

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 4598

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22.06.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.07.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/187492**

(33) Země priority: **JP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15.05.2002**
(Věstník č. 5/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/JP00/04096**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/02390**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 401/14

A 61 K 31/4709

A 61 P 31/04

(71) Přihlašovatel:

WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD.,
Osaka, JP;

(72) Původce:

Yazaki Akira, Hiroshima, JP;
Niino Yoshiko, Hiroshima, JP;
Kuramoto Yasuhiro, Hiroshima, JP;
Hirao Yuzo, Hiroshima, JP;
Ohshita Yoshihiro, Hiroshima, JP;
Hayashi Norihiro, Hiroshima, JP;
Amono Hirotaka, Hiroshima, JP;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Sloučenina, farmaceutický prostředek, jeho
použití a způsob léčby

(57) Anotace:

Řešení popisuje 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-athylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylovou kyselinu nebo její sůl a farmaceutický prostředek obsahující uvedenou sloučeninu. Tato sloučenina má při orální aplikaci extrémně dlouhý poločas rozpadu v krvi a přitom si uchovává vysokou antibakteriální účinnost a nízkou toxicitu, což ji předurčuje k širokému použití při prevenci a terapii infekčních onemocnění lidí a zvířat.

Sloučenina, farmaceutický prostředek, jeho použití a způsob léčby

Oblast techniky

Tento vynález se týká derivátů chinolinkarboxylové kyseliny a jejich solí, které mají výborné antimikrobiální účinky a mohou se orálně absorbovat, a také antimikrobiálních činidel, které uvedené látky obsahují.

Dosavadní stav techniky

Sloučeniny, které mají základní strukturu chinolinkarboxylové kyseliny, jsou známy, že zahrnují řadu sloučenin použitelných jako syntetická antimikrobiální činidla, protože obsahují antimikrobiální aktivity a antimikrobiální spektrum. Mezi takové sloučeniny patří norfloxacin (popisuje se v dokumentu JP 53-141 286 A), enoxacin (popisuje se v dokumentu JP 55-31 042 A), ofloxacin (JP 57-46 986 A), ciproflacin (JP 58-74 667 A), tosufloxacin (popisuje se v dokumentu JP 60-228 479) a podobně. Tyto sloučeniny se v širokém spektru používají jako terapeutická činidla v případě infekčního onemocnění.

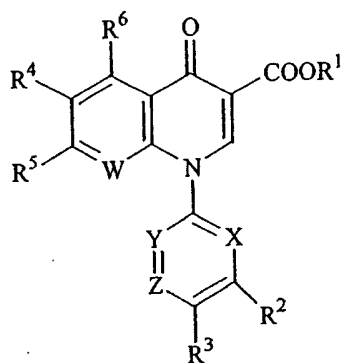
Tyto sloučeniny však nemají dostatečné antimikrobiální aktivity, intestinální absorpci a metabolickou stabilitu a stále zahrnují řadu problémů, které je nutné řešit, takové jako je snížení fototoxicity a cytotoxicity. Tyto skutečnosti se týkají jak chinolinkarboxylové kyseliny, tak i jejích derivátů. V současné době existují bakterie rezistentní na řadu farmaceutických prostředků, což je také problém.

Podstata vynálezu

Vynález popisuje vznik antimikrobiálního činidla, které je klinicky přijatelné, vykazuje skvělý antimikrobiální

potenciál, metabolickou stabilitu a absorbuje se ve střevech a má mizivé vedlejší účinky.

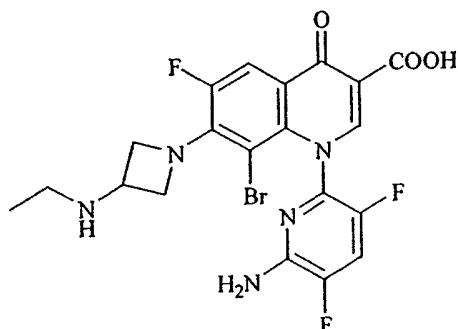
Za daných okolností se provedl rozsáhlý výzkum, přičemž vznikly farmaceutické prostředky s výborným klinickým využitím. Popisují se deriváty pyridonkarboxylové kyseliny obecného vzorce I



(I)

kde symbol R^1 reprezentují atom vodíku nebo skupinu chránící karboxyl, symbol R^2 reprezentuje hydroxylovou skupinu, nižší alkoxylovou skupinu nebo substituovanou nebo nesubstituovanou aminoskupinu, symbol R^3 reprezentuje atom vodíku nebo atom halogenu, symbol R^4 reprezentuje atom vodíku nebo atom halogenu, symbol R^5 reprezentuje atom halogenu nebo substituovanou či nesubstituovanou saturevanou cyklickou aminoskupinu, symbol R^6 reprezentuje atom vodíku, halogenový atom, nitroskupinu nebo chráněnou nebo nechráněnou aminoskupinu, symboly X, Y a Z mohou být stejné nebo různé a každý nezávisle reprezentuje atom vodíku, $-CH=$ nebo $-CR^7=$, kde symbol R^7 reprezentuje nižší alkylovou skupinu, halogenový atom nebo kyanoskupinu s výjimkou, že alespoň jeden symbol X, Y a Z reprezentuje atom dusíku a symbol W reprezentuje atom dusíku nebo $-CR^8=$, ve kterém symbol R^8 reprezentuje atom vodíku, atom halogenu nebo nižší alkylovou skupinu a jeho sole mají výborný antimikrobiální účinek a jsou proto použitelné jako syntetická antimikrobiální činidla a popisují se v dokumentu WO 97/11 068 A).

