



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235546

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³

C 07 D 295/10
(C 07 D 295/10,
295/14, 221/00
//A 61 K 31/495

(22) Přihlášeno 24 08 79
(21) (PV 5365-83)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 25 08 78
/104235/ a od 20 12 78 /157939/ Japonsko

(40) Zveřejněno 31 08 84

(45) Vydáno 15 11 86

(72) Autor vynálezu

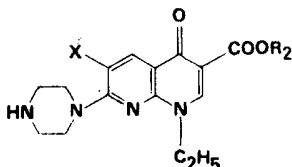
MATSUMOTO JUNICHI, TAKATSUKI, TAKASE YOSHIYUKI, AMAGASAKI,
NISHIMURA YOSHIRO, NEYAGAWA (Japonsko)

(73) Majitel patentu

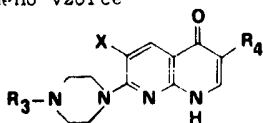
LABORATOIRE ROGER BELLON, NEUILLY SUR SEINE (Francie)

(54) Způsob přípravy derivátů 1-ethyl-6-halogen-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-
-1,8-nafthyridinu

Připravují se deriváty 1-ethyl-6-halo-
gen-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-
-1,8-nafthyridinu obecného vzorce



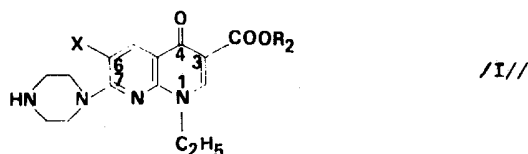
nebo jejich netoxické, farmaceuticky vhodné
soli, tak, že se nechá reagovat sloučenina
na obecného vzorce



s ethylačním činidlem a pak se reakční
produkt, ve kterém R_4 znamená skupinu R_4
hydrolyzuje nebo se odstraňuje chránicí
skupina z produktu, ve kterém R_3 znamená
chránicí skupinu a popřípadě se reakční
produkt převádí na netoxickou, farmaceu-
ticky vhodnou sůl.

Připravované sloučeniny jsou účinnými
antibakteriálními prostředky.

Vynález se týká způsobu výroby nových naftyridinových derivátů s vysokou antibakteriální účinností. Podle tohoto vynálezu se vyrábějí sloučeniny obecného vzorce I



kde znamená

X atom fluoru nebo atom chloru a

R₂ atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku

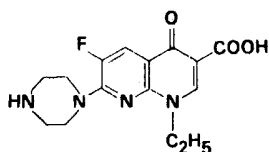
a jejich netoxické farmaceuticky vhodné soli. Soli naftyridinových sloučenin obecného vzorce I se vyrábějí z naftyridinových sloučenin obecného vzorce I a kyselin nebo zásad. Kyselinami mohou být různé anorganické a organické kyseliny. Příklady vhodných kyselin jsou kyselina chlorovodíková, kyselina octová, kyselina mléčná, kyselina jantarová, laktobionová kyselina a methansulfonová kyselina. Zásadami mohou být jakékoliv anorganické nebo organické zásady, které jsou schopné vytvářet soli s karboxylovou skupinou sloučeniny obecného vzorce I. Příklady vhodných zásad jsou hydroxidy kovů, jako je hydroxid sodný nebo draselný, a uhličitany kovů, jako je uhličitán sodný nebo draselný.

Zvláště výhodnými solemi sloučenin obecného vzorce I jsou hydrochloridy nebo methansulfonáty.

Za určitých podmínek mohou naftyridinové soli obecného vzorce I vytvářet hydráty. Rovněž tyto hydráty jsou zahrnuty pod pojem naftyridinové sloučeniny obecného vzorce I podle tohoto vynálezu.

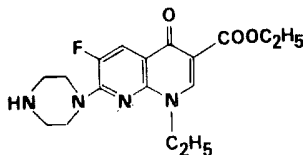
Typické příklady nových sloučenin podle tohoto vynálezu s jejich strukturními vzorci jsou udány níže:

1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-naftyridin-3-karboxylová kyselina /sloučenina I/ vzorce



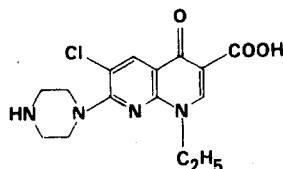
a její netoxické farmaceuticky vhodné soli.

Ethyl-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-naftyridin-3-karboxylát /ethylester sloučeniny I/ vzorce



a jeho netoxické farmaceuticky vhodné soli a

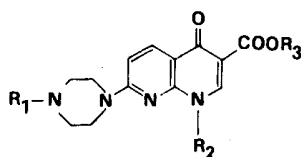
6-chlor-1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-nafthyridin-3-karboxylová kyselina /sloučenina 2/ vzorce



a její netoxické farmaceuticky vhodné soli.

Z nafthyridinových sloučenin podle tohoto vynálezu je sloučenina 1 a její soli nejúčinnějším antibakteriálním činidlem. Jak je zde dále v tabulkách I až VI níže uvedeno, sloučenina 1 a její soli vykazují velmi vysoké antibakteriální účinnosti v testech in vitro i testech in vivo na grampozitivní a gramnegativní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa*. Jelikož jejich toxicita je extrémně nízká, jsou užitečné pro léčení nejen infekcí močového traktu, které jsou způsobovány různými grampozitivními a gramnegativními bakteriemi, ale také při léčení systémových infekcí způsobených těmito bakteriemi. Nižší alkylester sloučeniny 1 má dosti vysokou antibakteriální účinnost in vivo. Tento ester je užitečný nejen jako antibakteriální činidlo, ale také jako meziprodukt pro přípravu sloučeniny 1.

US patent č. 4 017 622 popisuje piperazinové deriváty obecného vzorce



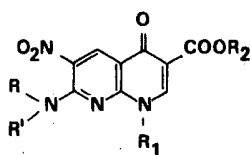
a jejich soli, které jsou strukturálně podobné sloučeninám podle vynálezu. Ve shora uvedeném vzorci

- R_1 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, benzylovou skupinu nebo acetylovou skupinu,
 R_2 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, benzylovou skupinu nebo vinylovou skupinu a
 R_3 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku.

Jak je jasně vidět ze shora uvedeného vzorce, 1,8-nafthyridinové deriváty popsané v US patentu č. 4 017 622 nemají v poloze 6 nafthyridinového jádra žádný substituent.

Výzkumy autorů tohoto vynálezu ukázaly, jak je udáno níže v tabulce I a II, že sloučeniny podle tohoto vynálezu mají mnohem lepší antibakteriální účinnost na gramnegativní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa* a také proti grampozitivním bakteriím než mají 1,8-nafthyridinové deriváty objevené ve shora uvedeném US patentu.

Japonský patentový vykládací spis č. 83 590/77/ jehož souhrn je popsán v Central Patent Index publikovaném Derwent Publication Ltd., pod č. 60 389Y/34/ popisuje 6-nitro-1,8-nafthyridinové deriváty obecného vzorce

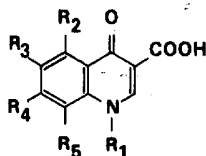


v němž

-N/R/R' je členem skupiny, která sestává ze skupiny aminové, substituované anilinové, alkylaminové, cykloalkylaminové, dialkylaminoalkylaminové, hydroxyalkylaminové, dialkylaminové, alkylalylaminové, alkylcykloalkylaminové, dihydroxyalkylaminové, pyrrolidinové, piperidinové, morfolinové a piperazinové, přičemž R_1 a R_2 znamenají nižší alkylovou skupinu.

