



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

203097
(11) (B2)

[51] Int. Cl.³
C 07 D 499/52

[22] Přihlášeno 20 10 75

[21] (PV 1855-79)

[32] [31] [33] Právo přednosti od 21 10 74
(45480/74) Velká Británie

[40] Zveřejněno 30 05 80

[45] Vydáno 15 09 83

[72]

Autor vynálezu

BRUYNES CORNELIS ADRIANUS, KOUDEKERK a/d RIJN
a VAN DER DRIFT JOHANNES KAREL, DELFT (Nizozemsko)

[73]

Majitel patentu

GIST-BROCADES N. V., DELFT (Nizozemsko)

[54] Způsob přípravy derivátů kyseliny D-6 {α-[substituovaná ureidoskupina]-p-hydroxybenzylkarboxamido} penicilanové

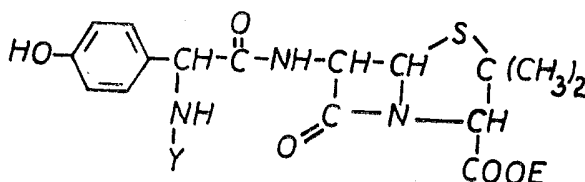
1

Vynález se týká způsobu přípravy derivátů kyseliny D-6-α-[substituovaná ureidoskupina]-p-hydroxybenzylkarboxamido-penicilanové.

Během posledních dvou desetiletí byly vyvinuty a prodávány ve velkém měřítku některé polosyntetické peniciliny, například ampicilin, amoxycilin, sulbenicilin, karbenicilin, dicloxacilin a nafcilin. Ačkoliv bylo zjištěno, že tyto polosyntetické peniciliny jsou účinné při léčení velkého počtu infekčních onemocnění způsobených různými mikroorganismy, stále zůstává potřeba dalších antibiotik působících účinně proti některým specifickým mikroorganismům, jako Pseudomonas a Proteus sp. Předmětem vynálezu je zajistit nové deriváty amoxycilinu, 6-[α-amino-{p-hydroxybenzylkarboxamido}]penicilanové kyseliny, mající zajímavý účinek proti mikroorganismům, například Pseudomonas a/nebo Proteus sp., kromě již známého účinku amoxycilinu.

Způsob přípravy derivátů kyseliny D-6-α-(substituovaná ureidoskupina)-p-hydroxybenzylkarboxamido}penicilanové obecného vzorce I

2



(I)

kde

E znamená atom vodíku, kation tvořící farmaceuticky vhodnou sůl nebo zbytek tvořící farmaceuticky vhodný ester obecného vzorce II

~CH₂-O-CO-R

nebo

~CH₂-S-CO-R

(II),

kde

R představuje přímý nebo rozvětvený alkylový zbytek s 1 až 4 atomy uhlíku, libovolně substituovaný alkoxy- nebo alkylthiosku-

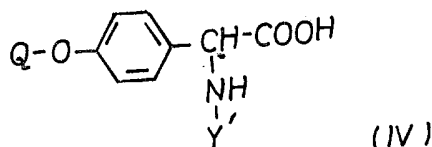
pinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a

Y znamená skupinu obecného vzorce III



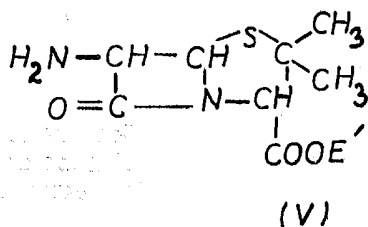
kde

Z₁ a Z₂ jsou stejné nebo rozdílné a představují alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku libovolně substituovanou halogenem, hydroxylovou skupinu a skupinu OM, kde M představuje kation tvořící farmaceuticky vhodnou sůl, a hydrátů solí, se vyznačuje tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce IV



kde

Q znamená atom vodíku nebo atom křemíku nebo fosforu, nesoucí substituenty jako alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylyl, benzyl, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku (s výhodou trialkylsilylovou skupinu, například trimethylsilylovou skupinu) a Y' má stejný význam jako Y nebo znamená skupinu, která se může po reakci snadno přeměnit na skupinu uvedenou v definici Y (která může být za reakčních podmínek napadena nebo ovlivněna), s kyselinou 6-aminopenicilánovou nebo jejím derivátem obecného vzorce V



kde

E' znamená zbytek tvořící sůl, ochrannou skupinu, která se může po reakci snadno odstranit a nezasahuje do reakce, nebo farmaceutický vhodný esterový zbytek zlepšující absorpci, za přítomnosti karbodiimidu (například dicyklohexylkarbodiimidu, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) karbodiimidu případně

smíchaného s 1-hydroxybenzotriazolem a 1-cyklohexyl-3-[2-(N-methylmorfolino)ethyl]-karbodiimidu) jako kondenzačního prostředku, a potom se ze získané sloučeniny odstraní ochranná skupina a takto získaná kyselina se případně převede na farmaceuticky vhodnou sůl nebo ester.

Kationty tvořící sůl v definici symbolu E a M jsou takové, které tvoří netoxické, farmaceuticky vhodné soli sloučenin obecného vzorce I, jako sodné, draselné, amonné nebo vápenaté soli nebo soli aminu, např. tri-(nižšího) alkylaminu, prokainu nebo benzylaminu. Hydráty solí sloučenin obecného vzorce I jsou zahrnuty do vynálezu.