Výsledkem dalšího výzkumu jsou shora popsané deriváty pyridonkarboxylové kyseliny obecného vzorce I 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylamino-azetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová kyselina, které mají 6-amino-3,5-difluoropyridinylovou skupinu v poloze 1, ethylaminoazetidinylovou skupinu v poloze 7 a atom bromu v poloze 8 a jsou vyjádřeny následujícím obecným vzorcem



a jejich sole, které mají významné vlastnosti. K těmto vlastnostem patří extrémně dobrý antimikrobiální potenciál a široké antimikrobiální spektrum, které překrývá i rezistentní bakterie, nevykazují fototoxicitu, což je toxicita specifická pro chinolin, a vykazují snížení hypertenze a zanedbatelné vedlejší účinky na kůži, jako je vyrážka. Pak známé sloučeniny podobných struktur vykazují dlouhý čas rozpadu v krvi, extrémně vysokou biologickou využitelnost a jsou velmi účinná jako preventivní a terapeutická činidla v případě různých infekčních onemocnění.

Vynález popisuje 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylamino-azetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylovou kyselinu (nazvanou „sloučenina 1“) nebo její sůl.

Vynález popisuje farmaceutický prostředek, který obsahuje jako aktivní složku sloučeninu 1 nebo její sůl.

Vynález popisuje farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu 1 nebo její sůl a farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález dále popisuje použití sloučeniny 1 nebo její sole jako terapeutický prostředek.

Vynález dále popisuje způsob léčby infekčních onemocnění, které zahrnuje aplikaci sloučeniny 1 nebo její sole.

