



SZABADALMI LEÍRÁS

176265

Nemzetközi osztályozás:
C 07 D 401/04

Bejelentés napja: 1978. I. 26. (KI-755)

Japán-beli uniós elsőbbsége: 1977. V. 16.
(52-56219 sz.)

Közzététel napja: 1980. VII. 28.

Megjelent. 1981. VI. 30.

Feltaláló:

Irikura Tsutomu vegyészmérnök, Tokió, Japán

Szabadalmas:

Kyorin Seiyaku Kabushiki Kaisha, Tokió,
Japán

Eljárás egy új piperazino-kinolin-karbonsav sói és hidrátjai előállítására

1

A találmány tárgya eljárás új baktériumellenes szerek előállítására. Közelebbről, a találmány tárgyat az I képletű kinolin-karbonsavnak, e vegyület hidrátjainak és savaddíciós sóinak előállítása képezi.

A baktériumellenes szerek, így a nalidixsav, igen hatásosnak mutatkoztak a Gram-negatív baktériumok által okozott fertőzések gyógykezelésében. Ezeknek a szereknek azonban nagy hátránya, hogy hatástalanok számos baktériumtörzs, például a legtöbb Gram-pozitív baktérium és a *Pseudomonas aeruginosa* ellen, holott az utóbbi által okozott fertőzések fokozatosan szaporodtak az elmúlt két évtizedben, és ez egyike azoknak a fertőzéseknek, amelyek a leginkább ellenállóak a kemoterápiával szemben.

A találmány szerinti vegyületek kiváltképpen hasznosak abból a szempontból, hogy erős baktériumellenes hatást gyakorolnak mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumokra, beleértve a *Pseudomonas aeruginosa*-t is.

A találmány szerint az I képletű kinolin-karbonsav-származékot, ennek hidrátjait és savaddíciós sóit, így hidrokloridját állítjuk elő.

Az említett vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy piperazint nem reaktív oldószerben, például vízben, alkoholban, piridinben, pikolinban, N,N-dimetil-

2

formamidban, dimetilszulfoxidban, hexametilfoszforsavtriamidban vagy hasonlóknak, vagy oldószer nélkül, kb. szobahőmérséklet és 200°, előnyösen kb. 100–180° hőmérsékleten a II képletű savval melegítünk, majd kívánt esetben sót képezünk.

A találmány szerinti eljárás kiviteli módját a példák szemléltetik. A hőmérsékleti értékek °C-ban értendők.

1. példa

1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-
4-oxo-kinolin-3-karbonsav-hidrát

1,9 g 1-etil-6-fluor-7-klór-1,4-dihidro-4-oxo-kinolin-3-karbonsav 15 g piperazin-hexahidrát és 15 ml víz keverékét zárt csőben 170°-on 16 órán át melegítjük. Ezután az oldószert elpárologtatjuk, a maradékot hígított sósavval megsavanyítjuk, 100°-ra felmelegítjük, a forró oldatot megszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 10%-os nátriumhidroxidban feloldjuk, és ecetsavval semlegesítjük. A csapadékot kiszűrjük, vízzel mosuk, szárítjuk, majd etanolból átkristályosítjuk. Szintelen por alakjában kapjuk az 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav-pentahidrátot. Olvadáspont: 226–227°. Tömegspektrum: m/e = 319 (M⁺).

2. példa

1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-
4-oxo-kinolin-3-karbonsav

Az 1. példa szerint előállított vegyületet 100–200°-on vákuumban megszárítjuk, így színtelen por alakjában kapjuk az 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsavat. Olvadáspont: 215–220°. Tömegspektrum: $m/e = 319$ (M^+), 275 ($M^+ - CO_2$).

3. példa

1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-
4-oxo-kinolin-3-karbonsav-hidroklorid

Az 1. vagy 2. példa szerinti vegyületet etanolban feloldjuk, és tömény sósavval megsavanyítjuk. Az így kapott csapadékot kiszűrjük, etanollal mossuk, és szárítjuk. Színtelen tűk alakjában kapjuk az 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav-hidrokloridot. A vegyület olvadáspontja 300° felett van.

Az elemanalízis eredménye a $C_{16}H_{19}N_3O_3ClF$ képlet alapján:

Számított: C = 54,01%, H = 5,38%,
N = 11,81%,
Talált: C = 53,85%, H = 5,43%,
N = 11,62%.

4. példa

1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-
4-oxo-kinolin-3-karbonsav és hidrátja

22 g 1-etil-6-fluor-7-klór-1,4-dihidro-4-oxo-kinolin-3-karbonsav és 160 g piperazin-hexahidrát keverékét autoklávban 135–145°-on 18,5 órán át melegítjük. Ezután a keveréket szárazra pároljuk, 10%-os nátriumhidroxidban feloldjuk, és az oldatot ecetsavval semlegesítjük. A csapadékot kiszűrjük, vízzel mossuk, 30%-os ecetsavban feloldjuk és szűrjük. A szűrletet 10%-os nátriumhidroxiddal semlegesítjük. Az így kapott csapadékot kiszűrjük, vízzel és etanollal mossuk, és 1,5 órán át vákuumban 140–145°-on szárítjuk. Színtelen por alakjában 14 g (54%) 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsavat kapunk. Olvadáspont: 227–228°.