Japonská publikace však pouze uvádí, že tyto sloučeniny mají antitrichomonální účinnost. Netýká se tedy antibakteriálních činidel, jichž se týká tento vynález.

V souhrnu v Proceedings of the 98th Annual Meeting of Pharmaceutical Society of Japan, str. 233 /publikováno 10. března 1978/ se uvádí, že sloučeniny obecného vzorce



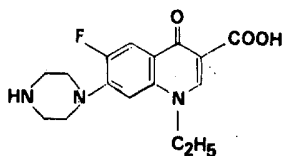
v němž

- R_1 znamená ethylovou skupinu nebo jí odpovídající skupinu,
- R_2 znamená atom vodíku,
- R_3 a R_5 znamenají skupiny typu elektron-akceptoru a
- R_4 znamená skupinu typu elektron-donoru,

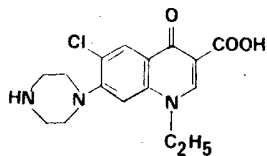
mají silnou účinnost.

V této publikaci se konstatuje, že u sloučenin shora uvedeného obecného vzorce, v němž R_3 a R_5 znamenají atom chloru nebo fluoru a R_4 znamená piperazinovou nebo substituovanou piperazinovou skupinu, byl studován vzájemný vztah mezi jejich strukturami a účinnostmi a že u sloučenin obecného vzorce, ve kterém R_1 znamená ethylovou skupinu, R_2 znamená atom vodíku, R_3 a R_5 znamenají atom chloru nebo fluoru a R_4 znamená piperazinovou skupinu, bylo nalezeno, že vykazují silnější antibakteriální účinnost než kysalina nelidixová.

US patent č. 4 146 719, který odpovídá belgickému patentu č. 863 429, popisuje chinolinové deriváty vzorce /o této sloučenině se mluví jako o sloučenině D/

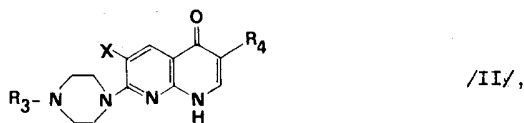


Japonský patentový vykládací spis č. 65 887/78/ jehož souhrn je popsán v Der. 52 436 A/29/ popisuje chinolinový derivát vzorce /o této sloučenině se dále mluví jako o sloučenině C/



Výzkumy autorů tohoto vynálezu ukázaly, jak udávají dále tabulky II a III, že sloučeniny 1 a 2 podle tohoto vynálezu mají mnohem lepší antibakteriální účinnosti proti gramnegativním bakteriím včetně *Pseudomonas aeruginosa* než chinolinové deriváty, jako jsou sloučeniny C a D.

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich soli se vyrábějí tak, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



kde

X má význam uvedený u obecného vzorce I a kde znamená
 R_3 atom vodíku nebo chránicí skupinu,
 R_4 karboxylovou skupinu, skupinu obecného vzorce $-COOR$,

nebo skupinu R'_4 , přičemž R'_4 znamená kyanoskupinu, karbamoylovou skupinu, amidinoskupinu nebo skupinu obecného vzorce



R znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, s ethylačním činidlem a pak se hydrolyzuje reakční produkt v případě, kdy R_4 znamená skupinu R'_4 nebo se chránicí skupina z reakčního produktu odštěpí v případě, když R_3 znamená chránicí skupinu a popřípadě se reakční produkt převádí na svoji netoxickou, farmaceuticky vhodnou sůl.

Může se použít jakéhokoli ethylačního činidla. Jako zvláštní příklady ethylačních činidel se uvádějí ethylhalogenidy, jako je například ethyljodid, a ethylestery, jako je například diethylsulfát, ethyl-p-toluensulfonát nebo triethylfosfát.

Tato ethylační reakce se provádí obvykle tak, že se sloučenina obecného vzorce II zpracuje se stechiometrickým množstvím ethylačního činidla v inertním rozpouštědle za zvýšené teploty, například při 25 až 150 °C. Jestliže R_3 znamená chránicí skupinu, může být ethylační činidlo použito v nadbytku.

Příklady rozpouštědel jsou ethanol, dioxan, methylcellosolvé, dimethylformamid, dimethylsulfoxid a voda. Reakce se urychluje přidáním akceptoru kyselin, například báze, jako je uhličitán alkalického kovu, hydroxid alkalického kovu, alkoxid alkalického kovu, hydrid sodný, pyridin, triethylamin nebo benzyltrimethylamoniumhydroxid.

Výsledná sloučenina v poloze 3 se substituentem R_4 ve významu skupiny R'_4 , se dále hydrolyzuje. Výsledná sloučenina, ve které R_3 znamená skupinu chránicí se podrobuje reakci k odstranění chránicí skupiny, například solvolýze nebo hydrogenolýze.

Tím se připraví žádaná sloučenina. Hydrolyzační reakce skupiny R_4 se provádí uváděním do styku získané sloučeniny s vodou. Obecně se tato reakce k urychlení provádí v přítomnosti katalyzátoru, například kyseliny nebo zásady. Jakožto příklady kyselin se uvádějí anorganické kyseliny, jako kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová nebo fosforečná kyselina a organické kyseliny, jako kyselina octová, trifluoroctová, mravenčí a toluensulfonová kyselina. Jakožto příklady zásad se uvádějí hydroxidy alkalických kovů, jako hydroxid sodný a kovů alkalických zemin, jako hydroxid barnatý, uhličitany alkalických kovů, jako uhličitany sodný nebo draselný, a octan sodný. Hydrolyzační reakce se také může provádět přímo zahříváním vzniklé sloučeniny v přítomnosti shora uvedené kyseliny a pak přidáním vody. Rozpouštědlem je zpravidla voda, avšak v závislosti na vlastnostech vzniklé sloučeniny se může spolu s vodou používat organické rozpouštědlo, jako například ethanol, dioxan, ethylenglykoldimethylether, benzen nebo octová kyselina. Reakční teplota má být zpravidla 0 až 150 °C, s výhodou 30 až 100 °C.

V případě, kdy R_3 ve vzniklé sloučenině znamená chránicí skupinu, se taková chránicí skupina odstraňuje solvolýzou včetně hydrolýzy nebo například hydrogenolýzou.

Chránicí skupina symbolu R_3 je skupina, která se může odštěpit solvolýzou včetně hydrolýzy nebo hydrogenolýzy.

Jakožto zvláštní případy chránicí skupiny symbolu R_3 , které se může odstranit solvolýzou, se uvádějí acylové skupiny, jako jsou například skupina formylová, acetylová, trifluoracetylová, benzyloxykarbonylová, terc.butoxykarbonylová, p-methoxybenzyloxykarbonylová, vinyloxykarbonylová, ethoxykarbonylová a beta-/p-toluensulfonyl/ethoxykarbonylová skupina, arylsulfenyllové skupiny, jako je například o-nitrofenylsulfenyllová skupina, tri/nížší/alkylsilylové skupiny, jako je trimethylsilylová skupina, methylové skupiny substituované fenylovou skupinou, jako je tritylová skupina, tetrahydropyrenylové skupiny nebo difenylfosfinylové skupiny.