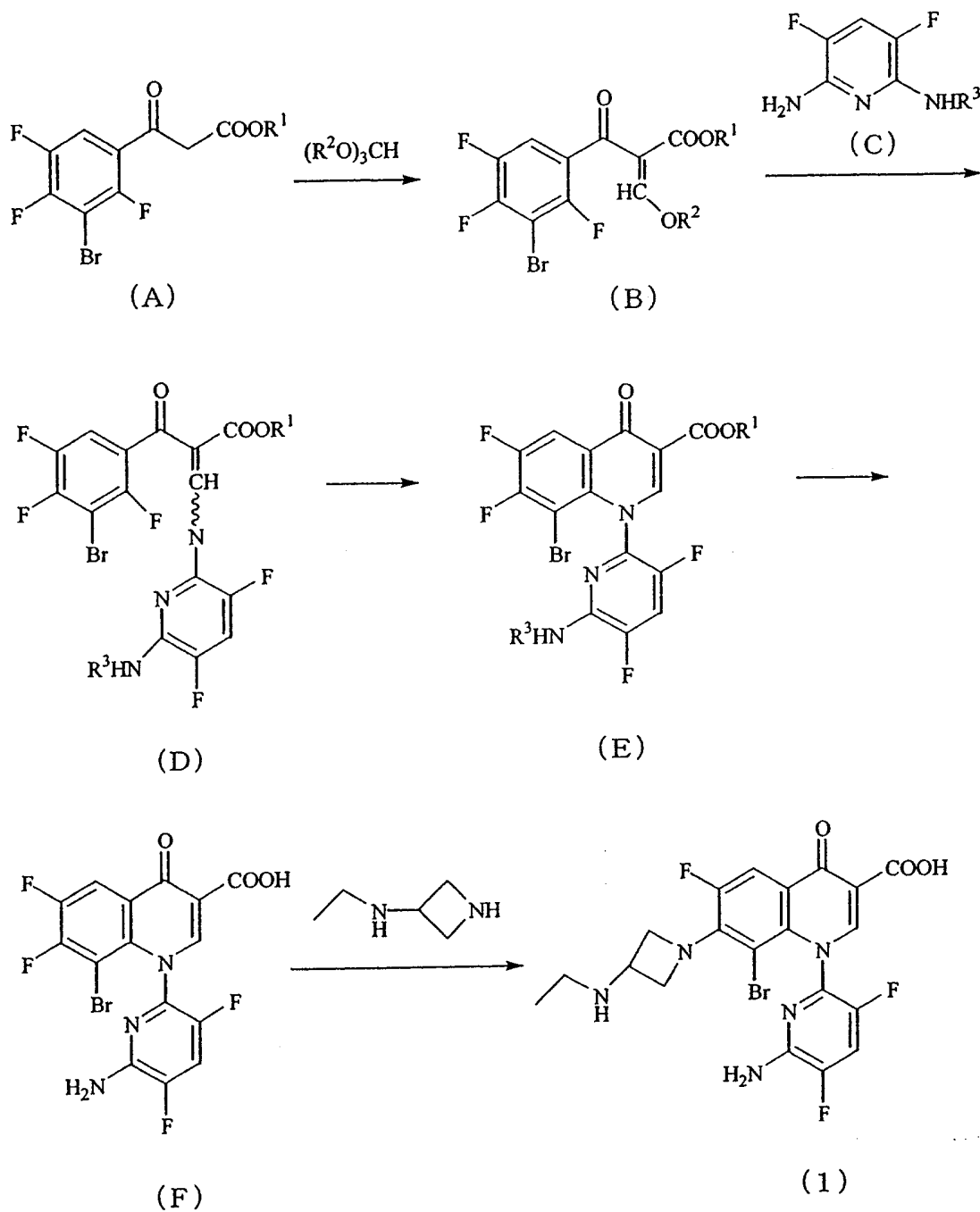
Podstata vynálezu

Sloučenina 1 podle vynálezu může tvořit sole kyselou i bazickou adicí. Je nutné poznamenat, že tyto látky zahrnují sloučeniny bóru tvořící cheláty.

Příklady kyselých adičních solí mohou zahrnovat (a) sole s minerálními kyselinami, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová a kyselina fosforečná, (b) sole s organickými karboxylovými kyselinami, jako je kyselina mravenčí, kyselina octová, kyselina citronová, kyselina trichloroctová, kyselina trifluoroctová, kyselina fumarová a kyselina maleinová a (c) sole kyseliny sulfonové, jako je methansulfonová kyselina, benzensulfonová kyselina, p-toluensulfonová kyselina, mezitylensulfonová kyselina a naftalensulfonová kyselina, zatímco příklady bazických adičních solí mohou zahrnovat (a') sole alkalických kovů, jako je sodík nebo draslík, (b') sole z kovů alkalických zemin, jako je vápník a hořčík, (c') amonné sole, (d') sole organických bází obsahující dusík, jako je trimethylamin, triethylamin, tributylamin, pyridin, N,N-dimethylanilin, N-methylpiperidin, N-methylmorfolin, diethylamin, cyklohexylamin, prokain, dibenzylamin, N-benzyl- β -fenetylamin, 1-efenamin a N,N'-dibenzylethyldiamin. Příklady sloučenin bóru jsou halidy bóru, jako je fluorid boritý a nižší acyloxyboroskupina, jako je acetoxyborová skupina. Z těchto kyselých adičních solí se preferují maleáty, methansulfonát, p-toluensulfonát a zvláště se preferuje kyselina chlorovodíková.

Sloučenina 1 nebo její sole podle vynálezu se mohou existovat ne pouze jako nerozpustné formy, ale mohou také existovat ve formě hydrátu nebo solvátu. Sloučeniny podle vynálezu vykazují všechny krystalické formy hydrátu a solvátů.

Sloučenina 1 nebo její sůl podle vynálezu se může produkovat požadovaným způsobem. Příklad takového způsob je možné ilustrovat následujícím způsobem:



kde symbol R^1 a R^2 reprezentuje nižší alkylové skupiny a symbol R^3 reprezentuje atom vodíku nebo skupinu chránící aminoskupinu (jako je například t-butyl, benzyl, p-methoxybenzyl nebo 1,1,3,3-tetramethylbutyl).

Sloučenina podle vynálezu se může získat reakcí esteru ortoformátu nebo methylformátu se sloučeninou vzorce A za vzniku derivátu akrylátesteru vzorce B, reakcí derivátu akrylátesteru s aminosloučeninou vzorce C za vzniku sloučeniny vzorce D, přičemž se sloučeninou vzorce D se provede cyklizační reakce za vzniku sloučeniny vzorce E, která hydrolyzuje sloučeninu vzorce E na sloučeninu vzorce F a pak reaguje sloučenina vzorce F s 3-ethylaminoazetidinem.

Reakce mezi sloučeninou vzorce A a ortoformátesterem se může provést v obecném případě při teplotě 0 °C až 160 °C, přičemž se upřednostňuje teplota 50 °C až 150 °C a reakční čas může v obecném případě být 10 minut až 48 hodin, přičemž se upřednostňuje 1 až 10 hodin. Ortoformátester se přednostně může použít v ekvimolárním množství nebo ve větším množství, což se vztahuje k přibližné hodnotě 1 až 10-ti násobek hodnoty sloučeniny vzorce A. Preferuje se přidání reakčního promotoru, kterým je anhydrid kyseliny karboxylové, jako je anhydrid kyseliny octové. Tento anhydrid kyseliny karboxylové se může přednostně použít v ekvimolárním množství nebo ve větším množství vzhledem ke sloučenině vzorce A, přičemž se přednostně používá molární množství 1 až 10-ti násobek množství sloučeniny A.

