



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

236000

(11) (B2)

- (22) Přihlášeno 15 11 82
(21) (PV 1706-84)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 16 11 81
(81/21.385) Francie
(40) Zveřejněno 31 07 84
(45) Vydáno 15 12 85

(51) Int. Cl.³
C 07 D 501/34,
C 07 D 501/36
//A 61 K 31/545

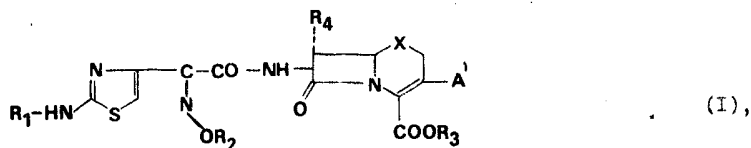
- (72) Autor vynálezu LABEEUW BERNARD, MONTPELLIER, SALHI ALL, SAINT-GELY-DU-FESC (Francie)
(73) Majitel patentu SANOFI S. A., PAŘÍŽ (Francie)

(54) Způsob přípravy nových derivátů pyridiniumthiomethylcefalosporinů

Vynález se týká způsobu přípravy nových derivátů pyridiniumthiomethylcefalosporinů. Tyto deriváty jsou novými chemickými sloučeninami a mají využitelné, zejména farmaceuticky využitelné vlastnosti.

Jestliže se uvedené sloučeniny blíže specifikují, potom se vynález týká přípravy nových cefalosporinů substituovaných v poloze 3 pyridiniumthiometylovou skupinou.

V belgickém patentu 866 038 se popisuje řada sulfoxidů a sulfonů cefalosporinů následujícího obecného vzorce I:

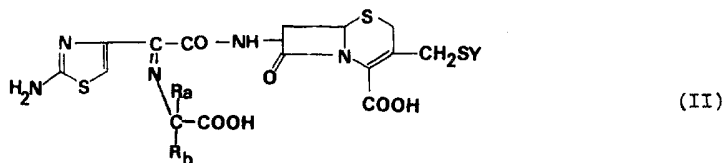


ve kterém obecný substituent X znamená skupinu SO nebo skupinu SO₂.

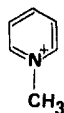
Jakožto konkrétní významy obecného substituentu A' jsou ve zmíněném belgickém patentu uvedeny zejména skupiny CH₂SR₅, ve kterých R₅ znamená případně substituovanou pyridylovou skupinu.

Uvedené cefalosporiny obecného vzorce I údajně vykazují velmi silnou antibakteriální účinnost vůči gram-pozitivním a gram-negativním bakteriím a jsou velmi účinné proti stafylokokům produkujícím penicilinázu.

Kromě toho se ve zveřejněné patentové přihlášce NSR 2 921 332 popisuje skupina cefalosporinů následujícího obecného vzorce II:



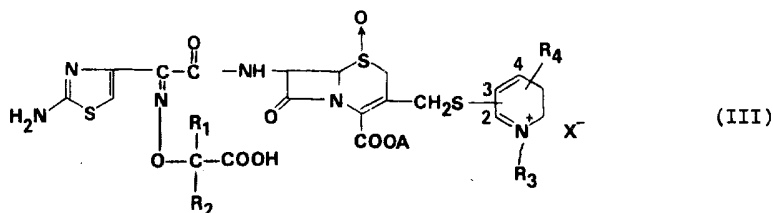
ve kterém Y může znamenat zejména skupinu:



Uvedené cefalosporiny jsou zde prezentovány jakožto antibiotika s širokým spektrem účinnosti.

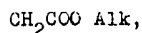
Vynález se na rozdíl od výše uvedených sloučenin týká nových cefalosporinů, jejichž antibakteriální účinnost je podstatně odlišná od antibakteriální účinnosti sloučenin, uvedených v belgickém patentu 866 038 a v patentové zveřejněné přihlášce NSR 2 921 332. Tyto sloučeniny připravené způsobem podle vynálezu mají pozoruhodnou účinnost vůči enterobakteriím, včetně těch enterobakterií, které produkují beta-laktamázy, dobrou účinnost vůči bakteriím kmene *Pseudomonas* a slabou účinnost vůči stafylokokům.

Nové sloučeniny získané způsobem podle vynálezu odpovídají následujícímu obecnému vzorci III



ve kterém

- R_1 znamená vodík nebo metylovou skupinu,
 R_2 znamená metylovou skupinu nebo také
 R_1 a R_2 společně znamenají 1,3-propylenovou skupinu,
 R_3 znamená nižší alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, nižší alkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo nižší elkinylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo ještě skupinu



kde Alk znamená nižší alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

- R_4 znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu zaujímající volnou polohu pyridinového kruhu, přičemž atom síry tiometylové skupiny je vázán v orto- nebo para-poloze vzhledem k atomu dusíku pyridinového kruhu,
A znamená atom vodíku, kation nebo ester nebo poloacetal snadno hydrolyzovatelný nebo metabolicky labilní a farmaceuticky přijatelný
 X^- znamená anion odvozený od minerální nebo organické farmaceuticky přijatelné kyseliny, jako například chloridový, bromidový, acetátový, trifluoracetátový a formiátový anion.

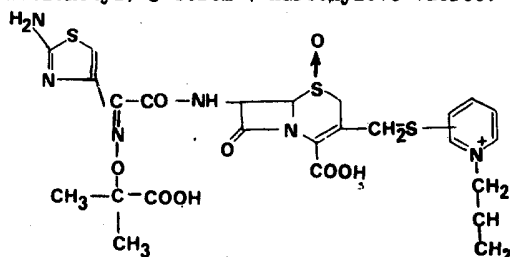
Ze určitých podmínek je rovněž možné převést na sůl kvartérní amonium, a to karboxylovou funkcí nesenou cefemovým jádrem. V tomto případě X^- neexistuje. Tyto interní soli rovněž spadají do rozsahu vynálezu.

