

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97130090

※ 申請日期：2008 年 8 月 7 日

※IPC 分類：

## 一、發明名稱：(中文/英文)

抗菌劑的腸胃外製劑

ANTIMICROBIAL PARENTERAL FORMULATION

A61K 31/47 (2006.01)

A61K 31/4729 (2006.01)

## 二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

太景生物科技股份有限公司

TaiGen Biotechnology Co., Ltd.

代表人：(中文/英文)

許明珠

HSU, MING CHU

住居所或營業所地址：(中文/英文)

台北市內湖區新明路 138 號 7 樓

7F, 138 Shin Ming Rd., Neihu Dist., Taipei, Taiwan 114, R.O.C.

國 籍：(中文/英文)

美國/USA

A61P 21/233 (2006.01)

A61P 21/04 (2006.01)

## 三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 李麗惠/LEE, LIH-HUEI

2. 吳柏義/WU, PO-YI

3. 孫爾寬/SUN, ERKUAN

4. 金其新/KING, CHI-HSIN RICHARD

國 籍：(中文/英文)

1. 中華民國/R.O.C.
2. 中華民國/R.O.C.
3. 中國/CHINA
4. 美國/U.S.A.

#### 四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項  第一款或  第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國；2007年8月9日；11/836,241

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

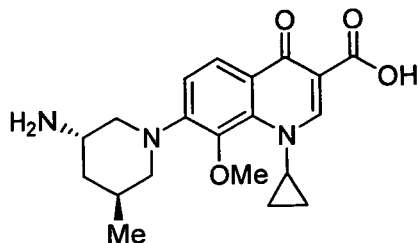
不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

## 五、中文發明摘要：

本發明涉及一種含有有效量的下式 I 化合物、水和等張劑的腸胃配方：

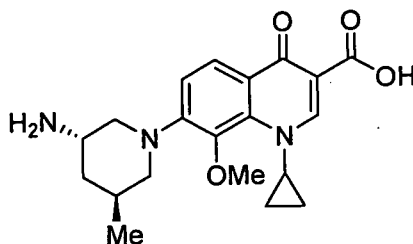
式 I



本發明還公開一種通過腸胃外注射或輸液給予個體該配方來治療感染性疾病的方法。

## 六、英文發明摘要：

This invention relates to a parenteral formulation containing an effective amount of the compound of the following formula I:



Formula I

water, and an isotonic agent. Also disclosed is a method of treating an infectious disease by administering this formulation to a subject via parenteral injection or infusion.

### 七、指定代表圖：

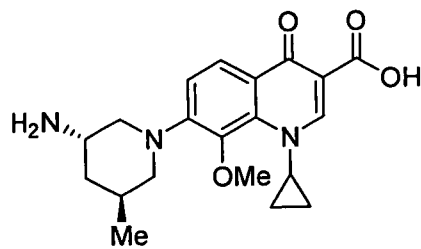
(一)、本案指定代表圖為：第( )圖。

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無代表圖

### 八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

式 I



## 九、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明涉及安全、藥學上可接受的和易於靜脈給予的(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-喹啉羧酸的配方、其藥物組合物及其用途。

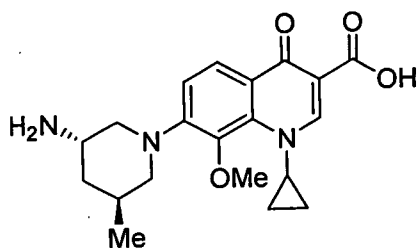
### 【先前技術】

抗菌藥物的腸胃外注射是治療各種感染、尤其是甲氧苯青黴素抗性金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和多抗性肺炎鏈球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 引起的感染的最有效方法之一。它需要使用穩定的水性配方。

### 【發明內容】

一方面，本發明提供一種抗菌劑腸胃配方（如靜脈配方），該配方含有下式 I 所示化合物、

式 I



水、和等張劑。該化合物和水溶解在水中，形成腸胃配方。

該化合物包括其鹽和前藥。該鹽可以是例如該化合物上帶正電的氨基和與陰離子之間形成的鹽。合適的陰離子包括但不限於氯離子、溴離子、碘離子、硫酸根、硝酸根、磷酸根、D,L-蘋果酸根、D-蘋果酸根、L-蘋果酸根、檸檬酸根、

甲苯磺酸根、D,L-酒石酸根、D-酒石酸根、L-酒石酸根、延胡索酸根、三氟醋酸根、L-谷氨酸根、D-葡萄糖醛酸根、馬來酸根、甲苯磺酸根、乳酸根、檸檬酸根和醋酸根。合適的陽離子包括但不限於鈉離子、鉀離子、鎂離子、鈣離子、和銨陽離子如四甲基銨離子。前藥的例子包括給予個體之後能夠提供上述化合物的酯或藥學上可接受的衍生物 (Goodman 和 Gilman's, *The Pharmacological basis of Therapeutics*, 第 8 版, McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, "Biotransformation of Drugs")。此外, 具有不對稱中心的該化合物可以外消旋物、外消旋混合物、單一的對映異構體、單獨的非對映異構體以及非對映異構體混合物的形式出現。

等張劑, 如非電解質和電解質, 調節著滲透壓比。見 US 6015810。例子包括但不限於甘油、乳糖、甘露醇、葡萄糖、氯化鈉、硫酸鈉和山梨糖醇。

在本發明的配方中, 化合物的濃度可以是 0.2 到 45mM, 等張劑的濃度可以是 0.2% 到 13% w/v, 尤其可以是 0.2% - 1.3 w/v。

等張劑的濃度 (w/v) 計算為等張劑的重量 (g) 與配方體積 (升) 之間的比值。

本發明的配方還可含有緩衝劑、穩定劑或抗氧化劑。

本發明配方的一個例子是含有濃度為 0.2-45mM 的該化合物的蘋果酸鹽、濃度為 0.9% w/v 的氯化鈉、濃度為 0.1-1.0% w/v 的穩定劑和濃度為 0.01-5% w/v 的緩衝劑的配方。在另一例子中, 該配方含有 0.2-45mM 的該化合物的蘋

果酸鹽、濃度為 1—7% w/v 的葡萄糖、濃度為 0.1-1.0% w/v 的穩定劑和濃度為 0.01-5% w/v 的緩衝劑。

與等張劑濃度的計算方式相同，穩定劑、緩衝劑和抗氧化劑的濃度也是配方的重量與配方的體積之比。

另一方面，本發明提供一種經由腸胃道以外方式注射有效量的上述配方至一個體的方式來治療感染疾病的方法。該感染疾病可由感染革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌、厭氧菌、甲氧苯青黴素抗性金黃色葡萄球菌和多抗性肺炎鏈球菌引起。該感染疾病的例子包括但不限於尿道感染、前列腺炎、呼吸道感染、骨髓炎、淋病、結核桿菌感染、鳥型結核分枝桿菌綜合症、慢性支氣管炎的急性惡化、肺炎、竇炎、傳染性腹瀉、幽門螺桿菌感染、皮膚感染、婦科感染、和腹部感染。

本發明還包括使用上述配方經腸胃道以外途徑注射治療感染疾病。

下文將詳細描述本發明的一個或多個實施例。在說明書以及請求項書的基礎上，本發明的其他特徵、目標和優點將更明顯。

### 【實施方式】

用於實施本發明的化合物可採用常規的方法合成。具體可見下文實施例 1。

由此合成的化合物可採用快速管柱色層分析、高效液相色層分析、結晶或任何其他合適的方法進一步純化。

為了製備本發明的腸胃外配方，技術人員可以任何順序和所需的比例混合式 I 化合物、等張劑和水。例如，可將預定量的該化合物與預定濃度的生理鹽水（含有氯化鈉和等張劑的溶液）混合。可通過搖動、攪拌或渦流等方式進行混合，並且控制混合以使固體成分溶解到水中而不形成嚴重的泡沫。在製備的任何階段，可進行消毒處理（如高壓滅菌）。

本發明的配方還可含有一種或多種添加劑，如緩衝劑、穩定劑和抗氧化劑。緩衝劑的例子包括但不限於乙酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、乳酸鹽、琥珀酸鹽、蘋果酸鹽、和磷酸鹽。穩定劑的例子包括但不限於組氨酸、賴氨酸、甘氨酸、蔗糖、果糖、海藻糖以及它們的混合物。抗氧化劑的例子包括但不限於亞硫酸氫鈉、丁基化羥基苯甲醚、半胱氨酸、龍膽酸、谷氨酸單鈉、巯基乙醇酸鈉或抗壞血酸。

可在製備的任何階段加入添加劑。可採用常規的方法測定配方中添加劑的合適濃度，以產生本領域技術人員所認可的所需效果。

本發明的配方在製備後可立即使用，也可保存備用。立即使用的話，可提供一藥盒，該藥盒包括含有式 I 化合物的小瓶和含有等張劑或含有等張劑的水性溶液的另一小瓶。或者，可提供包括含有式 I 化合物的小瓶和含有等張劑的水溶液（如生理鹽水）的另一小瓶的藥盒。藥盒還可包括一種或多種添加劑，如穩定劑、緩衝劑或抗氧化劑。在給予前，可即時將藥物中提供的物質混合來製備該配方。

可通過腸胃道以外注射或輸液 (infusion) 給予需要治療

的個體有效量的本發明的配方來治感染性疾病。

術語“治療(treating or treatment)”在本文中定義為將有效量的配方給予患有感染性疾病、有感染症狀、由該感染引發的繼發性疾病或病症、或者對該感染易感的個體，以治癒、減緩、緩解、矯正或改善該感染性疾病、感染症狀、由該感染引發的繼發性疾病或病症、或者對該感染的易感性。

術語“有效量”指配方的量能夠對治療個體產生治療效果。

術語“腸胃外(parenteral)”在本文中包括皮下、皮內、靜脈內、肌肉內、關節內、動脈內、滑膜內、胸骨內、鞘內、損害內(intralesional)和顱內注射或輸液技術。其中，優選靜脈內注射或輸液。

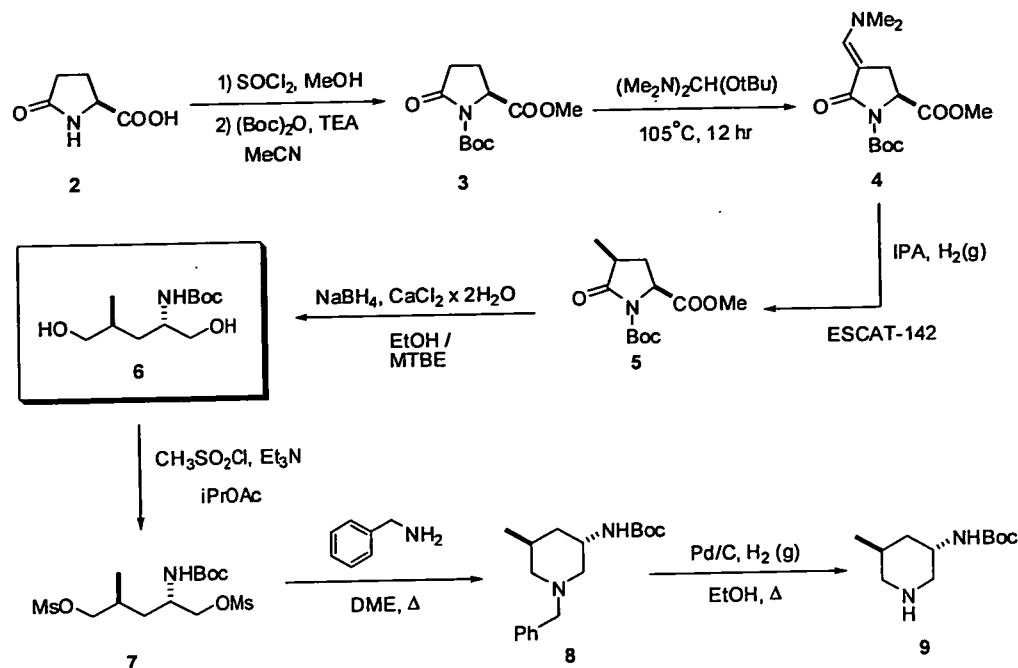
勿需贅述，可以認為根據上述描述已足以實施本發明。因此，以下實施例僅僅是闡述性的，而不是以任何方式對本發明剩餘的公開內容做出限制。本文引用的所有出版物都被全文納入作為參考。

#### 實施例 1

以如下方式合成(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(化合物 1)：

(A) 合成(3S,5S)-(5-甲基-吡啶-3-基)-氨基甲酸叔丁酯(化合物 9)：

## 方案 1



將化合物 2 (5.50kg, 42.60 mol)、甲醇 (27L) 裝入一 50 升的反應器中，並且冷至 10°C 至 15°C。在 65 分鐘的時間段內通過滴加漏斗加入亞硫酰氯 (10.11kg, 2.0 當量)，同時外部冷卻以維持溫度低於 30°C。在 25°C 攪拌所得溶液 1.0 小時，在這之後減壓下蒸去甲醇。將所得油狀殘留物與乙酸乙酯 (3 x 2.5L) 共沸以除去殘留的甲醇。將殘留物溶解於乙酸乙酯 (27.4L)，裝進 50L 的反應器中，並且在低 30°C 的溫度下緩慢加入三乙基胺 (3.6kg) 中和。過濾所得的懸浮液，除去三乙基胺鹽酸鹽。

將濾液連同 DMAP (0.53kg) 一起裝入 50L 的反應器。在 20°C 至 30°C 的溫度在 30 分鐘的時間內通過熱水加热的加料漏斗加入二碳酸二-叔丁酯 (8.43kg)。1 小時後用

TLC 分析檢測，反應完全。用冰冷的 1N HCl (2 x 7.5L)、飽和碳酸氫鈉溶液 (1 x 7.5L) 洗滌有機相，並且用硫酸鎂乾燥，過濾。減壓下除去乙酸乙酯後獲得結晶漿，將其與 MTBE (10.0L) 一起搗碎並且過濾以得到化合物 3 白色固體 (5.45kg, 52.4%)。

分析： $C_{11}H_{17}NO_5$  的計算值：C, 54.3；H, 7.04；N, 5.76。檢測值：C, 54.5；H, 6.96；N, 5.80。HRMS (ESI<sup>+</sup>) 對於期望的  $C_{11}H_{18}NO_5$ , [M+H] 244.1185。檢測值 244.1174；<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):  $\delta$ =4.54 (dd, J = 3.1, 9.5 Hz, 1H), 3.7 (s, 3H), 2.58-2.50 (m, 1H), 2.41 (ddd, 1H, J = 17.6, 9.5, 3.7), 2.30-2.23 (m, 1H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.40 (s, 9H)；<sup>13</sup>CNMR (CDCl<sub>3</sub>, 125.70 MHz)  $\delta$  173.3, 171.9, 149.2, 83.5, 58.8, 52.5, 31.1, 27.9, 21.5；Mp 70.2°C。

將化合物 3 (7.25kg, 28.8mol)、DME (6.31kg) 和 Brederick 配方 (7.7kg, 44.2mole) 裝入一 50 升反應器中。攪拌溶液並且加熱至 75°C  $\pm$  5°C 至少三小時。在一小時的時間內將反應物冷至 0°C，在此期間形成沈澱。將該混合物維持在 0°C 一小時，過濾，並且將產品在真空乾燥箱中在 30°C  $\pm$  5°C 乾燥至少 30 小時以得到化合物 4 白色結晶固體 (6.93kg, 77.9%)。

分析： $C_{14}H_{22}N_2O_5$  的計算值：C, 56.4；H, 7.43；N, 9.39。檢測值 C, 56.4；H, 7.32；N, 9.48；HRMS (ESI<sup>+</sup>) 對於期望的  $C_{14}H_{22}N_2O_5$ , [M+H] 299.1607。檢測值 299.1613；<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>, 499.8 MHz)  $\delta$  = 7.11 (s, 1H),

4.54 (dd, 1H,  $J = 10.8, 3.6$ ), 3.74 (s, 3H), 3.28-3.19 (m, 1H), 3.00 (s, 6H), 2.97-2.85 (m, 1H), 1.48 (s, 9H);  $^{13}\text{C}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125.7 MHz)  $\delta = 172.6, 169.5, 150.5, 146.5, 90.8, 82.2, 56.0, 52.3, 42.0, 28.1, 26.3$ . Mp 127.9 °C.

將 ESCAT 142 (獲自 Engelhard 公司, N.J, 美國) 5% 鈀碳粉末 (50% 浸潤, 0.58kg 浸潤重量)、化合物 4 (1.89kg, 6.33mol) 以及異丙醇 (22.4kg) 加到一 10 加侖 Pfaudler 反應器中。在 45 °C 45psi 氫氣下攪拌反應混合物 18 小時後, 將反應混合物冷至室溫, 並通過矽藻土 (Celite) (0.51kg) 層過濾。減壓下蒸發濾液, 得到粘稠油狀物, 靜置固化得到化合物 5 (1.69kg, 100%), 其為 93:7 非對映異構體混合物。

通過製備型 HPLC 純化產品混合物樣品以給出用於分析資料的材料。分析:  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_5$  的計算值: C, 56.0; H, 7.44; N, 5.44。檢測值 C, 55.8; H, 7.31; N, 5.44; MS ( $\text{ESI}^+$ ) 對於期望的  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ ,  $[\text{M}+\text{H}]$  258.1342。檢測值 258.1321;  $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 499.8 MHz)  $\delta = 4.44$  (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.60-2.48 (m, 2H), 1.59-1.54 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.20 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125.7 MHz)  $\delta = 175.7, 172.1, 149.5, 83.6, 57.4, 52.5, 37.5, 29.8, 27.9, 16.2$ 。Mp 89.9 °C。

將化合物 5 (3.02kg, 11.7mol)、無水乙醇 (8.22kg) 和 MTBE (14.81kg) 裝入一 50 升反應器中。在 0 °C  $\pm$  5 °C 以小份加入硼氫化鈉 (1.36kg, 35.9 mol)。觀察到少量冒泡。將反

應混合物升溫至  $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ，並且在該溫度下在一小時的時間內以小份加入氯化鈣二水合物 (2.65kg)。在一小時的時間內使反應升溫至  $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ，並且在  $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  再攪拌 12 小時。將反應冷卻至  $-5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ，在  $0^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  緩慢加入冰冷的 2N HCl (26.9kg)。停止攪拌。移去下層水相。在五分鐘時間內將飽和碳酸氫鈉水溶液 (15.6kg) 裝入反應器，同時攪拌。再次停止攪拌，移去下層水相。將硫酸鎂 (2.5kg) 裝入反應器並且攪拌至少 10 分鐘。通過 nutsche 篩檢程式過濾混合物，並且在減壓下濃縮以得到化合物 6 (1.80kg, 66%)。

分析： $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_4$  的計算值：C, 56.6 H, 9.94；N, 6.00。檢測值 C, 56.0；H, 9.68；N, 5.96；HRMS (ESI<sup>+</sup>) 對於期望的  $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{NO}_4$ , [M+H] 234.1705。檢測值 234.1703；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  = 6.34 (d, J = 8.9 Hz, 1H, NH), 4.51 (t, J = 5.8, 5.3 Hz, 1H, NHCHCH<sub>2</sub>OH), 4.34 (t, J = 5.3, 5.3 Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>OH), 3.46-3.45, (m, 1H, NHCH), 3.28 (dd, J = 10.6, 5.3 Hz, NHCHCHHOH), 3.21 (dd, J = 10.2, 5.8 Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CHCHHOH), 3.16 (dd, J = 10.2, 6.2 Hz, 1H, NHCHCHHOH), 3.12 (dd, J = 10.6, 7.1 Hz, 1H, CH<sub>3</sub>CHCHHOH), 1.53-1.50 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCHHOH), 1.35 (s, 9H, O(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.30 (ddd, J = 13.9, 10.2, 3.7 Hz, 1H, NHCHCHHCH), 1.14 (ddd, J = 13.6, 10.2, 3.4 Hz, 1H, NHCHCHHCH), 0.80 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)；<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125.7 MHz)  $\delta$  156.1, 77.9, 50.8, 65.1, 67.6, 65.1, 35.6, 32.8, 29.0, 17.1。Mp  $92.1^{\circ}\text{C}$ 。

將化合物 6(5.1kg) 的乙酸異丙酯(11.8kg) 溶液加入一 50 升反應器。將反應冷卻至  $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ，並在該溫度下加入三乙基胺(7.8kg)。將反應進一步冷卻至  $0^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ，向反應液加入甲磺酰氯 (MsCl) (6.6kg)。將反應攪拌數小時並且用 HPLC 或 TLC 監控反應完成。通過加入飽和的碳酸氫鹽水溶液結束該反應。分離有機相，並且用冷的 10% 三乙基胺水溶液，冷的 HCl 水溶液，冷的飽和碳酸氫鹽水溶液，和最後飽和食鹽水溶液接連洗滌分離所得的有機相。將有機相乾燥，過濾，並且在低於  $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  真空濃縮，以提供化合物 7 的固體/液體漿。該漿體直接用於隨後的反應不用進一步純化。

將 9.1kg 的純苄胺裝入一 50 升反應器後，將反應器升至  $55^{\circ}\text{C}$ ，在此溫度下向反應器加入化合物 7(8.2kg) 的 1,2-二甲氧基乙烷(14.1kg) 溶液。在將該溶液加入完成之後，在  $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  攪拌該反應物數小時並且用 TLC 或 HPLC 監控完成。將反應冷至環境溫度並且真空除去溶劑。將殘留物用 11.7kg 的 15% (體積/體積) 乙酸乙酯/己烷溶液稀釋，並且在攪拌的同時用 18.7kg 的 20% (重量) 碳酸鉀水溶液處理。靜置後得到三相混合物。收集上層有機相。用 11.7kg 量的 15% (體積/體積) 乙酸乙酯/己烷溶液萃取分離出的中間相兩次。在真空下濃縮合併的有機層，得到油狀殘留物。然後通過色譜純化殘留物，得到化合物 8，為油。

在氮氣流下將 0.6kg 50% 浸潤的固體鈰碳 (E101, 10 重量%) 裝入一 40 升壓力容器。然後在氮氣下將 3.2kg 化

合物 8 的無水乙醇 (13.7kg) 溶液裝入反應器。用氮氣淨化反應器，然後以 45psi 壓入氫氣。然後將反應物加熱至 45 °C。用 TLC 或 LC 監控反應。反應完成後，將反應物冷至環境溫度，放空，並且通以氮氣。通過矽藻土層過濾混合物，並且用 2.8kg 無水乙醇洗滌該固體。通過真空下濃縮濾液，得到蠟狀固體混合物 9：

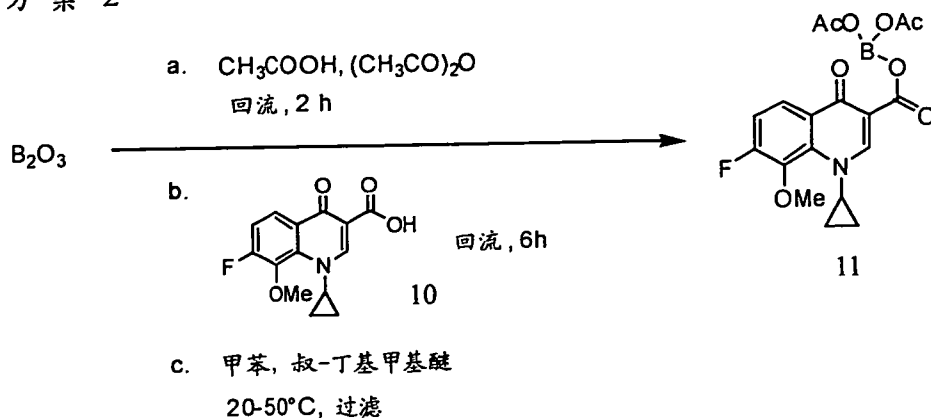
TLC  $R_f$  (矽膠 F<sub>254</sub>, 70:30 體積/體積 乙酸乙酯-己烷, KMnO<sub>4</sub> 顯色) = 0.12; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 5.31 (br s, 1H), 3.80-3.68 (m, 1H), 2.92 (d, J=11.4 Hz, 1H), 2.77 (AB quart, J<sub>AB</sub>=12.0 Hz,  $\nu$ =50.2 Hz, 2H), 2.19 (t, J=10.7 Hz, 1H), 1.82-1.68 (m, 2H), 1.54 (br s, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.25-1.15 (m, 1H), 0.83 (d, J=6.6 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 155.3, 78.9, 54.3, 50.8, 45.3, 37.9, 28.4, 27.1, 19.2; MS (ESI+) m/z 215 (M+H), 429 (2M+H)。

(B) 合成 1-環丙基-7-氟-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫-喹啉-3-羧酸 (化合物 10)：

根據美國專利 US6329391 所述的方法製備化合物 10。

(C) 合成 1-環丙基-7-氟-8-甲氧基-4-氧代-1,4-二氫喹啉-3-羧酸硼酯螯合物 (化合物 11)：

## 方案 2



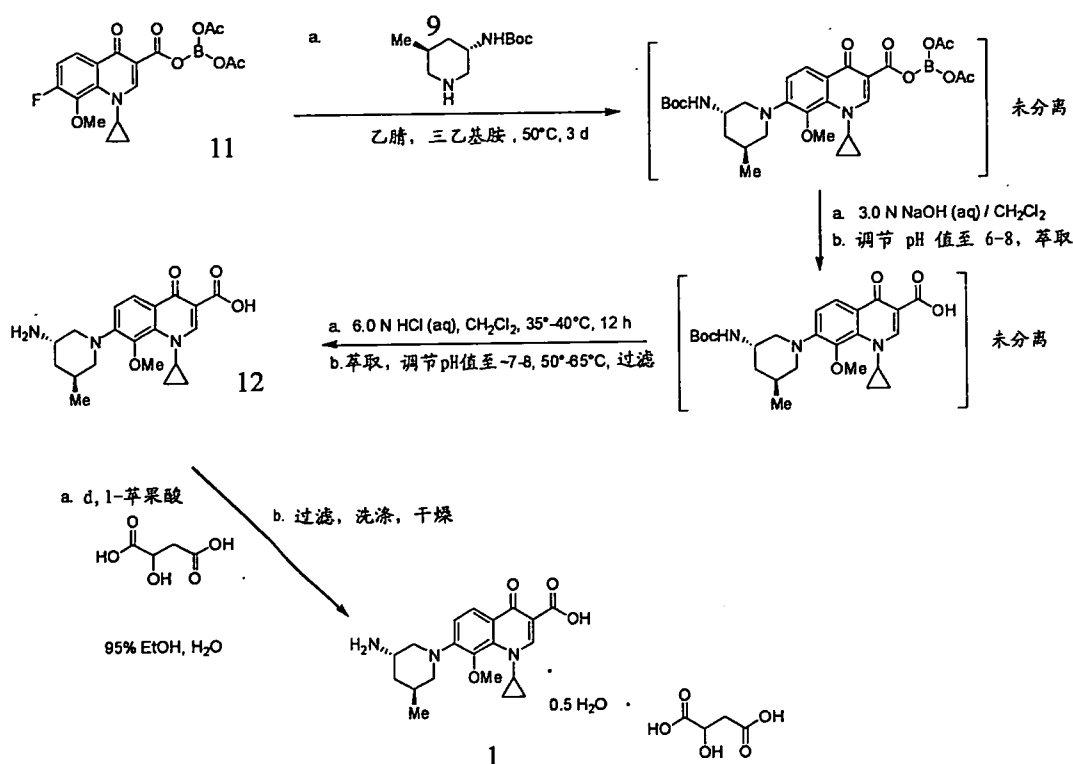
將氧化硼 (2.0kg, 29 mol)、冰醋酸 (8.1L, 142mol)和乙酸酐 (16.2L, 171mol)裝入反應器，隨後用稀釋。將所得混合物回流至少 2 小時，然後冷卻至 40°C，在該溫度加入 7-氟喹諾酮羧酸化合物 10(14.2kg, 51mol)。將混合物回流至少 6 小時，然後冷卻至約 90°C。將甲苯 (45L) 加至反應中。在 50°C 加入叔-丁基甲基醚 (19L)以促使產品沈澱。然後將混合物冷卻至 20°C，過濾分離出沈澱物。然後在 40°C 真空爐 (50 托) 中乾燥之前用叔-丁基甲基醚 (26L) 洗滌分離出的固體，得到化合物 11，收率為 86.4%。

Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ): 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。NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) (ppm): 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)。TLC (Whatman

MKC18F 矽膠, 60Å, 200 μm), 流動相: 1:1 (體積/體積) CH<sub>3</sub>CN : 0.5N NaCl (aq), UV (254/366nm) 顯示; R<sub>f</sub>=0.4-0.5。

(D) 合成 (3S,5S)-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(化合物 1):

方案 3



將化合物 11(4.4kg, 10.9mol)、化合物 9 (2.1kg, 9.8mol)、三乙基胺 (TEA)(2.1L, 14.8mol)和乙腈 (33.5L, 15.7L/kg)裝入反應器。將所得混合物在約 50°C 攪拌直至用 HPLC 或反相 TLC 監控到反應已結束。將反應冷卻至約 35°C, 並且通過在 0 至 400 托 (torr) 之間的真空下蒸發乙腈以使反應體積

減少至約一半。然後將 28.2kg 的 3.0N NaOH (aq) 溶液裝入反應器，並且溫度升至約 40°C。真空下蒸餾直至再沒觀察到餾出液，室溫下水解。用 HPLC 或反相 TLC 監控該水解反應完成後，加入 4 至 5kg 的冰醋酸中和反應混合物。

使用 12.7kg (9.6L) 的二氯甲烷萃取所得溶液兩次。合併有機層，將其轉移到另一反應器中。在 40°C 蒸餾將反應體積減至約一半。然後加入 20.2kg 6.0N HCl (aq) 溶液，在 35°C 攪拌反應混合物至少 12 小時。用 HPLC 或反相 TLC 監控該反應。當完成時，停止攪拌，使相分離。移去下層有機相用 12.7kg (9.6L) 提取水層用 18.3kg 蒸餾水水層，並且將溫度升至約 50°C。真空下 (100-400 托) 進行蒸餾以進一步除去二氯甲烷。

在 65°C 的溫度以下用約 9.42kg 的 3.0N NaOH (aq) 溶液將該水溶液的 pH 值調節到 7.8 和 8.1 之間。在 50°C 攪拌反應混合物至少 1 小時，然後冷卻至室溫。通過抽濾分離出固體，用 5.2kg 的蒸餾水洗滌兩次。通過抽吸 (suction) 將該固體乾燥至少 12 小時，然後在 55°C 的對流烘箱中另外乾燥 12 小時。獲得固體化合物 12 (3.2kg, 79%)。

將 3.2kg 的化合物 12 和 25.6kg 的 95% 乙醇裝入反應器中。然後向反應器加入 1.1kg 的固體 D,L-蘋果酸 (24)。並且將混合物加熱至回流溫度 (~80°C)。加入蒸餾水 (~5.7L) 來溶解沈澱物，並且加入 0.2kg 的活性炭。將反應混合物通過一篩檢程式。將澄清的濾液冷至 45°C，並且保存至少 2

小時的時間以使得出現結晶。將反應混合物進一步冷至 5°C 後，用抽濾分離出沈澱物，然後用 6.6kg 的 95% 乙醇洗滌，抽吸乾燥至少 4 小時。然後在 45°C 的對流烘箱內進一步乾燥該固體至少 12 小時，得到 3.1kg 的化合物 1(得率：70%)。

NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz) (ppm) : 8.54 (s, 1H), 7.37 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.05 (d, J=9.0 Hz, 1H), 4.23-4.18 (m, 1H), 4.10-3.89 (m, 1H), 3.66 (br s, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.45 (d, J=9.0 Hz, 1H), 3.34 (d, J=9.3 Hz, 1H), 3.16 (d, J=12.9 Hz, 1H), 2.65 (dd, J=16.1, 4.1 Hz, 1H), 2.64-2.53 (m, 1H), 2.46 (dd, J=16.1, 8.0 Hz, 1H), 2.06 (br s, 1H), 1.87 (d, J=14.4 Hz, 1H), 1.58-1.45 (m, 1H), 1.15-0.95 (m, 2H), 0.91 (d, J=6.3 Hz, 3H), 0.85-0.78 (m, 2H)。將化合物 1 溶解在乙腈/水/蟻酸 (12 : 88 : 0.2) 中。用梯度反相 HPLC 分析所得溶液，在 292nm 進行 UV 檢測。用梯度洗脫液 (見下表) 實現分離，其中移動相含有乙腈、水和蟻酸，在 C8 柱上 (Waters Symmetry Shield RP 8, 5 μm, 4.6 x 150 mm)，流速為 1.5mL/分鐘，30°C。移動相不同時間的組成顯示在下表中：

時間 分鐘)	移動相 A (0.2%蟻酸的水溶液), %	移動相 B (0.2%蟻酸的乙腈溶液), %
0	88	12
9	88	12
22	30	70
22.5	30	70
22.6	88	12
30	88	12

### 實施例 2

製備和研究葡萄糖配方和氯化鈉配方。

#### 1. 5% 葡萄糖溶液配方

將化合物溶解在 5% 葡萄糖無菌水溶液中 (5mg/mL)。

過濾該溶液，裝到 100mL 聚丙烯瓶中。蓋上該瓶，密封，110°C 滅菌 35 分鐘。60°C 烘箱中保存該瓶，在第 0、5 和 10 天分析該溶液。下表中的結果顯示，對於化合物 1 的 5% 葡萄糖溶液，活性成分的含量下降、pH 增加、顏色變化和形成褐色沈澱物。

在 60°C 保存的天數	0 天		5	10
	滅菌前	滅菌後		
pH	3.89	3.88	4.03	4.08
外觀	澄清的黃色溶液	澄清的黃色溶液	暗黃色溶液	褐色沈澱
式 I 化合物相對含量 (%)	100.4	97.8	96.0	94.2

#### 2. 0.9% 生理鹽水溶液配方

將化合物 I 溶解在 0.9% 生理鹽水中 (5mg/mL)。過濾該溶液，裝到 100mL 聚丙烯瓶中。蓋上該瓶，密封，110°C 滅菌 35 分鐘。60°C 烘箱中保存該瓶，在第 0、5 和 10 天分析該溶液。下表結果顯示該配方意想不到地非常穩定。由於水通過塑膠瓶壁蒸發的緣故，式 I 化合物的含量隨著時間推移稍有增加。10 天後總的雜質也稍有增加。

在 60°C 保存的 天數	0 天	5 天	10 天
PH 值	3.90	3.88	3.88
外觀	澄清的黃色 溶液	澄清的黃色 溶液	澄清的黃色 溶液
含量	102.6	103.2	104.0
總雜質 (%)	0.378	0.375	0.410

以 0.1、1、3、4、5、6、10 和 15mg/mL 的濃度製備化合物 1 的 0.9% 生理鹽水溶液。過濾這些溶液，裝到 100mL 聚丙烯瓶中。蓋上該瓶，密封，110°C 滅菌 35 分鐘。用 1、3、5、10mg/mL 劑量對大鼠和狗進行 GLP 毒性研究。

### 實施例 3

研究活性炭、pH 值和鐵含量對配方的影響。

#### 1. 活性炭的影響

將 13.85g 的化合物 1 和 18g 的氯化鈉溶解在無菌水中。加入額外的無菌水，攪拌，使溶液的最終體積達到 2000mL，得到濃度為 5mg/mL 化合物 1 的溶液。將所得溶液分成 4 份，每份 500 毫升。將 0%、0.02%、0.05% 和 0.5% (g/mL) 的活性炭加到每一份溶液中。將所得溶液加熱至沸騰，同時攪拌 25 分鐘，用 0.45 微米的濾紙過濾。將濾液加到一系列的 100mL 聚丙烯瓶中，蓋上蓋子，密封，110°C 滅菌 35 分鐘。

分析四個瓶子中每瓶的化合物 1 的含量和 pH，結果顯示在下表中。選擇 0.05% (g/mL) 的活性炭用於配製過程。

編號	pH 值	含量 (%)	加入的活性炭
1	3.96	109.0	0
2	3.88	108.8	0.02%
3	3.88	109.2	0.05%
4	3.80	63.9	0.5%

## 2. PH 的影響

採用與前述實驗相同的步驟製備 2000 毫升的化合物 1 的 0.9% 生理鹽水溶液。將溶液等分成 6 份。通過加入稀釋的鹽酸或氫氧化鈉，將每份的 pH 調節為 2.43、3.00、3.76、4.51、6.01 和 7.13。分析溶液的外觀和含量，結果顯示在下表。結果顯示，5mg/mL 的化合物 1 的生理鹽水溶液在 pH6.6 沈澱。

編號	含量 (%)	pH 值	外觀
1	96.68	2.17	澄清的黃色溶液
2	94.87	3.00	澄清的黃色溶液
3	103.62	3.76 (未加入酸/鹼)	澄清的黃色溶液
4	101.14	4.50	澄清的黃色溶液
5	99.63	6.01	澄清的黃色溶液
6	N/A	6.60	白色沈澱

### 3. 鐵含量的影響

採用與前述實驗相同的方法配製 1000 毫升化合物 1 的 0.9% 生理鹽水溶液。將該溶液等分為 2 份。一份加入 0.25g 活性炭，另一份加入 0.25g 活性炭和 0.1g 鐵粉。攪拌所得到的各個混合物，過濾到 100mL 聚丙烯瓶中。蓋上瓶蓋，密封，110°C 滅菌 35 分鐘。所述溶液各自的 pH 和外觀顯示在下表中。基於這些結果，在配製 IV 配方過程中應避免與鐵接觸。

編號	添加物	pH	外觀
1	鐵粉	3.77	紅棕色
2	無鐵粉	3.78	淡黃色

### 4. 滅菌期間溫度和時間的影響

採用與前述實驗相同的方法配製 3000 毫升 I 化合物 1 的 0.9% 生理鹽水溶液。加入 1.5g (0.05% g/mL) 活性炭到該溶液中，攪拌 15 分鐘，過濾。將濾液加到一系列的 100mL 的聚丙烯瓶中。給這些裝入濾液的瓶子蓋上蓋子，密封，分成 4 組，每組 7 瓶。根據以下條件給這些樣品滅菌：115°C / 35 分鐘、110°C / 35 分鐘和 105°C / 35 分鐘。測量每組化合物 1 的含量和雜質水平以及 pH (包括對照組) 並顯示在下表中。基於此研究，腸胃配方的滅菌選用 110°C / 35 分鐘。

組編號	滅菌溫度	PH值	含量(%)	總雜質(%)
1	115°C	3.85	95.98	0.509
2	110°C	3.86	95.86	0.240
3	105°C	3.86	96.44	0.198
4	N/A	3.86	95.20	0.167

### 5. 較低溫度 (-15°C) 的影響

將含有化合物 1 (5mg/mL) 的 0.9% 生理鹽水溶液的瓶子保存在 -15°C 的冰箱中。在第 0、5 和 10 天分析樣品。結果顯示在下表中。結果顯示，在 -15°C 保存 10 天後，外觀、化合物含量、pH 和總雜質維持不變。

-15°C 保存的天數	0 天	5 天	10 天
外觀	澄清的黃色溶液	澄清的黃色溶液	澄清的黃色溶液
含量	102.6	102.8	103.5
PH 值	3.90	3.89	3.89
總雜質 (%)	0.378	0.370	0.373

### 6. 光對配方的影響

將含有化合物 1 (5mg/mL, 基於遊離的域) 的 0.9% 生理

鹽水溶液的瓶子放置在 4500Lx $\pm$ 500Lx 的光盒 (light box) 中。在第 0、5 和 10 天分析樣品。結果顯示在下表中。研究顯示在強光下溶液沒有變化。

放置在強光下的時間	0 天	5 天	10 天
外觀	澄清的黃色溶液	澄清的黃色溶液	澄清的黃色溶液
UV 吸收	與標準一致	與標準一致	與標準一致
顆粒物質	與標準一致	與標準一致	與標準一致
PH 值	3.90	3.89	3.89

#### 實施例 4

製備化合物 1 (5mg/mL, 基於遊離的城) 在 0.9% 氯化鈉無菌水中的溶液, 過濾, 裝到 100mL 聚丙烯瓶中。蓋上該瓶, 密封, 110°C 滅菌 35 分鐘。在 40°C / 20% 相對濕度 (RH) 下保存這些瓶子 6 個月和在 25°C / 60% 相對濕度下保存這些瓶子 12 個月, 並根據下表所示進行測試。

條件	時間間隔 (月)						
	0	1	2	3	6	9	12
25 °C/60% RH	X	X	X	X	X		
40 °C/20% RH	X			X	X	X	X

在各採樣點(如表中“X”所示)評估樣品的外觀、顏色、澄清度、pH、UV吸收、定量分析(assay)以及雜質。未觀察到顯著變化。

### 實施例 5

依如下方式研究化合物 1 的體外和體內活性。

#### 1. 體外抗菌活性

從臨床樣品中分離出各種細菌種類，如革蘭氏陽性菌(如梭菌屬、葡糖球菌屬、和鏈球菌屬)、革蘭氏陰性菌(如莫拉氏菌屬、嗜血桿菌屬、假單胞菌屬、變形桿菌屬、和變形細菌(Bacteriodes))、厭氧的和非典型的致病原。採用 U.S. National Committee for Clinical Laboratory(M7-A6, 2003, 和 M11-A5, 2001)描述的瓊脂稀釋測試法測定化合物 1 對這些細菌物種的抗菌活性。

結果顯示，化合物 1 具有強力的廣譜抗菌活性，包括抗革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌、厭氧的和非典型的致病原的活性。該鹽尤其能有效抗葡糖球菌和鏈球菌，包括甲氧苯青黴素抗性金黃色葡萄球菌 (MRSA) 和多抗性肺炎鏈球菌。對於抗捲鬚黴素敏感的甲氧苯青黴素易感性金黃色葡萄球菌 (MSSA) 和 MRSA，90% 的測試的分離物的最小抑制濃度 ( $MIC_{90}$ ) 是  $0.06\mu\text{g/ml}$ 。抗捲鬚黴素抗性 MSSA 的  $MIC_{90}$  是  $0.5\mu\text{g/mL}$ ，抗捲鬚黴素抗性 MRSA 的  $MIC_{90}$  是  $1\mu\text{g/mL}$ 。抗易感的、青黴素抗性和大環內酯抗性肺炎鏈球菌的  $MIC_{90}$  是  $0.12\mu\text{g/mL}$ 。在此研究中，抗所有葡糖球菌和鏈球菌的  $MIC$  分別為  $\leq 2\mu\text{g/mL}$  和  $\leq 1\mu\text{g/mL}$ 。考慮到所有的革蘭氏陽性微生物，化合物 1 的效力要比左氧氟沙星強 4—8 倍，比加替沙星強 2—4 倍。

在革蘭氏陰性微生物中，化合物 1 能有效抗粘膜炎莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*) ( $MIC_{90} = 0.03\mu\text{g/mL}$ )、流感嗜血桿菌 (*Haemophilus influenzae*) ( $MIC_{90} = 0.12\mu\text{g/mL}$ ) 和淋病奈瑟氏菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) ( $MIC_{90} = 0.06\mu\text{g/mL}$ )。該化合物能有效抗大多數的腸微生物，對大腸桿菌 (*E. coli*) 的  $MIC_{90}$  是  $0.12\mu\text{g/mL}$ ，對肺炎克雷白氏桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 的  $MIC_{90}$  是  $1\mu\text{g/mL}$ ，對奇異變形桿菌 (*Proteus mirabilis*) 的  $MIC_{90}$  是  $0.5\mu\text{g/mL}$ 。它也能有效地抗綠膿假單胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 的許多分離物以及厭氧致病菌，艱難梭菌 (*Clostridium difficile*) 和擬桿菌屬 (*Bacteroides*)。

## 2. 體內效力

在小鼠模型中評估式 I 化合物的體內效力。麻醉小鼠，用致死量的肺炎鏈球菌 Stp6301 鼻內感染小鼠。感染後 12、18 和 24 小時，以 50、25、12.5 或 6.25 的總劑量將含有化合物 1 或莫西沙星（作為陽性對照）、0.7% 乳酸和 3% 葡萄糖的組合物皮下給予小鼠。在最後一次用化合物 1 或莫西沙星處理後 4 小時，使一半小鼠安樂死，採集它們的血液和肺組織。測定血液和肺中存活的細菌數量。也對肺組織進行組織病理學評估。另一半小鼠則繼續監控 6 天，記錄存活小鼠的數量。

與用載體處理的對照相比，所測試的所有劑量水平的化合物 1 明顯減少了肺和血液中存活的細菌。此外，所測試的所有劑量水平的該抗生素針對該致死感染提供了完全的保護（100% 存活）。在此肺部感染模型中，化合物 1 要比相同劑量水平的莫西沙星更有效。

## 其他實施例

可以各種結合方式結合本說明書所公開的所有這些特徵。可用起到相同、等價或類似目的的其他特徵來替換本說明書公開的各個特徵。因此，除非另有說明，所公開的各特徵僅僅是總的一系列等價或類似特徵的具體實例。從上述說明可以看出，本領域熟練的技術人員可容易地確定本發明的必要特徵，且在不偏離其精神和範圍的情況下，他

們可對本發明做出各種變化和改動，以適應各種用途和條件。因此，其他實施方式也在本文請求項所述的範圍之內。

【圖式簡單說明】

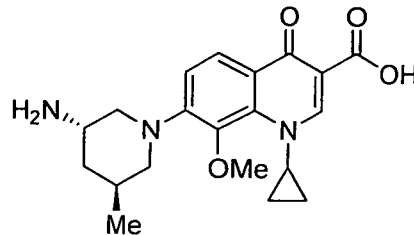
【主要元件符號說明】

## 十、申請專利範圍：

1. 一種透過腸胃道以外注射或輸液而用於治療感染性疾病的配方，該配方包含：

式 I 化合物，

式 I



水，和

一等張劑，其濃度為 0.2% 至 13% w/v，

其中，該化合物處於其 D,L-蘋果酸鹽形式，且該化合物和該等張劑二者皆溶解在水中。

2. 如請求項 1 所述的配方，其中該感染性疾病是尿道感染、前列腺炎、呼吸道感染、骨髓炎、淋病、結核桿菌感染、鳥型結核分枝桿菌綜合症、慢性支氣管炎的急性惡化、肺炎、竇炎、傳染性腹瀉、幽門螺桿菌感染、皮膚感染、婦科感染、或腹部感染。

3. 如請求項 1 所述的配方，其中該感染性疾病是受到革蘭氏陰性菌或革蘭氏陽性菌的感染。

4. 如請求項 1 所述的配方，其中該感染性疾病是受到厭氧菌的感染。

5. 如請求項 1 所述的配方，其中該感染性疾病是受到甲氧苯青黴素抗性金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 或多抗性肺炎鏈球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 的感染。

6. 如請求項 1 所述的配方，其中該等張劑是氯化鈉。

7. 如請求項 6 所述的配方，其中該配方中之該化合物的濃度為 0.2 至 45 mM，且該配方中之氯化鈉的濃度為 0.2 至 1.3% w/v。

8. 如請求項 7 所述的配方，其中該配方是經靜脈內注射或輸液給予。

9. 如請求項 8 所述的配方，其中該配方中之該氯化鈉的濃度是 0.9% w/v。

10. 如請求項 8 所述的配方，其中該配方還包含一穩定劑，該穩定劑選自由組氨酸、賴氨酸、甘氨酸、蔗糖、果糖、海藻糖及其混合物所組成之群組。

11. 如請求項 8 所述的配方，其中該配方還包含一緩衝劑，該緩衝劑選自由乙酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、乳酸鹽、琥珀酸鹽、蘋果酸鹽及磷酸鹽所組成之群組。

12. 如請求項 8 所述的配方，其中該配方還包含一抗氧化劑，該抗氧化劑選自由亞硫酸氫鈉、丁基化羥基苯甲醚、半胱氨酸、龍膽酸、谷氨酸單鈉、硫基乙醇酸鈉及抗壞血酸所組成之群組。

13. 如請求項 8 所述的配方，其中該配方還包含濃度為 0.1 至 1.0% w/v 的一穩定劑，和濃度為 0.01 至 5% w/v 的一緩衝劑。

14. 如請求項 1 所述的配方，其中該等張劑選自由甘油、乳糖、甘露醇、氯化鈉、葡萄糖、硫酸鈉及山梨糖醇所組成之群組。

15. 如請求項 14 所述的配方，其中該等張劑是葡萄糖，且其在該配方中的濃度為 1 至 7% w/v。

16. 如請求項 15 所述的配方，其中該配方還包含濃度為 0.1 至 1.0% w/v 的一穩定劑，和濃度為 0.01 至 5% w/v 的一緩衝劑。

17. 如請求項 15 所述的配方，其中該配方是經靜脈內注射或輸液給予。

18. 如請求項 1 所述的配方，其中該等張劑是氯化鈉，且其在該配方中的濃度為 0.2 至 1.3% w/v。