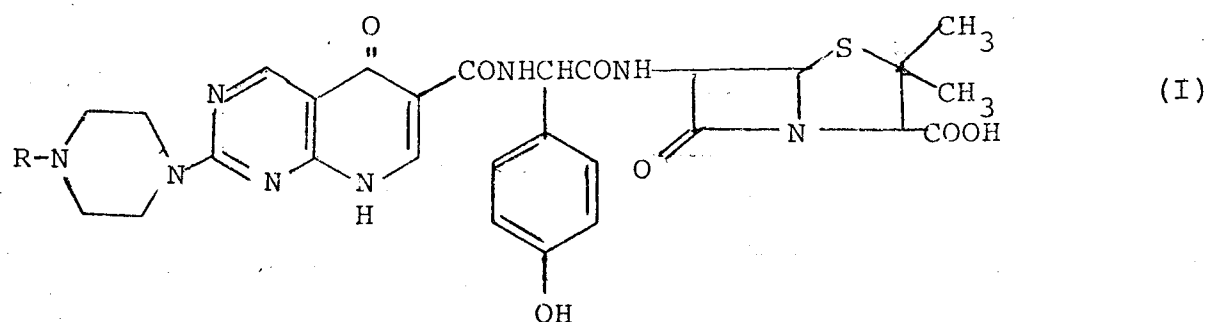
3.20 (6H, s, $\begin{array}{c} CH_3 \\ \diagup \\ N- \\ \diagdown \\ CH_3 \end{array}$), 4.20 (1H, s, $>CH-COO-$),

5.78 (1H, d, $J=8Hz$, $-N-CH-CO-$), 9.08 (1H, s, $\begin{array}{c} H \\ | \\ N \\ \diagup \quad \diagdown \\ N \end{array}$)

Analyysi: Laskemalla kaavasta $C_{26}H_{27}N_7O_7S \cdot 3H_2O$: C, 49,12; H, 5,23; N, 15,42; S, 5,04. Kokeellisesti: C, 48,86; H, 4,82; N, 15,77; S, 5,14.

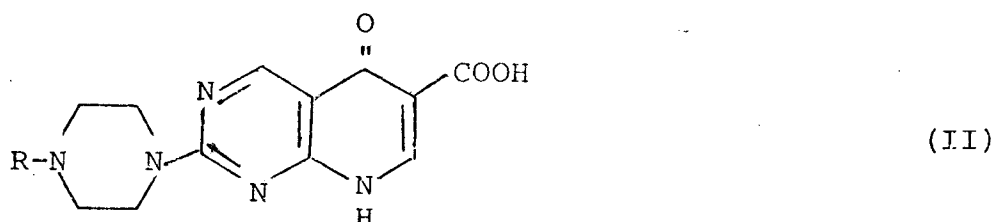
Patenttivaatimus:

Menetelmä bakteereja tappavan, kaavan I mukaisen α -5,8-di-hydro-2-(4-asyyli-1-piperatsinyyli)-5-okso-pyrido[2,3-d]pyrimidiini-6-karboksiamido-7-p-hydroksibentsyylipenisilliinin ja sen myrkyttömän farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi,

