



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UTBM

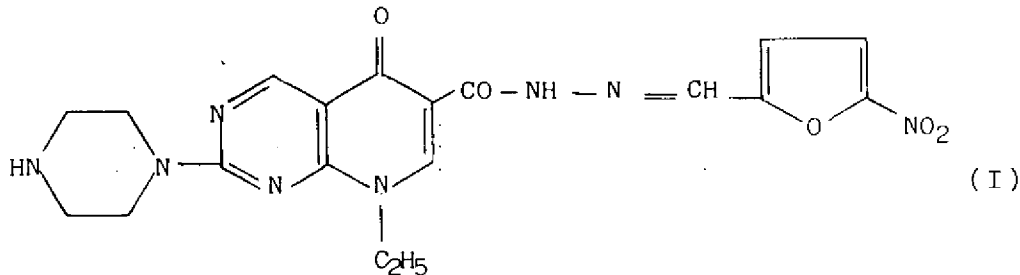
DOMANDA NUMERO	101983900000692
Data Deposito	08/09/1983
Data Pubblicazione	08/03/1985

Titolo

NUOVO CHEMIOTERAPICO DELLE VIE URINARIE

DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha per oggetto, l'8-etil-5-oxo-5,8-diidro-2-(1-piperazinil)pirido/2,3-d/pirimidin-6-carbossil-idrazone della 4-nitro-furanaldeide, di formula I



e i suoi sali con acidi farmaceuticamente accettabili.

L'acido pipemidico, o acido 8-etil-5-oxo-5,8-diidro-2-(1-piperazinil)pirido/2,3-d/pirimidin-6-carbossilico, è dotato di un ampio spettro di attività antibatterica e di caratteristiche farmacocinetiche (escrezione in forma attiva a livello dell'emuntorio renale) che ne fanno un ottimo agente antibatterico delle vie urinarie.

Si è ora sorprendentemente trovato, e costituisce l'oggetto della presente invenzione, che il composto di formula I (d'ora in poi indicato per brevità con la sigla MR 022) presenta un'attività antibatterica nei confronti dei batteri Gram-positivi nettamente superiore a quella dell'acido pipemidico, e un'attività verso i batteri Gram-negativi praticamente sovrapponibile a quella di quest'ultimo. MR 022 potrà perciò essere utilizzato con successo come agente antibatterico delle vie urinarie, dotato di un ampio spettro di attività.

- Il composto dell'invenzione è preparato per reazione tra l'idrazide dell'acido tritil-pipemidico e 4-nitro-furanaldeide in solventi inerti e in presenza di acidi, operando preferibilmente alla temperatura di riflusso. Al termine della reazione, il gruppo tritile è sbloccato per trattamento con HCl in acqua/diossano.

Il seguente esempio illustra il procedimento di preparazione di MR 022, senza tuttavia avere carattere limitativo.

ESEMPIO

METODO DI PREPARAZIONE

In un pallone da 200 ml si pongono: 4 g di idrazide dell'acido tritilpipemidico, 1,2 g di 4-nitro-furanaldeide, 100 ml di tetracloruro di carbonio e 1 g di acido p-toluensolfonico.

Si manda a ricadere per 1 ora: si forma un precipitato giallo. Si evapora a secchezza, si riprende il residuo con diclorometano e si lava con una soluzione di NaHCO_3 . Dopo evaporazione del solvente, si cristallizza il residuo da diclorometano ed etere etilico. Si ottengono così 4,3 g di tritil-pipemidoilidrazone della 4-nitro-furanaldeide, che vengono posti in un pallone da 200 ml contenente:

40 ml di diossano, 30 ml di acqua, 10 ml di HCl conc.