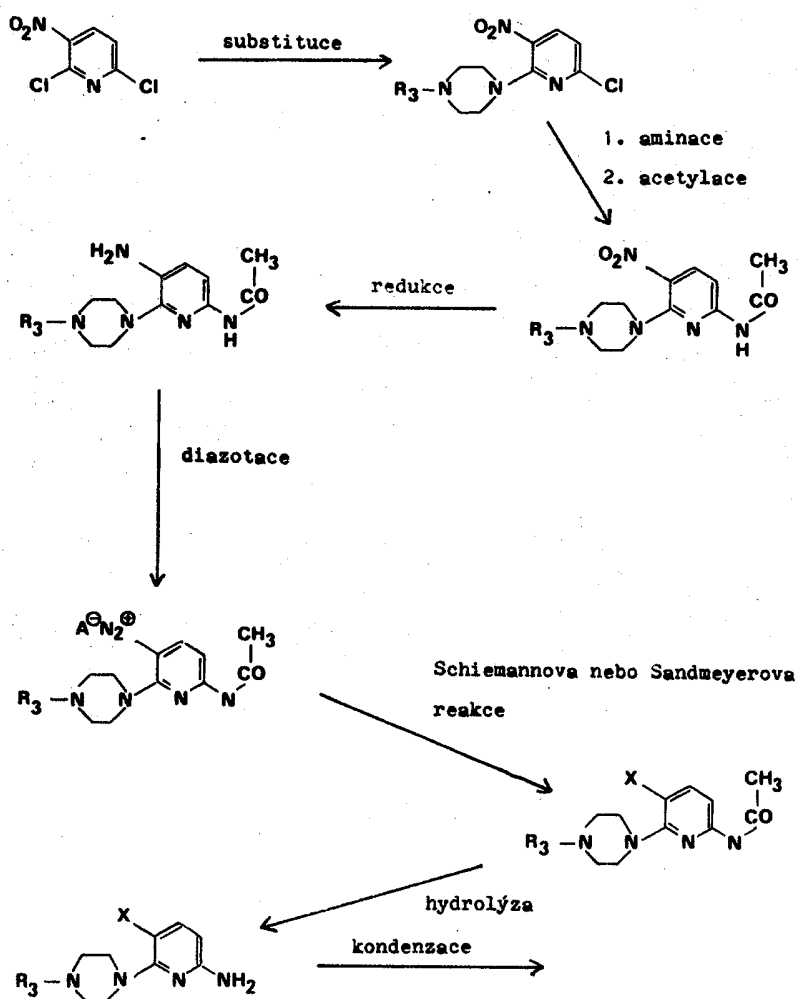
Specifickými příklady skupiny symbolu R_3 , které se mohou odstranit hydrogenolýzou, jsou arylsulfonylové skupiny, jako je p-toluensulfonylová skupina, methylové skupiny substituované fenylovou skupinou nebo benzyloxyskupinou, jako je benzylová skupina, tritylová skupina nebo benzyloxymethylová skupina, acylové skupiny, jako je benzyloxykarbonylová skupina, p-methoxybenzyloxykarbonylová skupina, beta, beta, beta-trichlor-ethoxykarbonylová skupina nebo beta-jodoethoxykarbonylová skupina.

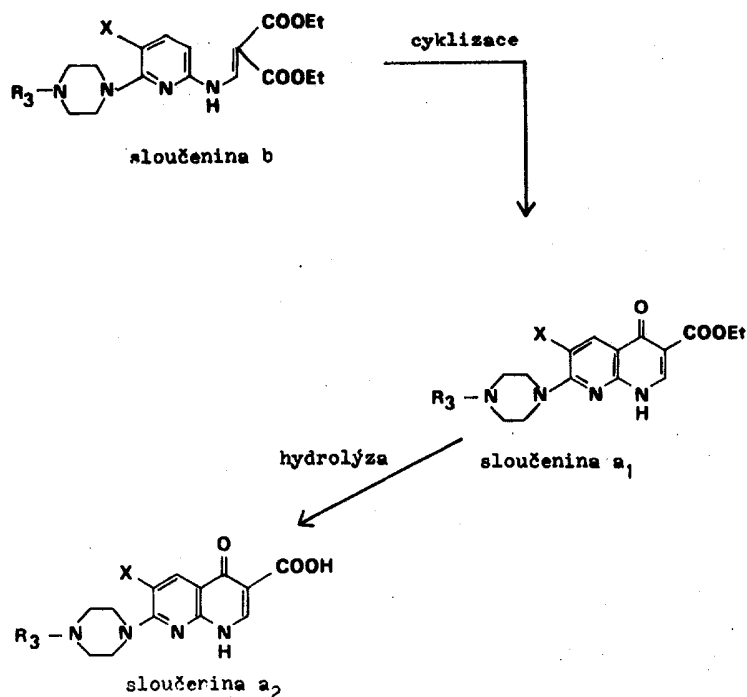
Jestliže symbol R_3 znamená solvolyticky odstranitelnou skupinu, provádí se odstranění takové chránicí skupiny solvolýzou vzniklé sloučeniny včetně hydrolýzy vzniklé sloučeniny. Tato solvolytická reakce zahrnující hydrolýzu se provádí uváděním do styku vzniklé sloučeniny s rozpouštědlem v přítomnosti nebo v nepřítomnosti katalyzátoru, jako je kyselina nebo zásada. Jakožto příklady anorganických kyselin se uvádějí kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová nebo fosforečná kyselina, jako příklady organických kyselin se uvádějí kyselina octová, trifluoroctová, mravenčí a toluensulfonová kyselina. Jako příklady zásad se uvádějí hydroxid alkalických kovů a kovů alkalických zemin, jako jsou hydroxid sodný a hydroxid barnatý, uhličitany alkalických kovů, jako jsou uhličitany sodný a draselný a octan sodný. Jako rozpouštědlo se příkladně používá voda, avšak v závislosti na vlastnostech vznikající sloučeniny se může použít rozpouštědel, jako je ethanol, dioxan, ethylenglykoldimethylether, benzen, octová kyselina nebo jejich směsí s vodou. Reakční teplota je zpravidla 0 až 150 °C, s výhodou 30 až 100 °C.

Jestliže je skupinou symbolu R_3 skupina odstranitelná redukcí, může se chránicí skupina odstraňovat hydrogenolýzou. Podmínky hydrogenolytické redukce se mají volit v závislosti na vlastnostech chránicí skupiny R_3 . Obecně se reakce provádí tímto způsobem:

Při hydrogenolytické redukci se vzniklé sloučenina zpracovává proudem v inertním rozpouštědle v přítomnosti katalyzátoru, jako je platina, paládium, Raneyův nikl nebo podobný kov. Katalytická hydrogenolýza se provádí při teplotě místnosti. Popřípadě se však může provádět při zvýšené teplotě až do 60 °C. Vhodnými rozpouštědly pro tuto reakci jsou ethylenglykol, dioxan, dimethylformamid, ethanol a kyselina octová. Jestliže symbol R_3 znamená benzylovou skupinu, tritylovou skupinu, benzyloxykarbonylovou skupinu nebo p-toluensulfonylovou skupinu, což je skupina odštěpitelná kovovým sodíkem v kapalném amoniaku, provádí se odštěpení při teplotě -50 až -20 °C. Hydrogenolýza se také může provádět reakcí vzniklé sloučeniny s kovem, jako například se zinkem v kyselině octové nebo v alkoholu, například v methanolu.

Výchozí sloučenina obecného vzorce II se může například připravit podle tohoto reakčního schématu:





kde R₃ a X mají shora uvedený význam, Et znamená ethylovou skupinu a A[⊖] halogen obsahující aniontovou skupinu.