Reakce se sloučeninou vzorce C se provede buď způsobem bez použití rozpouštědla nebo rozpouštěním ve vhodném rozpouštědle. Při této reakci se použije libovolné rozpouštědlo, které neovlivňuje reakci. Příkladem jsou aromatické uhlovodíky, jako je benzen, toluen a xylen, ethery, jako jsou diethylether, tetrahydrofuran, dioxan, monoglym a diglym, alifatické uhlovodíky, jako je pentan, hexan, heptan a ligroin, halogenované uhlovodíky, jako je methylenchlorid, chloroform a

chlorid uhličitý, aprotická polární rozpouštědla, jako je dimethylformamid a dimethylsulfoxid a alkoholy, jako je methanol, ethanol a propanol. Tato reakce se může provést v obecném případě při teplotě 0 až 150 °C, přičemž se upřednostňuje teplota 0 až 100 °C. Reakční čas je v obecném případě 10 minut až 48 hodin. Sloučenina vzorce C se může použít v ekvimolárním množství nebo ve vyšším množství vztaženo na sloučeninu vzorce A. Významné je molární množství tvořící přibližně jednonásobek až dvojnásobek množství sloučeniny vzorce A.

Při jiném způsobu acetál, jako je N,N-dimethylformamiddimethylacetál nebo N,N-dimethylformamiddiethylacetál reagoval se sloučeninou vzorec A, pak následovala další reakce se sloučeninou vzorce C za vzniku sloučeniny vzorce D. V reakci s acetálem je možné použít libovolné rozpouštědlo, které neovlivňuje reakci. Příklady jsou uvedené shora v textu. Tato reakce se provedla v obecném případě při teplotě 0 °C až 150 °C, přičemž se upřednostňuje teplota 100 °C a reakční čas může být v rozmezí od 10 minut do 48 hodin, přičemž se upřednostňuje 1 až 10 hodin.

Dále reakce, kde sloučenina vzorce D vstupuje do cyklizační reakce, aby vznikla sloučenina vzorce E, je provedena v přítomnosti nebo nepřítomnosti základní sloučeniny rozpuštěné v rozpouštědle. V této reakci je možné použít libovolné rozpouštědlo, které ovlivňuje reakci. Příkladem jsou aromatické uhlovodíky, jako je benzen, toluen a xylen, ethery, jako je diethylether, tetrahydrofuran, dioxan, monoglym a diglym, halogenované uhlovodíky, jako je methylenchlorid, chloroform a chlorid uhličitý, aprotické polární rozpouštědlo, jako je dimethylformamid a dimethylsulfoxid a alkoholy, jako je methanol, ethanol a propanol. Jako bazické sloučeniny se mohou použít například alkalické kovy, jako je metalický sodík, metalický draslík, hydridy kovů, jako je hydrid sodíku a hydrid vápníku, anorganické sole, jako je hydroxid sodný,

hydroxid draselný, uhličitan sodný a uhličitan vápenatý, alkoxidy, jako je natriummethoxid, natriumethoxid a kalium-t-butoxid, fluoridy kovu, jako je fluorid sodný a fluorid draselný a organické báze, jako je triethalamin a 1,8-diaza-bicyklo[5,4,0]undecen (DBU). Rozmezí teploty reakce je v obecném případě od 0 do 200 °C, přičemž se upřednostňuje teplota od 0 °C do 200 °C, více se upřednostňuje teplota od teploty místnosti do 180 °C a reakce může probíhat po dobu 5-ti minut až 24 hodin. Bazická sloučenina se může použít v ekvimolárním množství nebo v množství větším než je množství sloučeniny vzorce D. Toto množství je přibližně 1 až 2 násobek sloučeniny vzorce D.

Eliminace skupiny chránící karboxylovou skupinu jako je symbol R^1 a skupina chránící aminoskupinu, jako je symbol R^3 , hydrolýzou sloučeniny vzorce E dává možnému vzniku sloučeniny vzorce F.

Vedle hydrolýzy je možné aplikovat normální podmínky hydrolýzy. Hydrolýzu je možné ovlivnit například přítomností bazické sloučeniny, jako je hydroxid sodný, hydroxid draselný, uhličitan sodný nebo uhličitan draselný, minerální kyselinu, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová nebo kyselina bromovodíková nebo organická kyselina, jako je p-toluensulfonová kyselina v rozpouštědle, jako je například voda, alkohol, jako je methanol, ethanol nebo propanol, ether jako je tetrahydrofuran nebo dioxan, keton, jako je aceton nebo methylethylketon nebo kyselina octová nebo směs rozpouštědel. Reakce může probíhat v obecném případě při teplotě místnosti až 180 °C, přičemž se upřednostňuje teplota místnosti až 140 °C a reakční doba může probíhat v obecném případě v rozmezí 1 až 24 hodin.

Dále sloučenina vzorce F reagovala s 3-ethalamino-azetidinu, aby se získala sloučenina 1 podle vynálezu.

