

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 761108 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 761108

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC¹)
C07H 15/22

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date 22.04.1976

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 22.04.1976

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 16.10.1977

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

15.04.1976 GB 7615425

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Pfizer Corporation, Calle 15 1/2, Avenida Santa Isabel, Colon, PANAMA, (PA)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Moore, James William, Sandwich, Kent, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Uusia bakteerinvastaisia 2-deoksistreptamiinoglykosidejä ja menetelmä niiden valmistamiseksi

Nya antibakteriella 2-deoxi-streptaminoglykosider och förfarande för deras framställning

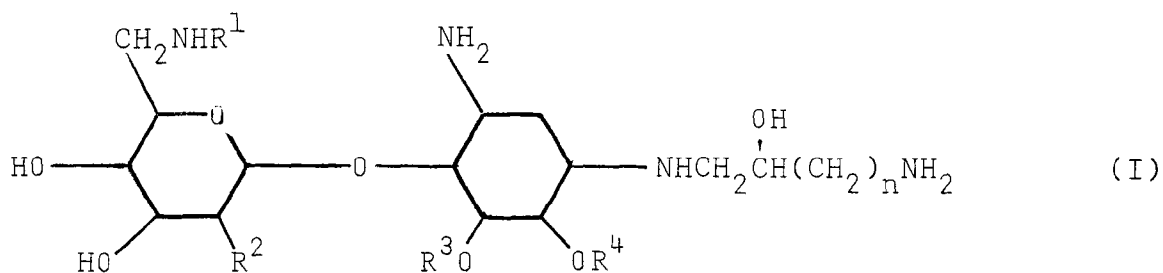
Pfizer Corporation; Calle 15 1/2, Avenida Santa Isabel, Colon, Panama.

Menetelmä uusien 2-deoksistreptamiiniaminoglykosidiyhdisteiden valmistamiseksi - Förfarande för framställning av nya 2-deoxistreptaminaminoglykosid-föreningar

Lisäys patenttihakemukseen n:o 752951

Tämän keksinnön kohteena ovat antibakteeriset yhdisteet ja keksintö koskee erityisesti uusien antibakteeristen 2-deoksistreptamiiniaminoglykosidien ryhmää sekä menetelmiä näiden yhdisteiden valmistamiseksi.

Päähakemuksen n:o 752951 kohteena ovat uudet yhdisteet, joilla on yleinen, kaava:



yhdisteitä, jossa kaavassa R^1 on vetyatomi tai alempi alkyyliryhmä;

R^2 on amino- tai hydroksyyli-ryhmä; joko R^3 tai R^4 on vetyatomi, toisen niistä ollessa glykosyyli-ryhmä; ja n on 1, 2 tai 3; sekä näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksytyt happo-additiosuolat.

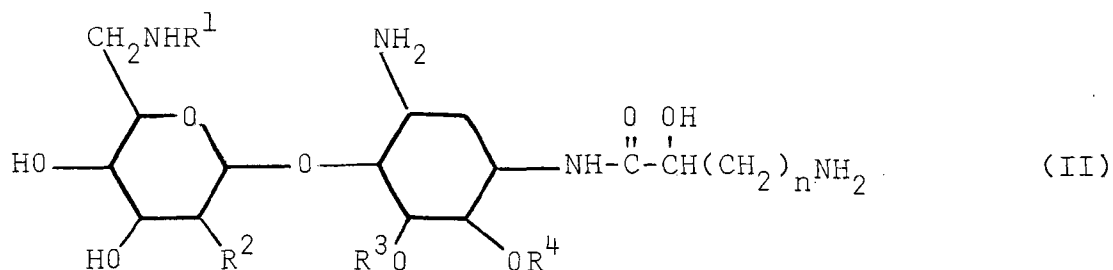
R^4 :n ollessa glykosyyli-ryhmä se voi olla yksinkertainen hekso-pyranosyyli-ryhmä, joka edullisesti sisältää aminoryhmän, esim. 3-amino-3-deoksi- α -D-glukopyranosyyli-ryhmä, joka on todettavissa kanamysiini A:ssa ja B:ssä. R^3 :n ollessa glykosyyli-ryhmä, tämä ryhmä on yleensä pentofuranosyyli-ryhmä, mahdollisesti kytkettynä toiseen hekso-pyranosyyli-ryhmään toisella glykosididisidoksella. R^3 voi esim. olla β -D-ribofuranosyyli-ryhmä, joka ryhmä on todettu ribostamysiinissä.