Cyklizační reakce ve shora uvedeném reakčním sledu /to znamená převádění sloučeniny **b** na sloučeninu **a₁**/ se provádí tímto způsobem:

Tato reakce se provádí zahříváním sloučeniny obecného vzorce **b** přímo nebo ve vysokovroucím rozpouštědle, jako je například difenylether, difenyl, o-dichlorbenzen, difenyl-oxid, dibutylftalát nebo v jejich směsích. Vhodnou teplotou zahřívání je teplota 140 až 260 °C. Cyklizaci je také možno provádět za přítomnosti konvenčních cyklizačních činidel, jako je například kyselina polyfosforečná, nižší alkylfosfáty, koncentrovaná kyselina sírová, fosforylchlorid nebo oxid fosforečný. Jestliže se používá kyselina polyfosforečná, nižší alkylfosfáty nebo oxid fosforečný, provádí se reakce obvykle v rozpouštědle, jako je například benzen, dioxan nebo dimethylformamid. Jestliže se používá koncentrovaná kyselina sírová, reakce se provádí v rozpouštědle, jako je například anhydrid kyseliny octové nebo kyselina octová. Také cyklizační činidlo může sloužit jako rozpouštědlo, což závisí na jeho vlastnostech. Jestliže se používá cyklizační činidlo provádí se reakce při poměrně nízkých teplotách, například při teplotě 100 až 160 °C.

Sloučeniny obecného vzorce I, připravené způsobem podle vynálezu, se izolují a čistí obvyklými způsoby. Sloučeniny obecného vzorce I se vyrábějí ve volném stavu nebo ve formě solí v závislosti na použité výchozí látce a na reakčních podmínkách. Sloučeniny obecného vzorce I se mohou převádět na farmaceuticky vhodné soli zpracováním kyselinou nebo zásadou. Kyselinou mohou být různé organické nebo anorganické kyseliny, například kyselina chlorovodíková, kyselina octová, kyselina mléčná, kyselina jantarová, kyselina laktobionová, kyselina šťavelová a kyselina methansulfonová.

Nové 1,8-nafthyridinové deriváty podle vynálezu, jak bude dále osvětleno, mají vynikající antibakteriální účinnost a nízkou toxicitu. Tyto sloučeniny mohou být používány jako léčiva při léčení nebo při prevenci bakteriálních infekcí teplokrevných savců včetně člověka.

Dávkování sloučeniny obecného vzorce I, připravené způsobem podle vynálezu, nebo její soli při podávání lidem by se mělo upravit podle věku, tělesné hmotnosti a kondice pacienta, způsobu podávání, počtu podávání a podle podobných okolností. Pro dospělé je obvyklou dávkou dávka 0,1 až 7,0 g/den, s výhodou dávka 0,2 až 5,0 g/den.

Sloučeniny připravené způsobem podle vynálezu se mohou použít jako léčiva, například ve formě farmaceutických přípravků, které tyto látky obsahují ve směsi s organickými nebo anorganickými farmaceuticky vhodnými pevnými nebo kapalnými pomocnými látkami, které jsou vhodné pro orální nebo místní podávání.

Farmaceuticky vhodné pomocné látky jsou látky, které neresagují se sloučeninami obecného vzorce I. Příkladem je voda, želatina, laktóza, škrob, celulóza /s výhodou mikrokryсталická celulóza/, karboxymethylcelulóza, sorbit, stearat hořečnatý, mastek, rostlinné oleje, benzylalkohol, gummy, propylenglykol, polyalkylenglykoly, methylparaben /p-hydroxysalicytan methylnatý/ a jiná známá medicínální pomocná činidla. Farmaceutickými přípravky mohou být prášky, granule, tablety, masti, čípky, krémy, kapsle a podobné formy. Mohou být sterilovány a/nebo mohou obsahovat další činidla, jako jsou chránící, stabilizační nebo smáčecí činidla. Dále mohou obsahovat jiné terapeuticky cenné sloučeniny podle medicínálního účelu.

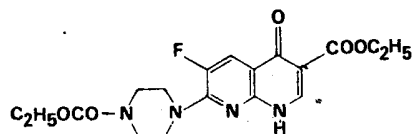
Způsob přípravy nových sloučenin podle vynálezu a jejich solí a jejich farmakologické účinnosti jsou objasněny v následujících příkladech. V odstavci „Příprava 1“ je objasněn způsob přípravy výchozí látky. Příklady 1 až 4 objasňují způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I a jejich solí podle vynálezu. Odstavec „Příprava 2“ popisuje způsob výroby sloučeniny, která je nová, nespádá však do rozsahu vynálezu.

Příklady A až G udávají farmakologické účinnosti sloučenin obecného vzorce I a jejich solí podle vynálezu ve srovnání se sloučeninami, které do rozsahu vynálezu nepatří a které se uvádějí jako sloučeniny kontrolní.

Všechny připravené sloučeniny byly identifikovány elementární analýzou, hmotovou spektroskopií, infračervenou spektroskopií, nukleárně magnetickou rezonanční spektroskopií a chromatografií na tenké vrstvě.

Příprava 1

Příprava výchozí sloučeniny vzorce



Nechá se reagovat 2,6-dichlor-3-nitropyridin s N-ethoxykarbonylpiperazinem za získání 6-chlor-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-nitropyridinu. Produkt se bez dalšího čištění zahřívá s ethanclíckým amoniakem v zatavené trubici při teplotě 120 až 125 °C, čímž se získá 6-amino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-nitropyridin o teplotě tání 132 až 134 °C/. Tento produkt se zpracovává anhydridem kyseliny octové v kyselině octové, získá se 6-acetylamino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-nitropyridin o teplotě tání 168 až 169 °C. Tato sloučenina se katalyticky hydrogenuje za přítomnosti 5 % paladia na uhlí v kyselině octové. Získá se 3-amino-6-acetylamino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/pyridin. Získaný 3-aminoderivát se bez dalšího čištění rozpustí ve směsi ethanolu a 42% kyseliny tetrafluorborité. K tomuto roztoku se přidá roztok isoamylnitritu v ethanolu při teplotě pod 0 °C. za míchání. Po 20 minutách se k roztoku přidá ether. Výsledná, vysrážená pevná látka se odfiltruje, promyje se směsí methanolu s etherem, potom chloroformem, čímž se získá 6-acetylamino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-pyridindiazonium-tetrafluorboritan o teplotě tání 117 až 117,5 °C /za rozkladu/.

Suspenze diazoniové soli v toluenu se postupně zahřeje až na teplotu 120 °C /teplota lázně/, tato teplota se udržuje po dobu 30 minut za míchání. Po oddestilování rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek zalkalizuje 10% roztokem uhličitanu sodného a extrahuje se chloroformem. Chloroformový extrakt se vysuší bezvodým uhličitánem draselným. Po oddestilování rozpouštědla se krystalický odparek překrystaluje z ethylacetátu. Tak se získá 6-acetylamino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-fluorpyridin o teplotě tání 132 až 133 °C. 3-fluorderivát se ještě hydrolyzuje směsí 15% kyseliny chlorovodíkové a methanolu /v poměru 1:2, méně objemově/. Tak se získá 6-amino-2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-fluorpyridin. Tato sloučenina se při teplotě 130 až 140 °C zpracuje diethylethoxymethylenmalonátem a získá se diethyl-N-(2-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-3-fluor-6-pyridiny)-aminomethylenmalonát o teplotě tání 144 až 145 °C. Tento produkt se pak zahřátím cyklizuje, přičemž teplota zahřívání je 255 °C, za získání ethyl-7-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-nafthyridin-3-karboxylátu o teplotě tání 279 až 281 °C.

