

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **018653**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.09.30

(21) Номер заявки
201170121

(22) Дата подачи заявки
2008.09.08

(51) Int. Cl. *A61K 31/4409* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

(31) **61/077,293**

(32) **2008.07.01**

(33) **US**

(43) **2011.06.30**

(86) **PCT/US2008/075549**

(87) **WO 2010/002415 2010.01.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТАЙДЖЕН БАЙОТЕКНОЛОДЖИ
КО., ЛТД. (TW)**

(72) Изобретатель:
**Хсу Мин-чу, Кинг Чи-Син Ричард
(US), Чэнь Шу-Цзэнь (TW), Линь Люк
(SG)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

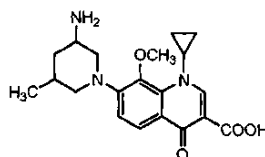
(56) **WO-A1-9914214**

Hu, X.E. et al. "Discovery of (3S)-Amino-(4R)-ethylpiperodiny Quinolones as Potent Antibacterial Agents with a Broad Spectrum of Activity and Activity against Resistant Pathogens", Journal of Medicinal Chemistry, 2003, 46(17), 3655-3661, ISSN 0022-2623, See Scheme 2 and Table 2

Barry A.L. et al. "In Vitro Activities of Three Nonfluorinated Quinolones against Representative Bacterial Isolates", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001, 45(6), 1923-1927, ISSN 0066-4804, See Figure 1, Tables 1-3

Roychoudhury S. et al. "Activity of non-fluorinated quinolones (KFQs) against quinolone-resistant *Escherichia coli* and *Streptococcus pneumoniae*", Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001, 48(1), 29-36, ISSN 0305-7453, See Figures 1-3, Tables I-V

(57) Изобретение относится к способу лечения инфекции, вызванной внебольничными метициллин-устойчивыми *Staphylococcus aureus*, путем введения субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества хинолонового соединения следующей формулы:

**B1****018653****018653****B1**

Перекрестная ссылка

Настоящая заявка испрашивает приоритет в отношении предварительной заявки США № 61/077293, поданной 1 июля 2008 года, содержание которой включено в данный текст ссылкой.

Уровень техники изобретения

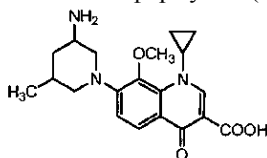
Устойчивость бактерий к антибиотикам может быть наследственным признаком либо приобретена путем мутации. Бактерии, устойчивые к антибиотикам, становятся серьезной угрозой общественному здравоохранению.

Например, приблизительно 1% популяции в мире несут метициллин-устойчивый золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) (МРЗС), бактериальный штамм, который устойчив к широко применяемым антибиотикам. Большинство инфекций, связанных с МРЗС, имеют место в больницах и здравоохранительных учреждениях, таких как дома престарелых и центры гемодиализа. Эти инфекции известны как госпитальные инфекции МРЗС (госпитальные МРЗС). Пожилые люди или люди с ослабленной иммунной системой имеют высокий риск приобретения инфекций госпитального МРЗС. Другой тип МРЗС, внебольничный МРЗС, был обнаружен в последнее время у группы здоровых людей в более широком сообществе. Внебольничный МРЗС вызывает серьезные инфекции кожи и мягких тканей и тяжелую форму пневмонии.

Инфекции, вызываемые бактериями, устойчивыми к антибиотикам, зачастую не поддаются лечению существующими антибиотиками. Следовательно, необходима разработка новых препаратов антибиотиков.

Сущность изобретения

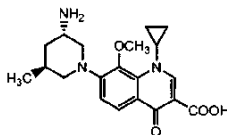
Настоящее изобретение относится к способу лечения инфекции, вызванной внебольничными метициллин-устойчивыми *Staphylococcus aureus*. Способ включает введение пациенту эффективного количества одного из соединений хинолона, описываемого формулой (I)



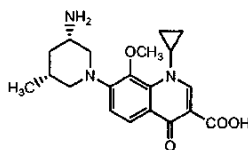
Формула (I)

Эти соединения хинолона содержат центры асимметрии. Соединения включают все формы стерео-изомеров. Приведены два примера изомерных соединений

(3S,5S)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолин-карбоновая кислота



(3S,5R)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолинкарбоновая кислота



Хинолоновые соединения могут представлять сами соединения, а также являться их солями, пролекарствами или сольватами. Соль может быть образована анионом и положительно заряженной группой (например, аминогруппой) соединения. Подходящие анионы включают хлорид, бромид, йодид, сульфат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, ацетат, малат, тозилат, тартрат, fumarat, глутамат, глюкуронат, лактат, глутарат и малеат. Подобным образом, соль также может быть образована катионом и отрицательно заряженной группой (например, карбоксилат) соединения. Подходящие катионы включают ион натрия, ион калия, ион магния, ион кальция и катионы аммония, такие как ион тетраметиламмония. Пролекарство может являться сложным эфиром и другим приемлемым с фармацевтической точки зрения производным, которое при приеме пациентом способно давать соединение формулы (I). Термин сольват относится к комплексу, образованному соединением формулы (I) и приемлемым с фармацевтической точки зрения растворителем. Приемлемым с фармацевтической точки зрения растворителем может быть вода, этиловый спирт, изопропанол, этилацетат, уксусная кислота и этаноламин. Следовательно, хинолоновые соединения, годные для практического применения настоящего изобретения, могут представлять собой, например, соли малата (соли яблочной кислоты) указанного соединения и полугидраты солей.

Детали некоторых вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие ха-

рактические, цели и преимущества изобретения будут очевидны из описания, а также формулы изобретения.

Подробное описание изобретения

Хинолоновые соединения, применяемые для осуществления настоящего изобретения, могут быть синтезированы традиционными способами. Пример 1, приведенный ниже, иллюстрирует синтетические методы получения двух изомерных соединений. Специалист в данной области сможет получить другие изомеры или другие формы путем модификации процедуры синтеза. Преобразования синтетической химии и методики блокирующих групп (защита и снятие защитных групп), целесообразные в синтезе, известны в данной области и включают, например, таковые, описанные в R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994) и L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), и их последующие редакции.

Соединения, синтезированные таким образом, далее могут быть очищены с помощью флэш-хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, кристаллизации или других подходящих методик.

Вышеописанные хинолоновые соединения подавляют рост метициллин-устойчивых бактерий, ванкомицин-устойчивых бактерий, пенициллин-устойчивых бактерий, кларитромицин-устойчивых бактерий и метронидазол-устойчивых бактерий. Следовательно, аспект настоящего изобретения относится к способу лечения инфекций, вызванных одним из видов бактерий, путем введения нуждающемуся пациенту эффективного количества одного из хинолоновых соединений. Примером осуществления этого способа является применение хинолонового соединения для лечения инфекции, вызванной мультиустойчивыми *Streptococcus pneumoniae*, в котором бактерии устойчивы не менее чем к одному из антибиотиков метициллин, ванкомицин и пенициллин.

Термин "устойчивый", используемый в данном тексте, относится к устойчивости к препарату от промежуточного уровня до максимального уровня. Метициллин-устойчивые бактерии включают, но не ограничены, метициллин-устойчивые *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus aureus*, обладающие устойчивостью к метициллину, связанной с эффлюксом; внебольничные метициллин-устойчивые *Staphylococcus aureus* и метициллин-устойчивые *Staphylococcus epidermidis*. Ванкомицин-устойчивые бактерии включают, но не ограничены, *Staphylococcus aureus* с промежуточной устойчивостью к гетеро-ванкомицину; *Staphylococcus aureus* с промежуточной устойчивостью к ванкомицину и ванкомицин-устойчивые *Staphylococcus aureus*. Пенициллин-устойчивые бактерии включают, но не ограничены, пенициллин-устойчивые *Streptococcus pneumoniae*. Кларитромицин-устойчивые бактерии включают, но не ограничены, кларитромицин-устойчивые *Helicobacter pylori*. Метронидазол-устойчивые бактерии включают, но не ограничены, метронидазол-устойчивые *Helicobacter pylori*.

