

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 750967 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 750967

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

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **01.04.1975**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **01.04.1975**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **03.10.1975**

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

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

02.04.1974 US 457298

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • F Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, Switzerland, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Westley, John, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Halogeenijohdannaisia

Halogenderivat

Nimitys tulee korjata, siitä tulee
käytös ilmi myös menetelmällä val-
mistettavan yhdisteryhmän mahdollis-
simmäinen täydellinen kemiallinen
nimitys ja käyttöala.

Harvoin! selityksistä
tulee käytyä ilmi,
miten 2,3-dikloro-
happo on

menetelmä...!

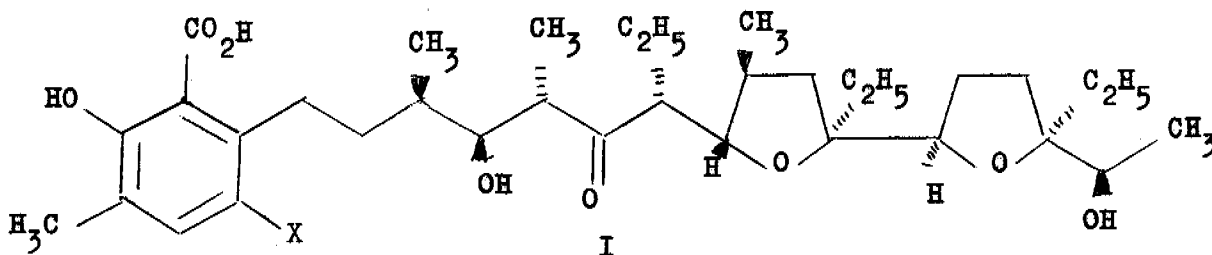
Halogeenijohdannaisia - Halogenderivat

(menetelmä V)

Tämä keksintö koskee uusia halogeenijohdannaisia, jotka vastaavat
yleiskaavaa I

Yhdisteryhmän nimitys
tulee esittää mahdollisimman
täydellisesti

Sen ilmi on



merkitse

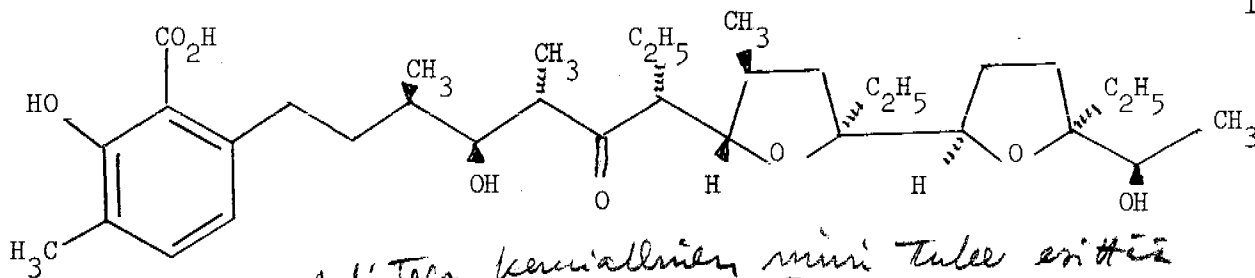
jossa X vastaa klooria, bromia tai jodia, ja niiden yhdisteiden farmaseutti-
sesti hyväksyttävien suoloja.

On keksitty, että kaavaa I vastaavat uudet halogeenijohdannaiset ja niiden
farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat tehoavat bakteereihin ja alkueläimiin.
Sen vuoksi niitä voidaan käyttää bakteerien ja alkueläinten torjunta-aineina.

Kaavaa I vastaavia uusia halogeenijohdannaisia ja niiden farmaseuttisesti
hyväksyttävien suoloja valmistetaan keksinnön mukaisesti menetelmällä, joka on
tunnettu siitä, että siinä halogeenataan vastaavalla tavalla kaavaa II mukaisten

Siinäkin tunnetulla (?)

Siinä korjattiin
tulee ilmi
menetelmällä
valmistettavan
yhdisteryhmän
täydellinen
nimitys



← yhdisteen kemiallisen nimen tulee erittää
morfoliinimman täydellisesti
vastaavan yhdisteen suolaa ja haluttaessa saatu kaava I ~~vastaava~~ yhdiste
muutetaan farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolakseen.

