



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

228545
(11) (B2)

- (22) Přihlášeno 23 02 82
(21) (PV 7097-82)
(32) (31) (33) Právo přednosti od 23 03 81
(246503, 246504)
Spojené státy americké
(40) Zveřejněno 26 08 83
(45) Vydáno 15 08 86

[51] Int. Cl.³
C 07 D 501/58
//A 61 K 31/545

(72)
Autor vynálezu

CRAWFORD THOMAS CHARLES, LEDYARD, SKLAVOUNOS
CONSTANTINE, WATERFORD, CONNECTICUT (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu

PFIZER INC., NEW YORK, NEW YORK (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby bis-esterů methandiolu s deriváty penicilanové kyseliny

1

Vynález popisuje způsob výroby bis-esterů methandiolu, v nichž jedna z hydroxylových skupin methandiolu je esterifikována hetacilinem (nebo jeho p-hydroxyanalogem) a druhá hydroxyskupina je esterifikována 1,1-dioxidem penicilanové kyseliny. Tyto sloučeniny jsou zvláště cenné pro savce jako orálně aplikovatelná antibakteriální činidla proti bakteriím produkujícím penicilinasu. Popisované sloučeniny se účinně absorbují z gastrointestinálního traktu a po absorpci se přeměňují a poskytují neobvykle dlouho trvající hladiny ampicilinu/amoxicilinu a 1,1-dioxidu penicilanové kyseliny v séru. Vzhledem ke své inhibiční účinnosti na penicilinasu zvyšuje posledně zmíněná sloučenina účinnost prvně zmíněných činidel proti bakteriím produkujícím penicilinasu.

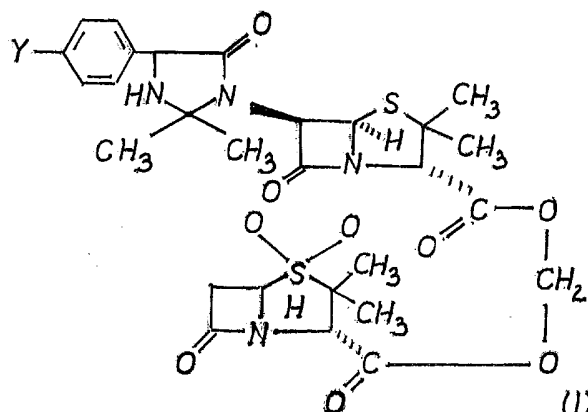
Sloučeniny vyráběné způsobem podle vynálezu jsou acetonidovými deriváty sloučenin již dříve popsaných v americkém patentním spisu č. 4 244 951. Sloučeniny podle vy-

2

nálezu neočekávaně značně zvyšují poločas ampicilinu/amoxicilinu a 1,1-dioxidu penicilanové kyseliny v séru v porovnání s výchozími látkami popsanými ve shora uvedené citaci.

Hetacilin (a jeho p-hydroxyanalog) již byly popsány v literatuře [viz Handcastle a spol., J. Org. Chem. 31, str. 897 až 899 (1966), Long a spol., J. Chem. Soc. (C), str. 1920 až 1922 (1971)]. Estery hetacilinu (a jeho p-hydroxyanalogu) byly již rovněž popsány jako sloučeniny zvláště vhodné k orálnímu podání (von Daehne, americký patentní spis č. 3 954 735, viz rovněž Sleezer a spol., americký patentní spis č. 4 185 015), není však známo, že by tyto sloučeniny byly inhibitory β -laktamasy.

Vynález popisuje způsob výroby systémicky působících antibakteriálně účinných činidel se širokým spektrem účinku obecného vzorce I



ve kterém

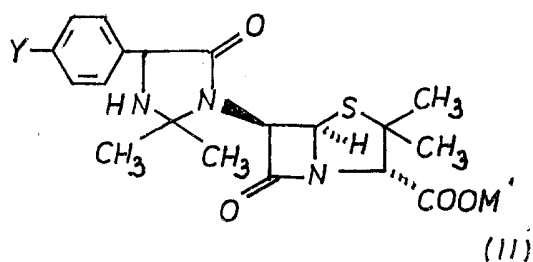
Y znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu a

imidazolidinonový postranní řetězec je odvozen od D-formy α -aminofenylactové kyseliny a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami.