Příklady skupin vzorce III jsou

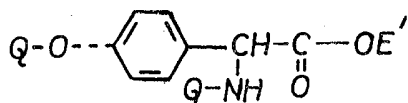
di(nižší)alkoxyfosfinylaminokarbonyl,
difenoxyfosfinylaminokarbonyl,
difenylfosfinylaminokarbonyl,
di(nižší)alkylfosfinylaminokarbonyl,
hydroxybenzylfosfinylaminokarbonyl,
hydroxy(nižší)alkoxy-fosfinylaminokarbonyl,
hydroxyfenylfosfinylaminokarbonyl,
hydroxy(nižší)alkylfosfinylaminokarbonyl,
nižšíalkoxy-benzylfosfinylaminokarbonyl,
fenyl-benzyl-oxyfosfinylaminokarbonyl,
nižšíalkylbenzylfosfinylaminokarbonyl,
dibenzylfosfinylaminokarbonyl,
dihydroxy-fosfinylaminokarbonyl,
aminokarbonyl,
(nižší)alkoxy-benzylfosfinylaminokarbonyl a
(nižší)alkoxyfenylfosfinylaminokarbonyl.

Příkladem snadno odstranitelného ochranného zbytku vyjádřeného symbolem E' ve vzorci V je libovolně substituovaný benzyl (například p-nitrobenzyl, p-methoxybenzyl), benzhydryl, fenacyl (například p-halogenem substituovaný fenacyl), 2,2,2-trichlorethyl, trityl, t-butyl, isobutyl, isobornyl, nebo atom křemíku nebo fosforu, nesoucí substituenty jako nižší alkyl, halogen-substituovaný nižší alkyl, aryl, aralkyl, nižší alkoxy skupinu, halogen-substituovanou alkoxy skupinu, nižší alkylthio skupinu, aralkoxy skupinu, di(nižší)alkylaminoskupinu, nižší alkoxyalkyl a alkylendioxy skupinu a atomy halogenu.

Požadovaná výchozí kyselina D-(—)-2-amino-2-(p-hydroxyfenyl)octová pro přípravu výchozí kyseliny vzorce IV nebo její aktivované deriváty, je například známa z německého vyloženého spisu č. 2355785.

Sloučeniny vzorce IV jsou nové sloučeniny

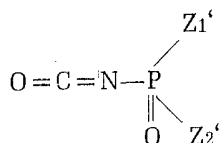
a jako takové spadají do rozsahu vynálezu. Mohou se připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce VI



(VI)

kde

Q a E' mají význam uvedený výše se sloučeninou obecného vzorce VII



(VII),

kde

Z₁' a Z₂' jsou stejné nebo rozdílné a znamenají alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku libovolně substituovanou halogenem, fenoxi-, benzylovou nebo benzyloxy skupinu, libovolně substituované alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, nitro- nebo alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, v inertním organickém rozpouštědle při teplotě v rozmezí -30 až +30 °C, s výhodou -5 až +5 °C, a s výhodou za bezvodých podmínek a potom případně odstraněním ochranné skupiny E' a jakékoli další ochranné skupiny. S výhodou se může získaná kyselina vzorce IV přeměnit přímo in situ na sloučeninu vzorce I přidáním vhodné reakční složky do získaného reakčního roztoku, jak uvedeno výše.

Výchozí sloučeniny vzorce VIII se mohou připravit podle známých metod, jak například popisuje G. I. Darkatsch, *Angew. Chem.* 81, č. 11, 407—436 (1969), L. I. Samarai et al., *Zh. Obshch. Khim.* 39, 1511 (1969), G. I. Darkatsch et al., *Zh. Obshch. Khim.* 38, č. 8, str. 1784—1788 (1968), E. S. Gubnitskaya et al., *Zh. Obshch. Khim.* 40, 1205—1210 (1970), L. I. Samarai et al., *Zh. Obshch. Khim.* 39, č. 8, 1712—1715 (1969), A. V. Narbut et al., *Zh. Obshch. Khim.* 38, č. 6, str. 1321—1324 (1968) a G. Tomaschewski et al., *Arch. Pharm.* 301, str. 520, (1968).

Typickou sloučeninou podle vynálezu je

D-6- α -[3-(benzyloxy/etyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/ethoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/ethyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/benzyloxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/ethoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(dibenzyloxyfosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy-/methoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-

D-6- α -[3-(hydroxy/methoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina a

D-6- α -[3-(dihydroxyfosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/methyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/i-propyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/terc.butyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/terc.butoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/methyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/iso-propyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/terc.butoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/terc.butyl/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/fenoxi/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(benzyloxy/isopropoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/fenoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido}-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(difenoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido}-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(diethoxyfosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido}-penicilánová kyselina,

D-6- α -[3-(hydroxy/iso-propoxy/fosfinyl)-ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido}-penicilánová kyselina,

a jejich sodné, draselné a omonné soli (jedno-, dvoj- a trojmocné soli) a farmaceuticky vhodné estery, jejichž esterová skupina odpovídá vzorci III; výhodné jsou sloučeniny vzorce I, kde Z_1 nebo/a Z_2 představuje hydroxylovou skupinu nebo skupinu —OM. Zejména sloučeniny, ve kterých Z_1 představuje hydroxylovou skupinu nebo skupinu —OM a Z_2 představuje methoxy nebo ethoxyskupinu, projevující zajímavý antimikrobiální účinek. Jako obvykle se projevuje D- modifikace těchto sloučenin nejzajímavější antimikrobiální účinky.

Sloučeniny obecného vzorce I se s výhodou použijí pro terapeutické účely ve formě netoxické soli, jako sodné, draselné, amonné nebo vápenaté soli. Mohou se použít i jiné soli, včetně netoxických vhodně krystalických solí s organickými zásadami, jako aminy, například trialkylaminy, prokainem a dibenzylaminem.

Při léčení bakteriálních infekcí se mohou podávat antibakteriální sloučeniny podle vynálezu lokálně, orálně a parenterálně, podle běžných způsobů podávání antibiotik. Podávají se v jednotlivých dávkách obsahujících účinné množství účinné látky v kombinaci s vhodným fyziologicky nezávadným nosičem.