Kaava II ~~vastaavien~~ ^{mukaisen} yhdisteiden suolojen halogenointi suoritetaan tunnetuin halogenointimenetelmin. Tällöin käytetään esimerkiksi N-bromi- tai N-kloorimeripihkahappo-imidiä halogenoidussa orgaanisessa liuottimessa kuten esim. kloroformissa, tetrakloorimetaanissa tai metyleenikloridissa. Tämän reaktion edellyttämä tarkoituksenmukainen lämpötila on huoneen lämpötilan ja reaktioseoksen kiehumispisteen välillä, jolloin reaktioaika vaihtelee vastaavasti, esimerkiksi noin 12 tunnista huoneen lämpötilassa noin 10 minuuttiin - noin 2 tuntiin kiehumislämpötilassa. Eräissä toisissa suoritustavoissa käytetään bromia, esim. jossakin edellä mainitussa halogenoidussa liuottimessa tai rikkihiilessä, tai klooria, esimerkiksi tetrakloorimetaanissa. Tarkoituksenmukainen lämpötila on näissä reaktioissa välillä noin -10°C - $+10^{\circ}\text{C}$ ja reaktioaika noin 1-6 tuntia. Jodointi suoritetaan esimerkiksi käyttämällä jodimonokloridia, esim. jäätikassa suunnilleen huoneen lämpötilassa noin 15 minuutin - noin 2 tunnin kuluessa, tai käyttämällä jodia orgaanisessa emäksessä, kuten esim. morfoliinissa, suunnilleen huoneen lämpötilassa noin 5-7 vuorokauden kuluessa.

Keksinnön mukaisessa menetelmässä käyttökelpoisia lähtöyhdisteitä, so. kaava II ~~vastaavien~~ ^{mukaisen} yhdisteiden suoloja, voidaan saada tuottamalla käymistietä kaavaa II vastaavaa yhdistettä ja muuttamalla tämä sen jälkeen suolaksi. Mainittua kaavaa II vastaavaa yhdistettä tuottava mikro-organismi kuuluu Streptomycessukuun ja sitä on eristetty Hyde Park'ista, Massachusetts, ^{issa} löydetyistä maanäytteistä. Työnimellä X-537 tunnetuksi tehdyn ~~kulttuurin~~ ^{viljelyn} pakastekuivattuja näytteitä on talletettuna mikro-organismikokoelmassa United States Department of Agriculture, Northern Utilization Research and Development Division, ^{in SE} Peoria, Illinois, USA, ^{viljelyssä} numerovastineen ollessa NRRL 3382. NRRL on luovuttanut tätä talletettua ^(kulttuuria) yleisön käyttöön.

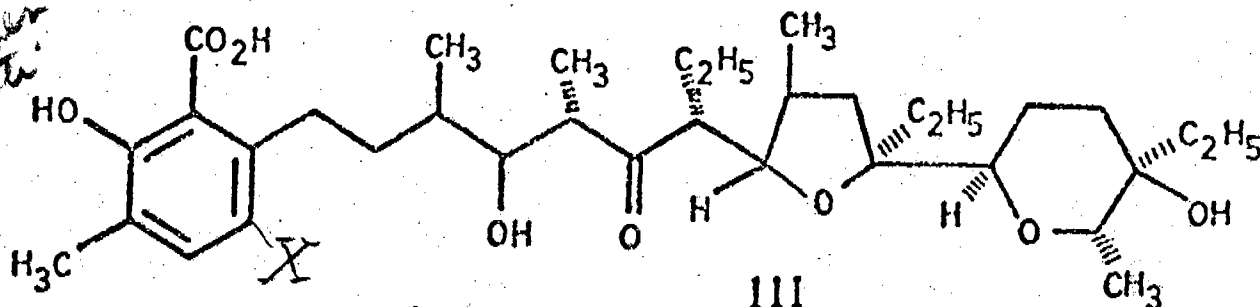
Suorittamalla käyttäminen mainitun mikro-organismin avulla saadaan antibioottia, joka on tähän asti identifioitu nimellä (Antibiotikum) X-537A

antibiootti X-537 A (?)

Lasaloridi A (?)