V podlohách této přihlášky vynálezu:

- výraz "nižší alkylová skupina" označuje nasycený alifatický uhlovodíkový radikál obsahující nejvýše 4 uhlíkové atomy;
- výraz "nižší alkenylová skupina" označuje alifatický uhlovodíkový radikál obsahující dvojnou vazbu a nejvýše 4 atomy uhlíku;
- výraz "nižší elkinylová skupina" označuje alifatický uhlovodíkový radikál obsahující trojnou vazbu a nejvýše 4 atomy uhlíku;
- výraz "kation" označuje iont alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin, s výhodou sodný iont nebo vápenatý iont, nebo také derivát "amonium" rezultující z protonace organického farmaceuticky přijatelného aminu, jakým je například etylendiemin, etanolamin, trometamin, k vytvoření adiční soli; a
- výraz "ester nebo poloacetal snadno hydrolyzovatelný nebo metabolicky labilní a farmaceuticky přijatelný" označuje radikály, jako například ftalidylový radikál, pivaloyloxymetylový radikál, acetoxymetylový radikál, etoxykarbonyloxymetylový radikál, 1-(etoxykarbonyloxy)etylový radikál, acetonový radikál, alfa-metoxy-alfa-karbomethoxymetylový radikál, karbomethoxymetylový radikál, karbetoxy-metylový radikál.

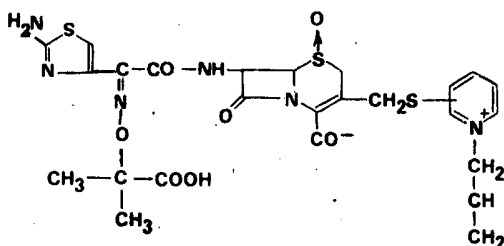
Vynález se zejména týká způsobu výroby sloučenin obecného vzorce III zvolené ze skupiny zahrnující:

- farmaceuticky přijatelnou, minerální nebo organickou kvartérní sůl isomeru syn 1-S-oxidu kyseliny 7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(karboxy-2-propyloxiimino)acetamido]-3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-3-cefem-4-karboxylové vzorce:



a produkty získané převedením na sůl nebo esterifikací nebo poloacetalizací alespoň jedné karboxylové funkce uvedené soli a případným převedením na sůl aminové funkce uvedené soli, a

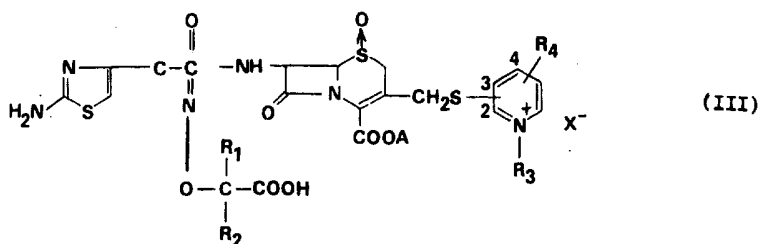
- vnitřní kvartérní sůl isomeru syn výše uvedené kyseliny, přičemž tato vnitřní sůl má následující vzorec:



a produkty získané převedením na sůl nebo esterifikací nebo poloacetalizací kyselé funkce uvedené vnitřní kvartérní soli a případným převedením na sůl aminové funkce uvedené vnitřní kvartérní soli.

Vynález se zejména týká trifluoracetátu isomeru syn 1-S-oxidu kyseliny 7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(2-karboxy-2-propyloxyimino)acetamido]-3-(N-allyl-2-pyridinyltiometyl)-3-cefem-4-karboxylové nebo hydrochloridu bromidu uvedené kyseliny anebo hydrochloridu uvedené kyseliny.

Předmětem vynálezu je způsob přípravy nových derivátů pyridiniumtiometylcefalosporinu obecného vzorce III

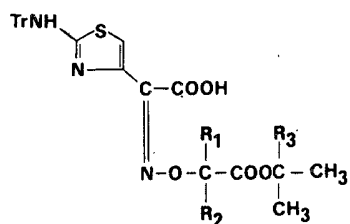


ve kterém

- R_1 znamená atom vodíku nebo metylovou skupinu,
 R_2 znamená metylovou skupinu nebo
 R_1 a R_2 dohromady znamenají 1,3-propylenovou skupinu,
 R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo elkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo skupinu $CH_2COOAlk$, kde Alk znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,
 R_4 znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu zaujímající volnou polohu pyridinového cyklu, přičemž atom síry tiometylové skupiny je připojen v orto-nebo para-poloze vzhledem k atomu dusíku pyridinového cyklu,
 A znamená vodík, kation nebo ester nebo poloacetal snadno hydrolyzovatelný nebo metabolicky labilní a farmaceuticky přijatelný, zvolený ze skupiny zahrnující ftalidylovou skupinu, pivaloyloxymetylovou skupinu, acetoxy-metylovou skupinu, etoxykarbonyloxymetylovou skupinu, 1-(etoxykarbonyloxy)etylovou skupinu, acetoxylovou skupinu, alfa-metoxi-alfa-karbometoxy-metylovou skupinu, karbometoxyetylovou skupinu a karbetoxy-metylovou skupinu,
 X^- znamená anion odvozený od farmaceuticky přijatelné organické nebo minerální kyseliny, jakým je například chloridový anion, bromidový anion, acetatový anion, trifluoracetátový anion a formiátový anion,

přičemž uvedené produkty jsou ve formě syn nebo anti anebo ve formě směsi těchto isomerů, jehož podstata spočívá v tom, že