Jednotlivé dávky mohou být ve formě kapalných přípravků, jako roztoků, suspensí, dispersí nebo emulsí nebo v pevné formě, jako prášky, tablety a kapsle.

Vynález se také týká farmaceutických přípravků obsahujících účinné množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I ve směsi s vhodným fyziologicky nezávadným nosičem. Tyto farmaceutické přípravky mohou také zahrnovat jednu nebo více terapeutických přísad kromě sloučeniny podle vynálezu. Termín „účinné množství“ použitý ve spojení s popsánými sloučeninami znamená množství, které je dostatečné ke zničení nebo inhibici růstu citlivých mikroorganismů při obvyklém podávání, jinými slovy množství, které je dostatečné k regulaci růstu bakterií. Účinné množství se může snadno stanovit standardním způsobem používaným pro určení relativního účinku antibakteriálních látek když se použijí proti citlivým or-

ganismům při různém možném způsobu podávání.

Vhodné nosiče mohou být jakékoliv běžné fyziologicky nezávadné látky, které mohou sloužit k usnadnění podávání terapeuticky účinné sloučeniny. Nosiče mohou mít pomocnou funkci, jako ředidlo, korigens vůně a chuti, pojídlo, látka zpochťující účinek nebo stabilizátor. Příklady nosičů zahrnují vodu, která může obsahovat želatinu, arabskou gumu, alginát, dextran, polyvinylpyrrolidon nebo natriumkarboxymethylcelulózu, vodný ethanol, sirup, isotonický roztok solí, isotonickou glukózu, škrob, laktózu nebo jakoukoliv další takovou látku běžně používanou ve farmaceutickém průmyslu humánního a veterinárního použití.

Je dále popsán způsob inhibice růstu bakterií aplikací účinného množství popsáných antibakteriálních sloučenin hostiteli bakterií. Například se může tento způsob použít k léčení bakteriálních infekcí a u živočichů podáním účinného množství antibakteriální sloučeniny podle vynálezu hostiteli.

Nové deriváty kyseliny penicilánové vzorce I se mohou také použít jako urychlovače růstu u přežvýkavců.

Jsou také použitelné u aplikací in vitro, jako roztoky pro desinfekční účely při koncentraci 0,1 až 1 hmot. %, rozpuštěné nebo suspendované ve vhodném inertním nosiči pro použití praním nebo postřikem.

U některých typických sloučenin podle vynálezu byla zkoušena antibiotická účinnost in vitro pomocí sériových zkoušek ředění prováděných na agaru následujícím způsobem:

Připraví se zásobní roztok antibiotika 2,000 μ g ve sterilním vhodném vehikulu. Proveďte se dvojnásobné zředění sterilním 1/20 mol fosfátovým pufrům pH 6,5 (KH_2PO_4 — NaOH). 1 ml každého zředěného roztoku se dá do 19 ml agaru z nálevu moku a srdce ve sterilní Petriho misce. Ztuhlý povrch se naočkuje zkoušenými organismy a inkubuje se 24 hodiny při 37 °C. Minimální inhibující koncentrace (MIC), tj. nejmenší koncentrace antibiotika, která úplně inhibuje růst zkoušeného organismu, je vyjádřena v mg/ml.

V některých případech byly MIC-hodnoty stanoveny podle mikro-ředicí zkoušky provedené následujícím způsobem:

2 kapky zásobního roztoku zkoušeného antibiotika ve známé koncentraci se nanesou pomocí sterilní Pasteurovy pipety do prvního otvoru zkušební plotny s 9 otvory. Po trojnásobném propláchnutí pipety fyziologickým roztokem chloridu sodného se umístí do všech otvorů s výjimkou otvoru 8 dvě kapky základního roztoku zkoušeného organismu v živném prostředí. V prvním otvoru se roztok zkoušené sloučeniny zředí na polovinu; potom po míchání kapaliny v prvním otvoru a přidání 2 kapek této směsi do druhého otvoru a tak dále až do otvoru 8, se získají zředění roztoku zkoušené sloučeniny

geometrickou řadou. Otvor 9 neobsahuje žádné antibiotikum a slouží pro kontrolu růstu zkoušeného organismu ve slepém pokusu. Zkušební plotna se inkubuje 18 hodin při teplotě 30 °C nebo 37 °C.

Zkouška antibakteriální účinnosti, jejíž výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách, se provádí se skupinami 6 samiček myši Sviss SPF hmotnosti 20 g.

Po intraperitoneální a orální aplikaci zkoušené sloučeniny v dávce 100 mg/kg ve fyziologickém solném roztoku se odeberou vzorky krve a moči.

Obsah podané antimikrobiální sloučeniny v těchto vzorcích se stanoví kvalitativně podle zkušebního postupu Vincenta, měřením průměru inhibičních zón kolem papírového kotouče o průměru 7 mm, který se impregnuje vzorkem a umístí na živné agarové půdě v Petriho misce, kde se žádaný mikroorga-

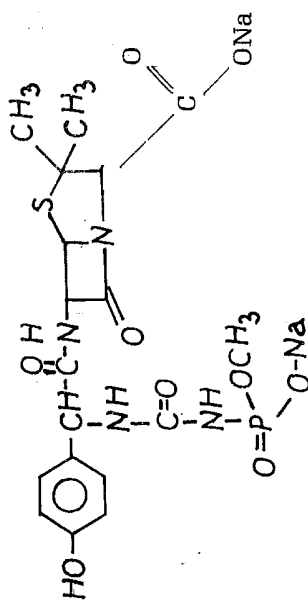
nismus kultivuje. Indikují se průměrné hodnoty dvou nebo tří nezávislých zkoušek.