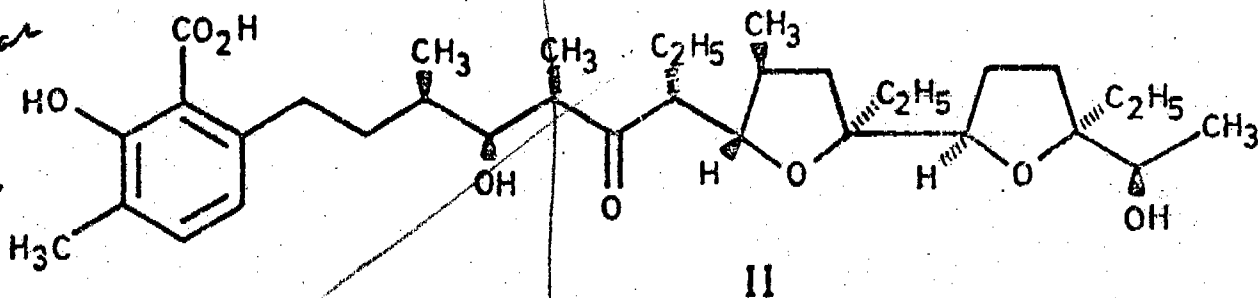
3

(Lasalocid A). Tämän yhdisteen ^{malla}analysoinnin mukaisesti sen todettiin vastaavan rakennetta 6- { 7(R)-[5(S)-etyyli-5-(5(R)-etyylitetrahydro-5-hydroksi-6(S)-metyyli-2H-pyran-2(R)-yyli)-tetrahydro-3(S)-metyyli-2(S)furyyli]-4(S)-hydroksi-3(R), 5(S)-dimetyyli-6-oksononyyli } -2,3-kresotiinihappo, so. yhdistettä, jonka kaava on III, josta X on vety



Lasaloridi A -antibiootti

Käymisessä muodostuu myös Antibiotikum Lasalocid A:n isomeeria, so. kaavaa II vastaavaa yhdistettä



jonka kemiallinen nimitys on

6- { 7(R)-[5(S)-etyyli-5-(5(S)-etyylitetrahydro-5-(1-(R)-hydroksietyyli)-furan-2(R)-yyli)-tetrahydro-3(S)-metyyli-2(S)-furyyli]-4(S)-hydroksi-3(R), 5(S)-dimetyyli-6-oksononyyli } -2,3-kresotiinihappo. Viimemainitusta yhdisteestä käytetään myös nimitystä Iso-lasalocid A. iso-lasaloridi A (?)

Yhdistettä Iso-lasalocid A voidaan valmistaa käyttämällä sopivaa elatusainetta, jossa on Streptomyces X-537:ää ilmastaiduissa pinnanalais-olosuhteissa, jolloin käymisliuoksen pH-arvo säädetään suunnilleen neutraalia reaktiota vastaavaksi, so. välille noin 6,5-7,5. Käytettävä elatusliuos sisältää typpi-lähteen, kuten esim. hiivaa tai hiivavalmistetta, maissijauhetta, papujauhoa tai vastaavaa, lähinnä soijapapujauhetta; suoloja kuten esim. kaliumfosfaattia, kalsiumkarbonaattia ja hivenalkuaineita, hiilihydraattilähteen esim. sokeria,

melassia tai vastaavaa ainetta lähinnä tärkkelystä ja kasvis- tai eläinrasvaa tai öljyä, kuten esim. soijapapuöljyä tai paistinöljyä hiililähteinä ja vaahtoutumisen estoaaineina. Käyttäminen suoritetaan normaalia hieman korkeamassa lämpötilassa, so. välillä noin 25 - 35°C; työ suoritetaan lähinnä noin 31°C:ssa. Noin 4-9 vuorokauden idätysajan jälkeen käymisliuos suodatetaan ja antibiootti otetaan talteen uuttamalla.

Käymisen päätyttyä Iso-lasalocid A:n eristämiseen ja puhdistamiseen voidaan käyttää useita menetelmiä. Sopivia menetelmiä ovat: uuttaminen liuottimilla kuten esim. intermitttoiva uuttaminen tai uuttaminen "neste-neste"-vastavirtajakomenetelmällä, samoin kuin myöskin geelipermeaatiokromatografinen jakomenetelmä vedettömässä systeemissä.

