

(19)



REPUBLIK  
ÖSTERREICH  
Patentamt

(11) Nummer:

**AT 406 052 B**

(12)

**PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: 305/94  
(22) Anmeldetag: 16.02.1994  
(42) Beginn der Patentdauer: 15.06.1999  
(45) Ausgabetag: 25.02.2000

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>: **C07K 5/06**  
C07D 498/12  
A61K 31/395

(30) Priorität:  
17. 2.1993 FR 9301787 beansprucht.

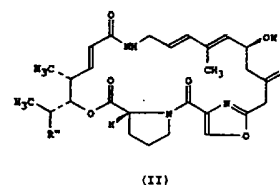
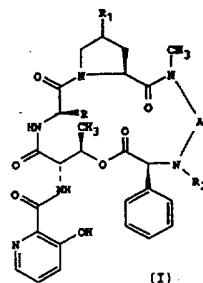
(73) Patentinhaber:  
RHONE-POULENC RORER S.A.  
F-92160 ANTONY (FR).

(56) Entgegenhaltungen:  
WO 93/20182A1 EP 0506561A1  
FR 2619008A1  
C.A. 110(7)1989:56082K

(72) Erfinder:

(54) GEREINIGTE FORM VON STREPTOGRAMINEN, IHRE HERSTELLUNG UND SIE ENTHALTENDE PHARMAZEUTISCHE MASSEN

(57) Gereinigte Form von Streptograminen bestehend aus der Mischung einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel I mit den in der Beschreibung gegebenen Substituentenbedeutungen und aus einer oder mehreren "Neben"-Komponenten der Gruppe A von Streptograminen der allgemeinen Formel II mit den in der Beschreibung gegebenen Substituentenbedeutungen im Zustand eines Mischkristallisats, eines mitgefällten Niederschlags oder einer Mischung von Pulvern.

**AT 406 052 B**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine gereinigte Form von Streptograminen, die mindestens eine Komponente der Gruppe B von Streptograminen vermischt mit mindestens einer "Neben"-Komponente der Gruppe A, die nachfolgend durch die allgemeine Formel (II) definiert ist, umfaßt.

Unter den bekannten Streptograminen wurde das Pristinamycin (RP 7293) natürlichen antibakteriellen Ursprungs, hergestellt durch *Streptomyces pristinaespiralis*, zum ersten Mal 1955 isoliert. Das Pristinamycin, im Handel erhältlich unter dem Namen Pyostacin<sup>R</sup>, besteht hauptsächlich aus Pristinamycin IA und Pristinamycin IIA.

Ein anderes Antibakterikum der Klasse der Streptogramine: das Virginiamycin wurde hergestellt ausgehend von *Streptomyces virginiae*, ATCC 13161 [Antibiotics and Chemotherapy, 5, 632 (1955)]. Das Virginiamycin (Staphylomycine<sup>R</sup>) besteht hauptsächlich aus Faktor S und Faktor M<sub>1</sub>.

In der US-A-3 325 359 sind pharmazeutische Massen beschrieben, die antibiotische Substanzen enthalten, die das Antibiotikum 899 bilden: Faktor S und Faktor M<sub>1</sub>.

In der FR-A-2 619 008 wird die Verwendung von Komponenten der Gruppe A und der Gruppe B zur Behandlung der Akne beschrieben.

Die antibakteriellen Mittel natürlichen Ursprungs der Klasse der Streptogramine bestehen aus der Mischung von 2 Gruppen von Komponenten: Komponenten der Gruppe B und Komponenten der Gruppe A, wobei jede Gruppe eine bestimmte antibakterielle Wirksamkeit hat. Es wurde nachgewiesen, daß eine Mischung beider Gruppen von Komponenten, eine synergistische Wirkung zeigt, die in einer erhöhten bakteriostatischen und bakteriziden Wirksamkeit und in einer Verbreiterung des Wirkungsspektrums besteht.

In "Streptogramine als Modellsysteme für den Kationentransport durch Membranen", Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Georg-August Universität zu Göttingen, Göttingen 1979, in Antibiotics III, 521 (1975) und in Antibiotics of the virginiamycin family, Inhibitors which contain synergistic components, C. Cocito, Microbiological Reviews, 145-98 (1979) sind Komponenten der Gruppen A und B von Streptograminen beschrieben. J. Preud'Homme, P. Tarridec, und A. Belloc, Bull. Soc. Chim. Fr., 2, 585 (1968) beschreiben ebenfalls das natürliche Pristinamycin sowie die verschiedenen Komponenten, die es enthalten.

Alle Versuche mit gereinigten Mischungen von Streptograminen setzen systematisch als Hauptkomponente der Gruppe A [Pristinamycin IIA (PIIA)] ein, da sie als verantwortlich für die Wirksamkeit und die Synergiewirkung angesehen wird. Die Untersuchungen lassen überdies auf die Bedeutung dieser Komponente schließen, die eine verbesserte Synergie hervorruft: EP 506 561 (Seite 2).

Doch diese Versuche sind niemals erfolgreich verlaufen, einerseits wegen der Schwierigkeiten der industriellen Herstellung und andererseits insbesondere deswegen, weil das gereinigte Pristinamycin IIA ein kristallisiertes Produkt ist, dessen Bioverfügbarkeit sich als zu gering erweist, um das Wirkprinzip eines Medikamentes entfalten zu können.

Vom Standpunkt der industriellen Herstellung solcher Produkte her gesehen, war es bisher nicht möglich, in präparativem Maßstab eine ausreichend gereinigte Form zu erhalten und Chargen ausreichend konstanter und reproduzierbarer Qualität herzustellen, um den gesetzlichen Anforderungen bestimmter Länder hinsichtlich der Registrierung zu entsprechen.

Industrielle Chargen von natürlichem Pristinamycin enthalten beispielsweise nach der Reinigung bis zu 20 % an Verunreinigungen. Die bisher unternommenen Versuche zur Reinigung waren stets erfolglos und hatten oft die zur Zersetzung einer der Gruppen von Komponenten zu Folge. Dies ist darauf zurückzuführen, daß es sich um wenig stabile Produkte handelt, bei welchen zahlreiche Verfahrensschritte zur Öffnung der cyclisierten Struktur oder zur Dehydrierung von Komponenten der Gruppe A führen. Demfolge wurde daher viele Jahre lang eine Verbesserung des Reinheitsgrades als nicht erreichbar angesehen. Auch noch 1988 wurde die Reinigung als ein Problem angesehen: J. of Liq. Chromatography, 11(11), 2367 (1988). 1988 erklärten ebenso auch N.K. SHARMA und M.J.O. ANTEUNIS, daß die Trennung und Reinigung von Komponenten des Virginiamycins zu analytischen Zwecken möglich ist, jedoch nicht zur Herstellung dieser Produkte in Betracht zu ziehen ist, im Hinblick auf entgegenstehende Schwierigkeiten: Bull. Soc. Chim. Belg., 97(3) 193 (1988).

In Folge dieser Situation ist die Handelsfähigkeit des Pristinamycins (Pyostacine<sup>R</sup>) tatsächlich auf bestimmte Länder, wie Frankreich und Belgien beschränkt. Das gleiche gilt auch für das Virginiamycin (Staphylomycine<sup>R</sup>), das nur in einer beschränkten Anzahl von Ländern im Handel erhältlich ist, was die Humanmedizin betrifft, ebenso wie für das Mikamycin, dessen Verfügbarkeit

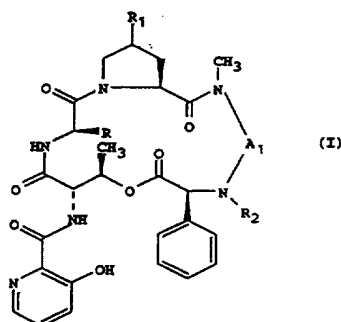
im Handel (beschränkt auf Japan) nun eingestellt ist. Dies führt daher für bestimmte Bevölkerungen zum Verlust einer Behandlung im Fall schwerer Infektionen mit grampositiven Kokken (insbesondere Infektionen mit gegenüber Methicillin resistenten Staphylokokken) oder einer Behandlung im Falle von übertragbaren Geschlechtskrankheiten.