Sanonnalla "alempi alkyyli" tarkoitetaan 1-4 hiiliatomia sisältävää ryhmää, joka voi olla joko suora tai haarautunut.

Keksinnön mukaisesti on aikaansaatu parannus päähakemuksen n:o 752951 mukaiseen keksintöön valmistamalla yhdisteitä, joiden kaavassa (I) n on 4-6.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja ovat ne, jotka muodostuvat hapoista, jotka muodostavat myrkyttömiä, farmaseuttisesti hyväksyttäviä anioneja, kuten hydrokloridi-, hydrobromidi-, hydrojodidi-, sulfaatti- tai bisulfaatti-, fosfaatti- tai hapan fosfaatti-, asetaatti-, maleaatti-, fumaraatti-, laktaatti-, tartraatti-, sitraatti-, gukonaatti-, sukkinaatti-, p-tolueenisulfonaatti- ja karbonaattisuolat.

Keksinnön mukaisia yhdisteitä valmistetaan päähakemuksessa n:o 752951 kuvatuilla menetelmillä, esim. pelkistämällä yhdiste, jolla on kaava:



jossa kaavassa R^1 - R^4 merkitsevät samaa kuin edellä ja n on 4-6, saattamalla se reagoimaan pelkistävän aineen kanssa sopivassa liuotinaineessa, jotta aikaansaataisiin N-1:n asemassa olevan amididisidoksen pelkistyminen.

Useat kaavan (II) mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja yhdisteitä. Esim. 1-N-(6-amino-2-hydroksiheksanoyyli) kanamysiini A on kuvattu julkaisussa "J. Antibiotics", 1974, 27, 851. Muut yhdisteet voidaan valmistaa analogisilla menetelmillä.

Yleensä renkaat ovat molemmat "tuoli" muotoa, ja jokainen substituenttiryhmistä sijaitsee ekvatoriaalisesti renkaan suhteen. Edelleen heksopyranosyyliinirenkään ja 2-deoksistreptamiinirenkään välinen glykosidisidos on yleisemmin α -sidos edellisen suhteen, erityisesti silloin kun kaavan (II) mukaiset yhdisteet on valmistettu luonnossa esiintyvistä 2-deoksistreptamiiniaminoglykosideista. Lisäksi saattaa N-1:ssä oleva β -hydroksi- ω -aminoalkyyli-ryhmä olla S- tai R-konfiguraatiomuodossa tai se saattaa esiintyä kummankin optisen isomeerin seoksena.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden arvostus antibakteerisina aineina in vitro suoritetaan määräämällä sopivassa väliaineessa testattavan yhdisteen pienin estoväkevyys (M.I.C.), jolle kyseisen mikro-organismin kasvua ei enää tapahdu. Käytännössä ympätään agar-levyille, joissa jokaisessa on testattavan yhdisteen tietty väkevyys, vakiomäärä testettavien mikro-organismien soluja, ja jokainen levy idätetään 24 tuntia 37°C:ssa. Levyiltä tutkitaan bakteerien kasvun läsnäolo tai poissaolo ja kyseessä oleva M.I.C.-arvo merkitään. Näissä kokeissa testattiin seuraavien mikro-organismien kantoja: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* sekä *Streptococcus faecalis*.

In vivo arvostus suoritetaan antamalla yhdisteitä ruiskeina ihon alle hiirille, jotka on tartutettu kannalla *Escherichia coli*. Jokainen yhdiste annetaan hiiriryhmille annosmääriltään sarjoina, ja yhdisteiden aktiviteetti määrätään sen annoksen mukaan, joka antaa 50 %:n suojan *Escherichia coli*:n tappavaa vaikutusta vastaan 27 tunnin ajaksi.

Ihmiselle voidaan keksinnön mukaisia antibakteerisia aineita antaa sellaisenaan, mutta ne annetaan yleensä sekoitettuina farmaseuttisiin kantoaineisiin, jotka on valittu ottamalla huomioon aiottu annostustapa sekä farmaseuttinen käytäntö. Yhdisteitä voidaan annostella esim. suun kautta tablettien muodossa niiden sisältäessä sellaisia täyteaineita kuin tärkkelystä tai laktoosia, tai kapsелеina joko sellaisenaan tai sekoitettuina täyteaineisiin, tai maku- tai

väriaineita sisältävien eliksiirien tai suspensioiden muodossa. Niitä voidaan antaa parenteraalisesti, esimerkiksi suoneen, lihakseen tai ihon alle. Parenteraalisesti käytettyinä tulos on paras yhdisteen ollessa liuotettuna steriiliin vesiliuokseen, joka voi sisältää toisia siihen liuotettuja aineita, esim. riittävästi suoloja tai glykoosia, jotta liuos saataisiin isotooniseksi.

