



PATENTDIREKTORATET  
KØBENHAVN



(21) Patentansøgning nr.: 0985/82

(51) Int.Cl.<sup>4</sup> C 07 D 215/56

(22) Indleveringsdag: 05 mar 1982

(41) Alm. tilgængelig: 07 sep 1982

(44) Fremlagt: 21 dec 1987

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 06 mar 1981 JP 32274/81

(71) Ansøger: \*KYORIN PHARMACEUTICAL CO. LTD.; No. 5, Kanda Surugadai 2-chome; Chiyoda-ku; Tokyo, JP

(72) Opfinder: Tsutomu \*Irikura; JP, Hiroshi \*Koga; JP, Akira \*Ito; JP

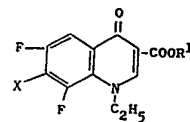
(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af et 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperaziny)quino-  
linderivat eller farmaceutisk acceptable salte deraf.

(56) Fremdragne publikationer

eller ved aminering af en forbindelse med formelen III

(57) Sammendrag:



III

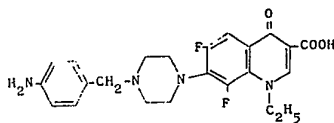
med p-nitrobenzylhalogenid.

Forbindelsen kan anvendes som et antibakterielt middel.

SAMMENDRAG

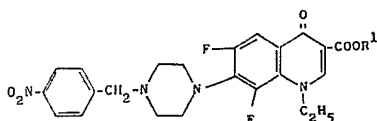
985-82

Der fremstilles en forbindelse med formelen I



I

ved reduktion af en forbindelse med formelen II

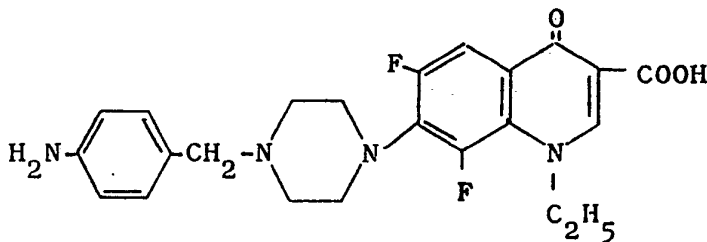


II

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af et 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperaziny)-quinolinderivat eller farmaceutisk acceptable salte deraf, som har en kraftig antibakteriel virkning.

- 5 Antibakterielle midler såsom nalidixidsyre, piromididsyre og pipemididsyre har vist sig at være særdeles effektive i behandlingen af infektioner, der skyldes gramnegative bakterier, men sådanne midler har den alvorlige ulempe, at de kun har svag virkning mod de fleste grampositive bakterier. Forbindelsen ifølge den foreliggende opfindelse
- 10 er særlig nyttig, fordi den har kraftig antibakteriel virkning mod såvel grampositive som gramnegative bakterier.

Den hidtil ukendte forbindelse, der er fremstillet ifølge den foreliggende opfindelse, er et quinolincarboxylsyrederivat med formlen I

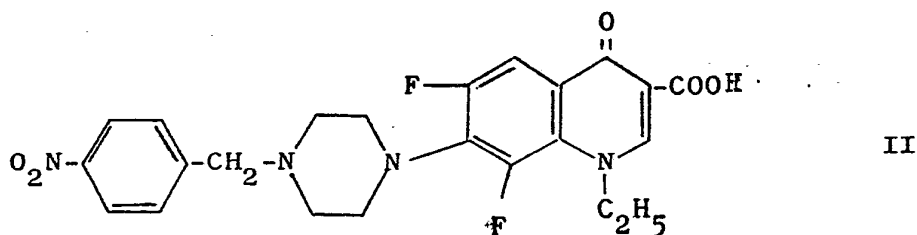


I.

eller de farmaceutisk tolerable salte deraf.

- 15 Forbindelsen med formlen I er særdeles effektiv i behandlingen af infektioner, der skyldes grampositive og gramnegative bakterier, og det har vist sig, at forbindelsen med formlen I heldigvis delvis metaboliseres til 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperaziny)-quinolin-3-carboxylsyre, der har en fremragende virkning mod gram-
- 20 negative bakterier, når den administreres til dyr.