Термин "эффективное количество" относится к количеству активного вещества, которое требуется для достижения у пациента планируемого терапевтического эффекта. Эффективные количества могут варьировать, как признано специалистами в данной области, в зависимости от способа приема, применения вспомогательного средства и возможности совместного применения с другими агентами. Термин "лечение" относится к назначению одного из вышеуказанных хинолоновых соединений к приему пациентом с одной из вышеуказанных инфекций, либо с симптомом такой инфекции, либо с предрасположенностью к такой инфекции, с целью излечения, заживления, облегчения, ослабления, преобразования, восстановления, улучшения, корректирования или воздействия на инфекцию, симптомы инфекции или предрасположенность к инфекции.

Для осуществления настоящего способа хинолоновые соединения могут назначаться к приему орально, парентерально, с помощью ингаляции или имплантированного резервуара. Термин "парентерально" при использовании в данном тексте включает подкожное, внутрикожное, внутривенное, внутримышечное, внутрисуставное, внутриартериальное, надчревное, спинальное введение внутрь пораженных тканей и внутривенные инъекции или инфузионное введение.

Оральная композиция может быть представлена любой приемлемой для орального применения лекарственной формой, включая, но не ограничиваясь, таблетки, капсулы, эмульсии и водные суспензии, дисперсии и растворы. Широко применяемые носители для таблеток включают лактозу и кукурузный крахмал.

Также обычно в таблетки добавляются смазывающие вещества, такие как стеарат магния. Подходящие растворители инкапсулированной лекарственной формы для орального приема включают лактозу и сухой кукурузный крахмал. При оральном приеме водных суспензий или эмульсий активный ингредиент может быть ресуспендирован или растворен в масляной фазе, скомбинированной с эмульгирующими или суспендирующими веществами. По желанию могут быть добавлены некоторые подсластители, ароматизаторы или красители.

Стерильная инъекционная композиция (например, водная или масляная суспензия) может быть разработана согласно методикам, известным в данной области техники, с применением подходящих диспергирующих или увлажняющих компонентов (таких, например, как Твин 80) и суспендирующих средств.

Стерильный инъеклируемый препарат также может являться стерильным инъеклируемым раствором или суспензией в нетоксичном приемлемом для парентерального введения разбавителе или растворителе, например раствором в 1,3-бутандиоле. Подходящими носителями и растворителями, которые могут использоваться, являются маннитол, вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды широко применяются стерильные нелетучие масла (например, синтетические моно- или диглицериды). Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, подходят для изготовления инъеклируемых препаратов, как и природные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое и касторовое масло, особенно в полиоксиэтилированном виде. Эти масляные растворы или суспензии также могут содержать длинноцепочечный спиртовой разбавитель или диспергатор либо карбоксиметилцеллюлозу или схожие диспергирующие компоненты.

Ингаляционная композиция может быть приготовлена согласно методикам, хорошо известным в области фармацевтических рецептурных разработок, и может быть получена в виде растворов в солевом растворе, применяемом бензиловом спирте или других пригодных консервантах, стимуляторах абсорбции для повышения биологической доступности, фторуглеродах и/или других растворяющих или диспергирующих веществах, известных в данной области техники.

Лекарственная форма для наружного применения может быть разработана в форме масла, крема, лосьона, мази и подобных. Подходящие носители для такой композиции включают растительные и минеральные масла, белый вазелин (белый мягкий парафин), жиры с разветвленной цепью или масла, животные жиры и спирты с высокой молекулярной массой (больше C12). Предпочтительны те носители, в которых растворим активный ингредиент. Также по желанию в состав могут быть включены эмульгаторы, стабилизаторы, увлажнители и антиоксиданты, равно как и компоненты, придающие окраску или аромат. Дополнительно в этих лекарственных формах для наружного применения могут использоваться стимуляторы проникновения через кожу. Примеры подобных стимуляторов могут быть найдены в патентных заявках США 3989816 и 4444762. Рецепт кремов предпочтительно основана на смеси минерального масла, самоэмульгирующемся воске и воде, при этом активный ингредиент, растворенный в малом количестве масла, таком как миндальное масло, подмешивается в смесь. Примером подобного крема является крем, включающий около 40 ч. воды, около 20 ч. воска, около 40 ч. минерального масла и около 1 ч. миндального масла. Для составления мазей смешивается раствор активного ингредиента в растительном масле, таком как миндальное масло, с теплым мягким парафином, и смесь оставляется для охлаждения. Примером подобной мази является мазь, которая включает около 30 вес.% миндального масла и около 70% белого мягкого парафина.

Носитель в фармацевтической композиции должен быть "приемлемым" в том смысле, что он совместим с активными ингредиентами композиции (и предпочтительно способствует ее стабилизации) и не вреден для проходящего лечение пациента. Например, растворители, такие как циклодекстрины (которые образуют специфические, более растворимые комплексы с одним или более активным веществом экстракта), могут применяться в качестве вспомогательных веществ для доставки активных ингредиентов. Примеры других носителей включают коллоидный диоксид кремния, стеарат магния, целлюлозу, лаурилсульфат натрия и D&C Yellow № 10.

Для предварительной оценки эффективности какого-либо из вышеописанных соединений в подавлении роста бактерий могут использоваться соответствующие анализы *in vitro*. Далее, эффективность соединения в лечении бактериальной инфекции может быть протестирована с помощью анализов *in vivo*. Например, соединение может приниматься животными (например, мышьяная модель), имеющими инфекцию, и затем достигнуты его терапевтические эффекты. На основе полученных результатов могут быть определены адекватный интервал доз и способ введения лекарства.

Считается, что изложенное выше описание без дальнейших разработок адекватно раскрывает настоящее изобретение. Следовательно, следующие конкретные примеры интерпретируются только как иллюстративные и никоим образом не ограничивают остальные. Все публикации, включая патенты, процитированные в данном тексте, настоящим введены ссылкой во всей их полноте.

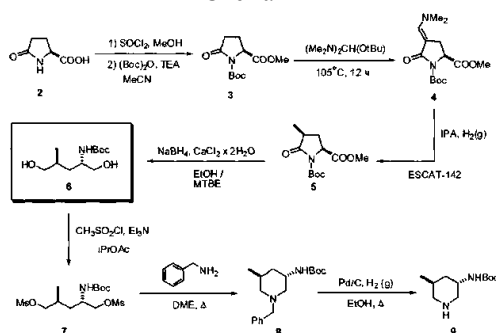
Пример 1.

Малаты (яблочно-кислые соли) (3S,5S)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолинкарбоновой кислоты (соединение 1) и (3S,5R)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолинкарбоновой кислоты (соединение 1') были синтезированы следующим образом.

А. Синтез трет-бутилового эфира (3S,5S)-(5-метилпиперидин-3-ил)карбаминовой кислоты (соединение 9) и трет-бутилового эфира (3S,5R)-(5-метилпиперидин-3-ил)карбаминовой кислоты (соединение 9').

Соединение 9' было синтезировано, как показано ниже на схеме 1.