Znamená-li Y atom vodíku, pak shora uvedenou sloučeninou je bis-ester hetacilinu (acetonid ampicilinu) a 1,1-dioxidu penicilanové kyseliny s methandiolem. Znamená-li Y hydroxylovou skupinu, je touto sloučeninou bis-ester acetonidu amoxicilinu a 1,1-dioxidu penicilanové kyseliny s methandiolem. Výraz „farmaceuticky upotřebitelné adiční soli s kyselinami“ zahrnuje soli s takovými kyselinami, jako jsou kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina maleinová, kyselina jantarová, kyselina cotrónová, kyselina methansulfonová, kyselina p-toluensulfonová apod.

Látky obecného vzorce I je možno používat k léčbě citlivých bakteriálních infekcí u savců samotnou sloučeninou podle vynálezu nebo její směsí s jinými antibakteriálními činidly nebo/a farmaceuticky upotřebitelnými nosiči či ředidly. Výhodný způsob podání těchto sloučenin spočívá v orální aplikaci, protože účinná látka se z gastrointestinálního traktu savců účinně absorbuje. Po absorbování se pak sloučenina podle vynálezu přeměňuje na ampicilin (nebo amoxicilin) a 1,1-dioxid penicilanové kyseliny, což vede k prodloužení poločasu těchto sloučenin v séru.

Předmětem vynálezu je způsob výroby sloučenin shora uvedeného obecného vzorce I, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II

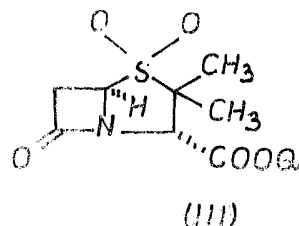


ve kterém

Y má shora uvedený význam a

M představuje sodík, draslík, vápník, baryum, terc.amoniou skupinu nebo skupinu $-\text{CH}_2-\text{X}$, kde

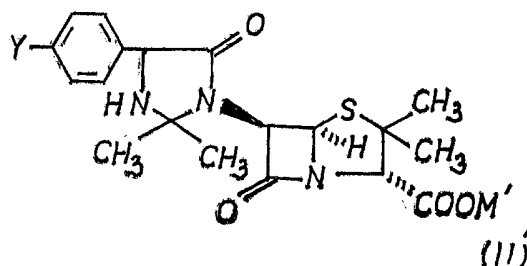
X znamená atom chloru, bromu či jodu, alkansulfonyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, benzensulfonyloxyskupinu nebo toluensulfonyloxyskupinu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



ve kterém

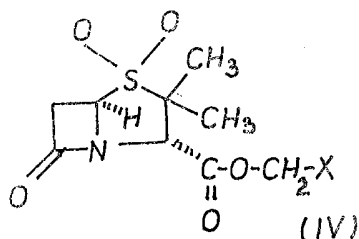
Q v případě, že M v obecném vzorci II představuje sodík, draslík, vápník, baryum nebo terc.amoniou skupinu, představuje zbytek $-\text{CH}_2-\text{X}$, kde X má shora uvedený význam, a v případě, že M v obecném vzorci II představuje zbytek $-\text{CH}_2-\text{X}$, kde X má shora uvedený význam, znamená Q sodík, draslík, vápník, baryum nebo terc.amoniou skupinu.

Způsob podle vynálezu je tedy možno realizovat dvěma zcela ekvivalentními postupy. Podle prvního z těchto ekvivalentních postupů se sloučeniny obecného vzorce I připravují reakcí soli karboxylové kyseliny, obecného vzorce II'



ve kterém

Y má shora uvedený význam a
M' představuje kationt soli na karboxylové skupině,
se sloučeninou obecného vzorce IV



ve kterém

X znamená chlor, brom, jod, alkylsulfonyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, benzensulfonyloxyskupinu nebo toluensulfonyloxyskupinu.