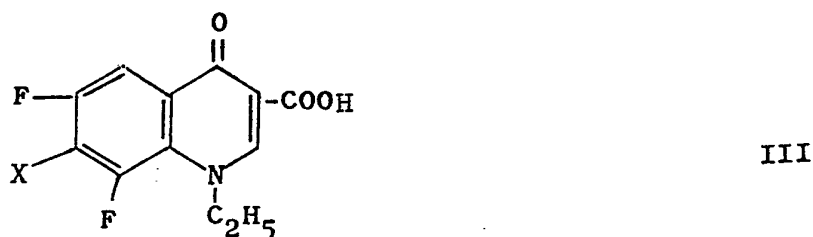
Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved hydrogenering af en forbindelse med formlen II



Hydrogeneringen foretages ved katalytisk hydrogenering med palladium på kul, Raney-nikkel, platinoxid eller lignende som katalysator i et inert opløsningsmiddel såsom alkoholer, ethere eller organiske syrer, eller ved reaktion med metal såsom jern, tin eller zink, eller

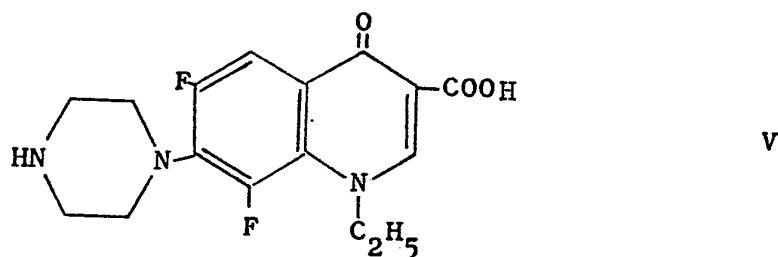
5 halogenidet eller sulfatet i nærværelse af en syre såsom saltsyre, svovlsyre eller eddikesyre.

Udgangsmaterialet med formlen II fås ved reaktion af en forbindelse med formlen III

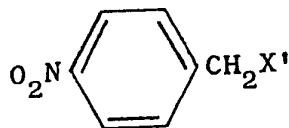


hvor X er en fraspaltelig enhed såsom halogen eller sulfonyloxy, med

10 N-(p-nitrobenzyl)piperazin eller ved behandling af en forbindelse med formlen V



med en forbindelse med formlen VI



VI

hvor X' er halogen.

Saltene såsom methansulfonat, benzensulfonat, acetat, maleat, citrat, malat, lactat, hydrochlorid, sulfat, fosfat, natriumsalt, kaliumsalt eller aminsalte af forbindelse I fås på sædvanlig måde.

Forbindelsen med formlen I eller saltet deraf administreres til mennesker eller dyr, sædvanligvis i området på fra 1-100 mg/kg/dag, ad oral eller parenteral vej. Forbindelsen med formlen I eller saltet deraf kan anvendes i form af farmaceutiske præparater såsom tabletter, kapsler, sirupper, injektioner, granuler, pulvere, suppositorier eller emulsioner. De farmaceutiske præparater kan indeholde forbindelsen iblandet en adjuvans og formes på sædvanlig måde.

De følgende eksempler tjener til at belyse opfindelsen.

#### EKSEMPEL 1

En blanding af 6,7 g 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperaziny)quinolin-3-carboxylsyre-hydrochlorid, 5,45 g triethylamin, 5,8 g p-nitrobenzylbromid og 200 ml dimethylformamid omrøres ved 90°C i 10,5 timer. Opløsningsmidlet afdampes, og remanensen behandles med vand. Det faste stof filtreres, vaskes med vand, tørres og omkrySTALLISERES af en blanding af dimethylformamid og ethanol, hvorved fås 6,9 g 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-7-[4-(p-nitrobenzyl)-1-piperaziny]-4-oxoquinolin-3-carboxylsyre. Smeltepunkt 241-242°C.

## Analyse:

Beregnet for  $C_{23}H_{22}F_2N_4O_5$ : C 58,47 H 4,69 N 11,86

Fundet: C 58,50 H 4,59 N 11,95

## EKSEMPEL 2

- 5 En blanding af 6,0 g 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-7-[4-(p-nitrobenzyl)-1-piperazinyl]-4-oxoquinolin-3-carboxylsyre, 150 ml eddikesyre og 1,0 g 5%'s palladium på kul hydrogeneres. Opslæmningen filtreres, og filtratet inddampes til tørhed. Remanensen behandles med vand, neutraliseres med en vandig natriumhydroxidopløsning og
- 10 ekstraheres med dichlormethan. Den organiske fase tørres og indampes. Remanensen chromatograferes på silicagel. Ved eluering med en blanding af chloroform og ethanol (20:1) og omkrystallisering af en blanding af chloroform og ethanol fås 7-[4-(p-aminobenzyl)-1-piperazinyl]-1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxoquinolin-3-carboxylsyre.
- 15 Smeltepunkt 220-221°C.