Ihmiselle annettuna keksinnön mukaisten antibakteeristen yhdisteiden päivittäisen annoksen suuruus on verrattavissa nykyisin käytössä olevien antibakteeristen aminoglykosidiyhdisteiden vastavien annoksien suuruuksiin, esim. 0,1-50 mg/kg (jaettuina annoksina) annostuksen ollessa parenteraalinen, tai 10-100 mg/kg (jaettuina annoksina) annostuksen tapahtuessa suun kautta. Näin ollen yhdisteitä sisältävät suun kautta aina 4 kertaa asti päivässä otettavat tabletit tai kapselit sisältävät 0,1-1 g aktiivista ainetta, kun taas parenteraaliseen käyttöön tarkoitettut annosyksiköt sisältävät 10-500 mg aktiivista ainetta. Lääkäri määrää joka tapauksessa yksittäiselle potilaalle annoksen sopivimman suuruuden, joka vaihtelee potilaan iän, painon ja herkkyyden mukaan. Edellä mainittujen annosten suuruudet ovat esimerkkejä keskivertopotilaalle annettavista annoksista. On tietysti olemassa yksittäisiä tapauksia, joissa suurempien tai pienempien annoksien antaminen on suositeltavaa, ja tämänkaltaiset tapaukset kuuluvat keksinnön suoja-alueeseen.

Seuraavat esimerkit kuvaavat uusien keksinnön mukaisten aineiden valmistusta. Lämpötilat ovat °C:ina; on rekisteröity tavaramerkki.

Esimerkki 1

1-N((S)-2-hydroksi-6-amino-heksanoyyli)kanamysiini A dikarbo-naattia (1,0 g, 1,36 millimoolia) liuotettiin vedettömään trifluori-etikkahappoon (10 ml) ja liuos haihdutettiin kuiviin tyhjöissä, jolloin saatiin viskoosista kumin tapaista ainetta. Jäännöstä käsiteltiin diboraanin 1 molaarisella liuoksella tetrahydrofuraanissa (75 ml) kuivassa typpi-atmosfäärissä ja saatua liuosta kuumennettiin 50-55°:ssa 5 tuntia. Haihdutettaessa orgaaninen liuos vähennetyssä paineessa saatiin kumin tapaista ainetta, joka otettiin 2 N kloorivetyhappoon (10 ml). 10 minuutin kuluttua liuos tehtiin emäksiseksi pH-arvoon 10 käyttäen 5N natriumhydroksidiliuosta ja sitten tehtiin

pH-arvoon 6 käyttäen 2N kloorivetyhappoa. Liuos kromatografoitiin käyttäen Sephadex CM-25 kolonnia ammonium-ioni-muodossa (3,5 x 90 cm) ja eluoimalla vedellä ammoniumhydroksidilla, jonka väkevyys kasvoi arvosta 0 arvoon 0,6N. Tuotefraktiot todettuna ohutkerros-kromatografian avulla yhdistettiin ja haihdutettiin tyhjöissä, jolloin saatiin 1-N-[(S)-2-hydroksi-6-amino-heksyyli]kanamysiini A (0,64 g, 64 %).

Ohutkerros-elektroforeesi: $R_f = 0,85$

(Elektrolyytti muodostui yhtäsuurista osista etikka- ja muuraishaappoa, jolloin saatiin pH-arvo 2, ja 900 voltin potentiaali-ero asetettiin 20 cm pituisen, silikapäällystetyn levyn päihin 45 minuutin ajaksi. Toteaminen suoritettiin kuivaamalla levy, suihkuttamalla tert.-butyylihypokloriitin sykloheksaaniliuoksella, jota seurasi levyn kuivaaminen, jäähdyttäminen ja kehittäminen, joka suoritettiin tärkkelys-kaliumjodidiliuoksella. Näissä olosuhteissa lähtöaineelle saatiin R_f -arvo 1,0).

Näyte muutettiin haihtuvaksi penta-N-asetyyli-okta-0-trimetyyllisilyyli johdannaiseksi käsittelemällä sitä etikkahapon anhydridillä huoneenlämpötilassa metanolissa 24 tunnin ajan, jonka jälkeen yhdiste saatiin reaktioon heksametyylidisilatsaanin ja trimetyyliklorosilaanin 2:1 seoksen kanssa huoneenlämpötilassa 24 tunnin aikana. $m/e:n$ todettiin olevan 1385. $C_{58}H_{123}N_5O_{17}Si_8$ vaatii $m/e:n$ 1385.