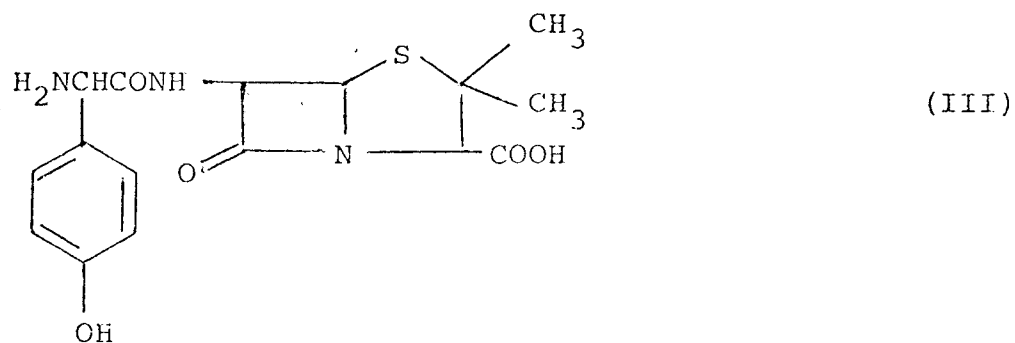


jossa kaavassa R on formyylili- tai asetyyli-ryhmä, t u n n e t t u
siitä, että

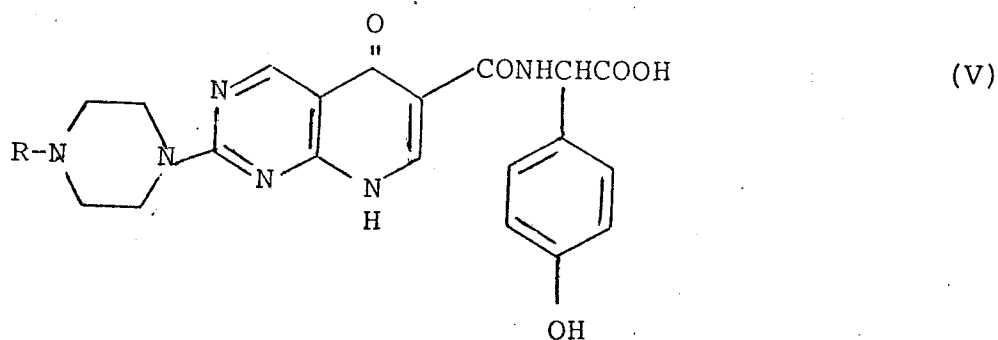
A) annetaan kaavan II mukaisen yhdisteen



jossa R on sama kuin yllä määriteltiin, tai sen suolan tai reaktio-
kykyisen karboksyyli johdannaisen reagoida kaavan III mukaisen 6- α -
amino-p-hydroksibentsyyllipenisilliinin kanssa



tai sen suolan tai johdannaisen kanssa, tai
B) annetaan kaavan V mukaisen yhdisteen



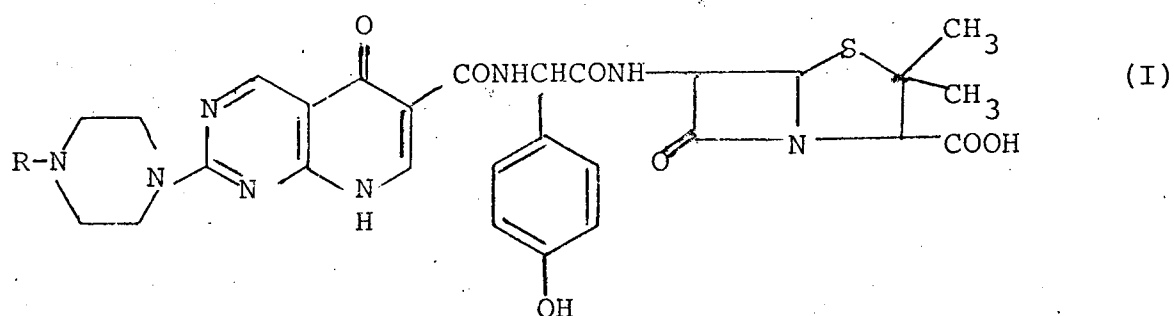
jossa R on sama kuin yllä määriteltiin tai sen suolan tai reaktio-
kykyisen karboksyylijohdannaisen reagoida 6-aminopenisillaanin hapon
tai sen suolan tai johdannaisen kanssa,

ja tarvittaessa reaktiotuote hydrolysoidaan tai katalyytti-
sesti hydrataan, ja

haluttaessa reaktiotuote muutetaan myrkyttömäksi, farmaseut-
tisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

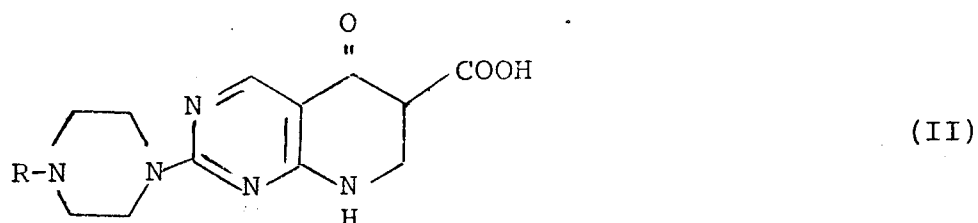
Patentkrav:

Förfarande för framställning av ett antibakteriellt α -5,8-dihydro-2-(4-acyl-1-piperazinyl)-5-oxopyrido[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamido-p-hydroxibensylpenicillin med formeln I

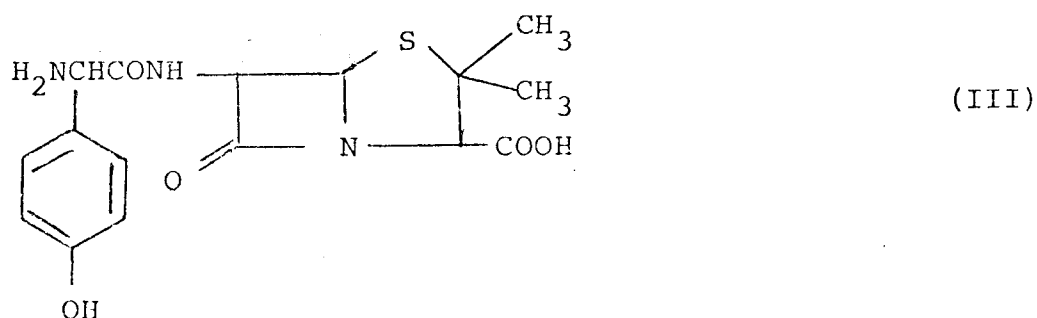


vari R är en formyl- eller acetylgrupp, eller ett giftfritt, farmaceutiskt godtagbart salt därav, k ä n n e t e c k n a t därav, att man

A) omsätter en förening med formeln II

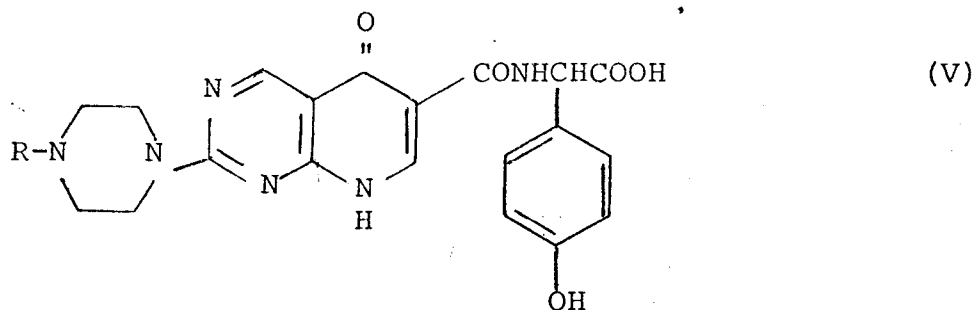


vari R är som ovan definierats, eller dess salt eller dess reaktiva derivat vid karboxylgruppen, med ett 6- α -amino-p-hydroxibensylpenicillin med formeln III



eller dess salt eller derivat, eller

B) omsätter en förening med formeln V



vari R är som ovan definierats, eller dess salt eller dess reaktiva derivat vid karboxylgruppen, med en 6-aminopenicillansyra, eller dess salt eller derivat, och

ifall nödvändigt hydrolyserar eller katalytiskt hydrogenolyserar reaktionsprodukten, och

ifall önskvärt, omvandlar reaktionsprodukten till ett giftfritt, farmaceutiskt godtagbart salt.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

Suomi - Finland P 600 18 / (CO7D 499/68)

Iso-Britannia - Storbritannien _____

Norja - Norge _____

Ranska - Frankrike _____

Ruotsi - Sverige _____

Saksa - BRD - Tyskland H 2 461 526 (CO7D 499/68)

Sveitsi - Schweiz _____

Tanska - Danmark _____

USA _____

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

3.5.1983 Laila-L. Lyytinen

Allekirjoitus