Схема 1



В реактор объемом 50 л загрузили соединение 2 (5,50 кг, 42,60 моль), метанол (27 л) и охладили до 10–15°C. Тионилхлорид (10,11 кг, 2,0 экв.) добавляли с помощью капельной воронки на протяжении 65 мин, для поддержания температуры ниже 30°C использовалось наружное охлаждение. Полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 1,0 ч, после чего под отрицательным давлением удаляли метанол. Масляный остаток очищали от остаточного метанола азеотропным способом с этилацетатом (3×2,5 л), растворяли в этилацетате (27,4 л), загружали в 50-литровый реактор и нейтрализовали при медленном добавлении триэтиламина (3,6 кг) при температуре ниже 30°C. Полученную суспензию фильтровали для удаления триэтиламин гидрохлорида.

Фильтрат загружали в 50-литровый реактор вместе с диметиламинопиридином (DMAP, 0,53 кг). Ди-трет-бутил бикарбонат (8,43 кг) добавляли через подогреваемую горячей водой капельную воронку на протяжении 30 мин при температуре 20–30°C. Реакцию завершали через 1 ч, что определяли анализом результатов тонкослойной хроматографии. Органическую фазу промывали ледяной 1 N HCl (2×7,5 л), насыщенным раствором бикарбоната натрия (1×7,5 л), сушили с помощью сульфата магния и фильтровали. После удаления этилацетата под пониженным давлением получали кристаллический шлам, который тритировали с МТБЭ (метилтретбутиловый эфир) (10,0 л), и фильтровали для получения соединения 3 в виде белого твердого вещества (5,45 кг, 52,4%).

Аналитический расчет для $C_{11}H_{17}NO_5$: C, 54,3; H, 7,04; N, 5,76. Получено: C, 54,5; H, 6,96; N, 5,80. Масс-спектрометрия высокого разрешения (ESI^+): ожидаемо для $C_{11}H_{18}NO_5$, $[M+H]^+$ 244,1185. Получено: 244,1174; 1H ЯМР ($CDCl_3$, 500 МГц): δ =4,54 (дд, J=3,1, 9,5 Гц, 1H), 3,7 (с, 3H), 2,58–2,50 (м, 1H), 2,41 (ддд, 1H, J=17,6, 9,5, 3,7), 2,30–2,23 (м, 1H), 1,98–1,93 (м, 1H), 1,40 (с, 9H); ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, 125,70 МГц): δ 173,3, 171,9, 149,2, 83,5, 58,8, 52,5, 31,1, 27,9, 21,5. Температура плавления 70,2°C.

В 50-литровый реактор загружали соединение 3 (7,25 кг, 28,8 моль), диметилэтанолламин (6,31 кг) и реагент Бредерика (7,7 кг, 44,2 моль). Раствор перемешивали и нагревали до 75±5°C в течение 3 ч. Реакцию охлаждали до 0°C более 1 ч, в течение этого времени образовывался осадок. Смесь выдерживали при 0°C в течение 1 ч, фильтровали и высушивали в вакуумной печи не менее 30 ч при 30±5°C для получения соединения 4 в виде белого кристаллического твердого вещества (6,93 кг, 77,9%).

Аналитический расчет для $C_{14}H_{22}N_2O_5$: C, 56,4; H, 7,43; N, 9,39. Получено: C, 56,4; H, 7,32; N, 9,48; Масс-спектрометрия высокого разрешения (ESI^+): ожидаемо для $C_{14}H_{22}N_2O_5$, $[M+H]^+$ 299,1607. Получено: 299,1613; 1H ЯМР ($CDCl_3$, 499,8 МГц) δ =7,11 (с, 1H), 4,54 (дд, 1H, J=10,8, 3,6), 3,74 (с, 3H), 3,28–3,19 (м, 1H), 3,00 (с, 6H), 2,97–2,85 (м, 1H), 1,48 (с, 9H); ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, 125,7 МГц) δ =172,6, 169,5, 150,5, 146,5, 90,8, 82,2, 56,0, 52,3, 42,0, 28,1, 26,3. Температура плавления 127,9°C.

В реактор Pfaudler на 10 галлон загружали ESCAT 142 (Engelhard Corp. N.J, US) 5% палладиевый катализатор на углеродном носителе (50% влажность, 0,58 кг мокрого веса), соединение 4 (1,89 кг, 6,33 моль) и изопропанол (22,4 кг). После перемешивания под давлением 45 фунт/кв.дюйм водородных атмосфер и при 45°C в течение 18 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через слой целита (0,51 кг). Фильтрат сгущали выпариванием под отрицательным давлением для получения густого масла, которое затвердевало отстаиванием до соединения 5 (1,69 кг, 100%) в виде диастерео-изомерной смеси с соотношением 93:7.

Образец смеси продукта очищали методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для получения материала для аналитических данных. Аналитический расчет для $C_{12}H_{19}NO_5$: C, 56,0; H, 7,44; N, 5,44. Получено: C, 55,8; H, 7,31; N, 5,44; масс-спектрометрия (ESI^+): ожидаемо для $C_{12}H_{19}NO_5$, $[M+H]^+$ 258,1342. Получено 258,1321; 1H ЯМР ($CDCl_3$, 499,8 МГц) δ =4,44 (м, 1H), 3,72 (с, 3H), 2,60–2,48 (м, 2H), 1,59–1,54 (м, 1H), 1,43 (с, 9H), 1,20 (д, J=6,8 Гц, 3H); ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, 125,7 МГц) δ =175,7, 172,1, 149,5, 83,6, 57,4, 52,5, 37,5, 29,8, 27,9, 16,2. Температура плавления 89,9°C.

В 50-литровый реактор загружали соединение 5 (3,02 кг, 11,7 моль), абсолютный этанол (8,22 кг) и метил-трет-бутиловый эфир (14,81 кг). Борогидрат натрия (1,36 кг, 35,9 моль) добавляли малыми порциями при 0±5°C. Наблюдали выделение небольшого количества пузырьков. Реакционную смесь нагревали до 10±5°C и порционно добавляли дигидрат хлорида кальция (2,65 кг) при 10±5°C более 1 ч. Допус-

кали нагревание реакции до $20 \pm 5^\circ\text{C}$ более 1 ч и реакцию перемешивали еще 12 ч при $20 \pm 5^\circ\text{C}$. После охлаждения реакции до $-5^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$, медленно добавляли ледяную 2 N кислоту HCl (26,9 кг) при температуре $0 \pm 5^\circ\text{C}$. Перемешивание прекращали. Удаляли нижнюю водную фазу. В реактор в течение более 5 мин при перемешивании загружали насыщенный водой бикарбонат натрия (15,6 кг). Перемешивание вновь останавливали и удаляли нижнюю водную фазу. В реактор загружали сульфат магния (2,5 кг) и перемешивали не менее 10 мин. Смесь фильтровали через нутч-фильтр и концентрировали под отрицательным давлением для получения соединения 6 (1,80 кг, 66%).