Im Bereich von antibakteriellen Mitteln ist es dem Fachmann bekannt, daß sich Allergien oder Resistenzen nach Verabreichung bestimmter Arten von Antibiotika entwickeln können. [The New England Journal of Medicine, 324 (9), 601 (1991)]. Im Spitalsmilieu kennt man insbesondere zahlreiche resistente Stämme von *Staphylococcus aureus*. Daher ist es für die Medizin äußerst nützlich, eine große Fächerung von chemisch unterschiedlichen Arten zur Verfügung zu haben, sodaß die Behandlung auf den besonderen Fall der zu behandelnden Krankheit angepaßt werden kann. Die Folge des Fehlens der kommerziellen Verfügbarkeit einer bestimmten Art kann schwerwiegend, ja sogar dramatisch sein, da dies zu einem Verlust der Behandlung bei Krankheiten führen kann, die keine anderen Arten von Antibiotika zulassen.

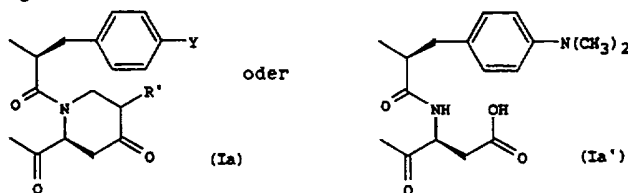
So hatten die unternommenen Versuche der Reinigung immer das Ziel, "Neben"-Komponenten von Streptograminen, die nicht für unbedingt notwendig, sondern vielmehr als Verunreinigungen angesehen wurden, zu beseitigen.

Unter den Komponenten der Gruppe A von natürlichen Streptograminen ist das Pristinamycin IIB (PIIB) ein Nebenkomponente, deren Gewichtsanteil kleiner als 10 % im natürlichen Pristinamycin und häufigerweise von einer Größenordnung von 8 % oder auch einer Größenordnung von 6 % in Virginiamycin ist.

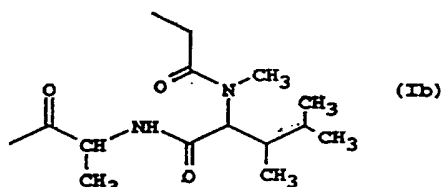
Es wurde nun gefunden, und das ist Gegenstand vorliegender Erfindung, daß die Mischung, die aus einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel:



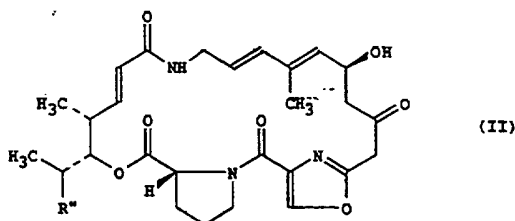
worin A<sub>1</sub> ein Rest der allgemeinen Formeln Ia oder Ia' ist



ist, in denen R' Wasserstoff oder die Hydroxygruppe und Y Wasserstoff, die Methylamino- oder Dimethylaminogruppe bedeuten und worin in den Formeln I bzw. Ia R Ethyl ist oder, wenn R' Wasserstoff ist, R auch Methyl sein kann und R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> Wasserstoff bedeuten, oder worin A<sub>1</sub> ein Rest der Formel Ib ist



und in Formel I R Isobutyl, R<sub>1</sub> Hydroxy und R<sub>2</sub> Methyl sind, und aus einer oder mehreren "Neben"-Komponenten der Gruppe A von Streptograminen der allgemeinen Formel:



worin R" Wasserstoff oder Methyl oder Ethyl ist, im Zustand eines Mischkristallisats, eines mitgefällten Niederschlags oder einer Mischung von Pulvern besteht, besonders interessant zufolge seiner biologischen Aktivität in vivo ist.

Tatsächlich weisen die erfindungsgemäßen Gemenge eine wesentlich höhere biologische Wirksamkeit in vivo auf, gegenüber derjenigen des natürlichen Produktes (z. B. das natürliche Virginiamycin oder das natürliche Pristinamycin oder gegenüber derjenigen von Mischungen, bei denen die Hauptkomponente der Gruppe A wirken gelassen wird, und sie weisen überdies eine vollkommen zufriedenstellende Bioverfügbarkeit auf. Überdies können diese Gemenge im bedeutenden Maßstab hergestellt werden.

Es ist auch möglich, zu einer gereinigten und bioverfügbaren Form eines Endproduktes mit gutem Wirksamkeitsniveau zu gelangen, die weniger als 6 % Verunreinigungen enthält.

Das Produkt der allgemeinen Formel (II), bei welchem R" ein Ethylrest ist, nachfolgend Pristinamycin IIF (PIIF) genannt und das Produkt der allgemeinen Formel (II), bei welchem R" ein Wasserstoffatom ist, nachfolgend Pristinamycin IIG (PIIG) genannt, sind neue Produkte, die sehr untergeordnet Komponenten von Streptograminen enthalten, deren Gewichtsanteil im natürlichen Produkt < als 0,5 % ist.

Die erfindungsgemäßen Mischungen werden bevorzugt in Anteilen von 10/90 bis 90/10 (Gewicht), vorzugsweise in den Anteilen von 20/80 bis 80/20 hergestellt. Sie befinden sich im Zustand einer physischen Mischung von Pulvern, oder auch, und das stellt einen anderen Aspekt der vorliegenden Erfindung dar, im Zustand eines mitgefällten Niederschlags oder Mischkristallisats.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch gereinigte Zusammensetzungen, die aus der mischkristallinen Mischung mindestens einer Komponente der Gruppe B der allgemeinen Formel (I), mit mindestens einer Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) gebildet sind.

Die Mischkristallisation erfolgt in konstanter Stöchiometrie von 1 Mol des (der) Bestandteile(s) der allgemeinen Formel (I) mit 2 Molen des (der) Bestandteile(s) der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) [diese Stöchiometrie entspricht dem relativen Gewichtsverhältnis von ungefähr 43-44/57-56 für den Fall, wo die Komponente A ein Produkt der allgemeinen Formel (I) ist, wobei A<sub>1</sub> die Struktur (Ia) ist].

Die mischkristalline Mischung gemäß der Erfindung kann entweder als gereinigtes und stabiles antimikrobielles Mittel eingesetzt werden und besitzt auch eine verbesserte Wirksamkeit in vivo, ebenso wie eine gute Bioverfügbarkeit, oder zur Reinigung für eine Nebenkomponeute von Streptograminen entsprechend der allgemeinen Formel (II).

Tatsächlich war es bisher nicht möglich, eine Komponente der Gruppe A [allgemeine Formel (II)] durch Kristallisation zu reinigen; daher waren bisher nur chromatographische Methoden für die Herstellung eines gereinigten Produktes der Gruppe A [allgemeine Formel (II)] bekannt, und es war keine andere Reinigungsmethode bekannt, die die Isolierung dieser Produkte in bedeutenden Mengen ermöglicht hätte.

Es zeigte sich nun, daß die Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) in reinem Zustand erhalten werden kann, unter Zwischenschaltung des wie oben angegeben, kokristallisierten Gemenges. Eine rohe Mischung, die mindestens 30 % einer Nebenkomponeute der Gruppe A entsprechend der allgemeinen Formel (II) enthält, gelöst in einem organischen Lösungsmittel, wie einem Keton (z. B. Aceton, MethylEthylketon, Methylisobutylketon), einem Ester (z.B. Ethylacetat, Isopropylacetat, Butylacetat, Isobutylacetat), einem chlorierten Lösungsmittel (z.B. Methylenchlorid, Chloroform, 1,2-Dichlorethan) oder einem Nitril (beispielsweise Acetonitril), und versetzt mit einer Komponente der Gruppe B gemäß der allgemeinen Formel (I) ergibt eine unter den oben angegebenen Verhältnissen sich bildende mischkristalline Zusammensetzung. Es ist selbstverständlich, daß die eingeführte Menge der Verbindung der allgemeinen Formel (I) geeigneterweise so gewählt wird, daß die Restkonzentration des Produktes (nach der Mischkristallisation) im gewählten Lösungsmittel niedriger ist als seine Löslichkeit. Es ist auch selbstverständlich, daß Änderungen der Ausgangskonzentration der Produkte der allgemeinen Formel (I) und (II) im Lösungsmittel keine Modifikation der erhaltenen mischkristallinen

Zusammensetzung mit sich bringen. Aus der so erhaltenen mischkristallinen Mischung, gelöst in einem Lösungsmittel, wie beispielsweise Methylisobutylketon oder Dichlorethan kann durch Zugabe von Säure (z. B. Schwefelsäure, Salzsäure) und nach Versetzen der organischen Phase mit einem Lösungsmittel, wie beispielsweise Hexan, die gereinigte und von der Komponente der Gruppe B freie Nebenkompente der Gruppe A isoliert werden.