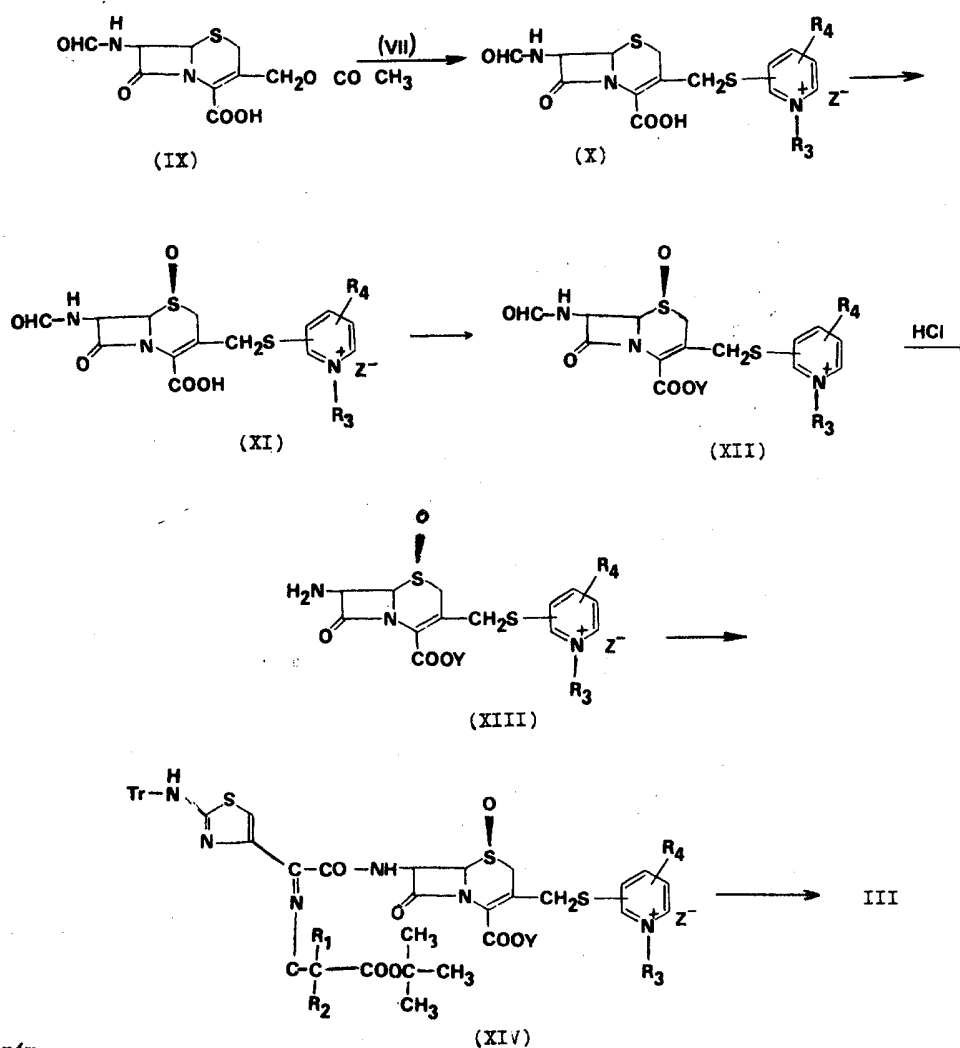
- že se uvede v reakci pyridintion s alkalickou solí kyseliny 7-formylaminocefalosporinové, přičemž se tato reakce provádí ve vodném roztoku, v přítomnosti jodidu sodného a při teplotě 40 až 80 °C,
- načež se uvolní kyselá karboxylová funkce získaného produktu,
- získaná kyselina se uvede v reakci s peroxidem vodíku nebo perkyselinou k vytvoření sulfoxidové skupiny s atomem síry
- takto získaný sulfoxid se esterifikuje k vytvoření esterové skupiny, která bude později snadno eliminovatelná k opětovnému získání kyseliny,
- získaný produkt se deformyluje působením tionylchloridu v roztoku
- a takto získaný produkt se acyluje na takto uvolněném dusíku působením chloridu kyseliny vzorce



přičemž uvedená acylační reakce se provádí v rozpouštědle, jakým je například metylenchlorid, v přítomnosti dimetylanilinu a

- získaný cefalosporin zbavený ochranných skupin se potom případně uvede v reakci s minerální nebo organickou bází nebo s alkoholem.

Při způsobu podle vynálezu se sloučeniny obecného vzorce III připraví z kyseliny 7-formyleminocefalosporonové podle následujícího reakčního schématu:



ve kterém

Tr znamená tritylovou skupinu a

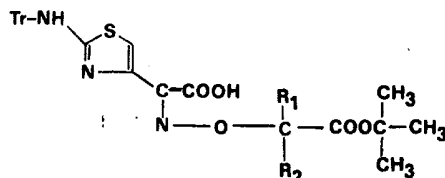
Z znamená minerální anion.

První stupeň spočívá v tom, že se uvede v reakci pyridintion obecného vzorce VII s kyselinou 7-formylaminocefalosporanovou obecného vzorce IX nebo s výhodou s její alkalickou solí. Pracuje se ve vodném roztoku v přítomnosti jodidu sodného při teplotě 40 až 80 °C. Produkt obecného vzorce X se takto izoluje ve formě pyridiniumjodidu a případně ve formě alkalické soli.

V následujícím stupni se uvolní kyselá karboxylová funkce působením kyseliny, jakou je například kyselina chlorovodíková, načež se s výhodou z důvodů stability převede pyridiniumjodid na chlorid průchoodem sloupce iontoměniče v chloridovém cyklu.

Produkt obecného vzorce X se potom převede na odpovídající sulfoxid obecného vzorce XI působením peroxidu vodíku nebo perkyseliny, jako je například kyselina metachlorperbenzoová. Sulfoxid obecného vzorce XI se převede na ester obecného vzorce XII, ve kterém skupina Y znamená skupinu, kterou bude možné později snadno oddělit; touto skupinou je například skupina difenylmetylová, skupina terc.butylová nebo skupina trimetylsilylová.

Sloučenina obecného vzorce XII se deformyluje na aminovém dusíku, například působením thionylchloridu v metanolu. 7-aminová sloučenina se izoluje ve formě chlorhydrátu obecného vzorce XIII. Tato sloučenina se potom acyluje na dusíku za použití chloridu kyseliny následujícího obecného vzorce:



ve kterém

Tr znamená tritylovou skupinu.

Acylační reakce se provádí v rozpouštědle, jakým je například metylenchlorid, v přítomnosti dimylenilinu. Tímto způsobem se získá cefalosporin obecného vzorce XIV chráněný ochrannou skupinou, který po zpracování v silně kyselém prostředí poskytuje sloučeniny obecného vzorce III podle vynálezu. K eliminaci ochranné skupiny lze zejména použít směs kyseliny chlorovodíkové a kyseliny mravenčí nebo také kyseliny trifluoroctové.

Sloučeniny obecného vzorce III podle vynálezu, ve kterém obecný substituent A má jiný význam než atom vodíku, se získají ze sloučeniny obecného vzorce III, ve kterém obecný substituent A znamená atom vodíku, o sobě známými reakcemi.

Stejně tak se minerální soli získají ze sloučenin obecného vzorce III, ve kterém obecný substituent A znamená vodík, působením minerální báze, jakou je například uhličitán sodný, uhličitán dreselný nebo hydrogenuhličitán sodný, v ekvimolárním množství. Reakce se provádí v rozpouštědle, jakým je například voda nebo etanol, a získaná sůl se izoluje odpařením roztoku.

Soli odvozené od organických bází se získají působením ekvimolárního množství organické báze na roztok sloučeniny obecného vzorce III, ve kterém obecný substituent A znamená atom vodíku, ve vhodném rozpouštědle nebo ve směsi vhodných rozpouštědel. Sůl se potom izoluje vysrážením éterem.