Аналитический расчет для $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_4$: C, 56,6 H, 9,94; N, 6,00. Получено: C, 56,0; H, 9,68; N, 5,96; масс-спектрометрия высокого разрешения (ESI^+): ожидаемо для $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{NO}_4$, $[\text{M}+\text{H}]$ 234,1705. Получено: 234,1703; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 500 МГц) δ =6,34 (д, J =8,9 Гц, 1H, NH), 4,51 (т, J =5,8, 5,3 Гц, 1H, NHCHCH_2OH), 4,34 (т, J =5,3, 5,3 Гц, 1H, $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{OH}$), 3,46-3,45 (м, 1H, NHCH), 3,28 (дд, J =10,6, 5,3 Гц, $\text{NHCHCH}_2\text{NOH}$), 3,21 (дд, J =10,2, 5,8 Гц, 1H, $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{NOH}$), 3,16 (дд, J =10,2, 6,2 Гц, 1H, $\text{NHCHCH}_2\text{NOH}$), 3,12 (дд, J =10,6, 7,1 Гц, 1H, $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{NOH}$), 1,53-1,50 (м, 1H, $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{NOH}$), 1,35 (с, 9H, $\text{O}(\text{CH}_3)_3$), 1,30 (ддд, J =13,9, 10,2, 3,7 Гц, 1H, $\text{NHCHCH}_2\text{NHCH}$), 1,14 (ддд, J =13,6, 10,2, 3,4 Гц, 1H, $\text{NHCHCH}_2\text{NHCH}$), 0,80 (д, J =6,6 Гц, 3H, CH_3); ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 125,7 МГц) δ 156,1, 77,9, 50,8, 65,1, 67,6, 65,1, 35,6, 32,8, 29,0, 17,1. Температура плавления $92,1^\circ\text{C}$.

В 50-литровый реактор загружали раствор соединения 6 (5,1 кг) в изопропил ацетате (19,7 кг). Реакцию охлаждали до $15 \pm 5^\circ\text{C}$ и при этой температуре добавляли триэтиламин (7,8 кг). Далее реактор охлаждали до $0 \pm 5^\circ\text{C}$ и добавляли метансульфохлорид (MsCl) (6,6 кг). Реакцию перемешивали в течение нескольких часов, а завершение отслеживали с помощью ВЭЖХ или тонкослойной хроматографии. Реакцию подавляли добавлением насыщенного водного раствора бикарбоната. Органическую фазу выделяли и последовательно промывали с помощью холодного 10% водного раствора триэтиламина, холодного водного раствора HCl, холодного насыщенного водного раствора бикарбоната и, наконец, насыщенного водного солевого раствора. Органическую фазу высушивали, фильтровали и концентрировали под вакуумом при температуре ниже $55 \pm 5^\circ\text{C}$ для получения соединения 7 в виде жидко-твердого шлама, который без дополнительной очистки использовали в последующей реакции.

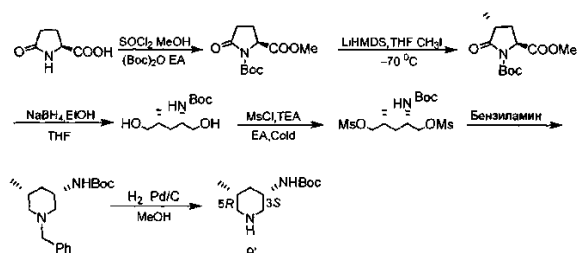
После загрузки 9,1 кг чистого бензиламина 50-литровый реактор нагревали до 55°C , при этой температуре добавляли раствор соединения 7 (8,2 кг) в 1,2-диметоксиэтаноле (14,1 кг). После добавления реакцию перемешивали при $60 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение нескольких часов, а завершение отслеживали с помощью ВЭЖХ или тонкослойной хроматографии. Реакцию охлаждали до комнатной температуры и растворитель удаляли под вакуумом. Остаток разводили 11,7 кг 15% (вес./вес.) раствором этилацетат/гексана и обрабатывали при перемешивании 18,7 кг 20 вес.% водным раствором карбоната калия. Трехфазную смесь получали отстаиванием. Собирали верхний органический слой. Выделенный средний слой дважды подвергали экстракции 15% (вес./вес.) раствором этилацетат/гексан порциями по 11,7 кг. Объединенные органические фракции концентрировали под вакуумом для получения масляного остатка. Затем остаток очищали методом хроматографии для получения соединения 8 в виде масла.

Резервуар высокого давления объемом 40 л заполняли 0,6 кг 50% (мокрый вес) палладиевым катализатором на углеродном носителе (E101, 10 вес.%) под током азота. Затем под током азота добавляли раствор соединения 8 (3,2 кг) в 13,7 кг абсолютного этанола. Реактор продували азотом и затем накачивали азотом при давлении 45 фунт/кв.дюйм. Затем реакцию нагревали до 45°C . Прохождение реакции отслеживали с помощью ВЭЖХ или тонкослойной хроматографии. По завершении реакцию охлаждали до комнатной температуры, снижали давление и проводили продувку азотом. Смесь фильтровали через слой целлита и твердое вещество промывали 2,8 кг абсолютного этанола. Фильтрат сконцентрировали под вакуумом для получения соединения 9 в виде воскообразного твердого вещества.

Хроматография в тонком слое R_f (силикагель F_{254} 70:30 вес./вес. этилацетат-гексан, окраска KMnO_4)=0,12; ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 5,31 (ушир.с, 1H), 3,80-3,68 (м, 1H), 2,92 (д, J =11,4 Гц, 1H), 2,77 (AB кв, J_{AB} =12,0 Гц, ν =50,2 Гц, 2H), 2,19 (т, J =10,7 Гц, 1H), 1,82-1,68 (м, 2H), 1,54 (ушир.с, 1H), 1,43 (с, 9H), 1,25-1,15 (м, 1H), 0,83 (д, J =6,6 Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ : 155,3, 78,9, 54,3, 50,8, 45,3, 37,9, 28,4, 27,1, 19,2; масс-спектрометрия (ESI^+) масса/заряд 215 ($\text{M}+\text{H}$), 429 ($2\text{M}+\text{H}$).

Подобно этому трет-бутиловый эфир (3S,5R)-(5-метилпиперидин-3-ил)карбаминовой кислоты (соединение 9') синтезировали, как показано на схеме 2.

Схема 2

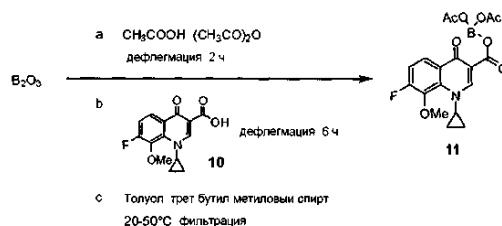


В. Синтез 1-циклопропил-7-фтор-8-метокси-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (соединение 10).

Соединение 10 получали способом, описанным в патенте США 6329391.

С. Синтез хелата борного эфира 1-циклопропил-7-фтор-8-метокси-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (соединение 11).

Схема 3



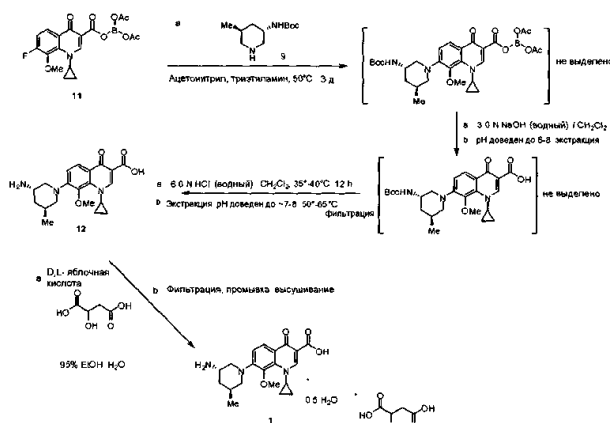
В реактор загружали оксид бора (2,0 кг, 29 моль), ледяную уксусную кислоту (8,1 л, 142 моль) и уксусный ангидрид (16,2 л, 171 моль). Полученную смесь дефлегмировали не менее 2 ч и затем охлаждали до 40°C, при этой температуре добавляли 7-фторхинолоновую кислоту соединения 10 (14,2 кг, 51 моль). Смесь дефлегмировали в течение не менее 6 ч и затем охлаждали до примерно 90°C. В реакцию добавляли толуол (45 л). При 50°C добавляли трет-бутилметиловый эфир (19 л) для индукции выпадения осадка. Затем смесь охлаждали до 20°C и фильтровали для выделения осадка. Затем выделенное твердое вещество промывали трет-бутилметиловым эфиром (26 л) перед высушиванием в вакуумной печи при 40°C (50 тор) для получения соединения 11 с выходом 86,4%.