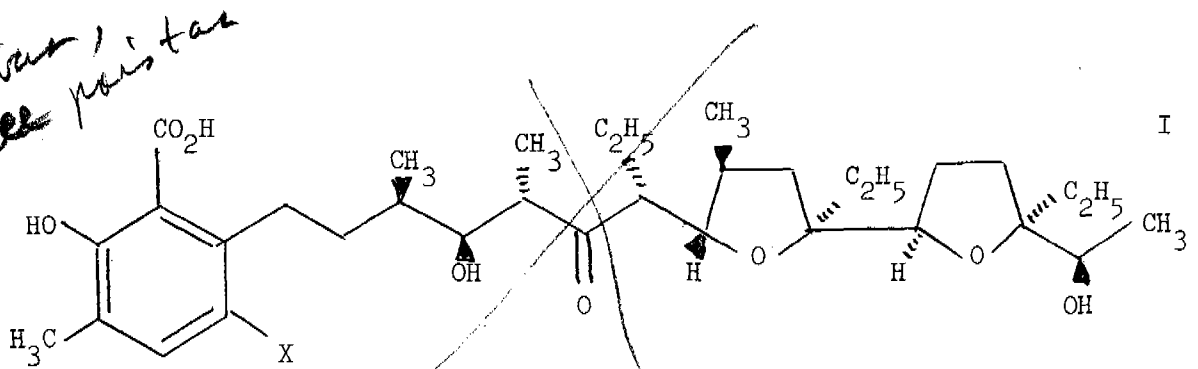
Iso-lasalocid A:n suoloja voidaan valmistaa tavanomaisin sinänsä tunnetuin menetelmin, esimerkiksi käyttämällä lähtöaineena antibiootin vapaata happoa, esim. pesemällä liuoksessa olevaa vapaata happoa sopivalla emäksellä tai sopivalla suolalla. Tähän tarkeitukseen sopivia emäksiä ovat esim. alkalimetalliemäkset kuten esim. natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi tai vastaavat; maa-alkalimetalliemäkset kuten kalsiumhydroksidi, bariumhydroksidi tai muut vastaavat hydroksidit ja ammoniumhydroksidi. Alkalimetalli- ja maa-alkalimetallisuoloja, joita voidaan käyttää keksinnön mukaisten farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseen, ovat esim. karbonaatit, vetykarbonaatit ja sulfaatit.

Kaavaa I vastaavien yhdisteiden ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen vaikutusta valaisevat seuraavat bromiyhdisteen, so. kaavaa I vastaavan yhdisteen, jossa X vastaa bromia, vaikutusarvot eräitä grampositiivisia bakteereja vastaan:

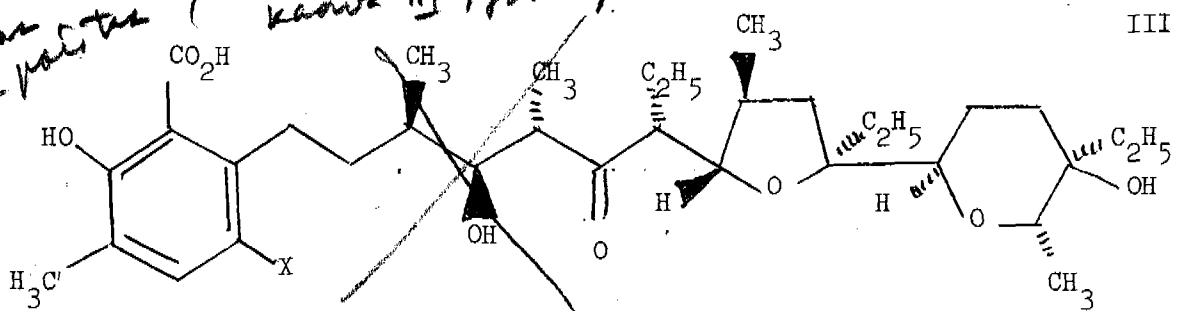
Bacillus sp. E	(ATCC n:o 27. 859)
Bacillus sp. TA	(ATCC n:o 27. 860)
Bacillus megaterium	(ATCC n:o 8. 011)
Bacillus subtilis	(NRRL n:o 558)
Staphylococcus aureus	(ATCC n:o 6.538 p)
Sarcina lutea	(ATCC n:o 9. 341)
Actinomyces cellulosae	(ATCC n:o 3. 313)

Bromijohdannaisensuhteellista antibioottista vaikutusta Bacillus sp. TA:ta vastaan in vitro puhtaaseen antibioottiin Lasalocid A verrattuna tutkittiin agar-diffuusiomenetelmän avulla reikälevyillä. Bromijohdannainen osoittautui Lasalocid A:han verrattuna suhteellisesti 75 prosenttia tehokkaammaksi. Toisaalta Iso-lasalocid A:n bromijohdannaisen myrkyllisyys hiiriin nähden on merkittävästi vähäisempi, koska LD 50-arvo on > 2000 mg/kg po., Lasalocid A:n vastaavan arvon ollessa noin 150 mg/kg po.

Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetuilla iso-lasalocidin 5-halogeeni johdannaisilla sekä tunnetuilla yhdisteillä (iso-lasalocid, lasalocid ja sen 5-halogeeni johdannaiset) suoritettiin vertailevia terapeuttisia kokeita uusien yhdisteiden terapeuttisen tehon osoittamiseksi.