Tato reakce se může provádět v rozpouštědle, které neovlivňuje reakci například aromatického uhlovodíku, jako je

benzen, toluen nebo xylen, alkoholu jako je methanol nebo ethanol, etheru, jako je tetrahydrofuran, dioxanu nebo monoglymu, halogenovaného uhlovodíku, jako je methylenchlorid, chloroform nebo chlorid uhličitý, aprotického polárního rozpouštědla, jako je dimethylformamid, diethylsulfoxid nebo N-methylpyrrolidon, acetonitril nebo pyridin, v přítomnosti kyselého neutralizačního činidla, je-li potřeba, například uhličitán sodný, uhličitán vápenatý, triethylamin nebo 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undecen (DBU) při teplotě místnosti až 160 °C. Reakční doba je v rozmezí několika minut až 48 hodin, zatímco se preferuje rozmezí od 10 minut do 24 hodin. 3-ethylaminoazetin se může použít v ekvimolárním množství nebo v množství větším než je množství sloučeniny vzorce F, přičemž se upřednostňuje molární množství, které je 1 až 5 krát větší než je množství sloučeniny vzorce F.

Sloučenina 1 se může převést na kyselou adiční sůl nebo bazickou adiční sůl způsobem známým v oboru.

Tato reakce se může provést v polárním rozpouštědle, jako je například alkohol, kterým je methanol nebo ethanol nebo voda v přítomnosti minerální kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová nebo kyselina fosforečná, organická karboxylová kyselina, jako je kyselina mravenčí, kyselina octová, kyselina citronová, kyselina trichloroctová, trifluoroctová, kyselina fumarová nebo kyselina maleinová, organická sulfonová kyselina, jako je methansulfonová kyselina, benzensulfonová kyselina, p-toluensulfonová kyselina, mesitylensulfonová kyselina nebo naftalensulfonová kyselina, bazická sloučenina jako je hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid vápenatý nebo hydroxid hořečnatý nebo organická báze obsahující dusík, jako je amoniak, triethylamin, trimethylamin, tributylamin, pyridin, N,N-dimethylanilin, N-methylpiperidin, N-methylpiperidin, N-methylmorfolin, diethylamin, cyklohexylamin, prokain, dibenzylamin,

N-benzyl- β -fenethylamin, 1-efenamin nebo N,N-di-benzylethylendiamin, při teplotě místnosti nebo při zahřívání.

Počáteční sloučenina vzorce A se může produkovat například způsobem, který se popisuje v jedné z následujících publikací: J. Heterocyclic. Chem., 22, 1033 (1985), Liebigs Ann. Chem., 29 (1987), J. Med. Chem., 31, 991 (1988), J. Org. Chem., 35, 930 (1970), J. Med. Chem., 29, 2363 (1986), J. Fluorin. Chem. 28, 361 (1985), v dokumentu JP 62-246 541 A, JP 63-26 272 A, JP 63-145 268 A, JP 63-198 664 A, JP 63-264 461 A, JP 63-104 974 A.

Na druhou stranu reagující sloučenina vzorce C se produkovala požadovaným způsobem. Tato sloučenina se může produkovat substitucí aminového derivátu za atom halogenu vázaného na atomu uhlíku, který je členem 6-ti členného kruhu v souladu se známou substituční reakcí halogen-amin tak, jak se popisuje v dokumentu WO 97/11 068 A nebo WO 97/38 971 A.

Sloučenina podle vynálezu se získala způsobem popsáním shora v textu a čistila se způsobem známým v oboru. V závislosti na podmínkách pro izolaci a čištění se získaly ve formě sole nebo ve formě volné karboxylové kyseliny nebo volného aminu. Tyto dvě formy se mohou přeměnit jedna na druhou, jestli je to možné a sloučenina podle vynálezu se může produkovat v uvedené formě.

Sloučenina 1, která má 6-amino-3,5-difluoropyridinylovou skupinu v poloze 1, ethylaminoazetidinylovou skupinu v poloze 7 a atom bromu v poloze 8, a její sole se získaly způsobem popsáním shora v textu, stejně jako se bude popisovat v testech 1 až 4, vykazují účinky, které se nedají předpovídat z korelacemi struktura - aktivita akceptovanými do dnešního dne ve spojení s deriváty pyridonkarboxylové kyseliny obecného vzorce I, která má dlouhý poločas rozpadu, když se aplikuje orálně a vykazuje extrémně vysokou hodnotu biologické dostupnosti až 78 %, jak se vypočítalo z AUC až 24 hodin po aplikaci. Zbývající skvělé vlastnosti jsou extrémně vysoký

potenciál a nevykázaná fototoxicita, která odpovídá toxicitě specifické pro chinolin. Dále sloučenina I a její sole také mají výborné vlastnosti, které snižují hypertenzi a vedlejší účinek na kůži, jako je dráždění, pak známé sloučeniny mají podobné struktury.

Sloučenina 1 a její sole podle vynálezu mohou tvořit v prostředcích vhodných pro parenterální aplikaci antimikrobiální činidlo spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem. Mohou se aplikovat ve formě injekce, rektální aplikací nebo instalací nebo orální aplikací a mohou se vyskytovat v pevné nebo kapalně formě. Příklady přípravy injekce mohou zahrnovat farmaceuticky přijatelné, sterilní vodné nebo nevodné roztoky, suspenze a emulze. Příkladem nevodných nosičů, ředidel, rozpouštědel a vehiklů jsou propylenglykol, polyethylenglykol, rostlinné oleje, například olivový olej a organické estery, které je možné zavést injekcí, například ethyloleját. Takové roztoky mohou také obsahovat aditiva, jako jsou ochranná činidla, zvlhčovací činidla, emulgační činidla a dispergační činidla. Tyto injekce se mohou sterilizovat například filtrací přes bakteriální filtry nebo přidáním bezprostředně před použitím sterilizujícího činidla, které jsou ve formě sterilního pevného prostředku rozpustného v některém jiném sterilním médiu, které je vhodné pro zavedení injekcí.

