



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201008567 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：098123739

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 07 月 14 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/4709 (2006.01)*

C07D401/10 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2008/07/15 美國 61/080,809

(71)申請人：太景生物科技股份有限公司 (中華民國) TAIGEN BIOTECHNOLOGY CO., LTD.
(TW)

臺北市內湖區新明路 138 號 7 樓

(72)發明人：許明珠 HSU, MING-CHU (US)；金其新 KING, CHI-HSIN RICHARD (US)；程宏
遠 YUAN, JUDY (US)；陳文章 CHEN, WEN CHANG (TW)；鄒先岩 CHOU, SHAN
YEN (TW)；施波 SHI, BO (CN)

(74)代理人：惲軼群；陳文郎

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：0 共 25 頁

(54)名稱

抗生素藥物

ANTIBIOTIC DRUG

(57)摘要

本發明涉及(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的
蘋果酸鹽。還披露了用有效量的這種鹽治療細菌感染的方法。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201008567 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：098123739

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 07 月 14 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/4709 (2006.01)*

C07D401/10 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2008/07/15 美國 61/080,809

(71)申請人：太景生物科技股份有限公司 (中華民國) TAIGEN BIOTECHNOLOGY CO., LTD.
(TW)

臺北市內湖區新明路 138 號 7 樓

(72)發明人：許明珠 HSU, MING-CHU (US)；金其新 KING, CHI-HSIN RICHARD (US)；程宏
遠 YUAN, JUDY (US)；陳文章 CHEN, WEN CHANG (TW)；鄒先岩 CHOU, SHAN
YEN (TW)；施波 SHI, BO (CN)

(74)代理人：惲軼群；陳文郎

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：0 共 25 頁

(54)名稱

抗生素藥物

ANTIBIOTIC DRUG

(57)摘要

本發明涉及(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的
蘋果酸鹽。還披露了用有效量的這種鹽治療細菌感染的方法。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

相關資料

本申請案是主張2008年7月15日提申之美國臨時專利申請案第61/080,809號之權利。該先前申請案之內容係藉由參考而全文併入此處。

發明領域

本發明係有關於抗生素藥物。

【先前技術】

發明背景

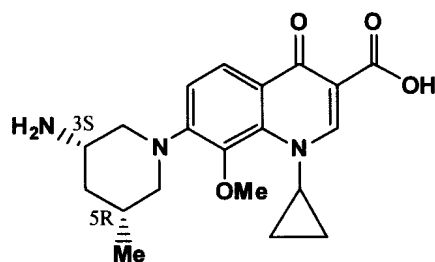
細菌性病原體正對公眾健康造成威脅。實際上，由於抗生素耐性菌株的普遍，用常規抗生素療法治療細菌感染越來越困難。例如，儘管結核病已經是容易治療的，但其致病因數結核病分枝桿菌感染了將近三分之一的人口。實際上，世界衛生組織將結核病定位全球性急症。抗生素耐性菌株也是生物恐怖主義的潛在治療劑。

因此，需要開發出新的抗生素藥物。

【發明內容】

發明概要

本發明內容之一是化合物1即下式所示7-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基吡啶-1-基)-1-環丙基-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸的蘋果酸鹽：



化合物 1

在該鹽中，蘋果酸可以是D-蘋果酸、L-蘋果酸或它們的混合物，且蘋果酸與化合物1的比例可以是1：1。

所述鹽可以呈溶劑合物形式，其中，鹽與藥學上可接受的溶劑，如水、乙醇、異丙醇、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺形成複合物。一個例子是(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的半水合蘋果酸鹽。

本發明的另一內容是用上述蘋果酸鹽治療細菌感染的方法。

本發明還包括含有上述蘋果酸鹽和藥學上可接受的載體的用於治療細菌感染的組合物，以及這種組合物在製造用於治療細菌感染的藥物中的應用。

下面的描述中給出了本發明一些實施方式的詳細描述。本發明的其他特徵、目的和優點通過描述以及權利要求是顯而易見的。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

我們可採用常規方法首先合成化合物1，即7-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基吡啶-1-基)-1-環丙基-8-甲氧基-4-

氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸，然後用蘋果酸處理該化合物，從而製備上述蘋果酸鹽。後文實施例1列舉了製備蘋果酸鹽的合成方法。

製得的化合物1的蘋果酸鹽可通過快速柱層析、高效液相色譜、結晶或任何其他合適方法進一步純化。

上述鹽能抑制諸如金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、綠膿假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)、屎腸球菌(*Enterococcus faecium*)、流感嗜血桿菌(*Haemophilus influenzae*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)和淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*)之類的細菌。因此，本發明的涉及通過給有此需要的物件施用有效量的所述鹽來治療細菌感染的方法。此外，該鹽可用於治療藥物不敏感性細菌造成的感染，所述細菌如：甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、喹諾酮-耐性金黃色葡萄球菌、外排相關行(efflux-related)甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、中等耐異萬古黴素(hetero vancomycin)金黃色葡萄球菌、中等耐萬古黴素金黃色葡萄球菌、萬古黴素-耐性金黃色葡萄球菌、青黴素-耐性肺炎鏈球菌、氟喹諾酮-耐性肺炎鏈球菌或多耐藥性肺炎鏈球菌。