Раман (cm^{-1}): 3084,7, 3022,3, 2930,8, 1709,2, 1620,8, 1548,5, 1468,0, 1397,7, 1368,3, 1338,5, 1201,5, 955,3, 653,9, 580,7, 552,8, 384,0, 305,8. ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц) δ (м.д.): 9,22 (с, 1H), 8,38-8,33 (м, 1H), 7,54 (т, $J=9,8$ Гц, 1H), 4,38-4,35 (м, 1H), 4,13 (с, 3H), 2,04 (с, 6H), 1,42-1,38 (м, 2H), 1,34-1,29 (м, 2H). Хроматография в тонком слое (Ватман МКС18F силикагель, 60 Å, 200 мкм), подвижная фаза: 1:1 (вес./вес.) CH_3CN : 0,5 N NaCl (водный), визуализация УФ (254/366 нм); $R_f=0,4-0,5$.

Д. Синтез яблочной кислоты соли (3S,5S)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолинкарбоновой кислоты (соединение 1) и яблочной кислоты соли (3S,5R)-7-[3-амино-5-метилпиперидинил]-1-циклопропил-1,4-дигидро-8-метокси-4-оксо-3-хинолинкарбоновой кислоты (соединение 1').

Соединение 1 получали из соединения 9, как показано ниже на схеме 4.

Схема 4



В реактор загружали соединение 11 (4,4 кг, 10,9 моль), соединение 9 (2,1 кг, 9,8 моль), триэтиламин (ТЭА) (2,1 л, 14,8 моль) и ацетонитрил (33,5 л, 15,7 л/кг). Полученную смесь перемешивали при приблизительно 50°C до окончания реакции, что отслеживали с помощью ВЭЖХ или обратнофазной хроматографии в тонком слое. Смесь охлаждали до приблизительно 35°C и объем реакции уменьшали примерно в половину путем дистилляции ацетонитрила под вакуумом в интервале 0-400 тор. После добавления 28,2 кг 3,0 N водного раствора NaOH реакционную смесь нагревали до приблизительно 40°C, подвергали дистилляции под вакуумом до тех пор, пока не перестал образовываться дистиллят, и гидролизировали при комнатной температуре. По окончании гидролиза, что отслеживалось с помощью ВЭЖХ или обратнофазной хроматографии в тонком слое, для нейтрализации реакционной смеси добавляли 4-5 кг ледяной уксусной кислоты.

Полученный раствор трижды экстрагировали 12,7 кг (9,6 л) дихлорметана. Органические фракции объединяли и переносили в другой реактор. Объем реакции уменьшали примерно в половину выпариванием при 40°C. Затем добавляли 20,2 кг 6,0 N водного раствора HCl, реакционную смесь перемешивали в течение не менее 12 ч при 35°C. По окончании реакции, что отслеживали с помощью ВЭЖХ или обрат-

нофазной хроматографии в тонком слое, перемешивание прерывали и допускали разделение фаз. Органическую фазу удаляли, а водный слой экстрагировали 12,7 кг (9,6 л) дихлорметана. Водную фракцию разбавляли 18,3 кг дистиллированной воды и нагревали до приблизительно 50°C. Затем дихлорметан удаляли дистилляцией под вакуумом (100-400 тор).

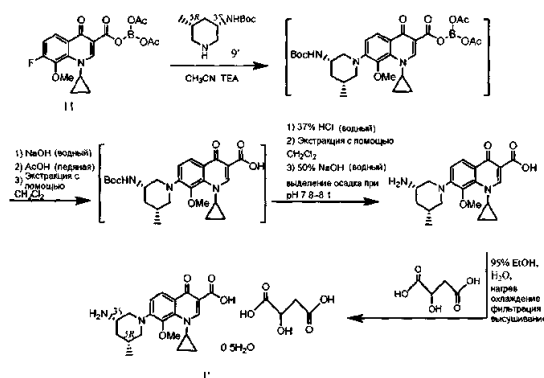
Затем pH водного раствора доводили до 7,8-8,1 добавлением примерно 9,42 кг 3,0 N водного раствора NaOH при температуре ниже 65°C. Реакционную смесь перемешивали при 50°C не менее 1 ч и затем охлаждали до комнатной температуры. Осадок выделяли фильтрованием с отсасыванием, дважды промывали 5,2 кг дистиллированной воды и сушили адсорбцией не менее 12 ч, а затем еще 12 ч в конвекционной печи при 55°C. Соединение 12 (3,2 кг, 79%) получали в твердом виде.

В реактор загружали 3,2 кг соединения 12 и 25,6 кг 95% этанола. В реактор добавляли 1,1 кг твердой D,L-яблочной кислоты. Смесь дефлегмировали при температуре ~80°C. Для растворения осадка добавляли дистиллированную воду (~5,7 л) и добавляли 0,2 кг активированного угля. Реакционную смесь пропускали через фильтр. Чистый фильтрат остужали до 45°C и оставляли на не менее чем 2 ч для осуществления кристаллизации. После дальнейшего охлаждения реакционной смеси до 5°C осадок выделяли фильтрованием с отсасыванием, промывали 6,6 кг 95% этанола и сушили адсорбцией не менее 4 ч. Далее твердое вещество высушивали в конвекционной печи при 45°C не менее 12 ч для получения 3,1 кг соединения 1 (выход 70%).

ЯМР (D₂O, 300 МГц) δ (м.д.): 8,54 (с, 1H), 7,37 (д, J=9,0 Гц, 1H), 7,05 (д, J=9,0 Гц, 1H), 4,23-4,18 (м, 1H), 4,10-3,89 (м, 1H), 3,66 (ушир.с, 1H), 3,58 (с, 3H), 3,45 (д, J=9,0 Гц, 1H), 3,34 (д, J=9,3 Гц, 1H), 3,16 (д, J=12,9 Гц, 1H), 2,65 (дд, J=16,1, 4,1 Гц, 1H), 2,64-2,53 (м, 1H), 2,46 (дд, J=16,1, 8,0 Гц, 1H), 2,06 (ушир.с, 1H), 1,87 (д, J=14,4 Гц, 1H), 1,58-1,45 (м, 1H), 1,15-0,95 (м, 2H), 0,91 (д, J=6,3 Гц, 3H), 0,85-0,78 (м, 2H).

Подобным образом соединение 1' синтезировали из соединения 9', как показано ниже на схеме 5.

Схема 5



Пример 2.

Ингибирование метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus* (MP3C) соединением 1.

Изоляты (культуры микроорганизмов) MP3C (n=193) получали в рамках Исследований Канадского Национального Отделения Интенсивной Терапии (CAN-ICU). 19 медицинских центров со всех районов Канады с активными отделениями реанимации и интенсивной терапии участвовали в исследованиях CAN-ICU. От них было запрошено получение только "клинически значимых" образцов от пациентов с предполагаемым инфекционным заболеванием. Были исключены контрольные мазки глаза, уха, носа и мазки из зева. Анаэробные организмы и грибы также были исключены.

С сентября 2005 г. по июнь 2006 г. (включительно) каждый центр накопил максимум 300 произвольно отобранных патогенов, выделенных из крови, мочи, ткани/ран и респираторных образцов (один патоген от одного места культивирования от одного пациента) от пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии. Эти изоляты были доставлены в эталонную лабораторию (Медицинский Центр, Виннипег, Канада) с помощью транспортной системы с тампоном со средой Амiesa с активированным углем, субкультивировались в соответствующей среде и запасались в обезжиренном молоке при -80°C.