Esimerkit 2 ja 3

Tarkalleen samalla tavalla kuin mitä esimerkissä 1 on kuvattu, mutta lähtemällä vastaavista 1-N-asyylikanamysiini A-johdannaisista valmistetaan 1-N-(2-hydroksi-7-amino-heptyyli)kanamysiini A ja 1-N(2-hydroksi-8-amino-oktyyli)kanamysiini A.

Koetulokset, jotka on saatu esimerkin 1 mukaisesta yhdisteestä määrittäessä sen antibakteerinen aktiviteetti: in vitro edellä kuvatuilla menetelmillä, on esitetty seuraavassa taulukossa.

Taulukko: In vitro aktiiviteetti

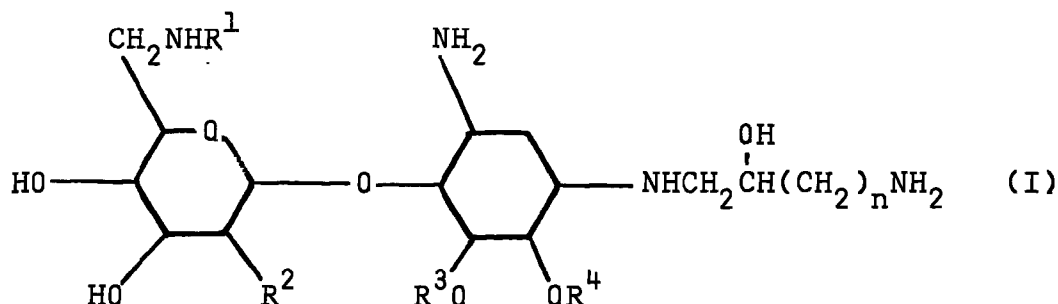
M.I.C.'s (μ g/ml)				
E. Coli	Klebsiella pneumoniae	Proteus mirabilis	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
6.2	6.2	3.1	3.1	1.6

Edellä esitetyn perusteella on selvää, että esillä oleva keksintö koskee:

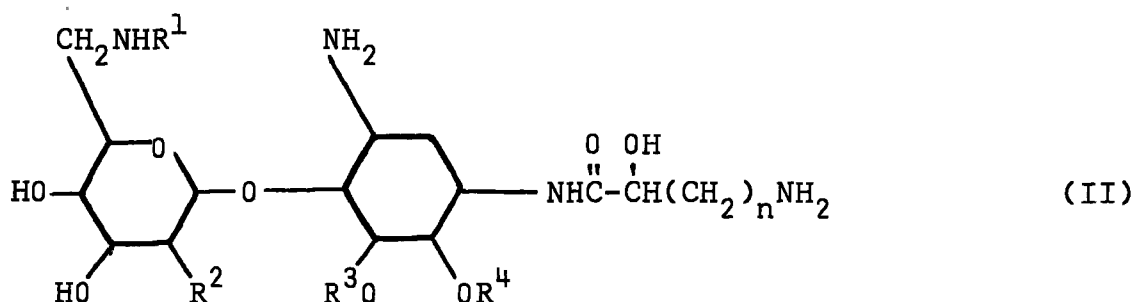
- (1) Uusia kaavan (I) mukaisia 2-deoksistreptamiini-aminoglykosideja
- (2) farmaseuttisia koostumuksia sisältäen uusia kaavan (I) mukaisia aminoglykosideja farmaseuttisesti hyväksyttävänä happoadditiosuolana
- (3) menetelmää oram-positiivisten ja gram-negatiivisten infektioiden hoitamiseksi annostelemalla uusia kaavan (I) mukaisia aminoglykosideja
- (4) menetelmiä uusien kaavan (I) mukaisten aminoglykosidien valmistamiseksi.

Patenttivaatimukset.

1. Menetelmä uusien 2-deoksistreptamiini-aminoglykosidien, joilla on yleinen kaava:



jossa kaavassa R^1 on vetyatomi tai alempi alkyyliryhmä; R^2 on amino- tai hydroksyyli-ryhmä; joko R^3 tai R^4 on vetyatomi, toisen niistä ollessa glykosyyli-ryhmä; ja n on 4, 5 tai 6; sekä niiden farmaseuttisesti hyväksytyjen happo-additiosuolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että pelkistetään yhdiste, jolla on kaava:



jossa R^1 - R^4 sekä n merkitsevät samaa kuin edellä, ja kaavan I mukainen yhdiste eristetään.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (II) mukainen yhdiste pelkistetään diboraanilla kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R^3 on vetyatomi ja R^4 on 3-amino-3-deoksi-~~α~~-D-glukopyranosyyli-ryhmä.

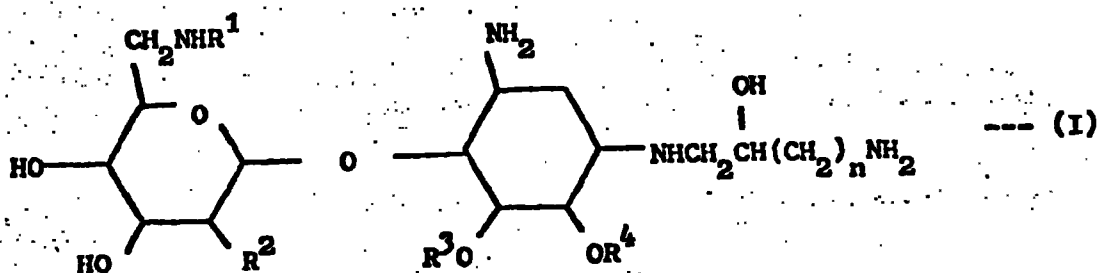
4. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R^4 on vetyatomi ja R^3 on β-D-riboranosyyli-ryhmä.

5. Jonkin patenttivaatimusten 1-4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R^1 on vetyatomi tai metyyli-ryhmä.

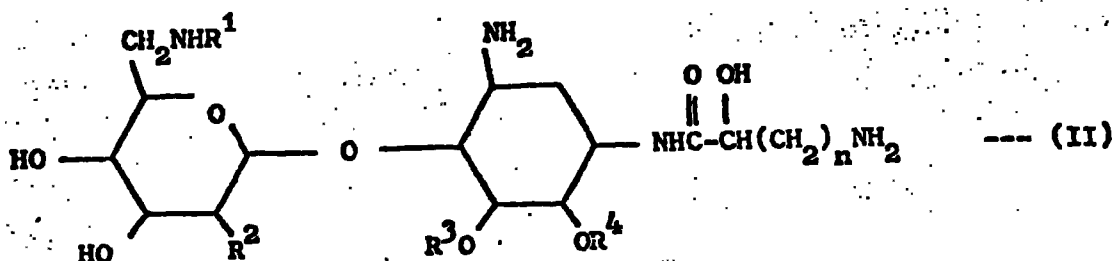
6. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (I) mukainen yhdiste on 1-N-(S)-2-hydroksi-6-amino-heksyyli-kanamysiini A.

Patentkrav.

1. Förfarande för framställning av nya 2-deoxistreptamin-amino-glykosider med den allmänna formeln:



vari R^1 betecknar en väteatom eller en lägre alkylgrupp; R^2 betecknar en amino- eller hydroxylgrupp; någondera av R^3 och R^4 betecknar en väteatom medan den andra är en glykosylgrupp; och n är 4, 5 eller 6; jämte deras farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter, k ä n n e t e c k n a t därav, att man reducerar en förening med formeln:



vari R^1 till R^4 och n är såsom ovan definierats, och man isolerar föreningen med formeln I.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att föreningen med formeln (II) reduceras med diboran för avgivande av föreningen med formeln (I).

3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e c k n a t därav, att R^3 är en väteatom och R^4 är en 3-amino-3-deoksi- α -D-glukopyranosylgrupp.

4. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att R^4 är en väteatom och R^3 är en β -D-ribofuranosylgrupp.

5. Förfarande enligt något av patentkraven 1-4, k ä n n e t e c k n a t därav, att R^1 är en väteatom eller en metylgrupp.

6. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att föreningen med formeln (I) är 1-N-[(S)-2-hydroxi-6-amino-hexyl]-kanamycin A.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

2304/74 , 753318 (molemmat COT H 15/22)

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

Suomi - Finland _____

Iso-Britannia - Storbritannien _____

Norja - Norge _____

Ranska - Frankrike _____

Ruotsi - Sverige _____

Saksa - BRD - Tyskland _____

Sveitsi - Schweiz _____

Tanska - Danmark _____

USA _____

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Carbohydrate Research , vol. 28 (1973) n:o 2 ,
 Haskell et al. , The preparation and biological
 activity of novel amino acid analogs of
 butirosin , p. 263-280 .

1381-12-04

Niklas Haskell

Allekirjoitus