Estery se získají o sobě známými esterifikačními postupy; s výhodou se použije např. účinku halogenovaného derivátu na sůl, jakou je například sodná sůl kyseliny. Tato reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle schopném rozpustit výchozí kyselinový derivát, jakým je například dimethylformamid.

Isomery ve formě syn a anti se získají vhodnou volbou reakčních složek.

Za účelem bližšího objasnění podstaty vynálezu je v následující části popisu uvedeno několik konkrétních příkladů provedení, které vlastní rozsah vynálezu nikterak neomezuji a mají pouze ilustrativní charakter.

Jak je to obvyklé u tohoto typu sloučenin, nemají ani sloučeniny vyrobené způsobem podle vynálezu jednoznačnou teplotu tání, ale pouze teplotu rozkladu, která je však nemůže specificky charakterizovat.

Tyto sloučeniny tedy budou charakterizovány jejich nukleárními magneticko-rezonančními spektry, získanými při 60 MHz, přičemž se jako vnitřního standardu použije hexametyldisiloxanu. Přitom se použije následujících zkratk:

S = singlet
D = dublet
T = triplet
Q = kvadruplet
D-D = dublovaný dublet
S.e. = rozšířený singlet
M = multiplet
AB = systém AB
J = vazbová konstanta.

Kromě toho byla v každém případě provedena elementární analýza, přičemž tato elementární analýza ve všech případech souhlasila s uvedeným vzorcem.

P ř í k l a d 1

Trifluoracetát 1-S-oxidu kyseliny 7-[2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-(2-karboxy-2-propyloxyimino)acetamido]-3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn; produkt 40874

Stupeň a)

Jodid 3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-7-formylamino-3-cefem-4-karboxylátu draselného

K roztoku 5,1 g jodidu sodného v 25 ml vody se přidá 17 g draselné soli kyseliny 7-formylaminocefalosporonové a 12,7 g N-allylpyridin-2-ionu.

Takto získaná směs se míchá po dobu 4 hodin při teplotě 60 °C. Po ochlazení se získaný roztok nalije do 1,7 l acetonu a vyloučená sraženina se odstředí a opláchne acetonem a potom éterem. Potom se vysuší za vakua.

Stupeň b)

Chlorid kyseliny 3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-7-formylamino-3-cefem-4-karboxylové

20 g produktu získaného v předcházejícím reakčním stupni se rozpustí ve 100 ml vody a takto získaný roztok se okyslí 2N kyselinou chlorovodíkovou k dosažení pH 1,5. Vodná fáze se oddělí od lehké sraženiny a zavede na sloupec iontoměničové pryskyřice typu Amberlite IRA 68 v chloridovém cyklu.

Eluce se provádí vodou. Voda se z eluátu potom odpaří k suchu za sníženého tlaku a zbytek se vyjme absolutním etanolem. Roztok se opětovně odpaří k suchu a zbytek se vyjme éterem. Pevný podíl se potom odstředí a vysuší za vakua.

NMR-spektrum:

- 2 H - 9,10 ppm (H_6' pyridin, NH CO, M);
- 1 H - 8,45 ppm (H_4' pyridin, TD);
- 2 H - 8,10 ppm ($H-CO-N$, H_3' pyridin, M);
- 1 H - 7,95 ppm (H_5' pyridin, TD);
- 1 H - 6,00 ppm ($CH=$, M);
- 1 H - 5,70 ppm (H_7 , M);
- 5 H mezi 4,95 a 5,40 ppm (H_6 , CH_2N^+ a $=CH_2$, M);
- 2 H - 4,45 ppm (CH_2 v poloze 3, AB, $J_{AB}=13$ Hz);
- 2 H - 3,60 ppm (CH_2S cyklus, AB, $J_{AB}=17$ Hz).

Stupeň c)

Chlorid kyseliny 3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-7-formylamino-3-cefem-4-karboxylové ve formě 1-S-oxidu

6 g produktu získaného v předcházejícím stupni b) se rozpustí ve 30 ml kyseliny mrvenci. K takto získanému roztoku se přidá 30 ml metanolu a roztok se ochladí na teplotu 5 °C. K ochlazenému roztoku se potom během 5 minut přidá 2,7 g kyseliny metachlorperbenzoové. Teplota se nechá vystoupit na 20 °C a směs se míchá při této teplotě po dobu 30 minut.

Pevný podíl se odfiltruje a takto získaný roztok se nalije do 600 ml éteru. Pevný podíl se odstředí, opláchne éterem a vysuší za vakua.

NMR-spektrum:

- 1 H - 8,96 ppm (H_6' pyridin, D, $J=6$ Hz)
- 2 H - 8,30 ppm (H_4' pyridin, NH CO, M);
- 2 H - 8,10 ppm (H_3' pyridin, $H-CO-N$, M);
- 1 H - 7,80 ppm (H_5' pyridin, TD, $J = 6$ Hz);
- 1 H - 6,0 ppm ($CH=$, M);
- 1 H - 5,90 ppm (H_7 , M);
- 5 H mezi 5,0 a 5,50 ppm (CH_2N^+ , $CH_2=$, H_6 , M);
- 2 H - 4,45 ppm (CH_2S , AB, $J_{AB}=13$ Hz);
- 2 H - 3,95 ppm ($CH_2S \rightarrow O$, AB, $J_{AB}=17$ Hz).

Stupeň d)

Chlorid 1-S-oxidu difenylmetyl-3-(N-allylpyridinio-2-tiometyl)-7-formylamino-3-cefem-4-karboxylátu

4,5 g produktu získaného v předcházejícím stupni c) se rozpustí ve 45 ml vody a k takto získanému roztoku se přidá 130 ml roztoku difenyldiazometanu v metylenchloridu. Směs se potom intenzivně míchá, načež se přidá do 90 ml absolutního etanolu a pH se udržuje na hodnotě 2 přidáváním koncentrované kyseliny chlorovodíkové.

Po 45 minutách se roztok odbaví. Organická vrstva se dekantuje a vodná fáze se reextrahuje metylenchloridem. Organické extrakty se sloučí a zahustí k suchu. Zbytek se vyjme absolutním etanolem a získaný roztok se odpaří k suchu. Zbytek se vyjme éterem, načež se pevný podíl odstředí a vysuší za vakua.