Устойчивость изолятов к метициллину подтверждали с помощью диско-диффузионного метода, описанного Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов. Все изоляты были исследованы методом ПЦР (на ген *mecA*), равно как и охарактеризованы с молекулярной точки зрения (включая тест на PV-лейкоцидин (стафилококковый лейкоцидин) и метод фингерпринтов), как описано ранее, для определения того, являются ли они госпитальными или внебольничными формами (Christianson et al., J Clin Microbiol., 2007, 45 (6): 1904-11; Mulvey et al., J Clin. Microbiol., 2001, 39(10): 3481-5; Mulvey et al., Emerg Infect Dis., 2005, 11(6): 844-50; Oliveira et al., Antimicrob Agents Chemother., 2002, 46(7): 2155-61). Также изоляты были подразделены на подтипы с применением метода гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE) согласно стандартизованному для Канады протоколу, описанному ранее (Mulvey et al., J Clin Microbiol., 2001, 39(10): 3481-5). Полученные, таким образом, PFGE фингерпринты ("отпечатки пальцев") изолятов были проанализированы с помощью программного обеспечения BioNumerics версии

3.5 (Applied Maths St. Marten-Latem, Belgium) с использованием допуска на точность позиционирования 1,0 и оптимизации 1,0. Родство штаммов определялось, как описано ранее (Tenover et al., 1995). Фингерпринты изолятов сравнивались с таковыми в Национальной базе данных фингерпринтов МРЗС и группировались в одну из 10 групп Канадских эпидемных МРЗС (КМРЗС-1, КМРЗС-2 и т.д.), как описано ранее (Mulvey et al., Emerg Infect Dis., 2005, 11(6):844-50). Изоляты МРЗС относятся к генотипам: КМРЗС-1 (USA 600), КМРЗС-2 (USA 100), КМРЗС-4 (USA 200), КМРЗС-7 (USA 400, MW2) и КМРЗС-10 (USA 300).

Соединение 1 и другие антибиотики были протестированы на проявление ингибирующей активности в отношении изолятов МРЗС с применением рекомендованных микроразведений среды, как предусмотрено Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов. В таблице ниже приведены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) соединения 1 и различных фторхиноновых антибиотиков, ингибирующие 193 изолята МРЗС.

МРЗС (n=193)	МИК (мкг/мл)			
	МИК ₅₀	МИК ₉₀	Интервал, мин.	Интервал, макс.
Соединение 1	4	>4	0,03	>4
цефазолин	128	>128	2	>128
цефтриаксон	>64	>64	8	>64
ципрофлоксацин	>16	>16	0,5	>16
Кларитромицин	>32	>32	0,25	>32
клиндамицин	>8	>8	≤0,12	>8
даптомицин	0,25	0,5	0,25	0,5
левофлоксацин	>32	>32	0,25	>32
линезолид	2	2	0,5	4
меропенем	16	>32	0,25	>32
моксифлоксацин	8	>16	≤0,06	>16
тигексиклин	0,25	0,5	0,12	0,5
Триметоприм-сульфа	≤0,12	4	≤0,12	8
Ванкомицин	1	1	0,5	1

В таблице ниже приведены МИК соединения 1 и фторхиноновых антибиотиков для ингибирования внебольничных штаммов МРЗС USA 300 и USA 400 и госпитальных штаммов МРЗС USA 200, USA 600 и USA 100/800.

Лекарство	МРЗС МИК ₅₀ /МИК ₉₀ (мкг/мл)				
	USA 200 (госпи- тальный МРЗС)	USA 300 (внеболь- ничный МРЗС)	USA 400 (внеболь- ничный МРЗС)	USA 600 (госпи- тальный МРЗС)	USA 100/800 (госпи- тальный МРЗС)
Соединение 1	2/2	0,5/0,5	0,06/0,06	2/2	4/>4
ципрофлоксацин	>16/>16	>16/>16	1/1	>16/>16	>16/>16
левофлоксацин	32/>32	8/8	0,25/0,25	32/>32	>32/>32
моксифлоксацин	8/8	2/2	0,06/0,06	8/8	16/>16
Ванкомицин	0,5/0,5	0,5/0,5	1/1	1/1	1/1
линезолид	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2
тигексиклин	0,5/0,5	0,25/0,5	0,25/0,25	0,25/0,5	0,25/0,25

Соединение 1 эффективно ингибировало МРЗС. Также было установлено, что это соединение было более активно против внебольничных штаммов МРЗС, чем против госпитальных штаммов МРЗС.

Ингибирование мультирезистентных метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus*, *Enterococci faecium* и *Enterococci faecalis* соединением 1.

Исследовался ингибирующий эффект соединения 1 на мультирезистентные метициллин-устойчивые *Staphylococcus aureus* и *Enterococci*, полученные 10 медицинскими центрами во всех районах Тайваня. МИК были определены с применением методов разведений в агаре, рекомендованными Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов (CLSI-M100-S18). Результаты приведены в таблице ниже

Тип устойчивости (количество изолятов)	Соединение 1: МИК (мкг/мл)		
	интервал	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Ципрофлоксацин-чувствительные MP3C (n=20)	≤0,03- 0,06	≤0,03	≤0,03
Ципрофлоксацин-устойчивые MP3C (n=20)	0,5-1	0,5	1
Промежуточно устойчивые к ванкомицину MP3C (n=50)	0,03-8	0,5	2
Даптомицин- устойчивые MP3C (n=5)	0,5-1	0,5	1
Ванкомицин-устойчивые <i>E.</i> <i>faecium</i> (n=78)	0,06-16	4	16
Ванкомицин-устойчивые <i>E.</i> <i>faecalis</i> (n=34)	0,12-8	4	4

Как показано в таблице, соединение 1 оказалось эффективно в ингибировании ципрофлоксацин-устойчивых, промежуточно-устойчивых к ванкомицину и даптомицин-устойчивых изолятов MP3C. Также оно было эффективно в ингибировании ванкомицин-устойчивых *Enterococcus faecium* и ванкомицин-устойчивых *Enterococcus faecalis*.

Ингибирование стафилококковых бактерий соединением 1.

Исследовался ингибирующий эффект соединения 1 против 26 метициллин-устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* (MP3C), 2 штаммов *Staphylococcus aureus* (hVISA) с промежуточной устойчивостью к гетеро-ванкомицину, 24 штаммов *Staphylococcus aureus* (VISA) с промежуточной устойчивостью к ванкомицину, 5 ванкомицин-устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* (VRSA) и 31 хинолон-устойчивых ванкомицин-чувствительных штаммов MP3C с определенными мутациями QRDR. Эти мутации были определены анализом последовательностей QRDR (гены *gyrA*, *gyrB*, *grlA* и *grlB*). Исследование эффлюкса проводилось методикой с применением резерпина (Brenwald, et al., Antimicrob. Agents Chemother., 1998, 42: 2032-2035). Значения МИК были определены с использованием методов разведений в агаре, рекомендованных Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов (CLSI-M100-S18), и приведены в таблице ниже