Isolasalocid ja sen 5-Halogeeni johdannaiset



Lasalocid ja sen 5-Halogeeni johdannaiset

(?) Yhdisteiden antimikrobiaalinen vaikutus in vitro (MIC, mg/ml) määritettiin agardiffuusiomenetelmällä. Tulokset on esitetty taulukoissa A ja B. Taulukossa A keksinnön mukaisella menetelmällä valmistettuja yhdisteitä (I/X = Cl, Br, I) on verrattu yhdisteeseen I/X = H ja taulukossa B yhdisteisiin III/X = Cl, Br, I.

kuin näite

tambukidam jsi kaita tulini sehvnta

kaava

A. Vertailu yhdisteeseen $I/X = H$:

Mikro-organismi	MIC, mg/ml			
	$I/X = Cl$	$I/X = Br$	$I/X = I$	$I/X = H$
Staphylococcus aureus	6,25	3,13	6,25	12,5
Sarcina lutea	0,79	0,39	0,79	6,25
Bacillus megaterium	0,09	0,39	0,39	1,57
Bacillus sp. E	0,09	0,79	0,39	1,57
Bacillus subtilis	1,57	0,79	0,79	1,57
Bacillus sp. TA	0,79	1,57	0,79	3,13
Mycobacterium phlei	12,5	6,25	12,5	6,25
Actinomyces cellulosae	6,25	12,5	12,5	25,0

kaava III?

B. Vertailu yhdisteisiin $II/X = Cl, Br, I$

mitään?

Mikroorganismi	MIC, mg/ml					
	$I/X=Cl$	$I/X=Br$	$I/X=I$	$III/X=Cl$	$III/X=Br$	$III/X=I$
Sarcina lutea	0,8	0,4	0,8	1,6	1,6	1,6
Bacillus megaterium	0,1			0,4		
Bacillus sp. E	0,1			0,4		

Kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka eivät ole 5-asemassa halogeeniatomilla substituoituja, ovat tunnettuja seuraavasta julkaisusta: Am. Chem. Soc. Abstract of Papers, 167th ACS National Meeting, Los Angeles, California, March 31-April 5, 1974 (MEDI-50). Kaavan III mukaiset yhdisteet (Lasalocid A ja sen 5-asemassa halogeeniatomilla substituoidut johdannaiset) ovat tunnettuja esim. suomalaisesta patenttijulkaisusta 52 582. Kaavan I mukaiset uudet yhdisteet ovat yllättäen osoittautuneet antibakteeriselta aktiivisuudeltaan huomattavasti tunnettuja yhdisteitä tehokkaammiksi useita patogeenisia mikro-organismeja vastaan, kuten *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp. E, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. TA, *Mycobacterium phlei* ja *Actinomyces cellulosae*.

*Suositusten-
merkkejä
muutetaan!*

Esimerkki 2.

Iso-lasalocid A:n jodijohdannaisen natriumsuolan valmistus.

Liuos, joka sisälsi 1,8 g iso-lasalocid A:n natriumsuolaa 50 ml:ssa jäätetikan ja kloroformin seosta, käsiteltiin 980 mg:lla jodimonokloridia (juuri tislattu 97-99°C:ssa kiehuva fraktio). Jodimonokloridi sekoitettiin 5 ml:aan etikkahappoa, ja tämä lisättiin reaktioseokseen hitaasti 15 minuutin kuluessa. Odotettiin 15 minuuttia, minkä jälkeen vettä (100 ml) lisättiin hitaasti ja seos uutettiin eetterillä. Liuotinkerros erotettiin ja pestiin natriumbisulfiitin, natriumbikarbonaatin ja natriumkarbonaatin vesiliuoksilla. Liuotin kuivattiin (Na_2SO_4). Liuosta konsentroitaessa tuote kiteytyi, ja se erotettiin suodattamalla. Uudelleen kiteytettäessä etyyliasetaatista saatiin iso-lasalocidin jodijohdannaisen natriumsuola ($\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{I NaO}_8$) valkoisina kiteinä, sp. 189-191°C, $\alpha_D = -45,5^\circ$ (0,99 %, CHCl_3). Tuote sisältää noin 25 % korkeampaa homologia ($\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{I NaO}_8$).