P ř í k l a d 1

Příprava sloučeniny 1 a její adiční soli s kyselinou

Ethyl-7-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-nafthyridin-3-karboxylát /1,0 g/ se suspenduje v dimethylformamidu /10 ml/. K suspenzi se přidá uhličitán draselný /0,53 g/. Směs se udržuje po dobu 10 minut na teplotě 60 °C za míchání. Potom se k roztoku přidá ethyljodid /1,2 g/. Reakční směs se míchá po dobu dvou hodin při teplotě 60 až 70 °C. Reakční směs se za sníženého tlaku oddestiluje do sucha. K odparce se přidá voda. Roztok se extrahuje chloroformem. Chloroformový extrakt se vysuší bezvodým uhličitánem draselným. Po oddestilování chloroformu se výsledná pevná látka překrystaluje ze směsi dichlormethenu a hexanu. Tak se připraví 0,89 g ethyl-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/4-ethoxykarbonyl-1-piperaziny/-1,8-nafthyridin-3-karboxylátu o teplotě tání 171 až 173 °C. Směs shora uvedeného ethylesteru /0,8 g/, 10% hydroxidu sodného /6 ml/ a ethanolu /2 ml/ se vaří po dobu tří hodin pod zpětným chladičem. Po ochlazení se hodnota pH roztoku upraví přidáním 10% kyseliny octové na hodnotu 7,0 až 7,5. Vysrážená pevná látka se odfiltruje, promyje se ethanolu a překrystaluje se ze směsi dimethylformamidu a ethanolu. Získá se 0,57 g 1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperaziny/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny, která má teplotu tání 220 až 224 °C.

Takto vyrobená karboxylová kyselina /0,2 g/ se rozpustí v 5% kyselině chlorovodíkové. Roztok se za sníženého tlaku odpaří k suchu. Odparek se překrystaluje z vody, čímž se získá hydrochlorid karboxylové kyseliny o teplotě tání nad 300 °C ve výtěžku 0,21 g.

Nebo se shora uvedená volná karboxylová kyselina /0,2 g/ rozpustí v 7% roztoku kyseliny methansulfonové za zahřívání. Po ochlazení se vypadlá pevná látka překrystaluje ze zředěného methanolu. Získá se sůl kyseliny methansulfonové s karboxylovou kyselinou o teplotě tání nad 300 °C za rozkladu /v množství 0,22 g/.

Volná karboxylová kyselina /1,0 g/ se zahřívá v ethanolu do rozpuštění. Potom se k tomuto přidá kyselina octová /1,0 ml/. Po ochlazení směsi se získané krystaly odfiltrují a překrystalují se z ethanolu. Získá se sůl kyseliny octové s karboxylovou kyselinou o teplotě tání 228 až 229 °C /0,93 g/.

P ř í k l a d 2

Příprava sloučeniny 2

Hydrochlorid 6-chlor-1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny o teplotě tání nad 300 °C se připraví z ethyl-6-chlor-7-/4-ethoxy-karbonyl-1-piperazinyl/-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-nafthyridin-3-karboxylátu stejným postupem, jak je popsáno v příkladu 1.

P ř í k l a d 3

Příprava ethylesteru sloučeniny 1

Ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/4-trifluoracetyl-1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylát se nechá reagovat s ethyljodidem a s uhlíčitánem draselným v dimethylformamidu způsobem popsaným v příkladu 1. Získá se ethyl-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/4-trifluoracetyl-1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylát. Tento produkt se hydrolyzuje vodným uhlíčitánem draselným ve směsi chloroformu a methanolu, čímž se získá ethyl-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylát o teplotě tání 150 až 151 °C.

P ř í k l a d 4

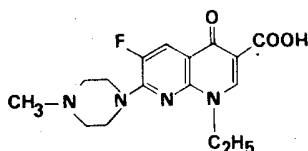
Příprava propylesteru a butylesteru sloučeniny 1

Propyl-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylát o teplotě tání 133 až 135 °C a butyl -1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylát o teplotě tání 119 až 120 °C se připraví způsobem popsaným v příkladu 3.

Příprava 2

Popisuje se způsob přípravy sloučeniny, které nespadá do rozsahu sloučeniny obecného vzorce I, a jejíž příprava dosud nebyla publikována, pro možnost vyhodnocení farmakologických účinků nových 1,8-nafthyridinových sloučenin, připravovaných způsobem podle vynálezu.

Příprava srovnávací sloučeniny vzorce

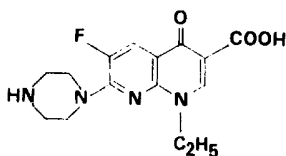


Do roztoku 37% formalinu /12 ml/ a kyseliny mravenčí 18 ml/ se přidá 6,0 g 1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny. Směs se zahřívá po dobu 4 hodin ze míchání při teplotě 120 až 125 °C. Za sníženého tlaku se směs odpaří do sucha. Hodnota pH odparu se upraví na 8 přidáním 7% vodného roztoku hydrogen-uhličitanu sodného. Roztok se extrahuje chloroformem. Extrakt se vysuší a rozpouštědlo se oddestiluje. Krystalický odparek se překrystaluje ze směsi dichlormethanu s ethanolem. Získá se 5,0 g 1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-7-/4-methyl-1-piperazinyl/-4-oxo-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny o teplotě tání 228 až 230 °C.

Farmakologické účinnosti sloučenin obecného vzorce I a jejich solí, připravených způsobem podle vynálezu, jsou uvedeny v příkladech A až G ve srovnání s antibakteriálními látkami známými ze stavu techniky. Zkoušejí se tyto sloučeniny:

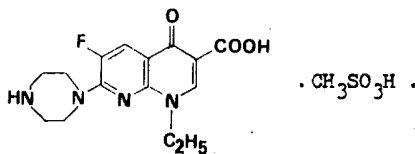
Sloučenina 1

1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyselina



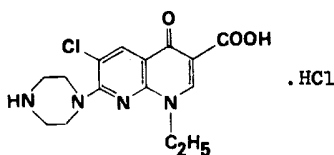
Sloučenina 1'

Methansulfonát 1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny



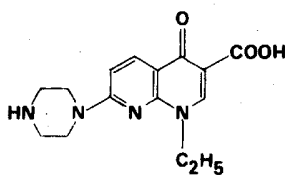
Sloučenina 2

Hydrochlorid 6-chlor-1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyseliny



Sloučenina A

1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridin-3-karboxylové kyselina /označované též jako v poloze 6 nesubstituovaný 1,8-nafthyridin/

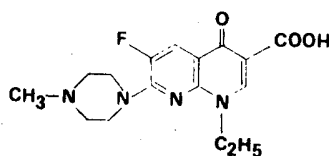


/Sloučenina je popsána v americkém patentu č. 4 017 622/.

Sloučenina B

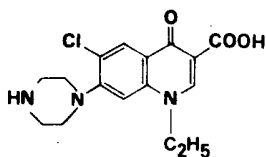
1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-7-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-1,8-naphthyridin-3-karboxylová kyselina

/Způsob výroby této sloučeniny je shora popsán v „Přípravě 2“/



Sloučenina C

6-chlor-1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)chinolin-3-karboxylová kyselina

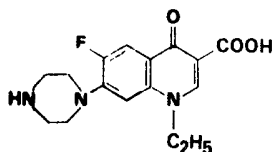


/Sloučenina je popsána v japonském patentovém vykládacím spisu č. 65 887/78/.

Sloučenina D

1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)chinolin-3-karboxylová kyselina

/Sloučenina je popsána v belgickém patentu č. 863 429/



Sloučenina E

1-ethyl-1,4-dihydro-7-methyl-4-oxo-1,8-naphthyridin-3-karboxylová kyselina /kyselina nalidixová/

/Sloučenina je popsána v americkém patentu č. 3 149 104/.