Si lascia 1 ora sotto agitazione in bagnomaria a 80°C. Si filtra quindi il solido indisciolto, si elimina il diossano sotto vuoto, si diluisce con acqua e si porta a pH 14 con Na_2CO_3 . Si filtra il solido e lo si lava con acetone e diclorometano. Si

ottengono così 3 g di MR 022, puro in TLC (eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}-20:1$). NMR (CDCl_3 , TMS) δ : 1,2 (s, 9H); 1,4 (t, 3H); 2,5 (s, NH); 2,8 (m, 4H); 3,7 (m, 4H); 4 (q, 2H); 6,4 (s, 1H); 7,3 (s, 1H); 7,7 (bs, 1H); 7,9-8,7 (2s, 2H); 8,4 (s, 1H).

Verranno ora illustrate le proprietà farmacologiche del composto in oggetto.

ATTIVITA' ANTIBATTERICA "IN VITRO"

L'attività antibatterica "in vitro" di MR 022 è stata valutata verso 22 ceppi di diverse specie batteriche Gram-positive e Gram-negative di recente isolamento clinico, mediante la determinazione della minima concentrazione inibente (M.I.C.), ossia della più bassa concentrazione della sostanza capace di inibire la moltiplicazione batterica.

Per tale sperimentazione sono stati impiegati i seguenti ceppi batterici:

Gram-negativi

- Pseudomonas maltophilia
- Pseudomonas aeruginosa
- Salmonella typhimurium (due ceppi)
- Klebsiella aerogenes
- Proteus vulgaris
- Serratia marcescens (due ceppi)
- Alcaligenes faecalis
- Escherichia coli (due ceppi)

Gram-positivi

- Bacillus cereus (due ceppi)
- Bacillus subtilis
- Bacillus anthracis
- Bacillus pumilus

- Staphylococcus aureus
- Streptococcus faecalis (due ceppi)
- Streptococcus epidermidis (due ceppi)
- Micrococcus luteus

Come terreno di coltura è stato adoperato il Phenol Red Broth Base a cui era stato aggiunto lo 0,5% di glucosio.

MR 022 e acido pipemidico, a concentrazioni equimolari, venivano sciolti come indicato di seguito:

- acido pipemidico: NaOH 0,1 N e quindi acqua
- MR 022 : Dimetilsolfossido ed acqua (l'aggiunta di acqua determina la flocculazione della molecola)

La soluzione madre (1000 mcg/ml come acido pipemidico) veniva diluita in brodo, dopo di che venivano eseguite delle diluizioni al raddoppio fino ad ottenere le concentrazioni finali di:

100 - 50 - 25 - 12,5 - 6,25 - 3,12 - 1,56 - 0,78 mcg/ml di brodo.

Le differenti concentrazioni delle molecole in esame venivano quindi distribuite in piastre per microtitolazione a 96 cellette nella quantità di 0,25 ml per celletta.

La semina dei batteri veniva quindi praticata per mezzo di un "multi-point inoculator" con una brodocoltura di 18 ore di sviluppo di ciascun ceppo in esame. Con tale metodo l'inoculo batterico, per punto, è pari a circa 10^5 unità formanti colonie (UFC).

La lettura dei risultati veniva effettuata dopo permanenza delle piastre a 37°C per 18 ore.

I risultati riportati nella Tabella seguente evidenziano

come MR 022 sia nettamente più attivo dell'acido pipemidico verso i batteri Gram-positivi, mentre ha un'azione a lui comparabile nei confronti dei batteri Gram-negativi.