Ke kvantitativnímu stanovení obsahu zkoušené sloučeniny ve vzorcích krve se změří průměry inhibičních zón kolem papírových kotoučů impregnovaných vzorkem a vzorky sériových standardních roztoků sloučeniny zkoušené v séru a neznámý obsah se stanoví standardním způsobem.

Ochranné zkoušky, jejichž výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách, se provádějí se skupinami 10 samiček myši Sviss SPF.

Myši každé skupiny se intraperitoneálně infikují zvoleným mikroorganismem. Roztok antimikrobiální sloučeniny se podá stanoveným způsobem a 5krát denně. Léčení trvalo 1 den a zkoušená zvířata byla pozorována 7 dní. ED₅₀-hodnoty a poměr účinku vzhledem k udaným srovnávacím sloučeninám byly stanoveny podle průkazné analýzy.

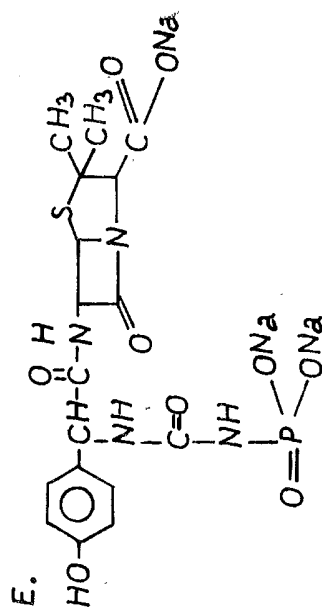
B



Chemotherapeutický účinek

Antibakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. {v mm = ¹ ABA}	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	Ochranná zkouška u myši			MIC γ/ml
				infekce i. p.	srov. slouč.	poměr účinku podání s. o. i. p. orál.	
Staphylococcus aur.	i. p.			Staphyl. aur. A 321			3
Staphylococcus aur. A 2001	i. p.	32	12,5 {15}	Staphyl. aur. A 2001			
Staphylococcus aur. A 355	i. p.	26	100 {60}	Staphyl. aur. A 355			
Escherichia coli U 20	i. p.	12	12,5	Escher. coli			
Klebsiella pneum. A 809	i. p.	7	100	Klebs. pneum.			
Salmon. typhimur. R 172	i. p.	25	6	S. typhimur. R 172			
Proteus mirabil. A 1200	i. p.	16		Proteus mirab. A 1200	Karb.	5,4	0,75 {0,45}
Proteus mirabil. H 3	i. p.	28	1,5	Proteus mirab.			
Proteus mirabil. L 93	i. p.	14	0,5	Proteus mirab.			
Proteus rettgeri A 821	i. p.	32	0,25	Proteus rettgeri A 821	Karb. Ampi.	4,8 0,91	

Anti-bakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. (v nm = ABA)	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	infekce i. p.	srov. slouč.	poměr účinku podání i. p. s. o.	MIC γ/ml
Proteus mirabil. L 93	i. p.	33	0,5	Proteus mirab.			
Proteus rettgeri A 821	i. p.	26	0,25	Proteus rettgeri A 821			
Proteus morganii 2241	i. p.	7	>100	Proteus morganii 2241			
Pseudomonas aerug. A 1058	i. p.	19	3	Pseud. aerug. A 1058	Karb.		
Sarcina lutea ATCC 9341	i. p.	53	(15)				
Hladina v krvi myši (zkoušený organismus Sarc. lut. ATCC 9341) dávka 100 mg/kg	apl.			Stanovení hladiny v krvi (hladiny v moči u králíků (dávka 10 mg/kg)		i. m.	Způsob podání orálně
max. hladina v krvi γ/ml	i. p.	19				27,7	<2,5
max. inhibiční zóna v nm	i. p.	4					
pozorovatelné inhib. zóny	i. p.	12				80,9	>27—<30
	or.	1,5 hod.					
	or.	0,5 hod.					

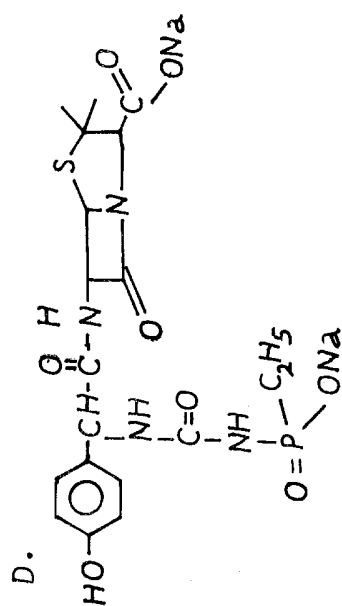


Chemotherapeutický účinek

Antibakteriální účinek
v moči (myši).
Inhibiční zóny moči
odebrané ve 2,5 hod.
(v mm = ABA)

Antibakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. (v mm = ABA)	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	infekce i. p.	Ochranná zkouška u myši			poměr účinku MIC γ/ml
					srov. slouč.	i. p.	s. o.	
Staphylococcus aur.	i. p.			Staphyl. aur. A 321				
Staphylococcus aur. A 2001	i. p.		50 (15)	Staphyl. aur. A 2001				
Staphylococcus aur. A 355	i. p.	15	100 (60)	Staphyl. aur. A 355				
Escherichia coli U 20	i. p.	7	25	Escher. coli				
Klebsiella pneum. A 809	i. p.	7	>100	Klebs. pneum.				
Salmon. typhimur. R 172	i. p.	33	25	S. typhimur. R 172				
Proteus mirabil. A 1200	i. p.	16		Proteus mirab. A 1200	Karb.		10,9	3 (1,2)
Proteus mirabil. H 3	i. p.	32	1,5	Proteus mirab.				
Proteus mirabil. L 93	i. p.	36	1,5	Proteus mirab.				

Antibakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. (v mm = ABA)	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	infekce i. p.	srov. slouč. i. p.	poměr účinku podání		MIC γ/ml
Proteus rettgeri A 821	i. p. or.	31 18	0,06	Proteus rettgeri A 821		i. p.	s. o.	
Proteus morganii 2241	i. p. or.	7 7	50	Proteus morganii 2241				
Pseudomonas aerug. A 1058	i. p. or.	19 8	3 (6)	Pseud. aerug. A 1058	Karb.	2,7	2,5	
Sarcina lutea ATCC 9341	i. p. or.	51 41	0,5					
Hladina v krvi u myši (zkoušený organismus Sarc. lut. ATCC 9341) dávka 100 mg/kg	apl.			Stanovení hladiny v krvi (hladiny v moči u králíků (dávka 10 mg/kg)		i. m.		Způsob podání orálně
max. hladina v krvi γ/ml	i. p. or.	37 2				23,4		0,64
max. inhibiční zóna v mm	i. p. or.	23 9		max. hladina v séru γ/ml (i.m. = 0,5 hod.) orálně = 1/2 hod. % podané dávky vyměš. po 24 hod.		46—63		1,22
pozorovatelné inhib. zóny	i. p. or.	0,5 hod. 0,5 hod.						



Chemotherapeutický účinek

Antibakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. (v mm = ABA)	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	Ochranná zkouška u myši		poměr účinku MIC	
				infekce i. p.	srov. slouč.	podání s. o.	orál. γ/ml
Staphylococcus aur.	i. p.			Staphyl. aur. A 321			6
Staphylococcus aur. A 2001	i. p.	13	50 (23)	Staphyl. aur. A 2001			
Staphylococcus aur. A 355	i. p.	12	50 (30)	Staphyl. aur. A 355			
Escherichia coli U 20	or.	7	6	Escher. coli			
Klebsiella pneum. A 809	i. p.	23	100	Klebs. pneum.			
Salmon. typhimur. R 172	or.	10	25	S. typhimur. R 172			
Proteus mirabil. A 1200	i. p.	12		Proteus mirab. A 1200	Karb.	1,23	1,5 (0,45)
Proteus mirabil. H 3	or.	30 13	0,5	Proteus mirab.			

Antibakteriální účinek v moči (myši). Inhibiční zóny moči odebrané ve 2,5 hod. [v mm = ABA]	Apl. slouč. 100 mg/kg	ABA	MIC γ/ml	infekce i. p.	srov. slouč.	poměr účinku		MIC γ/ml
						i. p.	s. o. podání orál.	
Proteus rettgeri A 821	i. p. or.	24 8	0,25	Proteus rettgeri A 821				
Proteus morganii 2241	i. p. or.	7 7	50	Proteus morganii 2241				
Pseudomonas aerug. A 1058	i. p. or.	20 7	3 (3,7)	Pseud. aerug. A 1058	Karb.	1	1,27	
Sarcina lutea ATCC 9341	i. p. or.	60 34						
Hladina v krvi u myší (zkoušený organismus Sarc. lut. ATCC 9341) dávka 100 mg/kg	apl.			Stanovení hladiny v krvi (hladiny v moči u králíků (dávka 10 mg/kg)		i. m.	Způsob podání orálně	
max. hladina v krvi γ/ml	i. p. or.	134 —				81,3	<0,25	
max. inhibiční zóna v mm	i. p. or.	38 7		max. hladina v séru γ/ml (i. m. = 0,5 hod.) orálně = 0,5 hod. % podané dávky vyměš. po 24 hod.		346	6	
pozorovatelné inhib. zóny	i. p. or.	2,5 hod. — hod.						

Příklad 1

Příprava D-(—)- α -[3-(diethoxyfosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctové kyseliny

29 ml (120 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se přidá k suspensi 10,0 g (60 mmol) D-(—)- α -parahydroxyfenylglycinu ve 150 ml methylenchloridu. Po 45 minutovém míchání při teplotě místnosti a 30 minutovém zahřívání pod zpětným chladičem je stále přítomna sraženina. Po přidání dalších 14,4 mililitrů (60 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se zahřívá pod zpětným chladičem ještě 2 hodiny.

K reakční směsi se přidá při teplotě místnosti 16,8 g (60 mmol) čerstvě destilovaného diethylfosforoisokyanatidátu rozpuštěného v 60 ml dichlormethanu. Po 15 minutovém míchání se reakční směs nalije do vody a pH se upraví na 1,5, načež se směs extrahuje směsí butanolu a ethylacetátu (1:1). Po vysušení bezvodým síranem hořečnatým se spojené extrakty filtrují a koncentrují ve vakuu, vysráží se pevná látka, která se čistí krystalizací z 500 ml ethanolu a 200 ml vody (výtěžek 26,7 %).

Struktura připravené sloučeniny byla potvrzena magnetickým resonančním spektrem a infračerveným spektrem:

Magnetické resonanční spektrum (v CDCl₃-dimethylsulfoxid-d₆-DCOOD, 60 Mc, tetramethylsilan (TMS) jako srovnávací látka, δ v ppm):

1,30 (t, 6H),
4,13 (multiplet, 4H),
5,23 (s, 1H),
6,80 (d, 2H),
7,21 (d, 2H).

Infračervené spektrum (KBr):

3500—2800, 3300, 1705, 1640, 1540, 1520, 1450, 1280, 1240, 1220, 1050, 980, 770 cm⁻¹.