術語“有效量”指為物件提供所需治療效果所需的活性物質的量。如本領域技術人員所知，有效量可根據給藥途徑、使用的賦形劑、以及與可能存在的聯用藥物而改變。術語“治療”指給患有上述感染、或有所述感染的症狀、或

有受感染傾向的物件施用活性物質，從而治療、治癒、緩解、減輕、改變、修復、改善、改進或影響感染、感染症狀、或受感染傾向。術語“不敏感的”在文中是指能夠耐受藥物的中值劑量至全劑量。例如，甲氧苯青黴素-不敏感菌可以是甲氧苯青黴素-耐性菌或中等耐甲氧苯青黴素菌。

為實施本發明方法，所述蘋果酸鹽可經口服、腸胃外、通過吸入噴霧或通過植入型藥庫來施用。術語“腸胃外”在文中包括皮下、皮內、靜脈內、肌內、關節內、動脈內、滑膜內、胸骨內、鞘內、病灶內和顱內注射或灌輸技術。

口服組合物可以是任何口服可接受的劑型，其中包括但不限於：片劑、膠囊、乳劑以及水性懸浮液、分散液和溶液。片劑通常使用的載體包括乳糖和玉米澱粉。片劑還可加有潤滑劑，如硬脂酸鎂。對口服膠囊來說，有用的稀釋劑包括乳糖和幹玉米澱粉。對口服水性懸浮液或乳劑來說，活性成分可懸浮于或溶於混合了乳化劑或懸浮劑的油相中。如果需要可加入某些甜味劑、調味劑或染色劑。

可按照本領域已知技術用合適的分散劑或潤濕劑(例如吐溫80)和懸浮劑配製無菌可注射組合物(例如水性或油性混懸液)。所述無菌可注射製品還可以是無毒胃腸外可用稀釋劑或溶劑(例如1,3-丁二醇溶液)配製備的無菌可注射溶液或混懸液。可用的可接受運載體和溶劑有甘露醇、水、林格液和等滲氯化鈉溶液。此外，無菌的非揮發油也是常用的溶劑或懸浮介質(例如合成的單酸甘油酯或甘油二酯)。脂肪酸，例如油酸及其甘油酯衍生物可用於可注射製

品，天然的藥學上可接受的油，如橄欖油或蓖麻油，特別是它們的聚氧乙基化形式，也可用於可注射製品。這些油溶液或混懸液還可含有長鏈醇類稀釋劑或分散劑，或羧甲基纖維素或類似的分散劑。

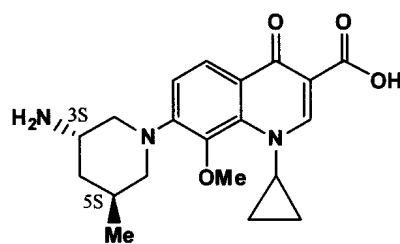
可按照藥物製劑領域熟知的技術製備吸入組合物，所述組合物可製備成鹽水溶液，而且，如本領域所知，可採用苜醇或其他合適的防腐劑、用以增強生物利用度的吸收促進劑、碳氟化合物和/或其他增溶劑或分散劑。

可將局部組合物配製成油、乳膏、洗液、軟膏等形式。用於此類組合物的合適載體包括植物油或礦物油、白凡士林(白軟石蠟)、支鏈脂肪或油、動物脂肪和高分子量醇類(大於C12)。優選的是可溶解活性成分的那些載體。組合物中還可包含乳化劑、穩定劑、濕潤劑和抗氧化劑，如果需要還可包含著色物質或添香物質。此外，這些局部製劑中還可使用透皮滲透促進劑。這種促進劑的例子見於美國專利3,989,816和4,444,762。優選用礦物油、自乳化蜂蠟和水的混合物配製乳膏，在該混合物中混合有溶解於少量油(例如杏仁油)中的活性成分。例如，此類乳膏可包含約40份水、約20份蜂蠟、約40份礦物油和約1份杏仁油。將活性成分的植物油(例如杏仁油)溶液與溫熱的軟石蠟混合，然後讓該混合物冷卻可配製成軟膏。例如，此類軟膏可包含約30重量%杏仁(油)和約70重量%白軟石蠟。

藥物組合物中的載體必須是“可接受的”意味著其與製劑的活性成分相容(優選能穩定該製劑)並且對待治療對象

無害。例如，可利用增溶劑，如環糊精(其與萃取物的一種或多種活性化合物形成特定的、溶解度更高的絡合物)作為遞送活性成分的藥物賦形劑。其他載體的例子包括膠體二氧化矽、硬脂酸鎂、纖維素、月桂基硫酸鈉和D&C Yellow #10。

前為所述化合物1的蘋果酸鹽可與同分異構鹽，如WO 2007/110836中描述的(3S,5S)-3-氨基-5-甲基哌啶-1-基)-1-環丙基-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸(化合物1')的蘋果酸鹽，以任何比例(如，1:1)一起使用。化合物1'的結構如下所示：



化合物1'