NMR-spektrum:

- 1 H - 9,10 ppm (H_6' pyridin, D, $J=5$ Hz);
- 1 H - 8,45 ppm ($CO NH$; D, $J=9$ Hz);
- 1 H - 8,20 ppm (H_4' pyridin, T, $J=7$ Hz);
- 1 H - 8,10 ppm (H CO-, S);
- 1 H - 8,0 ppm (H_3' pyridin, D, $J=7$ Hz);
- 1 H - 7,85 ppm (H_5' pyridin, T deformovaný);
- 10 H - 7,30 ppm (H aromatické, M);
- 1 H - 6,85 ppm ($COO CH_2$, S);
- 2 H - 6,0 ppm ($H_7 + CH=$, M);
- 5 H mezi 5,5 a 5 ppm (H_6 , CH_2N^+ , $=CH_2$, M);
- 2 H - 4,45 ppm (CH_2 , AB, $J_{AB}=13$ Hz);
- 2 H - 4,0 ppm ($CH_2S \rightarrow O$, AB, $J_{AB}=17$ Hz).

Stupeň e)

Hydrochlorid chloridu 1-S-oxidu 3-(N-allylpyridinio-2-tiometyl) 7-amino-3-cefemkarboxylátu

3 g produktu získaného výše uvedeným způsobem se rozpustí v 10 ml metanolu pod inertní atmosférou. Tekto získaný roztok se ochladí na teplotu 10 °C, načež se k němu přidá během 5 minut 0,8 ml tionylchloridu, přičemž se udržuje teplota nižší než 20 °C.

Směs se potom míchá po dobu 30 minut při teplotě 20 °C, načež se nalije do 300 ml éteru. Pevný podíl se odstředí a promyje éterem. Potom se takto promytý produkt vysuší nad oxidem fosforečným.

Stupeň f)

Chlorid 1-S-oxidu 7-[2-(2-tritylamino-4-tiazolyl)-2-(2-terc.butoxykarbonyl-2-propyloxiimino)acetamido]-3-(N-allyl-2-pyridinotiometyl)-3-cefem-4-karboxylátu difenylmetylnatého ve formě isomeru syn

Chlorid kyseliny 2-(2-tritylamino-4-tiazolyl)-2-(2-terc.butoxykarbonyl-2-propyloxiimino)-octové ve formě isomeru syn

Pod atmosférou dusíku se 3,4 g kyseliny 2-(2-tritylamino-4-tiazolyl)-2-terc.butoxykarbonyl-2-propyloxiimino)octové ve formě isomeru syn suspenduje ve 20 ml metylenchloridu. K suspenzi se potom přidá 1,4 g chloridu fosforečného a směs se míchá po dobu 30 minut, přičemž se udržuje teplota nižší než 0 °C. Roztok se potom nalije do 200 ml hexanu. Pevný podíl se odstředí a vysuší za vakua nad oxidem fosforečným. Chlorid kyseliny se použije jako tekový.

3,3 g derivátu získaného v odstavci e) se suspenduje ve 30 ml metylenchloridu. Suspenze se ochladí na teplotu 5 °C, načež se k ní přidá 1,7 ml dimetylenilinu a teplota se nechá vystoupit na 20 °C. Po jedné hodině míchání se roztok promyje 30 ml 0,5 N roztoku kyseliny chlorovodíkové. Organický roztok se potom vysuší a zahustí na objem 10 až 15 ml. Tento roztok se nalije do 150 ml isopropyléteru. Pevný podíl se odstředí, promyje isopropyléterem a vysuší za vakua.

Takto získaný surový produkt se chromatografuje na sloupci silikagelu (120 g). Jako eluční soustavy se použije směs metylenchloridu a metanolu v objemovém poměru 85:15, přičemž se získá požadovaný produkt.

EMR spektrum:

- 1 H - 9,05 ppm (H'_6 pyridin, D, J=6 Hz);
 1 H - 8,85 ppm (NH trit, S.e.);
 2 H - 8,25 ppm (H'_4 pyridin, NH CO, M);
 1 H - 8,0 ppm (H'_3 pyridin, D, J = 7 Hz);
 1 H - 7,80 ppm (H_5 , pyridin, TD);
 25 H - 7,27 ppm (H aromatické, M);
 1 H - 6,85 ppm (H tiazol, S);
 1 H - 6,75 ppm ($COOCH=$, S);
 2 H - 5,95 ppm (H_7 + $CH=$, M);
 5 H mezi 5,0 a 5,5 ppm (CH_2N^+ , $CH_2=$, H_6 , M);
 2 H - 4,45 ppm (CH_2S , AB, $J_{AB}=12$ Hz);
 2 H - 4,0 ppm ($CH_2 \rightarrow O$, AB, $J_{AB}=17$ Hz);
 6 H - 1,40 ppm ($(CH_3)_2C-$, S);
 9 H - 1,30 ppm ($-C \begin{array}{l} \nearrow CH_3 \\ \longrightarrow CH_3 \\ \searrow CH_3 \end{array}$, S).

Stupeň g)

Produkt CM 40 874

1 g produktu chráněného ochrannou skupinou a získaného v předcházejícím stupni f) se rozpustí ve 2 ml anisolu a takto získaný roztok se ochladí na teplotu 5 °C, načež se k němu přidá 10 ml kyseliny trifluoroctové. Teplota reakční směsi se potom nechá vystoupit na 20 °C a směs se nechá při této teplotě po dobu 2 hodin.

Kyselina trifluoroctová se potom odpeří za vakua a produkt se vysráží přidávkou éteru. Produkt se odstředí, promyje éterem a vysuší.