K prostředkům vhodným pro aplikaci kapáním, přidat vedle sloučenin podle vynálezu rozpouštěcí činidla, ochranná činidla, isotonická činidla, zahušťovací činidla.

Příklady takových pevných prostředků vhodných pro orální aplikaci zahrnují kapsule, tablety, pilule, prášek a granule. Při formulaci takových pevných prostředků, sloučeniny podle vynálezu se v obecném případě smíchají s alespoň inertním plnidlem například sacharózou, laktózou nebo škrobem. Při vytvoření prostředků, materiálů jiných než je inertní plnidlo, se mohou také použít lubrikační prostředky (například stearát

hořečnatý). V kapsulích, tabletách a pilulích se mohou použít pufry. Na tablety a pilule je možné aplikovat střevní potah.

Příklady kapalných přípravků pro orální aplikaci mohou zahrnovat farmaceuticky přijatelné emulze, roztoky, suspenze, sirupy a elixíry, které mohou obsahovat běžně používaná inertní ředidla, jako je například voda. Vedle inertních ředidel se mohou také přidávat aditiva, jako jsou smáčecí činidla, emulgační činidla nebo suspenzační činidla, sladidla a příchutě.

Přípravky pro rektální aplikaci mohou obsahovat vedle sloučenin podle vynálezu excipienty jako je kakaové máslo a vosk vhodný pro rektální čípky.

Dávka každé sloučeniny podle vynálezu kolísá v závislosti na vlastnostech sloučeniny, způsobu aplikace, požadované době léčby a jiných faktorech. V obecném případě denní dávka může přednostně být v rozmezí od 0,1 do 1 000 mg/kg, ale více se preferuje dávka v rozsahu od 0,5 do 100 mg/kg. Dále tato denní dávka se může aplikovat ve dvou až čtyřech částech podle nutnosti.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1: Syntéza ethyl-8-bromo-1-[6-(t-butylamino)-3,5-difluoropyridin-2-yl]-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylátu

V roztoku chloroformu (objem 5 ml), ve kterém se připravil ethyl-3-ethoxy-2-(3-bromo-2,4,5-trifluorobenzoyl)akrylát z ethyl-3-bromo-2,4,5-trifluorobenzoylacétátu (1,32 g) se rozpustil způsobem známým v oboru. Přidávání 2-amino-6-(t-butylamino)-3,5-difluoropyridinu do reakční směsi se sledovalo TLC až do okamžiku celkové konverze na derivát aminoakrylátu. Reakční směs se koncentrovala za sníženého tlaku a získal se žlutý pevný zbytek. Ke zbytku nevodného uhličitanu draselného (v množství 1,2 g) se přidal N,N-dimethylformamid (o objemu 2

ml) a směs se míchala při teplotě 90 °C po dobu 15 minut. Směs se nechala zchladnout. K reakční směsi se přidal chloroform (o objemu 30 ml) a destilovaná voda (o objemu 300 ml) a směs se nechala separovat do jednotlivých vrstev. Vrstva chloroformu se dvakrát promyla destilovanou vodou (o objemu 300 ml), sušila se přes nevodný síran hořečnatý, koncentrace se zvýšila za sníženého tlaku a pak se nechala stát. Sraženina se získala filtrací a promyla se ethanolem a diisopropyletherem za účelem získat sloučeninu uvedenou v názvu (v množství 1,41 g) ve formě bezbarvého prášku.

Teplota tání je 198 °C až 203 °C

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$: 1,38(s, 9H), 1,40(t, $J = 7\text{Hz}$, 3 Hz), 4,04 (q, $J = 7\text{Hz}$, 2H), 4,71 (brs, 1H), 7,20 (dd, $J = 8\text{Hz}$, 10 Hz, 1H), 8,36 (dd, $J = 9\text{Hz}$, 10 Hz, 1H), 8,54(s, 1H).

Příklad 2: Syntéza 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové kyseliny

Ethyl-8-bromo-1-[6-(t-butylamino)-3,5-difluoropyridin-2-yl]-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylát (v množství 1,38 g) se přidal ke kapalně směsi 12 % kyseliny chlorovodíkové (v množství 3,5 ml) a octové (v množství 3,5 ml) a směs se nechala zahřívát po dobu 5-ti hodin za stálého míchání a zpětného toku. Po přidání destilované vody (v množství 5 ml) se směs nechala zchladnout. Sraženina se shromáždila filtrací a následně se promyla etanolem a diisopropyletherem za účelem získat sloučeninu uvedenou v názvu (v množství 1,10 g) ve formě bezbarvého prášku.

Bod tání: 272 °C až 278 °C

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})\delta$: 6,80(s, 2H), 7,99(t, $J=9\text{Hz}$, 1H), 8,38(t, $J=9\text{Hz}$, 1H), 8,93(s, 1H).

