

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

195713
(11) (B2)



ÚRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 06 10 76
(21) (PV 6455-76)
(32) (31) (33) Právo přednosti od 14 04 76
(179050) Nový Zéland a
od 15 04 76 (15425/76) Velká Británie
(40) Zveřejněno 31 05 79
(45) Vydáno 15 05 83

(51) Int. Cl.³
C 07 D 309/10
A 61 K 31/335

(72) Autor vynálezu MOORE JAMES WILLIAM, SANDWICH (Velká Británie)

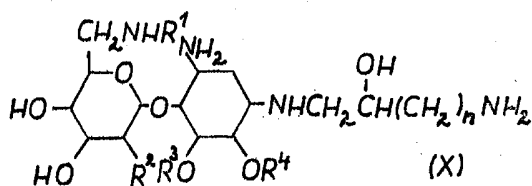
(73) Majitel patentu PFIZER CORPORATION, COLON (Panama) S OBCHODNÍM SÍDLEM
V BRUSELU (Belgie)

(54) Způsob výroby nových aminoglykosidů 2-deoxystreptaminu

1

Vynález se týká antibakteriálních činidel a zejména pak skupiny nových aminoglykosidů 2-deoxystreptaminu, které jsou antibakteriálně účinné, jakož i způsobu výroby těchto látek.

V čs. patentu č. 195 712 jsou popsány nové sloučeniny obecného vzorce X



ve kterém

R¹ znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu,

R² představuje aminoskupinu nebo hydroxylovou skupinu,

jeden ze symbolů R³ a R⁴ znamená atom vodíku a druhý z těchto symbolů představuje níže definovanou glykosylovou skupinu a

n má hodnotu 1, 2 nebo 3, a jejich farmaceuticky upotřebitelné adiční soli s kyselinami.

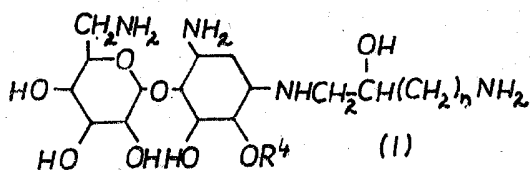
Znamená-li R⁴ glykosylovou skupinu, může být touto skupinou jediná hexopyranosylová skupina obsahující s výhodou amino-

2

skupinu, jako například 3-amino-3-deoxy- α -D-glykopyranosylová skupina vyskytující se v kanamycinu A a B. Znamená-li R³ glykosylovou skupinu, je touto skupinou obecně pentofuranosylová skupina, popřípadě spojená s další hexopyranosylovou skupinou další glykosidickou vazbou. Tak například symbol R³ může představovat β -D-ribofuranosylovou skupinu, jaká se nachází v ribostamycinu.

Výrazem „nižší alkylová skupina“ se míní skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, s přímým nebo rozvětveným řetězcem.

Předmětem tohoto vynálezu je způsob výroby nových aminoglykosidů 2-deoxystreptaminu, obecného vzorce I

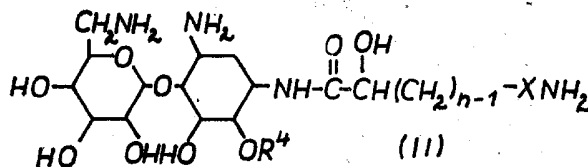


ve kterém

R⁴ znamená 3-amino-3-deoxy- α -D-glykopyranosylovou skupinu a

n má hodnotu 4, 5 nebo 6, a jejich farma-

ceuticky upotřebitelných adičních solí s kyseliny, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II



ve kterém

R⁴ a n mají shora uvedený význam a

X znamená skupinu CH₂ nebo CO, podrobí redukcí a získaná sloučenina obecného vzorce I se izoluje nebo/a se popřípadě převede na svou adiční sůl s kyselinou.

Redukce ketoskupiny nebo ketoskupin ve výchozích látkách obecného vzorce II se provádí o sobě známým způsobem, s výhodou za použití diboranu.

Farmaceuticky upotřebitelnými adičními solemi sloučenin podle vynálezu jsou soli tvořené s kyselinami vedoucími k netoxickým adičním solím obsahujícím farmaceuticky upotřebitelné anionty, například hydrochloridy, hydrobromidy, hydrojodidy, sulfáty nebo bisulfáty, fosfáty nebo kyselé fosfáty, acetáty, maleáty, fumaráty, laktáty, tartráty, citráty, glukonáty, p-toluensulfonáty a soli s kyselinou uhličitou.

Četné sloučeniny obecného vzorce II jsou známými a již dříve popsanými látkami. Tak například 1-N-(6-amino-2-hydroxyhexanoyl)-kanamycin A je popsán v J. Antibiotics, 1974, 27, 851. Ostatní sloučeniny je možno připravit postupy analogickými postupům popsaným v této práci.

V nových sloučeninách podle vynálezu jsou obecně oba kruhy v „židlíčkové“ konformaci a všechny substituenty mají vzhledem ke kruhu ekvatoriální polohu. Dále pak glykosidická vazba mezi hexopyranosylovým kruhem a 2-deoxystreptaminovým kruhem je nejobvyklejší α-vazbou vzhledem k prvnímu z jmenovaných kruhů, zejména pak v případech, kdy se sloučeniny obecného vzorce II odvozují od přírodních aminoglykosidů 2-deoxystreptaminu. β-hydroxy-ω-aminoalkylová skupina na dusíku N¹ může dále existovat v S nebo R konfiguraci nebo jako směs obou optických isomerů.

Hodnocení antibakteriální účinnosti sloučenin podle vynálezu in vitro se provádí tak, že se zjišťuje minimální inhibiční koncentrace testované sloučeniny ve vhodném prostředí, při níž nedochází k růstu pokusného mikroorganismu. V praxi se postupuje tak, že se agarové plotny s přídatkem testované sloučeniny v příslušné koncentraci inokulují standardním počtem buněk testovaného mikroorganismu a každá z ploten se pak 24 hodiny inkubuje při teplotě 37 °C. Pak se zjistí, zda na pokusných plotnách došlo nebo nedošlo k růstu bakterií a sta-

noví se příslušné hodnoty minimálních inhibičních koncentrací. Mikroorganismy používané při těchto testech zahrnují kmeny Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus a Streptococcus faecalis.

Testy in vivo se provádějí tak, že se testované sloučeniny podávají subkutánně myším vystaveným infekci kmenem Escherichia coli. Každá z testovaných sloučenin se podává v řadě různých dávek skupinám myší a její účinnost se vyjadřuje jako dávka poskytující 50% ochranu proti letálnímu účinku organismu Escherichia coli během 72 hodin.

K použití v humánní medicíně je možno antibakteriálně účinné sloučeniny podle vynálezu podávat samotné, obecně se však aplikují ve směsi s farmaceuticky upotřebitelným nosičem vybraným s ohledem na zamýšlený způsob podání a na standardní farmaceutickou praxi. Tak například je možno popisované sloučeniny podávat orálně ve formě tablet obsahujících jako nosnou látku například škrob nebo laktózu, nebo ve formě kapslí, které obsahují buď samotné účinné látky nebo jejich směsi s nosnými a pomocnými látkami, nebo ve formě elixírů nebo suspenzí obsahujících chuťové přísady nebo barviva. Účinné látky je možno podávat rovněž v parenterálních, například intravenózních, intramuskulárních nebo subkutánních injekcích. K parenterálnímu podání se účinné látky podle vynálezu nejlépe hodněji používají ve formě sterilních vodných roztoků, které mohou obsahovat další rozpustné látky, například vhodné množství solí nebo glukózy, k isotonizaci roztoku.

Očekává se, že při aplikaci v humánní medicíně se budou antibakteriálně účinné sloučeniny podle vynálezu podávat v denních dávkách srovnatelných s aminoglykosidickými antibakteriálními činidly používanými v současné praxi, například v dávkách od 0,1 do 50 mg/kg (v dílčích dávkách) při aplikaci parenterální nebo v dávkách od 10 do 100 mg/kg (v dílčích dávkách) při aplikaci orální. Tak je možno očekávat, že tablety nebo kapsle určené k orálnímu podání až čtyřikrát denně budou obsahovat od 0,1 do 1 g účinné látky, zatímco jednotkové dávky k parenterální aplikaci budou obsahovat od 10 do 500 mg účinné látky.

Bude věcí lékaře stanovit příslušnou dávku, která bude nevhodnější pro toho kterého pacienta, a která se bude měnit v závislosti na stáří pacienta, na jeho hmotnosti a odezvě na aplikovaný preparát. Shora uvedené dávky jsou příklady dávek pro průměrného pacienta. Mohou pochopitelně existovat individuální případy, kdy bude zapotřebí použít vyššího nebo nižšího dávkování, kteréžto případy rovněž spadají do rozsahu vynálezu.

Vynález ilustruje následující příklad provedení, jímž se však rozsah vynálezu nijak neomezuje. Všechny teploty jsou v tomto příkladu udávány ve stupních Celsia.

Příklad

1,0 g (1,36 mmol) dikarbonátu 1-N-[(S)-2-hydroxy-6-aminohexanoyl]kanamycinu A se rozpustí v 10 ml bezvodé trifluoroctové kyseliny a roztok se odpaří ve vakuu k suchu. K viskóznímu pryskyřičnatému zbytku se v atmosféře suchého dusíku přidá 75 ml 1 M roztoku diboranu v tetrahydrofuranu a výsledný roztok se 5 hodin zahřívá na teplotu 50 až 55 °C. Odpařením organického rozpouštědla za sníženého tlaku se získá pryskyřičnatý zbytek, který se vyjme 10 ml 2 N kyseliny chlorovodíkové. Po 10 minutách se roztok zalkalizuje 5 N roztokem hydroxidu sodného na pH 10 a nakonec se okyselí 2 N kyselinou chlorovodíkovou na pH 6. Výsledný roztok se chromatografuje na sloupci iontoměniče (Sephadex CM-25) v NH₄⁺ cyklu (3,5 × 90 cm). Sloupec se vymývá vodou a roztokem hydroxidu amonného o stoupající koncentraci hydroxidu amonného od 0 do 0,6 N. Frakce, které po-

dle chromatografie na tenké vrstvě obsahují žádaný produkt, se spojí a odpaří se ve vakuu. Získá se 0,64 g (63 %) 1-N-[(S)-2-hydroxy-6-aminohexyl]kanamycinu A.

Elektroforéza v tenké vrstvě

Produkt má R_f 0,85. Jako elektrolyt se používá směs stejných dílů kyseliny octové a kyseliny mravenčí o pH 2 a rozdíl napětí 900 V se aplikuje na protilehlé konce desek, pokrytých silikagelem (délka 20 cm) po dobu 45 minut. Detekce se provádí tak, že se deska vysuší, postříká se cyklohexanovým roztokem chlornanu terc.butylinátového, pak se vysuší a po ochlazení se vyvíjí roztokem škrobu a jodidu draselného. Za těchto podmínek má výchozí materiál R_f = 1,0.

Hmotová spektrometrie

Vzorek produktu se převede na těkavý penta-N-acetyl-okta-O-trimetylsilylderivát dvacetičtyřhodinovou reakcí s acetanhydridem v metanolu při teplotě místnosti a následující dvacetičtyřhodinovou reakcí se směsí hexametyldisilazanu a trimetylchlorosilanu (2:1) při teplotě místnosti.

Pro C₅₈H₁₂₃N₅O₁₇Si₈

vypočteno: m/e 1385
nalezeno: m/e 1385.

Výsledky testů antibakteriální účinnosti sloučeniny z předchozích příkladů in vitro, za použití shora popsáných metod, jsou shrnuty v následujícím přehledu:

Účinnost in vitro minimální inhibiční koncentrace v µg/ml

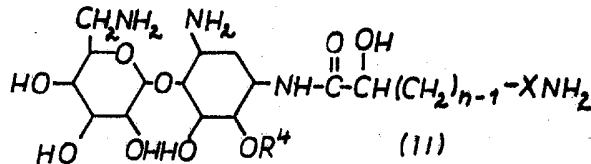
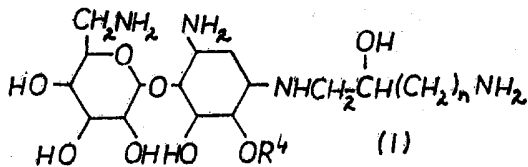
Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae	Proteus mirabilis	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
6,2	6,2	3,1	3,1	1,6

Z uvedeného je zřejmé, že vynález zahrnuje nové aminoglykosidy 2-deoxystreptaminu shora uvedeného obecného vzorce I a způsob jejich výroby, farmaceutické prostředky obsahující jako účinné látky nové aminoglykosidy shora uvedeného obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky upotře-

bitelné adiční soli s kyselinami, a způsob léčby infekcí živočichů, včetně lidí, způsobených grampozitivními a gramnegativními bakteriemi, spočívající v aplikaci terapeutických dávek nových aminoglykosidů obecného vzorce I.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby nových aminoglykosidů 2-deoxystreptaminu, obecného vzorce I



ve kterém

R^4 a n mají shora uvedený význam a X znamená skupinu CH_2 nebo CO , podrobí redukcí a získaná sloučenina obecného vzorce I se izoluje nebo/a se popřípadě převede na svou adiční sůl s kyselinou.

2. Způsob podle bodu 1, k výrobě sloučenin obecného vzorce I, ve kterém R^4 má význam jako v bodu 1 a n má hodnotu 4, a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí sloučeniny obecného vzorce II, ve kterém R^4 a X mají

ve kterém

R^4 znamená 3-amino-3-deoxy- α -D-glykopyranosylovou skupinu a

n má hodnotu 4, 5 nebo 6, a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II

význam jako v bodu 1 a n má v tomto bodu uvedený význam.

3. Způsob podle bodu 1, k výrobě sloučenin obecného vzorce I, ve kterém R^4 má význam jako v bodu 1 a n má hodnotu 5 nebo 6, a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí sloučeniny obecného vzorce II, ve kterém R^4 a X mají význam jako v bodu 1 a n má v tomto bodu uvedený význam.

4. Způsob podle bodů 1 až 3 vyznačující se tím, že se redukce provádí diboranem.