TABELLA

STIPITE		C.I.M. ($\mu\text{g/ml}$)	
		MR 022	Acido pipemidico
<u>BATTERI GRAM POSITIVI</u>			
Bacillus cereus (var.mycoides)	BB 0053	<0,80	6,25
Bacillus cereus	BB 0043	<0,80	12,50
Bacillus subtilis	ATCC 6633	<0,80	6,25
Bacillus pumilus	BB 0023	<0,80	25,00
Bacillus anthracis	BB 0033	<0,80	12,50
Streptococcus faecalis	BB 0063	<0,80	>50,00
Streptococcus faecalis	ATCC 8043	1,56	>50,00
Streptococcus epidermidis	BB 0813	<0,80	12,50
Streptococcus epidermidis	BB 0223	<0,80	25,00
Staphylococcus aureus	ATCC 6538P	<0,80	>50,00
Micrococcus luteus	ATCC 9341	3,12	>50,00
<u>BATTERI GRAM NEGATIVI</u>			
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 14502	>50,00	>50,00
Pseudomonas maltophilia	BB 0103	>50,00	>50,00
Serratia marcescens	BB 133	6,25	1,56
Serratia marcescens	BB 0123	>50,00	>50,00
Salmonella (gruppo B)	BB 0143	3,12	1,56
Salmonella typhimurium	ATCC 15277	1,56	1,56
Escherichia coli	ATCC 11229	3,12	1,56
Escherichia coli	ISM 68/114	3,12	3,12
Proteus vulgaris	ATCC 9484	6,25	1,56
Klebsiella aerogenes	BB 0093	>50,00	>50,00
Alcaligenes faecalis	BB 0613	6,25	>50,00
<u>LIEVITI</u>			
Candida albicans	ATCC 9080	>50,00	>50,00
Saccharomyces cerevisiae	ATCC 0913	>50,00	>50,00
Saccharomyces carlsbergensis	BB 0203	>50,00	>50,00

ATCC = American Type Culture Collection

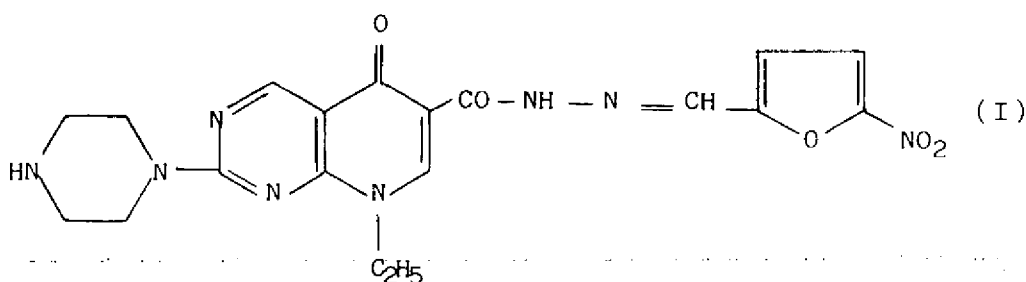
ISM = Istituto Sieroterapico Milanese "Serafino Belfanti"

BB = Collezione Biolab

La presente invenzione si riferisce anche a tutti gli aspetti industrialmente applicabili connessi all'impiego del composto di formula I come agente antibatterico. Un aspetto essenziale dell'invenzione è pertanto costituito da composizioni farmaceutiche contenenti, come principio attivo, quantità predeterminate e terapeuticamente efficaci di MR 022 o di suoi sali, oltre che eventuali eccipienti di impiego convenzionale in tecnica farmaceutica. Esempi di tali composizioni farmaceutiche comprendono compresse, confetti, capsule, sciroppi, fiale per iniezioni intramuscolari o endovenose, contenenti da 50 a 500 mg di principio attivo, somministrabili da 1 a 3 volte al giorno.

RIVENDICAZIONI.

1. 8-Etil-5-oxo-5,8-diidro-2-(1-piperazinil)pirido/2,3-d/pirimidin-6-carbossil-idrazone della 4-nitro-furanaldeide, di formula I



e suoi sali con acidi farmaceuticamente accettabili.

2. Procedimento per la preparazione del composto di formula I, caratterizzato dal fatto che la tritilidrazide dell'acido pipemidico viene fatta reagire con 4-nitro-furanaldeide, e il tritilpipemidoil idrazone così ottenuto viene poi idroliz-

zato in ambiente acido.

3. Procedimento secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che si opera in solventi organici inerti.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 3, caratterizzato dal fatto che si opera in tetracloruro di carbonio.

5. Composizioni farmaceutiche ad attività antibatterica con tenenti come principio attivo il composto della rivendicazione 1 o suoi sali.

6. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 5, in forma di capsule, compresse, confetti, soluzioni, fiale.

Milano, 8 settembre 1983

Falvino Minga
Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