NMR spektrum:

- 1 H - 9,05 ppm (H'_6 pyridin, D, J=5 Hz);
 1 H - 8,50 ppm (NH CO, D, J=9 Hz);
 1 H - 8,35 ppm (H'_4 pyridin, M);
 1 H - 8,20 ppm (H'_3 pyridin, D, J=7 Hz);
 1 H - 7,95 ppm (H'_5 pyridin, M);
 4 H mezi 7 a 10 ppm (2 $COOH$, NH_2);
 1 H - 6,82 ppm (H tiazol, S);
 2 H - 6,0 ppm (H_7 a $CH=$, M);
 5 H mezi 5,0 a 5,6 ppm (CH_2N^+ , $CH_2=$ a H_6 , M);
 1 H - 4,5 ppm (CH_2S , A z AB, $J_{AB}=13$ Hz);
 1 H - 4,32 ppm (CH_2 , B z AB, $J_{AB}=13$ Hz);

1 H - 4,0 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$, A z AB, $J_{AB}=17$ Hz);

1 H - 3,8 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$, B z AB, $J_{AB}=17$ Hz);

6 H - 1,45 ppm ($-\text{C}-\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array}$, S).

Ze použití způsobu podle vynálezu bylo možné připravit:

- produkt CM 40874, ve kterém

$R_1 = \text{CH}_3$

$R_2 = \text{CH}_3$

$R_3 = \text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$

$R_4 = \text{H}$

$A = \text{H}$

$X = \text{CF}_3\text{COO}^-$,

stejně jako produkty uvedené v tabulce I;

- produkt 40914, ve kterém

$R_1 + R_2 = (\text{CH}_2)_3$

$R_3 = \text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$

$R_4 = \text{H}$

$A = \text{H}$

$X = \text{CF}_3\text{COO}^-$

stejně jako produkty uvedené v tabulce II; a

- produkt CM 40800, ve kterém

$R_1 = \text{H}$

$R_2 = \text{CH}_3$

$R_3 = \text{CH}_3$

$R_4 = \text{H}$

$A = \text{H}$

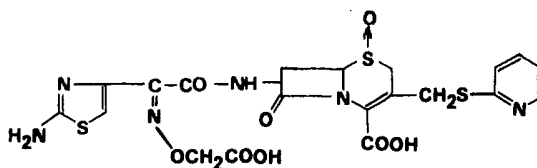
$x = \text{CF}_3\text{COO}^-$.

Produkty obecného vzorce III podle vynálezu byly studovány s důrazem na jejich farmakologické vlastnosti a zejména na jejich bakteriostatický účinek.

Bakteriostatický účinek in vitro byl stanoven na pevném substrátu zředovací metodou. Získané výsledky jsou vyjádřeny jako minimální inhibiční koncentrace (CMI v $\mu\text{g/ml}$) a týkají se rozličných kmenů Enterobakterií a Pseudomonas.

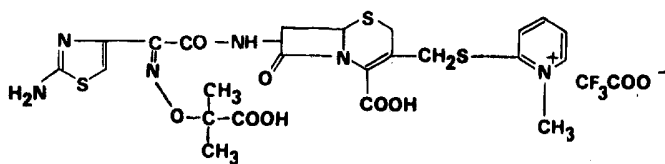
Za účelem srovnání jsou připojeny rovněž výsledky s dvěma produkty blízkého složení, které již byly popsány, a to:

1-S-oxid kyseliny 7-[2-(2-amino-4-tiazolyl-2-karboxymetoxyminoacetamido)-3-(2-pyridyltiometyl)-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn (sloučenina A) vzorce:



(belgický patent č. 886 038)

trifluoracetát kyseliny 7-[2-(2-aminotiazolyl)-2-(2-karboxy-2-propyloxiimino)acetamido]-3-(N-metyl-2-pyridinotiometyl)-3-cefem-4-karboxylové ve formě isomeru syn (sloučenina B) vzorce:



(zveřejněná přihláška vynálezu NSR č. 2 921 332)

Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 3.

Tyto výsledky ukazují obzvláště výraznou účinnost produktů podle vynálezu vůči kmenům, které jsou zpravidla málo citlivé na antibiotika skupiny cefalosporinů, a to vůči kmenům Enterobacteries a Pseudomonas.

Ve srovnání s referenčním produktem A, vykazují produkty obecného vzorce III překvapující účinnost vůči následujícím kmenům: Citrobacter, Enterobacter, Serratia a Pseudomonas, přičemž si zachovávají tyto produkty účinnost vůči kmenům Klebsiella a Proteus, která je srovnatelná s účinností referenční sloučeniny A vůči těmto kmenům.

Ve srovnání s referenčním produktem B vykazují produkty obecného vzorce III účinnost, která je vyšší, pokud jde o Citrobacter, Proteus a Enterobacter, přičemž si vůči ostatním kmenům zachovávají stejnou účinnost a v některých případech i vyšší účinnost.

Kromě toho prokázaly testy na zvířatech, že sloučeniny obecného vzorce III podle vynálezu nejsou toxické. Jejich toxicita je srovnatelná s toxicitou sloučenin skupiny cefalosporinů.

Uvedené sloučeniny podle vynálezu mohou být tedy použity jakožto antibiotika v humánní a veterinární medicíně. Mohou být použity pro potlačení všech bakteriálních infekcí, vůči kterým jsou účinné.

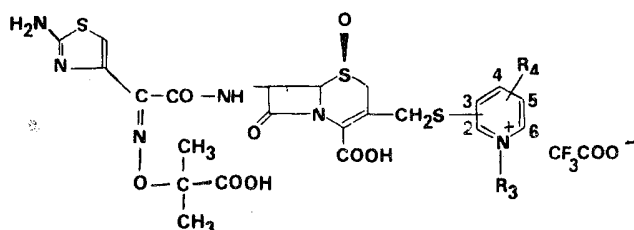
Odpovídající farmaceutické přípravky se připravují ze sloučenin obecného vzorce III v jejich kyselé formě anebo v případě, že rozpustnost kyselé formy je nedostačující, ve formě solí.

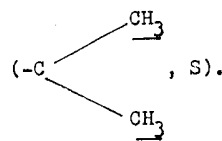
Dávka účinné látky se může měnit v širokých mezích, a to zejména podle typu a závažnosti infekce a podle způsobu podávání. Nejčastěji tato dávka činí pro dospělého člověka a při aplikaci injekcí 0,250 až 4 g na jeden den.

Jakožto příklad farmaceutického přípravku, obsahujícího produkt obecného vzorce III podle vynálezu, je možné uvést injikovatelné ampule obsahující:

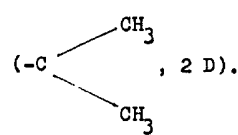
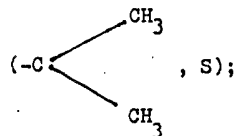
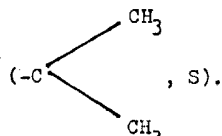
produkt CM 40 874 b	1 g
vođa po injekci	5 ml
uhličitén sodný v množství nezbytném k dosažení pH = 6,3.	