Az elemanalízis eredménye a $C_{16}H_{18}N_3O_3F$ képlet alapján:

Számított: C = 60,18%, H = 5,68%,
N = 13,16%,
Talált: C = 60,31%, H = 5,70%,
N = 13,24%.

Ezt a vegyületet 10%-os nátriumhidroxidban feloldjuk, és ecetsavval semlegesítjük. A kivált csapadékot vízzel mossuk, és szobahőmérsékleten szárítjuk. Színtelen por alakjában kapjuk az 1-etil-6-flu-

or-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav-hidrátot. Olvadáspont: 226–227°.

Az elemanalízis eredménye a $C_{16}H_{18}N_3O_3F \cdot 5H_2O$ képlet alapján:

Számított: C = 46,94%, H = 6,89%,
N = 10,26%,
Talált: C = 47,34%, H = 6,68%,
N = 10,30%.

5 példa

1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-
4-oxo-kinolin-3-karbonsav

0,45 g 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-klór-4-oxo-kinolin-3-karbonsav, 0,73 g piperazin és 4 ml β -pikolin keverékét 8 órán át 140–145°-on melegítjük. A reakciókeveréket a 4. példában leírt módon kezeljük, így színtelen por alakjában kapjuk az 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsavat, amelynek olvadáspontja 224–226°.

Ismeretes, hogy a legtöbb, fémekkel kelátokat képező gyógyszer, így a Quinoform és az Ethambutol in vivo nem kívánatos mellékhatásokat fejt ki. Beszámoltak arról, hogy a nalidixsav kelátvegyületet képez, ha vas(III)-ionnal kezelik [Chem. Abs. 62, 15600 h (1965)]. Ha a nalidixsavat 1 mólekvalens nátriumhidroxid jelenlétében vízben 1/3 mólekvalens vas(III)-klorid-hexahidráttal keverték, akkor a nalidixsav 256 és 326 nm-nél levő abszorpciós maximumai a 248, illetve 311 nm rövidebb hullámhosszakra tolódtak el, és 3:1 arányú nalidixsav-ferriion kelátvegyületet kaptak.

Ha viszont a találmány szerint előállított kinolin-karbonsavat kezeljük a fenti körülmények között vas(III)-ionnal, ez nem ad kelátvegyületet.

A találmány szerint előállított vegyületek baktériumellenes szerekkénti alkalmasságát az alábbi kísérletek igazolják.

1. kísérlet

Baktériumellenes hatás (in vitro)

Az I képletű vegyület minimális gátló koncentrációját (minimum inhibitory concentration, M.I.C.) megvizsgáltuk agar-hígításos kenési módszerrel a *Pseudomonas aeruginosa* négy törzsére és más kórokozó baktériumokra. Amint az I. táblázatból látható, a nalidixsav és a pipemidinsav főképpen a Gram-negatív baktériumokra fejtett ki baktériumellenes hatást, és hatástalanok voltak számos Gram-pozitív baktériumtörzsre és a Gram-negatív *Pseudomonas aeruginosa* törzsekre.

Másrészt az I képletű vegyület sokkal hatásosabb volt mind a Gram-pozitív mind a Gram-negatív baktériumokra, mint a nalidixsav és a pipemidinsav, és sokkal hatásosabbnak bizonyult Gram-negatív baktériumokra, beleértve a *Pseudomonas aeruginosa* is, mint a gentamicin és a karbenicillin.

Az I képlet vegyület széles spektrumban hatásos volt Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok ellen, sőt azokra a baktériumokra is gátló hatást gyakorolt, amelyek nalidixsavra, pipemidinsavra és karbenicillinre nem voltak érzékenyek.

Igy az I képletű vegyület sokat ígérő baktérium-ellenes szer, mivel kórokozó baktériumok ellen – beleértve a *Pseudomonas aeruginosa*-t is – hatékonyabb és szélesebb spektrumban hat, mint a 5 többi szintetikus kemoterápiás szer.