Příklad 2

Příprava D-(—)- α -[3-(difenoxyfosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctové kyseliny

15,8 ml (66 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se přidá k suspensi 5,51 g (33 mmol) D-(—)- α -parahydroxyfenylglycinu ve 25 ml methylenchloridu. Po 45 minutovém míchání při teplotě místnosti a 30 minutovém zahřívání pod zpětným chladičem je stále přítomna sraženina. Po přidání dalších 7,9 ml (33 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se ještě zahřívá pod zpětným chladičem 2 hodiny.

Při teplotě místnosti se přidá 9,24 g (33 mmol) difenylfosforoisokyanatidátu rozpuštěného ve 33 ml methylenchloridu. Po 15 mi-

nutovém míchání se reakční směs nalije do vody a pH se upraví na 7, načež se směs extrahuje ethylacetátem.

Potom se pH upraví na 2, načež se extrahuje ethylacetátem. Po sušení bezvodým síranem hořečnatým se ethylacetátové extrakty filtrují a koncentrují, vysráží se pevná látka, která se čistí krystalizací ze směsi aceton-benzen.

Výtěžek 9,22 g (63,6 %).

Struktura připravené sloučeniny byla potvrzena magnetickým resonančním spektrem a infračerveným spektrem:

3400—2400, 3350, 3150, 3050, 2850, 1710, 1640, 1595, 1540, 1520, 1490, 1450, 1360, 1275, 1235, 1210, 1185, 1160, 1070, 1030, 1015, 990, 960, 760, 740 cm⁻¹.

Magnetické resonanční spektrum

(v CDCl₃-dimethylsulfoxid-d₆-1:1, 60 Mc, tetramethylsilan (TMS) jako srovnávací látka, δ v ppm):

5,17 (d, 1H),
5,6 (velmi široký s, 4H),
6,77 (d, 2H),
7,0—7,5 (multiplet, 12H).

Příklad 3

Příprava D-(—)- α -[3-[benzyloxy(ethoxy)fosfinyl]ureido]-4-hydroxy-fenyloctové kyseliny

29 ml (120 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se přidá k suspensi 10,0 (60 mmol) D-(—)- α -parahydroxyfenylglycinu ve 150 ml methylenchloridu. Po 45 minutovém míchání při teplotě místnosti a 30 minutovém zahřívání pod zpětným chladičem je stále přítomna sraženina. Po přidání dalších 14,4 mililitrů (60 mmol) N,O-bis-trimethylsilyl-acetamidu se zahřívá pod zpětným chladičem ještě 2 hodiny.

K reakční směsi se přidá při teplotě místnosti 60 mmol benzyl(ethyl)fosforoisokyanatidátu rozpuštěného v 60 ml dichlormethanu. Po 15 minutovém míchání se reakční směs nalije do vody a pH se upraví na 3, načež se směs extrahuje ethylacetátem.

Po vysušení bezvodým síranem hořečnatým se spojené extrakty filtrují a koncentrují ve vakuu, získaný zbytek se rozmíchá v diethyletheru a vytvořená sraženina se odfiltruje. Výtěžek 34,2 g.

Po dvojnásobném překrystalování z vodného ethanolu byl výtěžek 31 %.

Struktura připravené sloučeniny byla potvrzena magnetickým resonančním spektrem a infračerveným spektrem.

Magnetické resonanční spektrum

(v dimethylsulfoxidu-d₆-DCOOD, 60 Mc, TMS jako srovnávací látka, δ v ppm):

1,26 (t, 3H),
4,10 (multiplet, 2H),
5,06 (d, 2H),
5,13 (s, 1H),
6,81 (d, 2H),
7,26 (d, 2H) a
7,40 (s, 5H).

Infračervené spektrum (KBr):

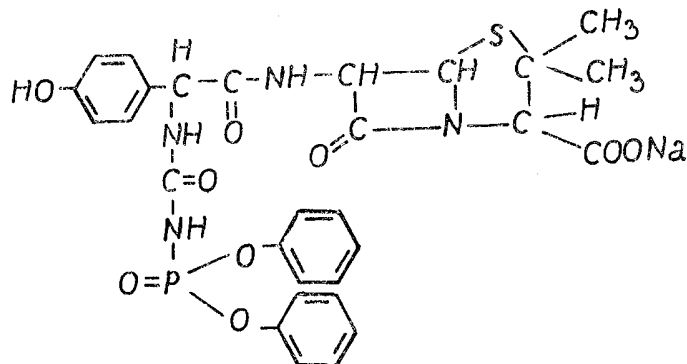
3600—2700, 3300, 1720, 1670, 1640, 1540,
1510, 1445, 1270, 1210, 1180, 1020, 910,
740, 700 cm^{-1} .

Příklad 4

Příprava dvojsodné soli D-(—)- α -[3-
-(ethoxy)(hydroxy)fosfynyl]-ureido]-
-4-hydroxyfenyloctové kyseliny

Do směsi 10 g (23 mmol) D-(—)- α -[3-
-(benzyloxy)(ethoxy)fosfynyl]ureido]-4-hyd-
roxyfenyloctové kyseliny [připravena podle
příkladu 3], 4 g hydrogenuhlčitanu sodné-
ho, 1,5 g 10% paládia na uhlí jako kataly-
zátoru, 100 ml 96% ethanolu a 100 ml vo-
dy se uvádí vodík. Za hodinu se přidá dal-
ších 0,5 g katalyzátoru a po 1,5 hodině dal-
ší 1 g katalyzátoru.

Redukce se provádí 1 hodinu, reakční



70 ml dichlormethanu se přidá k suspensi
2,65 g (6,0 mmol) α -[3-(difenoxifosfynyl)-
ureido]-4-hydroxyfenyloctové kyseliny a 1,40
gramů (7,3 mol) 1-ethyl-3(3-dimethylami-
no-propyl)karbodiimid-hydrochloridu ve 25
mililitrech tetrahydrofuranu. Po 7 minutovém
míchání se přidá 1,45 g (6,6 mmol) 6-amino-
penicilanové kyseliny, která se předem si-
lyluje pomocí 0,97 ml (6,6 mmol) triethylami-
nu (TEA) a 0,84 ml (6,6 mmol) TEA a 0,84
mililitrů (6,6 mmol) trimethylchlorsilanu
TMCS v 15 ml dichlormethanu.