Příklad 3: Syntéza 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové kyseliny (sloučenina 1)

Smíchal se 3-ethylaminoazetidin (v množství 700 mg), 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová kyselina (v množství 1,5 g), N-methylpyrrolidin (v množství 2,0 g) a dimethylsulfoxid (v množství 4,5 g) a směs se zahřála za stálého míchání při teplotě 40 °C po dobu 24 hodin. Pak se směs nechala zchladnout, přidal se isopropylether (v množství 10 ml) a směs se míchala a odstranila se čirá vrstva na povrchu směsi. Stejný postup se opakoval ještě jednou a koncentrace zbytku se zvýšila za sníženého tlaku. Přidal se ethanol (v množství 5 ml) a směs se nechala zahřívát za stálého míchání při teplotě 70 °C po dobu 30 minut. Sraženina se sebrala filtrací. Vznikla sloučenina uvedená v názvu v množství 1,38 g) ve formě bezbarvého prášku.

Bod tání je 195 °C až 196 °C.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) δ : 0,99 (t, $J=7\text{Hz}$, 3H), 2,48 (q, $J=7\text{Hz}$, 2H), 4,05-4,15 (m, 2H), 4,35-4,42 (m, 1H), 4,60-4,69 (m, 2H), 6,74 (brs, 2H), 7,88 (d, $J=14\text{Hz}$, 1H), 7,93 (t, $J=9\text{Hz}$, 1H), 8,69 (s, 1H).

Příklad 4: Syntéza maleátu 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové kyseliny (sloučenina 2)

Ke kyselině 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové (1,38 g) se přidal ethanol a ke směsi se postupně přidávala kyselina maleinová (400 mg). Směs se zahřála za stálého míchání při teplotě 70 °C po dobu 5 hodin. Pak se směs nechala zchladit a pevné látky se shromáždily filtrací. Pevné látky se promyly ethanollem.

Získala se sloučenina uvedená v názvu v množství 1,33 g ve formě bezbarvého prášku.

Bod tání je 196 °C až 199 °C.

^1H -NMR(D_6 -DMSO) δ : 1,16(t, $J=7\text{Hz}$, 3H), 2,93(q, $J=7\text{Hz}$, 2H), 3,99-4,06(m, 1H), 4,41-4,48(m, 1H), 4,50-4,56(m, 1H), 4,67-4,74(m, 1H), 4,74-4,82(m, 1H), 6,02(s, 2H), 6,76(brs, 2H), 7,95(t, $J=9\text{Hz}$, 1H), 7,97(d, $J=14\text{Hz}$, 1H), 8,75(s, 1H).

Testy

Výsledky testů provedených se sloučeninami podle vynálezu, kde se hodnotily jejich antimikrobiální účinky, fototoxicita a distribuce *in vivo* se popisují v sekci testy 1 až 4. Jako sloučeniny vhodné pro srovnání se použily sloučeniny popsané v dokumentu WO 97/11 068 A a obecně dostupný ciprofloxacin (CPFX) a levofloxacin (LVFX).

Porovnávací sloučenina 1:

kyselina 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-methylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová

Porovnávací sloučenina 2:

kyselina 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-chloro-7-(3-methylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová

CPFX:

1-cyklopropyl-6-fluoro-7-(1-piperadiny)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-karboxylová kyselina

LVFX:

S(-)-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido[1,2,3-de][1,4]benzoxazin-6-karboxylová kyselina

(1) Antimikrobiální účinky

Minimální koncentrace inhibice růstu (MIC udává se v $\mu\text{g/ml}$) se stanovil podle standardní metody Japan Society of Chemotherapy (popisuje se v publikaci Chemotherapy, 29(1), 76 (1981)). Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1

	Slouč.1	Porovn. slouč.1	Porovn. slouč.2	CPFX	LVFX
S. aureus 209P	0,013	0,013	0,013	0,20	0,20
MRSA W200	0,013	0,025	0,025	0,78	0,39
S. epidermis IFO12293	0,025	0,05	0,05	1,56	0,78
E. faecalis IFO12580	0,39	0,39	0,78	1,56	1,56
M. luteus IFO12708	0,39	0,39	0,78	3,13	0,78
B. subtilis ATCC6633	0,025	0,05	0,025	0,05	0,1
E. coli NIHJ-JC2	0,025	0,013	0,025	0,025	0,05
K. pneumoniae KC-1	0,05	0,025	0,05	0,05	0,1
P. vulgaris IFO3167	0,1	0,1	0,2	0,05	0,05
S. marcescens IFO3736	1,56	1,56	1,56	0,2	0,78
P.aeruginosa IFO3445	0,78	0,39	0,39	0,39	0,78
P.aeruginosa E-2	1,56	0,78	1,56	0,78	1,56

(2) Test fototoxicity

Test fototoxicity se uskutečnil následujícím postupem.