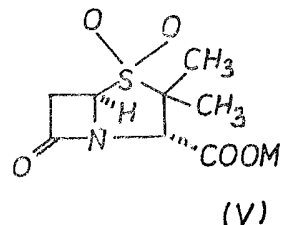
K přípravě solí na karboxylové skupině ve sloučeninách obecného vzorce II' je možno použít řadu různých kationtů, mezi obvykle používané soli však náležejí soli s alkalickými kovy, jako soli sodné a draselné, soli s kovy alkalických zemin, jako soli vápenaté a barnaté, soli s terciárními aminy, jako s trimethylaminem, triethylaminem, tributylaminem, diisopropylethylaminem, N-methylmorfolinem, N-methylpiperidinem, N-methylpyrrolidinem, N,N'-dimethylpiperazinem a 1,2,3,4-tetrahydrochinolinem.

Reakce mezi sloučeninou obecného vzorce II' a sloučeninou obecného vzorce IV se obvykle provádí tak, že se reakční složky uvedou do styku v polárním organickém rozpouštědle, při teplotě v rozmezí od 0 do 80 stupňů Celsia, s výhodou od 25 do 50 °C. Sloučeniny obecných vzorců II' a IV se obvykle používají v prakticky ekvimolárních množstvích, lze však použít i nadbytku kterékoli z reakčních složek, například až desetinasobného nadbytku. K reakci je možno použít širokou paletu rozpouštědel, obvykle se však dává přednost použití relativně polárního rozpouštědla, které reakci urychluje. Je výhodné vyhnout se rozpouštědlům, které mohou solvolyzovat acetamidové seskupení, jako je voda nebo methanol. Mezi typická použitelná rozpouštědla náležejí N,N-dimethylformamid, N,N-dimethylacetamid, N-methylpyrrolidon, dimethylsulfoxid, hexamethylfosforamid a aceton. Reakční doba se mění v závislosti na řadě různých faktorů, při teplotě cca 25 °C se však obvykle používají reakční doby v rozmezí několika hodin, například od 12 do 24 hodin. Pokud X znamená chlor nebo brom, je někdy výhodný přídavek až do cca 1 molekvivalentu jodidu alkalického kovu, který reakci urychluje.

Sloučenina obecného vzorce I se z reakční směsi izoluje běžným způsobem. Používá-li se rozpouštědla mísitelného s vodou, obvykle postačí jednoduché zředění reakční směsi rozpouštědlem nemísitelným s vodou. Zředěná reakční směs se extrahuje roztokem

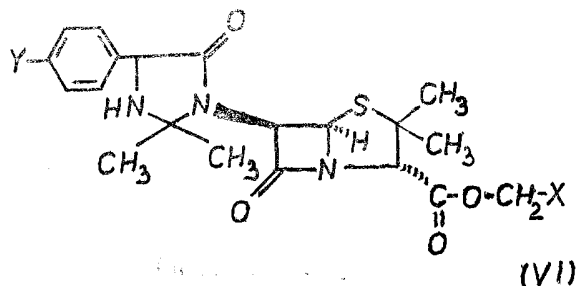
chloridu sodného a vodou, vysuší se a produkt se izoluje odpařením rozpouštědla. Při použití rozpouštědla nemísitelného s vodou jako reakčního rozpouštědla, není obvykle nutné provádět ředění reakční směsi.

Druhý ekvivalentní postup k výrobě sloučenin obecného vzorce I spočívá v reakci sloučeniny obecného vzorce V



ve kterém

M' má shora uvedený význam,
se sloučeninou obecného vzorce VI



ve kterém

X má shora uvedený význam.