Sloučenina F

8-ethyl-5,8-dihydro-5-oxo-2-/1-piperazinyl/pyrido(2,3-d)pyrimidin-6-karboxylová kyselina /kyselina pipemidová/

/Sloučenina je popsána v americkém patentu č. 3 887 557/.

Sloučenina G

Sodná sůl alfa-/5-indanyloxykربول/benzylpenicilinu /Cerindacillin/

/Sloučenina je popsána v americkém patentu č. 3 557 090/.

Sloučenina H

D-alfa-Aminobenzylpenicilin /ampicilin/

/Sloučenina je popsána v americkém patentu č. 2 985 648/.

Sloučenina J

7-/D-alfa-Aminofenylacetamido/desecetoxycefalosporanová kyselina

/Cephalexin/ /Popsán v americkém patentu č. 3 507 861/.

P ř í k l a d A

V tabulce I jsou uvedeny minimální inhibiční koncentrace / $\mu\text{g/ml}$ / in vitro.

T a b u l k a I

Antibakteriální účinnosti in vitro na 19 kmenů bakterií

Bakterie	Sloučenina		
	1	1'	2
Grampozitivní bakterie			
Staphylococcus aureus			
209P JC-1	0,78	0,78	3,13
Staphylococcus aureus			
č. 50 774	0,78	0,78	6,25
Streptococcus faecalis			
P-2473	12,5	12,5	25
Streptococcus pyogenes			
65A	12,5	12,5	12,5
Corynebacterium			
pyogenes C-21	1,56	1,56	6,25

Bakterie	Sloučenina		
	1	1	2
Gramnegativní bakterie			
<i>Escherichia coli</i> NIHJ			
JC-2	0,2	0,2	0,78
<i>Escherichia coli</i>			
P-5101	0,1	0,1	0,39
<i>Escherichia coli</i>			
P-140a	0,2	0,2	0,39
<i>Salmonella typhimurium</i>			
S-9	0,1	0,1	0,39
<i>Salmonella enteritidis</i>			
č. 1891	0,1	0,1	0,39
<i>Shigella flexneri</i> 2a	0,2	0,2	0,78
<i>Shigella flexneri</i> 4a			
P-330	0,39	0,39	1,56
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
č. 13	0,2	0,2	1,56
<i>Enterobacter cloacae</i>			
P-2540	0,2	0,2	0,78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
Tsuchijima	0,39	0,39	6,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
č. 12	0,78	0,78	6,25
<i>Serratia marcescens</i>			
IFO 3736	0,39	0,39	1,56
<i>Proteus morganii</i> Kono	0,2	0,2	1,56
<i>Proteus mirabilis</i>			
P-2381	0,39	0,39	3,13

Bakterie	Sloučenina				
	A	B	C	D	E
Grampozitivní bakterie					
<i>Staphylococcus aureus</i>					
209P JC - 1	25	1,56	0,78	0,39	100
<i>Staphylococcus aureus</i>					
č. 50 774	50	1,56	1,56	0,78	50
<i>Streptococcus faecalis</i>					
P-2473	>100	12,5	6,25	3,13	>200
<i>Streptococcus pyogenes</i>					
65 A	50	6,25	6,25	—	>200
<i>Corynebacterium</i>					
<i>pyogenes</i> C-21	50	1,56	1,56	0,78	>200

Bakterie	Sloučenine				
	A	B	C	D	E
Gramnegativní bakterie					
Escherichia coli NIHJ					
JC-2	6,25	0,39	0,39	0,1	12,5
Escherichia coli					
P-5101	3,13	0,2	0,2	0,05	3,13
Escherichia coli					
P-140a	6,25	0,39	0,2	0,1	-
Salmonella typhimurium					
S-9	6,25	0,2	0,2	0,05	3,13
Salmonella enteritidis					
š. 1891	1,56	0,1	0,2	0,05	3,13
Shigella flexneri 2a	6,25	0,39	0,39	0,1	6,25
Shigella flexneri 4a	12,5	0,78	0,2	0,2	-
P-330	12,5	0,78	0,2	0,2	-
Klebsiella pneumoniae					
š. 13	12,5	0,39	0,78	0,2	12,5
Enterobacter cloacae	6,25	0,39	0,2	0,1	6,25
P-2540	6,25	0,39	0,2	0,1	6,25
Pseudomonas aeruginosa					
Tsuchijima	25	1,56	3,13	0,39	200
Pseudomonas aeruginosa					
š. 12	25	3,13	3,13	0,78	200
Serratia marcescens					
IFO 3736	12,5	1,56	0,78	0,2	6,25
Proteus morgani Kono	6,25	0,78	0,39	0,1	6,25
Proteus mirabilis					
P-2381	25	1,56	0,39	0,2	-

Bakterie	Sloučenina			
	F	G	H	J
Grampozitivní bakterie				
Staphylococcus aureus				
209P JC-1	12,5	0,39	0,05	1,56
Staphylococcus aureus				
š. 50774	25	0,78	0,1	1,56
Streptococcus faecalis				
P-2473	200	50	1,56	200
Streptococcus pyogenes	200	0,2	0,025	0,78
65 A	200	0,2	0,025	0,78
Corynebacterium				
pyogenes C-21	25	3,13	1,56	1,56

Bakterie	Sloučeniny			
	F	G	H	J
Gramnegativní bakterie				
<i>Escherichia coli</i> NIHJ				
JC-2	1,56	6,25	6,25	12,5
<i>Escherichia coli</i>				
P-5101	1,56	6,25	6,25	12,5
<i>Escherichia coli</i>				
P-140a	1,56	50	200	>200
<i>Salmonella typhimurium</i>				
S-9	1,56	0,78	0,39	6,25
<i>Salmonella enteritidis</i>				
č. 1891	1,56	0,78	0,2	3,13
<i>Shigella flexneri</i> 2a	3,13	12,5	3,13	12,5
<i>Shigella flexneri</i> 4a				
P-330	1,56	6,25	6,25	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
č. 13	6,25	>200	100	6,25
<i>Enterobacter cloacae</i>				
P-2540	1,50	3,13	>200	>200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Tsuchijima	12,5	6,25	>200	>200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
č. 12	25	50	>200	>200
<i>Serratia marcescens</i>				
IFO 3736	3,13	3,13	25	>200
<i>Proteus morganii</i> Kono	3,13	0,78	100	>200
<i>Proteus mirabilis</i>				
P-2381	3,13	0,78	3,13	12,5

Poznámka: Čísla v tabulce udávají minimální inhibiční koncentrace /MIC/ / $\mu\text{g/ml}$ /.
Metoda: Chemotherapy 22/67, 1126, 1974/.

Z výsledků uvedených v tabulce I vyplývá:

1. Sloučeniny 1, 1' a 2, zvláště sloučeniny 1 a 1', připravené způsobem podle výsledku, vykazují velmi vysoké antibakteriální působení na grampozitivní i gramnegativní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Sloučenina A /v poloze 6 nesubstituovaný 1,8-naftthyridin/ má mnohem horší antibakteriální účinnost proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím při srovnání se sloučeninami, připravenými způsobem podle výsledku.

P ř í k l a d B

/Therapeutická účinnost in vivo/

Sloučeniny 1, 1' a 2, ethylester sloučeniny 1 a sloučeniny A až J se vždy rozpustí v deionizované vodě nebo se suspendují v 0,2% vodném roztoku CMC. Roztoky se podávají orálně myším, které jsou infikovány testovými organismy, za podmínek níže popsaných. Získané střední účinné dávky /ED₅₀/ jsou uvedeny v tabulce II.

Experimentální podmínky:

Myši: myši samci /ddY/ o hmotnosti přibližně 20 g.