Samičím myším ICR (5 až 6 týdnů staré) se intravenózně aplikovaly testované sloučeniny (40 mg/kg/ v objemu 10 ml) a vystavily se po dobu 4 hodin ultrafialovým paprskům (320 nm až 400 nm, $1,8 \text{ mW/cm}^2/\text{vteřinu}$). Sledovaly se abnormality na jejich uších v 0. hodině (ihned po expozici) a po 24 hodinách a po 48 hodinách.

Abnormality vytvořených na uších spadaly do následujících standardů: žádné abnormality (0 bodů), mírné zrudnutí kůže (1 bod), střední zrudnutí kůže (2 body) a silné zrudnutí kůže a otok (3 body). Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2

	0. Hodina (body, frekvence)	24 hodin	48 hodin
Sloučenina 1	0, 0/3	0, 0/3	0, 0/3
Porov. slouč. 1	0, 0/3	0, 0/3	0, 0/3
Porov. slouč. 2	0,7, 2/3	0, 0/3	0, 0/3

(3) Antibakteriální účinky na klinicky izolované pneumokoky rezistentní na chinolin

Při použití agarových ploten s 5 % defibrinovanou ovčí krví se minimální růstové inhibiční koncentrace (MIC vyjádřené v µg/ml) proti jistým pneumokokům stanovily podle standardní metody Japan Society of Chemotherapy (popisuje se v publikaci Chemotherapy, 29(1), 76 (1981)). Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3

	Slouč. 1	Porovn. slouč. 1	CPFX	LVFX
Izolovaný kokus 1	0,03	0,06	8	2
Izolovaný kokus 5	0,12	0,5	64	32

Z výsledků v tabulce 1 až 3 sloučenina podle vynálezu vykazovala antimikrobiální aktivity porovnatelné nebo lepší než porovnávací sloučeniny a nevykazovala také žádnou fototoxicitu.

(4) Farmakokinetická studie *in vivo*

Provedl se výzkum absorpce a vylučování sloučenin podle vynálezu se psi.

0,5 % suspenze jedné z testovaných sloučenin v methylceluloze (10 mg/ml/kg) se aplikovala per os fenám bíglů starých 2 až 4 roky po dobu 16 až 17 hodin. 0,25 hod, 0,5 hod, 1 hod, 2 hod, 4 hod, 6 hod, 8 hod a 24 hod po aplikaci se odebraly vzorky krve a získaly se vzorky séra. Aby se stanovila rychlost vylučování močí, shromáždily se po 24 hodinách po aplikaci vzorky moče. Koncentrace testované sloučeniny ve vzorcích séra a moče se měřily metodou papírového disku, přičemž jako testovací bakterie se použil *Bacillus subtilis* ATCC6633 a stanovil se rozsah absorpce a vylučování. Takto získané výsledky se uvádějí v tabulce 4.

Tabulka č. 4

	N	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (hod)	T _{1/2} (hod)	AUC 0 až 8 hod (µg · hod/ml)	rozsah vylučování močí (%)
Sloučenina 1	3	4,82	1	3,8	22,8	19,8
Sloučenina 2	3	3,73	1	4,8	17,6	17,4
Porovnávací slouč. 1	2	2,35	0,5	2,0	8,54	14,8
Maleátová sůl porovn. slouč. 1	3	1,49	1	3,8	7,66	16,7

24.01.00

Z tabulky č. 4, kde jsou uvedeny výsledky farmakokinetické studie *in vivo*, vyplývá, že sloučeniny podle vynálezu se ve srovnání s porovnávacími sloučeninami zlepšily.

Průmyslová využitelnost

Sloučenina 1 a její sole podle vynálezu mají charakteristické vlastnosti které, když se aplikují orálně, vykazují dlouhý poločas rozpadu a extrémně vysokou biologickou použitelnost, zatímco si uchovávají vlastnosti, jako je extrémně silný antibakteriální účinek a nízká toxicita. Sloučenina 1 a její sole také vykazují skvělé vlastnosti, jako je snížení hypertenze a vedlejších účinků na kůži, jako je vyrážka. Sloučenina 1 a její sole se proto mohou použít v širokém rozsahu jako při prevenci a terapii různých infekčních onemocněních u lidí a zvířat a také jako farmaceutické prostředky pro ryby, mohou se použít v zemědělství, jako konzervační činidla v zemědělství a podobně. Dále se očekává, že sloučenina 1 podle vynálezu má antivirové účinky, zvláště působí proti HIV, a považuje se za účinnou při prevenci a léčbě AIDS.

1. Sloučenina 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová kyselina nebo její sůl.
2. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, ž e jeho aktivní složka je 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová kyselina nebo její sůl.
3. Farmaceutický prostředek podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, ž e je antimikrobiální farmaceutický prostředek.
4. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, ž e obsahuje 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylovou kyselinu nebo její sůl a farmaceuticky přijatelný nosič.
5. Farmaceutický prostředek podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, ž e je antimikrobiální farmaceutický prostředek.
6. Použití 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové kyseliny nebo její sole jako farmaceutického prostředku.
7. Způsob léčby infekčního onemocnění, v y z n a č u j í c í s e t í m, ž e zahrnuje aplikaci 1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-bromo-7-(3-ethylaminoazetidin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylové kyseliny nebo její sole.