Reakce sloučenin obecných vzorců V a VI se provádí za stejných reakčních podmínek, jaké byly popsány výše pro reakci sloučenin obecných vzorců II' a IV.

Sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce II' jsou známými antibiotiky, která se připravují již publikovanými postupy.

Sloučeniny obecného vzorce IV se připravují ze sloučenin obecného vzorce V reakcí se sloučeninou obecného vzorce



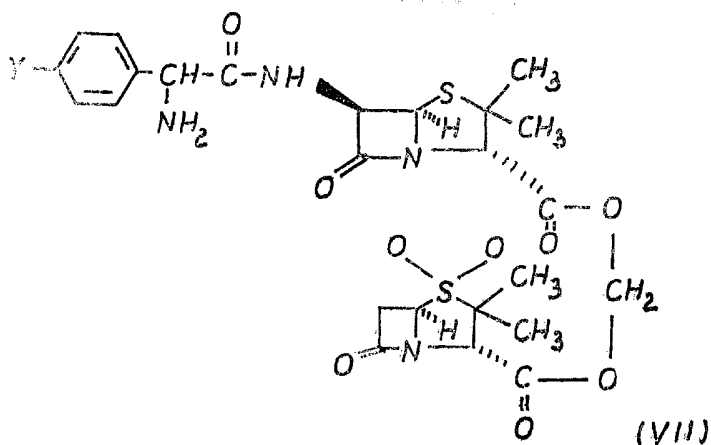
kde

oba symboly X a X' představují dobře odštěpitelné skupiny, například atomy chloru, bromu či jodu, alkylsulfonyloxyskupinu, benzensulfonyloxyskupinu, toluensulfonyloxyskupinu nebo chlorsulfonyloxyskupinu.

Tato reakce se provádí za stejných podmínek, jaké byly popsány výše pro reakci sloučeniny obecného vzorce II' se sloučeninou obecného vzorce IV, s tím, že se s výhodou používá nadbytek výchozí látky obecného vzorce X-CH₂-X' (například čtyřnásobný nadbytek).

Analogickým způsobem se sloučeniny obecného vzorce VI připraví reakcí sloučeniny obecného vzorce II' se sloučeninou

obecného vzorce $X-CH_2-X'$, kde X a X' mají shora uvedený význam. Pracuje se za stejných reakčních podmínek, jaké byly popsány výše pro reakci sloučeniny obecného vzorce V se sloučeninou obecného vzorce $X-CH_2-X'$.



ve kterém

Y má shora uvedený význam.

Shora popsané ekvivalentní postupy přípravy sloučenin obecného vzorce I tedy představují 1 alternativní způsob přípravy sloučenin obecného vzorce VII.

Farmaceuticky upotřebitelné adiční soli sloučenin obecného vzorce I s kyselinami se připravují reakcí příslušné volné báze s molárním ekvivalentem kyseliny, jako některé z kyselin definovaných výše, v inertním rozpouštědle (tj. v takovém rozpouštědle, které nevede k hydrolýze či solvolýze ani acetoniidu ani bis-esteru methandiolu). Zvláště vhodným rozpouštědlem pro tyto účely je aceton. Pokud se výsledná sůl nevysráží přímo, izoluje se zahuštěním reakční směsi nebo/a přidáním nerozpouštědla, jako hexanu nebo etheru.

Sloučeniny obecného vzorce I vykazují u savců in vivo antibakteriální účinnost, kterou je možno prokázat standardními technikami, používanými pro penicilinové sloučeniny. Tak například se sloučenina obecného vzorce I podá myši, u níž byla vyvolána akutní infekce intraperitoneální inokulací standardizovanou kulturou patogenní bakterie. Síla infekce je standardizována tak, že myši jsou inokulovány jedno- až desetinásobkem dávky LD_{100} [LD_{100} je minimální inokulační dávka, která spolehlivě hubí 100 procent kontrolních myší]. Ke konci testu se vyhodnotí účinnost testované sloučeniny zjištěním počtu přežívajících pokusných myší, které byly inokulovány bakterií a dostaly sloučeninu obecného vzorce I. Sloučeniny obecného vzorce I je možno aplikovat jak orálně, tak subkutánně.