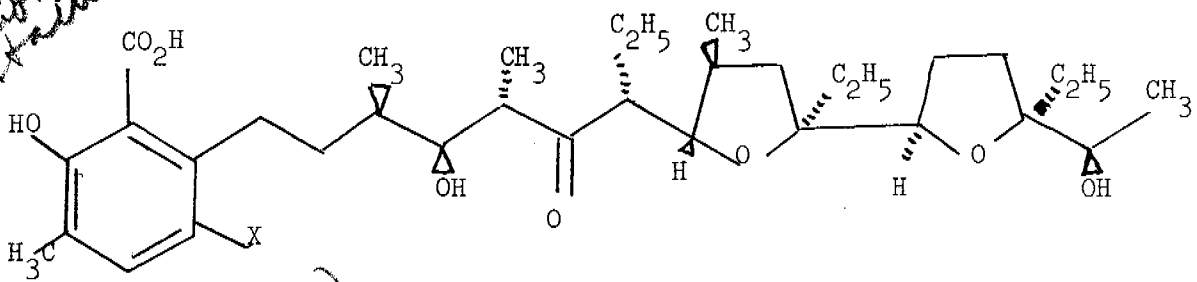
Esimerkki 3.

Iso-lasalocid A:n kloorijohdannaisen natriumsuolan valmistus.

Kylmään liuokseen (noin 3°C), joka sisälsi 6,12 g iso-lasalocid A:n natriumsuolaa 50 ml:ssa kloroformin ja hiilitetrakloridin (3 ml) seosta, lisättiin hitaasti 34 ml hiilitetrakloridia, joka oli kyllästetty 10 millimoolilla kloorikaasua. Reaktion annettiin jatkua puoli tuntia, minkä jälkeen liuos suodatettiin ja suodos käsiteltiin kyllästetyllä Na_2CO_3 :n vesiliuoksella. Liuotinkerros kuivatettiin Na_2SO_4 :lla ja konsentroitiin pieneen tilavuuteen, tähän lisättiin heksaania, jolloin saatiin kiteinen tuote. Tämä kiteytettiin uudelleen metyleenikloridi/eetteristä ja asetoni/heksaanista. Iso-lasalocid A:n kloorijohdannaisen natriumsuola ($\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{Cl NaO}_8$) saadaan valkoisina kiteinä, sp. 183-184°C, $\alpha_D = -60,77$ (0,99 %, CHCl_3). Tuote sisältää noin 25 % korkeampaa homologia $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{NaO}_8\text{Cl}$.

Patenttivaatimus:

Menetelmä 5-halogeeni-2,3-kresotiinihappo-johdannaisten, jotka vastaavat yleiskaavaa

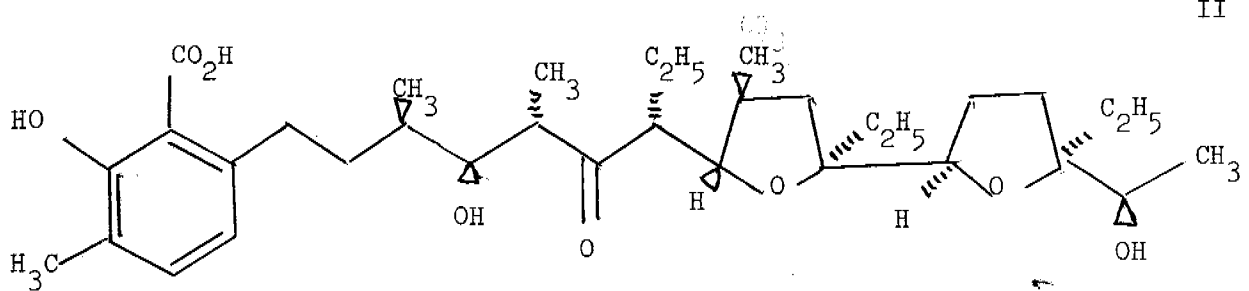


I

jossa X ~~vastaa~~ *merkitsee* klooria, bromia tai jodia, ja näiden yhdisteiden farmaseut-
tisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u si t ä,
että menetelmässä halogenoidaan vastaavalla tavalla kaava *II mukaisen / yhdis.*