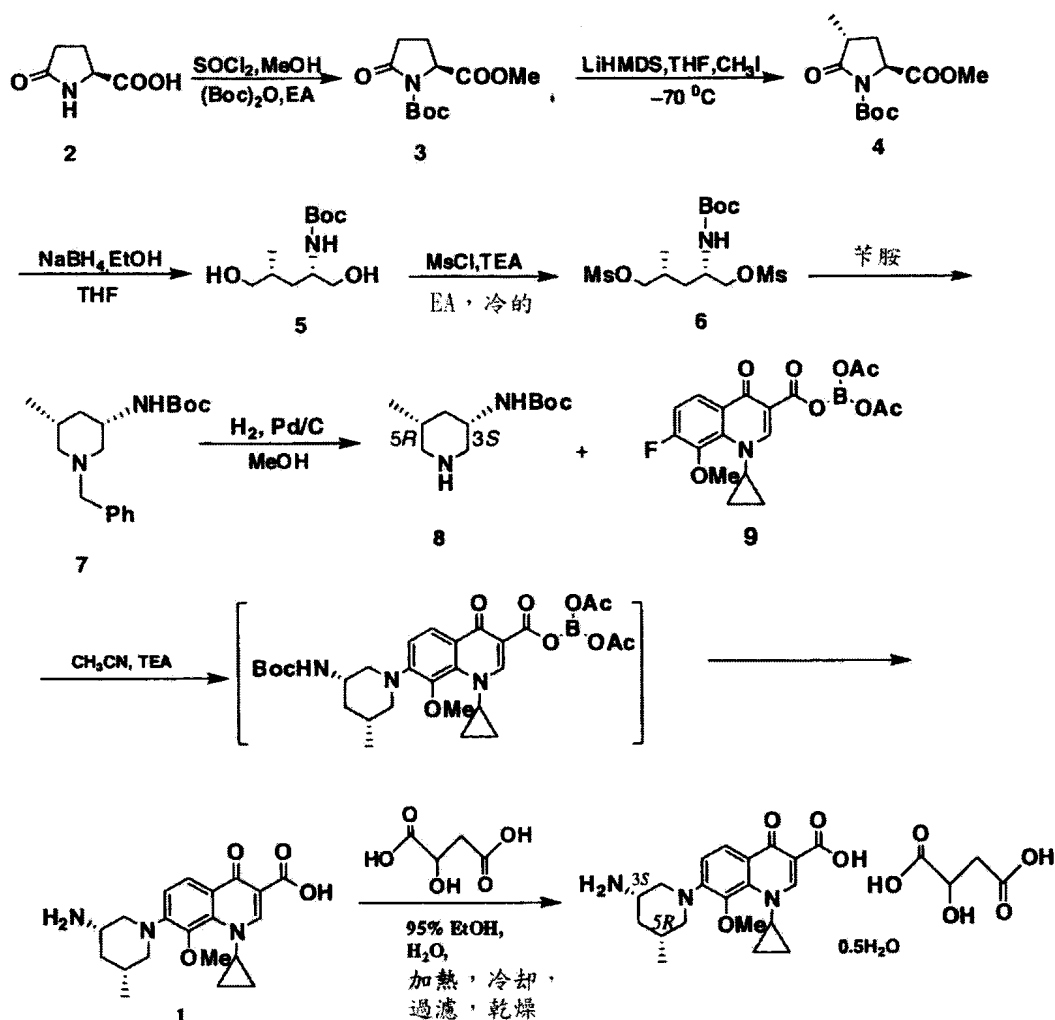
可採用合適的體外試驗初步評估上述化合物1的蘋果酸鹽抑制細菌生長的效力。還可通過體內試驗進一步測試所述化合物治療細菌感染的效力。例如，可將所述化合物給予受感染的動物(例如，小鼠模型)來評估其療效。然後可根據這些結果確定合適的劑量範圍和給藥途徑。

無需其他細節，據信根據以上描述已能充分實施本發明。因此，以下具體的實施例只應理解成說明性，而不是以任何方式限制本發明的其餘部分。本文引用的所有出版物，包括專利全文以引用的方式納入本文。

實施例1

合成化合物1的蘋果酸鹽

下圖顯示了一例該鹽的合成途徑：



(1)(2S)-5-氧代-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯(化合物3)。

在 $<30^{\circ}\text{C}$ ，邊攪拌邊將焦谷氨酸(15.0g)的甲醇(60.0mL)懸浮液中加入亞硫酰氯(27.6g)。1小時後HPLC顯示反應完全。減壓除去溶劑，將殘餘物溶於乙酸乙酯(200mL)。在 $<30^{\circ}\text{C}$ 緩慢加入三乙胺(13.5g)，然後將混合物過濾。在濾液中一次性加入DMAP(1.5g)，然後在 $<30^{\circ}\text{C}$ 加入 Boc_2O (27.8g)。HPLC顯示反應完全之後將混合物冷卻至 0°C ，並在 $<30^{\circ}\text{C}$ 加入1N HCl(13.0mL)，攪拌10分鐘。分離出有機層，用

H₂O(20.0mL)洗滌並減壓蒸發。然後，在所得殘餘物中加入叔丁基甲基醚(27.0mL)，邊攪拌邊冷卻至0℃。濾出緩慢沉澱出的結晶得到化合物3(21.9g，77.3%)。

(2)(2*S*,4*R*)-4-甲基-5-氧代-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯(化合物4)。

在3L燒瓶中加入化合物3(103.6g)的無水THF(1200.0mL)溶液。然後在氮氣氛下將反應混合物冷卻至-72℃。將1.0M LHMDs的THF(440.0mL)溶液冷卻至-10℃，並以一定速度將其加入反應混合物，加入速度控制為維持溶液溫度為<-64℃。加完之後，反應混合物在<-65℃保溫45分鐘，同時攪拌。然後在<-65℃滴加碘代甲烷(65.7mL)，並在<-72℃攪拌2小時。使混合物升溫至環境溫度並攪拌3小時。加入乙酸(38.9mL)的THF(300.0mL)溶液以終止反應。減壓除去溶劑，依次加入H₂O(700.0mL)和乙酸乙酯(500.0mL)並攪拌10分鐘。分離出含水層用乙酸乙酯(300.0mL)萃取。減壓蒸發合併的有機層得到化合物4(139.8g)。

(3)(1*S*,3*R*)-4-羥基-1-羥甲基-3-甲基-丁基)-氨基甲酸叔丁酯(化合物5)。

在燒瓶中加入化合物4(50.0g)的THF(400.0mL)溶液，在氮氣氛下將溶液攪拌冷卻至0℃。以一定速度分批加入NaBH₄(22.0g)以維持溶液溫度介於-5至5℃，然後在此溫度下滴加無水乙醇(100.0mL)。將反應混合物在-5到5℃保溫5小時，然後升至室溫並繼續攪拌過夜。TLC顯示反應完全

後將反應物冷卻至5-15℃。緩慢加入乙酸(37.0mL)以維持反應物溫度為5-15℃直到pH=5。然後在混合物中加入H₂O(100.0mL)，攪拌10分鐘，然後加入乙酸乙酯(150.0mL)，攪拌10分鐘。含水層用乙酸乙酯(75.0mL)萃取。將有機層合併到一燒瓶中。然後向該燒瓶中加入飽和鹽水(150.0mL)並攪拌，然後加入碳酸鈉(14.5g)使得pH>7。分離出的有機層用鹽水(150mL×2)洗滌並減壓蒸發。在殘餘物中加入乙酸乙酯(100.0mL)和甲苯(100.0mL)，繼續減壓蒸發除水得到化合物5(41.2g，90.9%)。

(4)(2*S*,4*R*)-甲磺酸2-叔丁氧基羰基氨基-5-甲磺酰氧基-4-甲基-戊基酯(化合物6)。

在氮氣氛下將化合物5(40.8g)的乙酸乙酯(347.0mL)溶液冷卻至0℃。在0±5℃，滴加三乙胺(70.7g)和甲磺酰氯(59.8mL)。反應溶液在0±5℃攪拌1小時。TLC顯示反應完全後，邊攪拌邊加入飽和碳酸氫鈉溶液(350.0mL)。分離出有機層並減壓蒸發得到化合物6(66.7g，97.9%)。

(5)(3*S*,5*R*)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-甲基-*N*-苄基-吡啶(化合物7)。

將苄胺(57.8g)加入燒瓶中並在氮氣氛下加熱至45℃。在該燒瓶中滴加分散在二甲氧基乙烷(65.0mL)中的化合物6(65.7g)。滴加期間反應物溫度維持在約50±5℃。在該溫度下攪拌過夜，然後加入碳酸鉀(32.8g)的水(200.0mL)溶液。將混合物冷卻至室溫，加入乙酸乙酯(300.0mL)。分離出有機層，用H₂O(200.0mL×2)洗滌，減壓蒸發。殘餘物進行矽

膠柱層析，用1：14乙酸乙酯/庚烷作為洗脫液，得到油狀產物7。

MS(CI)：305.1；

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 7.20-7.35 (m, 5H), 4.27(d, 1H), 3.66(m, 1H), 3.52(d, 1H), 3.46(d, 1H), 3.05(dd, 1H), 2.73(dd, 1H), 1.97(dd, 1H), 1.74(m, 1H), 1.56(dd, 1H), 1.51(ddd, 1H), 1.41(s, 9H), 0.65(ddd, 1H), 0.84(d, 3H)。

(6)(3S,5R)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-5-甲基吡啶(化合物8)。

將化合物7(4.8g)、活性碳(0.5g)和甲醇(100.0mL)的混合物攪拌0.5小時，然後過濾。將濾液轉移至加氫燒瓶並加入碳載鈀(7.5%，1.0g)。真空除去燒瓶內的空氣並用氫氣替換，重複數次。然後將混合物升溫至 $45\pm 5^\circ\text{C}$ 並在氫氣下攪拌36小時。將混合物過濾，濾液經減壓蒸發得到化合物8(2.9g，85.8%)。

MS(CI)：215.1 (M+1)；

拉曼光譜(cm^{-1}): 3324, 3177, 3100-2700, 1698, 1550, 1291, 1246, 1173；

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 4.30 (d, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.20 (dd, 1H), 2.91 (dd, 1H), 2.01 (dd, 1H), 2.11 (m, 1H), 1.60 (dd, 1H), 1.51 (ddd, 1H), 1.39 (s, 9H), 0.76 (ddd, 1H), 0.82 (d, 3H)；

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 155.2, 79.3, 53.5, 51.9, 48.8, 40.8, 32.5, 28.4, 19.1。

(7)1-環丙基-7-氟-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫-喹啉-3-羧酸的硼酸酯(boron ester)(化合物9)：

在反應容器內加入氧化硼(2.0kg, 29mol)、冰醋酸(8.1L, 142mol)和醋酸酐(16.2L, 171mol)。所得混合物回流至少2小時，然後冷卻至40℃，在此溫度下加入1-環丙基-7-氟-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫-喹啉-3-羧酸(14.2kg, 51mol)。將混合物再回流至少6小時，然後冷卻至約90℃。在反應物中加入甲苯(45L)。在50℃加入叔丁基甲基醚(19L)引發沉澱。然後將混合物冷卻至20℃，過濾分離沉澱。分離出的固體用叔丁基甲基醚(26L)洗滌，然後在烘箱內40℃真空(50托)乾燥，由此得到化合物9，產率為86.4%。

拉曼光譜(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；

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 9.22 (s, 1H), 8.38-8.33 (m, 1H), 7.54 (t, $J=9.8$ Hz, 1H), 4.38-4.35 (m, 1H), 4.13 (s, 3H), 2.04 (s, 6H), 1.42-1.38 (m, 2H), 1.34-1.29 (m, 2H)。

(8)7-((3*S*,5*R*)-3-氨基-5-甲基吡啶-1-基)-1-環丙基-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸(化合物1)。

將含化合物8(2.0g)、化合物9(4.2g)和三乙胺(3.9mL)的乙腈(32.0mL)溶液加熱至50℃，攪拌至少12小時，同時通過HPLC監測反應。此後，將重新冷卻的溶液減壓蒸餾。將殘餘物冷卻至25℃，然後緩慢加入3.0N氫氧化鈉溶液(由

9.3g 30% NaOH加16mL蒸餾水配製)。通過HPLC監測反應。此後，在50℃減壓蒸餾重新冷卻的溶液。將殘餘物冷卻至25℃，加入乙酸(2.5g)將pH調至8.0。然後，攪拌加入二氯甲烷(80.0mL)。減壓蒸餾分離出的有機層，然後加入鹽酸溶液(12.2g，30%)。反應混合物在35℃攪拌加熱12小時，同時通過HPLC監測反應。此後，將反應混合物冷卻至25℃並濾出沉澱。將沉澱溶於50℃的水(40.0mL)，用氫氧化鈉水溶液(3.0g，30%)中和至pH=7.9。將沉澱濾出，在50℃真空乾燥24小時，得到化合物1(2.9g，82.9%，純度99.9%)。

(9)7-((3S,5R)-3-氨基-5-甲基吡啶-1-基)-1-環丙基-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸半水合D,L-蘋果酸鹽(化合物1的蘋果酸半水合物)。

將乙醇(14mL)和純水(9.8mL)混合並加熱至60±2℃。在溶液中加入化合物1(2.8g)、*dl*-蘋果酸(1.0g)和活性碳(0.13g)。在上述溫度下攪拌10分鐘後將混合物過濾。將濾液冷卻至0±2℃並攪拌30分鐘以得到沉澱，沉澱在45±2℃下真空乾燥2小時得到所需的鹽(2.5g，64.7%，純度98.9%)。

MS (CI)：372.0 (M+1)；

拉曼光譜(cm^{-1})：~3438，3100-2700，1729，1618.1520，1443，1258；

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ：8.67(s, 1H)，7.63(d, 1H)，7.15(d, 1H)，4.24(dd, 1H)，4.12(m, 1H)，3.97(m, 1H)，3.64(s, 3H)，3.57(dd, 1H)，3.47(dd, 1H)，2.71(dd, 1H)，2.69(dd, 1H)，

2.51(dd, 1H), 2.41(dd, 1H), 2.13(m, 1H), 1.92(ddd, 1H), 1.12(ddd, 1H), 1.12, 0.90(m, 4H), 0.90(d, 3 H);

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): 178.9, 177.6, 176.2, 169.2, 150.8, 150.3, 141.5, 136.6, 121.4, 120.0, 119.3, 105.3, 68.5, 60.3, 56.4, 52.0, 47.8, 41.6, 40.0, 36.7, 29.7, 17.8, 8.9, 和 8.9。

合成化合物1'的半水合蘋果酸鹽

化合物1'的半水合蘋果酸鹽是參照WO 2007/110836所述方法製備的。

實施例2：

抑菌

測定了化合物1的蘋果酸鹽和化合物1'的蘋果酸鹽以及捲鬚黴素對8種ATCC參考菌株(即大腸桿菌(*E. coli*) ATCC 25922, 綠膿假單胞菌(*P. aeruginosa*) ATCC 27853, 金黃色葡萄球菌(*S. aureus*) ATCC 29213, 糞腸球菌(*E. faecalis*) ATCC 29212, 肺炎鏈球菌(*S. pneumoniae*) ATCC 49619, 流感嗜血桿菌(*H. influenzae*) ATCC 49247, 流感嗜血桿菌(*H. influenzae*) ATCC 49766, 和淋病奈瑟菌(*N. gonorrhoeae*) ATCC 49226)以及10種臨床菌株(即兩株金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)、一株糞腸球菌(*E. faecalis*)、一株屎腸球菌(*E. faecium*)、兩株大腸桿菌(*E. coli*)、兩株綠膿假單胞菌(*P. aeruginosa*)和兩株流感嗜血桿菌(*H. influenzae*))的抑制作用。

按照臨床和實驗室標準協會(CLSI, Clinical and

Laboratory Standards Institute)的指南採用肉湯微量稀釋法測定最低抑制濃度(MIC)。參見，例如，“Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacterial That Grow Aerobically(需氧菌的稀釋抗菌劑易感性檢測方法)” CLSI 2006，批准的標準方法，第7版，M7-A7；和“Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing(抗菌劑易感性檢測的性能標準)” CLSI 2007，第17次報告增刊，M100-S17。注意，對於淋病奈瑟菌，由於沒有CLSI推薦的特定肉湯微量稀釋法(BMD)，採用了推薦用於腦膜炎奈瑟菌(*N. meningitis*)的BMD法。

將三種化合物中的分別溶于水，然後無菌過濾製備成原液。原液分成小份於-20℃儲存。敏感性檢測之前，各原液用肉湯培養基稀釋成2X原液，其濃度是最終工作濃度的兩倍。以每孔50μl將2X原液分配到96孔微板中。微板在加液後立即使用或在於-80℃儲存備用。

為進行檢測，所有細菌的凍存分離株取少量進行亞培養，流感嗜血桿菌和淋病奈瑟菌在巧克力平板上亞培養，其餘均在綿羊血瓊脂上亞培養。所有平板培養基購自BBL(BD微生物學系統(Becton Dickinson Microbiology System)，考克威爾(Cockeysville)，馬里蘭州)。抗微生物劑敏感性檢測前一天，所有細菌經再次亞培獲得新鮮的起始培養物。檢測時，Mueller-Hinton肉湯(MHB，瑞典診斷(Trek Diagnostics)，西艾塞克斯(West Essex)，英格蘭)用於大腸桿菌、綠膿假單胞菌、金黃色葡萄球菌和糞腸球菌；含3%

溶胞馬血的MHB(MHBHB)用於檢測肺炎鏈球菌和淋病奈瑟菌；嗜血桿菌檢測培養基肉湯(HTM)用於檢測流感嗜血桿菌。

檢測當天，首先從新鮮亞培平板上獲取每種細菌製成0.5 McFarland懸浮液。大腸桿菌、綠膿假單胞菌、金黃色葡萄球菌和糞腸球菌的0.5 McFarland懸浮液用水製備，而淋病奈瑟菌和肺炎鏈球菌的0.5 McFarland懸浮液用MHB製備，流感嗜血桿菌的0.5 McFarland懸浮液用HTM製備。然後取100微升各懸浮液按需轉移各自到10ml MHB、MHBHB或HTM中製成 1×10^6 CFU/ml的懸浮液。然後將懸浮液分配到前述96孔微板(每孔50 μ l)。所有平板在環境空氣下35 $^{\circ}$ C培育過夜，僅淋病奈瑟菌在5% CO₂下培育。培育時間和條件與CLSI指南中所述相同。取滿滿一接種環的最終接種物進行各分離株的純度檢測。

結果顯示，化合物1的蘋果酸鹽對各測試菌株的MIC低於捲鬚黴素或與之相當，表明該化合物能有效抑菌。與化合物1'的蘋果酸鹽相比，化合物1的蘋果酸鹽在抑制某些金黃色葡萄球菌、流感嗜血桿菌和綠膿假單胞菌菌株方面更加有效。

抑制耐藥菌

檢測了化合物1的蘋果酸鹽、化合物1'的蘋果酸鹽以及上述兩者的混合物抑制捲鬚黴素-耐性金黃色葡萄球菌和左氧氟沙星-耐性肺炎鏈球菌的功效。用肉湯微量稀釋法測定MIC。

化合物1的蘋果酸鹽、化合物1'的蘋果酸鹽、這兩者的混合物、捲鬚黴素(CIP)和左氧氟沙星(Levo)的MIC₅₀和MIC₉₀值示於下表：

細菌	MIC ₅₀ (MIC ₉₀) , ug/mL				
	化合物1' (3S,5S)	化合物1 (3S,5R)	化合物1+1' (1:1 w/w)	CIP	Levo
<i>MRSA</i> -CIP (R)	1.0(2.0)	1.0(1.0)	1.0(1.0)	64	-
<i>MRSA</i> -CIP (S)	0.03(0.06)	0.03(0.06)	0.03(0.06)	0.5	-
<i>S.pneumo</i> - Levo(R)	0.5(2.0)	0.25(1.0)	0.5(1.0)	-	>128
<i>S.pneumo</i> - Levo(S)	0.06(0.06)	0.03(0.06)	0.06(0.06)	-	16