Po 2 hodinách je konverze podle chroma-
tografie v tenké vrstvě 40% ($R_f=0,7$, ve
směsi kyselina octová (ethylacetát)aceton v
poměru 1:5:4). Vytvoří se žlutý olej, kte-
rý se oddělí a odstraní. Zbývá reakční směs
se nalije do vody při pH 7 a extrahuje se e-
thylacetátem.

pH se upraví na 4,7 a extrahuje se ethyl-

směs se filtruje přes celit $\textcircled{R}$ hyflosuper-
cel a filtrát se koncentruje ve vakuu. Zbytek
se rozpustí v methanolu, načež se žádaná
sloučenina vysráží pomocí etheru. Výtěžek
8,0 g (90 %) bílého prášku. Struktura
připravené sloučeniny byla potvrzena mag-
netickým resonančním spektrem a infračer-
veným spektrem:

Magnetické resonanční spektrum

(TMS jako srovnávací látka, δ v ppm, v di-
methylsulfoxidu — d_6 (DCOOD, 60 Mc)

1,1 (t, 3H),
3,8 (multiplet, 2H),
5,08 (s, 1H),
6,72 (d, 2H),
7,16 (d, 2H).

Infračervené spektrum (KBr):

3600—2800, 1660, 1600, 1540, 1520, 1395,
1260, 1090, 1060, 955, 880, 780 cm^{-1} .

Příklad 5

Příprava D-6- α -[3-(difenoxi-
fosfynyl]ureido]-p-hydroxybenzyl-
karboxamido]penicilanátu sodného

acetátem. Po sušení síranem hořečnatým,
filtrací, odpařením ethylacetátu a přidání
2 mmol hexanoátu sodného se žádaný pro-
dukt, jehož uvedená struktura mohla být po-
tvrzena magnetickým resonančním spek-
rem izoluje ve výtěžku 1,23 g (32 %). Podle
chromatografie v tenké vrstvě je získaný
produkt téměř čistý. Získaná sloučenina je
pravděpodobně D-L směsí.

Výchozí kyselina α -[3-difenoxifosfynyl]ure-
ido]-4-hydroxyfenyloctová má teplotu tání
160 až 170 $^{\circ}\text{C}$ (za rozkladu).

Infračervené spektrum:

990, 1200, 1650 a 1710 cm^{-1} ,

magnetické resonanční spektrum

(d_6 -dimethylsulfoxid) 60 Mc, TMS, δ -hodnoty
v ppm:

5,15 (d, CH),
6,6—7,4 (aromatický H).

Příklad 6

Příprava D-6- α -[3-(benzyloxy)-ethoxy(fosfinyl)ureido]-p-hydroxybenzylkarboxamido]penicilanátu sodného

15 ml dichlormethanu se přidá k suspenzi 1,0 mmol α -[3-(benzyloxy)ethoxy(fosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctové kyseliny a 0,25 g (1,2 mmol) 1-ethyl-3(3-dimethylamino-propyl)karbodiimid-hydrochloridu ve 4 ml tetrahydrofuranu. Po 7 minutovém míchání se přidá 0,25 g (1,1 mmol) 6-aminopenicilánové kyseliny, která se předem silylovala pomocí 0,16 ml (1,1 mmol) TEA a 0,14 ml (1,1 mmol) TMCS ve 2,5 ml dichlormethanu.

Po 2 hodinách je konverze podle chromatografie v tenké vrstvě ($R_f=0,7$ ve směsi kyselina octová (ethylacetát)aceton v poměru 1:5:4) asi 50%. Reakční směs se nalije do vody o pH=7, po oddělení olejovité sraženiny, a extrahuje se ethylacetátem.

pH se upraví na 4,7 a extrahuje se ethylacetátem. Po sušení síranem hořečnatým, filtrací, částečném odpaření ethylacetátu a přidání hexanolátu sodného se žádaný produkt, jehož uvedená struktura byla potvrzena magnetickým rezonančním spektrem, izoluje ve výtěžku 46,6 % a podle chromatografie v tenké vrstvě je téměř čistý.

Výchozí kyselina α -[3-(benzyloxy)ethoxy(fosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctová má t. t. 122 až 127 °C (za rozkladu).

Infračervené spektrum:

1020, 1220, 1670 a 1720 cm^{-1} ,
magnetické rezonanční spektrum (d₆-dimethylsulfoxid, 60 Mc, TMS, δ -hodnoty v ppm):

1,2 (t, CH₃),
4,1 (m, -C-CH₂O),
5,1 (m, C₆H₅CH₂O),
7,0 a 7,4 (aromatický H).

účinná sloučenina
stearan hořečnatý
laktosa

5—25 mg
dostatečné
množství
pro 1 kapsli

kapsle se mohou použít pro orální podání.

Příklad 9

Obvyklým způsobem se připraví tablety obsahující jako účinnou složku penicilin připravený podle některého z příkladů 5 a 6.

Stejným způsobem se může použít místo kyseliny α -[3-(benzyloxy)ethoxy(fosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctové kyselina α -[3-(diethoxyfosfinyl)ureido]-4-hydroxyfenyloctová, která má t. t. 166 až 169 °C (za rozkladu).

Infračervené spektrum:

1040, 1220, 1640 a 1705 cm^{-1}

a magnetické rezonanční spektrum (d₆-dimethylsulfoxid, 60 Mc, TMS, δ -hodnoty v ppm):

1,3 (m, CH₃),
4,1 (m, CH₂),
5,15 (d, CH),
7,0 (q, arom. H).