Antibakteriální účinnost sloučenin podle vynálezu in vivo činí tyto látky vhodnými pro potírání bakteriálních infekcí savců, včetně lidí, a to jak při orální, tak parenterální

Sloučeniny obecného vzorce I podle vynálezu se ve vodných systémech hydrolyzují na sloučeniny obecného vzorce VII

aplikaci. Tyto sloučeniny lze používat k potírání infekcí způsobených citlivými bakteriemi u lidí. Po aplikaci savci, a to jak po aplikaci orální, tak parenterální, se sloučenina obecného vzorce I štěpí na ampicilin (nebo amoxicilin) a 1,1-dioxid penicilanové kyseliny. 1,1-dioxid penicilanové kyseliny pak působí jako inhibitor β -laktamasy a zvyšuje antibakteriální účinnost ampicilinu (nebo amoxicilinu) například proti penicilinasu produkujícím kmenům *Staphylococcus aureus* nebo *Escherichia coli*.

K stanovení, zda příslušný kmen *Staphylococcus aureus* nebo *Escherichia coli* je citlivý na sloučeninu obecného vzorce I, je možno použít shora popsaný test in vivo. Alternativně je možno změřit minimální inhibiční koncentraci směsi stejných dílů ampicilinu (nebo amoxicilinu) a 1,1-dioxidu penicilanové kyseliny. Minimální inhibiční koncentrace lze měřit postupem doporučeným v práci International Collaborative Study on Antibiotic Sensitivity Testing [Ericsson a Sherris, *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinav*, Supp. 217, Section B: 64—68 (1971)], při němž se používá agar s výluhem z mozku a srdce, a zařízení pro opakovanou inokulaci. K získání standardního inokula se obsah zkumavek s kulturou pěstovanou přes noc stonásobně zředí (20 000 až 10 000 buněk ve zhruba 0,002 ml se nanese na povrch agarové půdy; používá se 20 ml agaru s výluhem z mozku a srdce na každou miskou). K testu se používá dvanáct dvojnásobných ředění testované sloučeniny, přičemž počáteční koncentrace testované látky činí 200 $\mu\text{g/ml}$. Při vyhodnocování ploten po osmnáctihodinové inkubaci při teplotě 37 °C se jednotlivé kolonie neberou v úvahu. Za citlivost (minimální inhibiční koncentrace) pokusného

organismu se považuje nejnižší koncentrace testované sloučeniny způsobující úplnou inhibici růstu při posuzování pouhým okem.

Protože vynález si klade za cíl poskytnout při jediném podání dobře se absorbující zdroj ampicilinu/amoxicilinu a 1,1-dioxi-
du penicilanové kyseliny v séru, byly sloučeniny podle vynálezu rovněž hodnoceny tak, že byly zjišťovány hladiny od nich odvozených derivátů v séru pokusných zvířat, jako laboratorních krys. Hladiny jednotlivých látek v séru lačných krys po orálním podání 20 mg/kg 6'-(2,2-dimethyl-4-fenyl-5-imidazolidinon-1-yl)penicilanoyloxymethyl-penicilanát-1,1-dioxi-
du (I, Y = vodík) jsou

uvedeny v následující tabulce I. Při tomto testu se jako kontrola používá 6'-(2-amino-2-fenylacetamido)penicilanoyloxymethyl-penicilanát-1,1-dioxi-
du (II, Y = vodík) aplikovaný orálně ve stejné dávce jako shora zmíněná sloučenina obecného vzorce I.

Hladina ampicilinu v krvi se zjišťuje standardním biotestem na agarových plotnách za použití *Sarcina lutea* 07A001. K stanovení 1,1-dioxi-
du penicilanové kyseliny se používá *Pasturella* 59B010 na agaru.

