

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

712-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09. 03. 98**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **11.03.97**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **97/19709897**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 09. 98**
(Věstník č. 9/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/70
C 07 F 9/94

(71) Přihlášovatel:

HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT,
Frankfurt am Main, DE;

(72) Původce:

Vértesy László dr., Eppstein, DE;
Kurz Michael dr., Hofheim, DE;
Markus Astrid dr., Liederbach, DE;
Seibert Gerhard prof. dr., Darmstadt, DE;

(74) Zástupce:

Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7,
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Bismutité soli antibiotik ze skupiny moenomycinů, způsob jejich přípravy, jejich použití a léčiva, která uvedené látky obsahují

(57) Anotace:

Soli podle předkládaného vynálezu obsahují jednotlivá nebo směsná antibiotika ze skupiny moenomycinu, tzv. fosfoglykolipidová antibiotika, nebo jejich deriváty a bismut v definovaném stechiometrickém poměru. Bismutité soli podle vynálezu se připravují reakcí antibiotik ze skupiny moenomycinu, zejména jejich běžně používaných solí, s bismutitými solemi v rozpouštědle nebo dispergačním činidle. Použití ve farmaceutických prostředcích proti bakteriím *Helicobacter pylori* a při onemocnění žaludku.

CZ 712-98 A3

BISMUTITÉ SOLI ANTIBIOTIK ZE SKUPINY MOENOMYCINŮ, ZPŮSOB JEJICH PŘÍPRAVY, JEJICH POUŽITÍ A LÉČIVA, KTERÁ UVEDENÉ LÁTKY OBSAHUJÍ

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká bismutitých solí antibiotik ze skupiny moenomycinů, způsobu jejich přípravy, jejich použití a léčiv, která uvedené látky obsahují. Soli v souladu s předkládaným vynálezem obsahují jednotlivá antibiotika nebo směsi známých antibiotik ze skupiny moenomycinů, tzv. fosfoglykolipidových antibiotik nebo jejich derivátů a bismut v definovaném stechiometrickém poměru. Tyto látky jsou vhodné zejména proti *Helicobacter pylori* a v důsledku toho např. pro léčení a profylaxi onemocnění žaludku.

Dosavadní stav techniky

Pro léčení a prevenci žaludečních potíží nebo gastritidy a profylaxi rakoviny žaludku se používají především tzv. antacida a zejména úspěšně látky blokující H_2 -receptor. Je známo, že za řadu žaludečních infekcí např. žaludeční vředy, jsou odpovědné mikroorganismy *Helicobacter pylori* (viz. např. A. T. R. Axon, "Helicobacter pylori Infection", J. Antimicrob. Chemother. 32, Suppl. A, 61, 1993). Infekce lidského žaludku patogenními gram-negativními bakteriemi *Helicobacter pylori* vyvolává dočasnou dyspepsii. Mikroorganismus má ale vysokou persistenci. *H. pylori* je tak základní bacil nákazy při chronické aktivní gastritidě „typu b“ a důležitý rizikový faktor výskytu rakoviny žaludku. Patofyziologické mechanismy, kterými *H. pylori* vyvolává onemocnění žaludku jsou stále poměrně nejasné. Je známo, že mikroorganismus produkuje celou řadu potenciálně toxických enzymů a dalších látek (ureasa, amoniak, vakuolizovaný cytotoxin). Persistence škodlivých bakterií a trvalá stimulace antigenů jsou patrně příčinou následné destrukce hlenového povlaku žaludku.

Terapeutickým cílem je úplná eradikace *H. pylori* v žaludku. V současnosti je léčení kombinací tří mechanismů. Prvním je tzv. neutralizace kyselin např. Omeprazolem a druhé dva jsou antibiotika jako např. Clarithromycin a Amoxicillin. Tato trojnásobná léčba má ale dosud řadu nedostatků. Uvedené tři rozdílné látky, které mají působit spolu, mají různé difuzní vlastnosti, které neodpovídají zánětu způsobenému bakteriemi *H. pylori*. Proto je k dosažení dobrých léčebných výsledků nutné používat velmi vysoké dávky, které mají nežádoucí vedlejší účinky. Trojnásobná terapie má v porovnání s léčením jednou nebo dvěma látkami i další značné nevýhody.

V patentu EP-A-655 249 je popsáno, že moenomycinová antibiotika jsou účinná mimo jiné i proti infekcím vyvolaným *H. Pyroli*, a tudíž pro léčení onemocnění žaludku např. žaludečních vředů. moenomycinová antibiotika zlepšují svůj účinek proti *H. pylori* zejména výhodně při podávání v kombinaci s dalšími antibiotiky nebo dalšími běžnými léky proti vředům nebo gastritidě, např. bází, látek blokujících H_2 -receptory, inhibitory „protonových pump“, látek blokujících muskarinové receptory nebo např. také s bismutitými solemi jako např. dusičnanem bismutitým, uhličitanem bismutitým, salicylátem bismutitým nebo citrátem bismutitým.

Použití solí bismutu je v literatuře často popisováno (viz např. J. H. Walsh a W. L. Peterson, N. Eng. J. Med. 333 (15), 984-991, 1995). Jedná se hlavně o báze sloučeniny mimo jiné např. bismutsubsalicylát nebo trikaliumdicitrátobismutát. Účinek bismutu je založen jednak na jeho obecných vlastnostech a jednak na jeho přímém působení na *Helicobacter pylori*, jako např. inhibici F1-ATPasy *H. pylori* (W. Beil a C. Birkholz, Arch. Pharmacol. 350, Suppl. R1, 1994). Proto je přidavek bismutitých solí zejména při léčení onemocnění žaludku způsobených *Helicobacter pylori* evidentně vhodný.

Bohužel ale použití bismutu ve stávající formě brání některé nevýhody, které jsou založeny na chemickém chování solí

bismutu. Soli bismutu jsou velmi často ve vodném prostředí málo rozpustné. Bi^{3+} ion tvoří ve vodném prostředí tzv. bázecké soli, které obsahují BiO^{1+} ion a které se označují jako bismutsubsoli. takové bázecké soli bismutu z vodného roztoku vypadávají, tzn. že tvoří těžko rozpustné sraženiny, a proto mají pro biologické působení jen velmi malé nebo žádné využití. Rozpuštěné podíly tvoří koloid. Kvůli těmto fyzikálně chemickým vlastnostem mají soli bismutu složení uvedené často jen přibližně (viz Römpps Chemie Lexikon, 9. vyd., nakl. Georg Thieme, Stuttgart, New York, 1989, str. 439; DAB (německý lékopis) 8, 526-530) a špatně se dávkuje, což navíc ztěžuje vyhodnocení jejich účinku.