лекарство	MP3C (26)			hVISA (2)+VISA (24) + VRSA (5)			Хинолон-устойчивые MP3C (31)		
	интервал	МИК ₅₀	МИК ₉₀	интервал	МИК ₅₀	МИК ₉₀	интервал	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Соединение 1	0,016- 0,06	0,03	0,06	0,06-2	1	2	0,5-4	1	2
Ciproflox	0,25-2	1	1	0,05->128	64	>128	16->128	64	>128
Levoflox	0,25-1	0,25	0,5	0,5->32	16	32	4->32	16	32
Moxiflox	0,03-0,25	0,06	0,06	0,06-8	4	8	1-8	4	8
Vanco	0,5-1	1	1	1->32	4	32	0,5-2	1	1
Teico	0,5-1	0,5	1	1-32	8	16	0,25-2	0,5	1
Dapto	0,5-1	1	1	0,12-4	1	2	0,12-1	0,25	0,25
линезолид	2-4	4	4	0,5-2	1	1	0,25-1	1	1
Tige	0,12-0,5	0,25	0,5	0,06-0,5	0,25	0,5	0,12-0,5	0,12	0,25
Quinu/dalfo	0,25-1	0,5	0,5	0,12-0,5	0,5	0,5	0,25-0,5	0,5	0,5

Ciproflox - ципрофлоксацин

Levoflox - левофлоксацин

Moxiflox - моксифлоксацин

Vanco - ванкомицин

Teico - тейкопланин

Dapto - даптомицин

Tige - тигециклин

Quinu/dalfo - хинупристин/дальфопристин

Соединение 1 эффективно ингибировало метициллин-устойчивые, промежуточно-устойчивые к гетеро-ванкомицину, промежуточно-устойчивые к ванкомицину и ванкомицин-устойчивые изоляты *Staphylococcus aureus*. Также оно эффективно ингибировало хинолон-устойчивые ванкомицин-чувствительные MP3C. Соединение демонстрировало очень низкие значения МИК (0,06-4 мкг/мл) против этих штаммов.

Среди 31 хинолон-устойчивого штамма MP3C 5 штаммов несут мутации в QRDR [*GyrA* (S84L), *GrlA* (S80F/Y), *GrlB* (L413S, E422K/N, D432N, E471K); *GyrA* (S84L), *GrlA* (S80F/Y), *GyrB* (R404L); *GyrA* (S84L), *GrlA* (S80F/Y); *GyrA* (S84L), *GrlA* (S80F/Y, E84V), *GrlB* (E422D) и *GyrA* (S84L), *GrlA* (S80F/Y, E84V/K/G или S108N)]. Ассоциированный с соединением 1 эффлюкс был обнаружен среди генотипов, известных как ассоциированных с устойчивым развитием.

Ингибирование грамм-положительных кокки соединением 1.

В период с января по декабрь 2007 г. 12 госпиталей по всей Канаде представили изоляты из пациентов, обслуживаемых в клинических больницах, отделениях экстренной помощи, терапевтических и хи-

рургических отделениях и отделениях интенсивной терапии. Было собрано 7881 изолятов (CANWARD 2007), включая 3473 изолята грамм-положительных кокки. Анализ чувствительности к соединению 1 и левофлоксацину проводили на основе метода микроразведений среды, рекомендованного Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов. МИК₅₀ и МИК₉₀ показаны ниже

Организм (количество изолятов)	Соединение 1 МИК ₅₀ /МИК ₉₀	Левофлоксацин МИК ₅₀ /МИК ₉₀
SPN-A11 (656)	0,015/0,015	0,5/1
-PenS (519)	0,015/0,015	0,5/1
-PenI (103)	0,015/0,015	0,5/1
-PenR (34)	0,015/0,03	0,5/2
-CipR (29)	0,03/0,12	2/16
MSSA (372)	0,03/0,12	0,25/4
B- MP3C (23)	0,25/0,5	4/8
Г- MP3C (91)	4/>4	>32/>32
MSSE (32)	0,03/0,5	4/>32
MRSE (9)	2/2	>32/>32
<i>E. faecalis</i> (81)	0,12/1	2/>32
*VISA (12)	1/2	32/>32
*VRSA (7)	2	32

SPN - *S. pneumoniae*,

MSSA - метициллин-чувствительные *S. aureus*,

B-MP3C - внебольничные,

Г-MP3C - госпитальные MP3C,

VISA - *S. aureus* с промежуточной устойчивостью к ванкомицину,

VRSA - ванкомицин-устойчивые *S. aureus*+средние МИК,

MSSE - метициллин-чувствительные *Staphylococcus epidermidis*,

MRSE - метициллин-устойчивые *Staphylococcus epidermidis*.

*Изоляты, полученные по программе Информационного Сообщества по Антибиотикоустойчивости в *Staphylococcus aureus* (NARSA), поддерживаемой Национальным Институтом Аллергии и Инфекционных Заболеваний (NIAID), контракт Национального Института Здоровья (NIH) № N01-AI-95359.

Соединение 1 оказалось более активным, чем левофлоксацин, по параметру ингибирования грамм-положительных кокки, включая MP3C, VISA, VRSA, MRSE, PenI-SPN, PenR-SPN и CipR-SPN.

Ингибирование *Helicobacter pylori* соединением 1.

Тестировали ингибирующий эффект соединения 1, цiproфлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина и гемифлоксацина на 200 изолятов *H. pylori*, полученных 10 медицинскими центрами во всех районах Тайваня (2000-2007 гг.). МИК были определены с применением методов разведений в агаре, рекомендованных Институтом Клинических и Лабораторных Стандартов (CLSI-M100-S18).

Среди 200 изолятов *H. pylori*, 2, 6, 29, 2 и 2% оказались устойчивы к амоксициллину (значения МИК $\geq 0,5$ мкг/мл), кларитромицину (значения МИК >1 мкг/мл, Институт Клинических и Лабораторных Стандартов), метронидазолу (значения МИК ≥ 8 мкг/мл), цiproфлоксацину (значения МИК ≥ 1 мкг/мл) и левофлоксацину (значения МИК ≥ 1 мкг/мл) соответственно. Приведены интервалы МИК, МИК₅₀ и МИК₉₀ для пяти протестированных лекарственных средств на основе хинолона

препарат	МИК (мг/мл)		
	интервал	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Цiproфлоксацин	0,12-2	0,25	0,5
Левофлоксацин	0,12-1	0,25	0,5
Моксифлоксацин	0,12-4	0,25	0,5
Гемифлоксацин	$\leq 0,03-0,5$	0,06	0,12
Соединение 1	0,06-1	0,06	0,25

Соединение 1 эффективно ингибировало изоляты *H. pylori*. Таблица выше демонстрирует, что соединение 1 оказалось более эффективным ингибитором изолятов *H. pylori*, чем цiproфлоксацин, левофлоксацин и моксифлоксацин, и сравнимо с гемифлоксацином.

Ингибирование антибиотикоустойчивых бактерий соединением 1'.

Тестировали ингибирующий эффект соединения 1', цiproфлоксацина и левофлоксацина на метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus* и метициллин-устойчивых *Streptococcus pneumoniae*, при различных концентрациях в интервале от 0,008 до 8 мкг/мл, в различные 10 дней. Изоляты *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* были получены 10 медицинскими центрами во всех районах Тайваня. Значения МИК были определены методом микроразведений в среде. Как показано в таблице ниже, соединение 1' также очень эффективно ингибировало *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Организм	МИК ₅₀ /МИК ₉₀ (мкг/мл)		
	Соединение 1'	Ципрофлоксацин	Левифлоксацин
MRSA-Cip (R)	1,0/1,0	64	-
MRSA-Cip (S)	0,03/0,06	0,5	-
MRSP-Levo (R)	0,25/1,0	-	>128
MRSP-Levo (S)	0,03/0,06	-	16

MRSA-Cip (R) - клинический изолят ципрофлоксацин-устойчивого штамма МРЗС.