Т а б у л к а 1



Číslo produktu	R ₃	R ₄	Substituční poloha pyridinu	MNR-spektrum
40763	CH ₃	H	2	1 H - 9,00 ppm (H₆ pyridin, D, J=6 Hz); 4 H mezi 7,60 a 8,60 ppm (NHCO, H₃, H₄, H₅ pyridin, M); 1 H - 6,83 ppm (H tiazol, S); 1 H - 5,97 ppm (H₇, M); 1 H - 5,00 ppm (H₆, D, J=4 Hz); 2 H - 4,40 ppm (CH₂, S.e.); 3 H - 4,20 ppm (CH₃-N⁺, S); 2 H - 3,80 ppm (CH₂S → O, S.e.); 6 H - 1,46 ppm  (-C $\begin{matrix} \nearrow \text{CH}_3 \\ \searrow \text{CH}_3 \end{matrix}$, S).
40876	CH ₃	H	4	2 H - 8,64 ppm (H₂, H₆ pyridin, D, J=7 Hz); 1 H - 8,40 ppm (NHCO, D, J=9 Hz); 2 H - - 7,95 ppm (H₃, H₅ pyridin, D, J=7 Hz); 4 H - 7,50 ppm (NH₂, 2 COOH, S.e.); 1 H - 6,80 ppm (H tiazol, S); 1 H - 5,95 ppm (H₇, D z D, J₁=9Hz, J₂ = 4 Hz); 1 H - - 5,05 ppm (H₆, D, J=4 Hz); 1 H - 4,40 ppm /H₆, D, J=4 Hz); 1 H - 4,40 ppm); (CH₂S, A z AB, J_{AB} = 13 Hz); 1 H - 4,35 ppm (CH₂S, B z AB, J_{AB}=13 Hz);

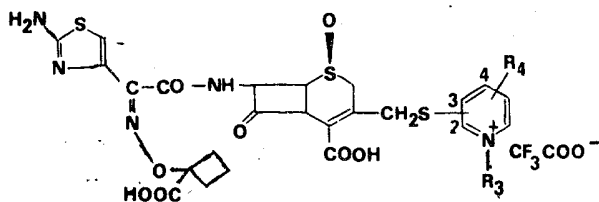
Pokračování tabulky 1

Číslo produktu	R ₃	R ₄	Substituční poloha pyridinu	NMR-spektrum
				3 H - 4,16 ppm (CH_3^+N, S); 1 H - 3,89 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$, A z AB, $J_{AB}=17\text{Hz}$); 1 H - 3,76 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$, B z AB, $J_{AB}=17\text{Hz}$); 6 H - 1,43 ppm 
40912	$\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$	H	2	5 H mezi 7,5 a 9,1 ppm (H_3, H_4, H_5 a H_6 pyridin a NHCO, M); 1 H - 6,85 ppm (H tiazol. S); 1 H - 6,0 ppm (H_7, M); 2 H - 5,65 ppm (CH_2N^+, M); 3 H - 5,0 ppm (H_6 a CH_2S, M); 2 H - 3,95 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$, S.e.); 6 H - 1,43 ppm  [$\equiv\text{CH}$ maskovaný dimetylsulfoxidem]
40972	CH_3	3-OH	2	5 H mezi 6,5 a 10 ppm (H_2N, 2 COOH, OH, M); 1 H - 8,60 ppm (H_6 pyridin, M); 1 H - 8,45 ppm (NHCO, D, $J=9\text{Hz}$); 2 H - 7,9 ppm (H_4 a H_5 pyridin, M); 1 H - 6,80 ppm (H tiazol, S); 1 H - 6,0 ppm (H_7, M); 1 H - 4,96 ppm (H_6, D, $J=5\text{Hz}$); 5 H - 4,30 ppm (CH_2N^+ a CH_2S, M); 2 H - 3,85 ppm ($\text{CH}_2\text{S} \rightarrow \text{O}$); 6 H - 1,47 ppm 
41087	$\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$	H	2	1 H - 9,2 ppm (NHCO, D, $J=9\text{Hz}$); 4 H mezi 7,5 a 8,8 ppm (H_3, H_4, H_5 a H_6 pyridin, M); 1 H - 6,90 ppm (H tiazol, S); 1 H - 6,0 ppm (H_7, M); 2 H - 5,67 ppm (CH_2N^+, S.e.); 1 H - 5,0 ppm (H_6, D, $J=5\text{Hz}$); 2 H - 4,30 ppm (COOCH_2-, Q, $J=7\text{Hz}$); 2 H - 3,90 ppm ($\text{CH}_2 \rightarrow \text{O}$, S.e.); 6 H - 1,45 ppm

Pokračování tabulky 1

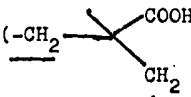
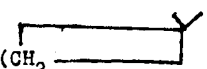
Číslo produktu	R ₃	R ₄	Substituční poloha pyridinu	NMR-spektrum
				$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ (-\text{C} \quad , \text{S}); \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$ 3 H - 1,20 ppm (COOCH₂CH₃, T, J=7 Hz).
41607	-CH ₂ -CH=CH ₂	H	4	2 H - 8,70 ppm (H alfa pyridin, D, J=6 Hz); 1 H - 8,45 ppm (NH-CO, D, J=9 Hz); 2 H - 8,0 ppm (H beta pyridin, D, J=6 Hz); 1 H - 6,80 ppm
41607	-CH ₂ -CH=CH ₂	H	4	(H tiazol, S); 2 H - 6,0 ppm (H ₇ +CH=, M); 2 H - 5,40 ppm (-CH ₂ , M); 3 H - 5,05 ppm (H ₆ +CH ₂ N ⁺ , M); 2 H - 4,45 ppm (CH ₂ S, M); 2 H - 3,80 ppm (CH ₂ S → O, AB, J _{AB} =16 Hz); 6 H - 1,45 ppm (C-(CH ₃) ₂ , 2 S).