Pokusy o podávání solí bismutu v kombinaci na příklad s bázemi a antibiotiky určenými pro léčení žaludečních onemocnění jako jsou vředy a infekce vyvolané *H. Pyroli* ukázaly, že je velkým problémem rozdílná rozpustnost báze a antibiotika a také jejich farmakologická dynamika. Proto trvá potřeba převést terapii třemi látkami na duální resp. terapii jedním preparátem. Bylo zkoumáno velké množství kombinací bází, antibiotik a solí bismutu, ale dosud nebylo možné vyhnout se trojnásobné terapii. Nadále tudíž existuje potřeba účinného, jednoduše použitelného a dobře upotřebitelného léčiva pro léčení žaludečních onemocnění jako jsou vředy nebo profylaxi rakoviny.

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že lze z antibiotik ze skupiny moenomycinu a jejich derivátů, které mohou tvořit soli svých kyselých skupin (např. esterové seskupení kyseliny fosforečné a/nebo karboxylové kyseliny), získat stabilní dobře definované soli bismutu, které obsahují v jednu látku nebo směs vhodného antibiotika a bismutu ve stechiometrickém poměru. Působení těchto solí proti *Helicobacter pylori* resp. pro léčení a profylaxi žaludečních onemocnění je podobné jako účinek čistého antibiotika ze skupiny moenomycinu, který je ale zřetelně zesílen. Působení lze považovat za duální terapii nebo dokonce za monoterapii. Vznik takové dobře definované soli bismutu a antibiotika ze skupiny moenomycinu je překvapivý, protože

09.03.98

tradiční postup pro přípravu takových solí (vyloučení z vodného roztoku, dialýza nebo iontová výměna) vede k uvedené minimální rozpustnosti produktu. Právě tak ztroskotá neutralizace volné kyselé formy antibiotika ze skupiny moenomycinu báze bismutem např. hydroxidem bismutitým.

Podstata vynálezu

Předmětem předkládaného vynálezu jsou soli bismutu ve směsi s jedním nebo několika antibiotiky ze skupiny moenomycinu a jejich derivátů a jejich fyziologicky upotřebitelné soli. Soli bismutu v souladu s předkládaným vynálezem jsou stechiometrické sloučeniny, a tedy definované chemické sloučeniny charakteru soli. Tyto látky obsahují jako kyseliny anionty od antibiotik nebo jejich derivátů a bismut v určitém stechiometrickém poměru. Jedná se o bismutité (III) soli, které nejsou báze a nevykazují své obvyklé výše uvedené nevýhody.

Stechiometrický poměr, ve kterém jsou bismut a antibiotikum nebo jeho derivát ve sloučenině v souladu s předkládaným vynálezem, závisí např. na počtu kyselých skupin v molekule antibiotika a může být upraven použitým způsobem přípravy např. molárním poměrem výchozích látek.

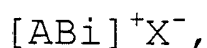
Charakteristickou strukturním prvkem antibiotika ze skupiny moenomycinu je fosfoglycerinová kyselina nebo jako její část dvakrát esterifikovaná kyselina fosforečná, jejíž volná kyslá funkce může tvořit sůl a která je pak místem vazby bismutu. Stechiometrický poměr v soli v souladu s předkládaným vynálezem lze zjistit např. podle počtu molů nebo atomů bismutu, který připadá na 1 mol antibiotika, nebo jednodušeji např. podle molárního poměru fosforu a bismutu. tento poměr může být např. 1:1 nebo 1:2 (v druhém případě to znamená, že na dva atomy fosforu nebo dvě kyseliny fosforečné připadá v soli v souladu s předkládaným vynálezem jeden atom bismutu). Uvedený poměr nemusí být celočíselný např. pokud se sůl v souladu s předkládaným vynálezem připravuje ze směsi dvou nebo více různých antibiotik. Je-li na příklad uvedený poměr 1:1, tak lze

09.03.98

samozřejmě u makroskopického vzorku, na příklad při technické produkci solí v souladu s předkládaným vynálezem, zjistit experimentální hodnotu s určitou odchylkou od ideální hodnoty (na příklad 1:1) danou např. kolísavým obsahem antibiotika nebo přítomností nepatrného množství vedlejších komponent. Uvedený stechiometrický poměr pro substance v souladu s předkládaným vynálezem tedy samozřejmě zahrnuje také další přibližně stejné hodnoty.

Řada antibiotik ze skupiny moenomycinu nebo jeho derivátů obsahuje kromě uvedené kyseliny fosforečné jednu nebo popřípadě několik karboxylových skupin, které mohou také tvořit sůl s bismutem. Pokud antibiotika obsahují v molekule např. dvě kyselé skupiny jako na příklad běžně se vyskytující zástupce s jednou kyselou hydroxylovou skupinou kyseliny fosforečné a s jednou karboxylovou skupinou, tak mohou vázat dva ekvivalenty bismutu resp. poskytnout pro sůl dvě vazby. Třetí valence trojmocného bismutu může potom tvořit na příklad vazbu s dalším aniontem (resp. ekvivalentem aniontu), který je v soli v souladu s předkládaným vynálezem přítomný vedle antibiotika a bismutu a může na příklad pocházet z výchozí soli bismutu použité při přípravě soli v souladu s předkládaným vynálezem. Třetí valence bismutu může ale také tvořit vazbu s kyselinou fosforečnou nebo karboxylovou skupinou jiné molekuly antibiotika, přičemž v druhém případě výsledná sůl v souladu s předkládaným vynálezem obsahuje dva atomy bismutu na tři molekuly uvedeného antibiotika nebo na tři atomy fosforu. Uvedené platí i pro jiná antibiotika a obecně pro vazby bismutu ~~ve sloučeninách v souladu s předkládaným vynálezem a doplňkové~~ anionty. Doplňkové anionty jsou zejména fyziologicky upotřebitelné anionty např. chlorid, bromid, dusičnan, síran, Fosforečnan a další v léčivech používané anorganické a organické anionty jako octan, benzoan, citronan, vinan, methansulfonát apod. Soli v souladu s předkládaným vynálezem mohou obsahovat i směs několika takových doplňkových aniontů.

Výhodné soli bismutu v souladu s předkládaným vynálezem obsahují k doplnění stechiometrického poměru „bismut : antibiotikum“ doplňkový fyziologicky upotřebitelný anion (zejména anion uvedený výše). Na tyto soli lze nahlížet jako na komplexní kation bismutu a antibiotika, který doplňuje fyziologicky upotřebitelný anion jako negativní proti-ion. Zejména výhodné v souladu s předkládaným vynálezem jsou bismutité soli, ve kterých je molární poměr bismutu a jednoho nebo směsi antibiotik (resp. bismutu a fosforu částečně esterifikované kyseliny fosforečné) 1:1 (nebo přibližně 1:1) a které obsahují doplňkový fyziologicky upotřebitelný anion, přičemž tento anion může mít jednotkový náboj nebo je ekvivalentem jednoho anionu s nábojem vyšším. Tyto zejména výhodné soli lze popsat vzorcem

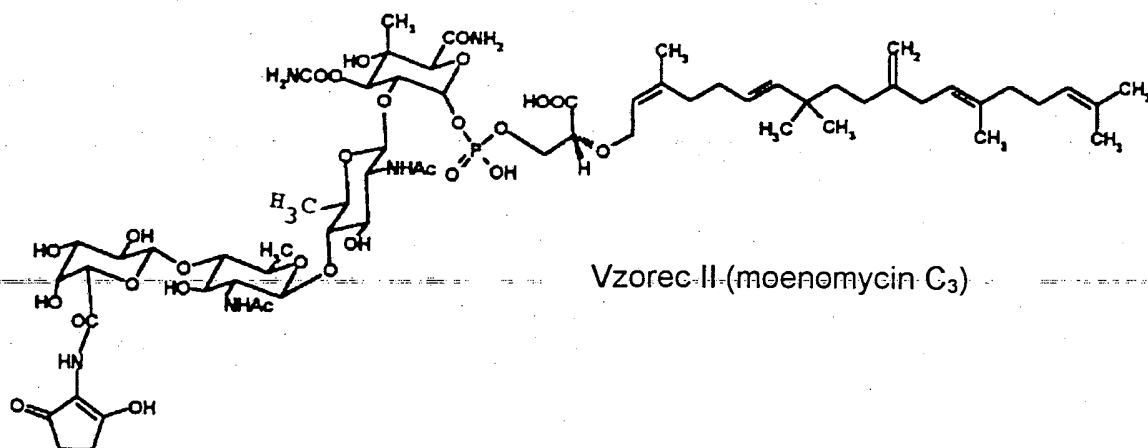
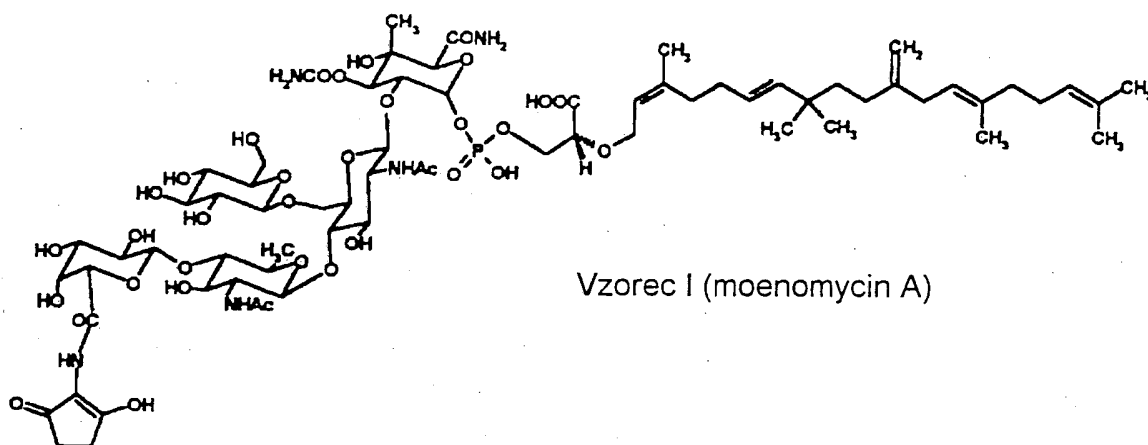


ve kterém A značí jednotlivé antibiotikum nebo směs antibiotik ze skupiny moenomycinu nebo jeho derivát, jehož dvě kyselé skupiny jsou ve formě anionu a X^- je fyziologicky upotřebitelný anion, přičemž tento anion může mít jednotkový náboj nebo je ekvivalentem jednoho anionu s nábojem vyšším.

Antibiotika ze skupiny moenomycinu jsou fosfoglykolipidová antibiotika. Místo zde užívaného označení antibiotika ze skupiny moenomycinu se užívá i označení fosfoglykolipidová antibiotika. Předkládaný vynález zahrnuje bismutité soli všech antibiotik z této skupiny. Antibiotiky ze skupiny moenomycinu se rozumí vlastní moenomycin tzn. moenomycin samotný a např. prasinomycin, diumycin (macarbomycin), 11837 R.P., 8036 R.P. (Quebemycin), 19402 R.P., ensachomycin, prenomycin, teichomycin, folipomycin a další, což jsou všechno kyselé glykolipidy obsahující fosfor. Výhodné jsou bismutité soli samotného moenomycinu. Jednotlivá antibiotika ze skupiny moenomycinu jsou často naproti tomu komplexy několika strukturně rozdílných složek. Jako složky moenomycinu B se označují moenomycin A, A_{1.1}, A_{1.2}, B₁, B₂, C₁, C₂, C₃, C₄ a další,

09.03.98

přičemž se někdy používají i jiná označení např. $A_{1/2}$. Výhodné v souladu s předkládaným vynálezem jsou složky samotného moenomycinu, a to moenomycin A (vzorec I) a moenomycin C₃ (vzorec II). Ve vzorcích znamená Ac acetylovou skupinu. Zejména výhodnou složkou je moenomycin A. Pokud jde o další antibiotika ze skupiny moenomycinu a zejména samotný moenomycin a jeho složky jakož i další strukturní formy odkazujeme na literaturu, např. na článek G. Hubera v knize "Antibiotics", F. Hahn, Springer-Verlag, Berlin 1979, Vol. V/1, str. 135 ff. nebo na patent EP-A-655 249 a související patentové přihlášky, které jsou součástí předkládaného vynálezu.



Deriváty antibiotik ze skupiny moenomycinu se rozumí např. strukturně modifikovaná antibiotika, která jsou vhodná pro

09.03.98

tvorbu soli v souladu s předkládaným vynálezem a která lze získat např. chemickou, biochemickou nebo mikrobiologickou modifikací funkčních skupin, ale i např. vhodné produkty odbourání antibiotik. Uvedené modifikace jsou např. hydrolýza, acylace nebo alkylace. Výhodné jsou bismutité soli jednotlivých antibiotik ze skupiny moenomycinu také od sloučenin, na kterých nebyla provedena žádná další derivatizace.

Antibiotika ze skupiny moenomycinu i samotný moenomycin se získávají fermentací mikroorganismů a následnou izolací. Uvedené mikroorganismy jsou např. *Streptomyces bambergensis*, *S. ghanaensis*, *S. ederensis*, *S. geysirensis*, *S. prasinus*, *S. lividoclavatus* a další (viz. výše uvedená literatura). Přitom se často antibiotika získají jako směs nebo komplex jednotlivých složek s případně různým složením a často se ve formě takové směsi i používají. V případě potřeby lze směs rozdělit běžnými metodami na čisté nebo téměř čisté složky, které mají definované účinky a s výhodou je lze podávat. Uvedeným způsobem lze získat také soli bismutu v souladu s předkládaným vynálezem (ze směsi moenomycinových antibiotik odvodit nebo od jednotlivých antibiotik nebo složek komplexu). Předkládaný vynález zahrnuje bismutité soli všech jednotlivých moenomycinových antibiotik i všechny možné sestavy více moenomycinových antibiotik. Směsi lze získat ze dvou nebo více jednotlivých antibiotik, přičemž se přitom může jednat o složky jednoho určitého antibiotika např. samotného moenomycinu a/nebo o složky různých moenomycinových antibiotik. Soli v souladu s předkládaným vynálezem obsahující směs antibiotik mohou mít složení, ve kterém se získají během syntézy nebo izolace nebo např. také složení nutné k docílení potřebného účinku, kterého se dosáhne cíleným mícháním dvou nebo více jednotlivých antibiotik nebo výchozích směsí.

Předmětem předkládaného vynálezu jsou i fyziologicky upotřebitelné soli bismutitých solí antibiotik ze skupiny moenomycinu. Jako soli lze nahlížet už výše uvedené sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem, které obsahují anionty jako

chlorid, bromid, dusičnan apod. Pokud bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem obsahují jako anion zbytek vícesytné kyseliny např. sírové nebo citrónové, může tento obsahovat bismut pouze jako bázi jedné skupiny a druhá nebo další část může být částečně nebo zcela nasycena např. atomem kovu nebo amoniakem. V molekule antibiotika mohou být přítomny kromě kyselých skupiny, které nejsou vysyceny bismutem ale např. atomem kovu nebo amoniaku, i bázecké skupiny, které mohou být součástí antibiotika nebo mohou být zavedeny derivatizací např. hydrolýzou amidické skupiny na aminoskupinu, což dává vzniknout kyselým adičním solím. Jako soli kovů přicházejí v úvahu zejména alkalické soli a soli kovů alkalických zemin např. sodíku, draslíku, vápníku nebo hořčíku. Amonné soli mohou být odvozeny od amoniaku a od organických aminů. Kyselé adiční soli mohou být odvozeny např. od kyseliny chlorovodíkové, bromovodíkové, dusičné, sírové, fosforečné nebo jiných anorganických a organických kyselin používaných v léčivech (octové, benzoové, citrónové, vinné, methansulfonové a dalších). Soli lze připravit běžnými odborníkům známými způsoby. Do předkládaného vynálezu patří i vnitřní soli (betainy). Předmětem předkládaného vynálezu jsou dále solváty bismutitých solí antibiotik ze skupiny moenomycinu např. s vodou nebo alkoholy a další deriváty, např. estery a aktivní metabolity sloučenin v souladu s předkládaným vynálezem.

Bismutité soli antibiotik ze skupiny moenomycinu v souladu s předkládaným vynálezem jsou dostupné např. reakcí antibiotik ze skupiny moenomycinu nebo zejména jejich běžně používaných solí s bismutitými solemi, a to v rozpouštědle nebo dispergačním činidle. Tyto způsoby přípravy jsou případně také předmětem předkládaného vynálezu. Antibiotika přitom běžně reagují ve formě soli alkalického kovu nebo amonné soli, s výhodou ve formě sodné, draselné nebo amonné soli, které jsou dostatečně rozpustné v organických rozpouštědlech. Pro tyto reakce se s výhodou používají organická rozpouštědla, ale lze je provádět i v organickém rozpouštědle ve směsi s vodou. Antibiotika (resp. jejich výchozí soli) a výchozí bismutité

soli s výhodou reagují ve formě roztoku, zejména výhodně pak výchozí bismutité soli reagují ve formě roztoku v organickém rozpouštědle. Při reakci vznikají definované stechiometricky kombinované bismutité soli antibiotik ze skupiny moenomycinu, které jsou často v organickém rozpouštědle špatně rozpustné a vypadávají z reakční směsi v čisté formě a lze je snadno izolovat - nebo se izolují běžnými způsoby a v případě potřeby je lze dále čistit.

Stanovení poměru, ve kterém jsou produkty v souladu s předkládaným vynálezem a důkaz, že nejsou fyzikální směsí sloučenin bismutu a antibiotika, ale homogenní, stechiometrickou chemickou sloučeninou, která obsahuje bismut a antibiotikum a případně další anion, lze provést běžnými odborníků známými analytickými postupy. Obsah bismutu a dalších prvků lze stanovit např. elementární analýzou (známým postupem). Obsah soli antibiotika v souladu s předkládaným vynálezem lze stanovit např. pomocí NMR-spektra a identifikace.

NMR-Spektroskopie dovoluje také jednoznačně určit, že vznikla definovaná iontová vazba bismutu na určitou kyselou skupinu antibiotika. Srovnání ^1H a ^{13}C -NMR signálů bismutitých solí v souladu s předkládaným vynálezem a odpovídajících výchozích sodných solí antibiotik např. ukazuje, že jsou určité signály zejména některých atomů v sousedství kyselých center, na které se iontově váže bismut, charakteristicky posunuty (srov. NMR data z Příkladu 1). Toto je důkazem, že jsou látky v souladu s předkládaným vynálezem nové, dobře definované a je to důkazem jejich struktury.

Vhodné jsou roentgenospektrometrické metody jako roentgenová fluorescenční analýza, rastrová transmisní a elektronová mikroskopie, které lze kombinovat s energeticky dispersivní roentgenovou mikroanalýzou. Tyto analytické metody dovolují kromě důkazu prvků, např. bismutu nebo fosforu, stanovení obsahu těchto prvků a různých poměrů např. bismutu k fosforu nebo chloru, sodíku a dalším prvků. Produkty v souladu

s předkládaným vynálezem jsou homogenní i podle energetické dispersivní roentgenové mikroanalýzy a poměr koncentrací např. bismutu k fosforu je vždy konstantní, což se týká i stechiometrického složení sloučenin.

Pro přípravu bismutitých solí v souladu s předkládaným vynálezem jsou výhodná organická rozpouštědla (jak již bylo uvedeno výše). Použít lze ale i organická rozpouštědla s podílem vody, přičemž podíl vody musí být tak malý, aby nedocházelo k významné hydrolýze bismutitých solí použitých jako výchozí látky. Přípustný obsah vody se v jednotlivých případech liší. Vhodná organická rozpouštědla jsou např. nižší alkoholy zejména methanol a ethanol, ethylenglykolmonometyléter, glykoly jako např. etylenglykol nebo 1,2-propylenglykol, dimetylsulfoxid (DMSO), dimetylformamid, étery jako dioxan, tetrahydrofuran, etylenglykoléter, jakož i jejich směsi a další rozpouštědla. Zejména výhodné jsou nižší alkoholy, ve kterých se antibiotika ze skupiny moenomycinu dobře rozpouštějí, jako methanol nebo ethanol.

Pro přípravu sloučenin v souladu s předkládaným vynálezem se antibiotika ze skupiny moenomycinu s výhodou používají jako roztok např. v methanolu s koncentrací 0,1 až 10 % hmotnostních, s výhodou 1 až 5 % hmotnostních. Jak již bylo výše uvedeno, mohou být antibiotika ve formě směsi více antibiotik nebo ve formě komplexu antibiotik např. moenomycinů, nebo jako jednotlivé složky např. moenomycinu A nebo C₃, která poskytne iontovou vazbu k bismutu, přičemž jak již bylo rovněž řečeno vznikne sodná nebo amonná sůl. Výhodné bismutité soli jsou zejména soli Bi³⁺ iontů, které se dobře rozpouštějí v organických rozpouštědlech např. chlóríd bismutitý (BiCl₃), dusičnan bismutitý (Bi(NO₃)₃), bromid bismutitý (BiBr₃) a další. Vzniklý roztok bismutité soli má v organickém rozpouštědle běžně koncentraci 0,01 až 1 mol/l, s výhodou 0,1 až 0,5 mol/l. Roztok bismutu se s výhodou přidává k roztoku antibiotika, přičemž obvykle vypadne sůl v souladu s předkládaným vynálezem. Molární poměr reaktantů může být různý. Výhodný je ekvimolární

poměr, zejména pokud se mají připravit výhodné bismutité soli, které mají molární resp. atomový poměr antibiotika (resp. fosforu) a bismutu 1:1. Jak již bylo řečeno, lze podle použitého postupu získat různé bismutité soli.

Obecně se příprava bismutitých solí antibiotik provádí při teplotách $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, s výhodou $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Příprava se s výhodou provádí za pomalého přidávání v průběhu 20 minut až 2 hodin. Při rychlejším postupu lze, když produkt vypadává, může docházet ke snížení jeho čistoty. Pokud je produkt v použitém rozpouštědle špatně rozpustný, lze jej oddělit odstředěním nebo filtrací, a v případě potřeby dočistit např. promytím vhodným organickým rozpouštědlem a následným opětovným odstředěním nebo filtrací. Pokud je produkt snadno rozpustný, takže jeho velká část zůstává v rozpouštědle, izoluje se běžnými postupy, např. vakuovou destilací a/nebo lyofilizací a/nebo přidáním rozpouštědla, ve kterém se produkt rozpouští špatně. Potom opět následuje oddělení vypadlého produktu. K izolaci lze použít i chromatografii. Po vysušení se produkt získá jako bílý nebo světlý prášek, který je obecně dobře rozpustný ve vodě a DMSO a špatně rozpustný ve většině ostatních organických rozpouštědel. V případě potřeby lze produkt dočistit běžnými postupy např. přesrážením nebo chromatograficky.

Bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem, které dále obsahují další anion, lze získat např. iontovou výměnou. Tak lze např. bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem, které obsahují určitý anion, převést iontovou výměnou obvyklým způsobem např. reakcí se solí nebo kyselinou v rozpouštědle nebo chromatograficky na jiné bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem, které obsahují jiný fyziologicky upotřebitelný anion jako další anion.

Biologické a léčebné účinky antibiotik ze skupiny moenomycinu a zejména samotného moenomycin, jakož i výhody použití těchto antibiotik při léčení a profylaxi onemocnění žaludku jsou

09.03.98
13

podrobně uvedeny EP-A-655 249. Bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem značně překonávají výhodné antibakteriální a další vlastnosti moenomycinu. To se potvrzuje při in vitro i in vivo testování. Jak je uvedeno níže, je např. účinek bismutitých solí moenomycinu A v porovnání s moenomycinem A (ve formě sodné soli) již při in vitro testování značně silnější. moenomycin a bismut působí synergicky. Ve formě soli v souladu s předkládaným vynálezem mohou obě složky společně proniknout difúzí do zánětu a tam zapůsobit, což je při běžném použití antibiotik a oddělených bismutitých solí možné jen v minimální míře nebo vůbec ne.

Rozhodující výhodou sloučenin v souladu s předkládaným vynálezem je, že kvůli vyšší účinnosti sloučenin v souladu s předkládaným vynálezem je možné používat menší dávky, aby bylo dosaženo terapeutického cíle např. eradikace *H. pylori*, a s tím spojené omezení vedlejších účinků. Velká účinnost bismutitých solí v souladu s předkládaným vynálezem dovoluje nasazení jako antimikrobiálních činidel těchto látek samotných na místo dvou antibiotik při obvyklé léčbě. Tím lze zjednodušit trojnásobnou léčbu na dvojnásobnou, přičemž se kromě bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem podává už jen jedna báze (např. omeprazol, lansoprazol, pantoprazol aj.). Tento způsob je šetrnější k pacientovi a snižuje náklady a umožňuje dokonce eradikaci *H. pylori* pouze bismutitými solemi v souladu s předkládaným vynálezem bez další medikace. Tato monoterapie je co se týče jednoduchosti, použitelnosti i nákladů značně výhodnější než než ostatní způsoby léčby vředů.

Bismutité soli antibiotik ze skupiny moenomycinu v souladu s předkládaným vynálezem a jejich fyziologicky upotřebitelné soli lze proto používat u živočichů, s výhodou savců a zejména člověka jako léčiva, a to samostatně, ve směsi nebo ve formě farmaceutického prostředku. Předmětem předkládaného vynálezu jsou také bismutité soli a jejich fyziologicky upotřebitelné soli pro použití jako léčiva, jejich použití pro léčení a profylaxi vředů obecně (např. *Ulcus duodeni* nebo *Ulcus*

pepticum), žaludečních onemocnění zejména vředů a gastritidy, rakoviny žaludku, jakož i obecně proti *Helicobacter pylori*, a jejich použití pro přípravu léčiv pro uvedené použití. Dále jsou předmětem předkládaného vynálezu farmaceutické prostředky, které jako aktivní složku obsahují účinnou dávku alespoň jedné bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem a/nebo její fyziologicky upotřebitelné soli a běžný, farmaceuticky upotřebitelný nosič a/nebo přísadu. Farmaceutické prostředky normálně obsahují 0,5 až 95 % hmotnostních bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem a/nebo její fyziologicky upotřebitelné soli. Přípravu farmaceutických prostředků lze provádět známým způsobem. Používají se přitom bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem a/nebo jejich fyziologicky upotřebitelné soli spolu s jedním nebo několika pevnými nebo kapalnými galenickými nosiči a/nebo přísadami a v případě potřeby spolu s dalšími léčivy ve formě vhodné pro podávání resp. dávkování, které se pak použijí jako léčiva v humánní nebo veterinární medicíně. tato léčiva jsou určena převážně pro orální aplikaci.

Bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem a jejich fyziologicky upotřebitelné soli lze k docílení vhodného terapeutického účinku kombinovat i s dalšími léčivy zejména s jedním nebo několika dalšími léčivy proti onemocněním žaludku nebo vředům. Pro uvedené terapeutické a profylaktické použití jsou vhodné i další látky např. ze skupiny, kterou tvoří báze jako hydrogenuhličitan sodný, hydroxid hlinitý, hydroxid hořečnatý, křemičitan hořečnatý, hydrát křemičitanu hlinitohořečnatého, dihydroxid-uhličitan hlinitisodný, uhličitan hořečnatý, uhličitan vápenatý nebo hydrotalcit. Další vhodné složky jsou látky ze skupiny, kterou tvoří inhibitory H_2 -receptorů jako famotidin, nizatidin, roxatidinacetat, ranitidin nebo cimetidin. Další vhodné složky jsou inhibitory muskarinových receptorů jako propanthelinbromid, pirenzipin, nebo další látky jako Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Misoprostol, nebo také další bismutité soli jako dusičnan, uhličitan, salicylát nebo citronan. Další vhodné látky pro

terapii v souladu s předkládaným vynálezem jsou ze skupiny, kterou tvoří antibiotika jako např. tetracyklin, Metronidazol, Amoxycillin, Nisin, Clarithromycin, Imipenem nebo Amikacin. Výhodná kombinace obsahuje bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem spolu s bází jako je např. Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol aj. Pro jiné indikace může být výhodné i kombinovat bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem s několika výše uvedenými přísadami nebo dalšími látkami. Podávání složek uvedených kombinací lze realizovat dohromady nebo odděleně, a to v jednu chvíli nebo v průběhu určitého časového období.

Pro podávání bismutitých solí v souladu s předkládaným vynálezem připadají v úvahu lékové formy jako např. kapsle (tvrdé nebo měkké), tablety, pastilky, cucavé bonbony, prášek a granulát, mikroperle, roztoky nebo suspenze, emulze, sirupy a podobné v této oblasti techniky známé formy. Výhodné jsou zejména pevné lékové formy, které působí v žaludku.

Farmaceutické prostředky lze připravit podle příslušného, odborníkům známého postupu pro přípravu farmaceutických prostředků za použití farmaceuticky vhodných, netoxických přísad a nosičů. Tablety pro orální podávání mohou jako nosič obsahovat např. inertní látky (jako chlorid sodný, laktosu, fosforečnan vápenatý nebo sodný), granulační látky (např. bramborový škrob, kyselinu alginovou), pojiva (škrob, želatina nebo arabská guma) a maziva (stearát hořečnatý, kyselina stearová nebo mastek). Tablety mohou být potahované nebo nepotahované, aby se vstřebávání v žaludku zpomalilo a prodloužilo se působení obsažené účinné látky. Pro tento účel lze použít látky jako glycerylmonostearát nebo glyceryldistearát. V tvrdých želatinových kapslích pro orální podávání může být účinná látka např. ve směsi s inertním pevným nosičem např. fosforečnanem vápenatým nebo kaolínem, v měkkých želatinových kapslích může být účinná látka např. ve směsi s vodou nebo olejem (podzemnicovým olejem, tekutým parafínem nebo olivovým olejem). Vhodné nosiče a/nebo přísady jsou

odborníkům v této oblasti známé. Jako přísady se běžně používají např. antioxidanty, dispergační činidla, emulgátory, rozpouštědla, stabilizátory, příchuti, sladidla, barviva, konzervační látky, pufrý apod.

Podávaná dávka bismutitých solí v souladu s předkládaným vynálezem resp. jejich fyziologicky upotřebitelných solí se v jednotlivých případech liší a lze ji pro optimální účinek přizpůsobit. Dávka samozřejmě závisí na frekvenci podávání a síle a trvání účinku k léčení nebo profylaxi použité sloučeniny, a dále na povaze a závažnosti léčené choroby, věku, hmotnosti, stavu a výživě každého léčeného pacienta, na vzájemném působení s ostatními léčivy a zda se jedná o akutní nebo profylaktické léčení. Běžně se denní dávka při orálním podávání farmaceutického prostředku přibližně 75 kg pacientovi pohybuje mezi 5 mg až 5 g na osobu a den, s výhodou 50 mg až 2 g na osobu a den. Dávku lze podávat najednou nebo po několika např. dvou, třech nebo čtyřech částech.

Bismutité soli v souladu s předkládaným vynálezem lze kromě jako léčiva použít i jako výše uvedené meziprodukty pro přípravu dalších léků. Dále je lze použít jako činidla pro biochemické a mikrobiologické pokusy nebo pro diagnostiku např. při in vitro-diagnózách.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Bismutitá sůl moenomycinu A ve formě chloridu (Vzorec: $[\text{C}_{69}\text{H}_{106}\text{BiN}_5\text{O}_{34}\text{P}]^+$, protion: Cl^- ; molární hmotnost 1825)

50 g sodné soli moenomycinu A se rozpustí v 2 l methanolu a 2 hodiny se míchá s 9,6 g chloridu bismutitého při teplotě místnosti. Po dalších 15 minutách míchání se vzniklá bílá sraženina několikrát promyje 2 l methanolu tak, že se sraženina zvíří skleněnou tyčkou a nerozpouštěná bismutitá sůl moenomycinu A se odstraní odstředěním. Po sušení za vakua se získá 28 g produktu, který se po rozetření použije pro biologické

testování. Získaný produkt se mimo jiné charakterizuje následující analýzou.

a) ^1H - a ^{13}C -NMR

Tabulka

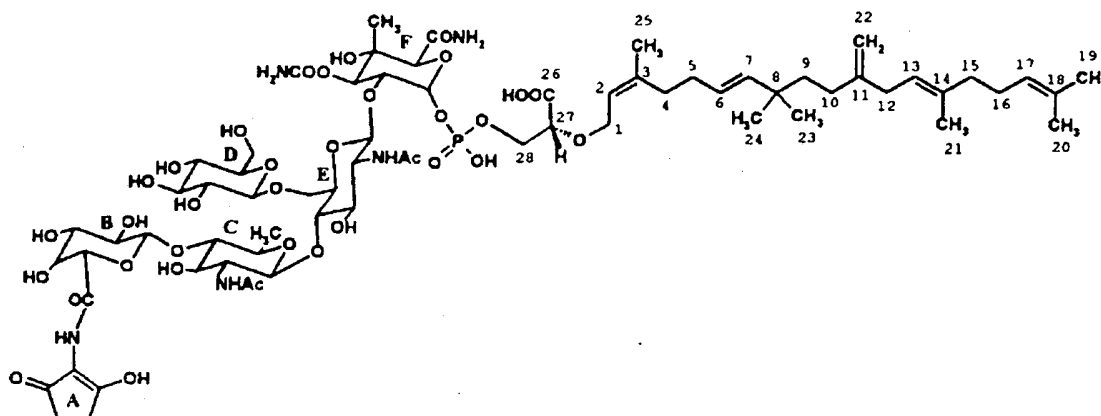
Chemické posuny (v ppm) bismutitých solí moenomycinu A ve formě chloridů získaných podle příkladu 1 a pro srovnání odpovídající sodné soli moenomycinu A (v D_6 -DMSO)

Poloha v molekule (viz vzorec 1a níže)	Sůl Bi, ve formě chloridu	Sůl Na	Sůl Bi, ve formě chloridu	Sůl Na
	^1H	^1H	^{13}C	^{13}C
1	4,07/3,94	4,07/3,83	65,42	64,78
2	5,33	5,32	121,66	123,51
3	-	-	138,73	136,84
4	2,06	2,03	31,80	31,96
5	2,05	2,02	30,70	30,88
6	5,25	5,24	125,23	125,43
7	5,36	5,35	139,80	139,79
8	-	-	35,07	35,19
9	1,33	1,33	40,86	40,91
10	1,86	1,85	30,61	30,68
11	-	-	149,15	149,21
12	2,66	2,65	34,39	34,47
13	5,12	5,11	121,66	121,75
14	-	-	135,69	135,81
15	1,98	1,98	39,08	39,22
16	2,05	2,05	26,01	26,08
17	5,07	5,06	123,96	124,05
18	-	-	130,56	130,70
19	1,63	1,63	25,34	25,48
20	1,55	1,55	17,37	17,53
21	1,57	1,57	15,62	15,71
22	4,66	4,65	108,58	108,70
23	0,94	0,93	27,02	27,11
24	0,94	0,93	27,02	27,11
25	1,70	1,67	23,20	23,28
26	-	-	*)	173,68
27	4,03	3,64	77,69	80,89
28	3,85	3,99/3,75	65,23	67,25
A-NH	8,66	7,47	-	-
A1	-	-	široký	193,37
A2	-	-	*)	109,67
A3	-	-	široký	193,37
A4	široký	2,0	*)	30,88
A5	široký	2,0	*)	30,88
B1'	4,41	4,33	102,87	103,24

B2'	3,41	3,38	69,79	70,24
B3'	3,41	3,37	72,48	72,98
B4'	3,93	3,92	69,08	69,46
B5'	4,26	3,94	74,31	75,36
B5'-C'	-	-	169,37	167,03
C1'	4,51	4,66	101,09	100,98
C2'	3,52	3,52	55,50	55,63
C2'-NH	7,81	8,08	-	-
C2'-C'	-	-	169,44	170,03
C2'-Ac	1,88	1,90	22,94	22,97
C3'	3,54	3,48	71,66	72,89
C4'	3,21	3,15	83,71	84,02
C5'	3,52	3,48	70,32	70,73
C5'-Me	1,33	1,31	17,34	17,53
D1'	4,35	4,37	102,64	102,88
D2'	2,97	2,96	73,41	73,49
D3'	3,25	3,26	76,67	76,69
D4'	3,04	3,01	70,33	70,24
D5'	3,21	3,21	76,67	77,21
D6'	3,70/3,44	3,71/3,44	61,24	61,52
E1'	4,51	4,46	101,09	101,53
E2'	3,37	3,55	55,02	55,01
E2'-NH	7,41	7,61	-	-
E2'-C'	-	-	169,03	169,81
E2'-Ac	1,82	1,82	23,10	23,03
E3'	3,59	3,53	71,83	72,79
E4'	3,35	3,35	80,27	79,67
E5'	3,41	3,38	73,83	72,03
E6'	3,97/3,54	3,99/3,44	67,39	68,28
F1'	5,67	5,75	93,60	93,69
F2'	3,43	3,38	76,63	77,21
F3'	4,91	4,90	73,85	74,15
F3'-NH ₂	6,25	6,36	-	-
F3'-C'	-	-	156,15	156,53
F4'	-	-	72,60	72,53
F4'-Me	1,10	1,06	16,21	16,04
F5'	4,21	4,28	71,61	71,71
F5'-NH ₂	7,42/7,02	7,49/7,29	-	-
F5'-C'	-	-	171,79	171,80

*) Tyto signály nemohou být jednoznačně určeny.

09.03.98



Sloučenina obecného vzorce Ia (moenomycin A)

b) Elektronová disperzní Rentgenová mikroanalýza (EDX)

Bylo testováno deset práškových aglomerátů. Průměr testovaných částic byl asi 50 nm. V každém vzorku bylo stanoveno množství bismutu. Atomové poměry bismutu:fosforu byly stále 1 : 1, tj. bismut je v organickém prášku obsažen homogenně a stechiometricky. Vedle bismutu a fosforu (stejně jako chloru, uhlíku a kyslíku) byly lokálně zjištěny i malé koncentrace sodíku.

Zbytek směsi obsahující vypadlou sraženinu moenomycinu A a chloridu bismutitého byla smíchána se 100 ml DMSO, ve vakuu zahuštěna na objem 200 ml a nanesena na sloupec s 20 l Fractogelu TSK HW-40. Eluce byla provedena směsí DMSO/methanol (1:1). Frakce obsahující bismutitou sůl moenomycinu A byly spojeny, odpařeny a vymražením zbaveny rozpouštědla. Bylo získáno dalších 21 g bismutité soli moenomycinu A ve formě chloridu, který byl identický s prve získaným produktem.

Příklad 2

Bismutitá sůl moenomycinu A ve formě dusičnanu

(Vzorec: $[\text{C}_{69}\text{H}_{106}\text{BiN}_5\text{O}_{34}\text{P}]^+$, protion: NO_3^- ; molární hmotnost 1851,5)

163 mg moenomycinu A se rozpustí v 4 ml methanolu a za míchání se přidá roztok 48,5 mg pentahydrátu dusičnanu bismutitého v 200 μ l DMSO. Vznikne sraženina, která se třikrát promyje methanolem a odstředí. Po vysušení sraženiny ve vakuu se získá 112 mg bismutité soli moenomycinu A ve formě dusičnanu. Elektronová disperzní Rentgenová mikroanalýza (viz. Příklad 1) neprokázala žádný obsah chloru.

Stejným způsobem jako ve výše uvedených příkladech lze získat i další bismutité soli moenomycinových antibiotik.

Bismutitá sůl moenomycinu A_{1,2} ve formě chloridu

(Vzorec: $[\text{C}_{68}\text{H}_{104}\text{BiN}_5\text{O}_{34}\text{P}]^+$, protion: Cl^- ;
molární hmotnost 1811)

Bismutitá sůl moenomycinu C₁ ve formě chloridu

(Vzorec: $[\text{C}_{62}\text{H}_{94}\text{BiN}_5\text{O}_{28}\text{P}]^+$, protion: Cl^- ;
molární hmotnost 1632,8)

Bismutitá sůl moenomycinu C₃ ve formě chloridu

(Vzorec: $[\text{C}_{63}\text{H}_{96}\text{BiN}_5\text{O}_{28}\text{P}]^+$, protion: Cl^- ;
molární hmotnost 1646,9)

Bismutitá sůl moenomycinu C₄ ve formě chloridu

(Vzorec: $[\text{C}_{63}\text{H}_{96}\text{BiN}_5\text{O}_{29}\text{P}]^+$, protion: Cl^- ;
molární hmotnost 1662,9).

Biologické testování

Antibakteriální aktivita bismutitých solí antibiotik skupiny moenomycinu proti *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori se kultivuje na agaru (Tryptic Soy + 5 % defibrinované krve ovcí, + Actidon 500 μ l/ml) za mikroaerofilních podmínek (Anaerokult, Merck) v atmosféře oxidu uhličitého (8 až 10 % oxidu uhličitého) po dobu 5 dní při

35 °C. Pro vlastní experiment se z mikrotitrační desky odebere promytá kultura, suspenduje se v 0,9% roztoku NaCl a pomocí McFarlandova standardu se koncentrace buněk upraví na $3 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$. In vitro aktivita testované sloučeniny se stanoví agarovou zředovací metodou na Columbia agaru (+ 5 % defibrinované krve ovčí, + Actidon 500 $\mu\text{l/ml}$) jako testovacím médiu. Agarové destičky, které obsahovaly různé množství testované sloučeniny (0,002 až 128 $\mu\text{g/ml}$) byly naočkovány ustálenou suspenzí buněk. Buňky se kultivují za mikroaerofilních podmínek (viz. výše). Po 5 dnech při 35 °C se stanoví snížení koncentrace. Kde nebyl vizuálně znatelný žádný vznik kolonie, byla stanovena minimální účinná koncentrace (MHK). Pro srovnání byly testovány stejně jako bismutité soli i soli sodíku.

Výsledky: Minimální účinná koncentrace ($\mu\text{g/ml}$)

Buněčná kultura	Na sůl moenomycinu A (srovnávací pokus)	Bi sůl moenomycinu A, chloridová forma (příklad 1)
H. pylori P 42	2	0,5

Průmyslová využitelnost

Soli v souladu s předkládaným vynálezem obsahují jednotlivá známá antibiotika nebo směsi známých antibiotik ze skupiny moenomycinů, tzv. fosfoglykolipidových antibiotik nebo jejich derivátů a bismut v definovaném stechiometrickém poměru. Tyto látky jsou vhodné zejména proti *Helicobacter pylori* a v důsledku toho např. pro léčení a profylaxi onemocnění žaludku.

09.03.98
22

PV 712-98

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Bismutité soli jednotlivých nebo směsných antibiotik, ze skupiny moenomycinu a jejich derivátů, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
2. Bismutité soli podle nároku 1 odvozené od jednoho nebo několika antibiotik, mezi které patří moenomycin, Prasinomycin, Diumycin, 11837 R.P., 8036 R.P., 19402 R.P., Ensachomycin, Prenomycin, Teichomycin a Pholipomycin, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
3. Bismutité soli podle nároku 1 a/nebo 2 odvozené od jednotlivých složek nebo od směsi jednotlivých složek moenomycinu, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
4. Bismutité soli podle jednoho nebo více nároků 1 až 3 odvozené od moenomycinu A a/nebo moenomycinu C₃, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
5. Bismutité soli podle jednoho nebo více nároků 1 až 4 dále obsahující fyziologicky upotřebitelný anion, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
6. Bismutité soli podle jednoho nebo více nároků 1 až 5, obsahující bismut a antibiotikum nebo antibiotika v molárním poměru 1 : 1, a jejich fyziologicky upotřebitelné soli.
7. Způsob přípravy bismutitých solí podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e s e n e c h a j í r e a g o v a t a n t i b i o t i k a z e s k u p i n y m o e n o m y c i n u n e b o j e j i c h s o l í v r o z p o u š t ě d l e n e b o d i s p e r g a č n í m č i n i d l e s b i s m u t i t o u s o l í .
8. Bismutité soli podle jednoho nebo více nároků 1 až 6 ~~pro
požití jako léčiva.~~
9. Farmaceutické prostředky v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e o b s a h u j í ú č i n n é m n o ž s t v í n e j m é n ě j e d n é b i s m u t i t é s o l í

- podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6 a/nebo její fyziologicky upotřebitelné soli spolu s farmaceuticky vhodným nosičem a/nebo přísadou.
10. Farmaceutický prostředek podle nároku 9 v y z n a č u j í - c í s e t í m , že obsahuje jednu nebo více dalších léčebně účinných látek pro léčbu onemocnění žaludku nebo vředů.
11. Použití bismutitých solí podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6 a/nebo jejich fyziologicky upotřebitelných solí pro přípravu léků pro léčbu nebo profylaxi vředů, onemocnění žaludku, žaludečních vředů, kataru žaludku nebo pro profylaxi rakoviny žaludku.
12. Použití bismutitých solí podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6 a/nebo jejich fyziologicky upotřebitelných solí pro přípravu léků proti bakteriím *Helicobacter pylori*.
- ~~13. Použití bismutitých solí podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6 a/nebo jejich fyziologicky upotřebitelných solí pro léčbu nebo profylaxi vředů, onemocnění žaludku, kataru žaludku nebo pro profylaxi rakoviny žaludku.~~
14. Použití bismutitých solí podle jednoho nebo několika nároků 1 až 6 a/nebo jejich fyziologicky upotřebitelných solí proti bakteriím *Helikobacter pylori*.