MRSA-Cip (S) - клинический изолят ципрофлоксацин-чувствительного штамма МРЗС.

MRSP-Levo (R) - клинический изолят метициллин-устойчивого левофлоксацин-устойчивого штамма *S. pneumoniae*.

MRSP-Levo (S) - клинический изолят метициллин-устойчивого левофлоксацин-чувствительного штамма *S. pneumoniae*.

Как показано в таблице выше, соединение 1' эффективно ингибировало метициллин-устойчивые *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Фармакокинетический анализ.

У каждого пациента, принимавшего соединение 1, отбирались образцы крови на 10 день в час 0 (до введения препарата) и 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 12, 16 и 24 ч (после введения препарата). 5 мл каждого образца переносили в пробирки с гепарином натрия и немедленно помещали в лед. Плазма отделялась центрифугированием при примерно 4°C, переносилась в соответственно обозначенные полипропиленовые контейнеры для образцов (две пробирки по 1-1,5 мл плазмы/на пробирку) и замораживалась при примерно -70°C перед использованием.

До тестирования образцов крови фармакокинетический анализ был валидирован. Данные валидации анализа перечислены в таблице ниже.

Исследуемое вещество	Тип анализа	LLOQ	Точность (% систематического отклонения)	Погрешность (% CV)
Соединение	В плазме	5,0	-1,8~2,2%	4,3~7,5%

LLOQ - нижний предел количественного анализа.

CV - коэффициент изменчивости.

Фармакокинетические тесты образцов крови были проведены компанией Charles River Laboratories (Worcester, MA). C_{max} (пик концентрации соединения 1 в плазме) и AUC_{0-24} (площадь под кривой зависимости "концентрация в крови - время" от 0 до 24 ч после приема препарата, подсчитанная линейно-логарифмическим методом трапеций) были определены, исходя из данных концентрации в плазме, зависящих от времени, с применением не-компарментного подхода (WinNonlin версии 4.1, Pharsight Corporation, CA).

Связывание белков измерялось следующим образом: ультрафильтрованные образцы (УФ) были получены центрифугированием вышеописанной гепаринизированной плазмы человека, содержащей соединение 1, в ультрафильтрационных аппаратах с пороговым значением молекулярного веса 30000 Да при ~3000 об/мин (30 мин, ~37°C). УФ-образцы (0,025 мл) смешивались с $O^{13}CD_3$ -соединением 1 (ОСН₃ группа в соединении 1 была замещена на группу $O^{13}CD_3$ для получения $O^{13}CD_3$ -соединения 1) в качестве раствора внутреннего стандарта (~800 нг/мл, 0,050 мл), разводились в 20 раз и анализировались обратной фазой ВЭЖХ на колонке C-18 3,5 мкм. Количественный анализ был получен методом ММР (мониторинг множественных реакций) через определение положительных ионов при ионизации электрораспылением с помощью газового потока высокой скорости. Для количественного определения несвязанного препарата в контрольных образцах плазмы и исследуемых образцах использовались стандарты ультрафильтратов. Было измерено неспецифическое связывание с белками (НСБ=0,0415) и использовалось как поправочный коэффициент для определения конечной % доли связывания с белками. Номинальный диапазон количественного определения анализируемого вещества составил от 50 до 10000 нг/мл. В анализе использовалась аликвота человеческой плазмы объемом 0,400 мл. Концентрации в образцах были определены путем обратного расчисления с применением взвешенной линейной ($1/x^2$) регрессии калибровочной кривой, полученной по добавленным УФ-стандартам. В пределах линейной области % CV (коэффициент изменчивости) для одной группы образцов для соединения 1 составил от 4,9 до 11,8%.

В таблице ниже показаны значения AUC_{0-24} , C_{max} и связывания с белками при приеме пациентами 500, 750 и 1000 мг соединения 1 в день. Приведенные в таблице значения свободных C_{max} и AUC_{0-24} скорректированы с учетом связывания белков плазмы. Также в таблице приведены отношения свободной C_{max} /МИК и свободной AUC /МИК, которые удобны для прогнозирования клинического и микробиологического исхода, равно как и развития бактериальной устойчивости. Соотношение свободной C_{max} /МИК выше примерно 8 и соотношение свободной AUC /МИК выше примерно 100 являются предпочтительными для лекарственных препаратов антибиотиков.

Анти- биотик	Схема лечения (прием орально 1 раз в 24 часа)	AUC ₀₋₂₄ (час* мкг/мл)	Связывание с белками (%)	Свободная AUC ₀₋₂₄ (час* мкг/мл)	Соотношения свободной AUC ₀₋₂₄ /МИК ₉₀ в стационарном состоянии				
					МИК ₉₀ 0,125 0,25 0,5 0,75 1				
	500 мг (q24 p.o.)	38,6	16	32,4	259	130	65	43	32
Соеди- нение 1	750 мг (q24 p.o.)	58,4	16	49,1	393	196	98	65	49
	1000 мг (q24 p.o.)	74,8	16	62,9	503	251	126	84	63

Анти- биотик	Схема лечения (прием орально 1 раз в 24 часа)	AUC ₀₋₂₄ (час* мкг/мл)	Связывание с белками (%)	Свободная AUC ₀₋₂₄ (час* мкг/мл)	Соотношения свободной AUC ₀₋₂₄ /МИК ₉₀ в стационарном состоянии				
					МИК ₉₀ 0,125 0,25 0,5 0,75 1				
	500 мг (q24 p.o.)	5,56	16	4,7	37	19	9	6	5
Соеди- нение 1	750 мг (q24 p.o.)	6,82	16	5,7	46	23	11	8	6
	1000 мг (q24 p.o.)	8,20	16	6,9	55	28	14	9	7

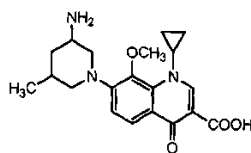
Другие примеры осуществления изобретения

Все признаки, раскрытые в данном описании, могут быть скомбинированы любым образом. Альтернативные признаки, служащие той же, эквивалентной или схожей цели, могут заменить каждый признак, раскрытый в данном описании. Следовательно, если прямо не предусмотрено иное, каждый раскрытый признак является только примером из видового ряда эквивалентных или схожих признаков.

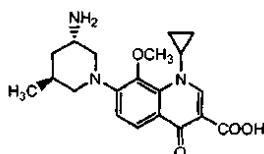
Исходя из вышеизложенного описания специалист в данной области техники легко может выявить существенные признаки настоящего изобретения и не выходя за пределы его сущности и объема может внести различные изменения и модификации в изобретение с целью его адаптации к различным условиям и практическим применениям.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

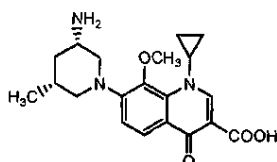
1. Способ лечения инфекции, вызванной внебольничными метициллин-устойчивыми *Staphylococcus aureus*, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения следующей формулы:



2. Способ по п.1, где соединение представлено в форме соли.
3. Способ по п.2, где соединение представлено в форме соли яблочной кислоты.
4. Способ по п.3, где соединение представлено в форме полугидрата соли яблочной кислоты.
5. Способ по п.1, где соединение является



6. Способ по п.5, где соединение представлено в форме соли.
7. Способ по п.6, где соединение представлено в форме соли яблочной кислоты.
8. Способ по п.7, где соединение представлено в форме полугидрата соли яблочной кислоты.
9. Способ по п.1, где соединение является



10. Способ по п.9, где соединение представлено в форме соли.

11. Способ по п.10, где соединение представлено в форме соли яблочной кислоты.
12. Способ по п.11, где соединение представлено в форме полугидрата соли яблочной кислоты.