Tabulka 2



Číslo produktu	R ₃	R ₄	Substituční poloha pyridinu	NMR-spektrum
40882	CH ₃	H	2	9 H mezi 7,5 a 9,5 ppm (NH₂, 2 COOH, NHCO, H₃, H₄, H₅ a H₆ pyridin, M); 1 H - 6,88 ppm (H tiazol, S); 1 H - 6,0 ppm (H₇, M); 1 H - 5,07 ppm (H₆, D, J=4 Hz); 2 H - 4,45 ppm (CH₂S-, M); 3 H - 4,25 ppm (CH₂N⁺, S); 2 H - 3,93 ppm (CH₂S → O, M); 6 H mezi 1,5 a 2,7 ppm (, M);
40954	CH ₃	H	4	7 H mezi 8,3 a 9,0 ppm (NHCO, NH₂, 2 COOH, H₂ a H₆ pyridin, M); 2 H - 7,90 ppm (H₃ a H₅ pyridin, D, J=6 Hz); 1 H - 6,82 ppm (H tiazol, S); 1 H - 6,00 ppm (H₇, D z D, J₁=9 Hz, J₂=5 Hz); 1 H - 5,0 ppm (H₆, D, J=5 Hz); 2 H - 4,40 ppm (CH₂S, S.e.); 3 H - 4,20 ppm

Pokračování tabulky 2

Číslo produktu	R ₃	R ₄	Substituční poloha pyri- dinu	NMR-spektrum
				(CH ₂ -N ⁺ , S); 2 H - 3,80 ppm (CH ₂ S → O, S.e.); 6 H mezi 1,5 a 3 ppm)
				 , M).
41647	-CH ₂ -CH=CH ₂	H	4	1 H - 8,80 ppm (NH-CO, D, J=9 Hz); 2 H - 8,70 ppm (H alfa-pyridin, D, J=6 Hz); 2 H - 8,0 ppm (H beta-pyridin, D, J=6 Hz); 1 H - 6,80 ppm (H tiazol, S); 2 H - 6,00 ppm (H₇+CH=, M); 2 H - 5,40 ppm (CH₂=, M); 3 H - 5,05 ppm (H₆+CH₂N⁺, M); 2 H - 4,45 ppm (CH₂S, M); 2 H - 3,80 ppm (CH₂S → O, AB, J_{AB} = 16 Hz); 4 H - 2,45 ppm  , M); 2 H - 1,90 ppm ).

T a b u l k a 3

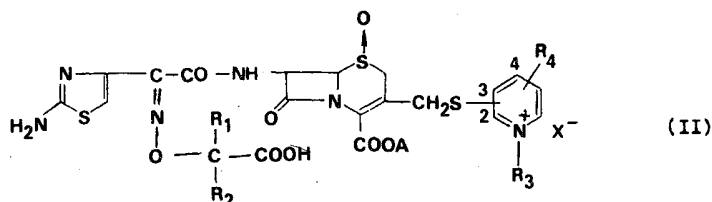
Kmen	Produkt				
	40874	40914	40763	40876	40800
Citrobacter	4	4	2	1	2
Proteus 1510	0,031	0,125	0,125	0,125	0,25
Serratia RL 72	0,5	0,25	0,25	0,25	2
Klebsiella RO 30	0,25	0,125	0,25	0,125	0,25
Enterobacter RO 46	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25
Enterobacter P 99	0,5	0,5	1	0,5	1
Pseudomonas A 22 IP	8	8	4	2	16
Pseudomonas RL 112	8	8	4	4	8

T A b u l k a 3 (pokračování)

Kmen	Produkt				
	40882	40954	41087	A	B
Citrobacter 49	4	2	0,5	16	8
Proteus 1510	≤ 0,125	≤ 0,125	0,25	0,25	4
Serratia RL 72	0,5	0,25	2	32	2
Klebsiella RO 30	≤ 0,125	≤ 0,125	0,5	0,5	0,25
Enterobacter RO 46	0,25	≤ 0,125	1	8	64
Enterobacter P 99	0,5	0,5	2	16	256
Pseudomonas A 22 IP	2	2	-	> 256	8
Pseudomonas RL 112	4	4	-	256	16

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob přípravy nových derivátů pyridiniumtiometylcefalosporinů obecného vzorce III

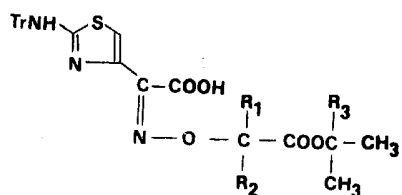


ve kterém

- R_1 znamená atom vodíku nebo metylovou skupinu,
- R_2 znamená metylovou skupinu nebo
- R_1 a R_2 dohromady znamenají 1,3-propylenovou skupinu,
- R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo alkylovou skupinu se 2 až 4 atomy uhlíku nebo skupinu CH_2COOAlk , kde Alk znamená alkylový radikál s 1 až 4 atomy uhlíku,
- R_4 znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu zaujímající volnou polohu pyridinového cyklu, přičemž atom síry tiometyllové skupiny je připojen v poloze orto nebo para vzhledem k atomu dusíku pyridinového kruhu,
- A znamená vodík, kation nebo ester nebo poloacetal snadno hydrolyzovatelný nebo metabolicky labilní a farmaceuticky přijatelný, zvolený ze skupiny zahrnující ftalidylovou skupinu, pivaloyloxymetylovou skupinu, acetoxyetylovou skupinu, etoxykarbonyloxymetylovou skupinu, 1-(etoxykarbonyloxy)etylovou skupinu, acetoxylovou skupinu, alfa-metoxi-alfa-karbometyloxymetylovou skupinu, karbometyoxyetylovou skupinu a karbometyloxymetylovou skupinu,
- X^- znamená anion odvozený od minerální nebo organické farmaceuticky přijatelné kyseliny, jakým je na příklad chlorid, bromid, acetat, trifluoracetát a formiát,

přičemž uvedené produkty jsou ve formě syn nebo anti anebo ve formě směsi těchto isomerů, vyznačený tím, že se uvede v reakci pyridintion a alkalická sůl kyseliny 7-formylamino-cefalosporanové, přičemž uvedená reakce se provádí ve vodném roztoku v přítomnosti jodidu sodného při teplotě 40 až 80 °C, například se kyselá karboxylová funkce získaného produktu zbaví ochranné skupiny a na získanou kyselinou se působí peroxidem vodíku nebo perkyselinou k vytvoření s atomem síry sulfoxidové skupiny, načež se takto získaný sulfoxid esterifikuje k vytvoření esterové skupiny, která bude později snadno odštěpitelná k opětovnému získání

kyseliny, přičemž se získaný produkt deformyluje účinkem tionylchloridu v roztoku a takto získaný produkt se acyluje na takto uvolněném dusíku působením chloridu kyseliny vzorce



přičemž se uvedená acylační reakce provádí v rozpouštědle, jakým je například metylenchlorid, v přítomnosti dimetylanilinu a takto získaný cefalosporin se zbaví ochranné skupiny, načež se případně uvede v reakci s minerální nebo organickou bází nebo s alkoholem za vzniku výše uvedených solí a esterů.