Diese mischkristalline Mischung ist vorteilhafterweise äußerst stabil, weist eine hohe Reinheit auf und ist darüberhinaus in industriellem Maßstab leicht herstellbar.

Selbstverständlich kann im Rahmen vorliegender Erfindung diese Methode auch an die Herstellung von Mischkristallisaten mit modifizierten Derivaten von natürlichen Komponenten der Gruppe B von Streptograminen angepaßt werden; desgleichen gilt auch für die Herstellung von gereinigten Formen von Nebenkompenten der allgemeinen Formel (II), ausgehend von solchen Mischkristallisaten.

Eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Gemenge von Pristinamycin IB [definiert durch Formel (I), in der A<sub>1</sub> ein Rest der allgemeinen Formel (Ia) ist, worin Y eine Methylaminogruppe, R' Wasserstoff und R eine Ethylgruppe sind] oder von Virginiamycin S1 [definiert durch Formel (I), in der A<sub>1</sub> ein Rest der allgemeinen Formel (Ia) ist, worin Y und R' Wasserstoff und R eine Ethylgruppe sind] oder einer Mischung von Virginiamycin S1 und Virginiamycin S4 [definiert nach Formel (I), wobei A<sub>1</sub> wie für Virginiamycin S1 definiert und R Methyl ist] mit dem Pristinamycin IIB [definiert durch die allgemeine Formel (II), worin R" Methyl ist] und das weniger als 6 % Verunreinigungen und vorzugsweise weniger als 3 % Verunreinigungen enthält.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung bezieht sich auch auf ein gereinigtes Streptogramin, das gebildet ist aus einer Mischung einer Komponente der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel (I) und einer Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II), das die Komponenten der Gruppen B und A in einem molaren Verhältnis von ungefähr 1/2 enthält.

Gemäß der Erfindung können die neuen Mischung von mindestens einer Komponente der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel (I) und von mindestens einer Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II), beispielsweise erhalten werden durch Herstellung der wie oben angegebenen mischkristallinen Zusammensetzung. Wenn man eine Mischung in unterschiedlichen Anteilsverhältnissen erhalten will, kann die hergestellte mischkristalline Zusammensetzung mit mindestens einer Komponente der allgemeinen Formel (I) oder mit mindestens einer Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II), die vorher gereinigt wurden, und in entsprechender Menge vermengt werden, um so gewünschte Anteilsverhältnisse zu erhalten. Die Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) (oder ihre Mischung) kann aber auch ausgehend vom Mischkristallisat gereinigt werden und dann in den gewünschten Anteilsverhältnissen mit einer oder mehreren Komponenten der Gruppe B der allgemeinen Formel (I) vermengt werden. Weiters können die erfindungsgemäßen Mischungen nach Isolierung der Komponente(n) der Gruppe B und der Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) ausgehend von dem entsprechenden natürlichen Streptogramin durch Reinigung jeder dieser Komponenten und nachfolgender Mischung der gereinigten Komponenten in den gewünschten Anteilsverhältnissen hergestellt werden.

Die erfindungsgemäßen Mischung können auch in den jeweils gewünschten Anteilsverhältnissen mitgefällt werden, ausgehend von einer Lösung der Komponenten der allgemeinen Formel (I) und (II) [oder alternativweise einer Lösung des Mischkristallisates und einer der Komponenten der allgemeinen Formel (I) oder (II)] in Aceton, das in Wasser gegossen wird, oder in Methylisobutylketon oder Methylenchlorid, die in Hexan oder Cyclohexan gegossen werden.

Die Herstellung und Trennung der Komponenten der Gruppen A und B erfolgt durch Fermentierung und Isolierung der Bestandteile aus der Fermentationsbrühe nach der oder in Analogie mit der von J. Preud'homme und Mitarb., Bull. Soc. Chim. Fr., Bd. 2, 585 (1968), in Antibiot. & Chemother., 5, 632, (1955) oder 7, 606 (1957), in Chromatog. Sym., 2° Bruxelles, 181 (1962), in Antibiot. Ann., 728, 784 (1954-55), in der US-PS 3 299 047 oder in Streptogramine als Modellsysteme für den Kationentransport durch Membranen, Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Georg-August Universität zu Göttingen, Göttingen 1979 beschriebenen Methode oder wie nachfolgend in dem Beispiel beschrieben. Insbesondere im Fall von Pristamicynen wird die Trennung der Komponenten der Gruppen A und B durchgeführt durch Suspendierung des ungereinigten Streptogramins in einem

organischen Lösungsmittel, wie einem Acetat (z.B. Ethylacetat), nachfolgendem Abfiltrieren oder Abzentrifugieren der ungereinigten Komponente der Gruppe A. Die Komponente der Gruppe B wird mit wasser verdünnter Säure extrahiert, gefolgt von einer Reextraktion mit Methylenchlorid. Die Trennung der Komponenten der Gruppen A und B kann auch nach der von J. Preud'homme und Mitarb. in Bull. Soc. Chim. Fr., Bd. 2, 587-91 (1968) beschriebenen Methode durch Säureextraktion einer Lösung von ungereinigtem Streptogramin in Methylisobutylketon, darauffolgender Isolierung durch Extraktion der Komponente der Gruppe B aus der wässrigen Phase und Isolierung der Komponente der Gruppe A durch Präzipitation aus der organischen Phase durchgeführt werden.

Nach der Abtrennung kann die Reinigung der Komponenten der Gruppe B von Streptograminen durch Umkristallisation aus einem Alkohol, wie Ethanol, Methanol oder Isopropanol, aus einem Acetat (z.B. Isopropylacetat oder Butylacetat), aus einem Keton (z.B. Methyllethylketon) oder aus Acetonitril oder durch Chromatographie durchgeführt werden. Die Reinigung der Komponenten der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) kann mittels Chromatographie, z.B. Umkehrphasenchromatographie und Eluierung mit einer Mischung Acetonitril-Wasser erfolgen.

Die Herstellung von Komponenten der Gruppen A bzw. B der allgemeinen Formel (II) und (I) kann auch wie in der FR-A-2 689 518 beschrieben, durch Fermentation getrennt nach den folgenden Stufen durchgeführt werden:

- erste Stufe (fakultativ), nicht selektive Mutagenese auf einem Mikroorganismusproduzenten von Streptograminen und
- zweite Stufe, Selektion von selektiven Mikroorganismen.

Die nicht selektiven Mikroorganismen sind im allgemeinen Actinomyceten und Pilze. Die im Verfahren verwendbaren Ausgangsmikroorganismen sind insbesondere nicht selektive Mikroorganismenproduzenten eines Streptogramins, ausgewählt unter der Gruppe, umfassend Pristinamycin, Virginiamycin, Mikamycin, Ostreogrycin, Viridogrisein, Vernamycin und Etamycin. Beispielsweise einsetzbare nicht selektive Mikroorganismen sind in der nachfolgenden Tabelle angegeben.

| Mikroorganismen                 | Antibiotika   |
|---------------------------------|---------------|
| PILZE                           |               |
| Mikromonospora sp.              | Vernamycin    |
| STREPTOMYCES                    |               |
| S.alborectus                    | Virginiamycin |
| S.griseus (NRRL2426)            | Viridogrisein |
| S.lavendulae                    | Etamycin      |
| S.lroidensis (ATCC11415)        | Vernamycin    |
| S.mitakaensis (ATCC15297)       | Mikamycin     |
| S.ostreogriseus (ATCC27455)     | Ostreogrycin  |
| S.pristinaespiralis (ATCC25486) | Pristinamycin |
| S.virginiae (ATCC13161)         | Virginiamycin |
| ACTINOMYCES                     |               |
| A.daghestanicus                 | Etamycin      |

Die Herstellung von Komponenten der Gruppen A bzw. B der allgemeinen Formel (II) und (I) erfolgt insbesondere aus Mikroorganismen, ausgewählt unter Streptomyces alborectus, Streptomyces mitakaensis, Streptomyces pristinaespiralis, Streptomyces ostreogriseus und Streptomyces virginiae.