Infekce: 1. *Staphylococcus aureus* č. 50 774.

bakteriál Intravenózní infekce dávkou 5 až 10 LD₅₀ /přibližně 5.10⁸ buněk/myš/
bakteriální suspenze v solném roztoku.

2. *Escherichia coli* P-5101

Intraperitoneální infekce dávkou 5 až 10 LD₅₀ /přibližně 9.10⁶ buněk/myš/
bakteriální suspenze v trypto-sojovém mediu se 4 % mucinu.

3. *Pseudomonas aeruginosa* č. 12

Intraperitoneální infekce dávkou 50 až 100 LD₅₀ /přibližně 5.10³ buněk/myš/
bakteriální suspenze v trypto-sojovém mediu se 4 % mucinu.

Medikace: dvakrát, asi 5 minut po infekci a 6 hodin po infekci

Pozorování: *Staphylococcus aureus* č. 50 774 po 14 dnech

Escherichia coli P-5101 po 7 dnech

Pseudomonas aeruginosa č. 12 po 7 dnech

Poznámka: Čísla v následující tabulce II udávají ED₅₀ /mg/kg/.

Hodnoty ED₅₀ jsou vypočteny metódou Behrens-Keerber /Arch. Exp. Path. Pharm.
162, 480, 1931/.

po znamená orální podávání

+ vypočteno pro volnou karboxylovou kyselinu

Tabulka II

Účinnost in vivo na systémovou infekci u myši

Sloučenina	Bakterie		
	<i>Staphylococcus aureus</i> č. 50 774	<i>Escherichia coli</i> P-5101	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> č. 12
	po	po	po
1	10	1,8	9,0
1'	10 ⁺	1,8 ⁺	9,0 ⁺
2	asi 90 ⁺	6,5 ⁺	58,6 ⁺
ethylester 1	asi 20	-	21,0
A	>100	-	>200
B	4,8	1,2	10,6
C	asi 100	asi 15	>100
D	21,9	4,7	15,5
E	>800	29,2	>200
F	215	21,2	99,5
G	10 až 40	100	201,6
H	2,2	43,5	>400
J	12,1	22,6	>400

Z výsledků v tabulce II vyplývá:

1. Sloučeniny 1 a 1', připravené způsobem podle vynálezu, vykazují silné terapeutické účinnosti na systémové infekce grampozitivními i gramnegativními bakteriemi.

2. Sloučeniny 1 a 1', připravené způsobem podle vynálezu, vykazují lepší terapeutické účinnosti na systémové infekce gramnegativními bakteriemi, zvláště *Pseudomonas aeruginosa*, než sloučeniny A a C a sloučeniny E a F, které jsou obchodně dostupnými syntetickými antibakteriálními činidly, a sloučeniny G a H a J, což jsou obchodně dostupné antibiotika.

3. Sloučeniny 1 a 1', připravené způsobem podle vynálezu, jsou zřetelně lepší, pokud jde o terapeutické účinnosti in vivo na grampozitivní bakterie, než sloučenina D. Sloučeniny 1 a 1' mají zřetelně lepší terapeutickou účinnost in vivo na grampozitivní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa* ve srovnání se sloučeninou D.

4. Ethylester sloučeniny 1, připravený způsobem podle vynálezu, je užitečný jako meziprodukt pro syntézu sloučenin 1 a 1'. Kromě toho má lepší antibakteriální účinnost in vivo na grampozitivní i gramnegativní bakterie.

P ř í k l a d C

Terapeutická účinnost in vivo

Sloučeniny 1 a D se testují následujícím způsobem na terapeutické účinnosti u vzestupné infekce ledvin způsobené *Pseudomonas aeruginosa* č. 12 u myši. V tabulce III jsou získané výsledky /ED₅₀:mg/kg/.

Experimentální metoda:

Semičím myši /ddY-S/ o hmotnosti 22 až 30 g se anesthetizují intravenosní injekcí pentobarbitalu sodného dávkou 50 mg/kg. Malým nadpupečním řezem se infikuje močový měchýř 0,1 ml /zředění 1:10 000/ *Pseudomonas aeruginosa* č. 12, který se kultivuje 20 hodin v trypto-sojovém mediu, pomocí 0,25 ml injekce s 0,25 mm jehlou. Myším se zabrání v přístupu k pitné vodě v době od jednoho dne před injekcí do jednoho dne po infekci. Myši se léčí dvakrát denně po dobu 3 dnů, počínaje dnem infekce. Pátého dne po infekci se ledviny odeberou, aby se mohla zjistit přítomnost bakterií, přičemž se rozfíznou a vloží se na King A agar, kde se inkubují přes noc při 37 °C. Jestliže se nenaleznou žádné bakterie, je to považováno za ochranu před vzestupnou infekcí ledvin. Hodnoty ED₅₀ se vypočtou probatorní /zjišťovací/ analýzou.

Tabulka III

Účinnost in vivo na vzestupnou infekci ledvin způsobenou *Pseudomonas aeruginosa* č. 12 u myši

Sloučenina	Podání	ED ₅₀ /mg/kg/
1	po	2,4
D	po	16,1

Z výsledků v tabulce III vyplývá, že terapeutická účinnost sloučeniny 1, připravené způsobem podle vynálezu, na vzestupnou infekci ledvin, způsobenou *Pseudomonas aeruginosa*, je zřetelně lepší než u sloučeniny D.

P ř í k l a d D

Akutní toxicita

Roztok, obsahující jednu ze sloučenin 1, 1' a 2 a B až J v různých koncentracích, se podává orálně myším samcům /ddY/ /4 až 8 v každé skupině/ v dávce 0,1 ml na 10 g tělesné hmotnosti. Po 7 dnech se zjistí počet mrtvých myši. Hodnota střední letální dávky /LD₅₀, mg/kg/ se počítá podle metody Behrens-Kaerber. Výsledky jsou uvedeny v tabulce IV.

Tabulka IV

Akutní toxicita u myši

Sloučenina	LD ₅₀ /mg/kg/
1	větší než 4 000
1'	větší než 4 000 ⁺
2	větší než 2 000 ⁺
B	210
C	větší než 2 000
D	větší než 2 000
E	1 516
F	větší než 5 000
G	větší než 4 000
H	větší než 5 000
J	3 000

* vypočteno pro karboxylovou kyselinu

Z tabulky IV vyplývá:

1. Sloučeniny 1, 1' a 2, připravené způsobem podle vynálezu, jsou mimořádně málo toxické.

2. Sloučenina B, která je odvozena od sloučeniny 1 připravené způsobem podle vynálezu tak, že se zavede methylová skupina do polohy 4 1-piperazinové skupiny sloučeniny 1, má ekvivalentní nebo vyšší antibakteriální účinnost než sloučeniny podle vynálezu, jak ukazují tabulky I a II, má však mimořádně vysokou toxicitu.

P ř í k l a d E

Subakutní toxicita

Sloučenina 1 se orálně podává 6 myším samicím /kmene JCL-LCR/, které mají střední tělesnou hmotnost 20 g, v dávce 2 g/kg jednou denně po dobu 14 dnů. Během testovaného období se měří tělesná hmotnost každé myši. Patnáctý den se myši hematologicky zkoumají. Potom se myši usmrtí, zjistí se hmotnost orgánů a orgány se histopatologicky zkoumají. Zjištěny tyto skutečnosti:

U skupiny, které byla podána sloučenina 1, připravená způsobem podle vynálezu, nebyly nalezeny žádné abnormality, pokud jde o tělesnou hmotnost, hematologické zkoumání a histopatologické pozorování, vzhledem ke kontrolní skupině. To odkládá vysokou bezpečnost sloučeniny 1, připravené způsobem podle vynálezu.