## Analyse:

Beregnet for  $C_{23}H_{24}F_2N_4O_3$ : C 62,43 H 5,47 N 12,66

Fundet: C 62,53 H 5,36 N 12,68

## Forsøg 1: Antibakteriel virkning (in vitro)

- 20 Den mindste inhiberende koncentration (MIC) af forbindelsen med formlen I mod standardstammer af grampositive og gramnegative bakterier bestemmes ved en agarfortyndningsteknik (Japan Society of Society of Chemotherapy's standardmetode).

- 25 Som vist i tabel 1 har nalidixidsyre og pipemididsyre hovedsagelig antibakteriel virkning over for gramnegative bakterier og er uvirksomme over for mange stammer af grampositive bakterier. Derimod er forbindelsen med formlen I mere virksom end nalidixidsyre og pipemididsyre mod såvel grampositive som gramnegative bakterier. Især er den antibakterielle virkning af forbindelsen med formlen I mere virk-

som mod grampositive bakterier, der indeholder *Streptococcus* spp., som ikke påvirkes af nalidixidsyre og pipemididsyre.

#### Forsøg 2: Antibakteriel virkning (in vivo)

5 Den antibakterielle virkning in vivo af forbindelsen med formlen I bestemmes ved systemisk infektion af mus.

Den systemiske infektion frembringes i hanmus ICR (kropsvægt  $19 \pm 2$  g) ved at pøde intraperitonealt med *Staphylococcus aureus* Smith og *E. coli* ML4707.

10 Forbindelserne administreres oralt i delte doser ved 0 og 4 timer efter infektion. Lægemidlernes terapeutiske virkning bedømmes ud fra det antal mus, der overlever efter 7 dages observation. Der foretages en sammenligning af antibakteriel aktivitet in vivo på grundlag af den gennemsnitlige virkningsfulde dosis ( $ED_{50}$ ) beregnet ved Litchfield's og Wilcoxon's metode.

15 Som vist i tabel 2 har den antibakterielle virkning in vivo af forbindelsen med formlen I signifikant større virkning end nalidixidrens og pipemididrens virkning mod *S. aureus* Smith. Virkningen af forbindelsen med formlen I er 172 gange større end nalidixidrens virkning og 62 gange større end pipemididrens virkning.

20 Forsøg 3: Vævsniveauer af forbindelsen med formlen I efter en enkelt oral administration på 50 mg/kg i mus og rotter

25 Vævsniveauerne af forbindelsen med formlen I bestemmes ved mikrobiologisk analyse, der benytter tyndtlags-kopmetoden med *Bacillus subtilis* ATCC6633 som forsøgsorganisme. Serum- og vævsniveauerne af forbindelsen med formlen I beregnes ud fra en standardkurve, der fremstilles i henholdsvis forsøgsdyreartens normale serum og M/15-phosphatpuffer (pH-værdi 7,5). Forsøgsresultaterne vises i tabel 3.

Efter en enkelt oral administration på 50 mg/kg af forbindelsen med formelen I til mus og rotter nås et maksimalt serumniveau på henholdsvis 8,6 og 5,3 µg/ml inden for 30-60 minutter.

5 Niveauet af forbindelsen med formelen I i lunger, lever og nyre er højere end serumniveauerne hos begge arter.

Evnen hos forbindelsen med formelen I til at overføres i væv er fremragende.

Forsøg 4: Akut toxicitet af forbindelsen med formelen I

10 Den akutte toxicitet af forbindelsen med formelen I undersøges i mus (ICR-stamme, 7 uger gamle). Observationsperioden er 7 dage efter en enkelt oral og intravenøs administration.

Som vist i tabel 4 har forbindelsen med formelen I en lav toxicitet.

Tabel 1

15 Antibakteriel virkning in vitro af nærværende forbindelse

Organisme	MIC (µg/ml)			NA **	PPA ***
	Gram	Nærværende forbindelse	Metabolit *		
20 Bacillus subtilis PCI 219	+	0,1	0,2	6,25	6,25
25 Staphylococcus aureus 209P	+	0,1	0,78	100	25
S. aureus IID670 (Terajima)	+	0,2	0,78	>100	25
S. epidermidis IID866	+	0,2	0,78		
30 Streptococcus pyogenes IID692	+	0,78	3,13	>100	>100
S. pyogenes S-8	+	0,78	12,5	>100	>100