Die erste Stufe der Herstellung besteht darin, den nicht selektiven Mikroorganismus derart zu modifizieren, daß sich seine Gesamtkapazitäten einer Antibiotikumproduktion vermehren und/oder darin, daß er nur eine der zwei Komponenten von Streptograminen synthetisiert. Dies kann erzielt werden durch genetische Modifikationen (z.B. Mutation im Bereich von Genstrukturen der implizierten Enzyme auf biosynthetischem Wege oder im Bereich von Sequenzen, die die Expression solcher Genstrukturen ermöglichen) oder durch biochemische Modifikationen (Modifikation eines post-traduktionellen Mechanismus, Änderung eines Retroinhibitionsmechanismus usw.). Verschiedene Techniken der Mutagenese werden angewendet:

- physikalische Mittel: Röntgenstrahlen, Ultraviolettstrahlen;
- oder

- chemische Mittel: Alkylierungsmittel, wie Ethylmethansulfonat (EMS), N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (Delic und Mitarb. Mutation Res. 9 (1970) 167-182) oder 4-Nitrochinolin-1-oxyl (NQO); Bialkylierungsmittel; Interkalationsmittel; oder
- jedes mutagene Insertionssystem an DNA und insbesondere die Transposone, die integrativen Plasmide, die Phagen oder die Prophagen; oder auch
- die Fusion von Protoplasten (Cohen, Nature 268 (1977) 171-174).

Diese Techniken (allein oder in Kombination) können angewendet werden auf nicht selektive Mikroorganismen im Zustand von Sporen, von gekeimten Sporen oder bei der Keimung oder auf dem Mycelium. Die Herstellung von Komponenten der Gruppen A bzw. B der allgemeinen Formel (II) und (I) kann auch durch Manipulationen (zufällig oder gerichtete) erfolgen, die den Erhalt von Mikroorganismen ermöglichen, die selektiv eine Komponente von Streptograminen, ausgehend von nicht selektiven Mikroorganismen produzieren können.

Die zweite Stufe der Herstellung von Komponenten der Gruppen A bzw. B der allgemeinen Formel (II) und (I) befaßt sich mit der Identifizierung und Isolierung von selektiven Mikroorganismen. Diese Stufe kann insbesondere mittels eines Sensibilitäts-tests gegenüber einem Keim durchgeführt werden. Es gibt verschiedene Keime, die auf Komponenten der Gruppe A oder jenen der Gruppe B von Streptograminen spezifisch empfindlich sind: z.B. *Bacillus subtilis* (ATCC6633), *Bacillus circulans*, *Bacillus cereus* (Watanabe, J. Antibio. Ser. A XIII(I) (1960) 62) oder *C. xerosis* (Watanabe, wie oben zitiert), die gegenüber Komponenten der Gruppe B spezifisch empfindlich sind; *Streptococcus agalactiae* B96 (Antimicrob. Agents Chemother. 10(5) (1976) 795), *Micrococcus luteus* (Prikrylova, wie oben zitiert) oder *Sarcina lutea* (ATCC9341), die gegenüber Komponenten der Gruppe A spezifisch empfindlich sind. Es ist auch möglich, künstlich Keime herzustellen, die spezifisch empfindlich auf eine Komponente von Streptograminen sind. Dies erfolgt durch Insertion eines Gens, das gegenüber einer der Komponenten resistent ist, in einen Keim, der gegenüber zwei Komponenten von Streptograminen empfindlich ist. Einige dieser Gene werden geklont (Le Goffic und Mitarb., J. Antibio. XXX(8), 665 (1977); Le Goffic und Mitarb., Ann. Microbiol. Inst. Pasteur 128B, 471 (1977); Solh und Mitarb., Path. Biol. 32(5), 362, (1984), wobei solche Gene in verschiedene Keime mittels klassischer molekular-biologischer Techniken eingeführt werden. Die Selektionsstufe kann auch mittels ELISA-Test ausgeführt werden, und zwar mittels spezifischer Antikörper von Komponenten A oder B oder auch durch analytische Techniken, wie der Chromatographie (Flüssigkeitschromatographie, Dünnschichtchromatographie, usw.).

Gemäß der Erfindung ist es nun auch möglich, in industriellen Chargen eine neue gereinigte Form von Streptogramin zu erhalten, deren Gehalt an Verunreinigungen, Definition und Konstanz der Zusammensetzung den Rechtsvorschriften zur Registrierung genügt und die überdies eine verbesserte Aktivität in vivo und eine Bioverfügbarkeit, ebenso wie eine verminderte Toxizität besitzt. Das neue Mischung kann auch einer fehlenden Behandlung durch ein antibakterielles Mittel dieser Klasse in zahlreichen Ländern Abhilfe verschaffen.

Die neue Mischung einer Komponente der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel (I) und einer Komponente der Gruppe A von Streptograminen der allgemeinen Formel (II) weist eine besonders interessante in vivo-Aktivität, insbesondere auf die grampositiven Keime auf. In vivo hat sie sich bei Mäusen wirksam gegenüber *Staphylococcus aureus* IP 8203 in oral verabreichten Dosen von 30 bis 50 mg/kg gezeigt.

Als Beispiele sind die  $DC_{50}$  auf oralem Weg mehrerer Mischungen von Komponenten der allgemeinen Formel (I) und (II) bei experimenteller Infektion der Maus mit *Staphylococcus aureus* IP 8203 nachfolgend angegeben.

Die in Tabelle I nachfolgend angegebenen untersuchten Mischungen wurden durch Mitfällung mit Hexan, ausgehend von einer Lösung von Komponenten der allgemeinen Formel (I) und (II) in Methylisobutylketon oder in Aceton hergestellt:

Tabelle I

| Mischung Produkt (I)/Produkt (II):<br>PI (Beispiel 1)/PIIB (Beispiel 18) | DC50 (mg/kg) p.o. |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 10/90                                                                    | 44                |
| 20/80                                                                    | 32                |
| 30/70                                                                    | 30                |
| 70/30                                                                    | 30                |
| 80/20                                                                    | 30                |
| 90/10                                                                    | 50                |

Die in der nachfolgenden Tabelle II angegebenen Mischungen sind mischkristalline Produkte, die wie in den Beispielen beschrieben, hergestellt sind.

Tabelle II

| Mischung<br>mischkristallines Produkt (I)/<br>Produkt (II) | DC50 (mg/kg) p.o. |
|------------------------------------------------------------|-------------------|
| PI/PIIB (Beispiel 9)                                       | 38                |
| PIA/PIIB (Beispiel 11)                                     | 28                |
| PIB/PIIB (Beispiel 12)                                     | 32                |
| PIC/PIIB (Beispiel 13)                                     | 36                |
| PID/PIIB (Beispiel 14)                                     | 50                |
| Faktor S/PIIB (Beispiel 15)                                | 32                |
| Faktor S1/PIIB (Beispiel 16)                               | 50                |
| Faktor S/PIIF (Beispiel 17)                                | 50                |

Die in nachfolgender Tabelle III beschriebene Mischung ist in Form einer Mischung von Pulvern hergestellt.