CIP：捲鬚黴素

Levo：左氧氟沙星

MRSA-CIP(R)：MRSA-捲鬚黴素耐性菌株的臨床分離株

MRSA-CIP(S)：MRSA-捲鬚黴素敏感性菌株的臨床分離株

S.pneumo-Levo(R)：肺炎鏈球菌(*S. pneumoniae*)左氧氟沙星耐性菌株的臨床分離株

S.pneumo-Levo(S)：肺炎鏈球菌(*S. pneumoniae*)左氧氟沙星敏感性菌株的臨床分離株

如上表所示，在檢測的樣品中，化合物1的蘋果酸鹽以及化合物1和1'兩者的蘋果酸鹽的混合物抑制捲鬚黴素-敏感性和耐性金黃色葡萄球菌以及左氧氟沙星-敏感性和耐性肺炎鏈球菌最有效。

藥物動力學研究

將化合物1的蘋果酸鹽和化合物1'的蘋果酸鹽分別溶於pH約4.5的含0.7%乳酸和3%右旋糖的水溶液以及pH約5.4的2.5% L-谷氨酸水溶液製成用於藥代動力學研究的溶液。

在戊巴比妥麻醉狀態下在300-400克重的雄性Sprague-Dawley大鼠(BioLASCO臺灣公司，臺北，臺灣)的頸靜脈內手術植入聚乙烯(PE-50)套管用以採集血樣，由此

製成動物模型，備第二天之用。通過2.5mg/kg劑量靜脈內注射(IV)(N=3)或通過5mg/kg劑量口飼(PO)(N=4)用化合物1或化合物1'的溶液處理大鼠。劑量水平是基於化合物的游離形式計算的。PO研究中，大鼠被禁食一夜，但可隨意飲水，然後在第二天給藥。在給藥前5、10(僅IV)、15和30分鐘以及給藥後1、2、4、6、8、12和24小時採集動物的無菌血樣，並離心獲得肝素化血漿。通過液相色譜-質譜分析(MDS SCIEX, API 3000, 應用生物系統(Applied Biosystems), 加州, 美國)測定血漿中待測化合物的濃度，分析的定量下限為2ng/mL。

通過非房室模型分析採用WinNonlin(版本4.0, 法賽公司(Pharsight), 加州, 美國)評估各項標準藥代動力學參數。通過線性梯形法則計算濃度-時間曲線的從給藥到無限遠處的曲線下面積($AUC_{(0-\infty)}$)。口服生物利用度(%F)由經劑量校正的大鼠的口服給藥後血漿接觸量與靜脈給藥後血漿接觸量之比來計算，公式如下：

$$\%F = (AUC_{po} / AUC_{iv}) \times (D_{iv} / D_{po}) \times 100\%$$

其中，D是劑量，AUC是血漿濃度-時間曲線從0到無限遠的曲線下面積。

IV注射化合物1的蘋果酸鹽，終末半衰期($t_{1/2}$)以及從給藥到無限遠的曲線下面積($AUC_{(0-\infty)}$)分別為 2.466 ± 0.801 小時和 $1.530 \pm 0.066 \mu\text{g} \times \text{h/mL}$ 。PO給予化合物1的蘋果酸鹽，終末半衰期($t_{1/2}$)、最大濃度($C_{\max}$)、達到最大濃度的時間($T_{\max}$)以及從給藥到無限遠的曲線下面積($AUC_{(0-\infty)}$)分別為

3.581±1.704小時、0.622±0.170μg/mL、0.250±0.000小時和
1.404±0.464μg×h/mL。

結果顯示，化合物1的蘋果酸鹽的口服生物利用度(% F)為45.9±15.2%，而化合物1'的蘋果酸鹽的口服生物利用度(% F)為13.2±3.3%。因此，口服給予化合物1的蘋果酸鹽比口服給予化合物1'的蘋果酸鹽更加有效。

其他實施方式

本說明書披露的所有特徵可以任意組合。起到相同、等價或相似目的的其他特徵可以替代本說明書中披露的各特徵。因此，除非另有專門表述，否則披露的各特徵只是一系列普通等價或相似特徵的例子。

鑒於以上描述，本領域技術人員不難確定本發明的基礎特徵，他們能對本發明作出各種改變和改進以適用於各種用途和條件，卻不脫離本發明的構思和範圍。因此，其他實施方式也屬於以下權利要求書的範圍。

【圖式簡單說明】

(無)

【主要元件符號說明】

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：98123739

※申請日：98.7.14

※IPC 分類：A61K 31/4709 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

C07D401/10 (2006.01)

抗生素藥物

ANTIBIOTIC DRUG

A61P 31/04 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明涉及(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-哌啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽。還披露了用有效量的這種鹽治療細菌感染的方法。

三、英文發明摘要：

This invention relates to a malic acid salt of (3S,5R)-7-[3-amino-5-methyl-piperidinyl]-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-8-methoxy-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid. Also disclosed is a method of treating bacterial infection by an effective amount of this salt.