Sinänsä tunnetulla tavalla

Tee täsmällinen nimi



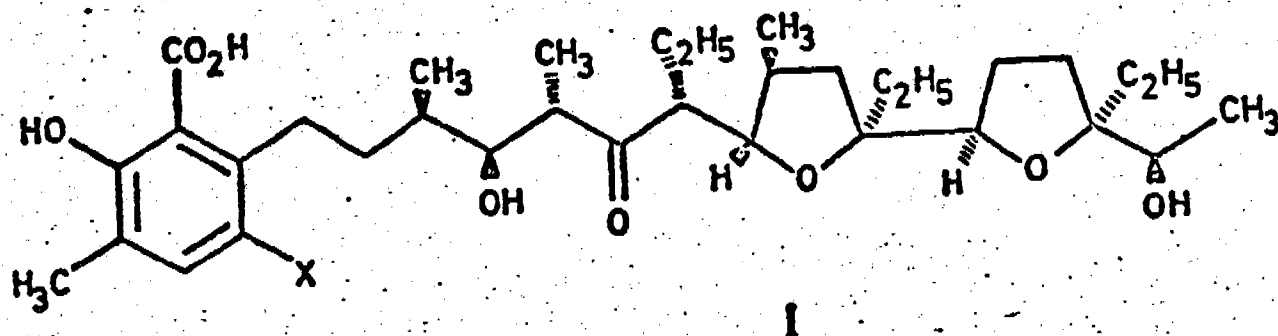
II

II mukainen
~~vastaavan yhdisteen~~ suolaa ja haluttaessa saatu kaava ~~I vastaava~~ yhdiste
muutetaan farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolakseen.

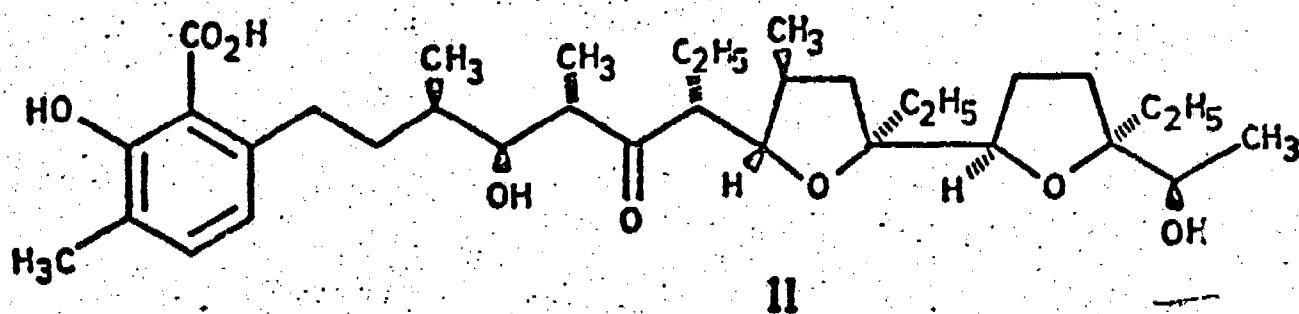
ruotsin kiel. pat. vaat.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av halogenderivat med den allmänna formeln



vari X betecknar klor, brom eller jod, och farmaceutiskt fördragbara salter av dessa föreningar, k ä n n e t e c k n a t därav, att man underkastar ett salt av en förening med formeln

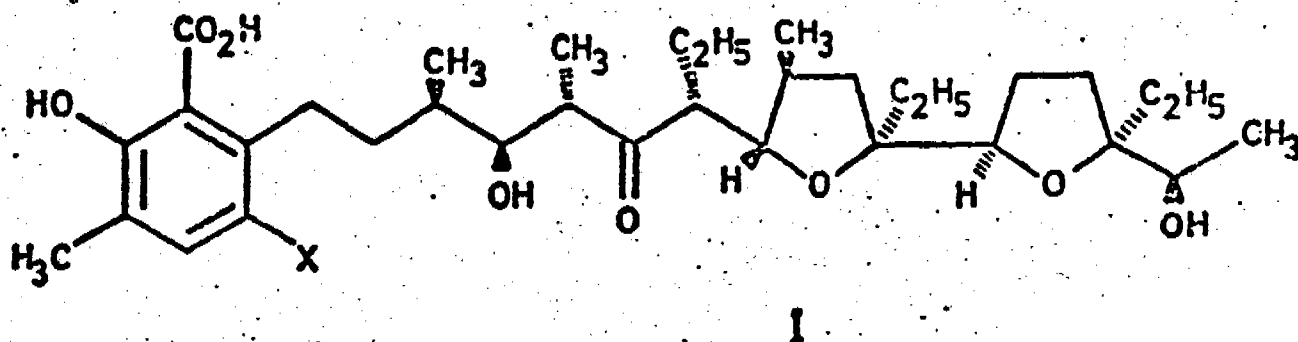


en motsvarande halogenering och, ifall önskvärt, överför en erhållen förening med formeln I i ett farmaceutiskt fördragbart salt därav.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man utför halogeneringen genom behandling med N-brom- eller N-klorsuccinimid eller med brom, klor, jod eller jodmonoklorid i ett lämpligt lösningsmedel.