Je třeba poukázat na zhruba 50% zlepšení poločasů sloučeniny vzorce I, v němž X znamená vodík, oproti sloučenině vzorce VII, v němž Y znamená vodík.

Tabulka I

Hladiny jednotlivých látek v séru ($\mu\text{g/ml}$) po orálním podání sloučenin I a VII v dávce 20 mg/kg lačným krysám

čas (min)	ampicilin	sloučenina I (Y = H) 1,1-dioxi- du penicilanové kyseliny	sloučenina VII (Y = H)	
			ampicilin	1,1-dioxi- du penicilanové kyseliny
15	1,46	1,04	3,01	1,80
30	1,42	1,27	2,60	2,07
60	0,88	0,75	1,09	0,62
90	0,57	0,40	0,50	0,16
120	0,45	0,24	0,35	0,09
180	0,26	0,14	0,14	0,04
240	0,11	0,06	0,06	0,03
poločas (min)	60,7	49,1	39,25	35,60

Používají-li se sloučeniny obecného vzorce I jako antibakteriální činidla u savců, zejména u lidí, lze je aplikovat jako takové nebo je lze mísit s jinými antibiotiky nebo/a farmaceuticky upotřebitelnými nosiči či ředidly. Tento nosič nebo ředidlo se volí na základě zamýšleného způsobu podání. Tak například, pokládá-li se za výhodnou orální aplikaci, je možno antibakteriálně účinnou sloučeninu podle vynálezu použít ve formě tablet, kapslí, kosočtverečných pastilek, trochejí, prášků, sirupů, elixírů, vodných roztoků či suspenzí apod., v souladu se standardní farmaceutickou praxí. Vzájemný poměr účinné složky k nosiči přirozeně závisí na chemické povaze, rozpustnosti a stabilitě účinné látky, jakož i na uvažovaném dávkování.

V případě tablet k orální aplikaci se jako nosiče obvykle používají laktosa, citrónan sodný a soli kyseliny fosforečné. Při přípravě tablet se rovněž obvykle používají různá desintegrační činidla, jako škrob, a kluzné látky, jako stearat hořečnatý, natrium-laurylsulfát a mastek. Ředidly vhodnými pro přípravu kapslí k orální aplikaci jsou laktosa a polyethylenglykoly s vysokou molekulární hmotností, například polyethylenglykoly s molekulovou hmotností od 2000 do 4000. K přípravě vodných suspenzí určených k orálnímu podání se účinná látka

kombinuje s emulgačními a suspenzačními činidly. Je-li to žádoucí, lze přidávat také sladidla nebo/a chutové přísady.

Jak již bylo uvedeno výše, budou se antibakteriálně účinné sloučeniny podle vynálezu používat v humánní medicíně a jejich aplikované denní dávky se nebudou výrazněji lišit od denních dávek jiných klinicky používaných antibiotik penicilinového typu. Konečné stanovení příslušné dávky pro toho kterého pacienta je věcí ošetřujícího lékaře. Dá se očekávat, že tato dávka se bude měnit v závislosti na věku pacienta a jeho hmotnosti, na odezvě pacienta na preparát, jakož i na povaze a intenzitě symptomů choroby. Sloučeniny podle vynálezu se budou normálně podávat orálně a parenterálně v dávkách zhruba od 5 do 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně, a to obvykle v několika dílčích dávkách. V některých případech může být ovšem nutné používat dávky nižší nebo vyšší, než je shora uvedené rozmezí.

Vynález ilustruje následující příklad provedení, jímž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad

6'-(2,2-dimethyl-4-fenyl-5-imidazolidinon-1-yl)-penicilanoyloxymethyl-penicilanát-1,1-dioxi-
du (I, Y = vodík)

214 mg (0,5 mol) draselné soli hetacilinu (II, Y = vodík, M = draslík) se suspenduje v 5 ml dimethylformamidu a k suspenzi se v jediné dávce přidá 187 mg (0,5 mmol) jodmethyl-penicilanát-1,1-dioxidu (IV, X = jod, belgický patentní spis č. 883 299). Reakční směs se 1,5 hodiny míchá při teplotě místnosti, během kteréžto doby dojde k úplnému rozpuštění všech pevných podílů, pak se k ní přidá 100 ml ethylacetátu a výsledná směs se postupně promyje 50 ml roztoku chloridu sodného, 50 ml vody a 50 ml roztoku chloridu sodného.