七、申請專利範圍：

1. (3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽。
2. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，蘋果酸與(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的比例為1:1。
3. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述鹽呈水合物形式。
4. 如如申請專利範圍第3項所述的鹽，其特徵在於，所述鹽為(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的半水合蘋果酸鹽。
5. 如申請專利範圍第4項所述的鹽，其特徵在於，蘋果酸與(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的比例為1：1。
6. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D-蘋果酸。
7. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是L-蘋果酸。
8. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D,L-蘋果酸。
9. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D-蘋果酸。
10. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是L-蘋果酸。

11. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D,L-蘋果酸。
12. 一種藥物組合物，其包含(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽和藥學上可接受的載體。
13. 如申請專利範圍第12項所述的藥物組合物，還包含(3S,5S)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽。
14. 如申請專利範圍第13項所述的藥物組合物，其特徵在於，(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽與(3S,5S)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽的比例為約1：1。
15. 一種治療微生物感染的方法，所述方法包括給予有此需要的物件有效量的申請專利範圍第12項所述組合物。
16. 如申請專利範圍第15項所述的方法，其特徵在於，所述微生物感染是金黃色葡萄球菌、綠膿假單胞菌、肺炎鏈球菌、糞腸球菌、屎腸球菌、流感嗜血桿菌、大腸桿菌或淋病奈瑟菌感染。
17. 如申請專利範圍第15項所述的方法，其特徵在於，所述微生物感染是被甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、甲氧苯青黴素-耐性表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、喹諾酮-耐性金黃色葡萄球菌、外排相關性耐甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌、異萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬

古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-耐性金黃色葡萄球菌、青黴素-耐性肺炎鏈球菌、氟喹諾酮-耐性肺炎鏈球菌或多耐藥性肺炎鏈球菌感染。

18. 一種治療微生物感染的方法，所述方法包括給予有此需要的物件有效申請專利範圍第13項所述組合物。

19. 如申請專利範圍第18項所述的方法，其特徵在於，所述微生物感染是金黃色葡萄球菌、綠膿假單胞菌、肺炎鏈球菌、糞腸球菌、屎腸球菌、流感嗜血桿菌、大腸桿菌或淋病奈瑟菌感染。

20. 如申請專利範圍第18項所述的方法，其特徵在於，所述微生物感染是被甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、甲氧苯青黴素-耐性表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、喹諾酮-耐性金黃色葡萄球菌、外排相關性耐甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌、異萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-耐性金黃色葡萄球菌、青黴素-耐性肺炎鏈球菌、氟喹諾酮-耐性肺炎鏈球菌或多耐藥性肺炎鏈球菌感染。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 () 圖。(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

七、申請專利範圍：

1. (3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽。
2. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，蘋果酸與(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的比例為1:1。
3. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述鹽呈水合物形式。
4. 如如申請專利範圍第3項所述的鹽，其特徵在於，所述鹽為(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的半水合蘋果酸鹽。
5. 如申請專利範圍第4項所述的鹽，其特徵在於，蘋果酸與(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的比例為1:1。
6. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D-蘋果酸。
7. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是L-蘋果酸。
8. 如申請專利範圍第1項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D,L-蘋果酸。
9. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D-蘋果酸。
10. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是L-蘋果酸。

11. 如申請專利範圍第5項所述的鹽，其特徵在於，所述蘋果酸是D,L-蘋果酸。
12. 一種藥物組合物，其包含(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽和藥學上可接受的載體。
13. 如申請專利範圍第12項所述的藥物組合物，還包含(3S,5S)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽。
14. 如申請專利範圍第13項所述的藥物組合物，其特徵在於，(3S,5R)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽與(3S,5S)-7-[3-氨基-5-甲基-吡啶基]-1-環丙基-1,4-二氫-8-甲氧基-4-氧代-3-喹啉羧酸的蘋果酸鹽的比例為約1：1。
15. 一種如申請專利範圍第12項所述組合物用於製造一種藥劑的用途，該藥劑係用以治療微生物感染。
16. 如申請專利範圍第15項所述的用途，其特徵在於，所述微生物感染是金黃色葡萄球菌、綠膿假單胞菌、肺炎鏈球菌、糞腸球菌、屎腸球菌、流感嗜血桿菌、大腸桿菌或淋病奈瑟菌感染。
17. 如申請專利範圍第15項所述的用途，其特徵在於，所述微生物感染是被甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、甲氧苯青黴素-耐性表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、喹諾酮-耐性金黃色葡萄球菌、外排相關性耐甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌、異萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬

古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-耐性金黃色葡萄球菌、青黴素-耐性肺炎鏈球菌、氟喹諾酮-耐性肺炎鏈球菌或多耐藥性肺炎鏈球菌感染。

18. 一種如申請專利範圍第13項所述組合物用於製造一種藥劑的用途，該藥劑係用以治療微生物感染。

19. 如申請專利範圍第18項所述的用途，其特徵在於，所述微生物感染是金黃色葡萄球菌、綠膿假單胞菌、肺炎鏈球菌、糞腸球菌、屎腸球菌、流感嗜血桿菌、大腸桿菌或淋病奈瑟菌感染。

20. 如申請專利範圍第18項所述的用途，其特徵在於，所述微生物感染是被甲氧苯青黴素-耐性金黃色葡萄球菌、甲氧苯青黴素-耐性表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、喹諾酮-耐性金黃色葡萄球菌、外排相關性耐甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌、異萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-中等耐藥金黃色葡萄球菌、萬古黴素-耐性金黃色葡萄球菌、青黴素-耐性肺炎鏈球菌、氟喹諾酮-耐性肺炎鏈球菌或多耐藥性肺炎鏈球菌感染。