1. táblázat

Baktériumellenes hatásspektrum

Mikroorganizmus	Gram	I vegyület	M.I.C. ($\mu\text{g/ml}$)			
			PPA	NA	GM	CBPC
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	+	0,39	6,25	6,25	0,10	0,39
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	+	0,78	25	100	0,10	0,39
<i>Sta. aureus</i> ATCC 14775	+	1,56	100	>100	0,10	6,25
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID 692	+	3,13	>100	>100	6,25	0,10
<i>Str. pyogenes</i> S-8	+	1,56	>100	>100	6,25	0,10
<i>Str. faecalis</i> IID 682	+	3,13	—	—	50	100
<i>Diplococcus pneumoniae</i> IID 552	+	12,5	>100	>100	12,5	0,39
<i>Corynebacterium pyogenes</i> IID 548	+	3,13	100	—	0,78	0,20
<i>Mycobacterium phlei</i> IFO 3142	+	0,39	12,5	100	6,25	> 200
<i>My. smegmatis</i> IFO 3083	+	1,56	50	>100	0,20	6,25
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	—	0,10	1,56	3,13	0,39	1,56
<i>E. coli</i> ATCC 10536	—	0,05	1,56	3,13	0,39	1,56
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3167	—	0,05	3,13	3,13	0,20	6,25
<i>Pr. vulgaris</i> XK Denken	—	0,20	6,25	3,13	0,10	0,39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 3512	—	0,05	1,56	1,56	0,20	> 200
<i>Salmonella enteritidis</i> IID 604	—	0,20	12,5	12,5	1,56	12,5
<i>Shigella sonnei</i> IID 969	—	0,10	1,56	1,56	0,78	1,56
<i>Haemophilus influenzae</i> IID 986	—	0,05	3,13	1,56	1,56	0,39
<i>Neisseria perflava</i> IID 856	—	0,05	1,56	1,56	0,78	1,56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> V-1	—	0,39	12,5	100	0,78	12,5
<i>Ps. aeruginosa</i> IFO 12689	—	1,56	25	> 200	12,5	100
<i>Ps. aeruginosa</i> IID 1210	—	1,56	50	> 200	12,5	100
<i>Ps. aeruginosa</i> IID 1130	—	0,78	25	> 200	3,13	200

PPA: pipemidinsav,
NA: nalidixsav,
GM: gentamicin,
CBPC: karbenicillin

2. kísérlet

Az I képletű vegyület preventív hatása

Pseudomonas aeruginosa-val egérben végzett szisztémás fertőzés ellen

Hím egereket (ddY törzs, 6-hetese, testsúlyuk 28–33 g) szisztémásan megfertőztünk úgy, hogy az egereket intraperitoneálisan beoltottuk *Pseudomonas aeruginosa* IID 1210-nek 0,5 ml agy-szív-levelessel (Eiken) készített, 5% mucint tartalmazó szuszpenziójával. Az I képletű vegyületet és a pipemidinsavat 0,5%-os karboximetilcellulóz-oldatban szuszpendáltuk, illetve a karbenicillint vízben oldottuk. Valamennyi kísérleti anyagot kétszer adtuk be az egereknek közvetlenül a fertőző oltás után, majd 6 órával később és valamennyi vegyület terápiás hatá-

5

10

15

sát a túlélők arányából állapítottuk meg. A vegyületek hatásosságát az 50%-ban hatásos dózis (ED_{50}) alapján hasonlítottuk össze, amit mintaanalízissel [Miller L.C. and M.L. Tainter: Estimation of the ED_{50} and its error by means of logarithmic-probit graph paper, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57, 261–264 (1944)], és 95%-os megbízhatósági határral, amit Litchfield és Wilcoxon módszerével [Litchfield J.T. and F. Wilcoxon: A simplified method of evaluating dose-effect, J. Pharmacol. 92, 99–113 (1948)] számítottunk ki. Amint az a 2. táblázatból látható, a 2. példa szerint előállított vegyület hatásosan megvédi az egereket a *Pseudomonas aeruginosa* fertőzéstől, és bebizonyosodott, hogy hatásosabb, mint a pipemidinsav és a karbenicillin. Az I képletű vegyület LD_{10} értéke több mint 4 g/kg egérben és az LD_{10}/ED_{90} értéke 21,6 felett van, ami igen biztonságos határ.

2. táblázat

Az I képletű vegyület preventív hatása *Pseudomonas aeruginosa*-val egérben végzett szisztémás fertőzés ellen

Vegyület	Kiváltó dózis (csíraszám/egér)	ED_{50} (mg/kg) (95%-os megbízhatósági határ)	ED_{90} (mg/kg)
I vegyület	$3,5 \times 10^4$	98,0 (79,7–120,5)	185
Pipemidinsav	$3,5 \times 10^4$	400 (317–504)	1120
Karbenicillin	$3,5 \times 10^4$	800 (630–1,016)	1430

Az I vegyületet és a pipemidinsavat orálisan a karbenicillint szubkután adtuk be.

3. kísérlet

Az I képletű vegyület preventív hatása egérben *Escherichia coli*-val előidézett, felfelé irányuló vesefertőzés ellen.

45

50

zés után 48 órával leöltük. Az egerek veséit aszeptikusan eltávolítottuk, és kettévágtuk, a két felét kipréseltük és dezoxikolát-táptalajt (Nissan) tartalmazó agarlemezre kentük. A vegyületek terápiás hatását úgy állapítottuk meg, hogy 20 órán át 37 °-on végzett inkubálás után értékeljük az agar felületén a növekedés elmaradását. A vegyületek hatásösszehasonlítását az 50%-ban hatásos dózis (ED_{50}) alapján végeztük, amit mintavizsgálattal és 95%-os megbízhatósági határral számítottunk ki, utóbbit Litchfield és Wilcoxon módszerével.

Amint az a 3. táblázatból látható, a 2. példa szerint előállított vegyület hatásos volt egérben *Escherichia coli*-val előidézett felfelé irányuló vesefertőzés ellen, és azt is megállapítottuk, hogy az I képletű vegyület hatásosabb volt, mint a nalidixsav és a pipemidinsav.

Az I képletű vegyület LD_{10} értéke több mint 4 g/kg egérben, és igen jól a biztonsági zónában van ($LD_{10}/ED_{90} = 65,6$ felett).

3. táblázat

Az I képletű vegyület preventív hatása egérben *Escherichia coli*-val előidézett, felfelé irányuló fertőzés ellen

Vegyületek	Kiváltó dózis (csíraszám/egér)	ED ₅₀ (mg/kg) (95%-os megbízhatósági határ)	ED ₉₀ (mg/kg)
I vegyület	3,2 x 10 ⁷	15,0 (8,6–26,3)	61
Nalidixsav	3,2 x 10 ⁷	86,0 (45,3–163)	345
Pipemidinsav	3,2 x 10 ⁷	74,0 (51,0–107)	235

4. kísérlet

Az I képletű vegyület koncentrációja a szérumban, egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után patkányokban

Az I képletű vegyület koncentrációit a szérumban mikrobiológiai vizsgálattal határoztuk meg.

Tápagart felmelegítettünk és megolvasztottunk. Az olvadt agarhoz *Escherichia coli* NIHJ JC–2-t adtunk, jól összekevertük, és a keverék 5 ml mennyiségét Petri csészébe helyeztük. A megdermedt agar tetejére csövecskéket helyeztünk, és a csövecskéket megtöltöttük a szérummintával. A lemezt 20 órára 37°-os inkubátorba helyeztük, majd megmértük a gátlási zóna átmérőjét. A szérumot 0,5, 1, 2, 4 és 6 órával azután vizsgáltuk, hogy az I képletű vegyületet a patkányoknak beadtuk.

Az I képletű vegyület szérumkoncentrációit egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után a 4. táblázat szemlélteti. Az I képletű vegyület gyorsan felszívódott, a koncentráció maximum 30 perccel az orális beadás után következtek be.

Az I képletű vegyület baktériumellenes hatékonyságát a szérumban nem csökkentette.

4. táblázat

Az I képletű vegyület szérumkoncentrációi egyetlen, 50 mg/kg orális dózis beadása után patkányokban

A beadás után eltelt idő	Koncentráció μg/ml
0,5	0,87 ± 0,11
1	0,77 ± 0,13
2	0,52 ± 0,10
4	0,23 ± 0,02
6	0,11 ± 0,01

5. kísérlet

Az I képletű vegyület koncentrációi a szérumban 30 perccel egyetlen orális dózis beadása után patkányokban

Az I képletű vegyület koncentrációit patkányszérumban 30 perccel egyetlen orális dózis beadása után az 5. táblázat szemlélteti. Az I képletű vegyület koncentrációit a szérumban a 4. kísérletnél leírt mikrobiológiai eljárással határoztuk meg.

Az I képletű vegyület baktériumellenes hatását a szérumban nem csökkentette. A vegyület szérumkoncentrációja a 25 mg/kg–400 mg/kg dózisoktól függött.

5. táblázat

Az I képletű vegyület koncentrációi a szérumban 30 perccel egyetlen orális dózis beadása után patkányokban

Dózis (mg/kg)	Koncentráció (μg/ml) középérték ± standard hiba
25	0,31 ± 0,04
50	0,87 ± 0,11
100	1,42 ± 0,23
200	2,23 ± 0,30
400	3,37 ± 0,35

6. kísérlet

Az I képletű vegyület szérumkoncentrációjának és kórokozó baktériumokra gyakorolt minimális gátlókoncentrációjának aránya 50 mg/kg orális dózis beadása után patkányokban

Az I képletű vegyület, nalidixsav és pipemidinsav patkányszérumban mért koncentrációjának és kórokozó baktériumokra gyakorolt minimális gátló

koncentrációjának (M.I.C.) az arányát az 1–3. ábrák szemléltetik.

Amint az 1–3. ábrákból látható, az I képletű vegyület gyorsan felszívódott, és a szérumszint koncentráció tizennyolcszorosa volt az *Escherichia coli*-ra gyakorolt minimális gátló koncentrációnak 30 perccel és kétszerese 6 órával az orális beadás után. Másrészt a nalidixsav és a pipemidinsav koncentrációarányai kisebbek voltak az I képletű vegyületénél, és a pipemidinsav szérumszintjei az orális beadást követően csak 2 óráig tartottak.

Az I képletű vegyület az említett baktériumok által okozott fertőzések ellen előreláthatóan hatásosabb, mint a nalidixsav és a pipemidinsav. Ezenkívül az I képletű vegyület előreláthatóan hatásosabb a *Pseudomonas aeruginosa* és a gram-pozitív baktériumok által okozott fertőzések ellen, mint a nalidixsav és a pipemidinsav.

7. kísérlet

Az I képletű vegyület koncentrációi szövetekben, egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után patkányokban

Az I képletű vegyület koncentrációit szövetekben a 4. kísérletnél leírt mikrobiológiai úton határoztuk meg, azzal az eltéréssel, hogy szérumban helyett szövethomogenizátumokat használtunk.

A szövethomogenizátumokat M/15 foszfátpufferrel (pH = 7,5) 1 : 4 arányban készítettük. A szabad koncentrációt az I képletű vegyület M/15 foszfátpufferben készített standard görbéjéből számítottuk ki. Az összes koncentrációt az I képletű vegyület szövethomogenizátumban készített standard görbéjéből számítottuk ki.

Az I képletű vegyület szövetkoncentrációit egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után a 6. és 7. táblázat szemlélteti.

Az I képletű vegyület baktériumellenes hatását máj- és vesehomogenizátum csökkentette.

6. táblázat

Az I képletű vegyület koncentrációja szövetekben egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után patkányokban

	Szabad koncentráció			Szövetszint (µg/g)	
	0,5	1	2	4	6 (óra)
máj	4,1 ± 0,9	3,7 ± 0,6	2,5 ± 0,5	1,2 ± 0,2	0,7 ± 0,1
vese	7,4 ± 1,4	6,8 ± 1,2	4,4 ± 0,6	1,9 ± 0,2	1,0 ± 0,1

középérték ± standard hiba

7. táblázat

	Összes koncentráció			Szövetszint (µg/g)	
	0,5	1	2	4	6 (óra)
máj	9,0 ± 1,9	7,9 ± 1,2	5,4 ± 1,0	2,6 ± 0,4	1,5 ± 0,2
vese	11,1 ± 2,1	10,3 ± 2,0	6,5 ± 0,9	3,5 ± 1,0	1,4 ± 0,1

8. kísérlet

¹⁴C-jelzett I képletű vegyület szövetszintjei patkányokban orális beadás után

Tanulmányoztuk az I képletű vegyület eloszlását patkányokban, egyetlen 50 mg ¹⁴C-jelzett I vegyület/kg orális dózist beadva.

Az I képletű vegyület szövetszintjeit 30 perccel a beadás után a 8. táblázat szemlélteti.

8. táblázat

A ¹⁴C-jelzett I képletű vegyület szövetszintjei patkányokban orális beadás után (50 mg ¹⁴C-vegyület (kg)

55

Szövet	30 perccel a beadás után
Vér	1,41 ± 0,44 µgEq/ml
Tüdő	1,91 ± 0,48 µgEq/g
Máj	11,09 ± 4,78 µgEq/g
Vese	11,42 ± 2,40 µgEq/g

65

Szövet	30 perccel a beadás után
Hólyag	15,10 ± 20,28 µgEq/g
Csont	0,73 ± 0,28 µgEq/g

adása után a 9. táblázat, a kumulált kiválasztást a 10. táblázat szemlélteti.

9. kísérlet

Epekiválasztás patkányokban az I képletű vegyület egyetlen 50 mg/kg orális dózisának beadása után

Az I képletű vegyület koncentrációját patkányok epéjében egyetlen 50 mg/kg orális dózis be-

5 Az I képletű vegyület, a nalidixsav és a pipemidinsav koncentrációit az epében a 4. kísérletnél leírt mikrobiológiai eljárással határoztuk meg.

10 Az I képletű vegyület epeszintjei és kumulált kiválasztása sokkal jobb volt, mint a nalidixsavé és a pipemidinsavé. Az I vegyület, a nalidixsav és a pipemidinsav baktériumellenes hatását a patkányok epéje nem befolyásolta.

9. táblázat

Az I képletű vegyület koncentrációi patkányok epéjében egyetlen 50 mg/kg orális dózis beadása után

A beadás után eltelt idő (óra)	Epeszint (µg/ml) Középérték ± standard hiba		
	I vegyület	Nalidixsav	Pipemidinsav
0–3	31,0 ± 3,5	14,7 ± 1,5	27,4 ± 2,6
3–6	26,4 ± 3,2	16,6 ± 2,4	22,6 ± 1,7
6–24	18,9 ± 1,6	9,3 ± 1,6	10,2 ± 1,2
24–27	6,7 ± 0,9	—x	—x

—x Nem mutatható ki (< 2 µg/ml)

10. táblázat

Az epekiválasztás patkányokban az I képletű vegyület egyetlen 50 mg/kg orális dózisának beadása után

A beadás után eltelt idő (óra)	Kumulált kiválasztás (%)		Középérték ± standard hiba
	I vegyület	Nalidixsav	
0–3	0,60 ± 0,06	0,29 ± 0,03	0,60 ± 0,07
0–6	1,02 ± 0,11	0,56 ± 0,05	1,01 ± 0,10
0–24	2,43 ± 0,23	1,33 ± 0,10	1,97 ± 0,09
0–27	2,50 ± 0,23	1,33 ± 0,10	1,97 ± 0,09

10. kísérlet

Az I képletű vegyület koncentrációi patkányok és egerek vizeletében egyetlen orális, dózis beadása után

60 táblázat szerint feltüntetett koncentrációit a 4. kísérletnél ismertetett mikrobiológiai eljárással határoztuk meg. A vegyület gyorsan bekerült a vizeletbe, a koncentrációmaximumokat 0–6 óra alatt észleltük.

Az I képletű vegyületnek a vizeletben a 11. 65

11. táblázat

Az I képletű vegyület koncentrációi patkányok és egerek vizeletében egyetlen orális dózis beadása után

Dózis	A beadás után eltelt idő (óra)	Vizeletszint ($\mu\text{g/ml}$) Patkány	Középérték $\pm$ standard hiba Egér
1,56	0–3	$1,36 \pm 0,14$	$0,53 \pm 0,06$
	3–6	$0,93 \pm 0,14$	$0,22 \pm 0,04$
	6–24	$0,17 \pm 0,05$	$0,04 \pm 0,03$
	24–27	$0,04 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$
3,13	0–3	$3,39 \pm 0,55$	$1,76 \pm 0,19$
	3–6	$3,78 \pm 0,44$	$1,46 \pm 0,23$
	6–24	$0,58 \pm 0,09$	$0,27 \pm 0,04$
	24–27	$0,03 \pm 0$	$0,14 \pm 0,01$
6,25	0–3	$9,69 \pm 2,30$	$3,70 \pm 0,26$
	3–6	$8,08 \pm 1,50$	$2,04 \pm 0,13$
	6–24	$1,36 \pm 0,20$	$3,01 \pm 0,17$
	24–27	$0,04 \pm 0$	$0,38 \pm 0,05$
12,5	0–3	$21,9 \pm 3,6$	$10,3 \pm 0,9$
	3–6	$16,8 \pm 1,6$	$8,3 \pm 0,7$
	6–24	$4,0 \pm 0,5$	$7,4 \pm 0,8$
	24–27	$0,06 \pm 0,02$	$1,2 \pm 0,1$
25,0	0–3	$56,8 \pm 11,1$	$16,2 \pm 3,3$
	3–6	$46,4 \pm 3,8$	$20,3 \pm 1,7$
	6–24	$13,5 \pm 3,0$	$11,7 \pm 0,9$
	24–27	$1,2 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,2$
50,0	0–3	$89,3 \pm 19,5$	$33,1 \pm 2,8$
	3–6	$99,2 \pm 15,9$	$27,2 \pm 3,2$
	6–24	$32,2 \pm 0,1$	$23,1 \pm 2,0$
	24–27	$3,1 \pm 0,9$	$7,7 \pm 1,1$

40

11. kísérlet

Akut toxicitás

Az I képletű vegyület akut toxicitását egerekben (ddY törzs, 7 hetesek) és patkányokban (Wistar törzs, testsúlyuk 180–230 g) vizsgáltuk. A megfigyelési idő 10 nap volt, egyetlen orális, szubkután, illetve intravénás dózis után. Az LD_{50} értéket a Litchfield–Wilcoxon eljárással határoztuk meg. Az eredményeket a 12. táblázat szemlélteti.

12. táblázat

Az I képletű vegyület LD_{50} értékei

55

12. táblázat folytatása

Állat	A beadás módja	Az állat neme	LD_{50} mg/kg 95%-os megbízhatósági határ
Patkány orális	szubkután	hím	$> 1,500$
		nőstény	$> 1,500$
	intravénás	hím	210 (194–227)
		nőstény	211 (207–236)
Egér	orális	hím	$> 4,000$
		nőstény	$> 4,000$
	szubkután	hím	$> 1,500$
		nőstény	$> 1,500$
	intravénás	hím	305 (288–323)

Állat	A beadás módja	Az állat neme	LD_{50} mg/kg 95%-os megbízhatósági határ
Egér	orális	hím	$> 4,000$
		nőstény	$> 4,000$

65

12. kísérlet

A szubakut toxicitás tanulmányozása

Az I képletű vegyület szubakut toxicitását patkányokban tanulmányoztuk, 1 hónapon át 250, 500 és 1000 mg/kg-ot orálisan beadva. Az eredmények szerint a kísérleti vegyület nem volt hatással az általános tünetekre, a táplálék- és vízfogyasztásra; a testsúlyra, a hematológiai analízisre, a hematobio-kémiai analízisre, a myelocyták differenciális számára, a máj és a vese biokémiai vizsgálatára, a vizeletvizsgálatra, a szervek súlyára, a szabad szemmel látható észlelésekre és a kórszövettani leletekre.

13. kísérlet

A kromoszómákra gyakorolt hatás

Az I képletű vegyület hatását a myelociták kromoszómáira úgy vizsgáltuk, hogy orálisan beadunk 250 és 500 mg/kg-ot kínai hörcsögnek egyszer és 1000 mg/kg-ot patkánynak 1 hónapon át.

Az eredmények szerint a két állatfajban a kísérleti vegyület nem gyakorolt hatást a myelociták kromoszómáira.

14. kísérlet

Teratogén hatás tanulmányozása

Az I képletű vegyület teratogén hatását egerekben vizsgáltuk, orálisan 500 és 1000 mg/kg-ot be-

adva a szövetek differenciálódásának és a szervek kialakulásának időszakában.

Az eredmények szerint az I képletű vegyületben teratogén hatású anyag nem volt kimutatható.

Szabadalmi igénypontok:

1. Eljárás az I képletű új kinolin-karbonsav, továbbá e vegyület hidrátjai és savaddíciós sói előállítására, azzal jellemezve, hogy a II képletű vegyületet piperazinnal reagáltatjuk, és az így kapott karbonsavat vagy hidrátját kívánt esetben savaddíciós sóvá alakítjuk.

15

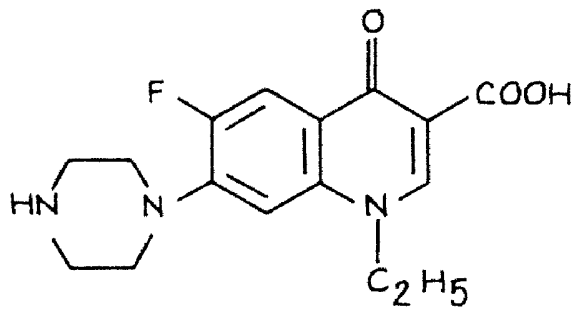
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav előállítására, azzal jellemezve, hogy a II képletű kiindulási anyagot piperazinnal reagáltatjuk, majd vákuumban melegítve szárítjuk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav-pentahidrát előállítására, azzal jellemezve, hogy a II képletű kiindulási anyagot piperazinnal reagáltatjuk.

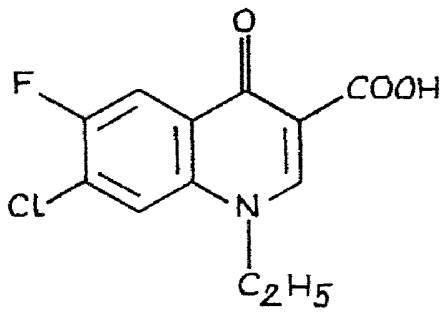
4. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja 1-etil-6-fluor-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-kinolin-3-karbonsav-hidroklorid előállítására, azzal jellemezve, hogy a II képletű kiindulási anyagot piperazinnal reagáltatjuk, majd sósavval.

1 lap képletekkel, 3 ábra

4/1

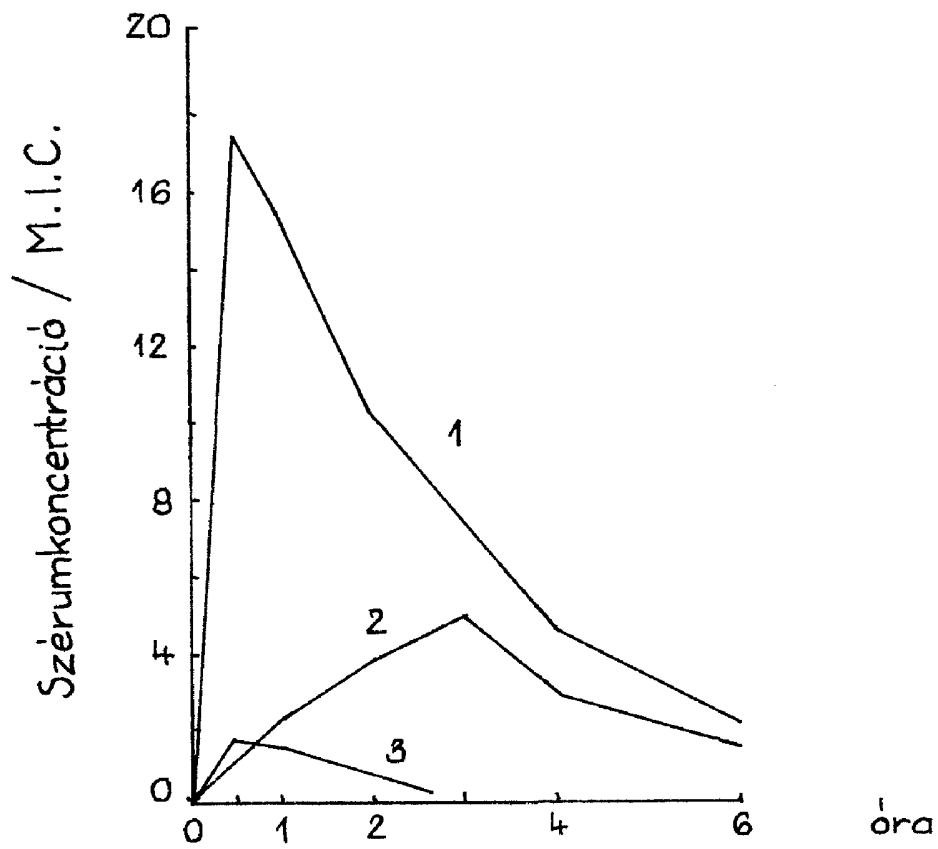


I

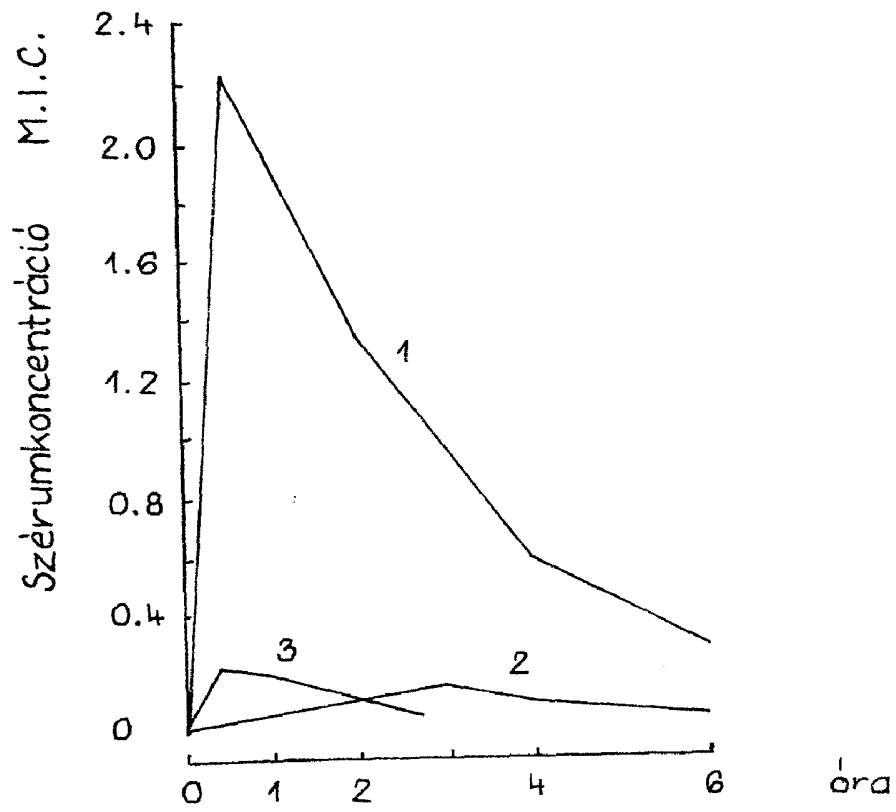


II

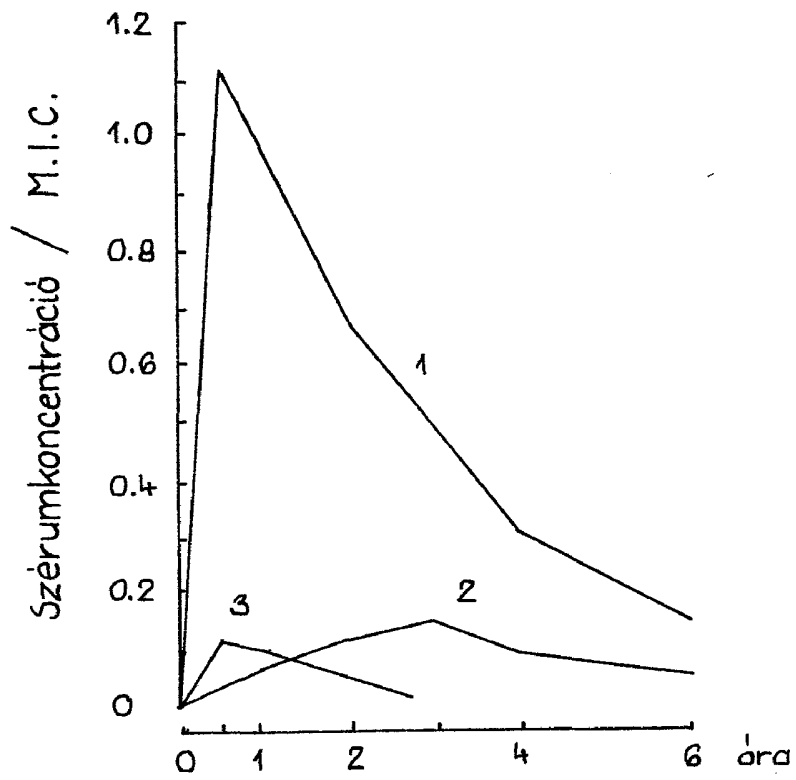
4/2



1. ábra



2. ábra



3. ábra