Tabelle III

| Mischung Produkt (I)/Produkt (II)                 | DC50 (mg/kg) p.o. |
|---------------------------------------------------|-------------------|
| PIA (Beispiel 1)/PIIB<br>(Beispiel 18) 30/70      | 36                |
| PIA (Beispiel 1)/PIIB<br>(Beispiel 18) 50/50      | 40                |
| Faktor S (Beispiel 5)/PIIB<br>(Beispiel 18) 30/70 | 44                |

Überdies weist die neue Mischung keine Toxizität auf: kein Anzeichen einer Toxizität manifestiert sich bei der Maus bei einer oral verabreichten Dosis von 150 mg/kg (2 Verabreichungen).

Wenn das mischkristalline Gemenge zur Reinigung der Komponente der allgemeinen Formel (II) eingesetzt wird, kann dieses gemäß der Erfindung durch Säureextraktion einer Lösung der mischkristallinen Zusammensetzung in einem Keton (z.B. Methylisobutylketon) und nachfolgendem Isolieren durch Extraktion der Komponente der Gruppe A durch Präzipitation aus der organischen Phase erhalten werden.

Die nachfolgenden nicht einschränkenden Beispiele erläutern die vorliegende Erfindung. In den folgenden Beispielen sind die Titer in Gew.-% angegeben.

Trennung und Reinigung von Komponenten der Gruppe B:

Beispiel 1

30 kg ungereinigtes Pristinamycin [Pristinamycin IA (PIA): 20,7 %, Pristinamycin IB (PIB): 3,9 %, Pristinamycin IC (PIC): 0,6 %, Pristinamycin ID (PID): 0,3 %, Pristinamycin IIB (PIIB): 8 %,



Pristinamycin IIA (PIIA): 45 %, Pristinamycin IIF (PIIF): < 0,5 % (nicht dosiert), Pristinamycin IIG (PIIG): < 0,5 % (nicht dosiert)] werden in 210 Liter Ethylacetat suspendiert und 15 h bei Umgebungstemperatur gerührt. Die Suspension wird filtriert und das gesammelte Ethylacetatfiltrat wird mit 2 mal 20 l 1N Schwefelsäure und dann 20 l destilliertem Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen werden mit 6 mal 15 l Ethylacetat gewaschen und dann auf einen pH-Wert 7 durch Zugabe von 30 l einer 10 %-igen Natriumbicarbonatlösung eingestellt und mit 3 mal 30 l Methylenchlorid extrahiert. Die Methylenchloridphasen werden vereinigt und mit 10 l destilliertem Wasser gewaschen. Das Methylenchlorid wird dann abdestilliert und durch 50 l Äthanol ersetzt. Die Mischung wird dann im Rückfluß mit 0,8 kg Kohle L3S während 30 min behandelt. Nach Abfiltrieren und Waschen mit 2 mal 5 l Äthanol wird die Mischung auf 10°C in 15 h gekühlt. Nach einstündigem Stehenlassen bei 10°C wird die Suspension abfiltriert und mit 3 mal 7 l Äthanol gewaschen. Nach Trocknung des Feststoffes bei 40°C unter verringertem Druck erhält man 5,7 kg gereinigtes Pristinamycin I (nachfolgend P1 genannt).

Titer: 96,8 % (PIA: 81,1 %, PIB: 12 %, PIC: 2,6 %, PID: 1,1 %); Ausbeute an PIA: 74 %.

1500 g gereinigtes PI wird in 9 l 1,2-Dichlorethan aufgenommen und dann mit 1,5 Äquivalent Bernsteinsäureanhydrid und 0,015 Äquivalent Dimethylaminopyridin versetzt. Die Lösung wird 1 Woche auf 20°C gehalten und dann auf eine Säule eingeführt, die 10 kg Siliciumdioxid (20-45 µm) [Höhe der Säule: 1m; Durchmesser: 20 cm] enthält. Die Eluierung erfolgt durch Perkolation mit einer Mischung 1,2-Dichlorethan/Methanol mit einem Durchfluß von 18 l/h während 6 h; der Prozentanteil an Äthanol (mit 5 % Wassergehalt) erhöht sich von 0 auf 4 % während der Chromatographie. 47 Fraktionen zu 2,4 l werden gesammelt.

Die Fraktionen 5 bis 15 werden vereinigt, das 1,2-Dichlorethan wird abgedampft und durch 5 l Äthanol ersetzt. Nach Umkristallisation erhält man 365 g PIA mit einem Titer von 99,8 %. Beispiel 2

Die Fraktionen 36 bis 39 von der im Beispiel 1 beschriebenen Chromatographie werden vereinigt und das 1,2-Dichlorethan wird abdestilliert; 210 g Feststoff werden so erhalten. 40 g dieses Feststoffes werden in 8 l Wasser aufgenommen, dem 8 cm<sup>3</sup> 10 N Salzsäure zugesetzt werden. Nach 3 h bei 90°C neutralisiert man die Lösung auf einen pH-Wert 6,5 mit Natriumhydrogencarbonat. Die Lösung wird mit 3 mal 1 l Ethyl-Acetat extrahiert und der Extrakt wird mit 2 mal 0,2 l Wasser gewaschen. Nach Behandlung mit Kohle wird das Ethylacetat abgedampft und durch 600 cm<sup>3</sup> Äthanol ersetzt. Nach Umkristallisation erhält man 20 g PIB mit einem Titer von 97 %.

#### Beispiel 3

Die Fraktionen 22 bis 26 von der im Beispiel 1 beschriebenen Chromatographie werden vereinigt und das 1,2-Dichlorethan wird abdestilliert; 139 g Feststoff werden so erhalten. Dieser Feststoff wird in einem Minimum von 1,2-Dichlorethan aufgenommen und auf eine Siliciumdioxidsäule eingeführt. Die Eluierung erfolgt durch Perkolation mit einer Mischung von 1,2-Dichlorethan/Methanol mit einem Durchfluß von 18 l/h während 6 h; der Prozentgehalt von Methanol (mit 5 % Wassergehalt) erhöht sich während der Chromatographie von 0 auf 5 %. 48 Fraktionen zu 2,4 l werden gesammelt. Die Fraktionen 38 bis 43 werden abgedampft und der Feststoff wird in 300 cm<sup>3</sup> Äthanol aufgenommen. Nach Umkristallisation erhält man 22 g PI mit 40 % PIC. Mittels Aufeinanderfolgender Chromatographien auf Siliciumdioxid (20-45µm) mit Perkolation mit einem Eluierungsmittel Methylenchlorid/Methanol (98/2 Vol.) kann 5 g eines Feststoffes erhalten werden, der nach Ausschütteln in Methylisobutylketon und Umkristallisation aus Äthanol einen Titer von 95 % an PIC hat.

#### Beispiel 4

1000 g PI, erhalten wie in Beispiel 1 oben beschrieben, werden in einem Minimum von Chloroform gelöst und in aufeinanderfolgenden Fraktionen auf einer Siliciumdioxidsäule (20-45µm) gereinigt. Nach Eluierung mit 2 bis 5 % Methanol enthaltendem Chloroform erhält man ein Produkt, das zur Trockne eingeeengt wird. Das Produkt wird dann gereinigt durch zweimaliges aufeinanderfolgendes Darüberleiten über eine (Diaion<sup>®</sup>)-Harzsäule und mit einer Mischung Acetonitril/Wasser (60/40 Vol.) perkoliert. Die Fraktionen werden durch Chromatographie kontrolliert. Die das PID enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingeeengt. Man erhält so ungefähr 3 g eines Produktes mit einem Titer von 60 % an PID. Eine ergänzende Reinigung wird mittels Gegenstromchromatographie unter Verwendung der Mischung von Lösungsmitteln Methylisobutylketon/Aceton/Ameisensäure (40/2/40 Vol.) durchgeführt. Durch Einengung der das PID enthaltenden Fraktionen zur Trockne kann 1 g eines Feststoffes mit einem Titer von 95 % an PID erhalten werden.

#### Beispiel 5

400 g von Virginiamycin, Staphylomycine<sup>R</sup>, (in Form Pastillen - Anfangszusammensetzung: Virginiamycin S1 (S1): 3,4 %, Virginiamycin S4 (S4): 0,9 %) werden in 4 l Wasser eingeführt.

Die Pastillen werden durch Rühren während 15 min bei 20°C aufgeschlossen. Man setzt 1 l Methylenchlorid zu und setzt das Rühren 1 h lang fort. Dimethylenchlorid wird dann abdekantiert und abfiltriert und dann in 30 min in ein Volumen von 5 l gerührtes Hexan gegossen. Nach 1 h Rühren filtriert man die Suspension ab und sammelt einen Feststoff, der mit 2 mal 250 cm<sup>3</sup> Hexan gewaschen wird. Nach Trocknung erhält man 52 g eines Feststoffes, der in 370 cm<sup>3</sup> Ethylacetat suspendiert wird. Zweimalig aufeinanderfolgendes Ausschütteln bei 20°C wird während einer Dauer von 18 h durchgeführt. Das jedem Ausschütteln entsprechende Filtrat wird zur Trockne gebracht und dann in 850 cm<sup>3</sup> Methanol im Rückfluß gelöst. Nach fortschreitendem Absenken der Temperatur auf -20°C in 16 h gewinnt man durch Abfiltrieren einen Feststoff, der mit einer kleinen Menge Methanol gewaschen wird. Nach Trocknung des Feststoffes bei 35°C unter vermindertem Druck erhält man 9 g Faktor S (Virginiamycin S).

Titer: 96 % (S1: 75,4%, S4: 20,6%). Ausbeute an Faktor S1 (Virginiamycin S1): 50%

#### Beispiel 6

1 g Faktor S, erhalten wie vorstehend in Beispiel 5 beschrieben, wird in Acetonitril mit der Maßgabe von 125 mg/cm<sup>3</sup> gelöst, in 4 Stufen durch Chromatographie an einer Nucleosil 5C8R-Säule (Kieselsäurekugeln 5 µm, Höhe 25 cm, Außendurchmesser 2,54 cm) unter Injizierung eines Volumens von 2 cm<sup>3</sup> gereinigt und mittels einer Mischung Wasser/Acetonitril 60/40 Vol. bei einem Durchfluß von 7,5 cm<sup>3</sup>/min eluiert. Man sammelt jedesmal ein den Faktor S1 enthaltendes Volumen von unter 120 cm<sup>3</sup>, insgesamt 480 cm<sup>3</sup>. Die Chromatographie wird 4 mal wiederholt, um die Gesamtheit von 1 g Faktor S zu behandeln. Man sammelt ein Volumen von ungefähr 500 cm<sup>3</sup>, das den Faktor S1 enthält. Das Acetonitril wird mittels eines Drehverdampfers beseitigt. Die wässrige Phase wird mit 3 mal 50 cm<sup>3</sup> Dichlormethan extrahiert. Die Methylenchloridphasen werden vereinigt, mit 50 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Dichlormethan wird mittels eines Drehverdampfers unter vermindertem Druck (5 mm Hg) entfernt. Man erhält 0,67 g Faktor S1 mit einem Titer von 99,6 %.

#### Herstellung von ungereinigten Komponenten der Gruppe A:

##### Beispiel 7

500 g ungereinigtes Pristinamycin [Pristinamycin IA (PIA): 20,7 %, Pristinamycin IB (PIB): 3,9 %, Pristinamycin IC (PIC): 0,6 %, Pristinamycin 1D (PID): 0,3 %, Pristinamycin IIB (PIIB): 8 %, Pristinamycin IIA (PIIA): 45 %] werden in 50 l Methylisobutylketon gelöst. Diese Lösung wird 5 mal mit einer wässrigen Phase, die aus 2,5 l Wasser und 2,5 l 1N Schwefelsäure zusammengesetzt ist, extrahiert und dann mit 3 mal 10 l Wasser gewaschen. Das Methylisobutylketon wird dann mit 7,5 l einer wässrigen Natriumhydrogencarbonatlösung mit 35 g/l behandelt und dann mit 5 l Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wird jedesmal mit der organischen Phase gemischt, abdekantiert und abgetrennt.

Die erhaltene organische Phase wird mit 750 g Aluminiumoxid in Kontakt gebracht, abfiltriert, auf ein Volumen von ungefähr 4 l eingengt und in 5 Volumina Hexan aufgenommen. Das erhaltene Präzipitat wird abfiltriert und getrocknet. Man erhält 300 g eines Produktes, das man in 1 l Isopropanol suspendiert. Nach Rühren bei 55°C während 45 min filtriert man bei 4°C. Die Mutterlaugen vom Filtrieren werden zur Trockne eingengt und in 500 cm<sup>3</sup> Methylisobutylketon aufgenommen, worüber man 5 Volumina Hexan gießt. Das Präzipitat wird abfiltriert, mit Hexan gewaschen und bei 40°C bei vermindertem Druck getrocknet. Man erhält 69 g ungereinigtes PIIB, das 36 % PIIB, 6 % PIIA und kein PIA mehr enthält.

##### Beispiel 8

60 g ungereinigtes PIIB, erhalten wie oben in Beispiel 7 beschrieben, werden in mehreren Stufen durch Chromatographie an einer Nucleosil5C8<sup>R</sup>-Säule (Kieselsäurekugeln 5µm, Durchmesser der Säule 5 cm, Höhe 30 cm) gereinigt und mit einem Eluierungsmittel Wasser/Acetonitril 60/40 perkoliert. Man erhält so 250 mg Pristinamycin IIF (PIIF).

#### Herstellung eines mischkristallinen Produktes:

In den folgenden Beispielen wird gezeigt, daß das Röntgendiffraktionsspektrum des mischkristallinen Produktes unterschiedlich ist vom Spektrum der Komponente der Gruppe B, das nur in dem gleichen Lösungsmittel kristallisiert, wenn es vorhanden ist.

##### Beispiel 9

Das ungereinigte, gemäß Beispiel 7 erhaltene PIIB wird in 190 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst. Man setzt 33g gereinigtes PI (PIA: 81,1 %, PIB: 12 %, PIC: 2,6 %, PID: 1,1 %) zu. Nach 17-stündigem

Rühren bei 20°C erhält man eine Suspension, die bei 4°C abfiltriert wird. Das Produkt wird gewaschen und getrocknet. Nach Umkristallisation bei 100 g/l aus Aceton erhält man 10 g weiße Kristalle, deren Titer an PIIB+PIIF+PIIG 55 % und der Titer an PIA+PIB+PIC+PID 43 % ist.

**Beispiel 10**

250 mg gereinigtes PIIB, erhalten wie nachfolgend in Beispiel 18 beschrieben, wird in 17 cm<sup>3</sup> Ethylacetat gelöst. Man setzt 300 mg gereinigtes PI (PIA: 81,1 %, PIB: 12 %, PIC: 2,6 %, PID: 1,1 %) zu. Nach 20-stündigem Rühren bei 20°C, Abfiltrieren, Waschen und Trocknen erhält man 125 mg weiße Kristalle.

Titer an PIIB+PIIF+PIIG: 56 %, davon PIIB 54 %.

Titer an PIA+PIB+PIC+PID: 43 %.

**Beispiel 11**

560 mg reines PIIB, erhalten wie nachfolgend in Beispiel 18 beschrieben, wird in 5 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst. Man setzt 480 mg PIA (Titer 99,8 %) zu. Man rührt 20 h bei 20°C und filtriert die Suspension ab. Nach Waschen mit 1 cm<sup>3</sup> Aceton und Trocknen während 30 h bei 40°C unter vermindertem Druck (<1 kPa) erhält man 590 mg weiße Kristalle.

Titer an PIIB+PIIF+PIIG: 56 %; davon PIIB 54 %.

Titer an PIA: 43 %.

Die Mutterlaugen der vorhergehenden Kristallisation werden aufgenommen und mit einer neuen Charge von 560 mg PIIB versetzt. Das Massenverhältnis PIIB/PIA ist dann nahe 4. Nach 20 h Rühren, Abfiltrieren, Waschen und Trocknen erhält man 195 mg Kristalle mit einer Reinheit und Zusammensetzung, die identisch sind mit jenen Kristallen, die aus der ersten Kristallisation stammen.

**Beispiel 12**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, wobei man jedoch das PIA durch 480 mg PIB (Titer 97 %) ersetzt, und erhält 820 mg weiße Kristalle, deren Titer an PIIB+PIIF+PIIG 56 % (davon PIIB 54 %) und der Titer an PIB 43 % ist.

**Beispiel 13**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, wobei man 680 mg PIIB und 580 mg PIC (Titer 95 %) in 4 cm<sup>3</sup> Aceton einsetzt, und man erhält 315 mg weiße Kristalle, deren Titer an PIIB+PIIF+PIIG 57 % (davon PIIB 55 %) und der Titer an PI 42 % (davon 37 % PIC) ist.

**Beispiel 14**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, wobei man das PIA durch 480 mg PID (Titer 95 %) ersetzt, und erhält 475 mg weiße Kristalle, deren Titer an PIIB+PIIF+PIIG 55 % (davon PIIB 53 %) und der Titer an PID 39 % ist.

**Beispiel 15**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, wobei man 450 mg PIIB und 380 mg Faktor S (S1: 75,4 %, S4: 20,6 %) in 4 cm<sup>3</sup> Aceton einsetzt, und man erhält 550 mg weiße Kristalle, deren Titer an PIIB+PIIF+PIIG 58 % (davon PIIB 56 %) und der Titer an Faktor S 41 % (davon 37 % S1) ist.

**Beispiel 16**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, ersetzt jedoch das PIA durch 480 mg Faktor S1, und erhält 750 mg weiße Kristalle, deren Titer PIIB+PIIF+PIIG 58 % (davon PIIB 54 %) und der Titer an Faktor S1 41 % ist.

**Beispiel 17**

Man arbeitet wie oben in Beispiel 11 beschrieben, wobei man 224 mg PIIF und 192 mg Faktor S in 2 cm<sup>3</sup> Aceton einsetzt, und man erhält 220 mg weiße Kristalle, deren Titer an PIIF 55 % und der Titer an Faktor S 39 % (davon Faktor S1: 31 %, Faktor S4: 5 %) ist.

Röntgendiffraktionsdiagramme der Produkte der Beispiele 9 bis 17:

In der nachfolgenden Tabelle IV sind die relativen Intensitäten der Hauptlinien angegeben. Die Röntgendiffraktometerdiagramme wurden auf einem Phillips PW1700 Diffraktometer mit Kobaltantikathode durchgeführt. Die Referenz 100 ist für eine Linie mit 15,8 Å angegeben. Die relativen Werte werden durch Messung der Höhe der Linie gesetzt, den kontinuierlichen Untergrund abgezogen.

Tabelle IV

| Netzabstand |       |        |        |        | Produkt des Beispiels |        |        |        |  |
|-------------|-------|--------|--------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--|
| (A)         | Bsp.9 | Bsp.11 | Bsp.12 | Bsp.13 | Bsp.14                | Bsp.15 | Bsp.16 | Bsp.17 |  |
| 15.8        | 100   | 100    | 100    | 100    | 100                   | 100    | 100    | 100    |  |
| 11,8        | 40    | 34     | 35     | 32     | 43                    | 28     | 36     | 21     |  |
| 10.3        | 69    | 52     | 63     | 65     | 50                    | 70     | 80     | 87     |  |
| 9,7         | 38    | 45     | 47     | 44     | 43                    | 40     | 49     | 45     |  |
| 6.4         | 44    | 41     | 51     | 41     | 37                    | 40     | 51     | 39     |  |
| 6.1         | 38    | 41     | 40     | 38     | 43                    | 30     | 40     | 35     |  |
| 5,9         | 75    | 64     | 70     | 63     | 67                    | 74     | 89     | 71     |  |
| 5.8         | 38    | 39     | 47     | 49     | 50                    | 44     | 54     | 35     |  |
| 5.2         | 92    | 75     | 79     | 71     | 70                    | 70     | 91     | 81     |  |
| 5.0         | 67    | 59     | 60     | 60     | 57                    | 54     | 69     | 52     |  |
| 4.7         | 50    | 43     | 53     | 49     | 47                    | 50     | 40     | 42     |  |

Die Röntgendiffraktionsdiagramme sind ähnlich wie die des mischkristallinen Produkts (die Netzabstände der Hauptlinien sind nicht signifikant unterschiedlich). Reinigung einer Komponente der Gruppe A:

#### Beispiel 18

9,3 g des nach Beispiel 9 erhaltenen Produktes werden in 490 cm<sup>3</sup> Methylisobutylketon gelöst. Diese Lösung wird zweimal mit 370 cm<sup>3</sup> einer wässrigen 0,5 N Schwefelsäurelösung extrahiert und dann mit zweimal 150 cm<sup>3</sup> Wasser gewaschen. Die organische Phase wird dann auf ein Volumen von ungefähr 80 cm<sup>3</sup> eingengt, das man auf 5 Volumina Hexan gießt. Das erhaltene Präzipitat wird gewaschen, abfiltriert und getrocknet. Zur Beseitigung des Methylisobutylketons wird es dann zu 100 g/l in Aceton aufgenommen, auf 10 Volumina Hexan gegossen, gewaschen und getrocknet. Man erhält 3,5 g eines Produktes, das gereinigtes PIIB, jedoch kein PI mehr enthält.

Titer PIIB+PIIF+PIIG: ungefähr 95 %, davon 92 % PIIB.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch pharmazeutische, in der Human- oder Veterinärmedizin einsetzbare Massen, die als wirksames Produkt die neue gereinigte Mischung von Streptogramin enthalten, die mindestens eine Komponente der Gruppe B von Streptograminen, verbunden mit der Komponente der Gruppe A der allgemeinen Formel (II) im reinen Zustand oder in Gegenwart eines oder mehrerer verträglicher oder pharmazeutisch zulässiger Streckmittel oder Zusatzstoffe umfaßt. Diese Massen können auf oralem oder topischem Wege eingesetzt werden. Sie können die erfindungsgemäßen Mischung im Zustand einer Mischung von Pulvern, eines mitgefällten Niederschlags oder Mischkristallisats enthalten.

Als Massen zur oralen Verabreichung können Pastillen, Gelkapseln, Pillen, Lyophilisatpulver oder Granulate eingesetzt werden. In diesen Massen kann das wirksame erfindungsgemäße Produkt mit einem oder mehreren inerten Streckmittel(n) oder Zusatzstoffen, wie Saccharose, Lactose oder Stärke vermischt werden. Diese Massen können auch andere Substanzen, wie Streckmittel, beispielsweise ein Schmiermittel, wie Magnesiumstearat enthalten.

Die Massen zur topischen Verabreichung können beispielsweise Cremen, Pomaden oder Lotionen sein.

In der Human- oder Veterinärtherapie sind die erfindungsgemäßen Massen besonders vorteilhaft bei der Behandlung von Infektionen bakteriellen Ursprungs, insbesondere die schweren Infektionen mit grampositiven Kokken. Infektionen mit Staphylokokken (insbesondere die Infektionen mit gegenüber Methicillin resistenten Staphylokokken, Infektionen mit Streptokokken (insbesondere auf die Pneumokokken, die gegen Penicillin und Macroliden resistent sind); sie können auch besonders vorteilhaft zur Behandlung von Infektionen mit Hemophilus, Moraxella catarrhalis, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Mycoplasma pneumoniae, Ureaplasma urealyticum eingesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Massen können auch angewendet werden, insbesondere zur Behandlung von Infektionen der oberen und unteren Atemwege (z.B. zur Behandlung von Lungenentzündungen), zur Behandlung von Hautentzündungen, zur Langzeitbehandlung von Knochen- oder Gelenkentzündungen, zur Behandlung oder Prophylaxe von Endokarditis in der Zahn- und Harnwegchirurgie, zur Behandlung von übertragbaren Geschlechtskrankheiten, ebenso wie zur Behandlung von bakteriellen und parasitären, opportunistischen Infektionen, die in der SIDA auftreten, und zur Prophylaxe des Staphylokokkenrisikos bei Immunschwäche verwendet werden.

Im allgemeinen bestimmt der Arzt die Dosis, die er am geeignetsten im Hinblick auf Alter, Gewicht, Grad der Entzündung und alle Faktoren, die für die zu behandelnde Sache dienlich sind, hält. Im allgemeinen liegen die Dosen zwischen 0,4 und 3,5 g wirksames Produkt, bei 2 oder 3 Einnahmen pro Tag auf oralem Wege für einen Erwachsenen.

Die folgenden, nicht einschränkend angegebenen Beispiele veranschaulichen die erfindungsgemäßen Massen:

**Beispiel A**

Man stellt nach herkömmlichen Techniken opake Gelkapseln mit einer Dosis von 250 mg der mischkristallinen Mischung PIB/PIIB her.

**Beispiel B**

Man stellt nach herkömmlichen Techniken opake Gelkapseln mit einer Dosis von 250 mg der mischkristallinen Mischung Faktor S/PIIB her.

**Beispiel C**

Man stellt nach herkömmlichen Techniken Pastillen mit einer Dosis von 384 mg wirksames Produkt mit folgender Zusammensetzung her:

- PIB/PIIB (45 %/55 %) ..... 384 mg
- Hydroxypropylmethylcellulose ..... 25 mg
- Magnesiumstearat ..... 35 mg
- kolloidales Siliciumoxid ..... 14 mg
- Stärke ..... Rest auf 700 mg

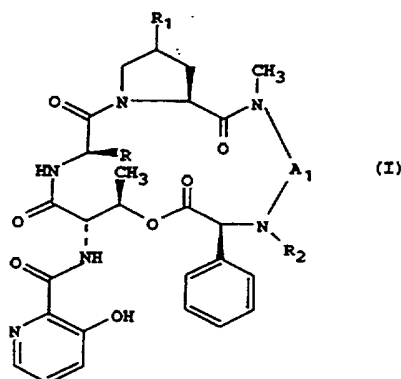
**Beispiel D**

Man stellt nach herkömmlichen Techniken Pastillen mit einer Dosis von 384 mg wirksames Produkt mit folgender Zusammensetzung her:

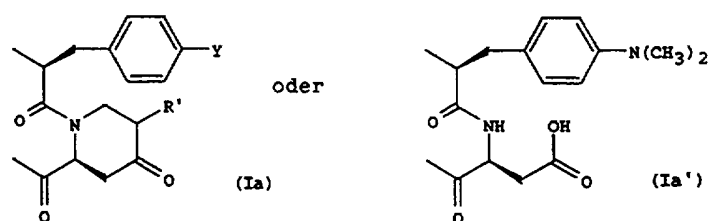
- Faktor S/PIIB (45 %/55 %) ..... 384 mg
- Hydroxypropylmethylcellulose ..... 25 mg
- Magnesiumstearat ..... 35 mg
- kolloidales Siliciumoxid ..... 14 mg
- Stärke ..... Rest auf 700 mg

**Patentansprüche:**

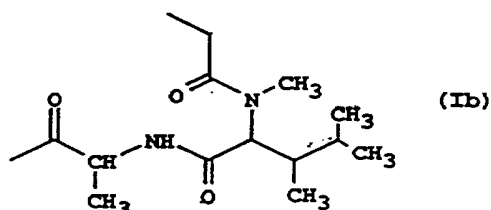
1. Gereinigte Form von Streptograminen, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus der Mischung einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen der allgemeinen Formel



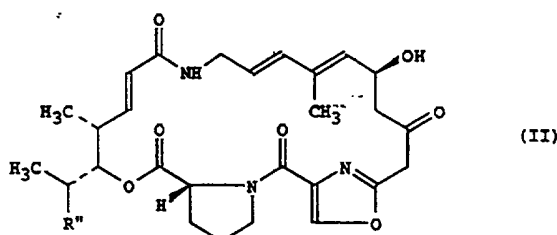
worin A<sub>1</sub> ein Rest der allgemeinen Formeln Ia oder Ia'



ist, in denen R' Wasserstoff oder die Hydroxygruppe und Y Wasserstoff, die Methylamino- oder Dimethylaminogruppe bedeuten und worin in den Formeln I bzw. Ia R Ethyl ist oder, wenn R' Wasserstoff ist, R auch Methyl sein kann und R1 und R2 Wasserstoff bedeuten, oder worin A<sub>1</sub> ein Rest der Formel Ib ist



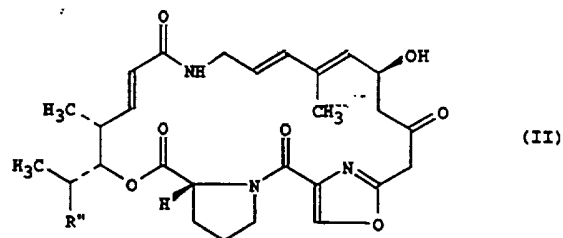
und in Formel 1 R Isobutyl, R1 Hydroxy und R2 Methyl sind, und aus einer oder mehreren "Neben"-Komponenten der Gruppe A von Streptograminen der allgemeinen Formel



worin R'' Wasserstoff oder Methyl oder Ethyl ist, im Zustand eines Mischkristallisats, eines mitgefällten Niederschlags oder einer Mischung von Pulvern besteht.

2. Gereinigte Form von Streptograminen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie weniger als 6 % Verunreinigungen enthält.
3. Gereinigte Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1 oder 2 bestehend aus einer Mischung in Anteilen von 10/90 bis 90/10 (Gewicht) einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen und einer oder mehrerer Nebenkomponten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 im Zustand eines mitgefällten Niederschlags oder einer Mischung von Pulvern.
4. Gereinigte Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1 bis 3 bestehend aus einer Mischung von 20/80 bis 80/20 (Gewicht) einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen und einer oder mehrerer Nebenkomponten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 im Zustand eines mitgefällten Niederschlags oder einer Mischung von Pulvern.
5. Gereinigte Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine mischkristalline Zusammensetzung einer oder mehrerer Komponenten der Gruppe B von Streptograminen und einer oder mehrerer Nebenkomponten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 in einem konstanten molaren Verhältnis von ungefähr 1/2 ist.
6. Verwendung einer mischkristallinen Zusammensetzung nach Anspruch 5 zur Herstellung einer gereinigten Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
7. Verwendung einer mischkristallinen Zusammensetzung nach Anspruch 5 zur Herstellung einer Nebenkomponten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1.

8. Verfahren zur Herstellung einer gereinigten Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man die Komponente(n) der Gruppe A von Streptograminen mit der (den) Komponente(n) der Gruppe B von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 mischkristallisiert und dann zutreffendenfalls die erhaltene mischkristalline Zusammensetzung mit der (oder den) passenden Komponente(n) der Gruppe A oder B vermengt, um eine Mischung in den gewünschten Verhältnissen zu erhalten.
9. Verfahren zur Reinigung einer Nebenkomponte der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man eine mischkristalline Zusammensetzung dieser Komponente mit einer oder mehreren Komponenten der Gruppe B von Streptograminen herstellt und dann die Komponente(n) der Gruppe B durch Säureextraktion einer Lösung der mischkristallinen Zusammensetzung in einem Keton entfernt.
10. Gereinigte Form der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1, die mittels einer mischkristallinen Zusammensetzung nach Anspruch 5 erhalten wird.
11. Komponente der Gruppe A von Streptograminen der allgemeinen Formel II:



worin R'' Wasserstoff oder eine Methyl- oder Ethylgruppe ist.

12. Verwendung einer oder mehrerer Nebenkompenten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 zur Herstellung von mitgefällten Niederschlägen mit einer oder mehreren Komponenten der Gruppe B von Streptograminen.
13. Mischkristalline Zusammensetzung bestehend aus einer oder mehreren Komponenten der Gruppe B von Streptograminen und einer oder mehrerer Nebenkompenten der Gruppe A von Streptograminen entsprechend der Definition in Anspruch 1 Pharmazeutische Masse, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus einer gereinigten Form von Streptograminen nach einem der Ansprüche 1bis 5 in reinem Zustand oder in Gegenwart irgendeines verträglichen oder pharmazeutisch zulässigen Streckmittels oder Zusatzstoffs besteht.

Hiezu 0 Blatt Zeichnungen