Příklad 7

Stejným způsobem jako v předešlých příkladech 5 a 6 se připraví sloučeniny, kde Z₁ a Z₂ mají následující význam:

Z ₁	Z ₂
fenoxy	benzyloxy
methyl	benzyloxy
terc.butyl	benzyloxy
isopropyl	benzyloxy
isopropoxy	benzyloxy
fenoxy	hydroxy
methyl	hydroxy
terc.butyl	hydroxy
isopropyl	hydroxy
isopropoxy	hydroxy

Příklad 8

Obvyklým způsobem se připraví kapsle, které obsahují jako účinnou složku derivát penicilinu připravený podle některého z příkladů 5 a 6.

Složení kapsle je následující:

500 mg a 250 mg

2—15 mg
dostatečné
množství
pro 1 kapsli

Účinná sloučenina	500—750 mg
polyvinylpyrrolidon	15—25 mg
kukuřičný škrob	100—200 mg
stearan hořečnatý	5—10 mg
laktosa	dostatečné množství pro 1 tabletu (asi 100 až 200 mg)

tablety mohou se použít pro orální podání.

Příklad 10

Z derivátu penicilinu připraveného obvyklým podle některého z příkladů 5 a 6 se připraví obvyklým způsobem suchý prášek pro injekční směs.

2 g a 5 g sterilní sodné soli účinné sloučeniny smíchané s obvyklou pomocnou látkou se zavede asepticky do lékovky vhodné pro injekční směs, pod dusíkovou atmosférou. Lékovka se uzavře pomocí pryžové zátky, která se upevní hliníkovým kroužkem, aby se eliminovala výměna plynů nebo penetrace mikroorganismů.

Obvyklé pomocné látky mohou představovat glukózu [obvykle v množství vhodném pro získání konečného isotonického roztoku] pufrů, stabilizátory (například Na₂EDTA), konzervační prostředky, smáčedla a odpěňovadla.

Před použitím se prášek rozpustí ve vhodném množství sterilní apyrogenní vody.

Příklad 11

Z derivátů penicilinu, připravených podle některého z příkladů 5 a 6, se připraví sirup smícháním následujících složek:

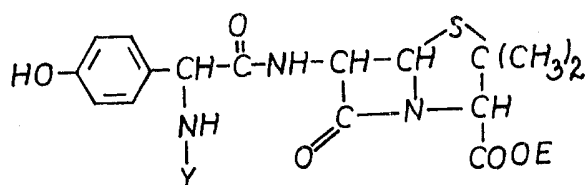
účinná sloučenina	10—15 mg
natriumkarboxymethylcelulóza	100—500 mg
sacharinan sodný	0,10—1 g
methyl p-hydroxybenzoát	0,1 g
aroma	100—500 mg
barvivo	25—10 mg
sacharosa	50 g
voda přidaná do objemu	100 ml

Sirupy se mohou použít pro orální podání.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy derivátů kyseliny D-6-[α-[substituovaná ureidoskupina]-p-hydroxy-

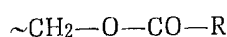
benzylkarboxamido]penicilanové obecného vzorce I



(I)

kde

E znamená atom vodíku, kation tvořící farmaceuticky vhodnou sůl nebo zbytek tvořící farmaceuticky vhodný ester obecného vzorce II



nebo



kde

R představuje přímý nebo rozvětvený alkylový zbytek s 1 až 4 atomy uhlíku, libovolně substituovaný alkoxy- nebo alkylthio- skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a

Y znamená skupinu obecného vzorce III

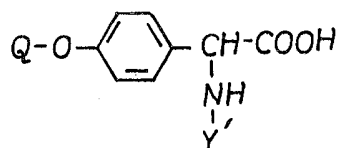


(III),

kde

Z₁ a Z₂ jsou stejné nebo rozdílné a představují alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku libovolně substituovanou halogenem hydroxylovou skupinu a skupinu OM, kde M představuje kation tvořící farmaceuticky vhodnou sůl, a hydrátů solí vyznačující se tím, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce IV

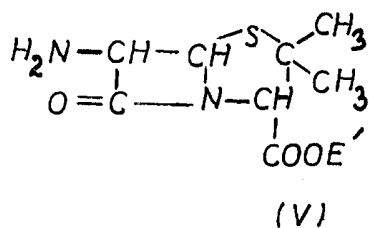


(IV)

kde

Q znamená atom vodíku nebo atom křemíku nebo fosforu, nesoucí substituenty jako alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyl, benzyl, alkoxy skupinu s 1—4 atomy uhlíku, s výhodou trialkylsilylovou skupinu, například trimethylsilylovou skupinu, a

Y' má stejný význam jako Y nebo znamená skupinu, která se může po reakci snadno přeměnit na skupinu uvedenou v definici Y, která může být za reakčních podmínek napadena nebo ovlivněna, s kyselinou 6-amino-penicilanovou nebo jejím derivátem obecného vzorce V



kde

E' znamená zbytek tvořící sůl, ochrannou skupinu, která se může po reakci snadno

odstranit a nezasahuje do reakce, nebo farmaceutický vhodný esterový zbytek zlepšující absorpci, za přítomnosti karbodiimidu, jako například dicyklohexylkarbodiimidu, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimidu, případně smíchaného s 1-hydroxy-benzotriazolem a 1-cyklohexyl-3-[2-(N-methylmorfolino)ethyl]karbodiimidu, jako kondenzačního prostředku, a potom se ze získané sloučeniny odstraní ochranná skupina a takto získaná kyselina se popřípadě převede na farmaceuticky vhodnou sůl nebo ester ve výše uvedeném významu.