Organická fáze se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Vysoušením olejovitého zbytku v proudu suchého dusíku se získá 190 mg (60

procent) sloučeniny uvedené v názvu ve formě suchého prášku.

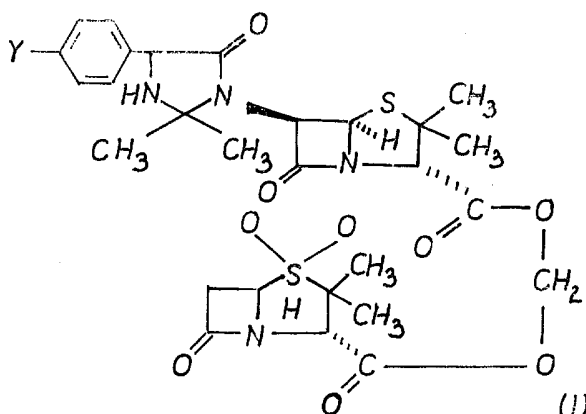
Podle pohyblivosti při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu v systému methylenchlorid-methanol 95 : 5 (detekce postříkáním fosfomolybdátem a zahřevem) je tímto produktem sloučenina uvedená v názvu, tající za rozkladu při 115 až 125 °C.

NMR (deuterochloroform, hodnoty δ):

1,3 až 1,7 (18H, tři dvojice geminálních dimethylových seskupení), 3,4 (2H, C₆-CH₂), 4,2 až 4,7 (5H, C₃, C₇, C_{3'}, C_{6'} a C_{7'}-CH), 5,5 (1H, skupina CH v postranním řetězci), 5,8 (2H, -OCH₂O-) a 2,3 (5H, protony aromatického zbytku) ppm.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

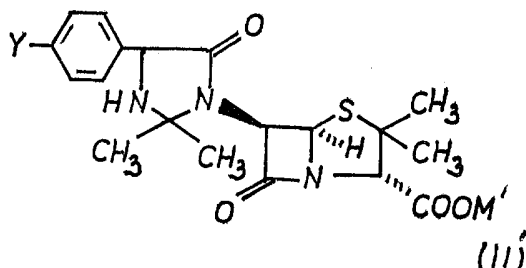
Způsob výroby bis-esterů methandiolu s deriváty penicilanové kyseliny, obecného vzorce I



ve kterém

Y znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu a

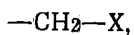
imidazolidinonový postranní řetězec je odvozen od D-formy α -aminofenylactové kyseliny, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II



ve kterém

Y má shora uvedený význam a

M představuje sodík, draslík, vápník, baryum, terc.amoniovou skupinu nebo skupinu

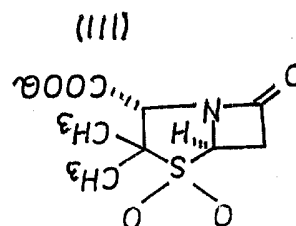


kde

X znamená atom chloru, bromu či jodu,

alkansulfonyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, benzensulfonyloxyskupinu nebo toluensulfonyloxyskupinu,

nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



ve kterém

Q v případě, že M v obecném vzorci II představuje sodík, draslík, vápník, baryum nebo terc.amoniovou skupinu, představuje zbytek -CH₂-X, kde X má shora uvedený význam a v případě, že M v obecném vzorci II představuje zbytek -CH₂X, kde X má shora uvedený význam, znamená Q sodík, draslík, vápník, baryum nebo terc.amoniovou skupinu.