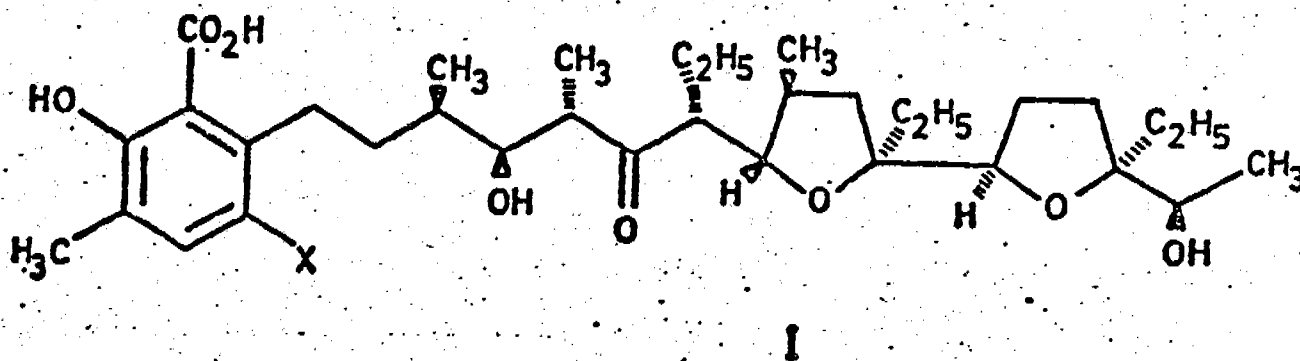
3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att man underkastar saltet av föreningen med formeln II en bromering.

4. Förfarande för framställning av preparat med verkning mot bakterier och protozoer, k ä n n e t e c k n a t därav, att man blandar ett halogenderivat med den allmänna formeln



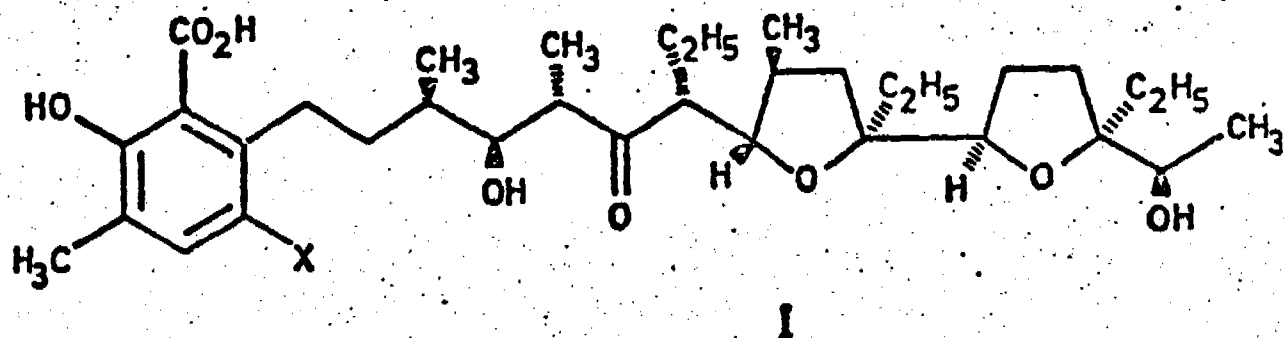
vari X betyder klor, brom eller jod, eller ett farmaceutiskt fördragbart salt därav som verksam beståndsdel med för terapeutisk administration lämpliga, giftria, inerta, i och för sig i dylika preparat vanliga fasta och flytande bärare och/eller excipienter.

5. Preparat med verkan mot bakterier och protozoer, k ä n n e t e c k n a t därav, att det innehåller ett halogenderivat med den allmänna formeln



vari X betyder klor, brom eller jod, eller ett farmaceutiskt fördragbart salt därav i blandning med en bärare.

6. Halogenderivat med den allmänna formeln



vari X betyder klor, brom eller jod, och farmaceutiskt fördragbara salt av dessa föreningar.

7. Föreningen med formel I i patentkravet 6, vari X betyder brom, jämte farmaceutiskt fördragbara salt av denna förening.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patent-
ansökningar: _____

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

Suomi - Finland 52582 C07D 407/04

Iso-Britannia - Storbritannien _____

Norja - Norge _____

Ranska - Frankrike _____

Ruotsi - Sverige _____

Saksa - BRD - Tyskland _____

Sveitsi - Schweiz _____

Tanska - Danmark _____

USA _____

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

2/7-81 Pekka Sahminen

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