P ř í k l a d F

Hladina v plasmě

Despšlému psu /Beagle/, o hmotnosti 12 kg, se orálně podá tobolka obsahující sloučeninu 1 v množství 25 mg/kg s 200 ml mléka. Vzorky krve se odebírají žilou po 0,5, 1, 2, 3, 6, 8 a 10 hodinách po podání. Vzorky se individuálně odstředí, aby se oddělila plasma.

Hladina drogy se stanoví na deskách s tenkou vrstvou za použití *Escherichia coli* Kp jako indikačního organismu.

Získané výsledky jsou v tabulce V.

Tabulka V.

Hladina v plasmě

Sloučenina	Doba po podání /h						
	0,5	1	2	3	6	8	10
1	0,6	2,4	5,5	5,9	4,2	3,7	2,4

Poznámka: Čísla v tabulce V udávají hladinu /koncentraci/ v plasmě v µg/ml.

Z výsledků uvedených v tabulce V vyplývá, že:

1. Sloučenina 1, připravená způsobem podle vynálezu, se v těle dobře a absorbuje při orálním podávání. Koncentrace těchto sloučenin v plasmě se udržuje na vysoké hodnotě poměrně po dlouhou dobu.

Sloučenina 1 vykazuje vyšší koncentraci v plasmě než jsou hodnoty MIC /viz tabulka I/ u většiny bakterií v období 1 až 10 hodin po podání. Například koncentrace v plasmě /5,9 µg/ml/ sloučeniny 1 je asi 8x vyšší než MIC hodnoty na *Pseudomonas aeruginosa* č. 12 a *Staphylococcus aureus* č. 50 774 a přibližně 6x vyšší než MIC hodnota na *Escherichia coli* P-5101.

2. Sloučenina 1 má tak vysokou koncentraci v plasmě a takovou antibakteriální účinnost, že při nízkém dávkování dává nejlepší výsledky při léčení systémových infekcí způsobených různými bakteriemi.

P ř í k l a d G

Vylučování močí /urinální sekrece/

Moč, vylučovaná psem podle příkladu F, se shromažďuje po dobu 24 hodin. Sloučenina 1 se ve shromážděné moči stanovuje stejně jako v příkladu F. Výsledky jsou uvedeny v tabulce VI.

Tabulka VI

Vylučování moči

Sloučenina	Koncentrace $\mu\text{g/ml}$	Regenerace $\%$
1	606	40,7

Z výsledků v tabulce VI vyplývá:

1. Vylučování sloučeniny 1, připravené způsobem podle vynálezu, močí je poměrně dobré: přibližně 40 % orálně podaných sloučenin se vyloučí v moči do 24 hodin po podání.

2. Koncentrace sloučeniny 1 v moči $/606 \mu\text{g/ml}/$ je přibližně 51 až 6 000x vyšší než hodnoty MIC $/0,1$ až $12,5 \mu\text{g/ml}/$ na různé bakterie, které jsou uvedeny v tabulce I.

3. Sloučenina 1 vykazuje nejlepší účinky při nízkých dávkách při léčení infekcí močových cest způsobených různými bakteriemi.

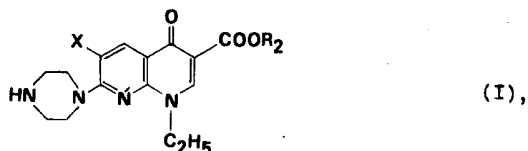
Jak je doloženo v tabulkách I až VI, sloučeniny připravené způsobem podle vynálezu a zvláště sloučeniny 1 a 1' vykazují nejlepší terapeutické účinky na experimentální infekce gram pozitivními a gram negativními bakteriemi. Při orálním podávání tyto sloučeniny udržují vysokou hladinu v plasmě a v moči po dostatečně dlouhou dobu. Navíc mají nízkou toxicitu. Tyto sloučeniny jsou tedy účinné v nízkých dávkách při infekci močových cest a systémových infekcí, které jsou způsobeny různými bakteriemi.

Naproti tomu jsou známé sloučeniny A a C zřetelně horší v antibakteriální účinnosti in vitro a také in vivo na gram pozitivní i gram negativní bakterie, jak dokládají tabulky I a II.

Sloučenina D je zřetelně horší než sloučeniny 1 a 1', připravené způsobem podle vynálezu, v terapeutických účincích při vzestupné infekci ledvin způsobené *Pseudomonas aeruginosa*. Nalidixová kyselina /sloučenina E/ a pipemidová kyselina /sloučenina F/, tedy obchodně dostupná syntetická antibakteriální činidla, a Carindacillin /sloučenina G/ ampicilin /sloučenina H/ a cephalexin /sloučenina J/ tedy obchodně dostupná antibiotika, jsou zřetelně horší než sloučeniny 1 a 1' v terapeutických účincích /viz tabulka II/ in vivo na gram negativní bakterie, zvláště na *Pseudomonas aeruginosa*.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

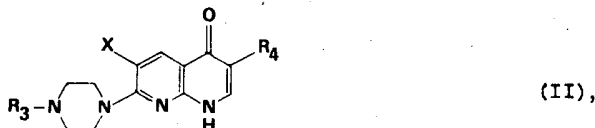
1. Způsob přípravy derivátů 1-ethyl-6-halogen-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridinu obecného vzorce I



kde znamená,

X atom fluoru nebo chloru a

R₂ atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo jejich netoxických, farmaceuticky vhodných solí, vyznačený tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



kde X má shora uvedený význam a kde znamená

R₃ atom vodíku nebo chránicí skupinu,

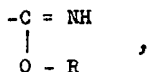
R₄ karboxylovou skupinu, skupinu obecného vzorce

-COOR ,

nebo skupinu R₄' ,

kde znamená

R₄' kyanoskupinu, karbamoylovou skupinu, amidinoskupinu nebo skupinu obecného vzorce



R znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, s ethylačním činidlem a pak se reakční produkt, ve kterém R₄ znamená skupinu R₄' hydrolyzuje nebo se odstraňuje chránicí skupina z produktu, ve kterém R₃ znamená chránicí skupinu a popřípadě se reakční produkt převádí na netoxickou, farmaceutickou vhodnou sůl.

2. Způsob podle bodu 1 pro přípravu derivátu 1-ethyl-6-halogen-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-nafthyridinu obecného vzorce I, kde X a R₂ mají v bodu 1 uvedený význam, nebo jeho netoxické, farmaceuticky vhodné soli, vyznačený tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II, kde X a R₃ mají v bodu 1 uvedený význam a kde znamená R₄ karboxylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce

-COOR ,

kde R má v bodu 1 uvedený význam, s ethylačním činidlem a pak se odstraní chránicí skupina z reakčního produktu v případě, kdy R_3 znamená chránicí skupinu a popřípadě se reakční produkt převádí na svoji netoxickou farmaceuticky vhodnou sůl.

3. Způsob podle bodu 1 pro přípravu derivátu 1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-/1-piperazinyl/-1,8-naftthyridinu obecného vzorce I, kde X znamená atom fluoru a R_2 má v bodu 1 uvedený význam nebo jeho netoxické, farmaceuticky vhodné soli, vyznačený tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II, kde znamená X atom fluoru a R_3 má v bodu 1 uvedený význam a R_4 znamená karboxylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce

-COOR ,

kde R má v bodu 1 uvedený význam, s ethylačním činidlem a v případě, kdy R_3 znamená chránicí skupinu se pak tato chránicí skupina odštěpí a popřípadě se reakční produkt převádí na netoxickou farmaceuticky vhodnou sůl.