Tabel 1 fortsat

	<i>S. pneumoniae</i> IID552	+	0,39	6,25	>100	>100
5	<i>S. faecalis</i> IID682	+	0,78	3,13	>100	>100
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	-	0,20	0,05	3,13	1,56
	<i>E. coli</i> ATCC10536	-	0,39	0,05	3,13	1,56
10	<i>Haemophilus influ-</i> <i>enzae</i> IID986	-	0,20	0,025	1,56	3,13
	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> IFO3512	-	0,1	0,05	1,56	1,56
	<i>Proteus vulgaris</i> IFO3167	-	1,56	0,05	3,13	3,13
	<i>P. mirabilis</i> IID994	-	1,56	0,05		
15	<i>P. morgani</i> IID602	-	1,56	0,1		
	<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> IID977	-	1,56	0,1		
20	<i>Citrobacter</i> <i>freundii</i> IID976	-	1,56	0,1		
	<i>Shigella sonnei</i> IID969	-	0,39	0,05	1,56	1,56
	<i>Salmonella enteri-</i> <i>tidis</i> IID604	-	1,56	0,1	12,5	12,5
25	<i>Yersinia entero-</i> <i>colitica</i> IID981	-	1,56	0,1		
	<i>Serratia marcescens</i> IID618	-	3,13	0,1		
30	<i>Pseudomonas aerugi-</i> <i>nosa</i> V-1	-	12,5	0,78	100	12,5
	<i>P. aeruginosa</i> IFO12689	-	25	1,56	>100	25
	<i>Acinetobacter</i> <i>enitratus</i> IID876	-	0,78	0,78		
35	<i>Alcaligenes faeca-</i> <i>lis</i> 0104002	-	3,13	0,78		

Indpøgningsstørrelse:  $10^8$  celler/ml

- 40 \* : 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperaziny)quinolin-3-carboxylsyre  
 \*\* : Nalidixidsyre  
 \*\*\* : Pipemididsyre



Tabel 2

## Antibakteriel virkning in vivo af nærværende forbindelse

Stamme	Infektions- dosis (celler/dyr)	Forbindelse	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
5				
Staphylococcus aureus Smith	2,4x10 <sup>5</sup> (i BHI* holdigt mucin)	nærværende forbindelse NA** PPA***	0,05 25 12,5	3,7 635 231
10				
E. coli ML4707	1,2x10 <sup>7</sup> (i salt- opløs- ning)	nærværende forbindelse NA** PPA***	0,39 3,13 1,56	13,8 38,3 38,9
15				

\* = hjerne-hjerte infusion

\*\* = nalidixidsyre

\*\*\* = pipemididsyre

20

Tabel 3

## Vævsniveauer af nærværende forbindelse

Dyr	Væv	Koncentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) Tid efter administration (timer)				
		0,5	1,0	2,0	4,0	6,0
25						
	serum	8,6	6,5	5,0	2,7	1,8
	lunge	12,8	9,5	5,5	4,3	2,8
30	mus					
	lever	22,5	17,5	12,0	9,0	5,8
	nyre	13,0	13,0	7,8	4,6	4,6
	serum	4,8	5,3	1,2	0,2	0,2
	lunge	6,0	8,6	2,1	0,6	ND*
35	rotte					
	lever	14,0	15,4	6,2	2,2	0,8
	nyre	6,6	6,8	2,7	1,0	0,3

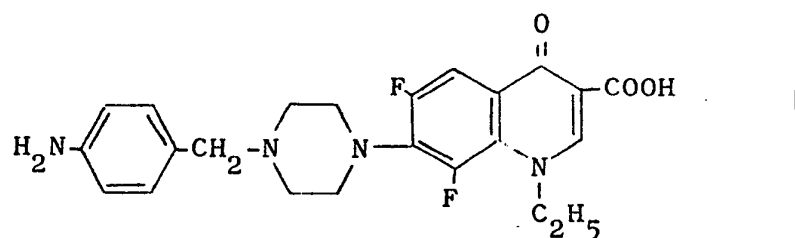
\* = ikke påvist

Tabel 4  
Akut toxicitet af nærværende forbindelse i hanmus

Administrationsvej	LD <sub>50</sub> , mg/kg
i.v.	250-300
p.o.	>4.000

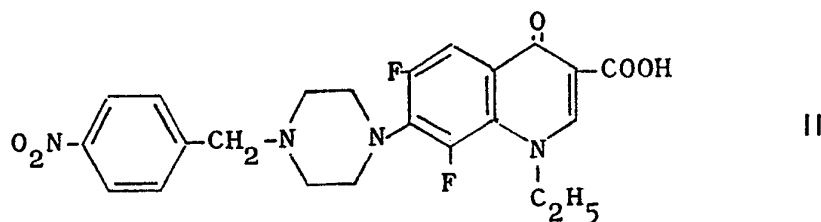
## PATENTKRAV

- 10 Analogifremgangsmåde til fremstilling af et 1-ethyl-6,8-difluor-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)quinazolinderivat med formlen I



eller farmaceutisk acceptable salte deraf,

- 15 k e n d e t e g n e t ved hydrogenering af en forbindelse med formlen II



hvorefter forbindelsen om ønsket omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf.